Racionalni dizajn sustava za nazalnu dostavu lijeka u središnji živčani sustav

Herendić, Martina

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:749477

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Department of Chemistry, Osijek

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Diplomski sveučilišni studij Kemija; istraživački smjer

Martina Herendić

Racionalni dizajn sustava za nazalnu dostavu lijeka u središnji živčani sustav

Diplomski rad

Osijek, 2021.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Diplomski sveučilišni studij Kemija; istraživački smjer

Martina Herendić

Racionalni dizajn sustava za nazalnu dostavu lijeka u središnji živčani sustav

Diplomski rad

Mentor: doc. dr. sc. Aleksandar Sečenji

Neposredni voditelj: Pavo Živković, mag. chem.

Osijek, 2021.

ZAHVALA

Veliku zahvalu dugujem mentoru, doc. dr. sc. Aleksandar Sečenjiju koji je unatoč svojim obavezama prihvatio svoje vrijeme podijeliti samnom i voditi me tijekom izrade ovog diplomskog rada. Izrazito sam zahvalna na njegovoj strpljivosti, volji, povjerenju, savjetima kao i idejama koje su oblikovale ovaj rad. Također zahvaljujem se na velikoj susretljivosti i podršci koju mi je pružio u svim segmentima izrade ovog rada.

Veliko hvala i neposrednom voditelju, mag. chem. Pavi Živkoviću koji je uvijek bio dostupan za moja pitanja. Njegove odgovore pratili su njegova spremnost i stručnost, te mi je uvijek, s velikim interesom u pronalasku odgovora, pomagao u izradi ovog rada.

Neopisivo se zahvaljujem svojoj obitelji koja mi je pružila bezuvjetnu financijsku i psihičku potporu u ostvarenju mojih želja. Također, zahvaljujem se svim prijateljima i kolegama koji su svojim prisustvom, potporom i ljubavlju upotpunili moj studentski život, te zauvijek ostavili neizbrisiv trag u mom srcu.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA **Diplomski rad**

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Odjel za kemiju
Diplomski sveučilišni studij Kemija; istraživački smjer
Znanstveno područje: Prirodne znanosti
Znanstveno polje: Kemija

RACIONALNI DIZAJN SUSTAVA ZA NAZALNU DOSTAVU LIJEKA U SREDIŠNJI ŽIVČANI SUSTAV

Martina Herendić

Rad je izrađen na: Odjelu za kemiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Mentor: doc. dr. sc. Aleksandar Sečenji

Neposredni voditelj: Pavo Živković, mag. chem.

Sažetak

Veliki izazov u primjeni lijekova s djelovanjem na središnji živčani sustav (SŽS) predstavljaju odabir i priprema sustava koji ima mogućnost dostaviti lijek u dovoljnoj količini i odgovarajućem obliku. Upotreba racionalnog dizajniranja pri osmišljavanju rješenja doprinosi lakšem donošenju zaključaka i manjim troškovima u eksperimentalnim procesima. Iz tog razloga glavni cilj ovog rada je prikazati svojstva različitih sustava kao i svojstva nazalne primjene te prikazati mogućnost racionalnog dizajniranja u svrhu olakšavanja odabira najprikladnijeg dostavnog sustava. U radu je detaljno opisana nosna sluznica te su opisani sustavi i karakteristike koje utječu na efikasnost dostave lijeka. Kao pokusni lijek odabran je lijek hidrofilnog karaktera, dopamin. Predloženi sustav za dostavu dopamina je nanočestica sastavljena od polilakto-ko-glikolne kiseline koja se može stabilizirati pomoću Tween®80. Uklapanjem te čestice u hidrogel postiže se bolja kompatibilnost s nosnom sluznicom i pospješuje se intranazalna dostava.

Diplomski rad obuhvaća: 86 stranica, 27 slika, 3 tablice, 188 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: dopamin / intranazalna dostava / nanosustavi / njušni epitel

Stručno povjerenstvo za ocjenu:

1. doc. dr. sc. Tomislav Balić, predsjednik
2. doc. dr. sc. Aleksandar Sečenji, mentor i član
3. izv. prof. dr. sc. Mirela Samardžić, članica
4. izv. prof. dr. sc. Berislav Marković, zamjena člana

Rad prihvaćen:

Rad je pohranjen: u Knjižnici Odjela za kemiju, Franje Kuhača 20, Osijek

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Department of Chemistry
Graduate University Study of Chemistry; Research study
Scientific Area: Natural Sciences
Scientific Field: Chemistry

RATIONAL SYSTEM DESIGN FOR NASAL DRUG DELIVERY TO THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Martina Herendić

Thesis completed at: Department of Chemistry, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Supervisor: Aleksandar Sečenji, PhD, Assistant Prof.

Cosupervisor: Pavo Živković, MSc.

Abstract

A major challenge in the use of drugs with action on the central nervous system (CNS) is the selection and preparation of a system that can deliver the drug in sufficient quantity and appropriate form. The use of rational design in designing solutions contributes to an easier drawing of conclusions and lower costs in experimental processes. For this reason, the main goal of this master's thesis is to present the properties of different systems and the properties of nasal application and to show the possibility of rational design to facilitate the selection of the most appropriate delivery system. The thesis describes in detail the nasal mucosa and describes the systems and characteristics that affect the efficiency of drug delivery. A hydrophilic drug, dopamine, was chosen as the experimental drug. The proposed dopamine delivery system is a nanoparticle composed of polylacto-co-glycolic acid that can be stabilized by Tween®80. Incorporating these particles into the hydrogel allows for better compatibility with the nasal mucosa, and intranasal delivery should improve.

Thesis includes: 86 pages, 27 figures, 3 tables, 188 references

Original in: Croatian

Keywords: dopamine / intranasal delivery / nanosystems / olfactory epithelium

Thesis accepted:

Reviewers:

1. Tomislav Balić, PhD, Assist. Prof., chair
2. Aleksandar Sečenji, PhD, Assist. Prof., supervisor and member

3. Mirela Samardžić, PhD, Assoc. Prof., member
4. Berislav Marković, PhD, Assoc. Prof., substitute member

Thesis deposited in: Department of Chemistry library, Franje Kuhača 20, Osijek

SADRŽAJ

1. UVOD 1

2. LITERATURNI PREGLED 2

2.1 ADMINISTRATIVNI PUTEVI ZA DOSTAVU LIJEKOVA 2

2.1.1 Peroralna primjena lijekova za liječenje bolesti SŽS-a 3

2.2 INTRANAZALNA DOSTAVA LIJEKOVA 4

2.2.1 Anatomija nosa 5

2.2.1.1 Vanjski nos 5

2.2.1.2 Nosna šupljina 7

2.2.1.2.1 Epitel nosne šupljine 11

2.2.1.2.2 Mukocilijarni transport 18

2.2.2 Difuzija lijeka u SŽS 19

2.2.3 Intranazalni putevi u SŽS 22

2.2.4 Postojeći oblici lijekova za intranazalnu dostavu i uređaji za njihovu administraciju 24

2.3 BOLESTI I LIJEKOVI ZA LIJEČENJE BOLESTI SŽS-A 28

3. RACIONALNI DIZAJN SUSTAVA ZA NAZALNU DOSTAVU 34

3.1 SVOJSTVA LIJEKOVA ZA LIJEČENJE BOLESTI SŽS 34

3.2 FARMACEUTSKI UČINKOVITA KONCENTRACIJA 35

3.3 DIFUZIJA LIJEKOVA KROZ NJUŠNU POVRŠINU 36

3.4 VRIJEME ZADRŽAVANJA I KINETIKA OTPUŠTANJA FARMACEUTSKI AKTIVE TVARI 39

3.5 FORMULACIJE NOSIOCA LIJEKA 45

3.6 UTJACAJ RAZNIH FAKTORA NA UČINKOVITOST DOSTAVE LIJEKA U SŽS 53

4. IZABRANI LIJEK I PREDLOŽENI SUSTAV ZA NJEGOVU INTRANAZALNU ADMINISTRACIJU 55

4.1 IZABRANI LIJEK: DOPAMIN 55

4.1.1 Uloga dopamina u SŽS-u i koncentracija 55

4.1.2 Kemijska i farmakokinetička svojstva 57

4.1.3 Otpuštanje dopamina iz različitih nanosustava 62

4.2 PRIJEDLOG SUSTAVA ZA DOSTAVU DOPAMINA 66

4.2.1 Kalkulacija količine dopamina za postizanje ciljano dostavljene količine u SŽS 66

4.2.2 Kinetička kalkulacija dostave dopamina kroz njušni epitel 66

4.2.3 Prijedlog načina doziranja na njušnu sluznicu 68

5. ZAKLJUČAK 70

6. LITERATURNI IZVORI 71

7. ŽIVOTOPIS 85

1. UVOD

Središnji živčani sustav (SŽS) jedan je od najkompleksnijih sustava, a krvno-moždana barijera je najnepropusnija barijera u ljudskom tijelu. Iz tog razloga dostava lijekova u SŽS predstavlja vrlo izazovan pothvat. Do danas je veliki broj istraženih administrativnih puteva, a intranazalni administrativni put jedan je od pogodnijih puteva koji posjeduje veliki potencijal u dostavi lijekova u SŽS. Zbog tog, odabran je intranazalni put kao put dostave lijeka, te je u radu opisana nosna sluznica, putevi i sustavi koji posjeduju mogućnost intranazalne dostave i efektivno dostavljaju lijekove u SŽS.

Zadatak ovog rada je definirati i karakterizirati racionalni dizajn, te približiti značenje racionalnog dizajna u području istraživanja sustava intranazalne dostave. U literaturnom dijelu rada navedeni su i opisani putevi dostave lijekova. Opisani su i anatomija nosa i nosne šupljine te mogući intranazalni putevi u SŽS. Navedene su i bolesti koje su vezane za SŽS te pojedini lijekovi koji se koriste u njihovom liječenju. Također navedeni su i oblici lijekova i uređaji koji se koriste u njihovoj isporuci u nosnu šupljinu. U poglavlju racionalnog dizajna opisani su dijelovi važni kod racionalnog dizajniranja sustava za intranazalnu dostavu. Opisana su svojstva lijekova na koja je potrebno obratiti pažnju kod odabira nosioca lijeka i kod difuzije kroz nosnu šupljinu. Također, prikazani su faktori koji utječu na efikasnost same dostave, te su opisane pogodne formulacije nosioca lijeka. Posljednje poglavlje uključuje odabrani lijek i njegova svojstva te prikaz odabranog sustava na temelju njegovih karakteristika i karakteristika nosnog epitela.

2. LITERATURNI PREGLED

2.1 Administrativni putevi za dostavu lijekova

Prema zakonskim propisima „lijek jest svaka tvar ili kombinacija tvari prikazana sa svojstvima liječenja ili sprječavanja bolesti kod ljudi ili svaka tvar ili kombinacija tvari koja se može upotrijebiti ili primijeniti na ljudima u svrhu obnavljanja, ispravljanja ili prilagodbe fizioloških funkcija farmakološkim, imunološkim ili metaboličkim djelovanjem ili za postavljanje medicinske dijagnoze“ [1]. U užem smislu lijek se može smatrati kao kemijska tvar koja se koristi u medicinske svrhe. Kako bi lijek prikazao svoj učinak potrebno ga je unijeti u organizam, a o samom načinu unosa, tj. administracije ovisit će njegova apsorpcija a time i krajnji terapijski ishod liječenja.

Administrativni putevi dostave lijeka svrstavaju se u dvije kategorije, oni koji djeluju lokalno i oni koji djeluju sistemski. Lokalno djelovanje odnosi se na aplikaciju lijeka na kožu ili sluznicu u svrhu liječenja bolesti na mjestu primjene lijeka. Neki od administrativnih puteva koji iskazuju lokalno djelovanje su perkutani put (preko površine kože), oralni put (u usnu šupljinu), rektalni (kroz čmar), na sluznice oka, uha i nosa [2]. Sistemsko djelovanje odnosi se na primjenu kod koje lijek djeluje na mjestu različitom od mjesta primjene. Sistemski način unosa dijeli se na enteralan i parenteralan put primjene.

Enteralan put uključuje administrativne puteve u kojima lijek prolazi kroz gastrointestinalni (GI) sustav. Jedan od najčešćih enteralnih puteva je peroralan put koji podrazumijeva primjenu lijeka kroz usta. Osim peroralne primjene u enteralne puteve svrstava se sublingvalna (pod jezik) i rektalna primjena (kroz debelo crijevo) [2]. Nakon enteralne primjene lijek se u GI traktu apsorbira u krvotok gdje se prenosi na ciljno mjesto djelovanja.

Parenteralni put označava primjenu lijeka koja zaobilazi GI trakt. Očituje se u raznim prednostima u odnosu na enteralan put. Neke od prednosti su smanjena mogućnost kemijske razgradnje i vremenski kraća apsorpcija i distribucija lijeka što omogućuje potpunije i brže djelovanje lijeka. Administrativni putevi parenteralne primjene lijeka su supkutana primjena (pod kožu), intrakutana (u kožu), intravenska, intramuskularna, intracerebralna (injekcijom u mozak), sublingvalna, nazalna primjena i mnoge druge.

Odabir povoljnog puta administracije ovisi o samom lijeku koji se primjenjuje (kemijske karakteristike, fizikalna svojstva, kemijska stabilnost) i o pacijentu (psihička i fizička stabilnost, dob, spol i drugo). Na temelju navedenih faktora određuje se optimalan put administracije lijeka kojem je svrha što brža apsorpcija lijeka i brz dolazak na mjesto djelovanja kako bi se smanjio broj mogućih nuspojava.

2.1.1 Peroralna primjena lijekova za liječenje bolesti SŽS-a

Peroralna primjena lijekova smatra se jednostavnom i kod većine pacijenata vrlo praktičnom, rijetko neugodnom metodom i iz tog razloga jedna je od najčešćih primjena. Takav način primjene pacijent može izvršiti i u odsustvu medicinskog osoblja. Bez obzira na njenu prednost lake primjene prate je mnogi nedostatci koji će se prikazati u nekoliko primjera lijekova. Razlog nastanka nuspojava je u tome što se lijek oralnim putem distribuira po čitavom organizmu, a tek mali dio lijeka dospijeva na željeno mjesto. Distribucijom po tijelu lijek se može razgraditi ili reagirati s različitim agensima što uzrokuje metaboličke promjene i nastanak neželjenih indikacija.

Karbidopa i L-dopa su kombinirani lijekovi koji se već dugi niz godina koriste u liječenju simptoma Parkinsonove bolesti. Smatra se kako su simptomi Parkinsonove bolesti uzrokovani smanjenjem koncentracije dopamina u mozgu. Kako bi se povećala koncentracija dopamina oralnim putem unosi se L-dopa koja predstavlja prekursor dopamina i karbidopa koja inhibira metabolizam L-dope u dopamin u periferiji organizma. Inhibicija metabolizma L-dope u periferiji važna je zato jer dopamin ne prelazi krvno-moždanu barijeru (eng. *blood brain barrier,* BBB) i time se omogućuje veća dostupnost L-dope SŽS-u [3]. Uobičajeni štetni učinci nakon peroralne primjene su vrtoglavica i glavobolja, nesanica, trzaji ili uvrnuti pokreti mišića, mučnina i povraćanje, zatvor, anksioznost i dr. [4].

Acetazolamid je derivat sulfoamida koji se uobičajeno koristi za sprječavanje i smanjenje simptoma visinske bolesti. Također se koristi za liječenje glaukoma (smanjuje količinu vodenog sekreta), nenormalnog zadržavanja tjelesnih tekućina, kod liječenja određenih konvulzivnih poremećaja (npr. epilepsija) i dr. [5]. U SŽS-u djeluje tako da inhibira ugljičnu anhidrazu što dovodi do usporavanja abnormalnog, naglog i prekomjernog pražnjenja živaca koje je odgovorno za disfunkciju SŽS-a. Peroralnom primjenom acetazolamida izazivaju se brojne nuspojave, npr. osjećaj trnjenja u ekstremitetima, tinitus (poremećaj sluha), trombocitopenija, oštećenje bubrega i jetre, gastrointestinalne smetnje

(mučnina, povraćanje, proljev), pospanost i zbunjenost, hipokalemija, hiponatremija i hiperkloremična acidoza, teratogeni učinak (dokazano na životinjama) i dr. [6]. S obzirom da acetazolaimd uzrokuje acidozu, duljom upotrebom može doći do komplikacija u dišnom i kardiovaskularnom sustavu.

Haloperidol se ubraja u konvencionalne antipsihotike, a svoju svrhu pronalazi u liječenju shizofrenije. Također se koristi za kontrolu motoričkih i govornih tikova kod osoba s Touretteovim sindromom [7]. Njegova upotreba nije dozvoljena kod starijih osoba koje boluju od psihoze povezane s demencijom i kod trudnica u posljednjih 3 mjeseca trudnoće. Neke nuspojave vezane uz ovaj lijek su poteškoće s govorom, gutanjem i pomicanjem očiju, nemir, grčevi, nesanica, GI smetnje (zatvor, mučnina, suha usta), erektilna i spolna disfunkcija, hipotenzija i tahikardija te abnormalnost funkcije jetre [8].

Navedene nuspojave samo su mali dio nuspojava i toksičnih učinaka koje lijekovi peroralnom primjenom mogu izazvati. Peroralnom primjenom lijek se mora suočiti s različitim enzima, niskim pH, probavnim sekretima te mora imati sposobnost prolaska kroz epitele probavnog trakta. Zbog toga, sam put dostave do SŽS-a je dug i kod većine lijekova dolazi do smanjenja bioraspoloživosti zbog metabolizma lijeka u GI traktu. Drugi problem peroralne primjene lijeka je u tome što kod liječenja bolesti SŽS-a većina lijekova u vrlo malim količinama prolazi visoko selektivnu BBB pa će se velika količina lijeka zadržati u periferiji organizma i uzrokovati neželjene učinke. Iz tog razloga potrebno se okrenuti alternativnim administracijskim putevima kojima je u cilju smanjiti broj neželjenih reakcija i omogućiti što brži i potpuniji dolazak aktivne supstancije do mjesta željenog učinka.

2.2 Intranazalna dostava lijekova

Intranazalna dostava lijekova predstavlja neinvazivni administracijski put lijekova kroz nosnu šupljinu. Od davnina se koristila za lokalno liječenje akutnih i kroničnih bolesti nosne šupljine, a s vremenom nosna sluznica postala je od velikog interesa za sistemsku dostavu lijekova. Primjenom lijeka putem sluznice nosa nadilaze se mnoga ograničenja enteralne i parenteralne primjene lijeka. Velika prednost intranazalne dostave je u zaobilaženju metabolizma lijeka u GI traktu i u jetri, te njegova brza apsorpcija. Zbog relativno velike površine nosne sluznice, dobre prokrvljenosti i permeabilnosti te male enzimske aktivnosti omogućuje se postizanje velike koncentracije lijeka u sistemskoj cirkulaciji ili u SŽS-u relativno brzo nakon primjene. Međutim, intranazalna dostava ima i svoje nedostatke kao

što su mukocilijarno čišćenje (MCC), nadraživanje sluznice i volumen pripravaka koji se može unijeti u nosnu šupljinu [9].

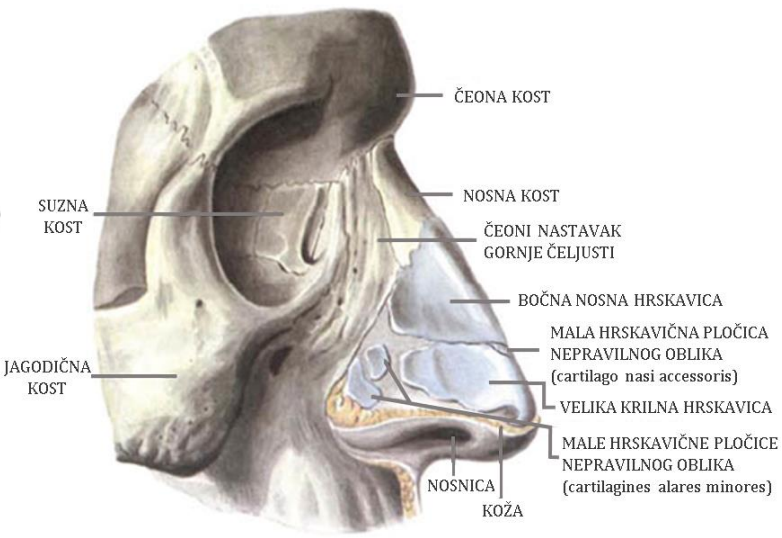
2.2.1 Anatomija nosa

Respiracijski sustav vitalan je sustav organa čija je osnovna primjena u procesu disanja, tj. izmjena plinova. Sastoji se od gornjih (nos, paranazalni sinusi, usta, ždrijelo i grkljan) i donjih dišnih puteva (dušnik, dušnice i pluća) [10]. Uloga gornjih dišnih puteva kod disanja je ulazak i pročišćavanje te zagrijavanje i vlaženje zraka koji zatim odlazi u ždrijelo [11]. Osim respiratorne uloge, odgovoran je za imunološki i refleksni odgovor tijekom ulaska stranog tijela u organizam [12]. Prozračnost sinusa i nosne šupljine važna je kako bi se smanjila težina lubanje i za formiranje zvučnosti glasa. Također, sadrži i jedan od glavnih osjetila, osjetilo njuha.

Osim navedenih uloga od velikog je značaja transportna uloga nosa kod lokalnog i sistemskog učinka lijeka, ali i direktne dostave u SŽS. Direktna dostava u SŽS omogućena je zbog položaja nosa, tj. nosne šupljine koja predstavlja jedini kontakt SŽS-a s okolinom. Prilikom konstruiranja intranazalne formulacije važno je u obzir uzeti anatomiju nosa. Sama anatomija nosa može se podijeliti na vanjski nos i unutarnji nos, tj. nosnu šupljinu uz koju su smješteni paranazalni sinusi.

2.2.1.1 Vanjski nos

Uobičajeno se naziva i nosnom piramidom zbog karakterističnog oblika. Dijeli se na korijen nosa (lat. *radix nasi*) koji povezuje nos sa čelom, nosni hrbat (lat. *dorsum nasi*) koji se nalazi između korijena i slobodnog vrška nosa (lat. *apex nasi*). Nosnice (lat. *nares*) se nalaze na krajnjem prednjem dijelu nosa i odijeljene su prednjim dijelom nosne pregrade [13]. Osnovu nosa (slika 1) čine nosna kost (lat. *os nasale*), nosni nastavak čeone kosti, čeoni nastavak gornje čeljusne kosti (lat. *processus frontalis maxillae*), bočne nosne hrskavice (lat. *cartilago nasi lateralis*) (nadovezuju se na distalni rub nosne kosti; čine osnovu nosnog hrpta i središnji dio lateralne nosne stjenke), velike krilne hrskavice (lat. *cartilago alaris major*) (medijalan dio čini podlogu krajnjem dijelu pomičnog dijela nosne pregrade, a bočni dio čini podlogu krajnjem dijelu nosnih krila) i male hrskavične pločice nepravilnog oblika (lat. *cartilagines alares minores* i lat. *cartilago nasi accessoris*) [14].



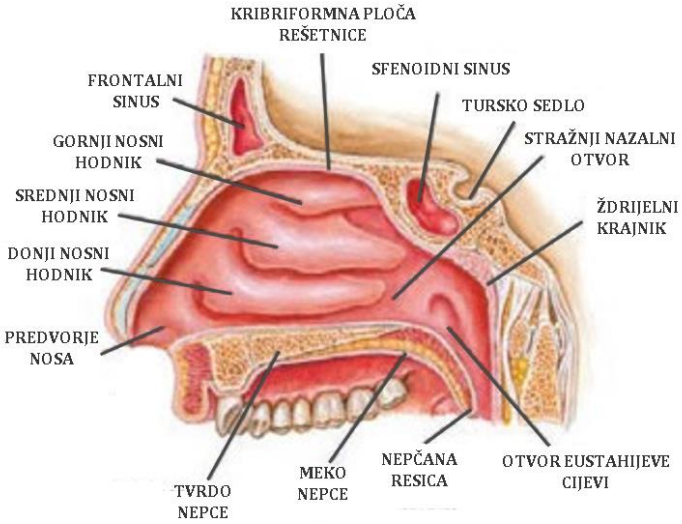
Slika 1. Nosne kosti i hrskavice [15].

Pokrovni dio vanjskog nosa čini koža s potkožnim tkivom i mišićima. Koža je različite debljine (najdeblja kod nosnica) i sadrži žlijezde lojnice, te je prekrivena dlakama. Mišići koji se nalaze ispod kože vanjskog nosa, takozvani mimični mišići, su mišić nasalis (lat. *m. nasalis;* sužava otvor nosa), tanki mišić (lat. *m. procerus*; nalazi se između obrva i odgovoran je kod izražavanja emocija) i mišić koji povlači septum nosa (lat. *m. depressor septi*) [16, 17]. Svi ti mišići su rudimentarni i nemaju vlastitu ovojnicu [14]. Njihova su vlakna neposredno uklopljena unutar vezivnog i masnog tkiva. Inervira ih lični živac (lat. *n. facialis*) koji se ubraja u sedmu skupinu moždanih živaca (CN VII) [14]. Taj živac sadrži različite vrste vlakana s različitim funkcijama (motorička, autonomna i osjetna funkcija). Ostalu inervaciju vanjskog nosa čine ogranci očnog živca (lat. *n. supratrochlearis, n. infratrochlearis, r. nasales externus n. ethmoidalis anterioris*) i ogranci maksilarnog živca (lat. *rr. nasales externi n. infraorbitalis* i *rr. nasales interni n. infraorbitalis*) koji je jedan od tri ogranaka trigeminalnog živca. Za opskrbljivanje vanjskog nosa krvlju odgovorne su leđna arterija nosa (lat. *a. dorsalis nasi*; grana je očne arterije), infraorbitalna arterija (lat. *a. infraorbitalis*; grana je maxilarne arterije) i gornja labijalna arterija (lat. *a. labialis superior*; grana je lične arterije). Za vensku vaskulaciju vanjskog nosa odgovorna je lična vena (lat. *v. facijalis*) koja odvodi krv u unutarnju jugularnu venu. Također, krv se odvodi i u angularnu venu prema orbiti gdje se pomoću gornje očne vene izlijeva u kavernozni sinus. Za limfnu odvodnju vanjskog dijela nosa odgovorni su parotidni limfni čvorovi (lat. *Nodi ly. Parotidei*) i submentalni limfni čvorovi (lat. *Nodi ly. Submentales*) koji sudjeluju i za odvodnju limfe iz usana i obraza [15].

2.2.1.2 Nosna šupljina

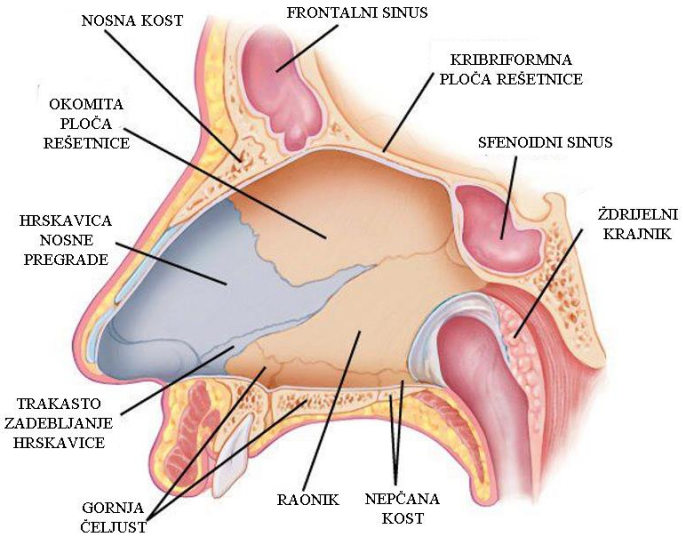
Unutarnji nos, tj. nosna šupljina (lat. *Cavitas nasi*) čini početak respiratornog sustava. Nosnicama se otvara prema vanjskom prostoru, a na stražnjem dijelu preko dva stražnja nazalna otvora otvara se prema nazofarinksu (gornji dio ždrijela). Ukupna površina nosne šupljine je oko 160 cm^2, a zapremni volumen oko 13 mL [18]. pH nosne šupljine kreće se od 5,5 do 6,5, a temperatura je od 30,2 do 34,4 °C [19]. Pomoću nosne pregrade dijeli se na dvije šupljine. Svaka šupljina sastoji se od 4 stijenke:

- lateralna stjenka - dijeli se na prednji, srednji i stražnji dio. Prednji dio čine nosna kost, čeoni nastavak gornje čeljusne kosti i suzna kost (lat. *os lacrimale*). Srednji dio omeđen je nosnom površinom gornje čeljusti (lat. *facies nasalis maxillae*), rešetnicom (lat. *os ethmoidale*) koja čini gornju i srednju nosnu školjku (lat. *chocha nasalis superior et media*) i donjom nosnom školjkom (lat. *concha nasalis inferior*). Stražnji dio lateralne stjenke čine okomita ploča nepčane kosti (lat. *lamina perpendicularis ossis palatini*) i medijalna strana pterigoidne ploče koja je ligament klinaste kosti (lat. *lamina medialis processus pterygoidei*) [14]. Nosne školjke strše iz stjenke, a glavna uloga im je povećanje površine šupljine i usporavanje laminarnog strujanja zraka. One stvaraju tri nosna hodnika, vidljiva na slici 2, koji leže između nosnih školjaka. Donji nosni hodnik (lat. *Meatus nasi inferior*) leži između donje nosne školjke i nepca, a u prednjem dijelu sadrži izlazni otvor nosno-suznog kanala. Srednji nosni hodnik (lat. *Meatus nasi medius*) smješten je između donje i srednje nosne školjke, a u njega se otvaraju maksilarni i frontalni sinusi preko ljevkastog žlijeba, te srednje i prednje šupljine rešetnice. Gornji nosni hodnik (lat. *Meatus nasi superior*) smješten je između srednje i gornje nosne školjke. U njega se otvaraju stražnje šupljine rešetnice i sfenoidni sinusi [20, 21]. Ta tri nosna hodnika medijalno se otvaraju u stražnji nosni otvor (lat. *Choana*) koji se otvara u nazofarinks [20].



Slika 2. Lateralna nosna stijenka [22].

- nosna pregrada – čini medijalnu stranu nosne šupljine i dijeli šupljinu na dva približno jednaka dijela. Koštani dio nosne pregrade (slika 3) izgrađen je od dijelova klinaste kosti (lat. *Crista et rostrum ossis sphenoidalis*), raonika *(lat. Vomer*), okomite ploče rešetnice (lat. *Lamina perpendicularis ossis ethmoidalis*), nosnog grebena nepčane kosti (lat. *Crista nasalis ossis palatin*) i nosnog grebena gornje čeljusti (lat. *Crista nasalis maxillae*). Uz koštane dijelove raonika i rešetnice, koje čine glavninu nosne pregrade, nalazi se hrskavica nosne pregrade (lat. *Cartilago nasi septi*) [21, 23]. Između te hrskavice i raonika nalazi se trakasto zadebljanje hrskavice zvano lat. *Cartilago vomeronasalis* koje može biti izvijeno (devijacija septuma) što uzrokuje različitost u veličinama lijeve i desne nosne šupljine [20].

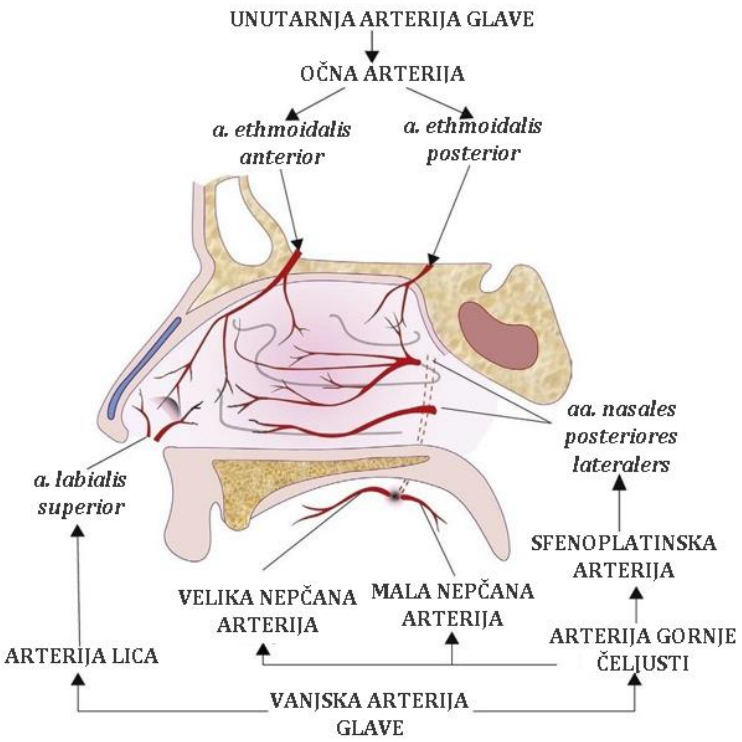


Slika 3. Kosti nosne pregrade [24].

- gornja stjenka (pokrov) – čini ju nosna kost, nosni dio čeone kosti (lat. *Pars nasalis ossis frontalis*), ploča rešetnice i tijelo klinaste kosti (lat. *Corpus ossis sphenoidalis*) [21]. Zahvaljujući mnogim otvorima (lat. *Foramina cribrosa*) u horizontalnoj ploči rešetnice omogućuje se povezanost nosne šupljine s prednjom lubanjskom jamom [20].
- donja stjenka (dno) – šira je od pokrova, a čine ju vodoravna ploča nepčane kosti (lat. *Lamina horizontalis ossis palatini*) i nepčani izdanci gornje čeljusti (lat. *Processus palatinus maxillae*). U prednjoj trećini dna nosne šupljine nalazi se udubina, lat. *Fossa incisiva* koja je kanalima povezana s usnom šupljinom [20].

Nosna šupljina s obzirom na prokrvljenost može se podijeliti na oskudno opskrbljeno prednje područje, veće, jače opskrbljeno područje i područje nosne pregrade. Shematski prikaz arterijske opskrbe nosne šupljine prikazan je na slici 4. Arterijsku krv u nosnu šupljinu dovode ogranci arterije glave (lat. *a. carotis*). Gornji prednji dio nosne šupljine i nosne pregrade opskrbljiva se unutarnjom arterijom glave (lat. *a. carotis interna*) koja se dijeli na ogranak lat. *pars cerebralis*. Taj ogranak neposredno nakon izlaska iz tvrde moždane ovojnice dijeli se na očnu arteriju (lat. *a. ophthalmica*). Ogranak očne arterije, lat. *a. ethmoidalis anterior*, dospijeva preko prednjeg otvora na rešetnici u nosnu šupljinu. Čest je slučaj da se od njega odvaja ogranak koji hrani greben nosa. Gornji stražnji dio nosne pregrade, lateralne stijenke, stražnji pokrov nosne šupljine opskrbljiva ogranak očne arterije zvan lat. *a. ethmoidalis posterior*.

Jedna od terminalnih grana vanjske arterije glave lat. (*a. carotis externa*) je arterija gornje čeljusti (lat. *a. maxillaris*). Ta arterija opskrbljuje donje dijelove nosne šupljine i nosne pregrade. Donji prednji dio nosne pregrade i donji prednji dio nosne šupljine opskrbljuju lat. *a. nasopalatina* (grana arterije gornje čeljusti) i lat. *n. nasoplatina* (grana živca gornje čeljusti). Donji stražnji dio nosne pregrade, stražnji dio lateralne stijenke i stražnji dio dna i krova nosne šupljine opskrbljuje lat. *aa. nasales posteriores laterales*. To je krajnji ogranak završnog dijela arterije gornje čeljusti i dijeli se u dvije osnovne grane, uzlaznu i silaznu koje opskrbljuju nosne školjke, nosne hodnike, sfenoidne i maksilarne sinuse. Arterija lica (lat. *a. facialis*) ogranak je vanjske arterije glave koji svojim ogrankom, lat. *a. labialis superior* opskrbljuje pomični dio nosne pregrade [14, 25].



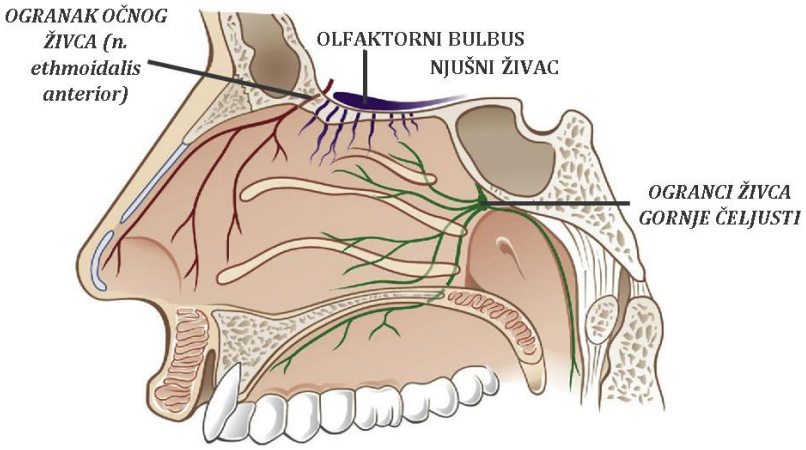
Slika 4. Arterijska opskrba nosne šupljine [26].

Venska mreža dobro je razvijena u području srednje i donje nosne školjke. Vene prednjeg gornjeg dijela idu paralelno s lat. *a. ethmoidalis anterior* i ulaze u prednju očnu venu (lat. *v. ophthalmica superior*) koja ulazi u kavernozni venski splet (lat. *plexus venosus cavernosus*) [14]. U kavernoznom spletu vene dolaze u kontakt s arterijom glave što omogućuje prijelaz malih molekula u arteriju i zaobilaženje BBB-e pri ulasku u SŽS [9]. Venska mreža koja se pretežno nalazi na donjem prednjem dijelu nosne šupljine potječe od lične vene (lat. *v. facialis*) [14]. Sve vene nosne šupljine ulijevaju se u jugularnu venu koja prikuplja krv i odvodi u desnu stranu srca. Takav način odvodnje objašnjava prednost intranazalne primjene zbog zaobilaženja jetrenog metabolizma [9].

Limfa iz prednjeg dijela nosne šupljine odlazi zajedno s limfom vanjskog nosa u lat. *nodi nly. submandibulares* i lat. *nodi ly. cervicales superiores*. Limfna odvodnja stražnjeg dijela nosne šupljine odvodi se kroz lat. *nodi ly. retropharyngei* i lat. *nodi ly. cervicales profundi* [9, 14].

Inervacija nosne šupljine može se podijeliti na očni živac (lat. *n. ophthalmicus*) koji se ubraja u I. granu trigeminalnog živca (lat. *n. trigeminus*) i ogranke živca gornje čeljusti (lat. *n. maxillaris*) koji se ubraja u II. granu trigeminalnog živca (slika 5). Ogranak očnog živca, lat. *n. ethmoidalis anterior*, zajedno s lat. *a ethmoidalis anterior* dospijeva u nosnu

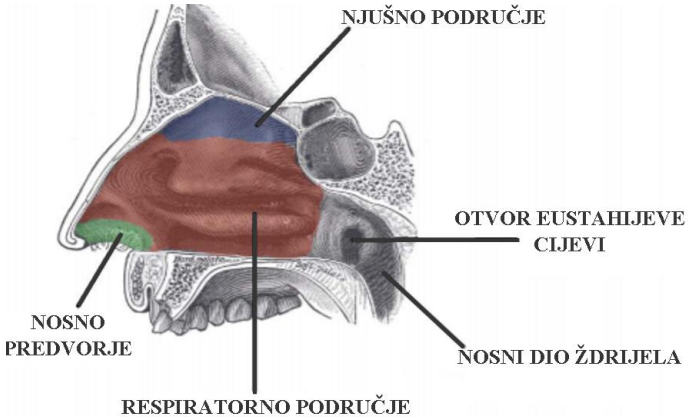
šupljinu gdje se dijeli i inervira gornji prednji dio nosne šupljine i nosne pregrade, te prednji dio nosne stijenke i dio nosnih školjki. Ogranci živca gornje čeljusti inerviraju donji stražnji dio nosne šupljine (dno nosne šupljine, gornji središnji, stražnji i donji dio nosne pregrade, stražnji dio gornje i srednje nosne školjke, dvije trećine donje nosne školjke i dr.). Za osjetilo njuha važan je njušni živac (lat. *n. olfactorius*) koji se svrstava u I. moždani živac i prolazi kroz bazu lubanje [14, 20]. On inervira gornji stražnji dio nosne šupljine (njušni dio) što je vidljivo na slici 5. U embrionalnom razvoju sluznicu nosne pregrade inervira vomeronazalni živac (lat. *n. vomeronasalis*) koji prolazi pokraj njušnog živca i kroz rešetnicu ulazi u pomoćni olfaktorni bulbus prednjeg dijela mozga [27].



Slika 5. Inervacija nosne šupljine [28].

2.2.1.2.1 Epitel nosne šupljine

Vanjski dio nosa prekriven je kožom, a nosna šupljina sluznicom. S obzirom na funkcionalne dijelove sluznice, nosna šupljina može se podijeliti na nosno predvorje, respiratorno i njušno područje (slika 6).



Slika 6. Osnovna područja nosne šupljine [29].

Područje gdje se nosna šupljina otvara prema vanjskom prostoru naziva se nosno predvorje (lat. *vestibulum nasi*) te je površine svega 0,6 cm^2 [18]. Epitel koji pokriva vanjsku stranu nosa ulazi u nosnice i oblaže prednji dio nosnog predvorja [31]. U epitelu predvorja nalaze se žlijezde lojnice, apokrine znojne žlijezde i dlačice koje filtriraju čestice veće od 10 μm iz zraka. Također, epitel je keratiniziran kako bi se smanjio utjecaj vanjskih čimbenika, ali to nepovoljno utječe na apsorpciju tvari u tom području. Slabo je prokrvljen i ima vrlo malu sposobnost permeabilnosti. Na prijelazu, kružnom grebenu, iz predvorja u unutrašnju nosnu šupljinu nalazi se područje zvano atrij [9]. Njega tvori slobodan rub velike krilne hrskavice (lat. *cartilago alaris major*). U atriju se nalazi 1,5 mm širok arterijski kapilarni splet koji se označava kao *locus Kiesselbachii* i najčešće je mjesto krvarenja nosa [20, 23]. Epitel atrija također je slabo prokrvljen i ima slabu moć permeabilnosti. Atrij predstavlja prijelaz višeslojnog keratiniziranog pločastog epitela u mukozni pseudostratificirani[1] cilindrični epitel s brojnim trepetljikama i vrčastim stanicama. Takav epitel nazva se respiracijski epitel, a poznat je kao Schneiderian-ova membrana te oblaže respiratorno područje nosne šupljine zajedno s paranazalnim sinusima [31].

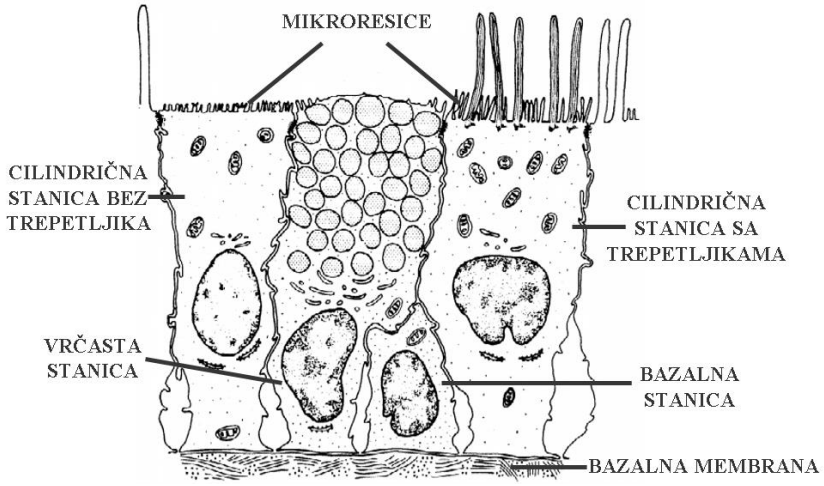
Respiratorno područje sa svojom površinom od oko 130 cm^2 zauzima najveću površinu nosne šupljine, oko 80-90 %. Zbog velike površine i dobre permeabilnosti, najveći dio apsorpcije lijeka intranazalnom primjenom s ciljem sistemskog učinka odvija se preko ovog epitela [32]. Respiratorni epitel sastoji se od 4 tipova stanica (slika 7) koje omogućuju aktivne procese kao što su izmjena iona i vode, vlaženje sluznice i pokretanje trepetljika. Tipovi stanica su:

- cilindrične stanice sa ili bez trepetljika – 15 do 20 % respiratornog epitela prekriveno je trepetljikama koje su ravnomjerno raspoređene po površini stanica [33]. Te stanice sadrže brojne mitohondrije koji daju energiju u obliku adenozin trifosfata (ATP) potrebnu za pokretanje trepetljika [34]. Trepetljike su širine od 0,1 do 0,3 μm, a dugačke od 5 do 10 μm s prosječnom gustoćom od 6 do 8 trepetljika po μm^2 [35]. Najveća gustoća trepetljika je na područjima sa sporijim protokom zraka (donji dio nosne šupljine) [32]. Na površini stanica također se nalazi veliki broj mikroresica koje efektivno povećavaju površinu respiratornog područja i pomažu u zadržavanju

[1] Jednoslojni epitel kojem sve stanice dodiruju bazalnu membranu, a jezgre tih stanica su na različitim razinama stvarajući iluziju slojevitosti [30].

vlažnosti [32]. Većina epitelnih stanica međusobno su povezane na apikalnoj površini s hidrofilnim unutarstaničnim spojevima čija su specijalizirana mjesta poznata kao čvrsti međustanični spojevi (engl. *tight junctions*). Ti spojevi sastoje se od okluzivnog spoja (*zonula occludens*), ispod kojeg je prianjajući spoj (*zonola adherens*), a posljednji su dezmosomi (*macula adherens*). Okluzivni spoj (često se naziva i čvrsti spoj) povezuje gornje apikalne citoskelete susjednih stanica i kontrolira difuziju iona i neutralnih molekula ograničavanjem paracelularnog transportnog puta [33]. Pretpostavlja se da su čvrsti međustanični spojevi nazalnog epitela približno čvrsti (možda i propusniji) kao i spojevi u crijevnom epitelu čiji električni otpor iznosi oko 260 Ω/cm^2. Općenito, električni otpor do 50 Ω/cm^2 predstavlja vrlo propusnu membranu, dok svi otpori iznad 1000 Ω/cm^2 karakteriziraju slabo propusne membrane, što sugerira da je nosni epitel vrlo propustan i pogodan za paracelularan transport [36].

- jednostanične mukozne žlijezde (vrčaste stanice) – glavna im je uloga izlučivanje sluzi [34]. Izlučivanje sluzi ne ovisi o parasimpatičkom živčanom sustavu nego o fizikalnim i kemijskim iritansima okoliša [37]. Veći broj vrčastih stanica nalazi se na stražnjem dijelu nosne šupljine, a srednja koncentracija je od 4000 do 7000 stanica po mm^2. Ultrastrukturne studije pokazale su da postoje prekidi čvrstih međustaničnih spojeva između vrčastih stanica što može imati značaj kod apsorpcije lijekova [37].
- bazalne (kratke) stanice – leže na bazalnoj membrani koja čini zadebljali sloj kolagenih vlakana i dijeli epitel od lamine proprije. Ne dopiru do apikalne površine epitela, te predstavljaju matične stanice koje imaju sposobnost dijeljenja i diferencijacije u druge stanice [34, 37]. Pretpostavlja se da imaju i ulogu u prianjanju cilindričnih stanica za bazalnu membranu [35]. Bazalna membrana u nosnoj šupljini u odnosu na druge dijelove tijela karakteristična je po većoj propusnosti [38].
- unutarepitelni limfociti i mastociti – imaju ulogu u prepoznavanju i uklanjanju stranih antigena. Mastociti otpuštaju upalne medijatore koji reagiraju sa čvrstim međustaničnim epitelnim spojevima i povećavaju njihovu propusnost [38].

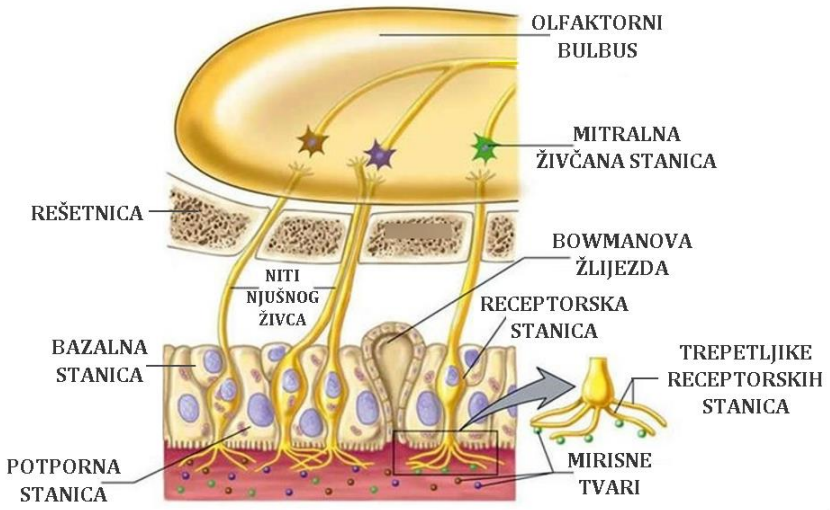


Slika 7. Dijagram presjeka respiratornog epitela dobiven transmisijskom elektronskom mikroskopijom [37].

Ispod respiracijskog epitela, točnije ispod bazalne membrane nalazi se lamina proprija koja predstavlja tanak sloj vezivnog tkiva. Bogata je krvnim žilama (uključujući i vrlo propusne kapilare), živcima, žlijezdama, limfnim žilama i imuno stanicama [39].

Respiratorno područje u gornjem stražnjem dijelu prekida malo njušno područje (lat. *pars olfactoria*) koje prekriva dio gornje nosne školjke, gornji dio nosne pregrade i horizontalnu ploču rešetnice. Zbog svog položaja čini jedini neuroepitel kojim je SŽS direktno povezan s okolinom putem njušnog živca. Također, nosni epitel je povezan sa SŽS-om i putem ogranaka trigeminalnog živca. Dimenzija njušnog područja varira ovisno o individui. Prema [40] pretpostavlja se da zauzima 1 do 5 cm^2 površine nosne šupljine, dok se u radu [41] navodi da ljudsko njušno područje zauzima 2 do 12,5 cm^2 što je otprilike 1,25 do 10 % ukupne površine nosne šupljine. Svojom žuto-smeđom bojom razlikuje se od respiratornog dijela nosne šupljine koje je crvenkaste boje [20]. Debljina njušnog epitela je oko 80 μm, a debljina lamine proprije iznosi oko 200 μm [42]. Prikaz presjeka njušnog epitela vidljiv je na slici 8. Slično kao i respiratorno područje građen je od pseudostratificiranog cilindričnog epitela koji dodatno sadrži receptorske stanice s trepetljikama koje su važne za njušni osjet [43]. Receptorske stanice s trepetljikama vitki su bipolarni, uglavnom nemijelinizirani, neuroni sa staničnim tijelima koji svoje dendrite šalju prema epitelnoj površini sluznice. Svrstavaju se u receptore vezane za G protein. Kako se dendrit približava apikalnoj površini epitela on se sužava s 2 μm na 0,1 – 0,7 μm, a na njegovoj apikalnoj strani nalazi se modifikacija dendrita, tj. mirisni mjehurić s nepokretnim mirisnim trepetljikama na kojima su kemijski detektori [44, 45]. Trepetljike su nepokretne zbog nedostatka Mg^{2+} ATP-aze koja je važna za stvaranje energije potrebne za pokretljivost. Aksoni njušnih receptorskih

stanica protežu se kroz rešetnicu u olfaktorni bulbus na kojeg se vežu za dendrite mitralnih živčanih stanica [45]. Njušni put se dalje nastavlja iz olfaktornog bulbusa prema čeonom režnju pa do hipotalamusa, amigdale i hipokampusa [13]. Tih receptorskih stanica ima u izobilju, a približna gustoća im je oko 30 000 receptora po mm^2 epitela [45]. Receptorske njušne stanice okružene su potpornim stanicama. Potporne stanice su cilindrične stanice s trepetljikama koje leže na bazalnoj membrani, a trepetljikama izbivaju na apikalnu površinu epitela. Glavna funkcija im je održavanje mehaničke potpore receptorskim stanicama, reguliranje ionskog okruženja površine sluznice te se smatraju izvorom enzima koji razgrađuju ksenobiotike [44]. Veze između receptorskih i potpornih stanica čine čvrsti međustanični spojevi kao i kod respiratornog dijela sluznice. Bazalne stanice smještene su na bazalnoj membrani i ne dodiruju apikalnu stranu epitela. Te stanice imaju sposobnost preobraziti se u njušne receptorske stanice kako bi ih zamijenile [33]. Ta preobrazba događa se svakih 30 do 60 dana kada dođe do apoptoze receptorskih stanica. Tijekom zamjene stanica dolazi do kašnjenja u stvaranju čvrstih međustaničnih veza što stvara povećanu propusnost epitela [36]. Također, s godinama sama površine njušnog epitela smanjuje se i nadomješta s respiratornim epitelom što uzrokuje smanjenje osjeta njuha [13]. Za osjet njuha vrlo su važne i serozne žlijezde (Bowmanove žlijezde) koje se nalaze u lamini propriji i pod kontrolom su parasimpatičkog živčanog sustava. One luče mukoznu tekućinu u kanale koji ju provode kroz epitel na površinu. Na površini ta mukozna tekućina sudjeluje u otapanju mirisnih tvari.

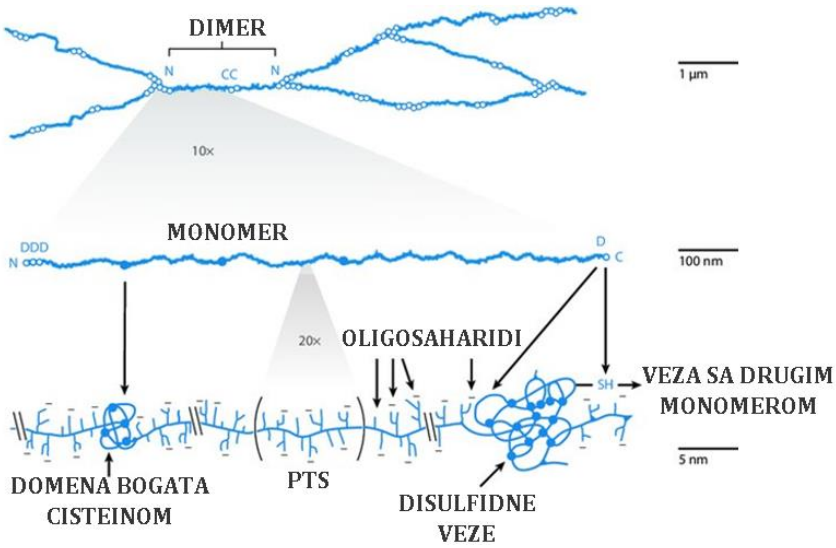


Slika 8. Dijagram presjeka njušnog epitela [46].

U lamini propriji osim seroznih žlijezda nalaze se žile, limfne žlijezde i neuroni. Njušni živci se u lamini propriji okružuju s glija stanicama i grupiraju u male živčane snopove zvane fila

olfactoria. Svaki od malih živčanih snopova zajednički se označuje kao njušni živac iako nije zajednički obavijen kao ostali živci [20]. Glija stanice omogućuju zaštitu živca i razmake između aksona u veličini od 10 do 15 nm koji služe kao ionski spremnici za širenje akcijskog potencijala i ograničavaju perineuralan transport molekula u olfaktorni bulbus. Neuronski snopovi obloženi glija stanicama prolaze poroznu rešetnicu i spajaju se s dendritima mitralnih stanica u olfaktornom bulbusu u malim nakupinama zvanim glomeruli što je vidljivo na slici 8. Iz glomerula aksoni mitralnih stanica nastavljaju dalje u njušni trakt [47].

Nosni epitel prekriven je sluzi koju izlučuju vrčaste i serozne žlijezde. One egzocitozom izlučuju kondenzirane granule sluzi koje se, kada dođu na površinu epitela, rastvaraju u visokoelastičan gel zahvaljujući glikoproteinima koji u vodi čine elastični, viskozni i zaštitni gel [37]. Opisuje se kao visokoelastičan iz razloga što pokazuje ponašanje koje nije Newtonovo, tj. posjeduje viskoznost tekućine, a elastičnost krutine. Elastično svojstvo je važno kako bi se sluz dovoljno opustila za pokretanje, a viskoznost omogućuje prihvaćanje prijenosa energije s trepetljika [35]. Nosna sluz uglavnom se sastoji od vode (95 %), mucina (2,5-3 %), elektrolita (2 %), bjelančevina, lipida, enzima, protutijela, zaostalih epitelnih stanica i bakterijskih proizvoda [43]. Veličina pora sluzi varira do 150 ± 50 nm što omogućuje kretanje čestica unutar tih dimenzija [48]. Stabilizirana je fizičkim zapletima povezanim nekovalentnim i kovalentnim interakcijama, uključujući i vodikove, elektrostatičke, hidrofobne i mnoge druge interakcije koje utječu na visokoelastičnost sluzi [35]. Viskoznost sluzi približno iznosi 1,8 ± 1,7 Pas, te je vrlo ovisna o sastavu mucina [48]. Mucin je skupina glikoproteina velike molekularne mase od kojih su u nosnom sekretu najdominantniji MUC5B i MUC5AC [49]. Karakteristično svojstvo im je vrlo velika hidrofilnost. Mucinska vlakna (slika 9) izgrađena su od O-vezanih glikoproteina s ponavljajućim proteinskim domenama bogatim prolinom, treoninom i serinom, zvanim „PTS“ domene. Te „PTS“ domene jako su glikozilirane s gustoćom ugljikohidrata većom od 70 % što doprinosi dobrom zadržavanju vode. Sadrže i domene bogate cisteinom kod kojih su izražene disulfidne veze i strukturno čine gustu petlju. Glikozilacija uglavnom uključuje N-acetilgalaktozamin, N-acetilglukozamin, fruktozu, galaktozu, sijalnu kiselinu, te male količine manoze i sulfata [48].



Slika 9. Struktura glikoproteina mucina [50].

U seroznim žlijezdama ioni kalcija sudjeluju u kondenzaciji mucina tako što štite negativne naboje sulfata i sijalinske kiseline, a izlaskom mucina na površinu epitela dolazi do oslobađanja negativnog naboja na lancima što rezultira povećanjem volumena sluzi i povećanja krutosti zbog odbijanja naboja. Također, steričke interakcije N-acetilgalaktozamina doprinose strukturi mucina, kao i visoki udio cisteina koji tvori intradisulfidne veze [48].

Nazalna dostava lijekova ograničena je i enzimskom aktivnosti nosne sluznice. Jedan od najvažnijih oksidativnih enzima uključenih u metabolizma lijekova je porodica izoenzima citokroma P-450. Katalitička aktivnost u njušnom području je veća nego u respiratornom dijelu nosne sluznice, a općenito je veća od aktivnosti u bilo kojem drugom tkivu. S obzirom na koncentraciju tog enzima, nosna sluznica može se svrstati odmah iza jetre. Relativno visoka koncentracija i katalitička aktivnost tog enzima služi kao zaštitni mehanizam sluznice protiv ksenobiotika. Reakcije citokroma P-450 mogu rezultirati nastankom reaktivnih epoksida koji se neutraliziraju epoksid hidroksilazama, najviše prisutnim u respiratornom dijelu nosne šupljine. U nosnoj sluznici prisutne su i karboksilaze koje imaju važnu ulogu kod isporuke lijekova na bazi estera karboksilnih kiselina [51]. Također, prisutna je i monoamin oksidaza koja oksidira monoamine u aldehide koje onda aldehid dehidrogenaza prevodi u karboksilne kiseline [19]. Za ubrzanje reakcije pretvorbe ugljične kiseline prisutne u nosnom epitelu u ugljični dioksid odgovoran je enzim karboanhidraza. Enzim koji pokazuje veliku aktivnost u citosolu stanica je glutation transferaza. Taj enzim djeluje detoksicirajuće tako da pretvara elektrofilne reaktivne metabolite u bezopasne konjugate

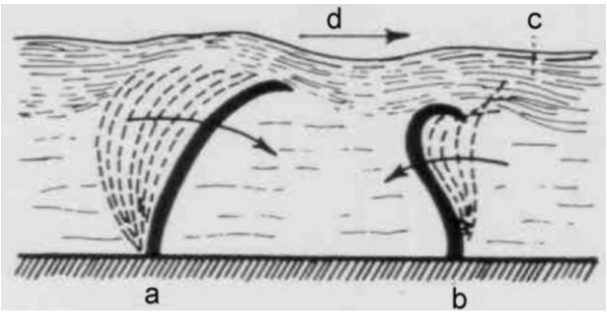
glutationa. Sluznica nosne šupljine također sadrži i proteaze koje sudjeluju u razgradnji proteina [51]. U njušnom epitelu prisutni su i prenosioci kao što su P-glikoproteini koji su prisutni i u BBB, a odgovorni su za efluks lijekova i drugih stranih tvari iz stanica.

2.2.1.2.2 Mukocilijarni transport

Epitel nosne sluznice prekriven je sluzi kako bi se zaštitio od vanjskih čimbenika i zadržao vlažnost. Prolaskom zraka kroz nosnu šupljinu on se čisti i vlaži kako bi se omogućilo donjem respiratornom sustavu primanje zraka očišćenog od nepoželjnih čestica. Tako će se čestice veličine od 10 μm uklonit MCC-om, a za čestice manje od 2 μm postoji mogućnost ulaska u donje dišne puteve [13].

MCC je sustav usklađenih pokreta sluzi i trepetljika koji uklanja čestice prašine i nečistoće iz dišnog sustava i postupno ih pomiče prema nazofarinksu i ždrijelu iz kojih se gutanjem odvode u želudac. MCC također je važan za osjet njuha tako što prenosi mirisne čestice do njušnog dijela sluznice gdje one dolaze u interakciju s receptorima [13].

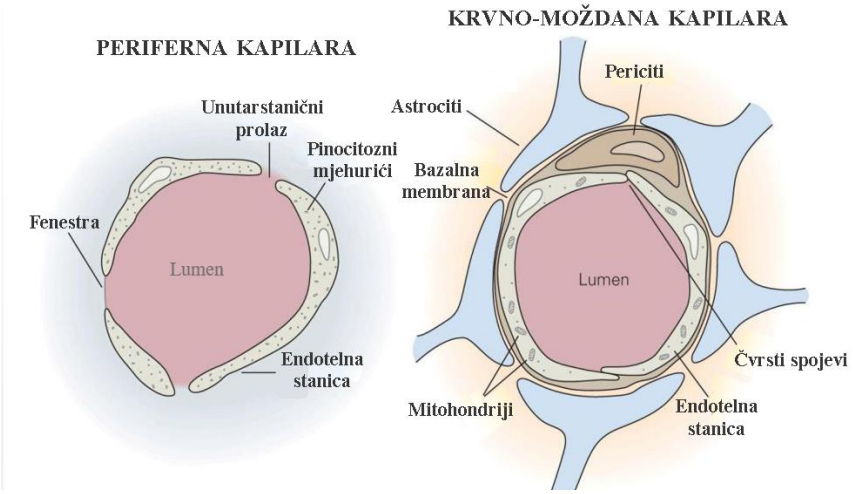
Sloj sluzi debeo je od 5 do 10 μm, a dijeli se na vanjski viskozniji, gelasti (2 – 4 μm) i unutarnji tekući sloj (3 – 5 μm) [46]. Sluz se kreće zahvaljujući pokretima trepetljika. Kretanje trepetljika (slika 10) sastoji se od brzog pokreta prema naprijed, gdje su trepetljike rastegnute, te dodiruju i pomiču vanjski viskozniji sloj i polaganog pokreta unatrag, gdje se trepetljike savijaju i ne dodiruju vanjski sloj što ne utječe na njegov transport. Kretanje se vrši u jednom zadanom smjeru, a to je prema ušćima sinusa i prema nazofarinksu. Brzina protoka sluzi, tj. MCC-a mjerena saharinskim testom iznosi oko 5 mm po minuti, a okvirno vrijeme potrebno da se sluz zamijeni s novom sluzi iznosi 15 do 20 minuta [52].



Slika 10. Kretanje trepetljika i sluzi. a) brzi pokret prema naprijed; b) polagani pokret prema natrag; c) vanjski viskozni sloj sluzi; d)kretanje sluzi [47].

2.2.2 Difuzija lijeka u SŽS

SŽS predstavlja dio živčanog sustava koji uključuje mozak i leđnu moždinu. Sudjeluje u koordinaciji aktivnosti svih dijelova tijela, a glavna uloga mu je umna aktivnost, te procesiranje, integracija i formiranje odgovora na informacije dobivene iz perifernih živaca. Mozak je vrlo osjetljiv organ koji je zaštićen i izoliran od vanjskog okruženja. Obavijaju ga tri moždane ovojnice (tvrda, paučinasta i meka moždanica), a između meke i paučinaste moždanice je subarahnoidni prostor ispunjen cerebrospinalnom tekućinom (eng. *cerebrospinal fluid*, CSF) koja sprječava veće pomake mozga, štiti ga i čini lakšim. Meka moždanica obavija samu površinu mozga i leđne moždine te sadrži krvne žile koje dovode tvari potrebne za normalan rad SŽS-a [53]. Za formiranje krvnih žila koje opskrbljuju mozak odgovorne su stanice čija se svojstva opisuju izrazom BBB. BBB sastoji se od endotelnih stanica, bazalne membrane i dodatnog sloja stanica koje ih okružuju (periciti, astrociti). Na slici 11 jasno se mogu vidjeti razlike između perifernih i krvno-moždanih kapilara.



Slika 11. Usporedba presjeka perifernih i krvno-moždanih kapilara [54].

Endotelne stanice BBB-e razlikuju se od drugi endotelnih stanica u mnogim svojstvima kako bi čvrsto regulirale protok tvari kroz BBB-u [55]. Njihova najveća razlika je u sposobnosti regulacije difuzije koja je prikazana na slici 12. Karakterizira ju ograničen paracelularan prolaz hidrofilnih molekula [56]. Hidrofilne molekule teško prolaze BBB-u jer je skoro vodootporna pa ju stoga samo mali broj molekula može proći. Male, hidrofilne molekule i plinovi difundiraju u SŽS kroz pore koje čine čvrsti međustanični spojevi, paracelularno, pasivnom difuzijom. Takve molekule kreću se niz koncentracijski gradijent, bez utroška energije i bez pomoći transportera [57]. Veće molekule ograničene su prolaskom kroz čvrste međustanične spojeve koji propuštaju samo nenabijene čestice do 4 nm što

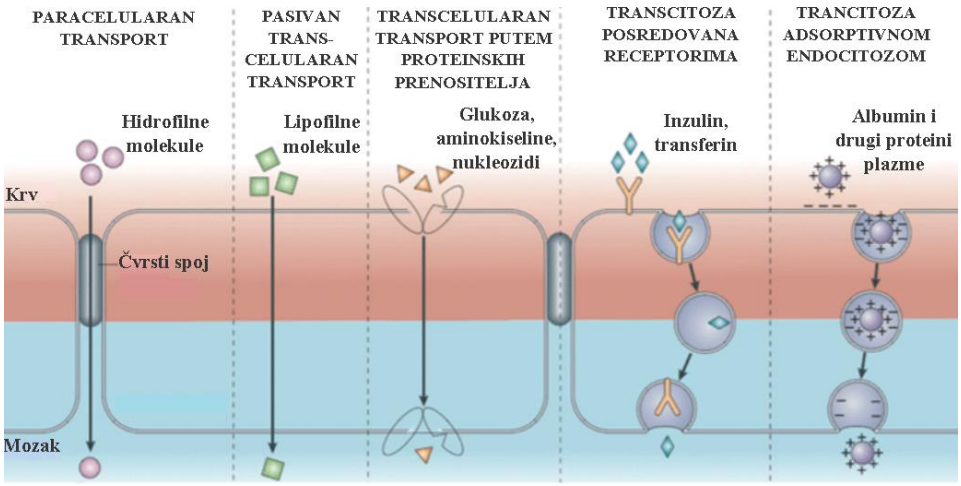
rezultira značajno većim transendotelnim električnim otporom (1500 – 2000 Ω/cm²) za razliku od otpora kapilarnih stanica u drugim tkivima [43, 55]. Uzrokovanjem puknuća čvrstih međustaničnih spojeva može se omogućiti paracelularan prolaz većim molekulama i lijekovima. To je moguće postići lokalnim rastom temperature (38 – 39 °C), osmotskim djelovanjem (hipertoničnom otopinom manitola), aktivacijom adenozinskih receptora, elektromagnetnim radijacijama ili ultrazvukom [58]. Endotelne stanice ne posjeduju međustanične rascjepe, pinocitozne mjehuriće, pore i druge otvore koji smanjuju selektivnost membrana perifernih kapilara, ali sadrže veći broj mitohondrija koji utječu na poboljšani transport ovisan o energiji [59]. Njezina površina negativno je nabijena što negativno utječe na prijenos negativno nabijenih molekula [56].

Koeficijent propusnosti BBB-e direktno je proporcionalan topljivosti molekule u lipidima. Mali lipofilni lijekovi, opijati, kisik, ugljikov dioksid i alkohol kreću se pasivnom difuzijom niz koncentracijski gradijent, ali i transcelularnim transportom (prijenos kroz endotelne stanice) jer se izravno otapaju u lipofilnoj membrani i difundiraju velikom brzinom [57, 60].

Određivanje sposobnosti difuzije može se vršiti na temelju sposobnosti otapanja u lipidima. Odnos topljivosti u lipidima i propusnosti dobar je, ali nije uvijek točan pokazatelj sposobnosti difuzije zbog prisutnosti selektivnih transportera i enzimskih sustava membrane. Tako bi npr. fenobarbitali i fenotoini, koji se koriste u liječenju antikonvulzivnih poremećaja, trebali brzo prijeći BBB i početi svoje djelovanje, ali zbog vezanja za proteine plazme i slabe topljivosti u krvi njihov unos u SŽS manji je od očekivanog [59]. Glukoza bi, na temelju svoje topljivosti u lipidima, trebala imati manji unos u SŽS nego što stvarno ima [59]. Razlog dobre sposobnosti prijenosa glukoze je prijenos transcelularnim transportom uvjetovanim koncentracijom specifičnih transportera na membrani koji omogućuju olakšanu difuziju tvari (pasivna difuzija pomoću proteinskih nosača bez utroška energije i niz koncentracijski gradijent).

Transcelularan transport dijeli se na već navedeni pasivan prijenos (jednostavnom i olakšanom difuzijom), aktivan prijenos (proteinski nosači koji koriste energiju za prijenos tvari) i na transcitozu (endocitozom se stvara membranski mjehurić koji se prenosi do suprotne strane stanice gdje otpušta svoj sadržaj egzocitozom). Pasivnim prijenosom kroz endotelne stanice prenose se hidrofilne molekule male molekulske mase kao što su glukoza, nukleozidi i aminokiseline [57]. Prijenos nosačima događa se uglavnom kod molekula

manjih od 500 Da [58]. Makromolekule kao što su peptidi i proteini prenose se transcelularno transcitozom čija je stopa manja nego kod neneuralnih endotelnih stanica [55]. Sama transcitoza razlikuje se na transcitozu kod koje je endocitoza posredovana receptorima (transport inzulina, transferina, proteini > 600 Da) i adsorptivnu endocitozu koja služi za neselektivan prolaz proteina plazme koji su pozitivno nabijeni [57]. Adsorptivna endocitoza odvija se kada pozitivno nabijen spoj može inducirati izraženu i lokaliziranu disrupciju integriteta membrane plazme. Disrupciju membrane može se inducirati kationskim premazom, poput kitozana, na molekuli koju se želi unijeti adsorptivnom endocitozom [58].



Slika 12. Mogući prijenosni putevi kroz BBB-u [57].

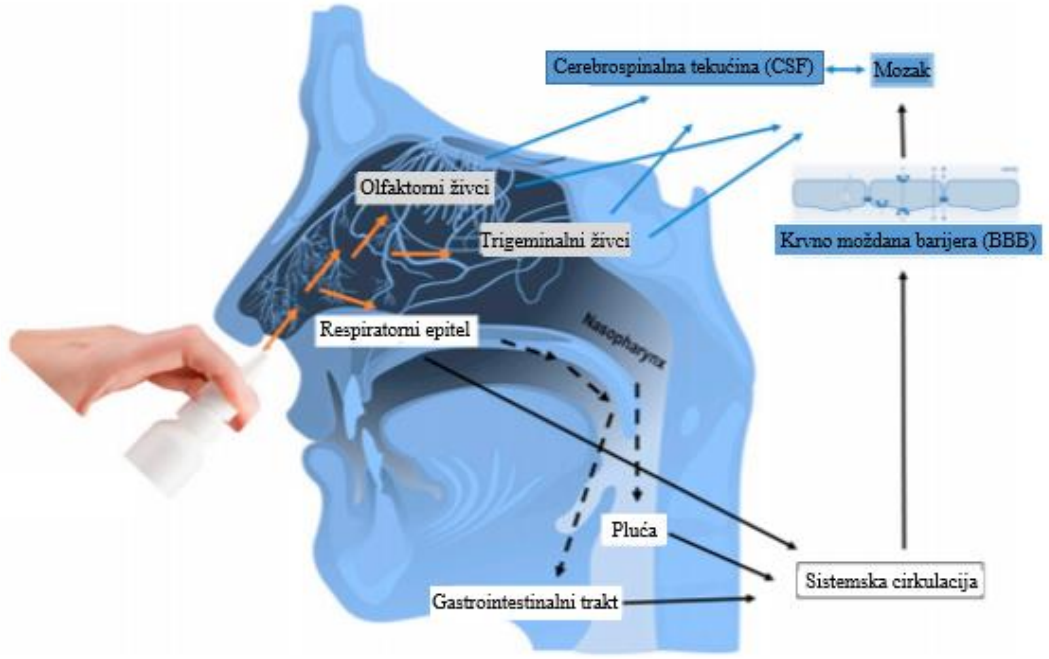
Osim selektivne propusnosti BBB-e problem kod prijenosa lijekova imaju transportni sustavi koji vrše kontrolu nad kretanjem iona i molekula između krvi i mozga. Tipovi transportnih sustava su efluksni prijenosnici (eng. *efflux transporters,* ETs) i visoko specifični prijenosnici hranjivih tvari (eng. *highly specific nutrient transporters*, NTs). ETs sudjeluju u aktivnom prijenosu u krv velikog broja lipofilnih molekula koje bi inače mogle difundirati kroz BBB-u [55, 61]. P-glikoproteinska pumpa je ET prisutan u BBB-i kojeg karakterizira veći afinitet prema kationskim i lipofilnim lijekovima. Također, ET P-glikoproteinska pumpa ima veći afinitet prema većini lijekova male molekularne mase (npr. nitrozourea) [61]. Pretpostavlja se da je gotovo polovica lijekova supstrat P-glikoproteinskoj pumpi što rezultira smanjenim potencijalom za sustavno prodiranje lijeka u mozak [43, 55]. NTs su specifični transporteri koji prenose hranjive tvari iz krvi u SŽS te služe i za odvodnju otpadnih produkata iz SŽS-a u krvotok [55, 61]. Ioni potrebni za ionsku ravnotežu kontrolirano se prenose ionskim kanalima i nosačima. Transport hormona, toksina i patogena

ograničen je kao i transport imunoloških čimbenika kako bi se mozak zaštitio od mogućih oštećenja [58].

Navedena histološka i transportna svojstva koja razlikuju BBB-u od membrana perifernih kapilara objašnjavaju vrlo selektivnu propusnost te membrane. Koncentracija i učinkovitost mnogih lijekova, koji se apliciraju tradicionalnim putem, dolaskom do BBB-e se smanjuje, a prolaskom kroz BBB-u samo mali dio lijeka dospije u SŽS. Iz tog razloga, kako bi se dobio zadovoljavajući učinak, potrebno je unijeti više lijeka nego što ga je stvarno potrebno u SŽS-u. Intranazalni administracijski put predstavlja drugačiji način primjene koji skraćuje sam put od primjene lijeka do njegovog djelovanja što dovodi do potrebe za manjom unesenom dozom lijeka, ali i manjim nuspojavama.

2.2.3 Intranazalni putevi u SŽS

Nakon prolaska mukozne sluzi lijek se prenosi od nosnog epitela do mozga jednim putem ili kombinacijom različitih puteva ovisno o molekularnim karakteristikama lijeka, formulaciji, dostavnom uređaju i nizu drugih čimbenika [63]. Mogući putevi intranazalne dostave prikazani su na slici 13.



Slika 13. Putevi intranazalne dostave [63].

Neizravan put intranazalne dostave lijeka uključuje apsorpciju kroz visoko vaskularan dio epitela te ulazak lijeka u sistemsku cirkulaciju. Apsorpcija u sistemsku

cirkulaciju odvija se uglavnom u respiratornom dijelu epitela koji je dobro prokrvljen. Prije apsorpcije kroz epitel lijek se mora oduprijeti MCC, enzimima i drugim uvjetima nosne šupljine [44]. Lijek koji zaostane na sluznici, tj. ne uspije se apsorbirati kroz epitel MCC-om se prenosi u pluća ili GI trakt gdje će se ili eliminirati ili apsorbirati u krvotok i raspodijeliti po tijelu. Dio lijeka koji je ušao u sistemsku cirkulaciju može dospjeti do BBB-e gdje se ako je moguće odvija prijenos u SŽS. Takvim putom uglavnom se prenose male lipofilne ili modificirane molekule koje lako transcelularnim transportom difundiraju kroz epitel i ulaze u sistemsku cirkulaciju iz koje će lako proći kroz BBB-u [44]. Prijenos lijeka iz sistemske cirkulacije do mozga može se odvijati preko žilnog pleksusa[2] koji se sastoji od spleta vena, živaca i limfnih žila. Žilni pleksus oblažu ependimske stanice koje služe za ultrafiltraciju krvne plazme [65]. U tom pleksusu, koji čini krvno – CSF-u barijeru, gotovo sve male i velike molekule prodiru iz sistemske cirkulacije u CSF-u brzinom obrnuto proporcionalnom molekularnoj masi tvari. Iz CSF-e samo mali dio lijekova može ući u moždano tkivo zbog ograničene difuzije. Difuziju tvari iz CSF-e u moždano tkivo ograničava i mikrocirkulacija CSF-e [66]. Mikrocirkulacija se opisuje kao pojam koji uključuje proizvodnju CSF-e unutar komora mozga (brzina stvaranja oko 0,35 mL/min), protok kroz subarahnoidni prostor i ulaz u arahnoidne resice [65, 66]. Te resice su izdanci paučinaste moždanice koji ulaze u tvrdu moždanicu i omogućuju prijenos tvari iz CSF-e u perifernu cirkulaciju. Iz periferne cirkulacije lijek može ući putem BBB-e u mozak [66].

Alternativan put koji zaobilazi GI trakt i jetreni metabolizam je protustrujni prijenos lijekova iz venske cirkulacije nosa u arteriju glave koja opskrbljuje mozak i leđnu moždinu. Takvim putem lijek može brzo dospjeti do BBB-e i ući u moždano tkivo. Za takav put relevantna su istraživanja provođena samo na životinjama [44, 63].

Dostava lijeka u SŽS može se odvijati i putem njušnog epitela. Ovaj transportni put može se podijelit na neuronske i epitelne puteve. Neuronski put je direktan dostavni put u mozak neuronskom projekcijom koja zaobilazi BBB-u. Lijek ulazi u živac i odlazi u olfaktorni bulbus odakle se dalje distribuira po SŽS-u [44]. Gottofrey i Tjälve (1991) proveli su ispitivanje transporta radioaktivno označenog kadmija u njušnom živcu štuke. Dinamiku protoka u njušnom živcu određivali su gama spektrometrijom i autoradiografijom. Dobili su rezultate da je brzina transporta $^{109}Cd^{2+}$ 2,38 ±0,10 mm/h pri 10 °C što je spor transport [67]. Lorenzo (1970) je proveo ispitivanje neuronskog transporta koloidnih čestica zlata u

[2] Specifična anatomska struktura koja proizvodi CSF-u unutar komora mozga [64].

njušnom živcu vjeveričastih majmuna. Zlato je lokalizirano pomoću elektronskog mikroskopa. Čestice zlata dospjele su u olfaktorni bulbus 30 do 60 min nakon njihove primjene, a izračunata brzina transporta je 2,5 mm/h [68]. Osim putem njušnog živca neuronski transport vrši se i putem trigeminalnih ogranaka koji inerviraju njušni i respiratorni dio epitela. Trigeminalan put usmjeren je kao i njušni put kroz rešetnicu u prednji dio mozga, ali i u moždani most iz kojeg se lijek može prenositi u stražnji dio mozga [69]. S obzirom da njušni put i put trigemninalnog transporta ulaze zajedno u prednji dio mozga teško je sa sigurnošću odrediti putem kojeg živca se lijek distribuirao [62]. Neuronskim transportom dokazano je da se prenose i proteini kao što su IGF-1 (faktor rasta 1 sličan inzulinu) i WGA-HRP (aglutinin pšeničnih klica konjugiran s peroksidazom hrena) [44]. Uz navedene provedeno je niz studija na životinjama koje su dokazale da je neuronski transport moguć, ali sam mehanizam je u većini slučajeva vrlo spor i neučinkovit. U radu [36] navodi se da bi sam neuronski transport trebao trajati 45 minuta bez vremena potrebnog za ulazak i izlazak tvari iz živca [70]. Također neuronski transport može dovesti do akumuliranja tvari u živcima što može rezultirati degenerativnim oštećenjima i nekrozom stanica [71].

Za razliku od neuronskog transporta, transport kroz njušni epitel smatra se značajnije bržim i efikasnijim kod prijenosa tvari u SŽS. Takav put dokazan je za mnoge spojeve (inzulin, faktor rasta živaca, lidokain i dr.) [44]. Apsorpcijom lijeka kroz njušni dio epitela lijek difundira u bazalnu membranu iz koje ulazi u laminu propriju. Iz lamine proprije lijek se može direktno i brzo prenositi kroz praznine koju okružuju živčani put u SŽS, ili se može apsorbirati u lokalne žile iz kojih ulazi u sistemsku cirkulaciju. Također u lamini propriji prisutne su i limfne žile koje mogu apsorbirati lijek i odvest ga u duboke limfne čvorove vrata koji su povezani sa CSF-om što omogućuje put lijeka u moždano tkivo [70].

2.2.4 Postojeći oblici lijekova za intranazalnu dostavu i uređaji za njihovu administraciju

Prema definiciji Hrvatske farmakopeje pripravci za nos su tekući, polučvrsti ili čvrsti pripravci namijenjeni za primjenu u nosnoj šupljini kako bi se postigao sustavni ili lokalni učinak [72]. Komercijalno dostupni farmaceutski oblici za nazalnu primjenu su kapi i sprejevi za nos, prašci za nos, gelovi i masti za nos, vodice (vodene izotonične otopine koje su uglavnom namijenjene čišćenju nosne šupljine) i štapići za nos [9]. Od navedenih vrsta glavna su tri oblika - tekuće, praškaste i gelaste formulacije.

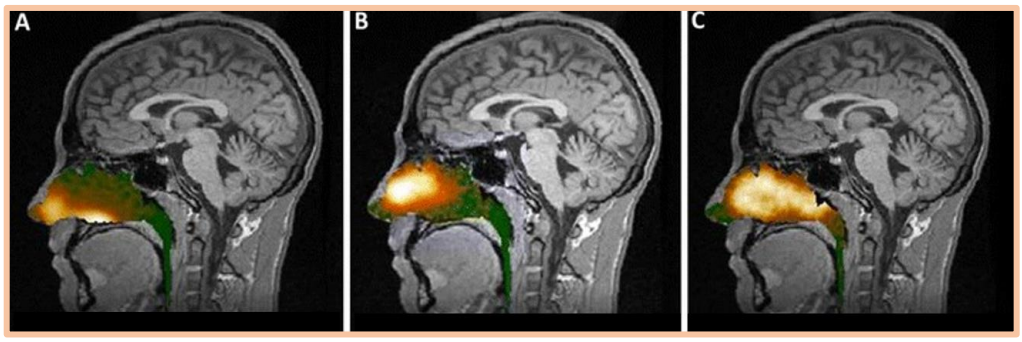
Tekuće formulacije su uglavnom suspenzije, vodene otopine ili emulzije. Glavni problem koji se veže za tekuće formulacije je upotreba konzervansa kako bi se onemogućio mikroban rast, što duljom upotrebom može izazvati iritaciju sluznice. Također dulja upotreba formulacije s konzervansima može ometati MCC. Osim mikrobiološke stabilnosti upitna je i kemijska stabilnost otopljenog lijeka i vrijeme zadržavanje formulacije u nosnoj šupljini [73]. Najstariji način primjene tekućih formulacija je putem kapi zbog jednostavnosti pripreme i primjene. Kapi uglavnom dolaze u višedoznim bočicama s dozatorom, a zbog smanjene pouzdanosti primijenjene doze nisu prikladne za sistemsku dostavu lijeka. Bolja preciznost unesene doze može se kontrolirati jednodoznim kapima koje se proizvode kontinuiranim procesom oblikovanja, punjenja i zatvaranja spremnika koji omogućuje sterilno okuženje [9]. Takav način pakiranja i upotrebe mikrobiološki je povoljan što isključuje upotrebu konzervansa. Kapi za nos mogu se primijeniti i pomoću katetera kod koji se vrh cjevčice stavlja u nos, a drugi kraj se stavlja u usta te se ispuhivanjem zraka lijek unosi u nosnu šupljinu. To je vrlo nezgodan način upotrebe ali u nekim zemljama koristi se kod davanja dezmopresina koji se koristi kod liječenja noćne enureze[3], von Willebrandove bolesti i diabetesa insipidus[4] [9]. Tekuće formulacije koje se primjenjuju putem sprejeva omogućuju reproducibilnost primijenjene doze i kontinuiranu veličinu kapljica što daje uvid u količinu formulacije unesene u nosnu šupljinu [74]. Mehanički sprejevi za nos mogu biti u obliku boca za stiskanje koje se sastoje od mekane plastike s otvorom kojim se omogućuje stvaranje mlaza. One se koriste uglavnom kod dekongestiva, a količina doze koja se ispušta putem mlaza ovisi o snazi stiskanja bočice. Problem ovog uređaja je nesigurnost unesene doze, mjesto depozicije i mogućnost kontaminacije uvučenim zrakom ili nosnim sekretom. Kako bi se osigurala točno definirana doza i svojstva raspršenog oblaka osmišljanje su višedozne pumpice sprejeva s odmjerenom dozom. Te pumpice sastoje se od pumpice s ventilom, spremnikom i aktivatorom na vrhu pumpice čiji oblik definira mjesto željene depozicije lijeka. U pumpici se nalazi komora koja služi za odmjeravanje volumena doze. Tradicionalne pumpice nadoknađuju ispuštenu tekućinu zrakom što uvodi potrebu korištenja konzervansa. Kako bi se zaobišla upotreba konzervansa konstruirani su sprejevi s kugličnim ventilom koji onemogućuju kontaminaciju aktivatora, zračnim filterom koji pročišćava unesen zrak, ili s pomičnim klipom ili plinom koji kompenziraju istisnuti zrak. Takvi sustavi postaju sve složeniji i skuplji što ograničava njihovu proizvodnju. Jednodozni sprejevi

[3] Bolesno stanje kod kojeg dolazi do noćnog mokrenja.
[4] Stanje nedovoljne razine antidiuretskog hormona.

razlikuju se od višedoznih u principu aktivacije. Koriste se kod skupih lijekova i cjepiva koji su namijenjeni jednokratnoj ili privremenoj primjeni gdje je od izrazite važnosti volumen istisnute doze. Sastoje se od staklene bočice, klipa i vrtložne komore. Raspršenje se stvara kada pripravak iz bočice uđe u vrtložnu komoru. Na tržištu su dostupni jednodozni uređaji za lijekove Imitrex (sumatriptan) i Zomig (zolmitriptan) koji se koriste kod liječenja migrene i Fluenz nazalno cjepivo protiv influence tipa A i tipa B [75]. Za primjenu aerosola koriste se atomizatori. Oni koriste komprimirane plinove ili ultrazvučnu ili mehaničku energiju za razbijanje pripravka u manje kapljice aerosola. Primjenom atomizatora povećava se depozicija lijeka u gornjim uskim dijelovima nosne šupljine [9]. Glavni problemi atomizatora su odlaganje čestica preparata u plućima i relativno mala količina lijeka koja dospije na željeno mjesto. ViaNase^{TM} je baterijski uređaj koji raspršuje tekućinu stvarajući vrtložni tok kapljica pri izlasku iz uređaja. Primjenom ovog uređaja omogućuje se dostava lijeka u cijelu nosnu šupljinu uključujući sinuse i njušni dio epitela. Klinička korist ovog uređaja je dokazana u nazalnoj isporuci inzulina kod liječenja Alzheimerove bolesti, ali primijećeno je da se dio lijeka odlaže u pluća što uzrokuje iritaciju dišnog puta. Uređaj koji je razvila tvrtka Impel generira aerosol pomoću dušika pod visokim tlakom. On omogućuje dostavu lijeka u gornje dijelove nosne šupljine kako bi se lijek mogao dostaviti njušnim epitelom u mozak. Do danas su za taj uređaj provedene samo studije na životinjama što otežava procjenu njihove efikasnosti kod ljudske nosne šupljine [75]. SipNose nova je tehnologija koja se temelji na komprimiranom zraku i mehaničkom raspršivanju koje generira aerosol i isporučuje ga u gornji dio nosne šupljine (područje njušnog epitela i/ili trigeminalnog živca). Sposobna je isporučiti veliku količinu lijeka i ne zahtjeva posebne vještine za korištenje. Ta tehnologija trenutno je pod kliničkim istraživanjima s lijekovima za Parkinsonovu bolest, demenciju, epilepsiju i regeneraciju vidnog živca [76].

Okvirno u jednu nosnicu moguće je primijeniti oko 150 μL tekuće i 50 mg praškaste formulacije. Praškaste formulacije uglavnom se formuliraju kod lijekova koji imaju nedostatak stabilnosti. Prikladne su za peptidne i nepeptidne lijekove, te im nije potrebno dodavanje konzervansa i skladištenje na niskim temperaturama. Korištenjem različitih polimera kao nosioca praškastih formulacija omogućuje se produljenje kontakata lijeka sa sluznicom čime se može poboljšati bioraspoloživost i propusnost lijeka. Neki nedostaci ovih formulacija su mogućnost iritacije sluznice i cijena zbog optimizacije morfologije i veličine čestica [77]. Na mjesto depozicije praškastih formulacija utječu veličina i oblik čestica, gustoća, reološka svojstva i dr. Uređaji za nazalnu primjenu prašaka mogu se podijeliti na

mehaničke raspršivače, inhalatore aktivirane udahom i insuflatore. Mehanički raspršivači sadrže kompresibilnu komoru koja stvara tlak zraka čijim se otpuštanjem stvara oblak raspršenih čestica. Postoje višedozni s manjom preciznošću i jednodozni s većom preciznošću doza. Inhalatori koji se aktiviraju udahom još se nazivaju i pasivnim sustavima jer bolesnici snagom vlastitog udaha inhaliraju prašak u nosnu šupljinu. Aptar pharma razvila je inhalatore na bazi blistera koji se koriste tako da se prije upotrebe mjehurić koji sadrži praškasti preparat probuši i nastavak za nos se stavi u jednu nosnicu. Nakon toga, prstom se zatvori druga nosnica, te pacijent udahne prah. Takvi inhalatori omogućuju ciljanje direktnog unosa lijeka u SŽS [75]. Nazalni insuflatori sastoje se od dijela koji se stavlja u usta i dijela koji se stavlja u nos. Ispuštanjem zraka dolazi do zatvaranja nepca i prijenosa čestica praha u nosnu šupljinu. Tvrtaka OptiNose razvila je Bi-Directional™ tehnologiju insuflatora koja omogućuju depoziciju tekućih i praškastih formulacija u dubljim dijelovima nosne šupljine što omogućuje dostavu preparata na njušni dio epitela. Ta tehnologija osigurava rad raspršivača samo pri stvaranju pritiska dovoljnog za zatvaranje nepca [9]. Utvrđeno je da se s tom tehnologijom dobiva bolja depozicija u stražnjim dijelovima nosne šupljine nego kod sprejeva kod kojih je depozicija uglavnom u prednjim dijelovima šupljine. Distribucija ovom tehnologijom veća je kod tekućih nego kod praškastih formulacija (slika 14), vjerojatno zbog vremena potrebnog da se prašak otopi u nosnom sekretu, ali nakon otapanja prijenos praškastih formulacija bio je brži nego kod tekućih [75].



Slika 14. Podaci o snimci gama kamere 2 minute nakon primjene preparata. A) raspon distribucije tekuće formulacije primijenjene sprejom; B) raspon distribucije praškaste formulacije primijenjene Bi-Directional™ tehnologijom; C) raspon distribucije tekuće formulacije primijenjene Bi-Directional™ tehnologijom [75].

Gelaste formulacije svrstavaju se u polukrute pripravke kod kojih je lijek raspršen u polimernim matricama. To su otopine ili suspenzije visoke viskoznosti. Obilježava ih niz pozitivnih učinka, kao što su smanjenje MCC-a što omogućuje dulje zadržavanje lijeka na sluznici, smanjenje istjecanja preparata i utjecaja okusa kod gutanja zbog visoke viskoznosti,

smanjenje iritacije korištenjem pomoćnih tvari umirujućeg učinka, te pojačanje kontakata sluznice s preparatom što utječe na bolju apsorpciju. Na mjesto taloženja gela utječe način primjene jer se zbog svoje viskoznosti slabo razmazuje po nosnoj šupljini. Gelovi se mogu unositi u nosnu šupljinu pomoću štrcaljki i pomoću pumpa koje omogućuju točno doziranje. Trenutno dostupan gel za sistemsko liječenje je gel koji sadrži vitamin B_{12} [73].

2.3 Bolesti i lijekovi za liječenje bolesti SŽS-a

SŽS upravlja svim svjesnim i nesvjesnim aktivnostima tijela tako da bolesti tog sustava predstavljaju veliki problem kako ljudskog tako i životinjskog svijeta. Bilo koji poremećaj u kompleksnom radu SŽS-a može dovesti do niza različitih bolesti koje se manifestiraju različitim simptomima. Mnogobrojne bolesti SŽS-a mogu se općenito podijeliti na vaskularne, zarazne, demijelinizirajuće i ostale bolesti SŽS-a. S obzirom na raznolikost i mnogobrojnost čimbenika koju uzrokuju bolesti vezane za SŽS ovo je samo jedna i ne stroga podjela koja u grubo daje uvid u bolesti SŽS-a. Vaskularne bolesti uključuju akutne poremećaje cirkulacije u mozgu koji dovode do moždanog udara, te kronično zatajenje mozga koje se događa zajedno s kardiovaskularnim bolestima i hipertenzijom. Nastaju zbog poremećaja u krvnoj opskrbi mozga, oštećenja cerebralnih žila i zbog kardiovaskularnih bolesti [78]. Vrlo poznata vaskularna bolest je vaskularna demencija koja nastaje zbog otvrdnuća krvnih žila koje opskrbljuju mozak što dovodi do gubitka moždanih funkcija i nastanka demencije. Cerebralna tromboza (embolija) i ishemijski moždani udar vaskularne su bolesti koje nastaju blokiranjem arterije koja opskrbljuje mozak krvnim ugruškom [79]. Zarazne bolesti predstavljaju infektivne bolesti kao što su upala membrane mozga i leđne moždine (meningitis), upala mozga koju uzrokuje virus (encefalitis), akutno oboljenje uzrokovano poliovirusom (dječja paraliza), infekcija SŽS-a sifilisom (neurosifilis) i mnoge druge bolesti. Demijelinizirajuće bolesti uključuju bolesti vezane za oštećenje mijelinske ovojnice živaca. Jedna od najčešćih je multipla skreoza koja dovodi do propadanja mijeliskih ovojnica što rezultira oštećenjem živaca. U ovu skupinu svrstava se i poremećaj mozga koji uzrokuju konvulzivne napade (epilepsija), upala SŽS-a uz koju se pojavljuje propadanje mijelinske ovojnice (encefalomijelitis) i mnoge druge bolesti [78]. U ostale bolesti SŽS-a mogu se svrstati genetske bolesti, psihoemocionalni poremećaji, tumori, bolesti nastale zbog trauma i drugo. U genetske bolesti ubrajaju se Alzheimerova bolest (propadanje moždanih stanica, može biti posljedica genetskih predispozicije, traume ili drugo), Parkinsonova bolest (kronični neurološki poremećaj koji nastaje propadanjem neurona potrebnih za lučenje

dopamina), Huntingtonova bolest (neurodegerativni nasljedni poremećaj koji uzrokuje kognitivne i motoričke poremećaje), Downov sindrom (genetski poremećaj u kromosomima koji utječe na mentalne i fizičke funkcije). Niz bolesti prate psihoemocionalni poremećaji koji se razvijaju zbog negativnog učinka okoline ili genetike. U te poremećaje uključuju se kroničan umor, panični poremećaj, halucinacije, paranoje, iskrivljene slike svijeta. Shizoferenija je jedan od ozbiljnih psihoemocionalnih poremećaja koji otežava normalno funkcioniranje čovjeka. Nastaje kao posljedica različitih čimbenika kao što su nasljeđivanje gena za shizofreniju, trauma, virusne infekcije i drugo. Tumori SŽS-a dijele se na maligne (zloćudni) i benigne (dobroćudni). Za nastanak tumora odgovorni su razni čimbenici kao što su traume, genetski čimbenici, kemijski agensi ,virusi, zračenja i drugo. Tumori se dodatno mogu podijeliti na temelju stanica iz kojih se razvijaju. Tako postoje gliomi koji nastaju iz potpornih stanica SŽS-a od kojih je najagresivniji glioblastom koji nastaje iz astrocita. Tumori nastali iz stanica moždanica zvani meningeomi uglavnom su dobroćudnog karaktera. Mogu se razviti i tumori kranijalnih i perifernih živaca, tumori hipofize, zametnih stanica, tumori iz limfatičkog sustava i mnogi drugi [80]. Uz navedene bolesti postoji još niz drugih oboljenja SŽS-a koja narušavaju normalno funkcioniranje organizma.

Nakon utvrđivanjem simptoma i bolesti potrebno je na temelju saznanja u što kraćem roku propisati tijek liječenja. Terapija bolesti SŽS-a većinom je dugotrajna i s upitnim ishodom. Lijekovi koji se djeluju na SŽS mogu se podijeliti na:

- opće anestetike – koriste se kod uvođenja pacijenta u reverzibilno nesvjesno stanje. Dijele se na inhalacijske i intravenozne. Anestetici djeluju tako da se vežu na različite receptore u SŽS-u što uzrokuje promjene u funkciji ionskih kanala. Te promjene utječu na prijenos impulsa među neuronima. Neki od inhalacijskih anestetika su halotan, dušikov oksid, izofluran i sevofluran. Haloton je jako lipofilan lijek koji se zadržava u mozgu i masnim tkivima pa je njegov učinak dugotrajniji od manje lipofilnih lijekova kao što su izofluran i sevofluran [81]. Intravenozni anestetici karakterizirani su brzim i kratkim djelovanjem. Najznačajniji intravenozni anestetici su barbiturati (tiopental, pentobarbita), a osim njih koriste se i etomidat, midazolam, propofol, ketamin i drugi [82].
- lokalne anestetike – koriste se za reverzibilno blokiranje osjeta određenog područja. Većina sadrži lipofilnu grupu (uglavnom aromatski prsten) povezanu s hidrofilnom aminskom skupinom koja regulira ionizacijsko stanje anestetika. Središnji lanac čini esterska ili amidna skupina. Na temelju središnjeg lanca dijele se na aminoestere

(kokain, prokain, benzokain, oksibuprokain) i aminoamide (lidokain, prilokain, etidokain, trimekain). Mehanizam njihovog djelovanja temelji se na reverzibilnom blokiranju natrijevih kanala u živčanim stanicama što u konačnici dovodi do zaustavljanja provođenja živčanog impulsa [83].

- analgetike – koriste se u liječenju bolova. Dijele se na opioidne i ne-opioidne (analgetici-antipiretici). Opioidni analgetici djeluju vezanjem na postsinaptičke i presinaptičke opoidne receptore (receptori spregnuti s G-proteinima). Na postinaptičkom neuronu olakšavaju otvaranje kalijevih ionskih kanala uzrokujući hiperpolarizaciju, dok na presinaptičkom neuronu inhibiraju otvaranje kalcijevih ionskih kanala što inhibira otpuštanje neurotransmitera. Neki od opoidnih analgetika su alkaloidi opijuma i polusintetski derivati (morfin, diacetil-morfin, kodein, tramadol i dr.), te sintetski derivati (metadon, buprenorfin, pentazocin i dr.) [84]. Opioidni analgetici uglavnom uzrokuju ovisnost i imaju jače djelovanje od ne-opioidnih koji ne stvaraju ovisnost. Ne-opioidni analgetici dijele se na nesteroidne protuupalne lijekove (ibuprofen, naproksen, diklofenak, ketoprofen, indometacin, salicilati i dr.) i druge ne-opioidne analgetike (paracetamol, metamizol) [85].
- antiepileptike – lijekovi za liječenje simptoma epilepsije. Djeluju na različite načine kako bi suzbili abnormalna električna izbijanja neurona. Lijekovi koji inhibiranjem kalcijevih kanala djeluju na smanjenje električnih izbijanja neurona su valproat, lamotrigin, etosukcimid, pregabalin. Jedni od inhibitora natrijevih kanala čijim inhibiranjem se blokira daljnje širenje akcijskih potencijala su karbamazepin, fenitoin, oksakarbazepin, lamotrigin, valproat. Antiepileptici koji smanjuju glutamatnu aktivnost su fenobarbital, topiramat, fenitoin i dr. Pojačivači aktivnosti GABA[5] receptora su klonazepam, lorazepam, diazepam, valproat, fenobarbital i dr. Također postoje lijekovi koji drugim mehanizmima prikazuju antiepileptički učinak kao što je levetiracetam koji djeluje vezanjem za određeni transporter kako bi utjecao na otpuštanje neurotransmitera [86].
- antiparkinsonike – koriste se u liječenju Parkinsonove bolesti koja se karakterizira poremećajima u pokretima kao što su drhtanje, ukočenost mišića, poremećaj ravnoteže i dr. To je neurodegenerativna bolest koja dovodi do propadanja neurona bogatih melatoninom odgovornih za proizvodnju neurotransmitera dopamina. Dopamin sudjeluju u upravljanu dijelova SŽS-a odgovornih u koordinaciji i

[5] Receptori osjetljivi na neurotransmiter gama-aminobutansku kiselinu.

upravljanju pokreta, tako da njegov nedostatak dovodi do simptoma karakterističnih za Parkinsonovu bolest. U liječenju te bolesti koriste se dopaminski prekursori (L-dopa), antagonisti acetilkolina (biperiden, triheksifendil), agonisti dopaminergičkih receptora (bromokriptin, pramipeksol, ropinirol i dr.), inhibitori enzima monoaminoksigenaze (MAO-e) i katehol-O-metiltranferaze (COMT-e) (rasagilin, selegilin, entakapon, tolkapon) i drugi kao što je amantadin [87].

- antipsihotike – skupina su lijekova koji se koriste u liječenju shizofrenije, psihoze, anksioznosti i drugih duševnih bolesti. Jedan od razloga nastanka takvih bolesti je povećana koncentracija dopamina u SŽS-u, stoga je glavni mehanizam djelovanja antipsihotika blokiranje dopaminskih D_2-receptora. Antipsihotici uz inhibiranje D_2 receptora neposredno djeluju i na druge neurotrasmiterske receptore, GABA-u, glutamatni sustav i ekspresiju gena. Antipsihotici se mogu podijeliti na tipične (konvencionalni) i atipične (antipsihotici novije generacije) koji se razlikuju s obzirom na vrstu nuspojava koje uzrokuju. Tipični antipsihotici su promazin, haloperidol, klorpromazin, flufenazin i tioridazin. Oni uglavnom uzrokuju simptome slične Parkinsonovoj bolesti. Atipični antipsihotici su aripiprazol, klozapin, kvetiapin, olazapin, risperidon i drugi. Atipični antipsihotici uzrokuju znatno manje nuspojava vezanih za motoriku i koordinaciju, međutim većina uzrokuje metabolički sindrom[6] [88].
- anksiolitike – lijekovi koji se koriste u ublažavanju blažih anksioznih poremećaja i depresije. Svrstavaju se u benzodiazepine (alprazolam, bromazepam, diazepam, medazepam, oksazepam i dr.) koji potiču vezanje GABA-e na GABA receptore kako bi došlo do otvaranja kloridnih kanala [90]. Ulaskom klorida u stanicu ona postaje otporna ne depolarizaciju, tj. podražaj. Osim benzodiazepina koriste se i zolpidem, koji pokazuje dobro djelovanje na nesanicu, i selektivni inhibitori ponovnog unosa seratonina kao što su citalopram, paroksetin i sertralin. Danas se rutinski koriste β-blokatori (atenolol i propranolol) [91].
- sedative i hipnotike - lijekovi su koji smiruju i uvode u san. U manjim dozama djeluju deprimirajuće na SŽS što smiruje pacijenta, a u većim dozama dovode do hipnoze, tj. do stanja sna. Prema kemijskom sastavu dijele se na benzodiazepine (flurazepam, lorazepam, midazolam, nitrazepam), barbiturate (ciklobarbiton, fenobarbiton,

[6] Skupina metaboličkih poremećaja kao što su rezistencija na inzulin, nakupljanje masnog tkiva, povišen kolesterol i krvni tlak [89].

metilfenobarbiton) i ostale sedative i hipnotike kao što su kloral hidrat, bromidi, biljni preparati od valerijane [90].

- psihoanaleptike - skupina su lijekova koji se koriste u liječenju duševnih bolesti. Dijele se na antidepresive, psihostimulanse i lijekove protiv demencije. Antidepresivi su mehanizmom djelovanja i kemijskom strukturom vrlo različiti lijekovi kojima je cilj otkloniti depresiju. Različitim mehanizmima povećavaju koncentraciju neurotransmitera u sinaptičkoj pukotini [90]. Neki od antidepresiva su amitriptilin, doksepin, fluvoksamin, paroksetin i velafaksin [92]. Psihostimulansi djeluju pobuđujuće na SŽS, tj. smanjuju pospanost i umor, a pojačavaju budnost. Neki od psihostimulansa su atomoksetin, kofein, metilfenidat i piracetam. Kod uzimanja većih doza može doći do razvoja ovisnosti [93]. Lijekovi protiv demencije su lijekovi koji liječe skup umnih poteškoća koje su rezultat odumiranja živčanih stanica. Simptomi demencije su poteškoće u pamćenju i govoru, gubitak interesa, smetnje spavanja, oštećenje intelektualnih sposobnosti i mnoge druge poteškoće. Najčešći tip demencije su Alzheimerova bolest i vaskularna demencija. Kod većine demencija lijeće se samo simptomi bolesti a neki od lijekova koji se koriste su inhibitori kolinesteraze (donepezil, rivastigmin, galantamin), antagonisti N-metil-D-aspartat (NMDA) receptora (memantin) i ekstrakt lista ginka [93].
- ostale lijekove s djelovanjem na SŽS – u njih se svrstavaju sve druge vrste lijekova koje se koriste za liječenje SŽS-a a nisu navedene u prethodnim skupinama. Neki od ostalih lijekova su parasimpatomimetici koji djeluju na aktivnost parasimpatičkog dijela autonomnog živčanog sustava čija je odgovornost provođenje izlaznih signala SŽS-a (distigmin, neostigmin, betanekol), lijekovi za liječenje ovisnosti (nikotin, bupropion, disulfiram, metadon) i sredstva protiv vrtoglavice (betahistin, flunarizin) [92].

Neki od komercijalno dostupnih lijekova za liječenje bolesti SŽS putem intranazalne primjene navedeni su u tablici 1.

Tablica 1. Komercijalno dostupni intranazalni sustavi za liječenje SŽS-a.

PROIZVOD	OBLIK	LIJEK	DJELOVA-NJE	DATUM ODOBRENJA	IZVOR
Spravato	Otopina	Esketamin	Antidepresiv	18. prosinca 2019.	[94]

Imigran	Otopina	Sumatriptan	Liječenje akutnog napada migrene	12. svibnja 2015.	[95]
Cjepivo protiv pandemijske gripe H5N1 AstraZeneca	Suspen-zija	Presloženi virus influence	Gripa	20. svibnja 2016.	[96]
PecFent	Otopina	Fentanil	Liječenje naglih napad boli	31. kolovoza 2010.	[97]
Zomig sprej za nos	Otopina	Zolmotriptan	Migrena	19. rujna 2002.	[98]
Minirin	Otopina	Dezmopresin acetat	Liječenje centralnog dijabetes insipidusa i testiranje renalne sposobnosti koncentracije	30. studenog 2015.	[99]

3. RACIONALNI DIZAJN SUSTAVA ZA NAZALNU DOSTAVU

Racionalan dizajn je široko primjenjiv pojam koji se može definirati kao strategija za dizajniranje novih ili dorađivanje postojeći sustava, objekata ili aktivnosti koja se temelji na steknutim znanjima vezanim za ciljano područje. Često je potpomognut računalnim modeliranjem koje olakšava uvid u kompatibilnost racionalnog dizajna s fizičkim modelom. Za određivanje sustava koji ima cilj omogućiti dostavu lijeka u SŽS intranazalnim putem potrebno je dobiti kompatibilnost sustava sa samim lijekom i ciljanim područjem, tj. njušnim dijelom epitela nosne sluznice. Kako bi se to postiglo potrebno je proučiti karakteristike lijeka i mogućnosti prolaska sustava kroz njušni dio epitela.

3.1 Svojstva lijekova za liječenje bolesti SŽS

Lijekovi za liječenje bolesti SŽS-a razlikuju se po fizikalno-kemijskom svojstvima. O tim svojstvima ovisit će njihova difuzija kroz sluznicu i odabir odgovarajućeg sustava za intranazalnu dostavu lijeka. Sama sluznica je pretežno lipofilnog karaktera, te su lipidni dijelovi od važnog značaja za apsorpciju lijekova. Stoga se apsorpcija lijekova kroz membranu nosne sluznice povećava povećanjem lipofilnosti lijeka. Lipofilni lijekovi pokazuju farmakokinetički profil apsorpcije kroz nosnu sluznicu približan farmakokinetičkom profilu intravenozne primjene lijekova [100]. Brojni lipofilni lijekovi kao što su testosteron, buprenorfin i nalokson pokazuju potpunu ili skoro potpunu mogućnost apsorpcije kroz nosni epitel u studijama provedenim na životinjama [101]. S obzirom da lijek mora proći tanak hidrofilan sloj sluzi kako bi došao do sluznice važno je da lijek nije previše lipofilan kako ne bi došlo do nedovoljne topljivosti u sluzi, a time i smanjenja apsorpcije kroz sluznicu nosne šupljine. Osim lipofilnog karaktera, sluznica sadrži i hidrofilan karakter koji omogućuju prijelaz hidrofilnim molekulama. Apsorpcija hidrofilnih molekula uglavnom je slaba i vrlo je ovisna o molekulskoj masi. Lijekovi molekulske mase manje od 300 Da mogu se vrlo brzo prenijeti kroz sluznicu neovisno o drugim fizikalno-kemijskim svojstvima [102]. Molekule takve molekulske mase uglavnom se prenose kroz vodene kanale ili direktno kroz membranu. Transport lijekova od 300 Da do 1000 Da ovisan je o mnogim faktorima. Tako se lijekovi lipofilnog karaktera s masom do 1000 Da brzo i efikasno transcelularno prenose pasivno kroz nosnu membranu, a prijenos molekula većih od 1000 Da bez pospješivača apsorpcije znatno je niži [100]. Tako bioraspoloživost proteina

i peptida bez pospješivača apsorpcije iznosi samo od 0,5 do 5 % [102]. Kod hidrofilnih lijekova postoji direktna korelacija između logaritma %-ak apsorbirane droge i logaritma molekulske mase [103].

Apsorpcija kroz membranu ne ovisi samo o molekulskoj masi i omjeru lipofilnosti i hidrofilnosti, već je ovisna i ionizacijskom stanju lijeka. Ionizacija lijeka ovisi o pK_a lijeka i o pH nosnog epitela. pH nosnog epitela kako je već navedeno u poglavlju 2.2.1.2., iznosi 5,5 – 6,5, ali ta vrijednost može varirati ovisno o bolesnim stanjima i okolišnim čimbenicima. Općenito, neionizirane molekule imaju bolju propusnost kroz membranu i sluz, za razliku od ioniziranih molekula [101]. Iz tog razloga ionizacija se vodi kao bitan čimbenik u regulaciji apsorpcije lijekova.

Uz navedene faktore važna je i stabilnost lijeka. S obzirom na kemijske uvjete u nosnoj šupljini važno je da lijek može biti stabilan u tim uvjetima. Na primjer, amorfin koji se daje intranazalno je osjetljiv na oksidaciju u vodenoj otopini. Kako bi se izbjegla degradacija amorfina, u vodenu intranazalnu formulaciju može se dodati antioksidans ili se može isporučiti lijek u obliku praha kako bi se smanjila brzina oksidacije lijeka [103]. Također i kemijskom formom lijeka može se utjecati na brzinu apsorpcije. Tako se na primjer, pretvorbom lijeka u oblik soli ili estera može povećati njegova mogućnost apsorpcije. U studiji koju su proveli Jadhav i suradnici (2007) pokazali su da se pretvorbom L-tirozina u ester karboksilne kiseline značajno povećava njegova mogućnost prolaska kroz nosnu sluznicu [101].

3.2 Farmaceutski učinkovita koncentracija

Unosom lijeka u organizam njegova se koncentracija mijenja jer se susreće s raznim preprekama koje se odnose na apsorpciju, raspodjelu, metabolizam i izlučivanje. Proučavanjem tih procesa bavi se farmakokinetika [104]. Kako bi lijek bio učinkovit potrebno je da dođe do mjesta djelovanja u koncentraciji dovoljnoj velikoj da dovede do biološkog odgovora, što se naziva farmaceutski učinkovitom koncentracijom.

Kod određivanja učinkovite koncentracije idealno bi bilo odrediti koncentraciju lijeka koja se nalazi na ciljanom mjestu djelovanja u određenom vremenu nakon primjene, ali takovo određivanje je često vrlo zahtjevno. Iz tog razloga određuje se vrijeme potrebno da lijek uđe u sistemsku cirkulaciju, tj. koncentracija lijeka u krvnoj plazmi što se opisuje kao bioraspoloživost. Koncentracija lijeka u plazmi proporcionalno je ovisna o frekvenciji

ponovljenih doza, a obrnuto proporcionalna njihovoj eliminaciji. Koncentracijski cilj svake terapije je postizanje koncentracije lijeka iznad minimalne učinkovite koncentracije i ispod minimalne toksične koncentracije lijeka u plazmi kako bi se osigurao terapijski efekt i izbjegla toksičnost. Kod primjene lijekova s djelovanjem na SŽS bitno je uočiti da prolaskom lijeka kroz nosni epitel i ulaskom u cirkulaciju koncentracija u krvi nije uvijek jednaka koncentraciji lijeka u SŽS-u. Razlog toga je ograničena i vrlo selektivna difuzija kroz BBB-u koja predstavlja prepreku prolaska lijeka iz krvotoka u SŽS. Odnos koncentracija u SŽS-u i krvi može se prikazati kao:

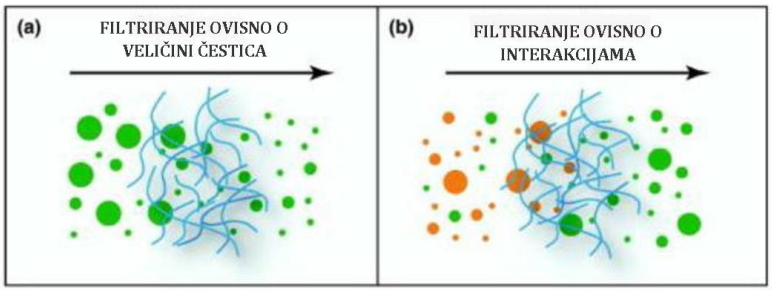
- pozitivna koncentracija ($C_K < C_{SŽS}$) – označava stanje u kojem je koncentracija lijeka u krvotoku (C_K) niža od koncentracije u SŽS-u ($C_{SŽS}$). Nastaje kao posljedica aktivnog transporta lijeka kroz BBB-u iz krvotoka u SŽS-u.
- ravnotežna koncentracija ($C_K = C_{SŽS}$) – označava izjednačavanje koncentracije lijeka u krvi s koncentracijom u SŽS-u. Takav odnos postiže se pasivnom difuzijom lijeka kroz BBB-u.
- negativna koncentracija ($C_K > C_{SŽS}$) – označava manju koncentraciju lijeka u SŽS-u nego u krvotoku zbog karakteristika lijeka koje smanjuju mogućnost prelaska kroz BBB-u.

Navedeni omjeri ovise o fizikalno-kemijskim karakteristikama lijeka. Glavni cilj kod liječenja bolesti SŽS-a je postići pozitivnu aktivnu koncentraciju kako bi se izbjeglo nepotrebna primjena velikih količina lijekova, a time bi se utjecalo i na smanjenje negativnih učinaka lijeka izazvanih nepoželjnim reakcijama lijeka u periferiji organizma. Učinkovitost difuzije kroz BBB-u može se pospješiti oklopljivanjem lijeka u odgovarajući sustav za transport.

3.3 Difuzija lijekova kroz njušnu površinu

Nosna šupljina, kao što je već navedeno, prekrivena je hidrofilnom sluzi koja predstavlja prvu barijeru prolaska i regulira propusnost intranazalno primijenjenog lijeka. Vrlo tanak sloj nosne sluzi ne predstavlja značajnu difuzijsku barijeru za razliku od sluzi u GI traktu gdje debljina sloja iznosi oko 500 μm. Koeficijent difuzije lijeka kroz sluz ovisi o relativnoj veličini molekule lijeka, veličini pora koje čine makromolekule mucina (150 ± 50 nm), te interakcijama između lijeka i mukoznih komponenti (slika 15). Male, nenabijene molekule koje ne stupaju u interakciju s mukoznim komponentama i antitijela prolaze kroz sluz

difuzijom usporedivom kao i difuzijom kroz vodu, dok kod velikih i nabijenih čestica to nije slučaj [105].



Slika 15. Shematski prikaz difuzije čestica kroz sloj sluzi. a) difuzija ovisna o veličini čestica, manje čestice brže prolaze kroz sluz a veće zaostaju u porama ili na površini sluzi; b) difuzija ovisna o interakcijama, narančaste su čestice koje stupaju u interakciju sa sluzi, a zelene čestice predstavljaju čestice koje ulaze u slabe interakcije sa sluzi što omogućuje bržu difuziju [48].

Kako bi se poboljšao prijenos kroz sloj sluzi mogu se koristiti mukoadhezivni i mukopenetrirajući nosioci. Mukoadhezivna sredstva omogućuju dulje zadržavanje lijeka pomoću interakcija s komponentama sluzi. Nedostatak takvih nosioca je osjetljivost na mukocilijaran transport i enzimsku razgradnju. Mukopenetrirajuća sredstva smanjuju interakcije sa komponentama sluzi što uzrokuje bolju raspodjelu i prodiranje čestica, ali mogu utjecati na oštećenje sluznice [50].

Nakon prolaska lijeka kroz sloj sluzi lijek dolazi na površinu epitela nosne šupljine. Difuzija kroz ciljani epitel (njušni dio epitela), može se podijeliti na tri moguća puta:

- paracelularan transport – označava pasivan prijenos lijeka putem međustaničnih veza čime lijek dolazi do lamine proprije. Kretanje čestica lijeka je u smjeru koncentracijskog gradijenta što znači da se čestice kreću s mjesta više koncentracije na mjesto niže koncentracije, bez utroška energije. Tim transportom uglavnom se prenose hidrofilne čestice male molekulske mase. Hidrofilne molekule s molekulskom masom do 1000 Da bez pojačivača apsorpcije pokazuju dobru bioraspoloživost, dok u prisutnosti pojačivača apsorpcije dobru bioraspoloživost pokazuju molekule do 6000 Da [106]. Regulacija paracelularnog transporta vrši se čvrstim međustaničnim spojevima koji ograničavaju propusnost molekula s hidrodinamičkim radijusom većim od 3,6 Å, a nepropusni su za radijuse od 15 Å. Sama propusnost čvrstih međustaničnih spojeva ovisna je o izvanstaničnoj ionskoj koncentraciji. Tako npr. kalcijevi ioni i druge kelirajuće tvari mogu kelirati s

okluzivnim spojevima i djelovati na njihovu propusnost tako da ih otvaraju i povećaju propusnost spoja [33]. Mistry i suradnici (2009) u svom radu naveli su da je najveća molekularna težina lijeka koja je paracelularno prošla nosni epitel, ali u vrlo malim količinama, bez dodataka pojačivača apsorpcije bila oko 50 kDa. Čak i kada se otvore čvrsti međustanični spojevi oni dosežu maksimalno 15 nm u promjeru, stoga se ne očekuje da će takvim transportom proći molekule veće od 150 kDa [47].

- transcelularan transport – je transport kroz potporne stanice putem endocitoze ili pasivne difuzije. Ovaj transport karakterističan je za prijenos lipofilnih molekula, te je ovisan o stupnju njihove lipofilnosti [106]. Male lipofilne molekule mogu se lako prenositi pasivnom difuzijom, dok se one veće i neke hidrofilne molekule prenose endocitozom. Endocitoza uključuje nekoliko molekularnih mehanizama kao što su makropinocitoza, endocitoza posredovana receptorima i fagocitoza. Makropinocitoza je mehanizam u kojem se aktinska vlakna umrežavaju i stvaraju ispupčenje. Zatvaranjem ispupčenja stvara se makropinosom (promjera 0,5 do 5 μm) koji preuzima izvanstaničnu tekućinu u stanicu. Endocitoza posredovana receptorom je endocitozni mehanizam u kojem se određena molekula veže za receptor na stanici i dovodi do stvaranja vezikula. Te vezikule mogu biti različitih veličina i oblika ali općenito se pretpostavlja da su promjera do 150 nm. Fagocitoza uključuje prijenos sličan makropinocitozi samo što fagocitoza služi za prijenos čvrstih čestica. Može biti potpomognuta klatrinom te služi za prijenos većih čestica (> 1 μm). Smatra se da u nosnom epitelu endocitoza fagocitozom ne doprinosi staničnom unosu terapijskih preparata [47].
- unutarstanični neuralan transport – je transport kod kojeg lijek prolazi kroz živac. Lijek ulazi u živac endocitozom ili pinocitozom. S obzirom da je promjer ljudskog njušnog živca od 0,1 do 0,7 μm samo čestice unutar tih dimenzija mogu se prenositi ovim putem [44]. Ulaskom molekule u živac endosom koji sadrži ulaznu molekulu prolazi kroz somu neurona i niz akson dolazi do sinaptičke pukotine gdje izlazi egzocitozom. Neke od molekula ulaskom u živac mogu proći kroz Golgijevo tijelo, a zatim se pomicati retrogradnim ili anterogradnim unutarstaničim transportom u obliku egzosoma. Retrogradni transport je transport prema tijelu neurona i uključuje protein dienin, dok je anterogradni transport prema krajevima neurona i uključuje protein kinezin [107].

Osim navedenih puteva značajan je i aktivan transport pomoću influksnih prenositelja poput transporter peptida (PEPT-1) za di-/tripeptide i sustav transportera L - aminokiselina koji prenose velike neutralne aminokiseline. Također, prisutni su i efluksni transporteri kao što je P-glikoprotein koji ograničava dostupnost lijekova kod intranazalne primjene [108].

3.4 Vrijeme zadržavanja i kinetika otpuštanja farmaceutski aktive tvari

Vrijeme zadržavanja lijeka i kinetika otpuštanja bitni su parametri kod intranazalne dostave lijeka koji utječu na difuziju lijeka kroz nosni epitel. Na smanjenje vremena zadržavanja lijeka velik utjecaj ima MCC. MCC, kako je već opisano, djeluje putem usklađenih pokreta sluzi i trepetljika i služi za uklanjanje čestica, a tako i unesenih lijekova, iz nosne šupljine. Brzina protoka sluzi je 5 mm po minuti, a ukupno vrijeme potrebno da se sluz zamijeni je od 15 do 20 minuta. Za pokretanje sluzi odgovorne su trepetljike koje svojim gibanjem usmjeruju sluz u nazofarinks i nosne sinuse. Prosječna frekvencija gibanja trepetljika kod sisavaca iznosi 15 – 20 Hz, dok je *in vitro* kod ljudi izmjereno oko 10 Hz. Ta frekvencija gibanja ovisna je o temperaturi, unutarstaničnom Ca^{2+}, cAMP i izvanstaničnom ATP-u [35].

Formulacija s lijekom unesena u nosnu šupljinu brzim se MCC-om uklanja iz nosne šupljine što smanjuje njezinu mogućnost apsorpcije kroz epitel. Kako bi se nadvladao taj problem formulacijama s lijekom modificira se površina mukoadhezivnim sredstvima. Mukoadhezivna sredstva ne narušavaju strukturu sluzi već se samo vežu za nju i time produljuju vrijeme zadržavanja što omogućuje bolju apsorpciju lijeka kroz nosni epitel. Zbog negativno nabijenih komponenta sluzi (sijalna kiselina) dobra mukoadhezivna svojstva prikazuju se kod kationskih agenasa koji stupaju u ionske interakcije i omogućuju zadržavanje na sloju sluzi. Također, kationski naboji pokazuju relativno veći unos kroz epitel putem endocitoze za razliku od anionskih tvari, ali da bi kationska čestica došla u interakciju s epitelom potrebno je da dođe do epitela što je moguće postići neutralnim ili anionskim premazima čestica [19]. Neka od mukoadhezivnih tvari su:

- kitozan – je prirodan kationski linearni polimer sastavljen od saharida. Sastoji se od deacetiliranog β-(1-4)-D-glukozamina i N-acetili-D-glukozamina [109]. Prikladan je polimer za intranazalnu dostavu zbog svoje sigurnosti, biorazgradivosti, biokompatibilnosti, mogućnosti produljenja vremena zadržavanja i niske cijene [58]. Dostupan je u različitim stupnjevima deacetilacije i različitim molekulskim masama, a najčešći oblik koji se koristi kod nazalnih pripravaka je kitozanska glutamatna sol

(Mr = 250 kDa, stupanj deacetilacije > 80 %) koja je topljiva u vodi do pH od oko 6,5. Kitozan je karakteriziran stvaranjem snažnih interakcija s epitelnim stanicama koje su negativnog površinskog naboja i nosnom sluzi čime se osigurava dulje vrijeme zadržavanja [52]. Vezanje za sluz događa se interakcijom protoniranih amina s negativno nabijenom sijalinskom kiselinom mucina [108]. Koristi se i kao pojačivač viskoznosti [109]. Također, pretpostavlja se da poboljšava paracelularan transport otvaranjem čvrstih međustaničnih spojeva [52].

- poliakrilna kiselina (PAA) – tržišnog naziva Carbopol polimer je anionski sintetički polimer akrilne kiseline velike molekulske mase. Njegovo umreženje postiže se upotrebom alil saharoze ili alil pentaeritritola. Različitom razinom umrežavanja i različitom viskoznošću postiže se odgovarajući kinetički profil otpuštanja lijeka [110]. Mukoadhezija PAA-e temelji se na fizičkim lančanim zapletima između polimera i mucinskih vlakana nakon čeka slijedi nastanak vodikovih ili ionskih veza. Povećanje jačine mukoadhezijskih svojstva može se postići tiolacijom PAA-e. Taj fenomen može se opisati stvaranjem disulfidnih veza između sulfhidrilnih skupina polimera i cisteinskih skupina mucinskih valakana [19].
- polisintetski derivati celuloze – kao što su metilceluloza (MC), hidroksietilceluloza (HEC), hidroksipropil celuloza (HPC), hidroksipropil metilceluloza (HPMC), karboksi metilceluloza (CMC) i netopivi derivat etilceluloza (EC). Njihova hidrofilnost može se poredati u rastući niz : HPC < MC < HPMC < HEC i CMC [111]. Pretpostavlja se da derivati celuloze povećavaju bioraspoloživost malih hidrofobnih i hidrofilnih makromolekula kod intranazalne primjene [112]. Derivati celuloze mogu produljiti vrijeme zadržavanja lijeka u nosnoj šupljini zbog poželjnog mukoadhezivnog i gelirajućeg svojstva. Njihova mukoadhezivna svojstva razlikuju se ovisno o pH medija. HEC i HPC prikazuju mukoadhezivna svojstva pri pH 7, dok se mukoadhezivna svojstva HPMC i CMC prikazuju pri pH 6 i pH 4 [19]. S obzirom na ionska svojstva HPMC, MC i HEC svrstavaju se u neionske polimere koji generalno slabo pokazuju mukoadhezivnost, dok je CMC anionski polimer koji pokazuje jača svojstva mukoadhezije putem hidrofobnih, vodikovih i van der Waals-ovih veza [113].
- pektin – je prirodni biorazgradivi i vodotopivi anionski heteropolisaharid. Sadrži okosnicu sastavljenu od jedinica galakturonske kiseline povezane α-1,4 vezama s komponentama neutralnih šećera (arabionza, galaktoza, ksiloza i dr.) u okosnici ili bočnim lancima [114]. Tvori gelove pri niskom pH zbog čega se koristi kao sredstvo

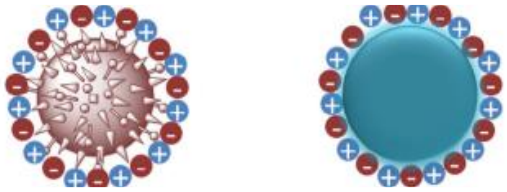
za geliranje i zgušnjavanje [108,115]. Također pektin u nekim slučajevima može poboljšati transport kroz epitel nosne šupljine zbog sposobnosti otvaranja čvrstih međustaničnih spojeva, ali to ovisi o karakteristikama lijeka koji se prenosi [109]. Dijeli se na nisko metoksilirani (stupanj esterifikacije ≤ 50%) i visoko metilirani (stupanj esterifikacije ≥ 50 %). O stupnju metoksilacije ovisi njegovo svojstvo mukoadhezije i svojstvo geliranja. Nisko metoksilirani pektini pokazuju jako dobro svojstvo mukoadhezije što je vjerojatno posljedica interakcije mucina s pektinom, a do geliranja dolazi u prisutnosti dvovalentnih kationa [109, 114]. Visoko metilirani pektini tvore termoreverzibilne gelaste strukture vezanjem sa šećerima i kiselinom pri vrijednostima pH oko 3 [116]. Mukoadhezivno svojstvo pektina može se poboljšati tiolacijom [19].

- škrob – je ugljikohidrat sastavljen od velike količine glukoze povezane glukozidnom vezom. Prirodan je i neutralan ugljikohidrat netopljiv u hladnoj vodi i alkoholu, a topljiv u toploj vodi. Karakterizira ga svojstvo geliranja i zgušnjava [115]. Pretpostavlja se da je učinkovit u poboljšanju apsorpcije malih hidrofobnih i hidrofilnih makromolekula lijekova kao i derivati celuloze [112].
- alginat – je prirodan biokompatibilan anionski kiseli polisaharid. Njegova se pK_a vrijednost procjenjuje na 3.5, a maksimalna viskoznost postiže kod vrijednosti pH od 5 do 9 [19, 115]. Pri zagrijavanju od 60 °C alginat depolimerizira što dovodi do gubitka viskoznosti [115]. Svoja jaka mukoadhezivna svojstva pokazuje u čvrstoj fazi putem vodikovih veza, hidratacije i geliranja. Dodatno poboljšanje mukoadhezivnih svojstva može se postići derivatizacijom na hidroksilnim i karboksilnim skupinama ili tiolizacijom [19].

Osim mukoadhezivnim sredstvima vrijeme zadržavanja može se produljiti mukopenetrirajućim sredstvima. Ona djeluju tako da olakšavaju prolaz čestice kroz sluz do epitela. Tako svojstvo uglavnom imaju neutralno nabijene tvari koje smanjuju interakciju sa sluzi. Njihovo djelovanje može se podijeli na aktivno i pasivno. Pasivno djelovanje uključuje sredstva koja ne ulaze u interakciju sa sluzi niti sa epitelom. Aktivno djelovanje mukopenetrirajućih sredstva temelji se na cijepanju podkonstrukcija sluzi [19]. Neka od pasivnih mukopentrirajućih sredstava su polietilen glikol (PEG) i poloksameri. PEG je hidrofilan neionski polimer [111]. Modificiranjem površine čestice s PEG-om može se postići smanjenje interakcija sa sluzi. Također, zbog svoje hidrofilnosti može omogućiti bolju topljivost hidrofobnih tvari u vodenom mediju. Njegova je mukopenetracija pasivna i

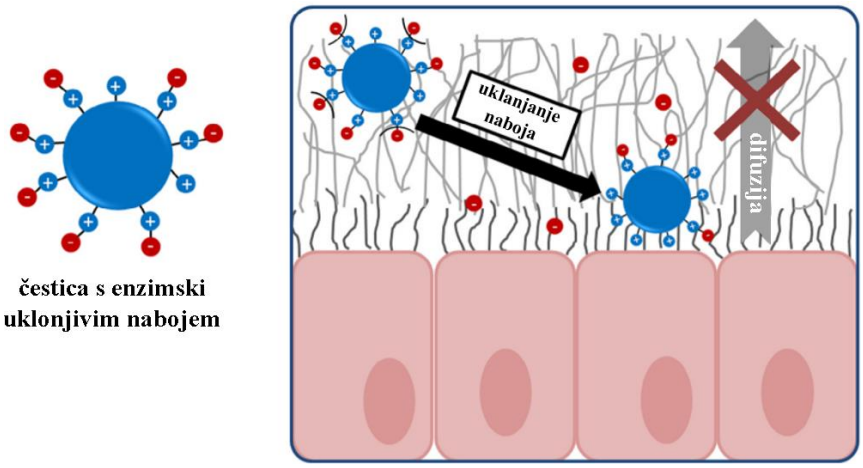
ovisna je o molekulskoj masi. Povećanjem molekulske mase PEG produljuje se duljina lanaca što uzrokuje isprepletanje s lancima mucina i smanjenje prolaska kroz sluz [19]. Poloksomeri su linearni tri-blok polimeri sastavljeni od hidrofilnih krajnjih skupina koje čine polietilen oksidi (PEO) i hidrofobne jezgre koju čini polipropilen oksid (PPO) [109]. Zbog svoje amfifilne strukture imaju svojstvo neionskog tenzida i omogućuju povećanje topljivosti dvije tvari različite hidrofobnosti [115]. Pokazuje mukopenetirajuća termoosjetljiva gelirajuća svojstva [109]. Aktivna mukopenetrirajuća sredstva mogu djelovati na način da cijepaju disulfidne veze u sluzi pomoću agensa kao što su N-acetil cistein, N-dodecil-4-merkapto butanimidamid i 2-merkapto-N-oktilacetamid ili cijepanjem amidnih veza između mucinskih glikoproteina mukolitičkim enzimima (papin, bromelain, tripsin i drugi) što omogućuje lakši prolaz čestice kroz sloj sluzi [19].

Neke od čestice koje pokazuju i mukopenetrirajuća i mukoadhezivna imaju površinska svojstva nalik nekim virusima (virus dječje paralize, virus hepatitisa B, adenovirusi, rotavirusi i drugi). Te čestice prolaze kroz sloj sluzi difuzijom sličnom kao i kroz fiziološku otopinu. Na njihovoj površini nalazi se velika gustoća oba naboja koja daje ukupan naboj nula ili slabo negativan naboj (slika 16) [19].



Slika 16. Prikaz naboja na virusu (lijevo) i naboj nanočestice slične virusu (desno) [19].

Velika gustoća naboja smanjiti će interakcije sluzi sa česticom što će omogućiti njenu brzu difuziju do epitela. Kao primjer takvog sustava je kombinacija kitozana i kondroitin sulfata u nanočestici [19]. Također, bolja propusnost može se postići formiranjem čestica s enzimski uklonjivim nabojem. Enzimskim uklanjanjem negativnog naboja prolaskom kroz sluz ostaje pozitivan naboj koji omogućuje bolje vezanja na površinu epitela ali i nemogućnost vraćanja na površinu sluzi (slika 17).



Slika 17. Prikaz čestice s enzimski uklonjivim nabojem i njezino ponašanje u sluzi [19].

Povećanjem viskoznosti formulacije također se može povećati vrijeme zadržavanja jer neće doći do istjecanja formulacije iz nosne šupljine, te će se formulacija zadržati dulje vrijeme na određenom mjestu. Međutim, vrlo velika viskoznost formulacije može potaknuti MCC i ubrzati uklanjanje lijeka iz nosne šupljine, ali može dovesti i do oštećenja epitela [117]. Iz tog razloga bilo bi idealno formuliranje sustava za prenošenje lijeka što sličnijeg sluzi. Takvim načinom odabira formulacije neće se utjecat na ubrzanje MCC-a.

Drugi vrlo važan parametar je otpuštanje lijeka iz nosioca. Dolaskom lijeka na željeno mjesto djelovanja ili apsorpcije lijek se otpušta iz nosioca odgovarajućim mehanizmom. Mehanizmi otpuštanja lijeka dijele se na otpuštanje kontrolirano difuzijom lijeka, otapalom, stimulansima i erozijom nosioca [118]. Otpuštanje lijeka kontrolirano difuzijom karakteristično je za hidrofilne lijekove i za tipove sustava kod kojih se lijek nalazi u matriksu i okružen je membranom. Posljedica je različite koncentracije lijeka u matriksu i okolnom mediju, a regulira se modulacijom propusnosti membrane. Sustavi koji nemaju membranu već su sačinjeni samo od matriksa (npr. nanosfere) pokazuju ubrzanu početnu difuziju lijeka nakon čega slijedi sporije otpuštanje zbog dužeg puta difuzije lijeka iz središta sustava na površinu. Otpuštanje kontrolirano otapalima opisuje se kao otpuštanje kontrolirano osmozom i bubrenjem. Otpuštanje kontrolirano osmozom karakteristično je za sustave čiji je matriks s lijekom okružen polupropusnom membranom kroz koju voda može cirkulirati i omogućiti konstantan gradijent difuzije. Otpuštanje kontrolirano bubrenjem prisutno je kod hidrogelova. Kod njih dolazi do bubrenja polimera što rezultira otpuštanjem lijeka. Takvo otpuštanje kontrolirano je brzinom difuzije vode i brzinom bubrenja polimera. Otpuštanje lijeka degradacijom karakteristično je kod oklopljivanja lipofilnih lijekova biorazgradivim nosačima koji oslobađaju lijek putem enzimske ili hidrolitičke razgradnje.

Kod njih dolazi do cijepanja veza između lijeka i polimera što dovodi do oslobađanja lijeka. Matrice izgrađene od polikaprolaktona (PCL), poli-mliječne kiseline (PLA) i polilakto-ko-glikolne kiseline (PLGA) dobar su primjer biorazgradivih polimera koji se u potpunosti razgrađuju što omogućuje njihovo lako uklanjanje iz organizma. Otpuštanje kontrolirano stimulansima karakteristično je za nosioce koji su osjetljivi na različite uvjete okoliša kao što su temperatura, pH, ionska jakost, magnetsko polje i drugo. Nosioci koji otpuštaju lijek u interakciji sa stimulansima pogodni su za ciljanu dostavu lijekova. Tako, npr. lijekove za karcinom pogodno je uklopiti u pH osjetljive nosioce zbog karakterističnog slabo kiselog medija u okruženju tumora [118].

Kinetika otpuštanja lijeka ovisi o parametrima kao što su vrsta lijeka, njegov polimorfni oblik, veličina čestica, topljivost, okolišni uvjeti i drugo. Iz tog razloga, kako bi se približio uvid u *in vivo* kinetiku otpuštanja lijeka razvijene su različite metode. One se dijele na statističke metode, metode neovisne o modelu i metode ovisne o modelu. Statističke metode (npr. ANOVA[7], MANOVA[8]) i metode neovisne o modelu (određivanje faktora sličnosti i faktora razlike) temelje se samo na numeričkim i statističkim postupcima izrade modela [119]. Metode ovisne o modelu temelje se na različitim matematičkim funkcijama koje opisuju profil otapanja. Nakon odabira odgovarajuće matematičke funkcije kinetički model otpuštanja se procjenjuje na temelju korelacije s eksperimentalno dobivenim parametrima koji ukazuju na svojstva otpuštanja lijeka [120]. Neki od matematičkih modela su:

- model kinetike nultog reda – opisuje sporo oslobađanje lijeka. Formulacije s ovom kinetikom otpuštanja oslobađaju konstantnu količinu lijeka po jedinici vremena što osigurava konstantnu količinu lijeka na ciljanom mjestu. Oslobađanje je neovisno o koncentraciji lijeka [119, 121].
- model kinetike prvog reda – opisuje naglo eksponencijalno oslobađanje lijeka iz nosioca, ovisno o koncentracijskom gradijentu. Koristi se za opisivanje kinetike hidrofilnih lijekova u poroznim matricama nosioca kao što je PLGA matrica [118, 122].
- Weibullov model – opisuje oslobađanje lijeka koje nema ili ima minimalno početno naglo oslobađanje, a tijekom vremena dolazi do potpunog otpuštanja lijeka [121].

[7]Engl. *Analysis of variance.*
[8] Engl. *Multivariate analysis of variance.*

- Higuchijev model – opisuje oslobađanje lijeka kao difuziju temeljenu na Fickovom zakonu, ovisnu o korijenu vremena [119]. Ne uzima u obzir utjecaj bubrenja matrice na hidrataciju ili eroziju matrice [123]. Koristi se za opisivanje produljenog otpuštanja lijeka u kojem nema ili je prisutno minimalno naglo oslobađanje lijeka kao i kod Weibullovog modela [121, 124].
- Hixon – Crowellov model – ovaj model pretpostavlja da je stopa oslobađanja ograničena brzinom otapanja formulacije, a ne difuzijom kroz pore nosioca. Koristi se za opisivanje oslobađanja lijeka s obzirom na smanjenje površine formulacije tijekom otapanja [125]. Uglavnom je primjenjiv kod opisivanja difuzije tableta, jer one zadržavaju svoj geometrijski oblik tijekom erozije [126].
- Korsmeyer – Peppasov model – koristi se za opisivanje različitih mehanizama otpuštanja lijeka za cilindrične oblike matrica, te iz polimernih sustava [126]. U njega se uklapa prvih 60 % podataka o oslobađanju lijeka [123].
- Hopfenbergov model – je model za korelaciju oslobađanja lijeka s površine polimera sve dok površina ostaje konstantna tijekom degradacije. Podrazumijeva eroziju kao kinetički ograničavajući faktor. Ovaj model se koristi za identifikaciju otpuštanja iz optimizirane uljne sfere [120]

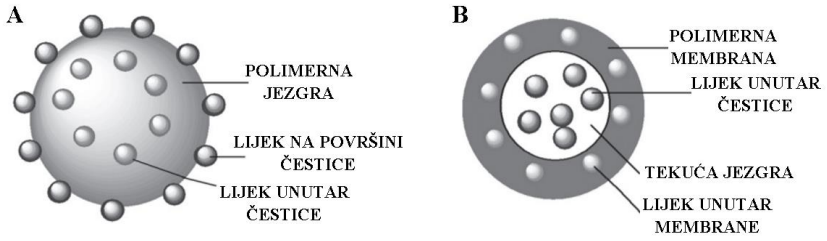
Kod intranazalne dostave, s obzirom da je vrijeme zadržavanja lijeka ograničeno, pogodna kinetika za otpuštanje lijeka bila bi brzo otpuštanje kako bi se velikom koncentracijom lijeka na ciljanom mjestu u nosnoj sluznici potaklo na bržu apsorpciju i dopremanje lijeka u SŽS prema već navedenim mogućim putevima.

3.5 Formulacije nosioca lijeka

Trenutno postoje različiti oblici nosioca koji pokazuju mnogo prednosti kod dostave lijekova. Nanosustavi su jedni od glavnih sustava koji su zbog svoje veličine ali i drugih karakteristika pogodni za intranazalnu dostavu lijekova. Predstavljaju sustave koji sadrže barem 50 % čestica u dimenzijama od 1 do 100 nm. Kombiniranjem s enzimima, pojačivačima nazalne apsorpcije i mukoadhezivnim polimerima može se pospješiti njihova sposobnost transporta. Mogu se proizvesti od različitih vrsta materijala kao što su polimeri, lipidi, anorganski materijali i drugo [127].

Polimerne nanočestice opsežno su proučavani sustavi koji mogu biti izgrađeni od sintetskih ili prirodnih polimera. Definiraju se kao bilo koja vrsta polimerne čestice nano

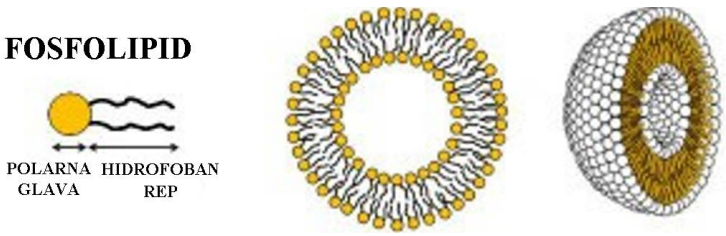
dimenzija. Njihova veličina uglavnom se proteže od 100 do 500 nm. Prema strukturi dijele se na nanosfere i nanokapsule. Nanosfere su čestice čija je cijela masa čvrsta. Aktivne tvari vežu se za površinu ili se inkapsuliraju u čvrstu masu. Nanokapsule su sustavi koji se sastoje od polimerne membrane i lipidne jezgre. Lijek se uklapa ili u lipidni matriks ili u polimernu membranu (slika 16) [128].



Slika 18. Struktura nanosfera (A) i nanokapsula (B) [128].

Površina polimernih nanočestica može biti funkcionalizirana s metalnim ionima, tenzidima, polimerima ili drugim molekulama kako bi im se poboljšalo željeno svojstvo [128]. Kod intranazalne primjene polimernih nanočestica koje su funkcionalizirane s pozitivnim nabojem uočeno je da se one više zadržavaju na trigeminalnom području, dok anionske na njušnom dijelu nosne sluznice. To ukazuje na to da postoji mogućnost ionske kontrole depozicije čestica [129]. U izgradnji polimernih nanočestica koriste se sintetski biorazgradivi polimeri kao što su PLA, PLGA, polialki-cijano-akrilati ili prirodni polimeri kao što su alginat, kitozan, škrob, albumin [130]. Prednosti polimernih nanočestica su učinkovita inkapsulacija, velik unutarstanični unos lijeka, velika stabilnost i biokompatibilnost s tkivima kada su pripremljene od biokomatibilnih i biorazgradivih polimera [128]. Oskudica sigurnih polimera, upotreba otapala tijekom pripreme i njihova visoka cijena ograničili su njihovu primjenu. Kako bi se prevladala ta ograničenja kao alternativni nosači lijekova predložene su nanočestice na bazi lipida [131].

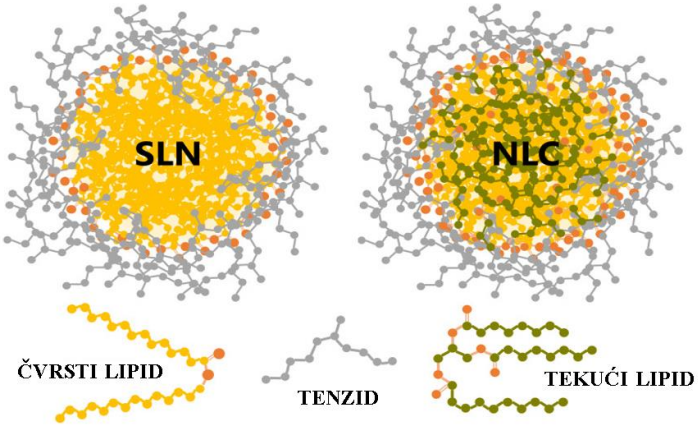
Neke nanočestice na bazi lipida su liposomi, čvrste lipidne nanočestice (eng. *solid lipide nanoparticles*, SLN), nanostrukturirani lipidni nosioci (eng. *nanostructured lipid carriers*, NLC) i lipid-lijek konjugati (engl. *lipid–drug conjugates nanoparticles*, LDC). Liposomi se opisuju kao sferne strukturne vezikule s hidrofilnom jezgrom okruženom jednim ili više slojeva dvosloja lipida (slika 17).



Slika 19. Struktura liposoma [132].

Ovisno o vrsti fosfolipida mogu biti građeni od jednog sloja pri čemu je veličina liposoma u nano skali od 20 do 1000 nm, ili više slojeva koji čine liposome od 100 nm pa do nekoliko mikrometra. Pogodni su za intranazalnu primjenu zbog svoje veličine, biokompatibilnosti, netoksičnosti, te sposobnosti prenošenja lipofilnih lijekova koji se zarobljuju u lipofilnom dvosloju i hidrofilnih lijekova koji ulaze u hidrofilnu jezgru. Glavni nedostaci liposoma su nemogućnost pružanja dugotrajnog otpuštanja lijeka, curenje lijeka iz čestice, te njihova nestabilnost tijekom duljeg skladištenja. Kako bi se povećala stabilnost liposoma može se dodati hidrofilni polimer kao što je PEG [133, 134]. Također, dodavanjem ionskih tvari u sustav može se djelovati na smanjenu agregaciju zbog odbijanja čestica. Osim agregacije čestica nedostatak je i u kemijskoj nestabilnosti, kao što su oksidacija i hidroliza fosfolipida. Prilagođavanjem pH na vrijednosti od 6 do 7 može se smanjiti hidroliza, a dodatkom antioksidansa spriječiti oksidacija. Na svojstva liposoma može se djelovati i dodavanjem kolesterola u fosfolipidni dvosloj čime se povećava čvrstoća membrane i smanjuje sposobnost difuzije vode [134]. Nanočestice koje prevladavaju nestabilnost fosfolipidnog dvosloja i gubitak djelatne tvari su SLN-e. One predstavljaju prvu generaciju lipidnih nanočestica. Sastavljeni su od lipida (0,1 – 30 %) dispergiranih u vodenoj otopini tenzida (0,5 – 5 %) [135]. Može se reći da su to emulzije kod kojih je tekući lipid zamijenjen sa čvrstim ili smjesom čvrstih lipida [131]. Strukturno se mogu opisati kao sitne sferne čestice koje na svojoj površini imaju tenzide koji su svojim lipofilnim dijelom okrenuti prema matriksu sastavljenom od čvrstih lipida što se može vidjeti na slici 20. Lipidne komponente koje se koriste kod izgradnje SLN su trigliceridi, složene smjese glicerida, masne kiseline, steroidi, voskovi, parafini i masni alkoholi. Ti lipidi moraju biti čvrsti na sobnoj temperaturi i odobreni kao sigurni za upotrebu (engl. *Generally Recognized As Safe,* GRAS) [136]. Neki od češćih lipida koji se mogu koristiti u pripremi SLN-a za intranazalnu dostavu lijekova su stearil alkohol, monostearin, stearinska kiselina, glicerol monostearat, gliceril palmitostearat (Precirol® ATO5), gliceril dibehenat (Compritol® 888 ATO) i cetil palmitat. Koncentracija lipida viša od 5 do 10 % u većini slučajeva uzrokuje povećanje lipidnih nanočestica i viši

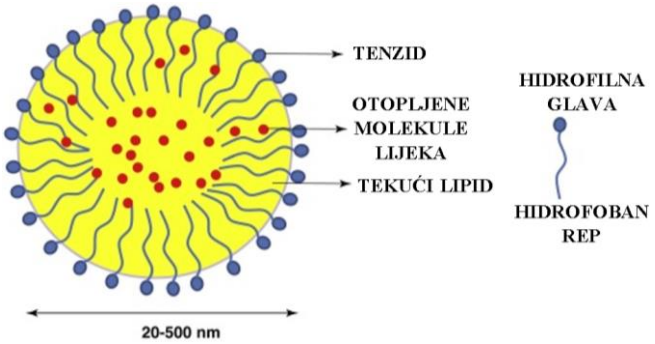
polidisperzni indeks što smanjuje efikasnost sustava za intranazalnu dostavu lijekova [137]. Upotreba čvrstih lipida povećava mogućnost kontrole nad kinetikom oslobađanja inkapsuliranog lijeka i povećava fizikalno-kemijsku stabilnost osjetljivih lipofilnih lijekova. Razlog toga je što su lijekovi u čvrstim lipidima manje pokretni nego u tekućinama pa se smanjuje stopa reakcije razgradnje. Osim lipofilnih mogu se uklopiti i hidrofilni lijekovi ali uz ograničenja. Kako bi se SLN stabilizirala i omogućila emulgacija dodaju se ionski, amfoterni ili polimerni tenzidi. Neki od ionskih tenzida su natrijev kolat i natrijev glikolat, a fosfolipidi i fosfatidilkolin su jedni od najpoznatijih amfoternih tenzida u pripremi SLN-a [138]. Česti polimerni tenzidi su poloksameri kao što je poloksamer 188 (Pluronic® F68), polioksietilen sorbitan oleat (Polisorbat 80, tj. Tween® 80) i drugi polisorbati, PEG, polivinil alkohol (PVA) i drugi [137]. Tenzid ima ulogu omogućiti formiranje najstabilnijeg polimorfnog oblika lipida. SLN-e karakterizira dobra podnošljivost i izvrsna biokompatibilnost te kod pripreme nisu potrebna organska otapala što im povećava sigurnost primjene. Također, poboljšavaju intranazalnu primjenu lijeka tako što štite lijek od kemijske ili enzimske razgradnje, dobro prianjaju na nosnu sluznicu, te mogu povećati vrijeme zadržavanja lijeka na nosnoj sluznici [139]. Potencijalni nedostaci SLN su polimerni prijelaz tijekom skladištenja što može dovesti do otpuštanja lijeka, relativno visok udio vode (70 – 99,9 %), rast čestica i nepredvidljiva tendencija geliranja [131, 135]. Nosivost lijeka u SLN-u ograničena je topljivošću lijeka u lipidima, strukturom i polimernim stanjem lipidnog matriksa. Lijekovi se u SLN-i uklapaju u praznine i nepravilnosti kristalne strukture lipidnog matriksa. Ako je matriks SLN sastavljen od sličnih molekula dolazi do njihovog gustog slaganja što smanjuje prostor za prihvat molekula lijeka [131]. Strukture koje nadilaze problem kod kapaciteta lijeka su NLC. To su nosioci druge generacije koji u matrici za razliku od SLN-e sadrže i tekuće lipide (slika 20).



Slika 20. Prikaz strukture i komponenata SLN-e i NLC-e [140].

NLC-i imaju bolju stabilnost i omogućuju smanjeno izbacivanje lijeka tijekom skladištenja zbog nesavršenosti kristalne strukture uzrokovano prisustvom tekućih lipida. NLC također mogu pokazati više kontroliranih profila otpuštanja lijeka od SLN-a [141]. Čvrsti lipidi koji se koriste kod pripreme NLC-a isti su kao i kod SLN-a, a tekući lipidi koji služe za sustave koji ciljaju SŽS su maslinovo ulje, bademovo ulje, ulje kikirikija, sojino ulje, ulje sezama, sojin lecitin, L-fosfatidili kolin (PC), oleinska kiselina i mnogi drugi. Neki tenzidi koji se koriste kod pripreme NLC-a su Cremophor® EL, Cremophor® RH, Emulgin SML, Pluronic® F68, Tween® 20 i Tween® 80. Omjer između tekućih lipida i krutih je u rasponu od 4:1 do 1:4, a koncentracija tenzida je od 0,25 do 6 %, te je ukupan postotak lipida do 30% [137]. U slučaju hidrofobnih lijekova se kod NLC-a, za razliku od SLN-a, poboljšava učinkovitost punjenja lijeka zbog svojstva nekih lijekova da se bolje otapaju u tekućim nego u krutim lipidima. Kako bi se poboljšao kapacitet hidrofilnih lijekova koriste se LDC kod kojih se funkcionalna skupina lijeka konjugira s funkcionalnom skupinom lipida. Lipidi koji se koriste kod priprave konjugata uglavnom su steroidi (kolesterol, derivati kolne kiseline), fosfolipidi i gliceridi [142]. U procesu stvaranja konjugata masna kiselina lipida i slobodna baza lijeka otope se u prikladnom otapalu nakon čega se otapalo upari. Kako bi nastala veza između lijeka i lipida potrebno je dodat katalizator [143]. Stvaranjem konjugata povećava se lipofilni karakter lijeka te se omogućuje lakši prolaz kroz nazalnu membranu. Također, LDC mogu spriječiti preranu hidrolizu i pojačati interakcije sa staničnom membranom. Tako se na primjer, vezanjem molekule lijeka (L-Dope, GABA, fenitoina) na mjesto masne kiseline triglicerida može značajno povećati njivo ciljanje i penetracija lijeka u SŽS [142].

Nanoemulzije predstavljaju lipidne nanosustave koji se sastoje od dvije faze koje se ne miješaju, stabilizirane jednim ili dva emulgatora. Prosječna veličina kapljica je u rasponu od 20 do 200 nm. Uglavnom se dijele na nanoemulzije voda u ulju (v/u) ili ulje u vodi (u/v). Shematski prikaz nanoemulzija prikazan je na slici 21.



21. Struktura nanoemulzije ulje u vodi [144].

Komponente nanoemulzije su tekući lipid, tenzid, ko-tenzid i vodena faza. Lipofilni lijekovi uglavnom se otapaju u uljima, te njihova topljivost ovisi o lipofilnosti ulja. Povećanjem lipofilnosti ulja dolazi do povećanog otapanja lipofilnog lijeka u nanoemulziji, a povećanjem koncentracije lipida u nanoemulziji utječe se na povećanje sustava što smanjuje učinkovitost kod intranazalne dostave lijekova [145]. Stoga je potrebno odredit balans između količine ulja potrebnog za otapanje lijeka i veličine čestica pogodnih za intranazalnu primjenu. Tenzidi imaju ulogu smanjiti površinsku napetost i spriječiti nakupljanje čestica i odvajanje faza. Povećanje količine tenzida utječe na smanjenje veličina čestica što pozitivno djeluje kod intranazalne primjene lijekova. Također, tenzid može djelovati na slabljenje čvrstih međustaničnih spojeva što smanjuje vrijednost električnog otpora nosne membrane i povećava njezinu propusnost. Neki od takvih tenzida su natrij kolat, Tween® 80, poloksamer F68, natrijev taurokolat. Velike koncentracije tenzida mogu negativno utjecati na sluznicu tako da uzrokuju oštećenje sluznice što ovisi o vrsti i koncentraciji tenzida. Iz tog razloga potrebno je uspostaviti balans između prodiranja lijeka i toksičnog učinka. Dodatak ko-tenzida potreban je kada se pomoću tenzida nije dovoljno smanjila površinska napetost. Oni prodiru u kruti sloj tenzida i lome međufazne slojeve kako bi doprinijeli fluidnosti i boljem emulgiranju. Kao intranazalni ko-tenzid uglavnom se koriste PEG, etanol i 2-(2-etoksietoksi) etanol [145]. Nanoemulzije zbog svoje lipofilne prirode, male veličine kapljica i velike propusnosti kroz sluznicu nosa predstavljaju dobar potencijal u intranazalnoj primjeni lijekova. Također, kao i ostali lipidni nanosustavi poboljšavaju bioraspoloživost lijeka, mogućnost ciljane dostave, kinetičku stabilnost, učinkovitu inkapsulaciju i smanjenu toksičnost zbog upotrebe GRAS tvari. Glavni problem kod nanoemulzija je upotreba velike količine tenzida koji je potreban za stabilizaciju kapljica i niska stabilnost koja je jako osjetljiva na vanjske čimbenike. Isto tako, niska viskoznost koja karakterizira nanoemulzije predstavlja problem kod intranazalne primjene jer dovodi do ubrzanja MCC-a i brzog uklanjanja sustava iz nosne šupljine. Kako bi se prevladao taj problem mogu se upotrijebiti modificirane nanoemulzije s mukoadhezivnim polimerima koji utječu na dulje zadržavanje na nosnoj sluznici. Osim toga, mogu se formirati nanoemulgelovi ili *in situ* hidrogelovi koji za razliku od uobičajenih nanoemulzija ne utječu na ubrzanje MCC-a [146].

Hidrogelovi su gelirajući polukruti oblici sastavljeni od trodimenzionalne mreže hidrofilnih polimera ili blokova polimera koji imaju sposobnost vezanja vode ili bioloških tekućina bez razbijana svojih mreža [147]. Pogodni su za oklopljivanje hidrofilnih i

lipofilnih tvari, makromolekula, slobodnih lijekova, ali i formulacija kao što su liposomi, naoemulzije, nanočestice i drugi sustavi u cilju poboljšanja dostave lijekova. *In situ* hidrogelovi predstavljaju hidrogelove koji pod utjecajem vanjskih čimbenik, kao što su temperatura, pH, ionska jakost i drugo, prelaze iz tekućeg oblika u gelastu formu [148]. Takva karakteristika omogućuje lakše nanošenje na željeno mjesto depozicije u nosnoj šupljini. Također, nastali gel povećava vrijeme zadržavanja, kontrolira otpuštanje i poboljšava apsorpciju lijeka. Termoosjetljivi hidrogelovi pogodni su za nazalnu upotrebu zbog jednostavne primjene i manje štetnih učinaka na tkiva za razliku od drugih sustava *in situ* hidrogelova. Idealni termoosjetljivi polimer za sintezu hidrogela treba imati temperaturni prijelaz iz tekuće u gel formulaciju u rasponu od 28 °C do 37 °C kako bi se zaštitio od prijelaza tijekom skladištenja i omogućio brzu promjenu nakon intranazalne aplikacije [109]. Najčešći prirodni termoosjetljivi polimeri su smjesa kitozana i β-glicerolfosfata (CS/GP), celuloza, želatina i njihovi derivati. Najčešći sintetski termoosjetljivi polimeri sastavljeni su od polietilen oksida (PEO), polipropilen oksida (PPO), PLA, PEG i PLGA [148]. Jedni od najvažnijih termoosjetljivih polimera kod intranazalne dostave su poloksameri. Oni tvore gel strukturu iznad 25 °C i pri koncentraciji od 15 do 50 % [109, 115]. Ovisno o sastavu i duljini lanaca mogu se podijelit na razne polimere različitih svojstava. Tako postoje poloksomer 407 (P407), tj. Pluronic® F127 (PF127), P188 (PF 68), P181 (Pluronic® L 61) i drugi. P407 se, zbog slabih mehaničkih svojstava, niske viskoznosti, brze erozije i slabe bioadhezije, često kombinira s drugim poloksomerima ili polimerima kao što je kitozan, Carbopol® kako bi se poboljšala njegova svojstva [109]. Kitozan i njegovi derivati uz dodatak poliolne soli kao što je β-glicerofosfat postaju termoreverzibilni polimeri s kritičnom koncentracijom gela potrebnog za geliranje od 2 % [148]. Njegova stabilna kristalna struktura može se otopiti u kiselom mediju što rezultira stvaranjem pozitivnog naboja na aminskim dijelovima kitozana. Ti pozitivni naboji lako stupaju u interakciju s negativnim lancima mucina u sluzi što uzrokuje nastanak viskoznog gela s izvrsnim bioadhezivnim svojstvima. Međutim, njegov prijelaz iz tekuće u gelastu formulaciju nije pogodan za nazalnu dostavu lijekova pa se često koristi s poloksomerima kako bi se poboljšala njegova gelirajuća svojstva [109]. EHEC je amfifilni neionski termoosjetljivi sintetski polisaharid sastavljen od neravnomjerno raspoređenih hidrofilnih i hidrofobnih dijelova na svojoj površini. Ugradnjom ionskih tenzida kao što je cetil tri amonijev bromid ili natrijev dodecil sulfat, utječe se na toplinsku osjetljivost EHEC-a, tj. ionski tenzidi olakšavaju stvaranje micelarne strukture povezivanjem hidrofobnih

dijelova EHEC-a i tenzida što omogućuje prijelaz u gel stanje [148]. pH osjetljivi hidrogelovi koriste polimere koji mijenjaju svoj oblik iz tekućeg u gelastu formulaciju ovisno o pH okoline. Jedan od bitnijih pH osjetljivih polimera je Carbopol®. Njegova okosnica od akrilne kiseline osigurava mu svojstva ovisna o pH [110]. Stabilna okolina mu je pri pH od 4 do 5,5. Iznad pH od 5,5 dolazi do ionizacije na karboksilnoj površini polimera i nastanka negativnog naboja. Taj negativan naboj dovodi do odbijanja s nabojem sluzi nosne šupljine što potiče odmotavanje polimera i njegovo bubrenje [109]. Općenito, pH osjetljivo geliranje pogodno je za intranazalnu dostavu, ali potrebno je imati u vidu da unošenje sustava drugačijeg pH od pH nosne šupljine može dovesti do oštećenja sluznice. *In situ* hidrogelovi osjetljivi na ione sadrže polimere osjetljive na ionsku jakost okoline. Gelan guma vodotopiv je anionski polisaharid koji u interakcijama s kationima nosne sluznice prelazi iz tekuće u gelastu formulaciju. Njegova sposobnost za formiranje gela ovisi o stupnju acetiliranosti. Što je manja acetiliranost to nastaju jači gelovi. Također na jakost gelova utječe i vrsta vezanih iona. Tako vezanjem Ca^{2+} i Mg^{2+} nastaju jači gelovi, dok pri vezanju s jednovalentnim ionima kao što su Na^{+} i K^{+} nastaju slabiji gelovi. S obzirom da je za prijelaz gelan gume u gelastu formulaciju potrebna mala koncentracija iona, smatra se pogodnim polimerom za intranazalnu dostavu lijekova. Nedostatak mu je što nema utjecaj na nazalnu propusnost i apsorpciju lijeka. Pektin se isto kao i gelan guma veže za katione nosne šupljine. Njegovo geliranje ovisi o stupnju esterifikacije i metoksilacije galaktarne kiseline. Što je manji stupanj metoksilacije ili esterifikacije to je veća njegova hidrofilnost i sklonost interakciji s kationom što rezultira nastankom gela [109].

Fizička stabilnost nanosustava određuje se na temelju vrijednosti veličine čestica, polidisperznog indeksa (PDI), zeta potencijala (ZP) i učinkovitost inkapsulacije (EE). Veličina čestica intranazalnih nanonosioca, kako je već navedeno, trebala bi biti uskog nanometarskog razmaka, manja od 200 nm, kako bi se omogućilo prodiranje kroz nosni epitel i sluz. PDI pokazuje raspodjelu veličine čestica u formulacijama. Općenito se kreće između vrijednosti 1 i 0. Vrijednosti bliže 0 predstavljaju monodisperzne sustave dok su vrijednosti bliže 1 karakteristične za polidisperzne sustave. Kod intranazalnih sustava pogodno je da su vrijednosti PDI niske što potiče ravnomjerniju apsorpciju lijeka kroz sluznicu. Općenito bi intranazalni nosioci trebali imati vrijednost PDI manju ili oko 0,3, iako neke formulacije NLC-a mogu imati veće vrijednosti PDI zbog svoje asimetrije. Ponašanje čestica koje dijele istu vrijednost PDI-a, a razlikuju se u veličini će se razlikovati u nosnoj šupljini, stoga je važno analizirati oba parametra. Vrijednosti ZP-a opisuju naboj na površini

čestica. Naboj čestice odgovoran je za fizičku stabilnost formulacije i ovisi o uvjetima okoline (pH, ionska jakost). Kod intranazalnih pripravaka vrijednosti ZP-a koje su pogodne za dobru stabilnost nanošenja su vrijednosti od ∓30mV. Općenito, formulacije s pozitivnim nabojem površine, tj. s pozitivnim ZP-om pospješuju intranazalnu dostavu lijekova zbog interakcija s negativnim nabojem na površini nosne sluznice [18]. Kod odabira naboja sustava važno je gledati i na njegovu toksičnost. To je dokazano kod istraživanja utjecaja površinskog naboja gelova NLC-a na isporuku hidrofilnog lijeka u mozak u studiji toksičnosti, provedenoj na štakorima. Dobiveni su rezultati da je kod NLC-a s anionskom površinom nastala blaga do umjerena reverzibilna upala nosnog epitela, dok je kod štakora liječenih kationskim NLC-om došlo do oštećenja nosne sluznice [149]. To oštećenje sluznice vjerojatno je posljedica lipida ili tenzida. Još jedan važan parametar je EE koji daje uvid u količinu lijeka koja je inkapsulirana u nosiocu. Što je vrijednost EE veća to je veća količina lijeka unesena u nosilac, tako da je pri formiranju sustava cilj postići što veće vrijednosti EE [18].

3.6 Utjacaj raznih faktora na učinkovitost dostave lijeka u SŽS

Da bi intranazalna dostava lijeka bila zadovoljavajuća potrebno je nadvladati niz faktora koji se mogu podijeliti na faktore nosne šupljine, faktore vezane uz lijek i faktore vezane uz nosilac lijeka. Navedeni faktori prikazani su u tablici 2.

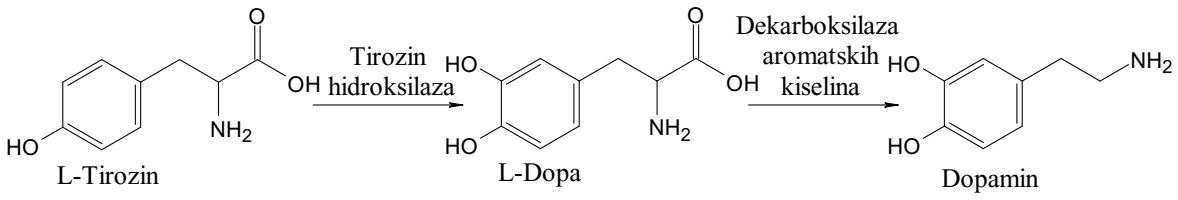
Tablica 2. Faktori vezani uz učinkovitost intranazalne dostave lijeka u SŽS.

NOSNA ŠUPLJINA	SVOJSTVA LIJEKA	SVOJSTVA NOSIOCA LIJEKA
BIOKEMIJSKI FAKTORI - enzimska aktivnost i proteinski prijenosnici	MOLEKULARNA MASA I VELIČINA	FARMACEUTSKI OBLIK
ANATOMSKI FAKTORI- depozicija lijeka, površina epitela, permeabilnost sluznice, krvna opskrba	TOPLJVOST U NOSNOJ SLUZI	BIOKOMPATIBILNOST
FIZIOLOŠKI UVJETI - MCC, sekrecija nosne sluzi, pH, eksterni uvijeti (toplina, vlažnost i sastav zraka)	LIPOFILNOST	FIZIČKA STABILNOST
PATOLOGIJA - bolesna stanja nosne šupljine	IONIZACIJSKO STANJE	VRIJEME ZADRŽAVANJA U NOSNOJ ŠUPLJIN
	STABILNOST	KINETIKA OTPUŠTANJA LIJEKA
		pH
		VISKOZNOST

4. Izabrani lijek i predloženi sustav za njegovu intranazalnu administraciju

4.1 Izabrani lijek: Dopamin

Dopamin (4-(2-aminoetil)benzen-1,2-diol) je biogeni monoamin koji se svrstava u kateholamine. Osim dopamina, u kateholamine svrstavaju se i adrenalin i noradrenalin. Prepoznatljivi su po svojoj strukturi u kojoj sadrže katehol (3,4-dihidroksifenil) [150]. Kateholamini ne mogu prijeći BBB-u stoga su za njihovu sintezu u SŽS-u odgovorni prekursori. Prekursor za sintezu dopamina je aminokiselina tirozin. Sinteza dopamina (slika 22) započinje vezanjem hidroksilne skupine na tirozin pomoću tirozin hidroksilaze pri čemu nastaje 3,4-dihidroksifenilalanin (L-Dopa). L-Dopa se zatim dekarbokislira pomoću dekarbokislaze aromatskih kiselina kako bi nastao dopamin. Sama sinteza odvija se u SŽS-u u citosolu neurona ili u periferiji u nadbubrežnim žlijezdama [151, 152].



Slika 22. Sinteza dopamina [152].

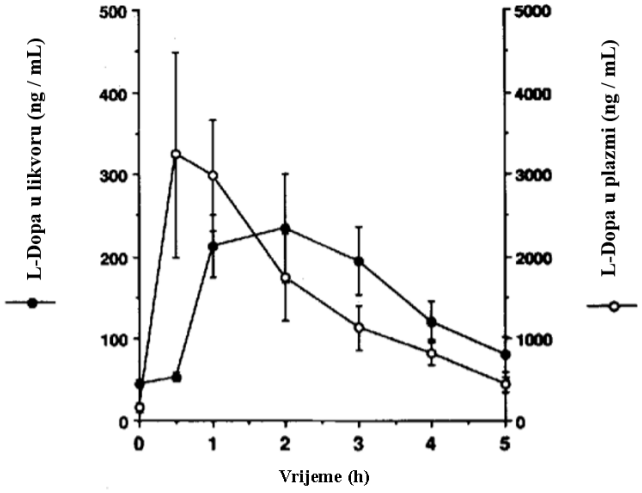
4.1.1 Uloga dopamina u SŽS-u i koncentracija

U periferiji dopamin djeluje na simpatički živčani sustav gdje utječe na normalne i abnormalne funkcije više organa i regulatornih sustava, te je uključen i u čimbenike vezane za nastanak i napredovanje stanica raka [150]. Djeluje kao vazodilatator, inhibira izlučivanje noradrenalina, potiče izlučivanje urina, djeluje na smanjenje stvaranja inzulina i drugo [153]. U SŽS-u djeluje kao neurohormon koji se oslobađa u hipotalamus i ima glavnu funkciju da inhibira oslobađanje prolaktina iz prednjeg režnja hipofize. Osim kao neurohormon djeluje i kao neurotransmiter tako da aktivira pet tipova dopamskih receptora (D_1, D_2, D_3, D_4, D_5) koji se ubrajaju u G-protein vezane receptore. Vezanjem dopamina na receptore djeluje se na mnoge neurološke i psihijatrijske poremećaje [154]. Dopaminski receptori u SŽS-u rasprostranjeniji su od receptora drugih monoamina, a nalaze se u hipotalamusu,

olfaktornom bulbusu, crnoj tvari srednjeg mozga, ventralnom tegmentalnom području srednjeg mozga i u dijelu sive tvari [155]. Problem u apsorpciji ili stvaranju dopamina u SŽS-u dovodi do promjene koncentracije dopamina u sinaptičkoj pukotini što dovodi do razvitka poremećaja kao što su shizofrenija, Parkinsonova bolest, Alzheimerova bolest, depresija, hiperaktivnost, ovisnost i drugo što je opisano u literaturnom dijelu pod podglavljem 2.3. [152].

Koncentracija dopamina u SŽS-u iznosi gotovo 50 % ukupno prisutnih monoamina [84]. U istraživanju [156] određivana je koncentracija dopamina u različitim dijelovima mozga. U putamenu je izmjereno 18.6 ± 6.5 nmol/g, u jezgri kaudata 12.6 ± 4,0 nmol/g, u crnoj tvari 3,2 ± 1,0 nmol/g, u olfactorium tubercle 1,8 ± 0,9 nmol/g, u hipotalamusu 1,8 ± 0,8 nmol/g, u globus pallidus-u 1,6 ± 0,2 nmol/g, u talamusu 0,5 ± 0,2 nmol/g, u cingulate cortex 0,2 ± 0,1 nmol/g, u frintal cortex izmjereno je 0,2 ± 0,08 nmol/g, u hipokampusu 0,2 ± 0,07 nmol/g. Ispitivanja su provedena na zdravim osobama preminulima iznenadnom smrću [156]. Iz navedenih koncentracija zaključuje se da su najveće koncentracije dopamina u putamenu i jezgri kaudata koji čine ulaz u bazalne ganglije, te su odgovorni za motoričke i kognitivne sposobnosti organizma što potvrđuje djelovanje dopamina na planiranje, učenje, donošenja odluka, nagrađivanje, nesvjesne pokrete i druge sposobnosti [157, 158].

Normalna koncentracija dopamina u mozgu zdravog odraslog ljudskog tijela iznosi 26 – 40 nmol/g [159]. Poremećaji koji nastaju smanjenjem koncentracije dopamina u SŽS-u mogu se liječiti nadomjeskom dopamina pomoću L-Dope što je navedeno u literaturnom pregledu pod poglavljem 2.1.1. L-dopa se koristi u kombinaciji s karbidopom (250 mg L-Dope + 25 mg karbidope ili 100 mg + 25 mg) i u kombinaciji s benzerazidom (100 mg + 25 mg ili 200 mg + 50 mg). Liječenje se započinje postupno, a odgovarajuća koncentracija ovisi o stanju pacijenta. Optimalan učinak oralnom primjenom uglavnom se postiže pri dnevnoj dozi od 400 do 800 mg L-Dope i od 100 do 200 mg benzerazida [160]. U istraživanju [161] provedenom na četiri pacijenta koji boluju od Parkinsonove bolesti nakon primjene jedne doze L-Dope (250 mg) s karbidopom (25 mg) došlo je do naglog porasta koncentracije L-Dope u plazmi dok je povećanje koncentracije u likvoru zaostalo (slika 23). Samo približno 10 % od L-Dope u plazmi se unese u likvor iz kojeg će se mali dio (oko 1 %) dalje apsorbirati u SŽS [161, 162].



Slika 23. Srednja vrijednost koncentracija L-Dope u plazmi i likvoru [161].

S obzirom da je bioraspoloživost oralne primjene niska, alternativna primjena putem nosne sluznice mogla bi smanjiti količinu lijeka potrebnog za efektivnost liječenja, ubrzati djelovanje i smanjiti nuspojave izazvane prisutnošću lijeka u sistemskoj cirkulaciji.

4.1.2 Kemijska i farmakokinetička svojstva

Dopamin je mala molekula molekulske mase 153,18 Da i točke tališta 128 °C [163]. Njegova topološka polarna površina iznosi 68,1 Å [164]. Dopamin je organska baza koja je nestabilna u alkalnom mediju u kojem je vrlo osjetljiv na oksidaciju, tj. auto oksidirajuća je tvar koja se oksidira uz nastanak vodikovog peroksida [159]. Hidrofilna je molekula s logaritmom koeficijenta raspodjele (*log P*) od - 0,98 [163]. Njegova kiselo-bazna konstanta disocijacije (pKa) iznosi 8.93 [164]. Ovisno o pH okoline nalazi se u kationskom, anionskom, neutralnom ili zwiterionskom obliku s bruto nabojem koji varira od -2 do +1. U radu [165] navode se vrijednosti konstante protonacije (logK) dopamina uz ionsku jakost od 1.0 mol/dm^3 pri 25 °C. Prva protonacija (logK_1) uglavnom se odvija na fenolatnoj skupini i u radu se navodi da iznosi 13.29 ± 0,01. Druga protonacija (logK_2) iznosi 10.641 ± 0.006. Kod druge protonacije nastaje zwiterion ili neutralna molekula. Treća protonacija (logK_3) odvija se uglavnom na fenolatnoj skupini i iznosi 9.12 ± 0.007. Iz navedenih podataka može se zaključiti da se većina dopamina pri pH 7,4 nalazi u kationskom obliku koji nije u mogućnosti prijeći BBB.

S obzorom na kemijska svojstva dopamina njegov prolaz kroz nosnu sluz je moguć zbog veličine koja odgovara za prolaz kroz pore nosne sluzi i hidrofilnog karaktera, ali zbog pozitivnog naboja može stupati u interakciju s mucinskim negativno nabijenim vlaknima što

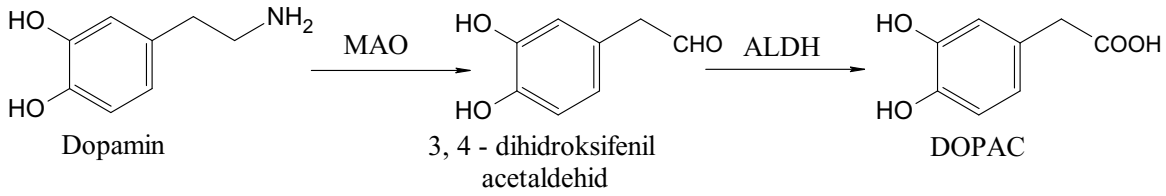
dovodi do zadržavanja na nosnoj sluzi i usporavanja brzine difuzije. Izračun za prijenos čestice kroz nazalnu sluz prikazan je jednadžbom 1. U jednadžbi C_m predstavlja koncentraciju lijeka u sluzi, dok je D_m koeficijent difuzije kroz sluz [42].

$$\frac{\partial C_m}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x}\left(D_m \frac{\partial C_m}{\partial x}\right) \tag{1}$$

Nakon prolaska kroz nosnu sluz dopamin prolazi kroz nosni epitel. Model za izračunavanje prolaza čestice kroz epitelni dio sluznice prikazan je u jednadžbi 2. C_e prikazuje vrijednost koncentracije lijeka u epitelu, a D_e je vrijednost difuzijskog koeficijenta u epitelu [42].

$$\frac{\partial C_e}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x}\left(D_e \frac{\partial C_e}{\partial x}\right) \tag{2}$$

Prolaz kroz epitel ograničava metabolizam dopamina (slika 24) koji se događa pomoću enzima monoamina oksidaze (MAO) i aldehid dehidrogenaze (ALDH). Ti enzimi prevode dopamin u dihidroksifenil octenu kiselinu (DOPAC). U istraživanju metabolizma i transporta dopamina kojeg su proveli Netsomboon i Bernkop-Schnurch (2015) na nosnoj sluznici goveda zaključili su da se samo minimalna količina dopamina (oko 0,5 %) metabolizirala u DOPAC [19]. Takva vrijednost zanemariva je i ne smatra se ograničavajućim faktorom kod intranazalne primjene dopamina.

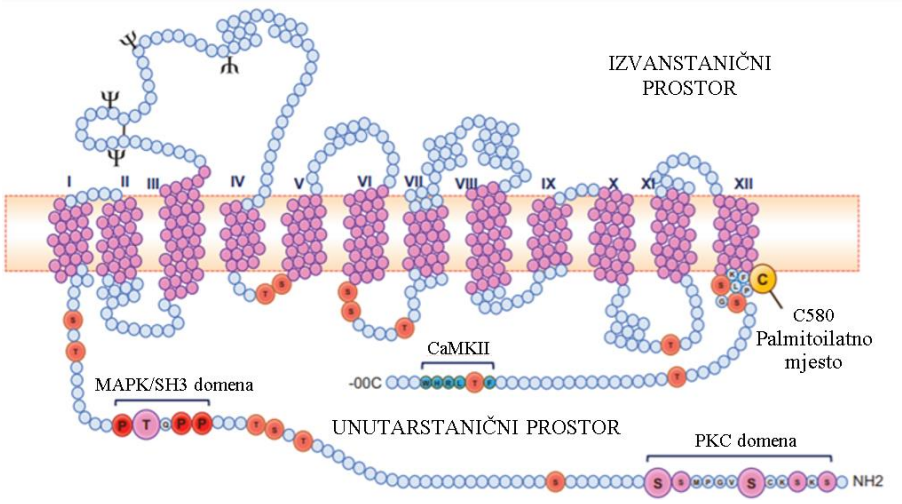


Slika 24. Metabolizam dopamina u nosnom epitelu [166].

Zbog pozitivne nabijenosti dopamina u pH nosne šupljine njegov pasivan transport kroz epitel je zanemariv. Stoga, glavni način transporta kroz nosnu sluznicu je putem transportera (dopaminski transporteri i transporteri organskih kationa).

DAT (dopaminski transporter) svrstava se u obitelj nosača otopljenih tvari 6 (eng. *solute carrier*, SLC6) [167]. Nalazi se na dopaminergičnim neuronima u SŽS-u te je prisutan i u njušnim neuronima. Osim u SŽS-u izražava se i u periferiji na endotelu krvnih žila sluznice želuca i u stanicama gušterače te u epitelu nosne šupljine [168]. DAT je glikoprotein od 80 kDa sastavljen od 12 transmembranskih domena (slika 25). Između treće i četvrte transmembranske domene nalazi se velika izvanstanična petlja koja sadrži glikozilacijska

mjesta (ψ). C-terminalan kraj nalazi se kao i N-terminalan kraj u unutarstaničnom dijelu, a sadrži kalcij-komodulin ovisnu kinazu (CaMKII) i palmitoilatno mjesto. Na N-terminalnom kraju nalazi se MAP kinaza (MAPK)/SH3 i protein kinaza C (PKC) [150]. Navedena regulacijska mjesta prikazana su na slici 25.

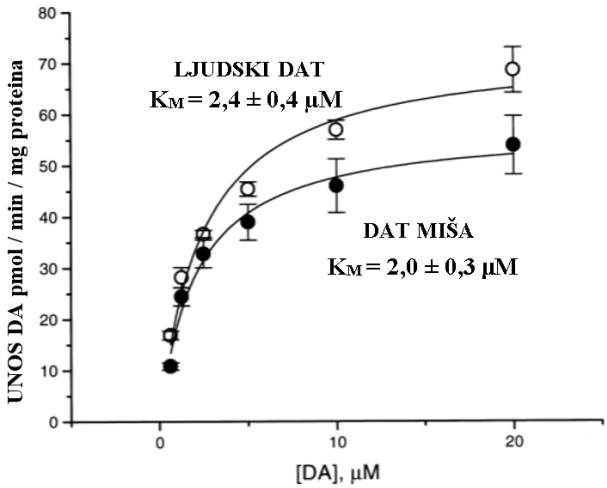


Slika 25. Struktura DAT [150].

DAT je Na^+ ovisan transporter koji uklanja dopamin iz izvanstraničnog medija (sinaptičke pukotine) i unosi ga u unutarstanični prostor (citosol neurona). Gradijent koncentracije Na^+ stvara se pomoću Na^+ / K^+ ATP-azne pumpe koja unosi Na^+ u izvanstanični prostor i time stvara energiju potrebnu za transport dopamina putem DAT-a [169]. Naboj dopamina koji je optimalan kao supstrat za DAT je kationski ili zwiterionski oblik [170]. Transport se događa vezanjem dopamina, dva Na^+ i jednog Cl^- iona na vezno mjesto DAT-a koje formiraju transmembranske domene 1, 3, 6 i 8. Vezanjem dolazi do stvaranja konformacijske promjene na transporteru i otpuštanja supstrata u citoplazmu [150]. Otpuštanjem supstrata transporter se vraća u početnu formu. Funkcija transporta Cl^- iona nije u potpunosti razjašnjena ali McHugh (2015) navodi njihovu važnost kod nadomjeska i očuvanja naboja. [169]. Osim navedenih iona za DAT veže i Zn^{2+}. Zn^{2+} svojim vezanjem povećava brzinu konformacijske promjene transportera, tj. ubrzava korak povratka transportera u početno stanje. Vezno mjesto za Zn^{2+} prepoznaju i drugi prijelazni metali kao što su Cu^{2+}, Co^{2+} i Ni^{2+} koji svojim vezanjem utječu na afinitet transportera prema dopaminu [171].

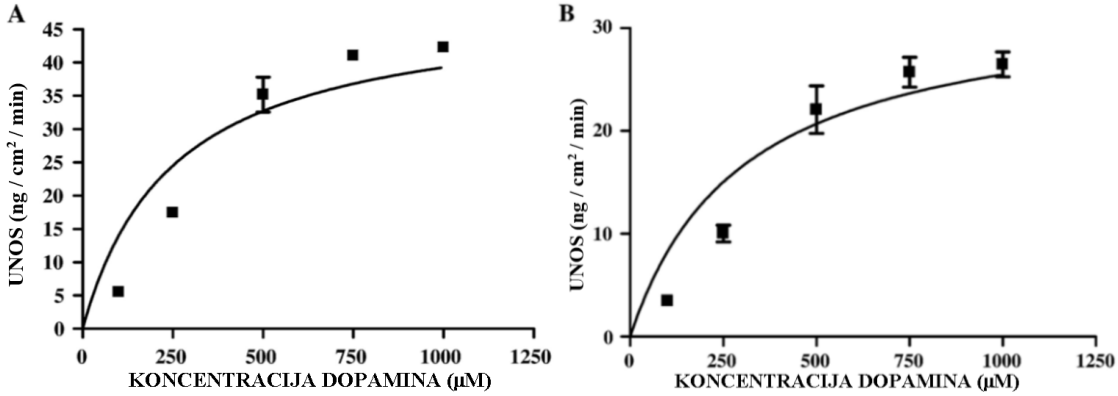
Kinetika vezanja dopamina za DAT transporter može se opisati Michaelis-Menten kinetikom. U radu [172] uspoređivali su kinetiku vezanja dopamina za mišji i ljudski DAT koje su eksprimirali u roditeljskim MDCK stanicama (engl. *Madin-Darby Canine Kidney cells*). Računalno dobivene vrijednost Michaelis-Menten konstante za mišji i ljudski DAT

su 2.0 μM i 2.4 μM, a eksperimentalne vrijednosti za V_{max} kreću se između 50 i 90 pmol transportiranog dopamina u minuti po miligramu proteina što je vidljivo na slici 26.



Slika 26. Ovisnost unosa dopamina pomoću DAT-a i koncentracije dopamina [172].

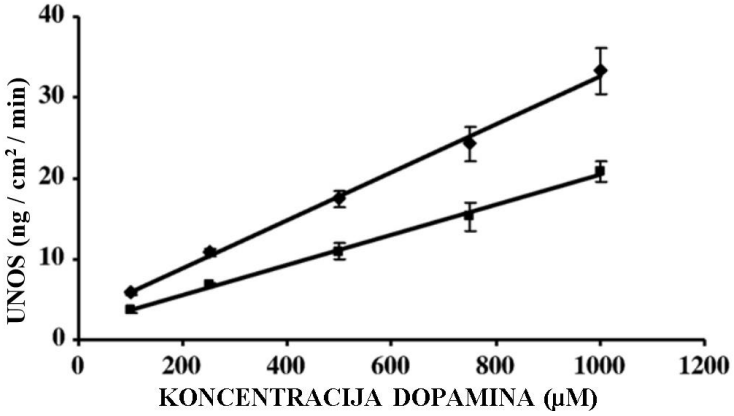
Ispitivanje protoka dopamina preko sluznice nosa goveda proveli su Chemuturi i suradnici (2006). Svojim istraživanjem pokazali su da se protok dopamina od sluznice do bazalne membrane pomoću DAT transportera nelinearno povećava s povećanjem koncentracije supstrata. Protok dopamina računali su pomoću Fickovog prvog zakona, a krivulja na slici 27 određena je pomoću Michalelis-Menten kinetičkog profila. Za protok od sluznice prema bazalnoj membrani na njušnom dijelu epitela dobili su vrijednost za V_{max} 49,12 ng / cm^2 / min i K_M 251,4 μM. Za respiratorni dio sluznice dobivena je vrijednost za V_{max} 33,17 ng / cm^2 / min i K_M 301,7 μM (slika 26) [173].



Slika 27. Kinetika protoka dopamina kroz njušni epitel (A) i respiratorni epitel (B) [173].

Kod toka u suprotnom smjeru, od bazalne membrane prema epitelu, primijećeno je linearno povećanje toka što ukazuje na pasivan prijenos. Dijagram tog prijenosa prikazan je na slici 28. Protok je računat putem Fickovog prvog zakona, a vrijeme provođenja ispitivanja

je bilo 120 min. Linearnom regresijom dobivene su vrijednosti y= 0.0297x+ 2.87 za njušnu sluznicu i y= 0.0186x + 1.811 za respiratornu sluznicu. U usporedbi s protokom u smjeru bazalne membrane može se zaključiti da je ovaj tok bio slabiji od protoka u smjeru bazalne membrane [173].



Slika 28. Dijagram transporta dopamina u smjeru od bazalne membrane prema epitelu. Gornji pravac je vezan za njušni epitel, a donji za respiratorni dio epitela [173].

Osim DAT-a važni su i organski kationski prenositelji (OCT). Oni djelomično posreduju ne-neuronskom transportu dopamina. OCT-i svrstavaju se u membranske transportne proteine koji pripadaju obitelji nosača otopljenih tvari 22 (eng. *solute carrier*, SLC22). Sastoje se od 12 transmembranskih domena s N-krajem i C-krajem u unutarstaničnom dijelu [166]. Služe za prijenos organskih kationa iz izvanstaničnog prostora u unutarstanični prostor, ali i olakšavaju transport kateholaminskim neurotransmiterima i drugih endogenih supstrata kao što su kolin, histamin, gvanidin i drugi. Poznate vrste OCT-a koje prijenose dopamin su OCT-1, OCT-2 i OCT-3 od kojih OCT-2 ima najveći, a OCT-3 najmanji afinitet prema dopaminu [168]. Prisutnost OCT-a pronađena je u ljudskom nosnom epitelu i dokazano je da najvišu ekspresiju pokazuju OCT-3 transporteri, a najmanju OCT-2 transporteri [174]. U goveđem nosnom epitelu nalaze se i noradrenalinski (NET) i serotoninski transporteri (SERT) koji pokazuju afinitet za dopamin. Prisutnost OCT-a i drugih transportera doprinosi većoj vrijednost K_m za dopaminski transport, te objašnjava dobivena odstupanja u Michaelis-Menten kinetici pri niskim koncentracijama dopamina [173].

Nakon prolaska kroz epitel lijek prolazi kroz laminu propiju. Jednadžba 3 prikazuje model za izračunavanje tog puta. C_l prikazuje vrijednost koncentracije lijeka u lamini propriji, a D_l je vrijednost difuzijskog koeficijenta u lamini propriji [42].

$$\frac{\partial C_1}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x}\left(D_1 \frac{\partial C_1}{\partial x}\right) \quad (3)$$

4.1.3 Otpuštanje dopamina iz različitih nanosustava

Kinetički profil otpuštanja dopamina iz različitih nanočestica ovisi o odabiru i sastavu formulacije sustava. U svrhu usporedbe otpuštanja dopamina iz različitih sustava u tablici 3 navedeni su podaci dobiveni iz različitih studija.

Tablica 3. Svojstva i kinetika otpuštanja različitih nanosustava.

Formulacija	Sastav	Fizikalne karakteristike	Kinetika otpuštanja	Napomena	Izvor
SLN –DA	Dopamin hidroklorid (DA), Tween®85 (tenzid), Gelucire® 50/13[9] octena kiselina	VELIČINA 171± 6 nm PDI 0,25 – 0,27 ZP -2,0 ± 0,7 mV EE 19 ± 3 %	Karakterizira ga brzo početno otpuštanje (do 5 % uklopljenog DA) nakon čega slijedi produljeno otpuštanje DA do 8 % unutar 18 h. Nakon toga slijedi pad otpuštanja. U vremenu od 48 h otpustilo se do 10 % uklopljenog DA.	DA je lokaliziran na površini čestice, te se brzo otpušta unutar 2 h a nakon tog vremena slijedi sporije oslobađanje koje je vjerojatno posljedica otpuštanja DA lokaliziranog u jezgri ili hidrofilnoj ljusci.	[175]
SLN – GCS - DA	Dopamin hidroklorid, glikol kitozan (GCS, mukoadhezi-van polisaharid) Tween®85 (tenzid), Gelucire® 50/13, octena kiselina	VELIČINA 147 ± 24 nm PDI 0,44 – 0,58 ZP +5,2 ± 1,7 mV EE 81 ± 2 %	Ispitivanje je provedeno kroz 48 h. U tom vremenu prvo se brzo otpustilo oko 2 % DA nakon čega je slijedilo kontinuirano otpuštanje DA do 10 % ukupnog uklopljenog DA.	Kontinuirano otpuštanje je posljedica lokalizacije DA unutar jezgre ili u hidrofilnoj ljusci. Zbog interakcija DA sa GCS povećao se EE, a smanjila se početna brzina otpuštanja i curenje dopamina iz SLN-a. Također DA se zaštitio od autooksidacije.	[175]
SLN – CS - DA	Dopamin hidroklorid ((0,1, 0,2, 0,03, 0,05) %, w/v), otopina Tween®80 (0.20 % w/v) i jednaka količina otopine kitozana (CS,	VELIČINA ČESTICE od 174,8 ± 14,4 (0,2 %) do 325,5 ± 12,86 nm (0,03 %) PDI od 0,3 ± 0,07 (0,2 %) do 0,495 ± 0,05 (0,03 %)	Ispitivanje pri pH 7,4 u vremenu od 168 h u kojem je otpušteno do 20 % uklopljenog DA. Od 0 do 6 h karakterizira brzo oslobađanje nakon čega slijedi održavanje otpuštanja. Kinetika odgovara	Brzo oslobađanje posljedica je otapanja DA lokaliziranog blizu površine SLN, a održavanje otpuštanja tijekom vremena posljedica je inertnog matriksa i otpuštanja DA	[176]

[9] Sastoji se od PEG estera (stearoil polioksil-32 gliserid), male gliceridne komponente i slobodnog PEG [175].

	0.05 % w/v) i 10^{-4} M rodamida-123[10]. Uljna faza - glicerol tripalmitin (0,35 % w/v), oktadecilamin (0,134 % w/v) i diklormetan	ZP od + 57,4 ± 1,25 mV (0,05 %) do + 66,5 ± 2,5 mV (0,2 %) EE od 60 % do oko 70 %	Higuchijevom modelu.	difuzijom ovisno o kvadratnom korijenu vremena. Najbolja stabilnost pri 4 °C (ispitivanje 7 dana).	
LIPOSOM - DA	Fosfatidil kolin, kolesterol, stearilamina (lipofilan kationski amin) u molarnom omjeru 6 : 3 : 1 otopljeni u kloroform i metanol smjesi omjera 2 : 1. Dopamin hidroklorid	Čestice sfernog oblika VELIČINA 200 nm ZP – pozitivan EE 40,5 %	Unutar 24 h otpustilo se 6.8 % DA u PBS[11] difuzijskom mediju pri pH 4,5. Otpuštanje započinje nakon pola sata nakon čega slijedi povećanje otpuštanja. Kinetika otpuštanja slijedi Fickovu kinetiku.	Utvrđen je kvadratni korijen vremena kod odnosa logaritma otpuštanja dopamina i logaritma vremena čime se dobiva lineraran odnos između otpuštanja i vremena što odgovara Higucijevom modelu knetike.	[177]
POLIMERNE NP - DA	50 mg dopamin hidroklorida otopljeno u 1 mL vode, 100 mg PLGA (čini matriks) otopljeno u 5 mL diklormetana, 20 mL 0,1 % w/v PVA (tenzid)	VELIČINA 119,70 ± 2,69 nm PDI 0,104 ± 0,04 ZP -2,66 ± 0,036 EE 35,55 %	Početak oslobađanja DA bio je nešto brži nakon čega je slijedilo sporo i kontrolirano oslobađanje koje održava razinu DA. Tijekom 7 dana oslobodilo se oko 60 % inkapsuliranog DA.	Preferira inkapsuliranje DA u matiks a ne na površinu NP. Početno brže oslobađanje posljedica je difuzije, otapanja i površinske desorpcije, a sporije oslobađanje nastaje zbog erozije i razgradnje PLGA. Smanjila se oksidacija DA i njegova razgradnja.	[178]
CS-NP - DA	Dopamin hidroklorid, kitozan (stupanj deactilacije 75-85 %; 0,20 % w/v (3 mg)) u otopini octene kiseline (0,1 % v/v (1,5 mL)), vodena otopina pentanatrij trifosfat heksahidrata (0,07 % w/v)	VELIČINA ČESTICE 109 ± 16 nm PDI 0.4 ZP +34 ± 0,9 mV EE 64 %	*In vivo* ispitivanje provedeno je u fiziološkoj otopini s fosfatnim puferima pri pH 5,5 i 7,4. Većina uklopljenog DA otpustila se u prvih nekoliko sati, s gotovo potpunim zasićenjem postignutim nakon otprilike 24 h (40 – 50 % otpuštenog DA). U kiselom mediju uočeno je brže otpuštanje, ali i veći postotak otpuštanja DA u	Brzo početno otpuštanje vjerojatno je posljedica vezanja DA na površinu nanočestice. Veći postotak otpuštanja u kiselom mediju posljedica je protonacije amino skupina CS što uzrokuje odbijanje u polimernim lancima i veće upijanje vode u CS mrežu a samim time i veće otpuštanje DA iz	[179]

[10] IUPAC: (6-amino-9- (2-metoksikarbonilfenil) ksanten-3-iliden) azanijev klorid.
[11] Eng. *phosphate buffer saline* - fosfatno puferirana fiziološka otopina.

			odnosu na neutralan medij.	nanočestice. CSNP štite DA od autooksidacije.	
CSNP – BROMOKRIPTIN (agonist dopaminskih receptora)	Bromokriptin (BRC, 0,5 mg/mL), kitozan (stupanj deacitilacije oko 85 %; 0,175% w/v) u otopini octene kiseline (2 % v/v), natrijev tripolifosfat (TPP; 0,175 % w/v). Omjer mase CS i TPP je 3,3:1 (w/w)	VELIČINA 161,3 ± 4,7 nm PDI 0,44 ± 0,03 ZP +40,32 ± 2,78 mV EE 84,2 ± 3,5 %	Profil otpuštanja (pri pH 7,4) započinje brzim otpuštanjem (30,98 ± 1,56 %) unutar 1 h, nakon čega slijedi sporije produženo otpuštanje do 87,80 ± 2,43 % inkapsuliranog BRC-a unutar 24 h.	Smanjeno čišćenje CSNP – BRC na nosnoj sluznici (tijekom 1 h zadržano je 44 ± 7,5 %, a tijekom 4 h je 42 ± 8,5 %). Najstabilniji uvjeti za čuvanje su na 4 °C (1,44 god), ali stabilni su i na 25 °C.	[180]
Borneol i laktoferin NP – DA (Lf-BNP-DA)	Dopamin hidroklorid (50 mg/mL), metoksi-PEG-PLGA (90 mg), maleimid-PEG-PLGA (10 mg), borneol (10 mg) otopljen u 5 mL diklormetana, vodena otopina PVA, pročišćeni tiolirani laktoferin	VELIČINA 175,3 ± 9,6 nm PDI 0,129 ± 0,001 ZP -15,7 ± 0,86 mV EE 25,43 ± 5,32 %	*In vivo* ispitivanje u PBS pH 7,4. Početno oslobađanje je brže (oko 30 % u 5 h) nakon čega slijedi produženo oslobađanje do oko 70 % kroz 72 h.	U usporedbi oslobađanja iz NP-DA, laktoferin-NP-DA- i Lf-BNP-DA postotak oslobađanja u Lf-BNP-DA niži ali ima veću stopu intranazalnog unosa u mozak.	[181]
PBCA-NP	Dopamin hidroklorid, N-butilcijanoa-krilat (BCA), Tween®80 (2 %, w/v), Poloksamer 188 (1%, w/v), HCl, NaOH	VELIČINA ČESTICA 101,5 ± 0,5 nm PDI 0,43 ± 0,7 ZP -7,5 ± 0,9 mV EE 49 ± 25 %	Početno brže otpuštanje nakon čega slijedi produljeno oslobađanje. Od 30 min do 48 h dolazi do povećanja otpuštanja nakon čega slijedi održivo otpuštanje do 80 % u 72 h.	Korsmeyer – Peppasov model oslobađanja.	[182]
DA-NPC (nano razmjerni koordinacijski polimeri s DA)	Dopamin, hidroklorid, $Fe(AcO)_2$ (u sintezi DA-NPC dolazi do oksidacije Fe^{2+} u Fe^{3+}), 1,4-bis(imidazol-1-ilmetil)benzen (BIX; bidentantni ligand), etanol	U vodi: VELIČINA ČESTICA 171 ± 4,2 nm PDI 0,208 ± 0,022 ZP +25.2 ± 1,92 mV U PBS-BSA: VELIČINA ČESTICA 103 ± 16,2 nm PDI 0,198 ± 0,019 ZP -8,32 ± 0,25 mV	U PBS-BSA pri pH 7,4 opaženo je kontinuirano oslobađanje DA, s kumulativnim oslobađanjem od 50 % u prva 2 h. Nakon toga, slijedi sporije oslobađanje s porastom od 5 % u sljedećih 22 h. Pri pH 5,5 oslobađanje od 50 % postignuto je u manje od 1h. U 10 h ispitivanja oslobađanje se	Smanjenje pH induciralo je mnogo brže oslobađanje DA zbog niže stabilnosti koordinativne veze između željeza i kateholnih liganada.	[183]

		EE 89,6 ± 7,2 %	povećalo do 85 %, a u 24 h dostiglo je oko 90 % oslobađanja.		
HIDROGEL	Dopamin hidroklorid, natrijev alginat, natrijev perjodat, polietilengli-kol, trietilamin, etanol, NaCl	VELIČINA 164 nm PDI 0,39 KOVALENTNO VEZAN DA 36 µg DA/mg AlgOX-DA	Visok mukoadhezivni učinak kombiniran sa sposobnošću produženog otpuštanja koje se može opisati Higucijevim modelom ali i reakcijama razgradnje. U simuliranoj otopini nazalnog elektrolita bez enzima pri pH 6 isporučeno je 13 % DA u 24 h.	U kiselim medijima dolazi do hidrolize Schiffove baze između oksidiranog alginata i DA što dovodi se do isporuke DA	[184]

Na temelju tablice 3 profil otpuštanja iz SLN-a može se opisati kao početno brzo otpuštanje nakon čega slijedi produljeno oslobađanje. Otpuštanje lijeka temelji se na difuziji i otpuštanju s površine SLN-ih čestica. Postotak inkapsulacije je nizak, a dodatkom linearnog polisaharida može doći do znatnog povećanja sposobnosti inkapsulacije lijeka. Kod liposoma zapažen je odgođen početak oslobađanja što je posljedica inkapsulacije lijeka u matriks i duljeg vremena potrebnog za difuziju lijeka, nakon čega slijedi produljeno oslobađanje. Kod polimernih nanočestica primijećeno je ubrzano početno otpuštanje u kojem se otpusti većina lijeka nakon čega slijedi produljeno oslobađanje. Njihovo oslobađanje može biti posljedica difuzije lijeka, razgradnje polimera ili otpuštanja lijeka s površine polimerne matrice. Ovisno o sastavu njihova moć inkapsulacije je zadovoljavajuća kao i količina lijeka koja se otpusti iz sustava. Kod koordinacijskih polimera dolazi do koordinacije kateholnih skupina dopamina oko iona. Njihova sposobnost oslobađanja ovisi o stabilnosti koordinacijske veze. U navedenom primjeru, moć inkapsulacije je velika a dovođenjem u kiseli medij dolazi do smanjenja stabilnosti koordinacijske veze i bržeg otpuštanja lijeka. Kod hidrogelova oslobađanje lijeka događa se zbog bubrenja, difuzije lijeka ili kemijskom kontrolom. Takvim mehanizmima oslobađanja lijeka omogućuje se kontroliranje otpuštanja. Dodatnim inkapsuliranjem lijeka u polimernu matricu unutar hidrogelova može se dodatno utjecati na kinetiku otpuštanja lijeka, ali i zaštititi lijek od razgradnje.

4.2 Prijedlog sustava za dostavu dopamina

4.2.1 Kalkulacija količine dopamina za postizanje ciljano dostavljene količine u SŽS

Tretman bolesti SŽS-a nadomjestkom dopamina optimalan je pri dnevnim dozama od 400-800 mg L-dopa i 100-200 mg benzerazida [160], od kojih enzimatskim putem nastaje dopamin (slika 22.). Ukupno 1 % od primjenjene doze prekursora dopamina dospije u SŽS. Iz primjenjene doze jednostvnim izračunom može se doći do podataka o količini dopamina koja je potrebna za optimalan učinak tretmana.

Račun 1. Množina L-dope.

$m_{L\text{-}DOPA}$= 800 mg

$M_{L\text{-}DOPA}$= 197,188 g/mol

$n_{L\text{-}DOPA}= m_{L\text{-}DOPA} / M_{L\text{-}DOPA} \rightarrow$ 0,8g/ 197,188 g/mol = 0,00405 mol

Iz računa 1 zaključuje se da je u dozi ukupno $4{,}05\times10^{-3}$ mol prekursora dopamina od kojeg se samo 1 % adsorbira u SŽS, tj. $4{,}05\times10^{-5}$ mol. Iz navedene množine L-dope koja se adsorbira u SŽS u računu 2 izračunata je količina dopainam koja se želi dostaviti u SŽS.

Račun 2. Količina dopamina

$n_{L\text{-}DOPA}= 4{,}05\times10^{-5}$ mol

$M_{DOPAMIN}$= 153,18 g/mol

$m_{DOPAMIN}= n_{L\text{-}DOPA} \times M_{DOPAMIN} \rightarrow 4{,}05\times10^{-5}$ mol x 153,18 g/mol = $6{,}204\times10^{-3}$ g

6,204 mg dopamina je maksimalna potrebna količina stoga će se ova vrijednost podesiti kao količina koju je potrebno dostaviti nazalnim administrativnim putem u SŽS.

4.2.2 Kinetička kalkulacija dostave dopamina kroz njušni epitel

Transport dopamina kroz njušni epitel dijeli se na dva puta: neuralni i epitelni. Pod nazalnim pH uvjetima dopamin je pozitivno nabijen što ograničava njegov pasivan transport putem epitela i zanemariv je u odnosu na neuralni transport. Brzina neuralnog transporta (v_d^n) ovisi o koncetraciji dopamina u njušnoj mucosi, i iznosi 49.12 ng / cm^2 / min za njušni dio epitela

i 33.17 ng / cm^2 / min za respiratorni dio epitela pri koncetraciji dopamina od 1000 μM [173]. Površina ljudske nosne šupljine je oko 160 cm^2 od čega njušni epitel varira od P=1-5 cm^2, pa se za ovu kalkulaciju u računu 2 koristi prosječna vrijednost od $\underline{P}$=3 cm^2. Za unos dopamina u respiratornom dijelu epitela uzeta je površina od 130 cm^2 koja je navedana u literaturnom dijelu rada. Uz normalno mukozalno čišćenje vrijeme zadržavanja lijeka u nazalnoj mukozi ne prelazi 20 minuta. Na bazi ovih podataka izračunata je količina dopamina koji se može dostaviti nakon jednostruke i jednostavne administracije (račun 2).

Račun 3. Količina dopamina koja se može dostaviti nakon administracije.

v_d^n (respiratorni epitel) = 33.17 ng / cm^2 / min

v_d^n (njušni epitel i njušni živac) = 49,12 ng / cm^2 / min

$\underline{P}$ (njušni epitel i njušni živac) = 3 cm^2

$\underline{P}$ (respiratorni epitel) = 130 cm^2

$m_{dopamin}$= v_d^n (respiratorni epitel) × $\underline{P}$ (respiratorni epitel) × t = 33,17 ng / cm^2 / min ×130 cm^2×20 min = 86,242 μg dopamina

$m_{dopamin}$= v_d^n (njušni epitel i njušni živac) × $\underline{P}$ (njušni epitel i njušni živac) × t = 49,12 ng / cm^2 / min × 3 cm^2 × 20 min = 2,947 μg dopamina

Zbrojem količine dopamina koji se može dostaviti putem njušnog i respiratnornog dijela dobije se ukupno 89,189 μg dopamina, iz čega je vidljivo da se jednostavnom administracijom dopamina ne može postići intranazalni transport dopamina u potrebnoj količini.

Dva faktora mogu povećati transportiranu količinu dopamina, a to su vrijeme zadržavanja dopamina i transport pomoću nanočestica u koje je vezan dopamin.

Retencijsko vrijeme zadržavanja lijeka na njušnoj sluznici može se povećati fromulacijama koje imaju mukoadhezivna svojastva. Uobičajene formulacije s mukoadhezivnim svojstvima povećavaju retencijsko vrijeme za 5 do 10 puta što je nedovoljno za unos potrebne količine dopamina. Neionska modifikacija mukoadhezivnog polimera PAA tiolacijom i aktiviranjem polimera može se postići povećanje retencijskog vremena do maksimalno 960 puta [185]. To je značajno povećanje i može se regulirati kontrolom tiolacije.

Dokazano je da polimerne nanočestice ulaze u neuralne stanice. Brzina penentracije, količina i distribucija nanočestica unutar neuralnih stanica ovisi o njihovoj veličini i površinskim svojstvima [186]. Polimerne nanočestice pripremljene od PLGA s neutralnim površinskim nabojem i promjera 80-180 nm ulaze u njušno tkivo već 5 minuta nakon administracije [178], gdje se zadržavaju i gdje kreće njihova razgradnja [187]. Takve nanočestice se mogu koristiti kao nosioci dopamina [178], koji dopamine otpuštaju s dvije različite brzine. Nakon administracije, 30 % dopamina se otpusti unutar 3 minute, nakon čega slijedi sporo otpuštanje dopamina uzrokovano sporom difuzijom dopamina iz unutršnjosti nanočestice i sporom degradacijom PLGA u neuralnim stanicma. Manje čestice se razgrađuju brže, tako se kontrolom distribucije veličine čestica može kontrolirati i kinetika otpuštanja dopamina i održiva stalna koncetracija za daljni transport do SŽS-a. Na ovaj način smanjuje se i pretvorba dopamina staničnim regulativnim procesima.

Difuzijski koeficijent nanočestica promjera između 80 i 180 nm u mukozi je 10^{-9} cm^2/s što je u istom redu veličine difuzijskog koeficijenta u vodi [188], što znači da mukoza ne predstavlja difuzijsku barijeru za prolazak nanočestica do površine olafaktrnog epitela i s njom se ne mora računati.

Za daljnu kalkulaciju količine PLGA nanočestica koje sadrže dopamin, u računu 3, uzeto je u obzir da je maksimalan maseni udio dopamina 0,1185 [178], a potrebna doza dopamina je 6,204 mg.

Račun 4. Količina DA-PLGA.

m/m (DA) = 0,1185

m_{DA} = 6,204 mg

$m_{DA\text{-}PLGA} = m_{DA} / (m/m\ (DA))$ = 6,204 mg / 0,1185= 52,35 mg

4.2.3 Prijedlog načina doziranja na njušnu sluznicu

Zbog nesigurnog redispergiranja nanočestica u mukozi, prijedlog je da se DA-PLGA formulira u obliku nazalne suspenzije koja će se upotrebljavati u obliku spreja ili nosnih kapi. Maksimalna količina nazalne administracije tekućinske formulacije je 150 µL u jednu nosnicu tj. 300 µL za administraciju u dvije nosnice [77], na osnovi koje je u računu 4 računata koncetracija DA-PLGA u suspenziji za doziranje potrebne količine DA.

Račun 5. Koncentracija DA-PLGA u suspenziji.

$m_{\text{DA-PLGA}} = 52{,}35$ mg

$V_{\max} = 300$ μL

$c_{\text{DA-PLGA}} = m_{\text{DA-PLGA}} / V_{\max} = 52{,}35$ mg / 300 μL = 0,1745 mg/ μL

Izračunata koncetracija se smatra koncetriranom suspenzijom kojom se uz dodatak stabilizatora može postići odgovarajuća stabilnost za održavanje homogenosti suspenzije za intranazalnu administraciju. Kao dodatni stabilizator predloženo je korištenje Tween®80 tenzida, koji ima dokazanu netoksičnost i koji povećava sposobnost prijanjanja nanočestica na površinu živčanih stanica [186]. Kako je viskoznost važan parametar u formulacije nazalnih lijekova prijedlog je da se viskoznost podešava otapanjem PAA koja se dodatno može umrežiti tiolacijom i tvoriti mukoadhezivni hidrogel [185] za učinkovito povećanje retencijskog vremena u nosnoj mukozi.

5. Zaključak

Racionalni dizajn sustava za dostavu lijekova je inventivni proces pronalaženja novih puteva i optimizacija dostave lijekova na temelju znanja o terapeutskom cilju, te molekularnim, farmakokinetčkim i farmakodinamičkim svojstvima lijekova. Za temu ovog rada izabran je nazalni administrativni put kao alternativni način za unos lijekova u SŽS za liječenje bolesti uzrokovane nedostatkom dopamina. Na osnovi podataka postojećih terapija, i istraživanja vezanih uz dostavu dopamina u SŽS određena je količina dopamina koju je potrebno unijeti alternativnim administrativnim putem u SŽS za učinkovitu terapiju. Uz daljni detaljni pregled literature, i skupljanje podataka o mehanizmu i kinetici prijenosa dopamina iz nosne šupljine u SŽS, te svojstvima ispitanih nanostrukturiranih sustava za dostavu lijekova izvršen je izračun potrebne doze i predložen optimalan sustav za dostavu DA.

Tijekom ovog istraživanja utvrđeno je da i pored izuzetno velikog broja pregledanih znanstvenih radova vezanih uz ovo područje još uvijek nema dovoljno podataka za kvalitetan racionalan dizajn.

6. Literaturni izvori

[1] Narodne novine, ZAKON O IZMJENAMA I DOPUNAMA ZAKONA O LIJEKOVIMA, Zagreb: Narodne novine d.d., 100 (2018), str. 53.

[2] http://neuron.mefst.hr/docs/katedre/anesteziologija/MODUL%20F_Carev_final%20final%206.02.2011.pdf. (Preuzeto 15.3.2021.).

[3] National Collaborating Centre for Chronic Conditions (UK), Parkinson's Disease: National Clinical Guideline for Diagnosis and Management in Primary and Secondary Care, Royal College of Physicians (UK), London, 2006.

[4] https://www.drugs.com/ppa/carbidopa-and-levodopa.html. (Preuzeto 24.3.2021.).

[5] M. A. Van Berkel, J. L. Elefritz, American Journal of Health-System Pharmacy, 75 (2018), 524–531.

[6] https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=abeb13eb-66a5-4030-9bc2-5981acd196b9. (Preuzeto 29.3.2021.).

[7] J. S. Froemming, Y. W. Lam, M. W. Jann, C. M. Davis, Clinical pharmacokinetics, Pharmacokinetics of haloperidol, 17(1989).

[8] https://www.drugs.com/sfx/haloperidol-side-effects.html. (Preuzeto 28.7.2021.).

[9] A. Petrić, Medicinski proizvodi namijenjeni nazalnoj primjeni, Završni specijalistički rad, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb, 2016.

[10] http://www.zzjzpgz.hr/nzl/70/disni.htm. (Preuzeto 4.4.2021.).

[11] L. Balatinec, Atlas strujanja u nosnoj šupljini. Rad predan na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade, Fakultet strojarstva i brodogradnje Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2018.

[12] Ž. Bumber, V. Katić, M. Nikšić-Ivančić, B. Pegan, V. Petric, N. Šprem, Otorinolaringologija, Naklada Ljevak, Zagreb, 2004.

[13] http://neuron.mefst.hr/docs/katedre/orl/medicina/Knjiga_ORL-rinologija.pdf. (Preuzeto 4.2.2021.).

[14] D. Jalšovec, Sustavna i topografska anatomija čovjeka, Školska knjiga, Zagreb, 2005.

[15] http://en.shram.kiev.ua/img/healjalšovth/anatomy/561.jpg. (Preuzeto 17.4.2021.).

[16] H. Fritsch; W. Kühnel, Priručni anatomski atlas: Unutarnji organi, (V. Katavić, Prev.), Medicinska naklada, Zagreb, 2012.

[17] F. H. Netter, Atlas anatomije čovjeka (Drugo izd.) (I. Vinter, Prev.), Golden marketing, Zagreb, 1997.

[18] C. Pina Costa, J. Nuno Moreira, J. M. Sousa Lobo, A. C. Silva, Acta pharmaceutica Sinica B, 11 (2021), 925-940.

[19] K. Netsomboon, A. Bernkop-Schnürch, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 98 (2015), 76-89.

[20] J. Fanghanel, F. Pera, F. Anderhuber, R. Nitsch, Waldeyerova anatomija čovjeka (1. hrvatsko izdanje izd.). Golden marketing. Zagreb, 2009.

[21] I. Drobec, Kirurško liječenje kroničnog rinnosinusitisa, Diplomski rad, Stomatološki fakultet u Zagrebu, Zagreb, 2015.

[22] https://sites.google.com/site/wwwosjetilahr/home/osjetilo-sluha-uho/osjetilo-njuha-mirisa--nos. (Preuzeto 16.4.2021.).

[23] https://www.sfzg.unizg.hr/_download/repository/Nosna_supljina.pdf. (Preuzeto 23.4.2021.).

[24] http://4.bp.blogspot.com/-u1X4FRvuiYo/UMioFz9nDlI/AAAAAAAAABg/RajzKmQIoOU/s1600/nasal.jpg. (Preuzeto 26.4.2021.).

[25] https://www.sfzg.unizg.hr/_download/repository/A2fKrvne_zile_glave_i_vrata.pdf. (Preuzeto 28.4.2021.).

[26] https://www.researchgate.net/profile/Vijoy-Jha/publication/337032274/figure/fig8/AS:821933742489604@1572975683459/Blood-supply-of-nose-Littles-Area-Littles-area-is-situated-in-the-anterior-inferior.jpg. (Preuzeto 2.5.2021.).

[27] K. Werner i M. Frotscher, Priručni anatomski atlas: Živčani sustav i osjetila (Z. Petanjek, Prev., Svez. III), Medicinska naklada, Zagreb, 2011.

[28] https://d3i71xaburhd42.cloudfront.net/01cc0745e5d15f00fd1ea072f4ff4a4ad26ddfd3/3-Figure1-1.png. (Preuzeto 4.5.2021.).

[29] https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Ffoam-extend.fsb.hr%2Fwp-content%2Fuploads%2F2018%2F06%2FBalatinec_Atlas_strujanja_u_nosnoj_supljini_2018.pdf&psig=AOvVaw1EnXAu8HGjL-VliUXlu33W&ust=1629568884825000&source=images&cd=vfe&ved=0CAsQjRxqFwoTCIComK-XwPICFQAAAAAdAAAAABAD. (Preuzeto 6.5.2021.).

[30] S. Udayangani, Difference Between Pseudostratified and Transitional Epithelium, Science Between.com, 2020.

[31] J. Tabaković, Papilomi nosne šupljine i paranazalnih sinusa, Diplomski rad, Medicinski fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, 2016.

[32] A. Hafner, D. Škrinjar, J. Filipović Grčić, Farmaceutski glasnik, 70 (2014), 303-321.

[33] L. Illum, Eur J Pharm Sci., 11 (2000), 1-18.

[34] I. Drobec, Kirurško liječenje kroničnog rinosinusitisa, Diplomski rad, Stomatološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2015.

[35] F. W. Merkus, J. C. Verhoef, N. G. Schipper, E. Marttin, Advanced drug delivery reviews, 29 (1998), 13–38.

[36] T. P. Crowe, M. H. Greenlee, A. G. Kanthasamy, W. H. Hsu, Mechanism of intranasal drug delivery directly to the brain, Life Sciences, 195 (2018), 44-52.

[37] R. Dahl, N. Mygind, Anatomy, physiology and function of the nasal cavities in health and disease, Drug Deliv Rev, 29 (1998), 3-12.

[38] A. Katana, Povezanost gornjih i donjih dišnih putova, Diplomski rad, Stomatološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2016.

[39] I. Plantić, Lipidno-alginatne nanočestice za nazalnu primjenu deksametazona, Diplomski rad, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2017.

[40] E. E. Morrison, R. M. Costanzo, The Journal of comparative neurology, 297 (1990), 1-13. PMID 2376627.

[41] M. C. Bonferoni, S. Rossi, G. Sandri, F. Ferrari, E. Gavini, G. Rassu, P. Giunchedi, Pharmaceutics, 11 (2019), 84.

[42] C. Kiparissides, A. Vasileiadou, F. Karageorgos, S. Serpetsi, Ind. Eng. Chem. Res., 59 (2020), 2548–2565.

[43] A. Pires, A. Fortuna, G. Alves, A. Falcão, J Pharm Pharmaceut Sci, 12 (2009), 288-311.

[44] V. Bourganis, O. Kammona, A. Alexopoulos, C. Kiparissides, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 128 (2018), 337-362.

[45] D. T. Moran, J. Carter Rowley, B. W. Jafek, M. A. Lovell, The fine structure of the olfactory mucosa in man, Journal of Neurocytology, 11 (1982), str. 721-746.

[46] https://o.quizlet.com/3bsOzUb0LLHbI4jfGrdADQ_b.png. (Preuzeto 28.7.2021.).

[47] A. Mistry, S. Stolnik, L. Illum, International Journal of Pharmaceutics, 379 (2009), 146–157.

[48] J. Leal, H. D. C. Smyth, D. Ghosh, International Journal of Pharmaceutics, 532 (2017), 555-572.

[49] H. Viswanathan, I. A. Brownlee, J. P. Pearson, S. Carrie, American Journal of Rhinology, 20 (2006), 554–557.

[50] T. Carlson, J. Lock, R. Carrier, Annual Review of Biomedical Engineering, 20 (2018), 197-220.

[51] M. A. Sarkar, Pharmaceutical research, 9 (1992), 1-9.

[52] L. Illium, Journal of controlled release, 87 (2003), 187–198.

[53] http://ss-medicinska-si.skole.hr/upload/ss-medicinska-si/images/static3/1121/attachment/Zivcani_sustav.pdf (Preuzeto 1.8.2021.).

[54] https://i1.wp.com/neupsykey.com/wp-content/uploads/2017/05/01631.jpg?w=960 (Preuzeto 2.8.2021.).

[55] T. Tompoš, Histokemija liposoma i njihova povezanost s krvno–moždanom barijerom, Završni seminarski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2017.

[56] M. Cindrić, Biomodulacija propusnosti krvno – mozgovne barijere, Doktorska disertacija, Sveučilišni poslijediplomski interdisciplinarni doktorski studij Molekularne bioznanosti, Osijek, 2014.

[57] Z. Drenšek, Utjecaj predanalitike na pretrage u likvoru, Diplomski rad, Farmaceutsko biokemijski fakutet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2017.

[58] D. Dragičević, Nanotehnologija u neuroznanosti, Završni rad, Odjel za biotehnologiju, Sveučilište u Rijeci, Rijeka, 2019.

[59] https://neupsykey.com/the-blood-brain-barrier-choroid-plexus-and-cerebrospinal-fluid/ (Preuzeto 14.8.2021.).

[60] C. Guyton, J. E. Hall, Medicinska fiziologija - udžbenik (12. izd.), Medicinska naklada, Zagreb, 2012.

[61] R. Daneman, A. Prat, Cold Spring Harbor perspectives in biology, 7 (2015), a020412.

[62] A. Rauf Khan, M. Liu, M. W. Khan, G. Zhai, Journal of Controlled Release, 268 (2017), 364-389.

[63] C. Costa, J. Moreira, M. Amaral, J. Sousa Lobo, A. Silva, Journal of Controlled Release, 295 (2019), 187-200.

[64] E. Kuruoglu, C. Cokluk, A. H. Marangoz, K. Aydin, Turk Neurosurg, 25 (2014), 914-921.

[65] I. Vukasović, Biokemija likvora, Chronolab AG - Švicarska, C. (ur.), Stručni sastanak: Dijagnostika likvora, Chrono d.o.o., Split, 2002.

[66] W. M Pardridge, Fluids and barriers of the CNS, 8 (2011), 1-4.

[67] J. Gottofrey, H. Tjälve, Pharmacology & toxicology, 69 (1991), 242-252

[68] A. D. Lorenzo, The olfactory neuron and the blood-brain barrier, Ciba Foundation Symposium-Internal Secretions of the Pancreas (Colloquia on Endocrinology), Chichester, UK: John Wiley & Sons, 1970, 151-176.

[69] N. J. Johnson, L. R. Hanson, W. H. Frey, Molecular pharmaceutics, 7 (2010), 884-893.

[70] L. A. Keller, O. Merkel, A. Popp, Drug Delivery and Translational Research. 2021, 1-23.

[71] B. Arvidson, Toxicology, 88 (1994), 1-14.

[72] Hrvatska farmakopeja, NN 33, Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi, 2007.

[73] H. Kublik, M. Vidgren, Advanced Drug Delivery Reviews, 29(1998), 157-177.

[74] V. Klarić, Utjecaji suvremenih farmaceutskih oblika lijekova i medicinskih proizvoda na adherenciju kod djece, Specijalistički rad, Farmaceutsko biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2016.

[75] P. G. Djupesland, Drug delivery and translational research 3.1 (2013), 42-62.

[76] https://sipnose.com/wp-content/uploads/2020/12/SipNose-15-ENG-The-Marker.pdf (Preuzeto 14.8.2021.).

[77] N. R. Husseina, H. Kamal Omer, M. A. Elhissi, W. Ahmed, Advances in Medical and Surgical Engineering, 15 (2020), 279-311.

[78] https://hr.industrymedics.com/zabolevanija-cns-spisok (Preuzeto 16.8.2021.).

[79] https://www.drugs.com/condition/cns-disorder.html (Preuzeto 19.8.2021.).

[80] J. Maskaljević, Tumori središnjeg živčanog sustava, Završni rad, Sveučilište Sjever, Varaždin, 2016.

[81] M. Kovačević, Načini djelovanja anestetika, Diplomski rad, Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2015.

[82] M. Tripković, Djelovanje intravenskih anestetika na moždani protok, Diplomski rad, Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2017.

[83] L. Kekez, Mehanizam djelovanja i klinički značaj lokalnih, Završni rad, Odjel za zdravstvene studije. Sveučilište u Zadru, Zadar, 2021.

[84] D. Watson, Pharmaceutical Chemistry, Churchill Livingstone, 2011.

[85] S. Mimica Matanović, Medicus, 23 (2014), 31-46.

[86] J. Osmanović Barilar, Antiepileptici za studente medicine, Gyrus Journal, 2 (2014).

[87] D. Jonjić, Medicus, 23.2 (2014), 145-157.

[88] M. Živković, Medicus, 26.2 (2017), 133-139.

[89] https://www.plivazdravlje.hr/aktualno/clanak/8301/Sto-je-metabolicki-sindrom.html (Preuzeto 23.8.2021.).

[90] I. Lučić, B. Banjanin, Vox Scientiae PHARM-HEALTH, 3 (2015).

[91] M. Cvitković, Anksiolitici u liječenju depresije i anksioznih poremećaja, Diplomski rad, Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2015.

[92] https://mediately.co/hr/atcs (Preuzeto 24.8.2021.).

[93] N. Mimica, V. Folnegović-Šmalc, Medicinar, 46 (2004), 19-25.

[94] https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/spravato (Preuzeto 14.9.2021.).

[95] https://www.halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/Imigran-20-mg-po-dozi-sprej-za-nos-otopina/11484/ (Preuzeto 14.9.2021.).

[96] https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/pandemic-influenza-vaccine-h5n1-astrazeneca-previously-pandemic-influenza-vaccine-h5n1-medimmune#product-information-section (Preuzeto 15.9.2021.).

[97] https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/pecfent (Preuzeto 14.9.2021.).

[98] https://www.medicines.org.uk/emc/product/6712/smpc (Preuzeto 14.9.2021.).

[99] https://www.halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/Minirin-10-mikrograma-po-potisku-sprej-za-nos/12333/ (Preuzeto 15.9.2021.).

[100] C, Bitter, K. Suter-Zimmermann, C. Surber, Current problems in dermatology, 40 (2011), 20-35.

[101] K. Jadhav, M. Gambhire, I. Shaikh, V. Kadam, S. Pisal, Current Drug Therapy, 2 (2007), 27-38.

[102] J. Mundlia, M. Kumar, Amardeep, International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 6 (2014), 951-960.

[103] H. R. Costantino, L. Illum, G. Brandt, P. H. Johnson, S. C. Quay, International Journal of Pharmaceutics, 337 (2007), 1-24.

[104] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, Biokemija (1. hrvatsko izd.), Školska knjiga, Zagreb, 2013.

[105] K. Khanvilkar, M. D. Donovan, D. R. Flanagan, Advanced drug delivery reviews, 48 (2001), 173-193.

[106] C. V. Pardeshi, V. S. Belgamwar, Expert Opinion on Drug Delivery, 10 (2013), 957–972.

[107] D. Đikić, Fiziologija čovjeka, Nastavni tekst, Prirodoslovno matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2017.

[108] M. S. Landis, T. Boyden, S. Pegg, Therapeutic Delivery, 3 (2012), 195–208.

[109] M. Agrawal, S. Saraf, S. Saraf, S. K. Dubey, A. Puri, U. Gupta, P. Kesharwani, V. Ravichandiran, P. Kumar, V. G. M. Naidu, U. Suryanarayana, M. Ajazuddin, A. Alexander, Journal of Controlled Release, 327 (2020), 235-265.

[110] D. Mastropietro, K. Park, H. Omidian, Polymers in Oral Drug Delivery, 2017, 430-444.

[111] J. Brady, T. Dürig, P. Lee, J. X. Li, Developing Solid Oral Dosage Forms, 2017, 181-223.

[112] M. Chaturvedi, M. Kumar, K. Pathak, Journal of advanced pharmaceutical technology & research, 2 (2011), 215–222.

[113] E. Fröhlich, E. Roblegg, Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 14 (2014), 126-136.

[114] A. Chonkar, U. Nayak, N. Udupa, Indian journal of pharmaceutical sciences, 77 (2015), 367–375.

[115] V. S. Kulkarni, C. Shaw, Essential Chemistry for Formulators of Semisolid and Liquid Dosages, 2015, 43-69.

[116] P. Sriamornsak, Silpakorn University International Journal, 3 (2003), 206-228.

[117] C. Surber, P. Elsner, M. Farage, Current Problems in Dermatology 40 (2011), 20-35.

[118] J. H. Lee, Y. Yeo, Chemical engineering science, 125 (2015), 75–84.

[119] A. Milićević, Kinetički modeli u farmaceutskoj industriji, Završni rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2016.

[120] S. Dash, P. N. Murthy, L. Nath, P. Chowdhury, Acta poloniae pharmaceutica, 67 (2010), 217–223.

[121] M. Radić, Oslobađanje lijeka iz parenteralnih treapijskih sustava metodama in vitro i korelacija in vitro in vivo, Završni specijalistički rad, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2017.

[122] C. Mircioiu, V. Voicu, V. Anuta, A. Tudose, C. Celia, D. Paolino, M. Fresta, R. Sandulovici, I. Mircioiu, Drug Delivery Systems. Pharmaceutics, 11 (2019), 140.

[123] J. Far, M. Abdel-Haq, M. Gruber, A. Abu Ammar, ACS omega, 5 (2020), 7432–7439.

[124] J. Petanjek, Utjecaj hidrodinamičkih uvjeta na brzinu otpuštanja djelatne tvari, Završni rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2017.

[125] P. Costa, J. Manuel, S. Lobo, European Journal of Pharmaceutical Sciences, 13 (2001), 123-133.

[126] M. Krakić, Mikroinkapsuliranje djelatne tvari, Diplomski rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2016.

[127] S. M. Lombardo, M. Schneider, A. E. Türeli, N. Günday Türeli, Beilstein journal of nanotechnology, 11 (2020), 866–883.

[128] X. Y. Lu, Progress in Molecular Biology and Translational Science, 104 (2011), 299–323.

[129] S. S. Hong, K. T. Oh, H. G. Choi, S. J. Lim, Pharmaceutics, 11 (2019), 540.

[130] S. Md, G. Mustafa, S. Baboota, J. Ali, Drug Development and Industrial Pharmacy, 41.12 (2015), 1922-34.

[131] S. Mukherjee, S. Ray, S. Thakur, Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 71 (2009), 349-58.

[132] http://www.liposomidiferro.it/category/ferro-abi/ (Preuzeto 17.9.2021.).

[133] A. Domínguez, B. Suarez-Merino, F. Cerio, Journal of nanoscience and nanotechnology., 14 (2014), 79-766.

[134] A. Škrbina, Nanotehnološki nosači biljnih tvari i pripravaka, Diplomski rad, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2016.

[135] A. B. Kovačević, Lipidne nanočestice stabilizirane neionskim polihidroksi površinski aktivnim tvarima: priprema, karakterizacija, stabilnost i ugradnja lijeka, Doktorska disertacija, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, 2015.

[136] N. Yadav, S. Khatak, S. Udai Vir Singh, International Journal of Applied Pharmaceutics, 5 (2013), 8-18.

[137] C. Tapeinos, M. Battaglini, G. Ciofani, Journal of Controlled Release, 264 (2017), 306-332.

[138] N. Raič, Terapijski nanosustavi na bazi lipida - čvrste lipidne nanočestice, izazovi razvoja i proizvodnje, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2018.

[139] A. P. Singh, S. K. Saraf, S. A. Saraf, Drug delivery and translational research, 2 (2012), 498-507.

[140] S. Scioli Montoto, G. Muraca, M. E. Ruiz, Frontiers in molecular biosciences, 7 (2020), 319.

[141] P. Ghasemiyeh, S. Mohammadi-Samani, Research in pharmaceutical sciences, 13 (2018), 288–303.

[142] D. Irby, C. Du, F. Li, Molecular pharmaceutics, 14 (2017), 1325–1338.

[143] S. Wissing, O. Kayser, R. Müller, Advanced Drug Delivery Reviews, 56 (2004), 1257–1272.

[144] https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S1359644618302678-gr1.jpg (Preuzeto 30.9.2021.).

[145] B. Chatterjee, B. Gorain, K. Mohananaidu, P. Sengupta, U. K. Mandal, H. Choudhury, International Journal of Pharmaceutics, 565 (2019), 258–268

[146] S. Cunha, B. Forbes, J. M. Sousa Lobo, A. Silva, International journal of nanomedicine, 16 (2021), 4373-4390.

[147] M. Milardović, Fizikalna karakterizacija liposomskih hidrogelova s diltiazemkloridom i azitromicin dihidratom, Diplomski rad, Farmaceutsko biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2018.

[148] Q. Wang, Z. Zuo, C. Kit Chucky Cheung, S. Shui Yee Leung, International Journal of Pharmaceutics, 559 (2019), 86-101.

[149] Y. M. Gabal, A. O. Kamel, O. A. Sammour, A. H. Elshafeey, International journal of pharmaceutics, 473 (2014), 442–457.

[150] N. Ben-Jonathan, Dopamine: Endocrine and Oncogenic Functions, CRC Press, 2020.

[151] D. Kolić, Funkcije biogenih amina kao neurotransmitera u središnjem živčanom sustavu, Završni rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2016.

[152] https://www.chemistryworld.com/podcasts/dopamine/3010855.article (Preuzeto 2.10.2021.).

[153] M. Kassal, Neurokemijska podloga halucinacija, Završni rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2013.

[154] A. Watanabe, Dopamine research advances, Nova Biomedical Books, New York, 2008.

[155] G. Ayano, Journal of Mental Disorders and Treatment, 2 (2016).

[156] J. Hardy, P. Wester, I. Backstrom, J. Gottfries, L. Oreland, A. Stenstrom, B. Winblad, Neurochemistry International, 10 (1989), 445–450.

[157] https://hr.the-health-site.com/basal-ganglia-653 (Preuzeto 13.10.2021.).

[158] https://wikiqube.net/wiki/Putamen (Preuzeto 13.10.2021.).

[159] A. Roy, S. Maikap, P. J. Tzeng, J. T. Qiu, Vacuum, 172 (2020).

[160] L. Bach-Rojecky, Farmaceutski glasnik, 54 (1998), 243 - 258.

[161] D. C. Olanow, L. L. Gauger, J. M. Cedarbaum, Brief Communications, 29 (1991), 556–559.

[162] F. Haddad, M. Sawalha, Y. Khawaja, A. Najjar, R. Karaman, Molecules, 23 (2017).

[163] https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dopamine (Preuzeto 21.10.2021.).

[164] https://biocyc.org/compound?orgid=META&id=DOPAMINE# (Preuzeto 23.10.2021.).

[165] A. Mirzahosseini, T. Pálla, G. Orgován, G. Tóth, B. Noszál, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 158 (2018), 346–350.

[166] N. V. Chemuturi, M. D. Donovan, Wiley InterScience, 95 (2006), 2507–2515.

[167] R. A. Vaughan, J. D. Foster, Trends in pharmacological sciences, 34 (2013), 489–496.

[168] G. Eisenhofer, Pharmacology & Therapeutics, 91 (2001), 35-62.

[169] P. C. McHugh, Vitamins and Hormones 98 (2015), 339-369. doi:10.1016/bs.vh.2014.12.009

[170] J. L. Berfield, L. C. Wang, M. E. Reith, Journal of Biological Chemistry, 274 (1999), 4876–4882.

[171] Y. Li, F. P. Mayer, P. S. Hasenhuetl, V. Burtscher, K. Schicker, H. H. Sitte i drugi, The Journal of biological chemistry, 292 (2017), 4235–4243.

[172] X. Wu, H. H. Gu, Gene, 233 (1999), 163-70.

[173] N.V. Chemuturi et al., Life Sciences, 79 (2006), 1391–1398.

[174] D. Shao, E. Massoud, U. Anand, A. Parikh, E. Cowley, D. Clarke, R. U. Agu, Therapeutic Delivery, 4 (2013), 439–451.

[175] S. Cometa, M. A. Bonifacio, G. Trapani, S. Di Gioia, L. Dazzi, E. De Giglio, A. Trapani, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 185 (2020), 113257.

[176] E. Ortega, S. Blanco, A. Ruiz, M. Peinado, S. Peralta, M. E. Morales, Journal of Nanoparticle Research, 23 (2021), 1-11.

[177] N. K. Jain, A. C. Rana, S. K. Jain, Drug Development and Industrial Pharmacy, 24 (1998), 671–675.

[178] R. Pahuja, K. Seth, A. Shukla, R. K. Shukla, P. Bhatnagar, L. K. Chauhan, i drugi, ACS Nano, 9 (2015), 4850–4871.

[179] A. Ragusa, P. Priore, A. M. Giudetti, G. Ciccarella, A. Gaballo, Applied Sciences, 8 (2018).

[180] S. Md, S. Haque, M. Fazil, M. Kumar, S. Baboota, J. K. Sahni, J. Ali, Expert Opinion on Drug Delivery, 11 (2014), 827-842.

[181] S. Tang, A. Wang, X. Yan, L. Chu, X. Yang, Y. Song, K. Sun, X. Yu, R. Liu, Z. Wu, P. Xue, Drug Delivery, 26 (2019), 700–707.

[182] F. Jahansooz, B. E. Hosseinzade, A. H. Zarmi, F. Hadi, S. M. Massood Hojjati, K. Shahpasand, Therapeutic delivery, 11.6 (2020), 387–399.

[183] J. García-Pardo, F. Novio, F. Nador, I. Cavaliere, S. Suárez-García, S., i drugi, ACS Nano, 15 (2021), 8592-8609.

[184] A. Trapani, F. Corbo, G. Agrimi, N. Ditaranto, N. Cioffi, A. Trapani, F. Corbo, G. Agrimi, N. Ditaranto, N. Cioffi, F. Perna, A. Quivelli, E. Stefano, P. Lunetti, A. Muscella, S. Marsigliante, A. Cricenti, M. Luce, C. Mormile, A. Cataldo, S. Bellucci, Materials, 14 (2021), 3495.

[185] S. Duggan, W. Cummins, O. O' Donovan, H. Hughes, E. Owens, European Journal of Pharmaceutical Sciences 100 (2017), 64-78

[186] A. Mistry, S. Stolnik, L. Illum, Molecular Pharmaceutics 12 (2015), 2755−2766

[187] A. K. Mohammad, J. J. Reineke, Molecular Pharmaceutics 10 (2013), 2183−2189

[188] Y. Cu, W. M. Saltzman, Molecular Pharmaceutics 6 (2008), 173−181

7. Životopis

OSOBNI PODACI	
Ime i prezime	Martina Herendić
Datum rođenja	27/07/1997
Državljanstvo	hrvatsko
KONTAKT	
Adresa	Herendići 1, Pluska, 10296 LUKA
e-mail	martinaherendic1@gmail.com
RADNO ISKUSTVO	
Ljekarna Naglić, Beblje, Pernar	2015.-2016. Farmaceutski tehničar OPIS: Provjera dolaznih proizvoda, kontrola zaliha, osiguravanje pravilnog rukovanja i skladištenja farmaceutski proizvoda. Izdavanje proizvoda i davanje savjeta o njihovoj odgovarajućoj upotrebi. Izrada farmaceutskih pripravaka u laboratoriju ljekarne.
OBRAZOVANJE I OSPOSOBLJAVANJE	
	2019.-2021. Sveučilišni diplomski studij kemije / Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku 2016.-2019. Sveučilišni preddiplomski studij kemije / Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku 2011.-2015. Farmaceutski tehničar / Srednja škola Pregrada
JEZIČNE VJEŠTINE	
Materinski jezik	hrvatski
Drugi jezici	engleski

VOZAČKA DOZVOLA	
Kategorija	B
POČASTI I NAGRADE	
	2021. - Pročelnikova nagrada – Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku
VOLONTIRANJE	
	2021. - Festival znanosti - Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku 2019. - 23. Smotra Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku 2019. - Advent kreativnosti - Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku 2019. – 72 sata bez kompromisa – Studentski katolički centar u Osijeku