

Lipidni nanosustavi za primjenu lijekova na kožu

Justić, Karmela

Professional thesis / Završni specijalistički

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:968721>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-06**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Karmela Justić

**LIPIDNI NANOSUSTAVI ZA PRIMJENU LIJEKOVA
NA KOŽU**

Specijalistički rad

Zagreb, 2023.

PSS studij: Razvoj lijekova

Mentor: prof. dr. sc. Željka Vanić

Specijalistički rad obranjen je dana 26. rujna 2023. godine na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, pred povjerenstvom u sastavu:

1. dr. sc. Bisera Jurišić Dukovski, znan.sur.
PLIVA Hrvatska d.o.o.
2. prof. dr. sc. Željka Vanić
Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
3. nasl. izv. prof. dr. sc. Biserka Cetina-Čižmek
PLIVA Hrvatska d.o.o.

Rad ima 85 listova.

Rad je izrađen na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu u sklopu poslijediplomskog specijalističkog studija Razvoj lijekova pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Željke Vanić.

Posebno se želim zahvaliti svojoj mentorici prof. dr. sc. Željki Vanić na ukazanom povjerenju, utrošenom vremenu, strpljivosti i stručnim savjetima tijekom izrade ovog specijalističkog rada.

Veliko hvala i mojim roditeljima i sestri na podršci, motivaciji i što su uvijek vjerovali u mene.

SAŽETAK

CILJ ISTRAŽIVANJA: Cilj ovog specijalističkog rada je bio sistematizirano prikazati dosadašnja istraživanja i najnovije spoznaje u području razvoja biokompatibilnih i birazgradljivih lipidnih nanosustava za unaprjeđenje (trans)dermalne dostave lijekova.

MATERIJALI I METODE: Istraživanja u okviru ovog specijalističkog rada su bila teorijskog karaktera te su uključivala detaljan pregled dostupne novije znanstvene literature (unatrag 5 godina) u području razvoja lipidnih terapijskih nanosustava za (trans)dermalnu primjenu lijekova. Pretraživane su bibliografske baze podataka: *PubMed*, *ScienceDirect* i *Scopus*, uz primjenu ključnih riječi povezanih s temom istraživanja.

REZULTATI: Lipidni nanosustavi su uvelike istraživani za liječenje brojnih kožnih oboljenja, u antimikrobnoj terapiji, fotodinamskoj terapiji prekanceroznih tvorbi, dermalnoj dostavi antitumorskih lijekova, imunosupresiva, liječenju kožne lišmanioze i zacjeljivanju rana. Osim toga, ispitivani su i za transdermalnu dostavu hormona (inzulin), cjepiva, antihipertenziva, antilipemika, lijekova za liječenje osteoporoze, gihta i nesteroidnih protuupalnih lijekova. Brojna pretklinička i klinička istraživanja su dokazala bolju podnošljivost i veću uspješnost lipidnih nanosustava od konvencionalnih dermalnih farmaceutskih oblika u liječenju brojnih bolesti.

ZAKLJUČAK: Primjenom lipidnih nanoformulacija lijekova koje poboljšavaju bioraspoloživost lijeka i omogućuju njegovu kontroliranu dostavu u oboljelo područje, uz smanjenje neželjenih nuspojava i iritacija, značajno bi se unaprijedila postojeća terapija i kvaliteta života pacijenata. Brojna istraživanja su dokazala veliki potencijal lipidnih nanosustava u liječenju mnogih bolesti, veću učinkovitost i smanjenje nuspojava u odnosu na konvencionalnu terapiju, a određeni broj dermalnih lijekova na bazi lipidnih nanosustava je i komercijalno dostupan.

SUMMARY

OBJECTIVES: The aim of this thesis was to systematize the previous research and the latest knowledge in development of biocompatible and biodegradable lipid-based nanosystems for advanced (trans)dermal drug delivery.

MATERIALS AND METHODS: The research within this specialist thesis was of a theoretical nature and included a detailed review of available recent scientific literature (last 5 years) in the field of development of lipid therapeutic nanosystems for (trans)dermal application of drugs. Bibliographic databases: PubMed, ScienceDirect and Scopus were searched, using keywords related to the research topic.

RESULTS: Lipid-based nanosystems have been widely investigated for the treatment of numerous skin diseases, in antimicrobial therapy, photodynamic therapy of precancerous formations, dermal delivery of antitumor drugs, immunosuppressants, treatment of cutaneous leishmaniasis and wound healing. In addition, they were investigated for transdermal delivery of hormones (insulin), vaccines, antihypertensives, antilipemics, drugs for the treatment of osteoporosis, gout and non-steroidal anti-inflammatory drugs. Numerous preclinical and clinical studies have proven better tolerability and greater success of lipid-based nanosystems in the treatment of numerous diseases.

CONCLUSION: The use of lipid-based nanoformulations that can increase the poor bioavailability of the drug and enable its controlled delivery to the diseased area, while reducing unwanted side effects and irritations, would significantly improve the existing therapy and the quality of patients' life. Numerous studies have proven the great potential of lipid-based nanosystems in the treatment of many diseases, greater efficiency and reduction of side effects compared to conventional therapy, and a certain number of products based on lipid-based nanosystems are also commercially available.

SADRŽAJ

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA	1
1.1. Građa i funkcija kože	1
1.2. Primjena lijekova na kožu	2
1.2.1. Transport lijeka kroz kožu	2
1.3. Vezikularni nanosustavi.....	4
1.3.1. Liposomi.....	4
1.3.1.1. Konvencionalni liposomi	6
1.3.1.2 Deformabilni liposomi	7
1.3.1.3. Etosomi	8
1.3.1.4. Propilenglikol liposomi.....	9
1.3.1.5. Invasomi.....	10
1.3.2. Niosomi	10
1.4. Čestični nanosustavi.....	12
1.4.1. Čvrste lipidne nanočestice	12
1.4.2. Nanostrukturirani lipidni nosači	13
1.5. Emulzijski nanosustavi.....	14
1.5.1. Mikroemulzije	14
1.5.2. Nanoemulzije.....	14
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	15
3. MATERIJALI I METODE – SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI.....	16
3.1. Pregled prekliničkih istraživanja za lipidne nanosustave.....	16
3.1.1. Liposomi.....	16
3.1.1.1. Konvencionalni liposomi	21

3.1.1.2. Deformabilni liposomi	21
3.1.1.3. Etosomi	24
3.1.1.4. Propilenglikol liposomi.....	26
3.1.1.5. Invasomi.....	26
3.1.2. Niosomi	27
3.1.3. Čvrste lipidne nanočestice	33
3.1.4. Nanostrukturirani lipidni nosači	40
3.1.5. Mikroemulzije	43
3.1.6. Nanoemulzije.....	47
3.2. Pregled kliničkih istraživanja za lipidne nanosustave.....	50
3.2.1. Liposomi.....	54
3.2.2. Niosomi	55
3.2.3. Čvrste lipidne nanočestice	56
3.2.4. Nanostrukturirani lipidni nosači	56
3.2.5. Mikroemulzije	57
3.2.6. Nanoemulzije.....	57
3.3. Registrirani (trans)dermalni lipidni nanosustavi	59
4. RASPRAVA	61
5. ZAKLJUČAK	65
6. LITERATURA	66
7. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA	83
8. ŽIVOTOPIS	85

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

1.1. Građa i funkcija kože

Koža je najveći i najteži ljudski organ površine 1,5 – 2 m² i na koji otpada oko 16 % ukupne tjelesne mase (1). Predstavlja prvu liniju obrane organizma od vanjskih utjecaja (mikrobioloških, fizikalnih i kemijskih). Regulira tjelesnu temperaturu, štiti organizam od gubitka vode, sudjeluje u imunološkim procesima i sintezi vitamina D. Također, koža je važan osjetilni organ (osjet dodira, boli, pritiska, topline i hladnoće). Koža se sastoji od tri sloja: epidermis, dermis i hipodermis, te kožnih privjesaka (dlake, nokti, žlijezde lojnice i znojnice) (2).

Epidermis je najgornji, vanjski sloj kože koji se neprestano obnavlja. Vijabilni dio epidermisa se sastoji od 4 sloja i to su redom (izvana prema unutra): svijetli sloj (lat. *stratum lucidum*), zrnati sloj (lat. *stratum granulosum*), trnasti sloj (lat. *stratum spinosum*) i bazalni sloj (lat. *stratum basale*). Sastavljen je uglavnom od keratinocita koji se stvaraju u bazalnom sloju te odatle migriraju prema višim slojevima epidermisa. Na tom putu, keratinociti sazrijevaju i prolaze proces diferencijacije koji se naziva keratinizacija. Rožnati sloj (lat. *stratum corneum*) je površinski sloj kože, debljine 10 – 20 μm i nevijabilni dio epidermisa (3). Sastoji se od 10 - 15 slojeva korneocita. Korneociti su mrtve, keratinizirane stanice i konačni produkt diferencijacije keratinocita. Korneociti su u rožnatom sloju okruženi intercelularnim lipidnim matriksom koji je složen u obliku lipidnih dvosloja, a čine ga ceramidi, kolesterol i slobodne masne kiseline. U literaturi, struktura *stratuma corneuma* se često opisuje modelom „ciglenog zida“ (engl. *brick and mortar*) gdje korneociti predstavljaju cigle, a lipidni matriks žbuku, odnosno vezivni materijal (1).

Dermis je unutarnji, deblji sloj kože koji se uglavnom sastoji od fibroblasta u izvanstaničnom matriksu strukturnih proteina (kolagen i elastin) koji su odgovorni za snagu i elastičnost kože. Dijeli se na gornji papilarni i donji retikularni sloj. Također, sadrži i makrofage, dendritične stanice, folikule dlaka, žlijezde znojnice i lojnice, osjetne živčane završetke. Bogat je limfnim i krvnim žilama preko kojih opskrbljuje avaskularni epidermis hranjivim tvarima i kisikom te uklanja otpadne tvari (3).

Hipodermis je najdublji sloj kože koji povezuje dermis s fascijom mišića. Sastoji se od masnog i vezivnog tkiva. Ima važnu ulogu u regulaciji tjelesne temperature, osigurava zalihe energije i štiti dublja tkiva i organe. U njemu se još nalaze krvne i limfne žile te živci (1).

1.2. Primjena lijekova na kožu

Koža predstavlja važan put primjene lijekova zbog svoje velike površine i lake dostupnosti. Većina lijekova koji se primjenjuju na kožu namijenjena je liječenju oboljele kože. Učinkovitost lokalne dermatoterapije određena je postignutom koncentracijom lijeka na željenom mjestu djelovanja (segmentima kože ili ciljanim stanicama u koži) te izbjegavanjem sistemske apsorpcije i neželjenih nuspojava (4).

Osim dermalne, koža se istražuje i za sistemsku (transdermalnu) dostavu lijekova. Transdermalna primjena, u usporedbi s oralnim putem primjene lijekova, nudi brojne prednosti. Onemogućen je utjecaj varijabli koje utječu na gastrointestinalnu apsorpciju (pH gastričnih sokova, prisutnost hrane, peristaltika crijeva), a zaobilaznjem prvog prolaska lijeka kroz jetru spriječena je njegova metabolička razgradnja, što je pogotovo važno za lijekove niske bioraspoloživosti. Kontinuiranom i kontroliranom permeacijom lijeka kroz kožu i apsorpcijom u sistemske cirkulacije izbjegavaju se fluktuacije lijeka u plazmi, što je od velikog značaja za lijekove uske terapijske širine. Osim toga, sam način primjene je veoma jednostavan i dobro prihvaćen od pacijenata (4,5,6).

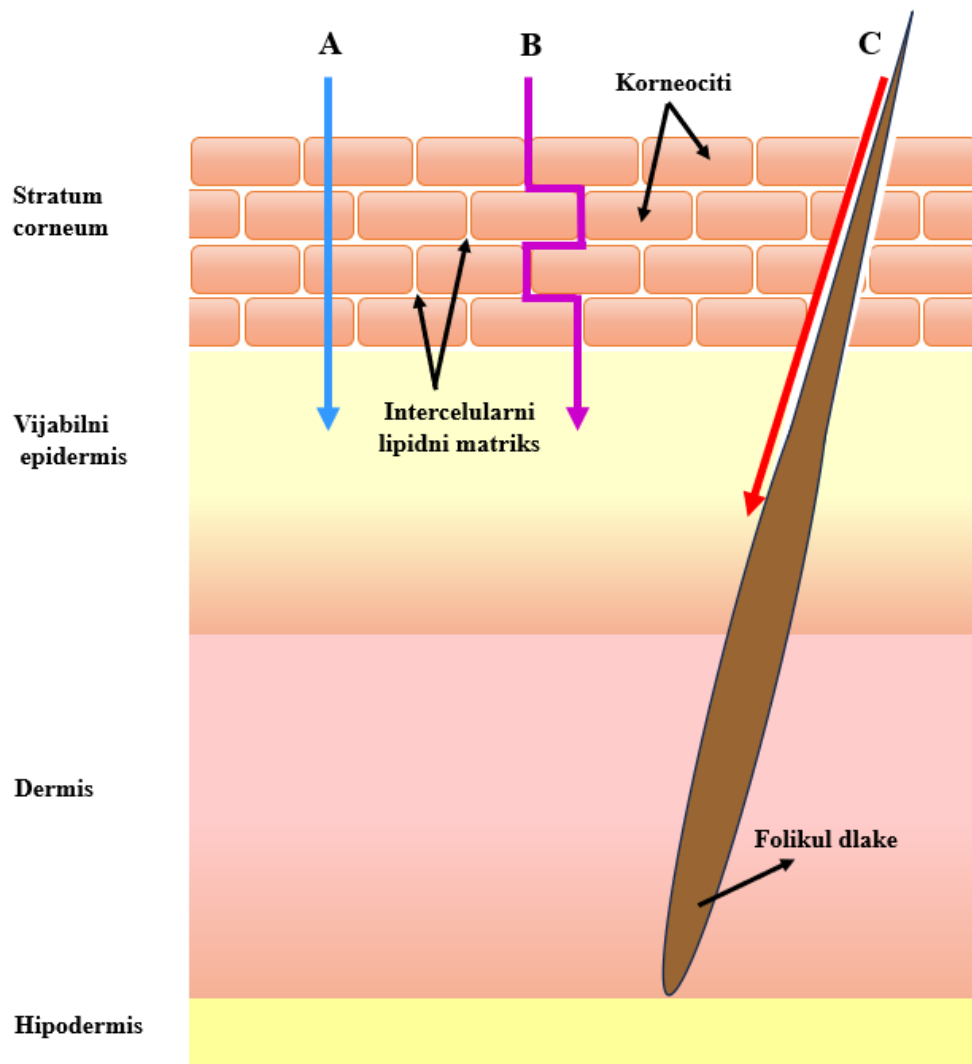
1.2.1. Transport lijeka kroz kožu

Usprkos niza prednosti koje pruža (trans)dermalna primjena lijekova, postoje i određena ograničenja. Naime, površinski sloj kože (*stratum corneum*), kojeg čine odumrle stanice keratinocita uklopljene u intercelularni lipidni matriks, predstavlja prirodnu zapreku prolaska većine lijekova u/kroz kožu. To se prvenstveno odnosi na hidrofilne lijekove velikih molekularnih masa, dok s druge strane, male molekule i lipofilni lijekovi penetriraju kroz kožu u većoj mjeri i lakše dopiru u sistemske cirkulacije, što može predstavljati poteškoću u zadržavanju lijeka unutar oboljelih slojeva kože (7). Na isporuku topikalno primijenjenog lijeka utječu fizičko stanje rožnatog sloja, svojstva formulacije, prisustvo promotora penetracije te veličina molekule lijeka i njezina lipofilnost (8).

Prolaz lijeka u/kroz kožu obuhvaća transport kroz *stratum corneum* (penetracija) i vijabilni epidermis (permeacija) te ulazak lijeka u sistemske cirkulacije (apsorpcija) (9).

Dva su moguća puta penetracije lijeka u kožu: putem kožnih privjesaka (žlijezde znojnice i folikul dlaka) i transepidermalni put (Slika 1.). Transepidermalni put podrazumijeva prolaz lijeka kroz *stratum corneum* i obuhvaća intercelularni put (molekule lijeka prolaze između

korneocita i kroz lipidni matriks) te intracelularni put (molekule lijeka prolaze kroz korneocite) (6,7).



Slika 1. Najčešći putevi penetracije lijeka u kožu: intracelularni put (A), intercelularni put (B) i putem folikula dlaka (C).

Postoje različiti načini kojima se može poboljšati transport lijeka u/kroz kožu. Jedan od načina je uporaba kemijskih promotora penetracije poput alkohola, sulfoksida, azona, pirolidona, terpena, amida, vode, estera, masnih kiselina, površinski aktivnih tvari i sl., koji mijenjaju svojstva *stratuma corneuma* i na taj način povećavaju dostavu lijekova. Njihov nedostatak je što mogu izazvati iritacije na koži (10).

Drugi način su fizikalne metode poput ionoforeze, sonoforeze, elektroporacije, magnetoforeze, mikroigle i termalne ablacije kojima se zaobilazi *stratum corneum* te se lijek doprema na ciljano

mjesto u koži. Njihov nedostatak je što su skupe i što mogu biti bolne i izazvati oštećenja kože pa je zato smanjena suradljivost pacijenata (5).

Treći način povećanja permeabilnosti lijeka u kožu je uklapanje lijekova u nanosustave. Naime, klasični oblici lijekova za primjenu na kožu u praksi su se često puta pokazali nedovoljno učinkovitima, bilo zbog loše penetracije lijeka, koja je posljedica njegovih fizičko-kemijskih svojstava (topljivost, ioniziranost, veličina molekule), ali i samog ljekovitog oblika (svojstva podloge, topljivost lijeka u podlozi, oslobađanje lijeka iz podloge), utječući tako na permeabilnost lijeka i u konačnosti terapijski učinak (7). Stoga se velika pozornost posvećuje razvoju inovativnih (nano)formulacija lijekova poput anorganskih, polimernih i lipidnih nanočestica, nanokristala, fosfolipidnih vezikula (liposoma), niosoma, polimernih micela, dendrimera te mikro- i nano-emulzija. Uklapanjem lijekova u takve nanosustave, modificiraju se njihova farmakokinetička svojstva i regulira permeabilnost lijeka u/kroz kožu što se u konačnosti odražava kroz poboljšani terapijski učinak (11,12). Zbog biokompatibilnosti, biorazgradljivosti i fiziološke podnošljivosti, lipidni nanosustavi su od velike važnosti (13). Prema strukturnim svojstvima moguće ih je podijeliti u skupine vezikularnih (liposomi i niosomi), čestičnih (čvrste lipidne nanočestice i nanostrukturirani lipidni nosači) i emulzijskih nanosustava (mikro- i nano-emulzije) (12,13).

1.3. Vezikularni nanosustavi

1.3.1. Liposomi

Liposomi su sferične vezikule veličine od 30-ak nm do nekoliko desetaka mikrometara, u kojima je unutarnja vodena faza obavijena s jednom ili više koncentričnih fosfolipidnih membrana (14). Fosfolipidi čine osnovnu građevnu jedinicu liposoma. Riječ je o amfifilnim molekulama koje se u ovojnici liposoma nalaze u obliku dvosloja tako da su polarne, hidrofilne “glave” orijentirane prema vanjskoj i unutarnjoj vodenoj fazi, a nepolarni, hidrofobni “repovi” su orijentirani jedan prema drugome. Strukturna svojstva liposoma omogućuju uklapanje brojnih lijekova različitih fizičko-kemijskih svojstava. Hidrofilni lijekovi se uklapaju u unutarnju vodenu fazu, lipofilni u fosfolipidni dvosloj, a amfifilni lijekovi između vodene i lipidne regije (15).

Liposomi su sastavom i strukturom najbliži elementima rožnatog sloja kože (*stratum corneum*). Zbog biokompatibilnosti, biorazgradljivosti i neimunogenosti, liposomi su u

potpunosti fiziološki prihvatljivi te se primjenjuju u različitim terapijskim područjima (15). Primjenom liposoma poboljšava se dermalna dostava hidrofilnih lijekova i lokalizira učinak lipofilnih lijekova u koži (8). Liposomske formulacije također smanjuju učestalost i stupanj iritacija kože do kojih dolazi topikalnom primjenom klasičnih dermalnih lijekovitih oblika (13). Sve ove karakteristike čine ih jako važnim terapijskim sustavom za (trans)dermalnu dostavu lijekova.

U literaturi je opisano pet mehanizama kojim liposomi pospješuju dopremu lijekova u/kroz kožu:

1. prolaz slobodnog lijeka (lijeak se oslobađa iz liposoma na površini kože i penetrira u kožu),
2. prolaz intaktnih liposoma (intaktni liposomi penetriraju kroz rožnati sloj u dublje slojeve epidermisa zbog deformabilnosti membrane liposoma i transepidermalnog osmotskog gradijenta u koži),
3. poticanje prolaska lijeka kroz kožu (lipidne komponente liposoma se stapaju i/ili miješaju s lipidima kože, destabiliziraju njihovu strukturu te na taj način omogućuju transport lijeka kroz kožu; djeluju kao promotori penetracije),
4. adsorpcijom i/ili fuzijom liposoma na površini kože (odlaganje lamelarnih struktura na površini korneocita i oslobađanje lijeka iz liposoma u kožu), te
5. prolaz liposoma putem folikula dlaka (povećava se dostava lijeka u dlačne folikule, ali ne i u sistemsku cirkulaciju) (4,5,16).

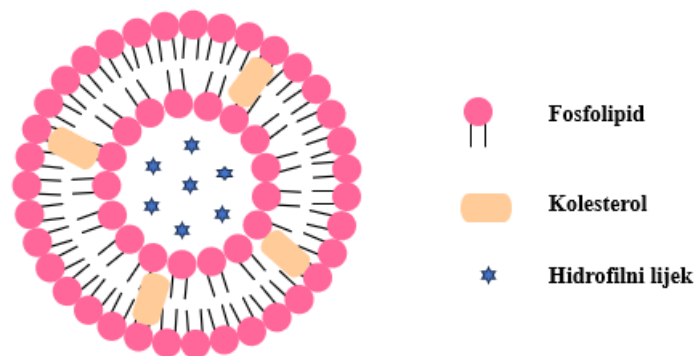
Na stabilnost liposoma i dostavu lijekova u/kroz kožu utječu fizičko-kemijska svojstva liposoma poput lipidnog sastava, rigidnosti/elastičnosti membrane, veličine liposoma, broja fosfolipidnih dvosloja i površinski naboj (5).

Liposomi se s obzirom na veličinu i broj fosfolipidnih dvosloja dijele na unilamelarne, multilamelarne, oligolamelarne i multivezikularne liposome. Unilamelarni liposomi sadrže jednu fosfolipidnu ovojniciu i dalje se dijele na: male (engl. *small unilamellar vesicles*), srednje-velike (engl. *medium sized unilamellar vesicles*), velike (engl. *large unilamellar vesicles*) i veoma velike (engl. *giant unilamellar vesicles*) liposome. Oligolamelarni liposomi (engl. *oligolamellar vesicles*) sadrže nekoliko, a multilamelarni liposomi (engl. *multilamellar vesicles*) velik broj koncentrično postavljenih fosfolipidnih dvosloja između kojih su vodeni prostori. Mnogo malih vezikula nasumično razmještenih unutar velikog liposoma čini multivezikularne liposome (engl. *multivesicular liposomes*) (15).

S obzirom na čvrstoću/elastičnost membrane koja određuje zadržavanje/penetraciju lijeka u/kroz kožu i mogućnost (trans)dermalne dostave lijeka, liposomi su klasificirani kao konvencionalni (klasični), deformabilni (elastični), etosomi, propilenglikol liposomi i invasomi (5,8,13).

1.3.1.1. Konvencionalni liposomi

Konvencionalni ili klasični liposomi (Slika 2.) predstavljaju prvu generaciju liposoma. Sastoje se od neutralnih fosfolipida (fosfatidilkolin) ili kombinacije neutralnih i većinom negativno nabijenih polusintetskih fosfolipida (13). U strukturi se često nalazi i kolesterol koji povećava čvrstoću fosfolipidnih dvosloja i stabilnost vezikula, ali istovremeno može negativno utjecati na permeaciju vezikula kroz kožu (17).



Slika 2. Struktura konvencionalnog liposoma

Na dostavu lijekova u kožu putem liposoma utječu fosfolipidni sastav, termodinamičko stanje dvosloja (sol- ili gel-stanje) te metoda pripreme vezikula. Bolji unos lijeka u kožu je postignut s liposomima koji su u svom sastavu imali lipide kože i čija je membrana bila u sol-stanju (stanje tekućih kristala). Povećanjem fluidnosti fosfolipidnog dvosloja liposoma, što se postiže smanjenjem udjela kolesterola, rezultiralo je boljim prolaskom lijeka kroz *stratum corneum* (4).

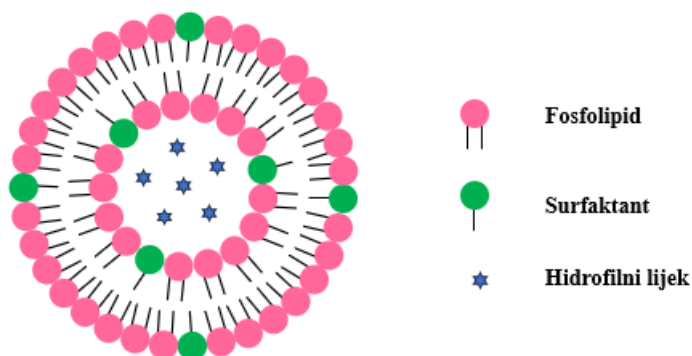
Adsorpcijom konvencionalnih liposoma na površini kože, dolazi do fuzije s intercelularnim lipidnim matriksom *stratuma corneuma* što omogućuje difuziju aktivne tvari kroz slojeve kože. Pri tome, fosfolipidi liposoma djeluju kao promotori penetracije (18).

Pokazalo se da konvencionalni liposomi ostvaruju lokalizirane terapijske učinke, pri čemu se liposomi nakupljaju u *stratum corneum*, gornjim slojevima epidermisa i dlačnim folikulima (8).

1.3.1.2 Deformabilni liposomi

Deformabilni liposomi (Slika 3.) predstavljaju drugu generaciju liposoma te su još poznati pod nazivima fleksibilni, elastični ili ultradeformabilni liposomi, odnosno Transferosomi® (13).

Sastoje se od fosfolipida (najčešće fosfatidilkolin) i rubnog aktivatora. Rubni aktivator je jednolančani surfaktant koji smanjuje stabilnost fosfolipidnog dvosloja, narušava mu strukturu i tako povećava elastičnost (deformabilnost) dvosloja. Povećana elastičnost omogućuje deformabilnim liposomima prolaz kroz pore *stratuma corneuma* koje su manje od 1/10 njihovog promjera te na taj način mogu dopremiti uklopljeni lijek u dublje dijelove kože (19).



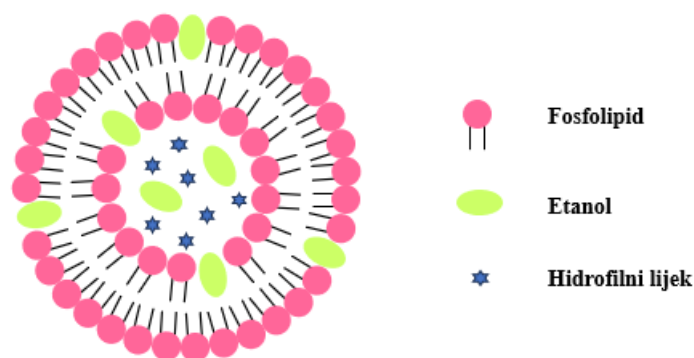
Slika 3. Struktura deformabilnog liposoma

Za očuvanje integriteta membrane i postizanje željene elastičnosti, važan je molarni omjer surfaktanta i fosfolipida. Liposomi zadržavaju lamelarnu strukturu pri nižim koncentracijama surfaktanta, dok pri višim koncentracijama liposomi prelaze u micelle (16). Najčešće korišteni jednolančani surfaktanti za pripremu deformabilnih liposoma su natrijev kolat, natrijev deoksikolat, Span 60, Span 65, Span 80, Tween 20, Tween 60, Tween 80 i dikalijev glicirizinat (16). Rubni aktivator može utjecati na fizičko-kemijska svojstva liposoma pa tako deformabilni liposomi imaju manju uspješnost uklapanja lijeka i manju veličinu vezikula u usporedbi s konvencionalnim liposomima (4,8).

U literaturi su predložena dva mehanizma kojim deformabilni liposomi poboljšavaju dostavu uklopljenog lijeka u/kroz kožu. Prvi mehanizam podrazumijeva prolazak intaktnih vezikula u kožu u neokluzivnim uvjetima. Naime, u takvim uvjetima dolazi do isparavanja vode iz primijenjene liposomske suspenzije na površini kože, a vezikule postaju djelomično dehidrirane. Da bi ostale hidratizirane, vezikule počinju slijediti hidratacijski gradijent koji ih vodi do dubljih, više hidratiziranih dijelova kože (epidermis i dermis). Elastičnost membrane omogućuje liposomima prolaz između stanica rožnatog sloja (17,18). Drugi mehanizam podrazumijeva poticanje prolaska lijeka kroz kožu tako da fosfolipidi i surfaktanti iz liposoma modificiraju intercelularne lipide *stratuma corneuma* i tako olakšavaju prolaz oslobođenog lijeka u/kroz kožu (4,5). Koji će od predložena dva mehanizma prevladati ovisi o fizičko-kemijskim svojstvima uklopljenog lijeka. Tako će za lipofilne lijekove biti dominantan mehanizam prolaska intaktnih vezikula, a za hidrofilne, mehanizam poticanja prolaska lijeka kroz kožu (4).

1.3.1.3. Etosomi

Etosomi (Slika 4.) su fosfolipidne vezikule koje su razvili Touitou i suradnici za poboljšanje dostave lijekova u/kroz kožu. Sastoje se od fosfolipida, vode i visoke koncentracije etanola (20 - 45 %, v/v) (20).



Slika 4. Struktura etosoma

Etosomi posjeduju veću uspješnost uklapanja slabo topljivih lijekova u odnosu na konvencionalne i deformabilne liposome što se objašnjava multilamelarnom građom vezikula i prisutnošću etanola koji povećava topljivost većine lijekova (8).

Na veličinu etosoma utječe njihov fosfolipidni sastav i prisustvo etanola. Etanol uzrokuje negativni naboj na površini što dovodi do smanjenja veličine vezikula. Vezikule su manje što je koncentracija etanola veća, a koncentracija fosfolipida manja (21). Pokazalo se da su upravo zbog etanola etosomi značajno manji od konvencionalnih liposoma istog fosfolipidnog sastava (22).

Etanol djeluje kao promotor penetracije tako što povećava fluidnost intercelularnog lipidnog matriksa što rezultira povećanom propusnošću *stratuma corneuma*. Osim toga, etanol povećava i fluidnost lipida u etosomima zbog čega su etosomi fleksibilniji (elastičniji) i lakše prolaze kroz kožu narušenog integriteta rožnatog sloja. Time je omogućena isporuka uklopljenog lijeka u dublje slojeve epidermisa i dermisa (22).

Za razliku od deformabilnih liposoma koji su učinkoviti u neokluzivnim uvjetima, etosomi su se pokazali učinkovitima u dostavi lijekova u/kroz kožu i u neokluzivnim i okluzivnim uvjetima (23).

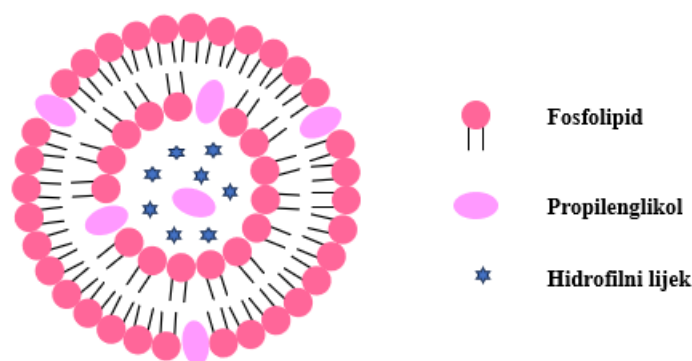
Osim klasičnih etosoma, u literaturi su opisane i novije generacije etosoma poput binarnih etosoma i transetosoma. U usporedbi s klasičnim etosomima, binarni etosomi još dodatno u svom sastavu imaju propilenglikol ili neki drugi alkohol, a transetosomi rubni aktivator (surfaktant) ili promotor penetracije (24).

1.3.1.4. Propilenglikol liposomi

Propilenglikol liposomi (Slika 5.) su noviji tip fosfolipidnih vezikula koji omogućuju učinkovitu dostavu lijekova u kožu (25).

Sastoje se od fosfolipida, propilenglikola i vode. U pripremi liposoma, propilenglikol služi kao otapalo za fosfolipide i lipofilni lijek ili se dodaje kao dio vodene faze formulacije. Propilenglikol liposome karakterizira velika uspješnost uklapanja slabo topljivih djelatnih tvari zbog učinka propilenglikola kao suotapala (13).

Prisutnost propilenglikola u fosfolipidnom dvosloju značajno povećava elastičnost membrane liposoma. Povećana elastičnost liposoma u kombinaciji s djelovanjem propilenglikola i fosfolipida kao promotora penetracije, smatra se ključnim za postizanje učinkovite dostave lijekova u kožu (8).



Slika 5. Struktura propilenglikol liposoma

1.3.1.5. Invasomi

Invasomi su elastične vezikule koje sadrže fosfolipide (najčešće lecitin iz soje ili jaja s većim udjelom fosfatidilkolina, bez ili s negativno nabijenim fosfolipidima), terpene ili mješavinu terpena (npr. citral, cineol, limonen, eugenol; 1 - 5 %, v/v), nisku koncentraciju etanola (3 - 3,3 %, v/v) i vodu (26).

Terpeni i etanol djeluju kao promotori penetracije te povećavaju fluidnost lipida invasoma što čini vezikule mekšima i fleksibilnijima. Nadalje, etanol daje negativni naboj na površini invasoma te se zbog elektrostatskog odbijanja sprječava agregacija vezikula. Time se postiže veća stabilnost invasoma tijekom skladištenja (27). Terpeni imaju tzv. GRAS status (engl. *generally recognized as safe*, GRAS). Smatraju se sigurnima za kožu ukoliko se koriste u nižim koncentracijama (1 - 5 %, v/v) (28).

Fuzijom invasoma s kožom i penetracijom kroz *stratum corneum* može doći do fragmentacije vezikula pri čemu se otpuštaju terpeni i fosfolipidi. Oni zajedno s etanolom djeluju kao promotori penetracije fluidizirajući intercelularne lipide *stratuma corneuma*. Mali intaktni invasomi mogu penetrirati u dublje slojeve *stratuma corneuma* kroz hidrofilne kanale intercelularnog prostora ili putem folikularnog transporta (28,29).

1.3.2. Niosomi

Prve formulacije s niosomima je razvio i patentirao L'Oréal 1975.g. i bile su namijenjene u kozmetičke svrhe (30). Niosomi su nanovezikule slične liposomima koje umjesto fosfolipida u dvosloju imaju neionogene surfaktante. Neionogeni surfaktanti su amfifilne molekule koje

imaju polarnu „glavu“ i nepolarni „rep“. Zbog takve strukture u niosome se mogu uklopiti hidrofilni, lipofilni i amfifilni lijekovi (31). Najčešći neionogeni surfaktanti korišteni u pripremi niosoma su Brij, Tween, Span, alkil esteri, alkil eteri, glukozidialkil eteri, poliglicerol alkil eteri, krunski eteri, polioksietilen alkil eteri (16). Hidrofilno-lipofilna ravnoteža (engl. *hydrophilic-lipophilic balance*, HLB) surfaktanta utječe na uklapanje lijeka u niosome. Neoionogeni surfaktanti s HLB vrijednošću između 14 i 17 nisu prikladni za pripremu niosoma. Rai i suradnici (32) su pokazali da je uspješnost uklapanja lijeka u niosome najveća kad je HLB vrijednost 8,6 te se smanjuje sa smanjenjem HLB-a. Osim neionogenih surfaktanata, u strukturi niosoma se često nalazi kolesterol, a ponekad i nabijene molekule koje određuju naboj na površini vezikula. Kolesterol utječe na fizička svojstva i strukuru niosoma zbog interakcije s neionogenim surfaktantima te doprinosi većoj stabilnosti niosoma (33). Negativno nabijene molekule poput dicetilfosfata i fosfatidne kiseline te pozitivno nabijene molekule poput stearylamina i cetilpiridinijevog klorida povećavaju stabilnost niosoma i povećavaju uspješnost uklapanja lijeka u niosome (34).

Niosomi mogu poboljšati svojstva *stratuma corneuma* tako što smanjuju transepidermalni gubitak vode i time povećavaju hidrataciju *stratuma corneuma* (12). Adsorpcijom i fuzijom niosoma s kožom stvara se visoki termodinamski aktivni gradijent koji djeluje kao pokretačka snaga za permeaciju lijeka u kožu (35). Nadalje, niosomi mogu djelovati kao promotori penetracije tako što njihovi surfaktanti smanjuju površinsku napetost te povećavaju transdermalnu permeaciju i perkutanu apsorpciju (36).

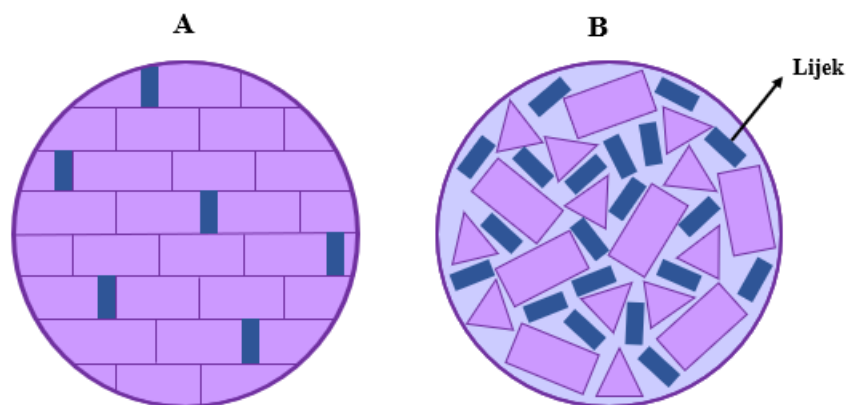
Za razliku od liposoma, niosomi su fizički i kemijski stabilniji, ne zahtijevaju posebne uvjete skladištenja poput niske temperature i inertne atmosfere, a prednost je i pristupačnija cijena sirovina za njihovu proizvodnju. S druge strane fiziološka prihvatljivost im je niža zbog prisutnih surfaktanata koji čine osnovu niosoma (31,37).

Prema veličini niosomi se dijele na unilamelarne i multilamelarne. Unilamelarni mogu biti mali (10 - 100 nm) i veliki (100 - 3000 nm) (38). U literaturi je opisano više vrsta posebnih niosoma kao što su proniosomi (niosomi u suhom obliku koji se hidratiziraju prije uporabe), elastični niosomi (sadrže neionogeni surfaktant, etanol i vodu), diskosomi (veliki niosomi diskoidnog oblika), bola niosomi (sadrže bola surfaktant), aspasomi (sadrže askorbilpalmitat, kolesterol i negativno nabijeni dicetilfosfat) i sl. (38,39).

1.4. Čestični nanosustavi

1.4.1. Čvrste lipidne nanočestice

Čvrste lipidne nanočestice (engl. *solid lipid nanoparticles*, SLN) (Slika 6.) su predstavljene 1991. kao alternativa polimernim nanočesticama, liposomima i emulzijama, a sastoje se od čvrstih lipida (0,1 - 30 %, m/m) stabiliziranih surfaktantima (0,5 - 5 %, m/m) (18). Ti čvrsti lipidi su u krutom agregatnom stanju na sobnoj temperaturi, a najčešće se koriste trigliceridi, acilgliceridi, masne kiseline i voskovi ili njihove kombinacije (17,40). Čvrste lipidne nanočestice su veličine 50 - 1000 nm (40).



Slika 6. Struktura čvrstih lipidnih nanočestica sastavljenih od čvrstih lipida (visoko uređena kristalna rešetka) (A) i struktura nanostrukturiranih lipidnih nosača sastavljenih od mješavine čvrstih i tekućih lipida (nesavršena kristalna rešetka) (B)

Čvrste lipidne nanočestice na površini kože stvaraju tanki adhezivni film koji ima okluzivni učinak. Time se smanjuje transepidermalni gubitak vode, povećava se hidratacija *stratum corneum*, opušta se njegova gusto zbijena stanična struktura te se tako olakšava prolaz lijeka do dubljih dijelova kože. Na taj način okluzivna svojstva čvrstih lipidnih nanočestica povećavaju penetraciju lijeka u kožu. Okluzivnost se može povećati smanjenjem veličine čestica (18,41,42).

Čvrste lipidne nanočestice imaju brojne prednosti kao što su mogućnost uklapanja i hidrofilnih i lipofilnih lijekova, mogućnost kontroliranog/odgođenog oslobađanja uklopljenog lijeka,

biokompatibilnost, biorazgradljivost, niska toksičnost, mogućnost sterilizacije i relativno jednostavna tehnologija proizvodnje uz izbjegavanje uporabe organskih otapala (40,42,43).

Glavni nedostatak čvrstih lipidnih nanočestica je niski kapacitet uklapanja lijeka (djelatne tvari) budući da visoko uređena kristalna rešetka ostavlja malo prostora za ugradnju lijeka. Kapacitet uklapanja lijeka je ograničen na do 10 % ukupne količine lipida kako bi se osigurala stabilna formulacija. Također, tijekom uskladištenja može doći do istiskivanja (ekspulzije) lijeka iz visoko-uređene strukture čvrstih lipidnih nanočestica zbog polimorfnih prijelaza lipida (17,44).

Kako bi se nadvladali ti nedostaci, razvijena je druga generacija lipidnih nanočestica, nanostrukturirani lipidni nosači.

1.4.2. Nanostrukturirani lipidni nosači

Nanostrukturirani lipidni nosači (engl. *nanostructured lipid carriers*, NLC) (Slika 6.) su lipidne nanočestice, sastavljene od mješavine čvrstih i tekućih lipida, stabilizirane surfaktantima. Čvrsti i tekući lipidi se miješaju u omjeru od 70 : 30 do 99,9 : 0,1 (m/m). Takvom mješavinom čvrstih i tekućih lipida nastaje nesavršena kristalna rešetka koja pruža više mjesta za ugradnju lijeka (18). Osim boljeg kapaciteta uklapanja lijeka, nanostrukturirane lipidne nosače odlikuje veća stabilnost tijekom skladištenja čime je spriječeno istiskivanje (ekspulzija) lijeka (17).

Specifična struktura nanostrukturiranih lipidnih nosača omogućuje bifazni profil otpuštanja lijeka. Zbog razlika u temperaturi taljenja čvrstih i tekućih lipida moguće je postići početno brzo oslobađanje lijeka, nakon čega slijedi kontinuirano oslobađanje konstantnom brzinom. Stoga se odgovarajućim izborom lipida može utjecati na brzinu oslobađanja uklopljenog lijeka i njegovu dostavu u/kroz kožu (45).

Poput čvrstih lipidnih nanočestica, nanostrukturirani lipidni nosači su također biokompatibilni i biorazgradljivi te se mogu proizvesti relativno jednostavnom tehnologijom proizvodnje. Prednost im je u povećanoj stabilnosti lijeka unutar formulacije (17,42,43).

Nanostrukturirani lipidni nosači, slično kao i čvrste lipidne nanočestice, pokazuju okluzivna svojstva. Na površini kože stvaraju tanki, adhezivni film koji sprječava isparavanje vode s kože pa se povećava hidratacija *stratum corneum*, opušta se njegova visoko-organizirana struktura te se na taj način olakšava prolaz lijeka do dubljih dijelova epidermisa (18,41).

1.5. Emulzijski nanosustavi

1.5.1. Mikroemulzije

Mikroemulzije su transparentne, optički izotropne koloidne disperzije dviju tekućina koje se međusobno ne miješaju, voda (V) i ulje (U), stabilizirane emulgatorima (surfaktantima) i koemulgatorima (kosurfaktantima) (46). Termodinamički su stabilne te se stvaraju spontano. Iako se nazivaju mikroemulzije, veličina kapljica disperzne faze je u nanometarskim veličinama i iznosi većinom do 100 nm (47). U njih se mogu uklapati i hidrofilni i lipofilni lijekovi te razlikujemo U/V, V/U i bikontinuirane emulzije. Nedostatak mikroemulzija je što su osjetljive na promjene temperature i razrjeđivanje te što u svom sastavu imaju visoku koncentraciju emulgatora što može dovesti do iritacija na koži (47,48).

Dva su mehanizma koji doprinose poboljšanoj permeaciji lijeka iz mikroemulzija u kožu. Prvi uključuje visoki kapacitet uklapanja lijeka u mikroemulzije što rezultira visokim koncentracijskim gradijentom kao pokretačem pasivne difuzije lijeka u kožu. Drugi mehanizam je da sastojci mikroemulzije (ulje, voda, emulgatori) djeluju kao promotori penetracije lijeka modificirajući strukturu kože, odnosno *stratuma corneuma* (48).

1.5.2. Nanoemulzije

Nanoemulzije su polutransparentne koloidne disperzije dviju tekućina koje se međusobno ne miješaju (voda i ulje), stabilizirane emulgatorima (surfaktantima). Koemulgatori (kosurfaktanti) mogu biti prisutni, no nisu neophodni (49). Za razliku od mikroemulzija, nanoemulzije nisu termodinamički stabilne već kinetički stabilne. Ne nastaju spontano te je za njihovo stvaranje potrebna energija. Stoga se metode pripreve razvrstavaju u nisko- i visoko-energetske metode pripreve. Nanoemulzije također zahtijevaju manju koncentraciju emulgatora za stabilizaciju nanosustava (42). U usporedbi s običnim (klasičnim) emulzijama, stabilnije su, veći je kapacitet uklapanja lijeka te je veličina kapljica disperzne faze u nanometarskim dimenzijama (< 1000 nm) (50). U njih se mogu uklapati i hidrofilni i lipofilni lijekovi te razlikujemo U/V, V/U i bikontinuirane emulzije (51).

Emulgatori i određene lipidne komponente nanoemulzija djeluju kao promotori penetracije utječući na strukturu *stratuma corneuma* i čineći ga propusnijim za prolaz lijeka. Niska površinska napetost, mala veličina kapljica disperzne faze, a time i velika površina omogućuju nanoemulzijama dobro prianjanje na kožu (50,51).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog specijalističkog rada je bio provesti detaljnu studiju postojeće literature o razvoju lipidnih nanosustava za lokalnu (dermalnu) i sistemska (transdermalnu) primjenu lijekova, obraditi temeljna svojstva i značajke pojedinih lipidnih nanosustava koja utječu na učinkovitost (trans)dermalne dostave lijekova (s naglaskom na interakcije sa stanicama kože), prikazati najnovije spoznaje i rezultate istraživanja (s naglaskom na rezultate *in vivo* i kliničkih studija), usporediti djelotvornost pojedinih nanosustava s konvencionalnim farmaceutskim oblicima za primjenu na kožu te dati pregled komercijalno dostupnih lipidnih nanosustava za (trans)dermalnu primjenu lijekova.

3. MATERIJALI I METODE – SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI

Istraživanja u okviru ovog specijalističkog rada su bila teorijskog karaktera te su uključivala detaljan pregled dostupne znanstvene literature u području razvoja lipidnih terapijskih nanosustava za (trans)dermalnu primjenu lijekova. Pretraživane su bibliografske baze podataka *PubMed*, *ScienceDirect* i *Scopus* uz primjenu ključnih riječi poput: *skin*, *phospholipid vesicles*, *liposomes*, *elastic liposomes*, *deformable liposomes*, *transferosomes*, *ethosomes*, *propylene glycol liposomes*, *invasomes*, *niosomes*, *solid lipid nanoparticles*, *nanostructured lipid carriers*, *microemulsion*, *nanoemulsion*, *dermatology*, *topical therapy*, *transdermal drug delivery*, *in vivo study*, *clinical study* i sl. Prilikom pretrage literature odabrani su znanstveni članci publicirani u zadnjih 5 godina. Prikupljeni relevantni članci su kritički proučeni s obzirom na temu istraživanja, a poseban naglasak je bio na najnovijim znanstvenim spoznajama. Na temelju proučavanih članaka izvedena su vlastita razmatranja proučavane problematike koja su sastavni dio rasprave ovog specijalističkog rada.

3.1. Pregled pretkliničkih istraživanja za lipidne nanosustave

3.1.1. Liposomi

Liposomi su velika i raznovrsna skupina vezikularnih nanosustava istraživana za poboljšanje (trans)dermalne dostave brojnih lijekova iz različitih terapijskih skupina, ali i nekih drugih tvari poput antigena, proteina i fotosenzibilizirajućih sredstava. Izabrana istraživanja za različite vrste liposoma su sažeto prikazana u Tablici 1., a opširniji opis pojedinih istraživanja nalazi se u sljedećim poglavljima.

Tablica 1. Pregled izabranih istraživanja (trans)dermalne primjene liposoma (razdoblje 2018. – 2023.)

PRIMJENA	DJELATNA TVAR	TIP LIPOSOMA	VRSTA ISTRAŽIVANJA	REZULTATI ISPITIVANJA	LITERATURA
Antibakterijsko i/ili antibiofilm djelovanje	7e-SMAMP	Konvencionalni liposomi	<i>In vitro</i>	Značajno smanjenje upalnog odgovora u makrofazima miševa i potpuna eradikacija <i>Staphylococcus aureus</i> i <i>Escherichia coli</i> biofilma iznad koncentracija od 6,25 µg/mL.	(52)
	Azitromicin	Konvencionalni liposomi Deformabilni liposomi PG liposomi Kationski liposomi	<i>In vitro</i> <i>Ex vivo</i> (svinjska koža)	Učinkovitije zadržavanje lijeka unutar kože u odnosu na otopinu azitromicina; biokompatibilnost s keratinocitima i fibroblastima; inhibicija rasta MRSA-e, prevencija stvaranja biofilma, MIK i do 32 puta niži u odnosu na otopinu azitromicina.	(53)
	Klorheksidin	Konvencionalni liposomi u kitozanskom hidrogelu	<i>In vitro</i>	Značajna inhibicija proizvodnje dušikovog oksida u makrofazima i gotovo potpuna inhibicija stvaranja <i>S. aureus</i> i <i>Pseudomonas aeruginosa</i> biofilma.	(54)
	Kurkumin	Neutralni, anionski i kationski deformabilni liposomi	<i>In vitro</i> <i>Ex vivo</i> (humana koža)	Najveća učinkovitost kationskih liposoma; zadržavanje kurkumina u koži, protuupalno i antibakterijsko djelovanje; netoksičnost prema humanim fibroblastima.	(55)
Akne	Dapson	Invasomi	<i>In vivo</i> (štakori)	Veće odlaganje lijeka u kožu u odnosu na otopinu lijeka.	(56)
Alopecija	Minoksidil i kofein	Deformabilni liposomi	<i>In vivo</i> (štakori)	Učinkovitija promocija rasta dlaka u štakora u odnosu na komercijalni pripravak.	(57)
Artritis	Mometazon furoat	Etosomi u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Potpuni oporavak i normalna histološka struktura zgloba; bolja učinkovitost od mometazonfuroat gela i komercijalne kreme.	(58)

	Tofacitinib citrat	PG liposomi	<i>In vitro</i> (humana koža)	Poboljšana permeabilnost lijeka kroz kožu.	(59)
Dijabetes i hipertenzija	Pioglitazon i eprosartan mesilat	Deformabilni liposomi u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Poboljšano i produljeno antidiabetičko i antihipertenzivno djelovanje u usporedbi s komercijalnim oralnim pripravcima.	(60)
Fotodinamska terapija (kožna lišmanioza)	Kloro aluminij ftalocijanin	Konvencionalni liposomi	<i>In vivo</i> (miševi)	Smanjenje broja <i>Leishmania amazonensis</i> parazita u lezijama i slezeni je bilo usporedivo sa sistemskim peterovalentnim antimonom.	(61)
Fotodinamska terapija (tumor)	Mezo-tetrakis (N-metil-4-piridil) porfirin (TMPyP)	Etosomi u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Značajno manja veličina tumora i dulje prosječno vrijeme preživljavanja miševa u usporedbi sa TMPyP gelom.	(62)
Giht	Febuksostat	Etosomi u gelu	<i>In vivo</i> (kunići)	Značajno veća bioraspoloživost u usporedbi s komercijalnim oralnim tabletama.	(63)
	Kolhicin	Deformabilni liposomi	<i>In vivo</i> (štakori)	Veća učinkovitost, brz početak djelovanja i dulje djelovanje u usporedbi s komercijalnim tabletama.	(64)
Hiperlipidemija	Pravastatin natrij i naringin	Deformabilni liposomi	<i>In vivo</i> (štakori)	Sinergistički učinak naringina i omega-3-fosfolipida u smanjenju jetrenih nuspojava pravastatina.	(65)
Hipertenzija	Karvedilol	Etosomi u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Postupno i kontinuirano sniženje srednjeg arterijskog tlaka u štakora.	(66)
	Olmesartan medoksomil	Transetosomi	<i>In vivo</i> (štakori)	Superiornost nad komercijalnim oralnim tabletama i održavanje normalnih vrijednosti krvnog tlaka do 24 sata.	(67)
Karcinom bazalnih stanica	Vismodegib	Binarni etosomi u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Lokalizacija lijeka u tumoru i značajno antitumorsko djelovanje u usporedbi s oralnim pripravkom.	(68)
Lišmanioza	Amfotericin B i miltefozin	Deformabilni liposomi u gelu	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i> (miševi)	Sinergistički učinak protiv amastigota <i>Leishmania mexicana</i> ; manji broj parazita i potpuno povlačenje lezija u zaraženih miševa.	(69)

	Rifampicin i vankomicin	Deformabilni liposomi u gelu	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i> (miševi)	Poboljšano djelovanje protiv promastigota i amastigota <i>Leishmania tropica</i> ; značajno smanjenje veličine lezija u zaraženih miševa.	(70)
Lokalna anestezija	Lidokain	Deformabilni liposomi u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Bolja permeabilnost i dulje anestetsko djelovanje u usporedbi s komercijalnom liposomskom kremom.	(71)
Perkutana imunizacija	Albumin iz bjelanjka	Deformabilni liposomi	<i>In vivo</i> (miševi)	Značajno stvaranje protutijela primjenom liposoma srednjeg promjera 40 nm u odnosu na veće liposome (130 nm); učinak usporediv sa supkutanim primjenom albumina.	(72)
Protuupalno/ analgetsko djelovanje	Amonijev glicirizinat	Deformabilni liposomi	<i>In vivo</i> (ljudi)	Jače protuupalno djelovanje u usporedbi s otopinom lijeka.	(73)
	Diflunisal	Konvencionalni liposomi Deformabilni liposomi Etosomi u hidrogelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Značajno bolje protuupalno i antinociceptivno djelovanje deformabilnih liposoma i etosoma u usporedbi s konvencionalnim liposomima.	(74)
	Etodolak	Etosomi u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Bolja bioraspoloživost i protuupalno djelovanje u usporedbi s liposomskim i komercijalnim gelom.	(75)
	Kurkumin	Etosomi	<i>In vivo</i> (štakori)	Značajno bolje protuupalno djelovanje u usporedbi s oralnim pripravkom.	(76)
	Lornoksikam	Deformabilni liposomi u hidrogelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Superiorno protuupalno djelovanje u usporedbi s lornoksikam hidrogelom i komercijalnim indometacin gelom.	(77)
Psorijaza	Metotreksat i salicilna kiselina	Etosomi u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Sniženje PASI rezultata i normalna struktura kože s vrlo blagom keratozom.	(78)
	Sve- <i>trans</i> -retinoična kiselina i betametazon	Deformabilni liposomi u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Sinergistički učinak u ublažavanju simptoma psorijaze; sniženje razine TNF- α i IL-6.	(79)

Rak dojke	Raloksifen	PG liposomi u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Veća bioraspoloživost i značajno antitumorsko djelovanje u usporedbi s oralnim pripravkom.	(80)
Rak kože	Vismodegib	Invasomi u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Poboljšana permeabilnost, veća bioraspoloživost i odlično antitumorsko djelovanje u usporedbi s oralnim pripravkom.	(81)
Shizofrenija	Asenapin maleat	Invasomi	<i>In vivo</i> (štakori)	Produljeno oslobađanje lijeka do 72 h i značajno poboljšanje bioraspoloživosti u odnosu na oralni pripravak.	(82)
Zacjeljivanje rana	Deferoksamin	Deformabilni liposomi u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Značajno brže zacjeljivanje rana u miševa s dijabetesom; povećanje stope neovaskularizacije; povećanje proizvodnje kolagenskih vlakana.	(83)
	Timozin β -4	Etosomi u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Značajno kraće vrijeme zacjeljivanja rana u usporedbi s klasičnim pripravkom timozin β -4 gela.	(84)

7e-SMAMP – mali sintetski mimetik antimikrobnog peptida; IL – interleukin; MIK – minimalna inhibitorna koncentracija; MRSA – metilicilin-rezistentni *Staphylococcus aureus*; PASI – indeks zahvaćenosti kože psorijazom i težine psorijaze; PG liposomi – propilenglikol liposomi; TNF- α – faktor nekroze tumora alfa

3.1.1.1. Konvencionalni liposomi

Konvencionalni liposomi su istraživani za lokalnu dostavu lijekova u kožu (Tablica 1.).

Kao moguću alternativu postojećoj terapiji kožne lišmanioze koja je povezana s brojnim nuspojavama, Lopes i sur. (61) u svom istraživanju su pripravili liposome s uklopljenim kloroaluminijftalocijaninom i ispitali njihov potencijal za fotodinamsku terapiju. *In vivo* ispitivanja su provedena na *BALB/c* miševima kojima su supkutano injicirani *L. amazonensis* amastigoti kako bi se razvila infekcija. Kožne lezije su tretirane svaki drugi dan tijekom 20 dana s pripremljenim liposomima uz dodatno obasjavanje tretirane površine vidljivom svjetlošću valne duljine 660 nm. Učinkovitost ispitivanih liposoma u smanjenju broja parazita u lezijama i slezeni zaraženih miševa je bila usporediva s konvencionalnim peterovalentnim antimonom (Glucantime®) koji je bio primijenjen intraperitonealno (61).

3.1.1.2. Deformabilni liposomi

Zbog elastične membrane koja im omogućuje prolazak u dublje dijelove kože, deformabilni liposomi su uvelike istraživani za poboljšanu lokalnu, ali i sistemska (transdermalnu) dostavu mnogobrojnih lijekova (Tablica 1.).

Za liječenje alopecije, Ramezani i sur. (57) su istraživali deformabilne liposome s minoksidilom i kofeinom *in vivo*. Optimizirana formulacija s 2 % minoksidila i 0,01 % kofeina je primjenjivana jednom dnevno tijekom 30 dana na kožu *Wistar* štakora te je mjerena dužina i težina dlaka. Ispitivanje je pokazalo da je pripremljena formulacija učinkovitije promovirala rast dlaka u štakora u usporedbi s vodenom otopinom minoksidila i kofeina te komercijalnom alkoholnom otopinom minoksidila (57).

Ramkanth i sur. (60) su uklopili pioglitazon (PIO) i eprosartanmesilat (EM) u deformabilne liposome čijom bi se transdermalnom primjenom postiglo moguće istodobno liječenje dijabetesa i hipertenzije. *In vivo* učinkovitost optimiziranog liposomskog gela (3 mg/kg PIO i 6,2 mg/kg EM) je ispitana u *Wistar* albino štakora s induciranim dijabetesom i hipertenzijom. U štakora liječenih kombinacijom lijekova je došlo do statistički značajnog sniženja razine glukoze u krvi u usporedbi s komercijalnim PIO oralnim pripravkom u trajanju do 24 sata. Sniženje glukoze u krvi je bilo postojano i stabilno zbog produljenog oslobađanja PIO iz liposoma. Antihipertenzivni učinak je ispitan metodom repnog tlakomjera (engl. *tail-cuff method*) kojom je mjeran sistolički tlak. Sniženje sistoličkog tlaka u štakora liječenih

kombinacijom lijekova je bilo progresivno u odnosu na komercijalni EM oralni pripravak zbog produljenog oslobađanja EM-a iz liposoma (60). Ovakvim pristupom liječenja povećala bi se suradljivost pacijenata i smanjili problemi povezani sa složenim režimom liječenja.

Kako bi povećali bioraspoloživost kolhicina i smanjili nuspojave povezane s njegovom oralnom primjenom u liječenju gihta, El-Feky i sur. (64) su najprije vezali kolhicin u kompleks s β -ciklodekstrinom, a potom ga uklopili u deformabilne liposome. Pripremljeno je i ispitano nekoliko formulacija s različitim omjerom fosfolipida, kolesterola i Tween-a 80. Optimizirana formulacija uključena je u daljnja *in vitro* ispitivanja gdje je pokazala bifazni profil oslobađanja lijeka te bolju permeabilnost kroz kožu štakora (*ex vivo*) u usporedbi s deformabilnim liposomima s nekompleksiranim lijekom. U dva različita eksperimentalna modela gihta u *Sprague Dawley* štakora, pripremljena formulacija (1 mg/kg kolhicina) je imala veću učinkovitost, brz početak djelovanja i dulje djelovanje u usporedbi s komercijalnim kolhicin tabletama (1 mg/kg). Također, nisu primijećene iritacije na koži štakora te se ispitivana formulacija pokazala sigurnom za topikalnu primjenu (64).

Istraživanje koje su proveli Dar i sur. (69) je bilo usmjereno na ispitivanje kombinacije amfotericina B i miltefozina uklopljenih u deformabilne liposome za topikalno liječenje kožne lišmanioze. Osim neinvazivne i jednostavne primjene, takvim načinom liječenja bi se omogućila ciljana isporuka lijekova na mjesto infekcije kao i smanjenje nuspojava ispitivanih lijekova. Optimizirana formulacija je uklopljena u karbopolski gel radi postizanja prikladne viskoznosti za dermalnu primjenu. Njezinom primjenom postignuta je bolja permeabilnost i odlaganje lijeka u kožu miševa u usporedbi s klasičnim amfotericin B gelom i miltefozin gelom. Kombinacija lijekova je imala sinergistički učinak u inhibiciji *L. mexicana* amastigota *in vitro*. *In vivo* učinkovitost je ispitana u *BALB/c* miševa inficiranim *L. mexicana* promastigotima. Liječenje kožnih lezija s pripremljenim liposomskim gelom dva puta dnevno tijekom 4 tjedna dovelo je do potpunog povlačenja lezija i značajnog smanjenja broja parazita u odnosu na ostale ispitivane formulacije. U miševa liječenih liposomskim gelom je došlo do povećanja razine IL-12, interferona gama (IFN- γ) i NO te sniženja razine IL-4 i IL-10 u usporedbi s drugim liječenim skupinama (69).

Cilj istraživanja Sun i sur. (71) je bio prirediti i evaluirati gel s deformabilnim liposomima koji su sadržavali uklopljeni lidokain za lokalnu anesteziju. U ispitivanju permeabilnosti, korištena je Strat-M sintetička membrana zbog morfoloških značajki sličnih humanoj koži. Ispitana su fizikalno-kemijska svojstva nekoliko formulacija deformabilnih liposoma s različitim

postotkom natrijevog kolata kao rubnog aktivatora, a formulacija s 20 % natrijevog kolata izabrana je za daljnja ispitivanja. Optimizirana formulacija je omogućila kontrolirano oslobađanje lidokaina *in vitro* i bolju permeabilnost u usporedbi s konvencionalnim liposomima i komercijalnim pripravkom liposomske kreme lidokaina (LMX4®) te nije ispoljila toksičan učinak na humane keratinocite (*in vitro*). *In vivo* učinkovitost ispitana je na *Sprague Dawley* štakorima testom trzanja repom, pri čemu je primjenom gela s deformabilnim liposomima postignut jači i dulji anestetski učinak u usporedbi s formulacijama konvencionalnih liposoma u gelu i komercijalne liposomske kreme lidokaina (71).

Kao moguću alternativu oralnoj primjeni lornoksikama koja je povezana s gastrointestinalnim nuspojavama, Tawfeek i sur. (77) su pripravili topikalni hidrogel s deformabilnim liposomima s uklopljenim lornoksikamom. Pripremljeno je i ispitano nekoliko različitih vrsta hidrogelova. Pripremljeni hidrogelovi su bili homogeni, dobro podnošljivi na koži dobrovoljaca, a *in vitro* oslobađanje lornoksikama iz hidroksipropilmetilceluloza (HPMC) gela je bilo najveće te je stoga on uključen u daljnja ispitivanja. U *ex vivo* ispitivanju na koži štakora, deformabilni liposomi s natrijevim deoksikolatom kao rubnim aktivatorom su pokazali veću permeabilnost u odnosu na deformabilne liposome s Tween-om 80 te su uključeni u daljnja *in vivo* ispitivanja na štakorima kojima je edem šape induciran karagenanom. Optimizirana formulacija (1 % lornoksikam) pokazala je superiorno protuupalno djelovanje u usporedbi s neliposomskim lornoksikam HPMC gelom i komercijalnim indometacin (1 %) gelom (77).

Cilj istraživanja kojeg su proveli Wang i sur. (79) je bio uklopiti *sve-trans*-retinoičnu kiselinu i betametazon u deformabilne liposome namijenjene liječenju psorijaze kako bi se postigao sinergistički učinak i smanjile nuspojave ispitivanih lijekova. Uklapanjem u deformabilne liposome poboljšana je permeabilnost (*ex vivo*) i postignuto bolje zadržavanje lijekova u koži štakora u usporedbi s otopinama lijekova. Nadalje, deformabilni liposomi nisu pokazali toksičnost prema humanim keratinocitima, a unos u stanice je bio ovisan o vremenu. Deformabilni liposomi su potom uklopljeni u gel kako bi se postigla prikladna viskoznost za dermalnu primjenu, a njihova učinkovitost je ispitana u *BALB/c* miševa kojima je imikvimodom inducirana psorijaza. Liposomski gel s kombinacijom lijekova je bio učinkovitiji u ublažavanju simptoma psorijaze u usporedbi s liposomskim gelovima s pojedinačnim lijekovima te je najbolje snizio razine IL-6 i TNF- α , a pokazao se i sigurnim za topikalnu primjenu budući da nisu primijećene iritacije na koži štakora (79).

3.1.1.3. Etosomi

Etosomi su ispitivani za poboljšanje dostave i učinkovitosti (trans)dermalne primjene brojnih lijekova te u fotodinamskoj terapiji tumora (Tablica 1.).

Cilj istraživanja kojeg su proveli Abdelbary i sur. (58) je bio pripremiti mometazonfuroat (MF) etosomski gel kojim bi se povećala transdermalna dostava MF-a i poboljšalo lokalno liječenje artritisa. U *ex vivo* ispitivanju na koži štakora, optimizirana etosomska formulacija je pokazala bolju permeabilnost i odlaganje MF-a u kožu u usporedbi s liposomima i hidroalkoholnom disperzijom. Konfokalnom laserskom pretražnom mikroskopijom je potvrđena penetracija etosoma u dublje dijelove kože. *In vivo* ispitivanje na *Wistar* štakorima s induciranim artritismom pokazalo je da je dvadeset dana liječenja s etosomskim gelom dovelo do potpunog oporavka i normalne histološke strukture zgloba čime je dokazana veća učinkovitost etosomskog MF gela od standardnog MF gela i komercijalne MF kreme (Elocon®) (58).

Lokalna primjena fotosenzibilizirajućeg sredstva mezo-tetrakis(N-metil-4-piridil)porfirina (TMPyP) je ograničena zbog njegove hidrofilnosti. Kako bi nadvladali taj problem, Fadel i sur. (62) su TMPyP uklopili u etosome i ispitali njegovu učinkovitost u fotodinamskoj terapiji tumora. *Ex vivo* ispitivanje permeabilnosti na koži štakora je pokazalo superiornost etosomskog gela nad običnim gelom budući da je TMPyP detektiran u receptorskom mediju već nakon 1 sata, a njegova količina se postepeno povećavala s vremenom. U slučaju kontrolnog gela, koji je umjesto etosomski uklopljenog lijeka sadržavao slobodni TMPyP, TMPyP nije detektiran u receptorskom mediju niti nakon 24 h od postavljanja eksperimenta. Terapijski učinak lokalno primijenjenih formulacija ispitan je *in vivo* na *Swiss* albino miševima s induciranim *Ehrlichovim* tumorom. Topikalna primjena etosomskog i običnog TMPyP gela (0,5 mg/g) je bila popraćena obasjavanjem tretirane površine vidljivom svjetlošću valne duljine 680 nm, a liječenje je trajalo 21 dan. Rezultati istraživanja su pokazali značajno manju veličinu tumora i značajno dulje srednje vrijeme preživljavanja miševa koji su primali etosomsku formulaciju lijeka u odnosu na miševe liječene običnim TMPyP gelom. Ti rezultati su dodatno potvrđeni i histopatološkom studijom koja je pokazala očitiju degeneraciju tumora i nekrozu za etosomski gel (62).

U istraživanju Albash i sur. (67), olmesartanmedoksomil (OLM) je uklopljen u transetosome kako bi se povećala njegova bioraspodjelivost i pokušalo transdermalnom primjenom postići antihipertenzivno djelovanje. Pripremljeno je i ispitano nekoliko formulacija s različitim surfaktantima i različitim omjerom fosfolipida i surfaktanta, a optimizirana formulacija je

uključena u daljnja ispitivanja. Ispitivanja elastičnosti i *ex vivo* permeabilnosti na koži štakora i odbačenoj zmijskoj koži su pokazala veću elastičnost i permeabilnost ispitivane formulacije u usporedbi s transferosomima zbog prisutnosti etanola i surfaktanta. Konfokalna laserska pretražna mikroskopija je potvrdila sposobnost penetracije transetosoma u dublje dijelove kože. Antihipertenzivno djelovanje je ispitano u *Wistar* štakora s induciranom hipertenzijom, a primjenom formulacije transetosoma su se uspjele održati normalne vrijednosti krvnog tlaka do 24 sata za razliku od komercijalnih oralnih tableta (Angiosartan®) primijenjenih u istoj dozi (10 mg OLM). Dodatno je histopatološkom studijom kože štakora potvrđena dobra podnošljivost ispitivane formulacije (67).

F i sur. (68) su ispitivali utjecaj izopropilnog alkohola na lokalnu dostavu binarnih etosoma s uklopljenim vismodegibom za dermalnu terapiju karcinoma bazalnih stanica. U tu svrhu pripremljeno je i ispitano nekoliko etosomskih formulacija s različitim koncentracijama fosfolipida, kolesterola i omjera izopropilni alkohol/ukupni alkohol. Ispitivanja su pokazala da se povećanjem koncentracije fosfolipida i kolesterola te omjera izopropilni alkohol/ukupni alkohol značajno povećava učinkovitost uklapanja lijeka, veličina etosoma i *in vitro* odlaganje lijeka u kožu, dok se *in vitro* oslobađanje lijeka i permeabilnost u kožu značajno smanjuju. Optimizirana formulacija etosoma je uklopljena u karbopolski gel te je učinkovitost etosomskog gela ispitana u *Swiss* albino miševa kojima je epidermalni tumor induciran 7,12-dimetilbenzantracenom. Ispitivani gelovi su primjenjivani topikalno 3 puta tjedno u dozi 10 mg/kg tjelesne mase. Etosomski gel je pokazao antiangiogeni učinak i značajno antitumorsko djelovanje u usporedbi o oralnom suspenzijom i etosomskim gelom bez izopropilnog alkohola. Etosomski gel je lokalizirao lijek u tumoru budući da je pronađena značajno veća količina vismodegiba u epidermisu nego u dermisu. Za etosomski gel bez izopropilnog alkohola značajno veća količina lijeka je pronađena u dermisu. Histopatološkim pregledom kože je utvrđeno da ispitani etosomski gelovi nisu bili toksični pri korištenom režimu doziranja (68).

Istraživanje Chandre i sur. (78) je bilo usmjereno na pripravu i evaluaciju etosoma s metotreksatom (MTX) kojima bi se postigla bolja permeabilnost MTX-a u kožu i poboljšala terapija psorijaze. Etosomi s MTX-om su uklopljeni u karbopolski gel koji je sadržavao salicilnu kiselinu (SA). Studija permeabilnosti provedena na modelu svinjskog uha pokazala je bolju permeabilnost MTX-a i odlaganje u kožu kada je primijenjen MTX-SA etosomski gel, u usporedbi s MTX etosomskim gelom bez SA i otopinom lijeka. *In vivo* učinkovitost je ispitana u albino miševa kojima je imikvimodom inducirana psorijaza. Liječenje s MTX-SA etosomskim gelom (0,25 % MTX i 2 % SA) je rezultiralo sniženjem PASI rezultata (s 4 na 1)

te vrlo blagom keratozom na koži, u usporedbi s kontrolnim pripravkom (lipofilna mast) bez djelatne tvari (78).

Kako bi se nadvladala slaba permeabilnost zbog velike molekulske mase, Fu i sur. (84) su uklopili makromolekulski proteinski lijek timozin- β 4 (T β -4) u etosome te su ispitali njegov potencijal u liječenju rana. Optimizirana formulacija etosoma je uklopljena u gel da se postigne prikladna viskoznost za dermalnu primjenu. U *in vitro* ispitivanju, količina kumulativno oslobođenog lijeka tijekom 5 sati iz etosomskog gela je bila 1,67 puta veća u odnosu na obični T β -4 gel. *In vivo* učinkovitost je ispitana u *Kunming* miševa s induciranim opeklinama, a liječenje T β -4 etosomskim gelom je značajno skratilo vrijeme zacjeljivanja rana, budući da je bilo potrebno upola manje vremena za zacjeljivanje rana u usporedbi s običnim T β -4 gelom. Također, nisu primijećene iritacije na normalnoj i oštećenoj koži kunića čime je potvrđena dobra podnošljivost ispitivanog pripravka (84).

3.1.1.4. Propilenglikol liposomi

Propilenglikol liposomi su novija vrsta liposoma istraživana u antimikrobnoj i antitumorskoj terapiji (Tablica 1.).

Istraživanje koje su proveli Salem i sur. (80) je bilo usmjereno na uklapanje raloksifena u propilenglikol liposome kako bi se postigla bolja permeabilnost, bioraspoloživost i učinkovitost raloksifena za moguće liječenje raka dojke. Pripremljeno je i ispitano više liposoma s različitom koncentracijom propilenglikola, fosfolipida i kolesterola, a optimizirana formulacija je uklopljena u karbopolski gel kako bi se postigla viskoznost prikladna za primjenu na kožu. Optimizirani liposomski gel je uključen u daljnja *in vivo* ispitivanja na ženskim miševima kojima je epidermalni tumor induciran 7,12-dimetilbenzantracenom. Pripremljeni liposomski gel je imao 2,77 puta veću bioraspoloživost te značajno antitumorsko djelovanje u usporedbi s oralnim raloksifenom primijenjenim u istoj dozi (80).

3.1.1.5. Invasomi

Invasomi su istraživani za poboljšanje transdermalne dostave antitumorskih i antipsihotičnih lijekova (Tablica 1.).

Cilj istraživanja kojeg su proveli Salem i sur. (81) je bio uklopiti vismodegib u invasome kako bi se povećala njegova permeabilnost i bioraspoloživost te omogućila bolja učinkovitost u liječenju raka kože. Pritom su vismodegib uklopili i u liposome. Za razliku od liposoma, invasomi su omogućili brže oslobađanje lijeka, bolju permeabilnost, ali i manje odlaganje lijeka u kožu zamorca *ex vivo*. *In vivo* učinkovitost pripremljenih gel formulacija je ispitana u štakora kojima je tumor kože induciran 7,12-dimetilbenzantracenom, a primjenjivane su topikalno, tri puta tjedno u dozi od 10 mg/kg. Gel s invasomima je imao poboljšanu bioraspoloživost i antitumorsko djelovanje u usporedbi s oralnim vismodegibom i liposomskim gelom. Također, histopatološkim pregledom kože je utvrđeno da je gel s invasomima bio fiziološki prihvatljiv pri korištenom režimu doziranja (81).

El-Tokhy i sur. (82) su pripravili invasome s uklopljenim asenapinmaleatom čijom bi se transdermalnom primjenom povećala bioraspoloživost i postigao produljeni učinak u liječenju shizofrenije. U *ex vivo* ispitivanju na koži štakora, invasomi s limonenom su osigurali bolju permeabilnost lijeka u odnosu na invasome s cineolom te su izabrani za daljnje ispitivanje. *In vivo* farmakokinetička studija na *Wistar* štakorima je pokazala da transdermalno primijenjeni invasomi u dozi 15 mg/kg postižu dva puta veću maksimalnu koncentraciju lijeka u plazmi te je vrijeme potrebno za postizanje te koncentracije bilo odgođeno s 1,5 na oko 4 sata u usporedbi s oralnom suspenzijom primijenjenom u istoj dozi. Bioraspoloživost asenapina iz invasoma je bila značajno poboljšana te je iznosila 54,5 % u usporedbi s oralnim pripravkom (3,6 %) čime je nadmašena bioraspoloživost sublingvalnih tableta trenutno prisutnih na tržištu. Transdermalnom dostavom asenapina koja je bila produljena do 72 sata, bi se smanjila učestalost doziranja i time povećala suradljivost pacijenata (82).

3.1.2. Niosomi

Niosomi su istraživani za transdermalnu dostavu mnogih lijekova kako bi se izbjegle nuspojave postojeće oralne terapije te za lokalizaciju lijekova u oboljeloj koži. Sažeti prikaz izabranih istraživanja za niosome se nalazi u Tablici 2., a opširniji opis pojedinih istraživanja slijedi u nastavku teksta.

Tablica 2. Pregled izabranih istraživanja (trans)dermalne primjene niosoma (razdoblje 2018. – 2023.)

PRIMJENA	DJELATNA TVAR	NANOSUSTAV	VRSTA ISTRAŽIVANJA	REZULTATI ISPITIVANJA	LITERATURA
Akne	Dapson	Niosomi u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Značajno veći postotak smanjenja upale u odnosu na miševе liječene s komercijalnom eritromicin masti.	(85)
Anestezija	Propofol	Niosomi u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Visoka relativna bioraspoloživost u odnosu na obični propofol gel.	(86)
Dijabetes/ zacjeljivanje rana	Metforminklorid	Niosomi u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Transdermalnom primjenom (svaka 2 dana) je postignut bolji i produljeni antidijabetički učinak u odnosu na oralni pripravak (primjena svaki dan); bolje zacjeljivanje rana u štakora s induciranim dijabetesom.	(87)
Hiperlipidemija	Atorvastatinkalcij	Proniosomi u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Smanjenje serumskih lipida i povećanje HDL-a usporedivo s oralnim pripravkom bez povećanja jetrenih biomarkera.	(88)
	Simvastatin	Niosomi u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Veća bioraspoloživost u usporedbi sa simvastatin gelom i simvastatin oralnom suspenzijom.	(89)
Lišmanioza	Amfotericin B i glukantim	Niosomi u gelu	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i> (miševi)	Sinergistički učinak u inhibiciji intracelularnih i ekstracelularnih oblika <i>L. tropica</i> ; značajno smanjenje veličine lezija i broja <i>Leishmania major</i> parazita u slezeni miševa.	(90)
Migrena	Zolmitriptan	Niosomi u emulgelu	<i>In vivo</i> (kunići)	Veća bioraspoloživost u usporedbi sa zolmitriptan emulgelom.	(91)
Protuupalno/ analgetsko djelovanje	Diklofenaknatrij	Niosomi u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Značajno protuupalno i antinociceptivno djelovanje u usporedbi s konvencionalnim gelom.	(92)
	Kurkumin	Niosomi u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Značajno protuupalno i antinociceptivno djelovanje u usporedbi s kurkumin gelom.	(93)

	Lornoksikam	Proniosomi u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Značajno poboljšanje protuupalnog djelovanja u usporedbi s komercijalnim oralnim tabletama.	(94)
	Naproksen	Proniosomi u gelu	<i>In vivo</i> (štakori i miševi)	Protuupalno i antinociceptivno djelovanje ekvivalentno komercijalnim oralnim tabletama u istoj dozi.	(95)
Psorijaza	Acitretin	Niosomi u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Značajno veća ortokeratoza, aktivnost lijeka i smanjenje debljine epiderme u usporedbi s acitretin gelom i komercijalnim tazaroten gelom.	(96)
	Ciklosporin	Niosomi u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Bolja permeabilnost, odlaganje u kožu i veća učinkovitost u liječenju psorijaze u usporedbi s ciklosporin suspenzijom.	(97)
Zacjeljivanje rana	Pentoksifilin	Niosomi u Cold kremi	<i>In vivo</i> (miševi)	Brže zacjeljivanje rana u odnosu na pentoksifilin konvencionalnu kremu.	(98)

HDL – lipoproteini visoke gustoće

Istraživanje Habib i sur. (85) je bilo usmjereno na uklapanje dapsona u niosomski gel čijom bi se primjenom povećala dostava dapsona u kožu i ostvario bolji učinak u liječenju akni. Optimizirana niosomska formulacija s dapsonom je uklopljena u karbopolski gel, a konfokalna laserska pretražna mikroskopija je pokazala njegovu duboku *in vivo* penetraciju kroz mišju kožu (do dermisa). Učinkovitost pripremljene formulacije je ispitana u *BALB/c* miševa kojima su intradermalno u uho injicirane bakterije *Cutibacterium acnes*. U roku 48 sati su se razvili mikrokomedoni i upala s povećanjem debljine uha. Miševi su liječeni s 40 mg pripravka koji je sadržavao 0,8 mg eritromicina (Aknemycin® mast), odnosno 0,16 mg dapsona (dapson niosomski gel). Nakon 72 sata, miševi su eutanizirani, a njihove uši su analizirane u daljnjim ispitivanjima. Miševi liječeni dapson niosomskim gelom su imali značajno veći postotak smanjenja upale te bolje zacjeljenje uha u usporedbi s grupom liječenom Aknemycinom® i neliječenim miševima, što je potvrđeno histopatološkim pregledom. Liječeni miševi su također imali i značajno niži broj bakterija u usporedbi s neliječenim miševima (85).

El-Ridy i sur. (87) su pripremili metforminklorid niosomski gel te su ispitali njegov mogući produljeni antidijabetički učinak kao i mogućnost djelovanja na zacjeljivanje rana koje su česti problem kod dijabetičara. Metforminklorid je imao bifazni profil oslobađanja iz pripremljenih niosomskih formulacija u *in vitro* ispitivanju. Oslobađanje je bilo kontrolirano i umjereno do 8 sati, nakon čega je uslijedilo sporije oslobađanje do 72 sata. *In vivo* ispitivanje je provedeno na *Wistar* štakorima kojima je streptozocinom induciran dijabetes i kojima je na sredini leđa napravljena rana promjera 4 mm. Izabrane niosomske formulacije su uklopljene u karbopolski gel da se olakša primjena niosoma s uklopljenim metforminkloridom na kožu. Gel je primjenjivan svaka 2 dana tijekom 2 tjedna u količini od 2 g, a oralni pripravak s istom dozom metforminklorida (100 mg/kg) je primjenjivan svaki dan tijekom 2 tjedna. Rezultati su pokazali da je transdermalnom primjenom postignut bolji i produljeni antidijabetički učinak u odnosu na oralni pripravak. Osim u snižavanju razine glukoze u krvi, pripremljeni transdermalni niosomski gel je bio učinkovit i u zacjeljivanju rana u štakora s dijabetesom, što je dokazano histološkim pregledom kože i povišenom serumskom razinom transformirajućeg faktora rasta beta 1 (TGF- β 1) koji djeluje kao faktor promocije zacjeljivanja rana (87). Transdermalnom primjenom metformina mogla bi se postići veća suradljivost pacijenata zbog rjeđeg doziranja i izbjegavanja gastrointestinalnih nuspojava te pozitivnog učinka na zacjeljivanje rana.

Cilj istraživanja Ettellawy i sur. (88) je bio uklopiti atorvastatinkalcij (ATC) u proniosomski gel za transdermalnu primjenu kako bi se smanjila hepatotoksičnost povezana s oralnom primjenom atorvastatina. Pripremljeno je i ispitano nekoliko proniosomskih gel formulacija.

Ex vivo ispitivanje permeabilnosti na koži štakora je pokazalo da proniosomi značajno povećavaju permeabilnost ATC-a kroz kožu u usporedbi sa slobodnim ATC-om. *In vivo* ispitivanje je provedeno na *Wistar* albino štakorima kojima je hiperlipidemija inducirana poloksamerom 407. Ispitivane formulacije u dozi od 70 mg/kg su primjenjivane tijekom 14 dana. Transdermalnom primjenom ATC proniosomskog gela je došlo do sniženja razine serumskih lipida (ukupni kolesterol, trigliceridi, lipoproteini niske gustoće (LDL), lipoproteini vrlo niske gustoće (VLDL)) i povećanja razine HDL-a u serumu te su ti rezultati bili usporedivi s rezultatima za ATC oralnu disperziju. Mjerenje jetrenih biomarkera (aspartat-aminotransferaza (AST), alanin-aminotransferaza (ALT), alkalna fosfataza (ALP)) i histološki pregled jetrenog tkiva su ukazali na superiornost transdermalnog proniosomskog gela u eliminaciji hepatotoksičnosti povezanoj s oralnom primjenom (88). Transdermalna primjena atorvastatina bi mogla biti od posebne važnosti za pacijente s hiperlipidemijom koji pate od bolesti jetre budući da je ovim putem primjene izbjegnuto prvi prolaz lijeka kroz jetru i time smanjena hepatotoksičnost.

Mostafavi i sur. (90) su ispitivali učinkovitost amfotericina B i glukantima uklopljenih u niosome (pojedinačno i kombinacija) u topikalnom liječenju kožne lišmanioze. Naime, topikalnom primjenom niosoma omogućila bi se ciljana dostava amfotericina B i glukantima na mjesto infekcije te bi se izbjegle nuspojave i bol povezane s njihovom postojećom intravenskom terapijom. Pripremljeno je i ispitano nekoliko različitih koncentracija amfotericina B i glukantima (od 12,5 do 200 µg/mL). Ispitivani lijekovi u slobodnoj formi ili uklopljeni u niosome nisu pokazali citotoksične učinke na makrofazima miševa. U *in vitro* ispitivanju učinkovitosti na ekstracelularnim (promastigoti) i intracelularnim (amastigoti) *L. tropica* oblicima, niosomske formulacije su pokazale značajno veće inhibitorne učinke u odnosu na neniosomske formulacije. Niosomska kombinacija amfotericina B i glukantima je pokazala sinergistički učinak u inhibiciji *L. tropica* oblika i povećanje apoptotičkih vrijednosti, razine IL-12 i metakaspaze te smanjenje razine IL-10. *In vivo* ispitivanja su provedena na *BALB/c* miševima kojima su supkutano injicirani *L. major* promastigoti u stacionarnoj fazi. Lezije su se razvile nakon mjesec dana, a liječene su primjenom niosomskog gela s kombinacijom lijekova dva puta dnevno tijekom 30 dana. Niosomska formulacija je značajno smanjila veličinu lezija i broj parazita u slezeni miševa u usporedbi s placebo skupinom i skupinom koja je primala glukantim intramuskularno (90). Ovo istraživanje je pokazalo da bi topikalna niosomska kombinacija amfotericina B i glukantima bila učinkovita u liječenju kožne

lišmanioze te jednostavna za primjenu budući da ne zahtijeva aplikaciju lijeka od strane stručnog medicinskog osoblja.

Budući da je oralna primjena naproksena povezana s gastrointestinalnim nuspojavama, Shah i sur. (95) su uklopili naproksen u proniosomski HPMC gel za transdermalnu primjenu i usporedili ga s oralnom pripravkom. *In vitro* ispitivanje oslobađanja lijeka je pokazalo značajnu razliku u oslobađanju naproksena iz pripremljenih proniosomskih gelova u odnosu na kontrolu (naproksen HPMC gel). U prvim satima to oslobađanje je bilo brzo, nakon čega je uslijedilo kontrolirano oslobađanje u kasnijoj fazi. Proniosomska formulacija koja je sadržavala Span 60 je u *ex vivo* ispitivanju na koži štakora pokazala veću permeabilnost kroz kožu u usporedbi s drugim neionogenim surfaktantima korištenim za pripravu niosoma te je zato bila uključena u daljnja *in vivo* ispitivanja. Protuupalno djelovanje je ispitano na *Wistar* albino štakorima kojima je edem šape induciran karagenanom, a antinociceptivno djelovanje na miševima kojima je kemijski inducirana konstrikcija trbušnih mišića. Rezultati su pokazali da je protuupalno i antinociceptivno djelovanje proniosomskog gela bilo ekvivalentno komercijalnim oralnim tabletama u istoj dozi (25 mg/kg za protuupalno i 48 mg/kg za antinociceptivno djelovanje). Pripremljeni proniosomski gel s naproksenom nije uzrokovao iritacije na koži kunića te se pokazao sigurnim za primjenu (95).

Cilj istraživanja koje su proveli Abu Hashim i sur. (96) je bio pripremiti nanovezikularni gel s acitretinom (ACT) za topikalno liječenje psorijaze kao moguću alternativu postojećoj oralnoj terapiji povezanoj s brojnim ozbiljnim nuspojavama. ACT je uklopljen u niosome kako bi se povećala njegova topljivost u vodi i izbjegle moguće iritacije na koži. ACT niosomi su uklopljeni u HPMC gel te su u *ex vivo* ispitivanju na koži štakora pokazali visoku permeabilnost i značajno odlaganje ACT-a u dublje dijelove kože u usporedbi s kontrolnim ACT gelom. Učinkovitost u liječenju psorijaze je ispitana na modelu mišjeg repa u *Swiss* albino miševa. Ispitivani gelovi su primjenjivani jednom dnevno tijekom 4 tjedna u količini od 0,5 g, a ACT niosomski gel (0,1 %) je pokazao značajno veću ortokeratozu, aktivnost lijeka i smanjenje debljine epidermisa u usporedbi s kontrolnim ACT gelom (0,1 %) i Zarotex® gelom (0,1 % tazaroten). Također, pripremljeni ACT niosomski gel se pokazao sigurnim za topikalnu primjenu zbog dobre podnošljivosti na koži štakora (96).

Aghajani i sur. (98) su istraživali utjecaj pentoksifilina (PTX) na zacjeljivanje rana u miševa. Naime, topikalnom primjenom PTX-a omogućila bi se lokalizacija lijeka na mjestu ozljede te bi se izbjegle nuspojave povezane sa sistemskom primjenom. PTX je uklopljen u niosome kako

bi se nadvladala njegova slaba permeabilnost, a niosomi su potom uklopljeni u *Cold* kremu. Pripremljena je i konvencionalna krema s PTX-om, a u obje formulacije koncentracija PTX-a je bila 1 %. Oslobođanje lijeka iz pripremljenih niosomskih kremi u *in vitro* ispitivanju je bilo između 70 % i 100 %. *Ex vivo* ispitivanje permeabilnosti na koži miševa je pokazalo da niosomske kreme povećavaju penetraciju lijeka u kožu za 1,8, odnosno 1,2 puta u odnosu na konvencionalnu kremu. Također, zadržavanje PTX-a u koži je bilo oko dva puta veće za niosomske kreme u usporedbi s konvencionalnom kremom. Niosomska krema koja je postigla bolje rezultate *ex vivo* je uključena u *in vivo* ispitivanja na *BALB/c* miševima kojima su identične rane napravljene incizijom na području vrata. Rane su liječene s oko 0,5 g pripremljenih formulacija, dva puta dnevno tijekom 12 dana. Liječenje niosomskom kremom je skratilo zacjeljivanje rane za dva dana te je konačna veličina rane bila značajno manja u usporedbi sa skupinama liječenim PTX konvencionalnom kremom, kremom bez lijeka (placebo) i neliječenim miševima. Histološka analiza rana je pokazala ubranu epitelizaciju i sintezu kolagena u miševa liječenih niosomskom kremom s PTX-om (98).

3.1.3. Čvrste lipidne nanočestice

Čvrste lipidne nanočestice su ispitivane za (trans)dermalnu dostavu različitih lijekova s ciljem poboljšanja njihove permeabilnosti i bioraspoloživosti te postizanja boljeg dermalnog (lokalnog), odnosno transdermalnog (sistemskeg) učinka. Sažeti prikaz izabranih istraživanja za čvrste lipidne nanočestice i nanostrukturirane lipidne nosače se nalazi u Tablici 3., a opširniji opis pojedinih istraživanja slijedi u nastavku rada.

Tablica 3. Pregled izabranih istraživanja (trans)dermalne primjene SLN-a i NLC-a (razdoblje 2018. – 2023.)

PRIMJENA	DJELATNA TVAR	NANOSUSTAV	VRSTA ISTRAŽIVANJA	REZULTATI ISPITIVANJA	LITERATURA
Akne	Dapson	NLC	<i>In vivo</i> (miševi)	Kationski NLC-ovi su omogućili bolje zadržavanje dapsona u koži i djelovanje na rozaceju u odnosu na anionske i neutralne NLC-ove.	(99)
	Izotretinoin i α -tokoferol acetat	SLN u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Bolja podnošljivost (bez iritacija) i učinkovitije djelovanje u usporedbi s konvencionalnim gelom.	(100)
Antifungalno djelovanje	Grizeofulvin	NLC u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Učinkovitost u liječenju gljivičnih infekcija; značajnije sniženje lipidne peroksidacije u odnosu na komercijalni pripravak s klotrimazolom.	(101)
	Mikonazolnitrat	SLN	<i>In vivo</i> (štakori)	Bolje antifungalno djelovanje na <i>Candidu albicans</i> u odnosu na otopinu lijeka.	(102)
Atopijski dermatitis	Tetrahidro-kurkumin	SLN u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Potpuno zacjeljivanje kože i ublažavanje simptoma atopijskog dermatitisa u usporedbi s komercijalnom takrolimus masti.	(103)
Depresija	Agomelatin	NLC u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Distribucija agomelatina u mozgu nakon 12 h je bila 6,31 puta veća u odnosu na gel s agomelatinom.	(104)
Dijabetički ulkus	Valsartan	SLN u hidrogelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Smanjenje stvaranja bakterijskih biofilmova; MIK usporediv s levofloksacinom; poboljšano zacjeljivanje.	(105)
Giht	Alopurinol	NLC u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Značajno smanjenje upale s nižom dozom alopurinola u usporedbi s oralnom suspenzijom.	(106)
HIV	Lopinavir	SLN u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Dobra bioraspoloživost u odnosu na gel i oralnu suspenziju.	(107)
Lokalna anestezija	Bupivakain	NLC (modificiran hijaluronskom kiselinom)	<i>In vivo</i> (štakori)	Produljeni i jači anestetski učinak u usporedbi sa slobodnim bupivakainom.	(108)

	Lidokain	NLC (modificiran TPGS-om)	<i>In vivo</i> (štakori)	Dulje anestetско djelovanje u usporedbi s komercijalnim pripravkom i slobodnim lidokainom.	(109)
	Tetrakain	PLA NP SLN NLC	<i>In vivo</i> (štakori)	Primjenom NLC-a postignut je dulji anestetski učinak.	(110)
Protuupalno djelovanje	Etofenamat i ibuprofen	SLN u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Terapijski učinci usporedivi s komercijalnim pripravcima postignuti su s 8,3 puta nižom dozom etofenamata i 16,6 puta nižom dozom ibuprofena.	(111)
	Flurbiprofen	SLN u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	10 puta niža doza flurbiprofena ostvaruje sličan učinak kao i komercijalni pripravak.	(112)
	Halobetazol propionat	NLC	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i> (kunići)	Značajno smanjenje IL-8 <i>in vitro</i> i pojava manjih blistera u odnosu na kontrolu tijekom cijelog vremena ispitivanja.	(113)
		NLC u gelu	<i>In vivo</i> (kunići)	Između 3 različita gela, Pluronic gel je ostvario najbrži protuupalni učinak; poboljšanje biomehaničkih svojstava kože u zdravih dobrovoljaca.	(114)
	Lornoksikam	NLC (modificiran poliarginin peptidom) u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Poboljšana permeabilnost i zadržavanje u koži; inhibicija edema šape i proizvodnje upalnih citokina.	(115)
Pruritus	Hidroksizin hidroklorid	SLN u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Bolji antipruritski učinak od hidroksizin gela i značajno sniženje IL-4 i tvari P.	(116)
	Sebakoil dinalbufin ester	NLC	<i>In vivo</i> (miševi)	Zaštita prolijeka od razgradnje <i>in vitro</i> ; pretvorba u nalbufin (<i>in vivo</i>); produljeni učinak.	(117)
Psorijaza	Ditranol	NLC u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Smanjenje simptoma psorijaze; manje mrlja na odjeći od ispitivanog pripravka u usporedbi s konvencionalnom masti.	(118)

	Fluocinolon acetamid i salicilna kiselina	NLC u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Značajno smanjenje simptoma psorijaze i razine TNF- α , IL-17 i IL-22 u usporedbi s konvencionalnim gelom.	(119)
	Kalcipotriol	NLC u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Značajno poboljšanje terapijske učinkovitosti u smislu povećanja ortokeratoze i aktivnosti lijeka.	(120)
	Pentoksifilin	NLC	<i>In vivo</i> (miševi)	Brza i jednostavna metoda pripreme; bolji protuupalni potencijal u usporedbi sa slobodnim lijekom.	(121)
	Takrolimus i siRNA	NLC	<i>In vivo</i> (miševi)	Sinergistički učinak i smanjenje razine TNF- α za 7 puta.	(122)
	Tamoksifen citrat	NLC (sa skvalenom) u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Povećanje vlažnosti kože i sadržaja lipida te značajno smanjenje PASI rezultata i proupalnih citokina.	(123)
Rak kože	Dakarbazin	SLN u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Poboljšana učinkovitost s minimalno nuspojava u usporedbi sa slobodnim lijekom.	(124)
	Docetaksel i lidokain	NLC u hidrogelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Značajna inhibicija rasta tumora bez nuspojava.	(125)
	Silimarini	NLC u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Značajno smanjenje tumorske mase i razine TNF- α i IL-1 α ; značajno povećanje razine superoksid dismutaze, katalaze i glutationa.	(126)
Reumatoidni artritis	Celekoksib	SLN u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Bolja permeabilnost i terapijska učinkovitost od konvencionalnog gela.	(127)

HIV – virus humane imunodeficijencije; IL – interleukin; MIK – minimalna inhibitorna koncentracija; NLC – nanostrukturirani lipidni nosači; PASI – indeks zahvaćenosti kože psorijazom i težine psorijaze; PLA NP – poli(L-laktid) nanočestice; siRNA – mala interferirajuća ribonukleinska kiselina; SLN – čvrste lipidne nanočestice; TNF- α – faktor nekroze tumora alfa; TPGS – tokoferil polietilenglikol 1000 sukcinat

Budući da izotretinoin (A) i α -tokoferol acetat (E) mogu izazvati iritacije na koži, cilj istraživanja kojeg su proveli Gupta i sur. (100) je bio pripremiti formulaciju s navedenim lijekovima koja će biti učinkovita protiv akni i dobro podnošljiva na koži. Pripremljeni AE-SLN gel u *in vitro* ispitivanju oslobađanja lijeka je pokazao produljeno oslobađanje lijekova tijekom 24 sata s konačnim kumulativnim oslobađanjem od 96 % za izotretinoin i 89 % za α -tokoferol acetat. AE-SLN gel nije pokazivao znakove iritacije na koži kunića, a učinkovitost mu je ispitana na štakorskom modelu akni. *Wistar* štakorima su intradermalno injicirane bakterije (*Propionibacterium acnes*) u uho te su se nakon određenog vremena razvile akne na ušima, a njihovo liječenje je trajalo 7 dana. Kombinacija izotretinoina i α -tokoferola acetata je snažno djelovala protiv akni te je pripremljeni SLN gel bio učinkovitiji u usporedbi s konvencionalnim gelom (100).

Al-Maghrabi i sur. (102) su uklopili mikonazolnitrat (MN) u SLN kako bi se nadvladala njegova slaba topljivost u vodi i slaba permeabilnost te omogućilo bolje antifungalno djelovanje pri topikalnoj primjeni. *In vitro* ispitivanje oslobađanja lijeka iz nekoliko pripremljenih MN-SLN-ova pokazalo je početno naglo oslobađanje, nakon čega je uslijedilo sporo i kontinuirano oslobađanje do 48 sati. *Ex vivo* ispitivanje permeabilnosti na koži štakora je pokazalo da bi formulacija MN-SLN-a mogla poboljšati akumulaciju MN-a u koži s depo učinkom. Izabrana formulacija pokazala je veću zonu inhibicije rasta *C. albicans* kao i dobru podnošljivost na koži štakora u usporedbi s 1 % MN otopinom. Superiornost MN-SLN-a je potvrđena *in vivo* pri čemu je ispitivana formulacija, nakon 10 dana primjene, pokazala snažniji antifungalni učinak u odnosu na 1 % MN otopinu (102).

Tetrahidrokurkumin (THC) je bezbojni i hidrogenirani metabolit kurkumina s odličnim protuupalnim svojstvima te ima kliničku prednost pred kurkuminom (103). U *ex vivo* i *in vivo* ispitivanjima na *Lacca* miševima, THC-SLN gel (0.2 % THC) je pokazao dobra okluzivna svojstva te je poboljšao hidrataciju kože slično kao i komercijalna mast s 0,1 % takrolimusa (Tacroz® Forte). Dermatofarmakokinetičke studije i konfokalna laserska pretražna mikroskopija su jasno pokazale da THC-SLN gel prodire u dublje dijelove kože za razliku od THC gela. Pripremljene formulacije su primjenjivane jednom dnevno tijekom 10 dana na *Lacca* miševima kojima je atopijski dermatitis induciran 2,4-dinitroklorobenzenom. U miševa tretiranih THC-SLN gelom došlo je do potpunog zacjeljivanja kože i potpunog ublažavanja simptoma atopijskog dermatitisa za razliku od miševa tretiranih s Tacroz® Forte, a to je potvrđeno i histopatološkom studijom. Daljnja biokemijska analiza potvrdila je antioksidativno

djelovanje THC-SLN gela, a protuupalno djelovanje je potvrđeno značajnim smanjenjem razine IL-6 i TNF- α (103).

El-Salamouni i sur. (105) su proveli istraživanje prenamjene primjene valsartana (antihipertenziv) za moguće liječenje nekontroliranih dijabetičkih ulkusa. Valsartan su uklopili u SLN i pripravljene nanočestice umiješali u HPMC gel. Postignuto je produljeno oslobađanje lijeka uz značajno smanjenje stvaranja bakterijskih biofilmova (i gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija), uz minimalnu inhibitornu koncentraciju usporedivu sa samim levofloksacinom. Formulacija SLN gela (2 mg/mL), aplicirana dva puta dnevno tijekom 12 dana, se pokazala učinkovitom u tretiranju induciranog dijabetičkog ulkusa na *Sprague Dawley* štakorima (105).

SLN-ovi su istraživani i za transdermalnu primjenu lopinavira (107). Naime, transdermalnom primjenom omogućila bi se veća biorasploživost i potakla primjena jednog lijeka budući da se lopinavir obično kombinira s ritonavirovom kako bi se smanjio presistemički metabolizam lopinavira. *In vivo* ispitivanjem biorasploživosti provedenim na muškim *Wistar* štakorima potvrđena je dobra biorasploživost lopinavira iz SLN-gela u odnosu na lopinavir gel i lopinavir oralnu suspenziju (107).

Kako bi poboljšali permeabilnost kroz kožu i *in vivo* aktivnost nesteroidnih protuupalnih lijekova, Mancini i sur. (111) su uklopili etofenamat i ibuprofen u SLN. Pripremljeni SLN-ovi su potom uklopljeni u hidrogel radi postizanja prikladne viskoznosti za dermalnu primjenu. *In vitro* ispitivanje perkutane apsorpcije, koristeći humanu kožu, pokazalo je veću permeabilnost SLN formulacija u usporedbi s komercijalnim pripravkom etofenamata (Reumon® gel 5 %) i ibuprofena (Ozonol® 5 %). *In vivo* ispitivanja u *Wistar* štakora, kojima je edem šape induciran karagenanom, su pokazala da SLN hidrogelovi koji sadrže niže doze etofenamata (8,3 puta niže) i ibuprofena (16,6 puta niže) ostvaruju slične učinke kao komercijalni pripravci. SLN hidrogelovi su značajno smanjili edem i infiltraciju upalnih stanica te nije došlo do histoloških promjena u epidermisu (111).

Slično ispitivanje za još jedan nesteroidni protuupalni lijek i usporedbu s komercijalnim pripravkom su proveli Bagde i sur. (112) koji su uklopili flurbiprofen u SLN, a dodatkom karbopola je pripremljen gel. Rezultati *in vitro* ispitivanja permeabilnosti i *ex vivo* ispitivanja odlaganja lijeka u kožu su pokazali da flurbiprofen-SLN gel ostvaruje bolju permeabilnost i značajno veće odlaganje lijeka u dermisu u usporedbi s komercijalnim pripravkom. U *in vivo* ispitivanju protuupalnog djelovanja u *Sprague Dawley* štakora, SLN gel s flurbiprofenom je

pokazao sličan učinak kao i komercijalni pripravak, iako je bio deset puta slabiji od komercijalnog pripravka (112).

Svrha istraživanja koje su proveli El-Telbany i sur. (116) je bila uklopiti hidrosizin hidroklorid (HHC1) u SLN transdermalni gel i tako izbjeći njegovu ekstremnu gorčinu, poboljšati permeabilnost kroz kožu, postići bifazni profil otpuštanja lijeka te procijeniti perifernu H1-antihistaminsku aktivnost. Pripremljeno je nekoliko formulacija HHC1-SLN, a optimizirana formulacija je uklopljena u transdermalni gel te je dalje bila uključena u *in vivo* ispitivanja. Učinkovitost pripremljenog transdermalnog gela je ispitana u miševa kojima su lezije nalik atopijskom dermatitisu izazvane s 2,4-dinitroklorobenzenom. Primijenjeni transdermalni HHC1-SLN gel (18 mg/kg) je pokazao bolju antipruritsku aktivnost od HHC1 gela te je došlo do značajnog sniženja razine IL-4 i tvari P (116).

Budući da standardna kemoterapija nosi brojne negativne učinke, uklapanjem dakarbazina u SLN pokušala se smanjiti toksičnost lijeka na zdrave stanice i usmjeriti njegovo djelovanje na stanice melanoma (124). Kako bi se pratila lokalizacija lijeka u SLN-u, zlatne nanočestice su konjugirane s dakarbazinom. Pripremljeno je i ispitano nekoliko dakarbazin-SLN formulacija, a izabrana formulacija je pomiješana s optimiziranom koncentracijom gelanske gume te je primijenjena dva puta dnevno tijekom 6 tjedana u *Wistar* štakora s induciranim tumorom kože. Histopatološki testovi su pokazali da su štakori tretirani s tom formulacijom imali manje keratoza, upalnih odgovora i angiogeneze nego štakori tretirani slobodnim dakarbazinom u gelanskoj gumi. Također, optimizirana formulacija SLN-a je pokazala poboljšanu učinkovitost s minimalnim nuspojavama u usporedbi sa slobodnim dakarbazinom (124).

Nirbhavane i sur. (127) su pripremili celekoksib (CXB) SLN gel kako bi se izbjegle nuspojave povezane s oralnom primjenom celekoksiba te povećala njegova permeabilnost kroz kožu. Primjenom CXB-SLN-a je postignuto produljeno oslobađanje lijeka, dok je *ex vivo* ispitivanje na koži štakora pokazalo da je CXB-SLN gel omogućio bolju permeabilnost celekoksiba u kožu nego konvencionalni gel što je također potvrđeno dermatokinetičkom studijom. *In vivo* ispitivanja su provedena na *Wistar* štakorima s induciranim reumatoidnim artritisom, a pripremljene formulacije (1 % CXB) su primjenjivane jednom dnevno tijekom 5 tjedana. Rezultati provedenih ispitivanja pokazala su bolju terapijsku učinkovitost CXB-SLN gela u odnosu na konvencionalni gel. Postotak artritis indeksa CXB-SLN gela je bio nizak (18,54 %) u usporedbi s netretiranim (187,34 %) i konvencionalnim gelom tretiranim (91,61 %)

štakorima. Također, pripremljeni CXB-SLN gel nije izazvao upalu ili oštećenja na koži štakora te se pokazao sigurnim za uporabu (127).

3.1.4. Nanostrukturirani lipidni nosači

Nanostrukturirani lipidni nosači su, slično kao i čvrste lipidne nanočestice, ispitivani za (trans)dermalnu dostavu različitih lijekova s ciljem poboljšanja njihove permeabilnosti i bioraspoloživosti te poboljšanja lokalnog učinka (Tablica 3.).

Datt i sur. (101) u svom istraživanju su priredili grizeofulvin-NLC topikalni gel i ispitivali njegov potencijal u liječenju dermatofitoza. Uklapanje grizeofulvina u NLC-gel rezultiralo je početnim brzim oslobađanjem lijeka, nakon čega je uslijedilo sporije oslobađanje. Učinkovitost formulacije evaluirana je na *Wistar* štakorima kojima su infekcije *Tinea pedis* (atletsko stopalo) i lišajevi inducirani sojevima *Trichophyton rubrum* i *Microsporum canis*. Nakon 21 dana liječenja ispitivanom formulacijom, štakori su žrtvovani i podvrgnuti daljnjoj analizi. Histopatološka analiza kože štakora pokazala je da je došlo do izlječenja, a biokemijske studije su ukazale da je grizeofulvin-NLC gel značajnije snizio lipidnu peroksidaciju od komercijalnog pripravka. Također, grizeofulvin-NLC gel nije pokazao citotoksičnost prema humanim keratinocitima u *in vitro* ispitivanju (101).

U istraživanju kojeg su proveli Ahmed i sur. (104), priređen je agomelatin (AG) NLC gel namijenjen transdermalnoj primjeni, a sa svrhom povećanja bioraspoloživosti agomelatina i njegove dopreme u mozak. *Ex vivo* ispitivanja su pokazala da se uklapanjem agomelatina u NLC poboljšava permeabilnost lijeka kroz kožu u odnosu na kontrolni pripravak (AG suspenzija u gelu). U daljnjem tijeku ispitivanja agomelatin je radioaktivno obilježen te je AG-NLC gel primijenjen na kožu *Wistar* štakora. Gama scintigrafija je potvrdila da agomelatin dolazi do mozga te je potencijal distribucije u mozgu bio oko 55,38 % nakon 12 sati što je za 6,31 puta više u odnosu na učinak kontrolnog pripravka (104).

Kako bi osigurali dobru bioraspoloživost i smanjili sistemske nuspojave alopurinola, Ali i sur. (106) su uklopili alopurinol (ALO) u NLC, a potom u HPMC poloksamer-407 gel. ALO-NLC gel je osigurao produljeno oslobađanje lijeka te bolju permeabilnost od konvencionalnog gela u *ex vivo* ispitivanju permeabilnosti na koži štakora. Priređeni gel je pokazao minimalnu iritaciju u ispitivanju podnošljivosti pripravka na koži štakora, a učinkovitost formulacije je potvrđena *in vivo* na *Sprague Dawley* štakorima s induciranom gihtom. Rezultati su pokazali

da ALO-NLC gel značajno smanjuje upalu s nižom dozom lijeka (5 mg/kg) u usporedbi s ALO oralnom suspenzijom (10 mg/kg) (106).

Cilj istraživanja kojeg su proveli Zhao i sur. (109) je bio pripremiti i ispitati mogućnost primjene kationskih NLC-ova s uklopljenim lidokainom (LID) te modificiranih tokoferil polietilenglikol 1000 sukcinatom (TPGS) za lokalnu anesteziju. TPGS je derivat vitamina E koji povećava topljivost i perkutanu penetraciju lijekova, a pozitivni naboj NLC-a, postignut dodatkom stearinske kiseline, omogućuje bolju interakciju s negativno nabijenom površinom kože. *In vitro* ispitivanje citotoksičnosti na stanicama mišjih embrionalnih fibroblasta je pokazalo da TPGS/LID-NLC i LID-NLC djelomično utječu na vijabilnost stanica (vrijednosti između 80 i 100 %), pri čemu TPGS/LID-NLC nije pokazao veću citotoksičnost od LID-NLC-a pri svim ispitivanim koncentracijama. TPGS/LID-NLC je ostvario produljeno oslobađanje lijeka *in vitro* te je omogućio bolju permeabilnost lidokaina od LID-NLC-a i slobodnog lidokaina u ispitivanju permeabilnosti na koži štakora. Anestetski učinak je ispitan u *Sprague Dawley* štakora testom trzanja repom, a sve ispitane formulacije su sadržavale 2 mg lidokaina. NLC formulacije su imale dulje anestetsko djelovanje u usporedbi s komercijalnim pripravkom lidokaina (Xylocaine® 2 % Jelly) i slobodnim lidokainom, a TPGS/LID-NLC je ostvario najjači i najduži anestetski učinak od svih ispitivanih formulacija (109).

Carvajal-Vidal i sur. (113) su uklopili halobetazolpropionat (HP) u NLC kako bi se smanjile moguće sistemske nuspojave povezane s dobrom permeabilnosti halobetazola kroz kožu. Optimizirana formulacija je u *in vitro* ispitivanju u prvim satima brže oslobađala lijek, nakon čega je uslijedilo sporije oslobađanje. *Ex vivo* ispitivanje na humanoj koži je pokazalo da u odnosu na slobodni HP, HP-NLC omogućuje sporije oslobađanje lijeka i smanjuje permeabilnost što ukazuje na bolje zadržavanje lijeka u koži. *In vitro* ispitivanje citotoksičnosti na humanim keratinocitima i monocitima te *in vivo* ispitivanje podnošljivosti na koži kunića (*Draize test*) su pokazali da je HP-NLC netoksičan, dobro podnošljiv i siguran za primjenu na koži. Protuupalni učinak HP-NLC-a je potvrđen *in vitro* na humanim keratinocitima i monocitima značajnim smanjenjem proizvodnje IL-8 te *in vivo* na novozelandskim albino kunićima, u testu supresije histaminom inducirane kožne reakcije (engl. *histamine-induced wheal suppression test*), pojavom manjih blistera u odnosu na kontrolu (prazni NLC) (113).

Viegas i sur. (122) su ispitivali kombinaciju takrolimusa (TAC) i male interferirajuće ribonukleinske kiseline (engl. *small interfering ribonucleic acid*, siRNA) uklopljenih u NLC kao inovativnu alternativu za liječenje psorijaze. Takvom kombinacijom nastojali su postići

bolji učinak u smanjenju jednog od upalnih citokina (TNF- α) koji je izražen u psorijazi. Takrolimus iz NLC-a se kontrolirano i produljeno oslobađao *in vitro*, a ispitivanja permeabilnosti na koži svinjskog uha su pokazala da pripremljeni NLC omogućuje isporuku i zadržavanje takrolimusa i siRNA u dubljim dijelovima kože (vijabilnom epidermisu). Pripremljeni NLC je imao nisku toksičnost prema fibroblastima u ispitivanju vijabilnosti stanica. Učinkovitost pripremljene formulacije je ispitana na miševima bez dlake kojima su psorijatični plakovi inducirani topikalnom primjenom imikvimoda. Nakon četiri dana liječenja, miševi su žrtvovani i njihova koža je podvrgnuta daljnjoj histološkoj analizi i mjerenju TNF- α . Koža miševa tretiranih s NLC TAC TNF- α siRNA i NLC TNF- α siRNA je imala slične histološke karakteristike kao i koža zdravih miševa. Obje formulacije su bile učinkovite u liječenju psorijatičnih plakova, ali je kombinacija takrolimusa i siRNA ostvarila veće sniženje razine TNF- α zbog sinergističkog učinka (122).

Sličan pristup u liječenju psorijaze su imali i Pradhan i sur. (119) koji su sinergistički učinak nastojali postići kombinacijom fluocinolon acetona (protuupalni kortikosteroid) i salicilne kiseline (keratolitik). Fluocinolon acetona (F) je uklopljen u NLC, a potom u karbopolski gel koji je već sadržavao salicilnu kiselinu (SA). Iz pripremljene formulacije (FSA gel), salicilna kiselina se brzo oslobodila, a fluocinolon je imao bifazno oslobađanje (početno brzo, nakon čega je uslijedilo sporije oslobađanje). Farmakokinetička testiranja i konfokalna laserska pretražna mikroskopija potvrdile su da se fluocinolon iz FSA gela značajno više zadržava u koži (epidermis i dermis) u odnosu na konvencionalni gel. Kod oba gela, salicilna kiselina se zadržala u gornjim slojevima kože, koje je i njeno mjesto djelovanja. FSA gel nije izazvao iritacije na koži štakora, dok je za konvencionalni gel primijećena blaga iritacija. *In vivo* ispitivanje učinkovitosti formulacije na *BALB/c* miševima s induciranom psorijazom je započelo 3. dana i trajalo je do 8. dana trajanja eksperimenta, nakon čega su miševi žrtvovani i njihova koža je podvrgnuta daljnjoj analizi. FSA gel je značajno ublažio simptome psorijaze i značajno snizio razine citokina (TNF- α , IL-17 i IL-22) u usporedbi s konvencionalnim gelom (119).

de Moura i sur. (125) su ispitivali hibridni hidrogel s antineoplastičnim i anestetskim svojstvima za lokalno liječenje melanoma kože. Hibridni hidrogel se sastojao od docetaksel-NLC-a uklopljenih u ksantan-kitozanski hidrogel koji je sadržavao lidokain. *In vitro* ispitivanje vijabilnosti stanica je pokazalo da se uklapanjem docetaksela u hibridni hidrogel smanjuje njegova citotoksičnost, dok je dodatak lidokaina u hidrogel povećao staničnu smrt u tumorskim i normalnim stanicama. Anestetski učinak je dokazan u miševa testom trzanja repom izazvanog

toplinskim zračenjem. Antitumorsko djelovanje je ispitano u *C57BL/6J* miševa kojima je tumor induciran B16-F10 stanicama. Liječenje je započelo nakon 8 dana i napravljeno je 6 sesija između kojih je bio dan razmaka. Rezultati su pokazali da hibridni hidrogel s 0,5 % docetaksela i 2 % lidokaina značajno inhibira rast tumora te nisu zabilježeni štetni učinci što je potvrđeno histopatološkim mjerenjima te određivanjem biokemijskih i fizikalnih parametara (125).

3.1.5. Mikroemulzije

Mikroemulzije su ispitivane za transdermalnu dostavu različitih lijekova s ciljem poboljšanja njihove biorasploživosti i/ili postizanja sistemskog učinka. Izabrana istraživanja za mikro- i nano-emulzije su sažeto prikazana u Tablici 4., a opširniji opis pojedinih istraživanja slijedi u nastavku rada.

Ciríaco i sur. (128) su pripremili mikroemulziju s uklopljenim tamsulozinom i dutasteridom za moguće liječenje benigne hiperplazije prostate (BHP). Naime, transdermalnom primjenom ovih lijekova bi se mogla nadvladati njihova niska biorasploživost karakteristična za oralnu primjenu. Ispitivanje učinkovitosti transdermalne primjene mikroemulzije s tamsulozinom i dutasteridom je provedeno na odraslim mužjacima *Wistar* štakora, budući da tkiva prostate ovih životinja imaju strukturu sličnu ljudskom tkivu. Štakori su podvrgnuti orhiektomiji, a nakon oporavka, BHP im je inducirana intramuskularnom primjenom testosterona što se očitovalo povećanjem težine prostate i sjemenih mjehurića. Kod BHP štakora liječenih tijekom 7 dana s pripremljenom mikroemulzijom (tamsulozin 0,2 % i dutasterid 0,2 %; 0,1 mL/cm²) uočeno je smanjenje težine organa ovisnih o testosteronu (prostata i sjemeni mjehurići) (128).

U svrhu povećanja biorasploživosti repaglinida i postizanja kontroliranog oslobađanja kroz dulji vremenski period, Shinde i sur. (129) su priredili mikroemulziju s uklopljenim repaglinidom koja je gelirana dodatkom ksantanske gume. Pripremljena mikroemulzija i mikroemulzijski gel su pokazali veću permeabilnost u usporedbi s repaglinid suspenzijom u *ex vivo* ispitivanju permeabilnosti na koži štakora. Ispitivanje *in vivo* učinkovitosti je provedeno na *Sprague Dawley* štakorima korištenjem oralnog testa tolerancije na glukozu pri čemu je transdermalno primijenjen mikroemulzijski gel s repaglinidom pokazao značajnu prednost u odnosu na oralno primijenjen repaglinid u istoj dozi (1 mg/kg), smanjujući razinu glukoze na kontrolirani način (129).

Tablica 4. Pregled izabranih istraživanja (trans)dermalne primjene mikroemulzija i nanoemulzija (razdoblje 2018. – 2023.)

PRIMJENA	DJELATNA TVAR	NANOSUSTAV	VRSTA ISTRAŽIVANJA	REZULTATI ISPITIVANJA	LITERATURA
Anemija	Željezov (II) sulfat	Mikroemulzija	<i>In vivo</i> (štakori)	Brže poboljšanje hematokrita i dobivanje na težini u usporedbi s kontrolom.	(130)
Benigna hiperplazija prostate	Tamsulozin i dutasterid	Mikroemulzija	<i>In vivo</i> (štakori)	Smanjenje težine organa ovisnih o testosteronu (prostata i sjemeni mjehurići).	(128)
Dijabetes	Glimepirid i ulje klinčića	Nanoemulzija u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Poboljšanje hipoglikemijskog učinka u usporedbi sa slobodnim glimepiridom i oralnim pripravkom.	(131)
	Repaglinid	Mikroemulzija u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Kontrolirano sniženje razine glukoze u krvi u usporedbi s oralnim pripravkom.	(129)
Dijabetička neuropatija	Kapsaicin	Nanoemulzija u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Bolja antinociceptivna svojstva u usporedbi s konvencionalnim gelom.	(132)
Infantilni hemangiom	Propranolol	Nanoemulzija	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i> (štakori)	Nema citotoksičnog učinka na humanim fibroblastima, keratinocitima i makrofazima miševa; zadržavanje lijeka uglavnom u koži.	(133)
Lokalna anestezija	Lidokain, prilokain	Mikroemulzija	<i>In vivo</i> (štakori)	Produljeno anestetsko djelovanje u usporedbi s komercijalnom lidokain masti.	(134)
Osteoporoza	Alendronat	Mikroemulzija	<i>In vivo</i> (štakori)	Značajno poboljšanje bioraspoloživosti u usporedbi s oralnim pripravkom; poboljšanje gustoće kostiju.	(135)
	Fluvastatin	Nanoemulzija u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Poboljšanje mikroarhitekture i čvrstoće kosti.	(136)
	Lovastatin	Nanoemulzija u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Značajno sniženje biomarkera resorpcije kosti i značajno povišenje biomarkera za formiranje kosti.	(137)
Parkinsonova bolest	Razagilinmesilat	Mikroemulzija u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Jednaka učinkovitost u smanjenju simptoma Parkinsonove bolesti u usporedbi s oralnim pripravkom.	(138)

Protuupalno djelovanje	Apremilast	Mikroemulzija	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i> (miševi)	Smanjenje proizvodnje IL-6 i IL-8 u humanim keratinocitima; smanjenje infiltracije upalnih stanica i smanjenje IL-8, IL-17a i TNF- α u miševa.	(139)
	Fenoprofenkalcij	Mikroemulzija	<i>In vivo</i> (štakori)	Značajno bolje protuupalno djelovanje u usporedbi s konvencionalnim gelom.	(140)
Psorijaza	Ciklosporin	Nanoemulzija	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i> (ljudi)	Značajno smanjenje citotoksičnosti <i>in vitro</i> ; dobra podnošljivost na humanoj koži i značajno smanjenje transepidermalnog gubitka vode.	(141)
	Takrolimus	Nanoemulzija u gelu	<i>In vivo</i> (miševi)	Značajno niže razine IL-6 i TNF- α te veća učinkovitost u liječenju psorijaze u usporedbi s komercijalnom takrolimus masti.	(142)
Reumatoidni artritis	Indometacin i natrijev hijaluronat	Nanoemulzija	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i> (miševi)	Odlična antioksidativna svojstva <i>in vitro</i> ; bolje protuupalno djelovanje <i>in vivo</i> u usporedbi s pozitivnom kontrolom.	(143)
	Leflunomid i diklofenaknatrij	Mikroemulzija u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Bolje antireumatsko djelovanje u usporedbi s mikroemulzijskim gelovima s jednim lijekom.	(144)
Tuberkuloza	Rifampicin	Nanoemulzija u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	C_{max} i AUC su 4,34 i 4,74 puta veće u usporedbi s oralnim pripravkom.	(145)
Zacjeljivanje rana	<i>Aloe vera</i> i inzulin	Nanoemulzija u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Učinkovitije zacjeljivanje rana u usporedbi s topikalnom primjenom samog inzulina.	(146)
	Fusidatna kiselina	Mikroemulzija u gelu	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i> (štakori)	Smanjenje upalnog odgovora u makrofazima miševa; poboljšano zacjeljivanje rana u usporedbi s komercijalnom kremom.	(147)
	Kurkumin i resveratrol	Nanoemulzija u gelu	<i>In vivo</i> (štakori)	Bolje zacjeljivanje rana u usporedbi s kontrolom.	(148)

AUC – površina ispod krivulje; C_{max} – maksimalna koncentracija lijeka u plazmi; IL – interleukin; TNF- α – faktor nekroze tumora alfa

Alendronat je bisfosfonat koji se koristi u terapiji osteoporoze. Boche i Pokharkar (135) su ispitivali učinkovitost transdermalne primjene mikroemulzije s alendronatom kojom bi se izbjegle gastrointestinalne nuspojave povezane s oralnom primjenom alendronata. Farmakokinetičke studije na štakorima su pokazale da je transdermalnom primjenom značajno poboljšana bioraspoloživost (gotovo dvostruko) u odnosu na oralnu primjenu. Pripremljena mikroemulzija je primijenjena u ženskih *Wistar* štakora kojima su odstranjeni jajnici kako bi se ispitala sposobnost ublažavanja simptoma osteoporoze. Liječenje je započeto 2 mjeseca nakon operacije i trajalo je 8 tjedana te je došlo do poboljšanja gustoće kostiju. Ova su zapažanja dodatno poduprla biokemijska ispitivanja (analiza formiranja kosti i markera resorpcije). Biometrijskom analizom i histopatološkim pregledom kostiju je utvrđeno da je pripremljena mikroemulzija učinkovito suzbila pad koštane mase osteoporotičnih štakora. Također, histološki pregled kože nije pokazao značajna oštećenja kože na kraju liječenja (135).

Za moguće liječenje Parkinsonove bolesti Patel i sur. (138) su pripravili mikroemulzijski gel s uklopljenim razagilinmesilatom. Naime, povećana razgradnja u gastrointestinalnom traktu i metaboliziranje u jetri, odgovorni su za njegovu nisku oralnu bioraspoloživost i suboptimalnu terapijsku učinkovitost. Pripremljeni mikroemulzijski gel je pokazao značajno veću permeabilnost u usporedbi s konvencionalnim razagilinmesilat hidrogelom u *ex vivo* ispitivanju permeabilnosti (koža štakora). Provedeni test iritacije kože na kunićima je pokazao da je mikroemulzijski gel dobro podnošljiv, ne izaziva iritacije te je siguran za transdermalnu primjenu. *In vivo* ispitivanje provedeno na *Sprague Dawley* štakorima kojima je Parkinsonova bolest inducirana rotenonom, pokazalo je da je transdermalna primjena mikroemulzijskog gela s razagilinmesilatom bila jednako učinkovita u smanjenju simptoma Parkinsonove bolesti u usporedbi s oralno primijenjenim razagilinmesilatom u istoj dozi (2,7 mg/kg/dan tijekom 11 dana) (138).

Apremilast je inhibitor fosfodiesteraze 4 koji se koristi oralno u liječenju aktivnog psorijatičnog artritisa i umjereno do teške kronične plak psorijaze. Sarango-Granda i sur. (139) su uklopili apremilast u mikroemulziju kako bi povećali topljivost i permeabilnost apremilasta. *Ex vivo* ispitivanja na humanoj koži su pokazala zadržavanje lijeka u koži, dok je protuupalni učinak dokazan smanjenjem proizvodnje IL-6 i IL-8 u *in vitro* modelu HaCaT stanica. Taj učinak je potvrđen i *in vivo* u *BALB/c* miševa kojima je upala uha inducirana arahidonskom kiselinom, smanjenjem infiltracije upalnih stanica i smanjenjem upalnih citokina IL-8, IL-17A i TNF- α . Podnošljivost pripremljene mikroemulzije je ispitana na koži zdravih dobrovoljaca gdje je utvrđeno da ne uzrokuje oštećenje ili iritaciju kože (139).

Fenoprofenkalcij je nesteroidni protuupalni lijek čija je oralna primjena povezana s ozbiljnim gastrointestinalnim nuspojavama. Farghaly i sur. (140) su pripremili i procijenili nekoliko mikroemulzija s fenoprofenkalcijem za topikalnu primjenu s različitim udjelima ulja, vode i mješavine emulgatora i koemulgatora. Provedeno je *in vitro* ispitivanje oslobađanja fenoprofenkalcija iz mikroemulzija kroz sintetičku membranu i kožu štakora. Mikroemulzija koja je postigla najveći transdermalni protok i najveću permeabilnost kroz kožu je bila uključena u *in vivo* ispitivanja na bijelim albino štakorima kojima je edem šape induciran karagenanom. Protuupalno djelovanje izabrane mikroemulzije je bilo značajno veće od običnog gela s fenoprofenkalcijem (140).

Cilj istraživanja Okur i sur. (147) je bio ispitati mogućnost primjene mikroemulzijskog gela s fusidatnom kiselinom u liječenju opekline. Fusidatna kiselina je antimikrobni lijek koji se dobiva iz gljive *Fusidium coccineum*. Utvrđeno je da je antibakterijsko djelovanje pripremljenog mikroemulzijskog gela usporedivo s komercijalnom kremom (Fucidin® 2 % krema). Stanična linija mišjih makrofaga RAW 264.7 korištena je za određivanje vijabilnosti stanica i proizvodnje dušikovog oksida. Mikroemulzijski gel (bez fusidatne kiseline) i mikroemulzijski gel s fusidatnom kiselinom su značajno inhibirali proizvodnju upalnog medijatora (NO) u stanicama RAW 264.7 stimuliranim lipopolisaharidom. Svojstvo zacjeljivanja rana procijenjeno je histopatološkim pregledom i mjerenjem kontrakcije rane u *Wistar* albino štakora. Ispitivana mikroemulzija s 2 % fusidatne kiseline je pokazala poboljšano zacjeljivanje rana te pojačanu terapijsku učinkovitost s obzirom na to da je krajem 10. dana *in vivo* eksperimenta postotak površine rane bio 46,71 % za komercijalni proizvod i 41,39 % za mikroemulzijski gel s fusidatnom kiselinom (147).

3.1.6. Nanoemulzije

Nanoemulzije s uklopljenim djelatnim tvarima istraživane su za lokalnu primjenu na kožu (Tablica 4.). Nekoliko ispitivanja u nastavku donosi primjere liječenja dijabetesa i komplikacija dijabetesa poput neuropatije i rana.

Glimepirid je oralni hipoglikemik koji se koristi za liječenje dijabetesa tipa 2. Problem kod transdermalne primjene glimepirida je njegova slaba topljivost u vodi i slaba permeabilnost. Kako bi povećali topljivost, Razzaq i sur. (131) su pripravili kompleks glimepirida s β -ciklodekstrinom i Gelucire-om 44/16 te ga uklopili u nanoemulziju koja je gelirana dodatkom ksantanske gume. Uljnu fazu nanoemulzije činilo je eterično ulje klinčića koje posjeduje

antidijabetička svojstva te dodatno djeluje kao promotor penetracije fluidizirajući lipide *stratuma corneuma*. Ispitivanje *ex vivo* permeabilnosti i antidijabetičkog učinka *in vivo* (*Wistar* štakori s induciranim dijabetesom), pokazalo je da se sinergističkim učinkom glimepirida i klinčićevog ulja ostvaruje bolja permeabilnost lijeka kroz kožu te se poboljšava njegov hipoglikemijski učinak u usporedbi s nanoemulzijskim gelom s nekompleksiranim glimepiridom i oralnim glimepiridom, primijenjenim u istoj dozi (10 mg/kg) (131).

Saab i sur. (132) su pripravili nanoemulziju s kapsaicinom, sastavljenu od eukaliptusova ulja, Tween-a 80, izopropilnog alkohola i vode, koju su potom uklopili u gel kako bi postigli prikladnu viskoznost za primjenu na kožu. Provedena *ex vivo* ispitivanja permeabilnosti na koži štakora korištenjem Franz difuzijske ćelije pokazala su značajno veću i bržu permeabilnost kapsaicina uklopljenog u nanoemulgel u usporedbi s konvencionalnim gelom. Kumulativna količina permeiranog kapsaicina bila je čak četiri puta veća za nanoemulgel u odnosu na konvencionalni gel. Učinkovitost formulacije potvrđena je *in vivo* na *Swiss-Webster* miševima s induciranim dijabetesom, pri čemu je nanoemulgel pokazao bolja antinociceptivna svojstva od konvencionalnog gela (132).

Koža osoba s dijabetesom je često podložna različitim infekcijama i ranama koje teško zacjeljuju. Chakraborty i sur. (146) su ispitivali učinak topikalnog gela s *Aloe verom* i inzulinom uklopljenim u nanoemulziju na zacjeljivanje rana u štakora s dijabetesom. Naime, *Aloe vera* sadrži brojne aktivne tvari koje doprinose cijeljenju rana i opekline te imaju antibakterijski i protuupalni učinak. Osim toga, lokalno primijenjen inzulin također može ubrzati zacjeljivanje rana jer stimulira faktor rasta, podupire razvoj različitih tipova stanica i proliferaciju, migraciju i sekreciju keratinocita, endotelnih stanica i fibroblasta. Provedenim ispitivanjima pokazano je da formulacija nanoemulgela posjeduje dobru razmazivost, stabilnost i osigurava dostatnu permeabilnost djelatnih tvari. *In vivo* ispitivanja antidijabetičkog učinka na štakorima pokazala su značajan pad razine glukoze u krvi u usporedbi s pozitivnom kontrolom. Potvrđen je sinergistički učinak inzulina i *Aloe verae* na cijeljenje rana te je nanoemulgel bio učinkovitiji u cijeljenju rana u odnosu na topikalnu primjenu samog inzulina (146).

Statini su najčešće upotrebljavani lijekovi za snižavanje razine kolesterola u krvi. Osim što značajno smanjuju rizik od kardiovaskularnih bolesti, mogu povoljno djelovati i na koštani metabolizam. Kaur i Ajitha (137) su ispitivali nanoemulzijske gelove s lovastatinom za transdermalnu primjenu i učinak lovastatina na osteoporozu. *In vitro* i *ex vivo* ispitivanja su

pokazala bolju permeabilnost lovastatina iz pripremljenih nanoemulzija i nanoemulzijskog gela u odnosu na konvencionalne pripravke. *In vivo* ispitivanja učinkovitosti pripremljenih nanoformulacija primijenjenih u dozi 5 mg/kg/dan i 10 mg/kg/dan tijekom 60 dana, pokazala su značajno snižene razine biomarkera resorpcije kosti, dok su biomarkeri za formiranje kosti bili značajno povišeni u usporedbi s netretiranim osteoporotičnim štakorima. Nadalje, bedrene kosti tretiranih štakora su pokazale poboljšanje mikroarhitekture kostiju (stvaranje novog koštanog tkiva), a ispitivanje biomehaničke čvrstoće pokazalo je bolju čvrstoću i nosivost kostiju (137). Isti autori proveli su slično ispitivanje s fluvastatinom. Dobiveni rezultati su bili slični onima za lovastatin te je nanoemulzijski gel s fluvastatinom također pokazao veliki potencijal za transdermalnu dostavu fluvastatina i liječenje osteoporoze (136).

Nanoemulzije su ispitivane i za lokalno liječenje psorijaze. Tako su Mittal i sur. (142) pripravili nanoemulzijske gelove s takrolimusom te su učinak nanoformulacija uspoređivali s komercijalnim pripravkom takrolimusa (mast). Pripravili su dvije nanoemulzije s uljima visokih udjela eikozapentaenske i dokozaheksaenske kiseline (riblje i laneno ulje) koje posjeduju protuupalno djelovanje. Kao koemulgator su koristili Transcutol P koji djeluje kao promotor penetracije. Rezultati provedenih ispitivanja su potvrdili da je kumulativna količina permeiranog takrolimusa za nanoemulziju s ribljim uljem i nanoemulziju s lanenim uljem bila 1,3, odnosno 1,4 puta veća u odnosu na komercijalnu mast. Konfokalna laserska pretražna mikroskopija i dermatokinetička ispitivanja su potvrdila veću permeabilnost i bolje zadržavanje takrolimusa u koži primjenom nanoemulzijskih gelova u usporedbi s komercijalnom masti. *In vivo* ispitivanje provedeno na miševima pokazalo je značajno niže razine citokina (TNF- α i IL-6) u životinja kojima su primijenjene formulacije nanoemulzijskih gelova, te su iste bile učinkovitije u liječenju psorijaze u usporedbi s komercijalnim pripravkom (142).

Guermech i sur. (143) su proučavali djelovanje kombinacije natrij hijaluronata i indometacina u nanoemulziji namijenjenoj liječenju artritisa. *In vitro* antioksidativna aktivnost je ispitana DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) metodom pri čemu je postotak DPPH inhibicije za pripremljenu nanoemulziju bio 94 % u usporedbi s vitaminom C koji je bio pozitivna kontrola (100 %-tna inhibicija). *In vivo* protuupalna aktivnost je ispitana na *Swiss* miševima (ksilenom induciran edem uha). Pripremljena nanoemulzija je pokazala izvanredni protuupalni učinak i znatno veće smanjenje edema u usporedbi s pozitivnom kontrolom (ibuprofen gel 5 %). Zbog iskazanih antioksidativnih i protuupalnih svojstava, ispitivana nanoemulzija je pokazala dobar potencijal za transdermalnu dostavu natrij hijaluronata i indometacina (143).

Tuberkuloza je zarazna bolest uzrokovana bacilom *Mycobacterium tuberculosis* koja zahvaća najčešće pluća, ali se može pojaviti i u bilo kojem drugom organu poput kože. Hussain i sur. (145) su proučavali transdermalnu dostavu rifampicina uklopljenog u kationsku nanoemulziju za liječenje sistemske i kožne tuberkuloze. Za pripremu nanoemulzija su izabrane sastavnice (ulje, emulgator i koemulgator) koji također djeluju protiv *Mycobacterium* vrsta. U jednu nanoemulziju je dodan i Transcutol koji djeluje kao promotor penetracije. Pozitivni naboj nanoemulzije je dobiven dodatkom oleilamina te je na taj način postignuta bolja stabilnost i bolja učinkovitost formulacije zbog interakcije pozitivno nabijenih čestica nanoemulzije s negativno nabijenom površinom bakterijskih stanica. Prikladna viskoznost nanoemulzija postignuta je uklapanjem u karbopolski gel. *Ex vivo* ispitivanje na koži štakora je pokazalo da je gel s Transcutolom ostvario bolju permeabilnost rifampicina kroz kožu zbog veće lipidne ekstrakcije i reverzibilnih promjena u proteinskim domenama *stratum corneum* te su te promjene vizualizirane pretražnom elektronskom mikroskopijom. *In vivo* farmakokinetička ispitivanja na *Sprague Dawley* štakorima su pokazala da su vrijednosti maksimalne koncentracije lijeka u plazmi i površine ispod krivulje za gel s Transcutolom bile 4,34 i 4,74 puta veće od dobivenih vrijednosti za oralno primijenjen rifampicin. Nadalje, ispitivane formulacije nisu uzrokovale iritacije na koži štakora te su se pokazale sigurnima za topikalnu primjenu (145).

3.2. Pregled kliničkih istraživanja za lipidne nanosustave

Unatoč postojanju velikog broja *in vitro* i *in vivo* ispitivanja, relativno mali broj formulacija lipidnih nanosustava je bio uključen u klinička istraživanja gdje im je ispitana učinkovitost i sigurnost primjene na ljudima. Sažeti pregled izabranih kliničkih istraživanja se nalazi u Tablici 5., a detaljniji opis pojedinih istraživanja je u sljedećim poglavljima.

Tablica 5. Pregled izabranih kliničkih istraživanja (trans)dermalne primjene lipidnih nanosustava (razdoblje 2018. – 2023.)

PRIMJENA	DJELATNA TVAR	NANOSUSTAV	VRSTA ISTRAŽIVANJA	REZULTATI ISPITIVANJA	LITERATURA
Akne	Adapalen i ulje čajevca	Nanoemulzija u gelu	Kliničko	Značajno bolje smanjenje broja ukupnih, upalnih i neupalnih akni u usporedbi s komercijalnim adapalen gelom.	(149)
	Benzoilperoksid i klindamicin	Niosomi	Kliničko	Veća učinkovitost u liječenju akni bez povećanja nuspojava u usporedbi s niosomskim klindamicinom.	(150)
	Retinilpalmitat	Etosomi u hidrogelu	Kliničko	Značajno manji broj neupalnih komedonalnih lezija i značajno bolja podnošljivost u usporedbi s komercijalnom tretinoin kremom.	(151)
	Tretinoin	Nanoemulzija	Kliničko	Učinkovito smanjenje broja akni; značajno veće smanjenje proizvodnje porfirina u pilosebacealnim folikulima u usporedbi s konvencionalnom tretinoin emulzijom.	(152)
			NLC u emulgelu	Kliničko	Značajna učinkovitost u liječenju akni u usporedbi s konvencionalnom tretinoin kremom.
Fotodinamska terapija (aktinička keratoza)	5-aminolevulinatna kiselina (BF-200 ALA gel)	Nanoemulzija u gelu	Kliničko (faza 3)	Uklanjanje 79,8 % (BF-200 ALA gel) i 76,5 % (MAL krema) lezija 12 tjedana nakon tretmana; značajno niža stopa recidiva godinu dana nakon tretmana u usporedbi s MAL kremom; dokazana neinferiornost BF-200 ALA gela u odnosu na MAL kremu.	(154)
Fotodinamska terapija (neagresivni karcinom)	5-aminolevulinatna kiselina (BF-200 ALA gel)	Nanoemulzija u gelu	Kliničko (faza 3)	Potpuno uklanjanje svih lezija u 93,4 % (BF-200 ALA gel) i 91,8 % (MAL krema) pacijenata 12 tjedana nakon tretmana; slične ili nešto niže stope recidiva godinu dana nakon tretmana u usporedbi s MAL kremom;	(155)

bazalnih stanica)				dokazana neinferiornost BF-200 ALA gela u odnosu na MAL kremu.	
Gljivične infekcije	Flukonazol	SLN u gelu	Kliničko	Superiorna klinička učinkovitost u usporedbi s komercijalnom kremom s klotrimazolom.	(156)
	Oksikonazolnitrat	SLN u gelu	Kliničko	Učinkovitije antifungalno djelovanje, veće zadovoljstvo ispitanika i manje nuspojava u usporedbi s komercijalnom kremom.	(157)
Infantilni hemangiom	Propranolol hidroklorid	Niosomi	Kliničko	Učinkovito liječenje površinskih i dubokih infantilnih hemangioma.	(158)
Kožna lišmanioza	Amfotericin B (SinaAmpholeish®)	Liposomi	Kliničko (faza 1)	Primjena 2 puta dnevno tijekom tjedan dana ne dovodi do nuspojava.	(159)
	Amfotericin B	Liposomi	Kliničko	Amfotericin B sam ili u kombinaciji sa standardnom terapijom je visoko učinkovit i siguran za primjenu.	(160)
	Cinkov sulfat	Niosomi	Kliničko	Kombinacija Glucantime® i topikalnog niosomskog cinkovog sulfata je jednako učinkovita kao i standardna terapija (Glucantime® + krioterapija).	(161)
Osteoartritis	Diklofenak	Deformabilni liposomi u gelu	Kliničko	Bolje ublažavanje simptoma osteoartritisa koljena u usporedbi s komercijalnim emulgelom.	(162)
Psorijaza	Antralin	Konvencionalni liposomi Etosomi u gelu	Kliničko	Veća učinkovitost etosomskog gela u sniženju PASI rezultata.	(163)
	Metotreksat	Mikroemulzija	Kliničko	Kombinacija s frakcijskim laserom je poboljšala psorijatične plakove u kraćem vremenu u odnosu na primjenu same mikroemulzije.	(164)
	Oleuropein	Mikroemulzija	Kliničko	Veća učinkovitost u liječenju psorijaze u usporedbi s komercijalnom kortikosteroidnom kremom.	(165)

Urtikarija	Cetirizin	Nanoemulzija u gelu	Kliničko	Veća učinkovitost u liječenju urtikarije sa značajnim smanjenjem stupnja urtika i svrbeža te većim postotkom oporavka u usporedbi s kontrolom.	(166)
Zacjeljivanje rana	Inzulin	Konvencionalni liposomi u gelu	Kliničko	Povećanje stope zacjeljivanja rana do oko 16 puta u odnosu na kontrolu.	(167)

ALA – 5-aminolevulinatna kiselina; MAL – metil-aminolevulinat; PASI – indeks zahvaćenosti kože psorijazom i težine psorijaze

3.2.1. Liposomi

Učinkovitost liposomskih pripravaka u liječenju kožnih bolesti, rana i osteoartritisu procijenjena je u nekoliko kliničkih istraživanja (Tablica 5.).

Kako bi se nadvladale nuspojave konvencionalnih retinoida i postigla lokalizacija lijeka u dubljim dijelovima kože, Salem i sur. (151) su pripravili i ispitali etosomski hidrogel s uklopljenim retinilpalmitatom u liječenju akni. Pretklinička istraživanja su pokazala da se uklapanjem retinilpalmitata u etosome poboljšava *ex vivo* permeabilnost kroz kožu štakora te je pripremljena formulacija bila dobro podnošljiva na koži štakora. Klinička učinkovitost je testirana na 20 ispitanika koji su imali blage do umjerene *acne vulgaris* na licu. Liječenje je trajalo 6 tjedana, a ispitanici su svaku večer nanosili na jednu stranu lica optimizirani etosomski hidrogel s retinilpalmitatom (0,05 %) te na drugu stranu lica komercijalnu kremu s tretinoinom (Acretin™ 0,05 %). Lice ispitanika je procijenjeno prije početka liječenja i nakon 2, 4 i 6 tjedana terapije. Primijenjeni pripravci imali su usporedivu učinkovitost u liječenju upalnih akni, dok je za neupalne komedonalne lezije etosomski hidrogel postigao bolje rezultate. Također, utvrđena je i odlična podnošljivost etosomskog hidrogela s izostalim ili minimalnim simptomima iritacije kože u usporedbi s komercijalnom kremom (151).

Eskandari i sur. (159) su ispitali sigurnost topikalnog liposomskog pripravka s amfotericinom B (0,4 %) (SinaAmpholeish®) namijenjenog liječenju kožne lišmanioze. Rezultati dvostruko slijepog, randomiziranog, kliničkog istraživanja (faza 1) su pokazali da primjena SinaAmpholeish®-a dva puta dnevno tijekom tjedan dana na zdravim dobrovoljcima ne dovodi do pojave nuspojava, za razliku od primjene 3 puta dnevno tijekom 2 tjedna. Na osnovu tih rezultata definiran je režim doziranja pripravka koji će se koristiti u fazi 2 kliničkih istraživanja (dva puta dnevno) (159). Međutim, trenutno još nisu objavljeni rezultati faze 2 kliničkih ispitivanja pripravka SinaAmpholeish®.

Klinička učinkovitost topikalnog liposomskog amfotericina B (0,4 %) je ispitana u pilot studiji Khamesipour i sur. (160). Studija je provedena na ispitanicima s kožnom lišmaniozom uzrokovanom *L. major* vrstom. Ispitanici su podijeljeni u 3 skupine, ovisno o načinu liječenja. Grupa 1 je liječena meglumin antimonatom (20 mg/kg/dan tijekom 14 dana) primijenjenim intramuskularno jednom dnevno i topikalnim amfotericinom B primjenjivanim dva puta dnevno tijekom 28 dana. Grupa 2 je liječena samo topikalnim amfotericinom B dva puta dnevno tijekom 28 dana, a grupa 3 je primala intralezijski meglumin antimonat i svaka dva tjedna krioterapiju (standardna terapija u Islamskoj Republici Iran). Do potpunog izlječenja je

došlo u 92 % (grupa 1), 95 % (grupa 2) i 48,5 % pacijenata (grupa 3). Samo 2 od 36 ispitanika su prijavila podnošljive nuspojave (peckanje), ali su nastavili s liječenjem. Rezultati provedenog istraživanja potvrdili su visoku učinkovitost i sigurnost topikalno primijenjenog liposomskog amfotericina B (160).

Budući da je oralna primjena diklofenaka povezana s nuspojavama, Bhatia i sur. (162) su pripravili topikalni liposomski gel s diklofenakom i klinički ispitali njegovu učinkovitost u liječenju osteoartrisa. U dvostruko slijepom, randomiziranom, kontroliranom kliničkom istraživanju je sudjelovalo 37 ispitanika s osteoartritisom koljena koji su bili podijeljeni u 3 grupe ovisno korištenom pripravku: pripravljeni diklofenak lipogel, komercijalni diklofenak pripravak (Voveran® Emulgel®) ili placebo lipogel. Koncentracija diklofenaka u pripravljenom i komercijalnom pripravku je bila jednaka, a liječenje je trajalo 6 tjedana. Istraživači su koristili tzv. WOMAC indeks (engl. *Western Ontario and McMaster Universities osteoarthritis index*), odnosno upitnik kako bi procijenili stanje ispitanika s osteoartritisom (bol, ukočenost i fizičko funkcioniranje zgloba). Ispitivani gelovi s diklofenakom su se pokazali boljim od placeba. Liposomski gel je bio značajno učinkovitiji od placeba po svim ispitivanim parametrima (bol, ukočenost i funkcija zgloba) dok je u usporedbi s komercijalnim pripravkom bio značajno učinkovitiji u poboljšanju ukočenosti i fizičke funkcije zgloba. Učinak ublažavanja boli je bio usporediv za liposomski i komercijalni gel. Nakon 6 tjedana liječenja, poboljšanje WOMAC indeksa je bilo veće za liposomski gel u odnosu na komercijalni gel. Svi pripravci su bili dobro podnošljivi te nisu prijavljene nikakve nuspojave (162).

3.2.2. Niosomi

Osim za terapiju akni i kožne lišmanioze, niosomi su klinički istraživani i za liječenje infantilnog hemangioma (Tablica 5.).

Lokalna primjena propranolol hidroklorida je prikladnija u liječenju infantilnog hemangioma budući da je oralna terapija povezana s brojnim sistemskim nuspojavama zbog neselektivne blokade beta adrenergičkih receptora. Abdel-Aziz i sur. (158) su pripravili više niosomskih formulacija s uklopljenim propranolol hidrokloridom koristeći različite vrste i koncentracije surfaktanata. Formulacija koja je postigla najsporije oslobađanje lijeka *in vitro* je uključena u kliničko istraživanje. Kliničko istraživanje je provedeno na 20 ispitanika starosti od 8 do 18 mjeseci, a ispitivana niosomska formulacija je primjenjivana topikalno, jednom dnevno

tijekom najviše 6 mjeseci. U 10 % ispitanika su potpuno nestale lezije. Do poboljšanja je došlo u čak 70 % ispitanika, a umjereno poboljšanje je zabilježeno u 20 % ispitanika. Ispitivana formulacija je bila dobro podnošljiva na koži uz samo jednu prijavu lokalne iritacije. Također, niti jedan ispitanik nije imao sistemske nuspojave. Nakon prestanka liječenja, nije došlo do recidiva ili povećanja veličine lezija (158).

3.2.3. Čvrste lipidne nanočestice

U kliničkim istraživanjima, čvrste lipidne nanočestice su ispitivane za topikalno liječenje različitih gljivičnih infekcija (Tablica 5.).

Tako su Mahmoud i sur. (157) pripravili i ispitali nekoliko SLN formulacija s uklopljenim oksikonazolnitratom. Pokazano je da koncentracija lipida i surfaktanta utječe na učinkovitost uklapanja lijeka i veličinu pripremljenih nanočestica. Optimizirana SLN formulacija je uklopljena u karbopolski gel, a pripremljeni SLN-gel je imao izraženi adhezivni učinak, omogućio je produljeno oslobađanje i permeabilnost lijeka kroz kožu štakora (*ex vivo*). Kliničko istraživanje je provedeno na 28 ispitanika podijeljenih u 2 grupe. Jedna grupa je liječena s pripremljenim SLN-gelom, a druga s komercijalnom kremom (Tinox®). Oba pripravka su sadržavala istu koncentraciju oksikonazolnitrata (1 %). Pripravci su primjenjivani dva puta dnevno tijekom 2 ili 4 tjedna, ovisno o vrsti *Tinea* infekcije. Grupa liječena s SLN-gelom je zabilježila veće kliničko poboljšanje, superiorne rezultate KOH testa te veće zadovoljstvo ispitanika uz značajno manje nuspojave u usporedbi sa skupinom liječenom komercijalnom kremom (157).

3.2.4. Nanostrukturirani lipidni nosači

Nanostrukturirani lipidni nosači su klinički istraživani za liječenje akni (Tablica 5.).

Istraživanje Samadi i sur. (153) je bilo usmjereno na pripravu NLC-a s uklopljenim tretinoinom čijom bi se primjenom povećala učinkovitost tretinoina u liječenju akni i smanjile nuspojave. U dvostruko slijepom i randomiziranom kliničkom istraživanju je sudjelovalo 16 ispitanika koji su imali blage do umjerene *acne vulgaris* na licu. Ispitanici su svaku drugu noć tijekom 8 tjedana na jednu stranu lica nanosili pripremljeni NLC emulgel s tretinoinom, a na drugu stranu lica konvencionalnu 0,05 % tretinoin kremu. Lice ispitanika je procijenjeno prije početka

liječenja te nakon 4 i 8 tjedana terapije. Stopa smanjenja lezija je bila značajno viša za NLC emulgel u usporedbi s konvencionalnom kremom. Do značajnog smanjenja veličine i intenziteta proizvodnje porfirina u pilosebacealnim folikulima je došlo samo na strani lica liječenoj NLC emulgelom, dok je postotak smanjenja površine (veličine) bio značajno veći za NLC emulgel u usporedbi s konvencionalnom kremom. Ti podaci su ukazali na poboljšanje stanja akni zbog smanjenja kolonizacije *P. acnes*. Obje formulacije su imale odgovarajuću podnošljivost, a stupanj hidratacije kože je bio malo veći na strani lica liječenoj NLC emulgelom zbog okluzivnih svojstava formulacije. Za primarnu procjenu sigurnosti nakon lokalne primjene NLC-a, mjerena je koncentracija tretinoina u plazmi. Nakon 8 tjedana terapije, koncentracija tretinoina je ostala nemjerljiva ili niža od toksičnih razina (153).

3.2.5. Mikroemulzije

U kliničkim istraživanjima za mikroemulzije se ispitala njihova učinkovitost u liječenju psorijaze (Tablica 5.).

Kako bi povećali bioraspoloživost slabo permeabilnog oleuropeina, polifenolnog spoja iz lista masline s protuupalnim i antioksidativnim svojstvima, El-Gogary i sur. (165) su pripravili mikroemulziju s oleuropeinom. Pripravljene su dvije mikroemulzije, a ona kojom je postignuto veće odlaganje oleuropeina u kožu štakora (*ex vivo*) je bila uključena u kliničko istraživanje. Kliničko istraživanje je provedeno na 20 ispitanika s plak psorijazom. Psorijatične lezije na jednoj strani tijela liječili su pripremljenom mikroemulzijom (0,2 % oleuropein), a na drugoj strani komercijalnom kortikosteroidnom kremom (Dermovate®, 0,05 % klobetazolpropionat). Nakon 8 tjedana terapije, rezultati su pokazali da je mikroemulzija s oleuropeinom bila učinkovitija u liječenju psorijaze od kortikosteroidne kreme. Dermoskopska procjena psorijatičnih lezija, biopsija kože te morfometrijsko mjerenje debljine epidermisa, prije i nakon liječenja, su pokazali izrazito poboljšanje kliničkih manifestacija psorijaze za oleuropein mikroemulziju, a postignuto je i bolje sniženje PASI rezultata (165).

3.2.6. Nanoemulzije

Osim za fotodinamsku terapiju (faza 3 kliničkih istraživanja), klinička učinkovitost nanoemulzija je ispitana i za terapiju akni i urtikarija (Tablica 5.).

Najafi-Taher i sur. su ispitivali učinkovitost i sigurnost nanoemulzijskog gela s uljem čajevca i adapalenom u liječenju akni (149). U prethodnom pretkliničkom istraživanju pripravljena nanoemulzija je pokazala značajno poboljšanje u dermalnoj dostavi adapalena, *in vitro* antibakterijsko djelovanje i dobru podnošljivost na koži štakora (168). U trostruko slijepo, randomizirano kliničko istraživanje je bilo uključeno 100 ispitanika koji su imali blage do umjerene *acne vulgaris* na licu. Ispitanici su bili podijeljeni u 2 skupine ovisno o korištenom pripravku (pripravljene nanoemulzijski gel ili komercijalni gel s adapalenom), a pripravke su nanosili na lice jednom dnevno navečer tijekom 12 tjedana. Koncentracija adapalena je bila ista u oba pripravka (0,1 %). Rezultati liječenja su procijenjeni nakon 4, 8 i 12 tjedana, a pokazali su da je primjena nanoemulzijskog gela rezultirala značajnim smanjenjem broja ukupnih, upalnih i neupalnih akni, u usporedbi s komercijalnim gelom. Također, srednji indeks težine akni (engl. *acne severity index*) je bio značajno smanjen u usporedbi s komercijalnim gelom. Tijekom liječenja nisu prijavljene ozbiljne nuspojave. Najčešće prijavljene nuspojave u obje skupine su bile iritacija i suhoća, a bile su uglavnom blage težine. Učestalost i ozbiljnost ovih nuspojava nisu se značajno razlikovale između tretiranih skupina osim iritacije koja je bila značajno veća na nanoemulzijski gel tijekom prvih tjedana, a koja se s vremenom smanjivala (149).

Kassem i sur. (166) su uklopili cetirizin u nanoemulziju kako bi nadvladali nuspojave povezane s njegovom oralnom primjenom te kako bi se poboljšala permeabilnost lijeka i učinkovitost u liječenju urtikarija. Pripravljeno je i ispitano nekoliko formulacija, a izabrana nanoemulzija je uklopljena u karbopolski i kitozanski gel da se postigne prikladna viskoznost za dermalnu primjenu. Koncentracija cetirizina u oba gela je bila ista i iznosila je 1 %. Kontrolni gelovi su pripravljene uklapanjem otopine lijeka u karbopolski i kitozanski gel. U *ex vivo* ispitivanju permeabilnosti na koži štakora pripravljene nanoemulzijski gelovi su pokazali bolju permeabilnost u usporedbi s kontrolnim gelovima. Klinička učinkovitost pripravljene gelova je ispitana u 40 ispitanika koji su bolovali od urtikarije, dermatoza uzrokovanih alergijama, atopijskog ekcema, svrbeža i crvenila. Ispitanici su bili podijeljeni u 4 grupe (nanoemulzijski gel 1, nanoemulzijski gel 2, kontrolni gel 1, kontrolni gel 2), a liječenje je trajalo 4 tjedna. Težina urtikarije je procijenjena pomoću vizualne-analogne skale koju su ispitanici svakodnevno ispunjavali i predavali na tjednoj bazi. Nanoemulzijski gelovi s cetirizinom su bili učinkovitiji od kontrolnih gelova u liječenju urtikarije budući da su rezultirali većim postotkom oporavka i rijetkim nuspojavama. Također, došlo je i do značajnog smanjenja stupnja urtika i svrbeža u odnosu na kontrolu (166).

3.3. Registrirani (trans)dermalni lipidni nanosustavi

Opsežna istraživanja lipidnih nanosustava su rezultirala s više registriranih lijekova za (trans)dermalnu primjenu. Primjeri takvih lijekova su prikazani u Tablici 6.

Tablica 6. Primjeri registriranih lijekova na bazi lipidnih nanosustava za (trans)dermalnu primjenu (13,169,170,171,172,173,174,175)

PRIMJENA	REGISTRIRANO IME	DJELATNA TVAR	NANOSUSTAV	PROIZVOĐAČ
Aktinička keratoza	Ameluz® gel	5-amino levulinatna kiselina	Nanoemulzija u gelu	Biofrontera Pharma GmbH, Njemačka
Analgetsko djelovanje	Diclac® Lipogel	Diklofenak	Liposomi u gelu	Sandoz, Njemačka
	Diractin®	Ketoprofen	Deformabilni liposomi u gelu	IDEA AG, Njemačka
	Flexogan®	Metilsalicilat	Nanoemulzija	AlphaRx, Kanada
	Oxalgin® Nano Gel	Diklofenak	Nanoemulzija u gelu	Zydus Cadila Healthcare, Indija
	Transfenac®	Diklofenak	Deformabilni liposomi	IDEA AG, Njemačka
Dermato-mikoze	Pevaryl® Lipogel	Ekonazol	Konvencionalni liposomi u gelu	Cilag, Švicarska/ Karo Healthcare Aktiebolag, Švedska*
Herpes infekcije	Supravir® krema	Aciklovir	Etosomi u kremi	Trima, Izrael/ Pharmacare PLC, Palestina*
Hormonska terapija	Estrasorb®	Estradiol	Nanoemulzija	Novavax, SAD/ Exeltis USA, Inc., SAD*
Kožna lišmanioza/ gljivične infekcije	Fungisome® Gel	Amfotericin B	Liposomi u gelu	Lifecare Innovations Pvt Ltd., Indija
	SinaAmpholeish®	Amfotericin B	Liposomi u gelu	ExirNanoSina Co., Iran

Lokalna anestezija	LMX4®	Lidokain	Liposomi u kremi	Ferndale Laboratories, Inc., SAD
	Maxilene 4™	Lidokain	Liposomi u kremi	RGR Pharma Ltd., Kanada
Osteoartritis	FlexiSeq®	Bez djelatne tvari	Deformabilni liposomi u gelu	Ascension Healthcare plc, Ujedinjeno Kraljevstvo
Pejronijeva bolest	Lipoxysan™	Rekombinantna humana Cu/Zn superoksid dismutaza	Liposomi u gelu	Polymun Scientific Immun-biologische Forschung GmbH, Austrija
Promocija rasta kose	Nanominox®	Minoksidil	Etosomi	Sinere, Njemačka
Psorijaza	Psorisome® Gel	Ditranol	Liposomi u gelu	Lifecare Innovations Pvt Ltd., Indija
Tromboflebitis	Lipohep®/ ViaTromb®	Heparin	Liposomi u spreju	Pharbil Waltrop GmbH, Njemačka
Zacjeljivanje rana	Repithel®	Povidon jodirani	Liposomi u gelu	Mundipharma GmbH, Njemačka

*trenutni podaci o proizvođaču

4. RASPRAVA

Učinkovita dermalna i transdermalna dostava lijekova od velikog je medicinskog značenja. Dermalna dostava podrazumijeva ograničenu (lokaliziranu) isporuku lijeka na/u kožu uz izbjegavanje sistemske apsorpcije, dok u transdermalnoj dostavi lijek primijenjen na kožu prolazi kroz sve slojeve kože i apsorbira se u sistemsku cirkulaciju. Transdermalna primjena predstavlja dobru alternativu oralnoj primjeni lijekova zbog bolje suradljivosti pacijenata, izbjegavanja prvog prolaska lijeka kroz jetru i ujednačene koncentracije lijeka u plazmi uslijed kontrolirane i konstantne permeacije lijeka kroz kožu (4,5,6).

Koža je zbog svoje veličine i lake dostupnosti pogodna za primjenu lijekova. Međutim, specifična struktura površinskog rožnatog sloja (model „cigleni zid“) predstavlja prirodnu zapreku prolaska većine lijekova u/kroz kožu. Na isporuku topikalno primijenjenog lijeka utječu fizičko stanje rožnatog sloja, svojstva formulacije, prisustvo promotora penetracije te veličina molekule lijeka i njezina lipofilnost (8).

Jedan od načina na koji se može poboljšati (trans)dermalna dostava lijekova je uklapanje lijekova u nanosustave. Na taj način se mijenjaju farmakokinetička svojstva lijeka te se regulira permeabilnost lijeka u/kroz kožu što u konačnici dovodi do poboljšanja učinkovitosti terapije, bilo lokaliziranjem učinka lijeka unutar kože ili omogućavanjem sistemske apsorpcije lijeka (11,12). Lipidni nanosustavi su od velikog značaja zbog biorazgradljivosti, biokompatibilnosti i fiziološke podnošljivosti (13). U ovom radu, obrađeni su različiti lipidni nanosustavi za (trans)dermalnu dostavu lijekova: liposomi, niosomi, čvrste lipidne nanočestice, nanostrukturirani lipidni nosači, mikroemulzije i nanoemulzije.

Liposomi su sastavom i strukturom najsličniji elementima rožnatog sloja kože zbog prisutnih fosfolipida i kolesterola, dok strukturna svojstva omogućuju uklapanje brojnih lijekova i aktivnih tvari različitih fizičko-kemijskih svojstava (15). Prikazana istraživanja pokazala su da se primjenom liposoma može značajno poboljšati (trans)dermalna dostava slabo permeabilnih hidrofilnih lijekova u kožu i lokalizirati učinak dobro permeabilnih lipofilnih lijekova u koži. Konvencionalni liposomi su prva generacija liposoma predstavljenih za dermalnu primjenu koji se zbog čvrstoće lipidnih membrana zadržavaju uglavnom u gornjim slojevima kože i time lokaliziraju učinak lijeka na/u površinskim slojevima epidermisa. Kako bi se poboljšala dostava lijekova u dublje dijelove kože, odnosno transdermalna dostava, istraživane su i razvijene novije generacije liposoma elastičnih membrana (dvoslojeva) poput deformabilnih liposoma, etosoma, propilenglikol liposoma i invasoma. Pritom već sami fosfolipidi (posebice

oni s nezasićenim masnim kiselinama), a pogotovo jednolančani surfaktanti, etanol, propilenglikol i terpeni, prisutni u deformabilnim liposomima, etosomima, propilenglikol liposomima ili invasomima, fluidiziraju intercelularni lipidni matriks i tako olakšavaju/potiču prolaz uklopljene djelatne tvari (lijeka) u/kroz kožu (5,17,18).

Niosomi su strukturno vrlo slični liposomima, no umjesto fosfolipida u dvosloju sadrže neionogene jednolančane surfaktante te kolesterol. Neionogeni surfaktanti pritom djeluju kao promotori penetracije, a odabirom neionogenog surfaktanta prikladne HLB vrijednosti može se modificirati permeabilnost, ali isto tako i utjecati na uspješnost uklapanja lijeka u niosome. Pristupačnija cijena sirovina i bolja fizička stabilnost niosoma predstavlja prednost u odnosu na liposome, no po pitanju fiziološke podnošljivosti, liposomi su u prednosti (32,37).

Nanosustave temeljene na emulgatorima, mikro- i nano-emulzije, karakterizira veličina dispergiranih čestica u nanometarskim dimenzijama i bolja podnošljivost u odnosu na klasične emulzije. Mikroemulzije su termodinamički stabilni sustavi koji, za razliku od nanoemulzija (termodinamički nestabilni sustav), sadrže izrazito visoku koncentraciju emulgatora (surfaktanata) te koemulgatore (kosurfaktante) koji dodatno stabiliziraju emulgatorski sloj na granici faza ulje-voda (46). Visoki udio emulgatora u mikroemulzijama može negativno utjecati na fiziološku podnošljivost pripravka (48). Istraživanja su pokazala da sastojci mikro- i nano-emulzija (emulgatori i koemulgatori, određena ulja) djeluju kao promotori penetracije, a visoki kapacitet uklapanja lijeka rezultira visokim koncentracijskim gradijentom kao pokretačem pasivne difuzije lijeka u kožu. Mikroemulzije su fizički izrazito stabilni sustavi, no ograničenog su kapaciteta u pogledu razrjeđivanja s vanjskom fazom u usporedbi s nanoemulzijama (47).

Čvrste lipidne nanočestice i nanostrukturirani lipidni nosači predstavljaju alternativu vezikularnim i emulzijskim nanosustavima. Osiguravaju okluzivni učinak na površini kože i na taj način pospješuju penetraciju lijeka kroz rožnati sloj kože. Čvrste lipidne nanočestice su građene od čvrstih lipida stabiliziranih slojem jednolančanog surfaktanta. Veliki udio lipida u sustavu (do 30 %) omogućuje jači okluzivni učinak na koži, dobro uklapanje lipofilnih lijekova te bolju zaštitu uklopljene djelatne tvari od razgradnje nego u vezikularnim sustavima (18,41). Međutim, tijekom uskladištenja pripravka moguće je istiskivanje (gubitak) lijeka iz uređenog lipidnog matriksa, što je rezultiralo razvojem nanostrukturiranih lipidnih nosača čiji je lipidni matriks mješavina čvrstih i tekućih lipida. Takav nesavršeni matriks omogućuje bolje uklapanje lijeka i veću fizičku stabilnost nanostrukturiranih lipidnih nosača tijekom uskladištenja (17).

Lipidni nanosustavi (liposomi, niosomi, čvrste lipidne nanočestice, nanostrukturirani lipidni nosači, mikroemulzije i nanoemulzije) su uvelike istraživani za liječenje brojnih kožnih stanja i oboljenja poput akni, atopijskog dermatitisa i psorijaze te u antimikrobnoj terapiji, fotodinamskoj terapiji prekanceroznih tvorbi, dermalnoj dostavi antitumorskih lijekova, imunosupresiva, liječenju kožne lišmanioze i zacjeljivanju rana. Osim toga, lipidni nanosustavi su ispitivani i za potencijalno liječenje sistemskih bolesti poput hipertenzije, hiperlipidemije, osteoporoze, primjenu cjepiva, liječenje gihta te u transdermalnoj dostavi hormona (inzulin) i nesteroidnih protuupalnih lijekova.

Zanimljivo je istaknuti da su svi lipidni nanosustavi tekuće konzistencije što može predstavljati nedostatak za njihovu primjenu na kožu (kratko zadržavanje formulacije na mjestu primjene). Stoga se nerijetko lipidnim nanosustavima viskoznost povećava uklapanjem u hidrogelove ili polučvrste emulzije (kreme) (13). Povećanje viskoznosti može dodatno produljiti oslobađanje uklopljenog lijeka. Međutim, za određene tipove lipidnih nanosustava takva modifikacija može rezultirati smanjenim učinkom nanosustava (8).

Fizičko-kemijska svojstva lipidnih nanosustava poput veličine (srednji promjer), indeksa polidisperznosti, naboja na površini, elastičnosti/čvrstoće nanočestica te sadržaj uklopljenog lijeka, od velikog su značaja jer određuju stabilnost nanosustava, oslobađanje lijeka iz vezikula, njegovo zadržavanje na koži ili penetraciju i permeaciju lijeka u/kroz kožu, čime određuju učinkovitost (trans)dermalne primjene lijeka i terapijski učinak. Stoga se u razvoju novih formulacija posebna pozornost posvećuje optimizaciji nanosustava. Primjerice, da bi se osiguralo nakupljanje lijeka (aktivne tvari) na površini kože prikladni su nanosustavi većeg promjera čestica. Nasuprot tome, dostavu lijeka u dublje slojeve epidermisa i dermisa omogućuju nanosustavi male veličine čestica (< 150 nm). Veličina čestica, ali i naboj na površini utječu na fizičku stabilnost lipidnih nanosustava. Osim utjecaja na stabilnost, naboj na površini čestica utječe i na interakciju sa stanicama kože, dostavu lijeka u kožu i time posredno određuje učinkovitost terapije (13).

Prikazana istraživanja u sklopu ovog rada svjedoče o učinkovitosti lipidnih nanosustava u (trans)dermalnoj dostavi lijekova. Najveći dio prikazanih rezultata odnosi se na preklinička ispitivanja (*in vitro*, *ex vivo* i *in vivo* na animalnim modelima), koja su ujedno i najbrojnija. U njima je naglasak stavljen na važnost optimizacije formulacije tijekom njezinog razvoja. Naime, fizičko-kemijska svojstva takvih formulacija u kombinaciji s fizičko-kemijskim svojstvima uklopljenog lijeka (aktivne tvari) omogućuju postizanje željenog profila

oslobađanja lijeka, utječu na permeabilnost lijeka u kožu, poboljšavaju lokalnu bioraspodjelivost, čime se može ostvariti bolji lokalni učinak, u usporedbi s konvencionalnim farmaceutskim oblicima. Transdermalnom primjenom sistemskih lijekova smanjene su fluktuacije lijeka u krvi, neželjene nuspojave i izbjegnuto metaboliziranje lijeka prvim prolaskom kroz jetru (13).

U odnosu na pretklinička istraživanja, kliničkih istraživanja je znatno manje. Klinička istraživanja (od kojih su neka u fazi 3) su potvrdila da se primjenom lipidnih nanosustava postiže veća učinkovitost i uspješnije liječenje mnogih bolesti u usporedbi s konvencionalnom terapijom. Bolja podnošljivost, smanjene nuspojave i jednostavna primjena ispitivanih formulacija na kožu su dovela do većeg zadovoljstva pacijenata.

Opsežna istraživanja rezultirala su s više registriranih dermalnih lijekova na bazi lipidnih nanosustava dostupnih na tržištu (Tablica 6.), a namijenjeni su liječenju gljivičnih i virusnih infekcija kože te kožne lišmanioze, postizanju anestetskog ili analgetskog učinka, terapiju psorijaze i aktiničke keratoze te transdermalnu dostavu nekih hormona i enzima. Pritom najveći udio u registriranim lijekovima čine liposomi.

5. ZAKLJUČAK

Uklapanjem lijekova u nanosustave poboljšavaju se njihova farmakokinetička svojstva i regulira permeabilnost u/kroz kožu. Primjenom biokompatibilnih i biorazgradljivih lipidnih terapijskih nanosustava koji povećavaju bioraspoloživost lijeka i omogućuju kontroliranu dostavu u oboljelo područje, smanjila bi se potreba za oralnom (sistemskom) primjenom lijekova te značajno unaprijedila postojeća terapija i kvaliteta života pacijenata. Brojna istraživanja su dokazala veliki potencijal lipidnih nanosustava u liječenju mnogih bolesti, veću učinkovitost i smanjene nuspojave u odnosu na konvencionalnu terapiju, a određeni broj dermalnih lijekova na bazi lipidnih nanosustava je i komercijalno dostupan.

6. LITERATURA

1. Ita K. Chapter 2 - Anatomy of the human skin. U: Ita K, ur. *Transdermal Drug Delivery*. London: Academic Press; 2020. str. 9-18.
2. Nafisi S, Maibach, HI. Chapter 3 - Skin penetration of nanoparticles. U: Shegokar R, Souto EB, ur. *Micro and Nano Technologies*. Amsterdam: Elsevier; 2018. str. 47-88.
3. Ng KW, Lau WM. *Skin Deep: The Basics of Human Skin Structure and Drug Penetration*. U: Dragicevic N, Maibach H, ur. *Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement: Drug Manipulation Strategies and Vehicle Effects*. Berlin, Heidelberg: Springer; 2015. str. 3-11.
4. Banović J, Bego M, Cuković N, Vanić Ž. Lipidne vezikule za (trans)dermalnu primjenu lijekova. *Farm glas*. 2011; 67: 229-244.
5. Nava-Arzaluz MG, Piñón-Segundo E, Ganem-Rondero A. Lipid nanocarriers as skin drug delivery systems. U: Grumezescu AM, ur. *Nanoparticles in Pharmacotherapy*. Amsterdam: William Andrew Publishing; 2019. str. 311-390.
6. Mishra DK, Pandey V, Maheshwari R, Ghode P, Tekade RK. Chapter 15 - Cutaneous and Transdermal Drug Delivery: Techniques and Delivery Systems. U: Tekade RK, ur. *Basic Fundamentals of Drug Delivery*. London: Academic Press; 2019. str. 595-650.
7. Williams AC. Topical and transdermal drug delivery. U: Taylor KMG, Aulton ME, ur. *Aulton's pharmaceuticals: the design and manufacture of medicines*. London: Elsevier; 2021. str. 713-734.
8. Vanić Ž. Phospholipid Vesicles for Enhanced Drug Delivery in Dermatology. *J Drug Discov Develop and Deliv*. 2015; 2(1): 1-9.
9. Ita K. Chapter 3 - Basic principles of transdermal drug delivery. U: Ita K, ur. *Transdermal Drug Delivery*. London: Academic Press; 2020. str. 19-36.
10. Ita K. Chapter 5 - Chemical permeation enhancers. U: Ita K, ur. *Transdermal Drug Delivery*. London: Academic Press; 2020. str. 63-96.
11. Alkilani AZ, McCrudden MT, Donnelly RF. Transdermal drug delivery: innovative pharmaceutical developments based on disruption of the barrier properties of the stratum corneum. *Pharmaceutics*. 2015; 7(4): 438-470.

12. Krishnan V, Mitragotri S. Nanoparticles for topical drug delivery: Potential for skin cancer treatment. *Adv Drug Deliv Rev.* 2020; 153: 87-108.
13. Vanić Ž, Holsæter AM, Škalko-Basnet N. (Phospho)lipid-based nanosystems for skin administration. *Curr Pharm Des.* 2015; 21: 4174-4192.
14. Liu P, Chen G, Zhang J. A Review of Liposomes as a Drug Delivery System: Current Status of Approved Products, Regulatory Environments, and Future Perspectives. *Molecules.* 2022; 27(4): 1372.
15. Vanić Ž. Liposomi kao nosači lijekova: strukturna svojstva i klasifikacija. *Farm glas.* 2012; 68: 391-400.
16. Carita AC, Eloy JO, Chorilli M, Lee RJ, Leonardi GR. Recent Advances and Perspectives in Liposomes for Cutaneous Drug Delivery. *Curr Med Chem.* 2018; 25(5): 606-635.
17. Jain S, Patel N, Shah MK, Khatri P, Vora N. Recent Advances in Lipid-Based Vesicles and Particulate Carriers for Topical and Transdermal Application. *J Pharm Sci.* 2017; 106(2): 423-445.
18. Sala M, Diab R, Elaissari A, Fessi H. Lipid nanocarriers as skin drug delivery systems: Properties, mechanisms of skin interactions and medical applications. *Int J Pharm.* 2018; 535(1-2): 1-17.
19. Souto EB, Macedo AS, Dias-Ferreira J, Cano A, Zielińska A, Matos CM. Elastic and Ultradeformable Liposomes for Transdermal Delivery of Active Pharmaceutical Ingredients (APIs). *Int J Mol Sci.* 2021; 22(18): 9743.
20. Touitou E, Dayan N, Bergelson L, Godin B, Eliaz M. Ethosomes - novel vesicular carriers for enhanced delivery: characterization and skin penetration properties. *J Control Release.* 2000; 65(3): 403-418.
21. Paiva-Santos AC, Silva AL, Guerra C i sur. Ethosomes as Nanocarriers for the Development of Skin Delivery Formulations. *Pharm Res.* 2021; 38: 947–970.
22. Nainwal N, Jawla S, Singh R, Saharan VA. Transdermal Applications of Ethosomes – A Detailed Review. *J Liposome Res.* 2019; 29(2): 103-113.
23. Limongi T, Susa F, Marini M i sur. Lipid-Based Nanovesicular Drug Delivery Systems. *Nanomaterials.* 2021; 11(12): 3391.
24. Gupta P, Jha AK, Prasad M, Kushwaha P. Soft Malleable Vesicles: versatile carriers for efficient topical delivery of fungal therapeutics. *Drug Res (Stuttg).* 2021; 71(2): 54-61.

25. Elsayed MM, Abdallah OY, Naggar VF, Khalafallah NM. PG-liposomes: novel lipid vesicles for skin delivery of drugs. *J Pharm Pharmacol.* 2007; 59: 1447-1450.
26. Jain S, Tripathi S, Tripathi PK. Invasomes: Potential vesicular systems for transdermal delivery of drug molecules. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2021; 61: 102166.
27. Babaie S, Bakhshayesh ARD, Ha JW, Hamishehkar HK. Invasome: A Novel Nanocarrier for Transdermal Drug Delivery. *Nanomaterials.* 2020; 10(2): 341.
28. Gaynanova G, Vasileva L, Kashapov R i sur. Self-Assembling Drug Formulations with Tunable Permeability and Biodegradability. *Molecules.* 2021; 26(22): 6786.
29. Dalal A, Kaushik D, Jain S. Invasomes: A Novel Deformable Vesicular Nanocarrier For Enhanced Transdermal Drug Delivery. *British Journal of Pharmaceutical and Medical Research.* 2022; 7(5): 4044-4059.
30. Sahin NO. Niosomes as Nanocarrier Systems. U: Mozafari MR, ur. *Nanomaterials and Nanosystems for Biomedical Applications.* Dordrecht: Springer; 2007. str. 67-81.
31. Cerqueira-Coutinho C, Dos Santos EP, Mansur CR. Niosomes as Nano-Delivery Systems in the Pharmaceutical Field. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 2016; 33(2): 195-212.
32. Rai AK, Alam G, Singh AP, Verma NK. Niosomes: An approach to current drug delivery- A Review. *International Journal of Advances in Pharmaceutics.* 2017; 06(02): 41-48.
33. Marianecchi C, Di Marzio L, Rinaldi F i sur. Niosomes from 80s to present: the state of the art. *Adv Colloid Interface Sci.* 2014; 205: 187-206.
34. Ge X, Wei M, He S, Yuan WE. Advances of Non-Ionic Surfactant Vesicles (Niosomes) and Their Application in Drug Delivery. *Pharmaceutics.* 2019; 11(2): 55.
35. Muzzalupo R, Tavano L. Niosomal drug delivery for transdermal targeting: recent advances. *Research and Reports in Transdermal Drug Delivery.* 2015; 4: 23-33.
36. Pottathil S, Nair A, Kumari B i sur. Recent Advances and Appropriate use of Niosomes for the Treatment of Skin Cancer. *Indian Journal of Pharmaceutical Education.* 2022; 56(4): 924-937.
37. Hamishehkar H, Rahimpour Y, Kouhsoltani M. Niosomes as a propitious carrier for topical drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv.* 2013; 10(2): 261-272.
38. Bhardwaj P, Tripathi P, Gupta R, Pandey S. Niosomes: A review on niosomal research in the last decade. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2020; 56: 101581.

39. Chen S, Hanning S, Falconer J, Locke M, Wen J. Recent advances in non-ionic surfactant vesicles (niosomes): Fabrication, characterization, pharmaceutical and cosmetic applications. *Eur J Pharm Biopharm.* 2019; 144: 18-39.
40. Shah MR, Imran M, Ullah S. Chapter 1 - Solid lipid nanoparticles. U: Shah MR, Imran M, Ullah S, ur. *Lipid-Based Nanocarriers for Drug Delivery and Diagnosis.* Oxford: William Andrew Publishing; 2017. str. 1-35.
41. Sguizzato M, Esposito E, Cortesi R. Lipid-based nanosystems as a tool to overcome skin barrier. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(15): 8319.
42. Patel D, Patel B, Thakkar H. Lipid based nanocarriers: promising drug delivery system for topical application. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2021; 123(5): 2000264.
43. Stefanov SR, Andonova VY. Lipid Nanoparticulate Drug Delivery Systems: Recent Advances in the Treatment of Skin Disorders. *Pharmaceuticals.* 2021; 14(11): 1083.
44. Abla MJ, Singh ND, Banga AK. Role of Nanotechnology in Skin Delivery of Drugs. U: Dragicevic N, Maibach H, ur. *Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement: Nanocarriers.* Berlin, Heidelberg: Springer; 2016. str. 1-13.
45. Shah MR, Imran M, Ullah S. Chapter 2 - Nanostructured lipid carriers. U: Shah MR, Imran M, Ullah S, ur. *Lipid-Based Nanocarriers for Drug Delivery and Diagnosis.* Oxford: William Andrew Publishing; 2017. str. 37-61.
46. Souto EB, Cano A, Martins-Gomes C, Coutinho TE, Zielińska A, Silva AM. Microemulsions and Nanoemulsions in Skin Drug Delivery. *Bioengineering.* 2022; 9(4): 158.
47. Nastiti C, Ponto T, Abd E, Grice J, Roberts M. Topical Nano and Microemulsions for Skin Delivery. *Pharmaceutics.* 2017; 9(4): 37.
48. Güngör S, Kahraman E. Nanocarriers Mediated Cutaneous Drug Delivery. *Eur J Pharm Sci.* 2021; 158: 105638.
49. Shaker DS, Ishak RAH, Ghoneim A, Elhuoni MA. Nanoemulsion: A Review on Mechanisms for the Transdermal Delivery of Hydrophobic and Hydrophilic Drugs. *Scientia Pharmaceutica.* 2019; 87(3): 17.
50. Jeong WY, Kwon M, Choi HE, Kim KS. Recent advances in transdermal drug delivery systems: a review. *Biomater Res.* 2021; 25: 1-5.

51. Shah MR, Imran M, Ullah S. Chapter 4 - Nanoemulsions. U: Shah MR, Imran M, Ullah S, ur. *Lipid-Based Nanocarriers for Drug Delivery and Diagnosis*. Oxford: William Andrew Publishing; 2017. str. 111-137.
52. Hemmingsen LM, Giordani B, Paulsen MH i sur. Tailored anti-biofilm activity - Liposomal delivery for mimic of small antimicrobial peptide. *Biomater Adv*. 2023; 145: 213238.
53. Rukavina Z, Šegvić Klarić M, Filipović-Grčić J, Lovrić J, Vanić Ž. Azithromycin-loaded liposomes for enhanced topical treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections. *Int J Pharm*. 2018; 553(1-2): 109-119.
54. Hemmingsen LM, Giordani B, Pettersen AK, Vitali B, Basnet P, Škalko-Basnet N. Liposomes-in-chitosan hydrogel boosts potential of chlorhexidine in biofilm eradication in vitro. *Carbohydr Polym*. 2021; 262: 117939.
55. Ternullo S, Gagnat E, Julin K i sur. Liposomes augment biological benefits of curcumin for multitargeted skin therapy. *Eur J Pharm Biopharm*. 2019; 144: 154-164.
56. El-Nabarawi MA, Shamma RN, Farouk K, Nasralla SM. Dapsone-Loaded Invasomes as a Potential Treatment of Acne: Preparation, Characterization, and In Vivo Skin Deposition Assay. *AAPS PharmSciTech*. 2018; 19(5): 2174-2184.
57. Ramezani V, Honarvar M, Seyedabadi M, Karimollah A, Ranjbar AM, Hashemi M. Formulation and optimization of transfersome containing minoxidil and caffeine. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2018; 44: 129-135.
58. Abdelbary GA, Khowessah OM, Bakr AHA, Abu-Elyazid SK. Potential treatment of arthritis with an optimized Mometasone Furoate loaded-ethosomal gel in carrageenan-induced rat joint arthritis. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2020; 57: 101771.
59. Kathuria H, Nguyen DTP, Handral HK, Cai J, Cao T, Kang L. Proposome for transdermal delivery of tofacitinib. *Int J Pharm*. 2020; 585: 119558.
60. Ramkanth S, Anitha P, Gayathri R, Mohan S, Babu D. Formulation and design optimization of nano-transferosomes using pioglitazone and eprosartan mesylate for concomitant therapy against diabetes and hypertension. *Eur J Pharm Sci*. 2021; 162: 105811.
61. Lopes SC, Silva RA, Novais MV i sur. Topical photodynamic therapy with chloroaluminum phthalocyanine liposomes is as effective as systemic pentavalent

- antimony in the treatment of experimental cutaneous leishmaniasis. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2019; 28: 210-215.
62. Fadel M, Kassab K, Abdel Fadeel DA, Farag MA. Topical photodynamic therapy of tumor bearing mice with meso-tetrakis (N-methyl-4-pyridyl) porphyrin loaded in ethosomes. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020; 30: 101789.
 63. El-Shenawy AA, Abdelhafez WA, Ismail A, Kassem AA. Formulation and Characterization of Nanosized Ethosomal Formulations of Antigout Model Drug (Febuxostat) Prepared by Cold Method: In Vitro/Ex Vivo and In Vivo Assessment. *AAPS PharmSciTech.* 2019; 21(1): 31.
 64. El-Feky GS, El-Naa MM, Mahmoud AA. Flexible nano-sized lipid vesicles for the transdermal delivery of colchicine; in vitro/in vivo investigation. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2019; 49: 24-34.
 65. Hosny KM, Alharbi WS, Almehmady AM i sur. Preparation and optimization of pravastatin-naringenin nanotransfersomes to enhance bioavailability and reduce hepatic side effects. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2020; 57: 101746.
 66. Ibrahim TM, Abdallah MH, El-Megrab NA, El-Nahas HM. Transdermal ethosomal gel nanocarriers; a promising strategy for enhancement of anti-hypertensive effect of carvedilol. *J Liposome Res.* 2019; 29(3): 215-228.
 67. Albash R, Abdelbary AA, Refai H, El-Nabarawi MA. Use of transethosomes for enhancing the transdermal delivery of olmesartan medoxomil: in vitro, ex vivo, and in vivo evaluation. *Int J Nanomedicine.* 2019; 14: 1953-1968.
 68. F AG, Sayed OM, Abo El-Ela FI, Kharshoum RM, Salem HF. Treatment of Basal Cell Carcinoma Via Binary Ethosomes of Vismodegib: In Vitro and In Vivo Studies. *AAPS PharmSciTech.* 2020; 21(2): 51.
 69. Dar MJ, Khalid S, McElroy CA, Satoskar AR, Khan GM. Topical treatment of cutaneous leishmaniasis with novel amphotericin B-miltefosine co-incorporated second generation ultra-deformable liposomes. *Int J Pharm.* 2020; 573: 118900.
 70. Salim MW, Shabbir K, ud-Din F, Yousaf AM, Choi HG, Khan GM. Preparation, in-vitro and in-vivo evaluation of Rifampicin and Vancomycin Co-loaded transfersomal gel for the treatment of cutaneous leishmaniasis. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2020; 60: 101996.

71. Sun M, Osipitan OO, Sulicz EK, Di Pasqua AJ. Preparation and Optimization of an Ultraflexible Liposomal Gel for Lidocaine Transdermal Delivery. *Materials (Basel)*. 2022; 15(14): 4895.
72. Kakami Y, Takeuchi I, Makino K. Percutaneous immunization with 40-nm antigen-encapsulated elastic liposomes. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*. 2019; 566: 128-133.
73. Barone A, Cristiano MC, Cilurzo F i sur. Ammonium glycyrrhizate skin delivery from ultradeformable liposomes: A novel use as an anti-inflammatory agent in topical drug delivery. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2020; 193: 111152.
74. Abd El-Alim SH, Kassem AA, Basha M, Salama A. Comparative study of liposomes, ethosomes and transfersomes as carriers for enhancing the transdermal delivery of diflunisal: In vitro and in vivo evaluation. *Int J Pharm*. 2019; 563: 293-303.
75. Madhavi N, Sudhakar B, Suresh Reddy KVN, Ratna JV. Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies of etodolac loaded vesicular gels on rats by transdermal delivery. *Daru*. 2018; 26(1): 43-56.
76. Pathan IB, Jaware BP, Shelke S, Ambekar W. Curcumin loaded ethosomes for transdermal application: Formulation, optimization, in-vitro and in-vivo study. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2018; 44: 49-57.
77. Tawfeek HM, Abdellatif AAH, Abdel-Aleem JA, Hassan YA, Fatha D. Transfersomal gel nanocarriers for enhancement the permeation of lornoxicam. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2020; 56: 101540.
78. Chandra A, Aggarwal G, Manchanda S, Narula A. Development of Topical Gel of Methotrexate Incorporated Ethosomes and Salicylic Acid for the Treatment of Psoriasis. *Pharm Nanotechnol*. 2019; 7(5): 362-374.
79. Wang W, Shu GF, Lu KJ i sur. Flexible liposomal gel dual-loaded with all-trans retinoic acid and betamethasone for enhanced therapeutic efficiency of psoriasis. *J Nanobiotechnol*. 2020; 18: 80.
80. Salem HF, Gamal A, Saeed H, Tulbah AS. The Impact of Improving Dermal Permeation on the Efficacy and Targeting of Liposome Nanoparticles as a Potential Treatment for Breast Cancer. *Pharmaceutics*. 2021; 13(10): 1633.

81. Salem HF, Gamal A, Saeed H, Kamal M, Tulbah AS. Enhancing the Bioavailability and Efficacy of Vismodegib for the Control of Skin Cancer: In Vitro and In Vivo Studies. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022; 15(2): 126.
82. El-Tokhy FS, Abdel-Mottaleb MMA, El-Ghany EA, Geneidi AS. Design of long acting invasomal nanovesicles for improved transdermal permeation and bioavailability of asenapine maleate for the chronic treatment of schizophrenia. *Int J Pharm*. 2021; 608: 121080.
83. El-Gizawy SA, Nouh A, Saber S, Kira AY. Deferoxamine-loaded transfersomes accelerates healing of pressure ulcers in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2020; 58: 101732.
84. Fu X, Shi Y, Wang H i sur. Ethosomal Gel for Improving Transdermal Delivery of Thymosin β -4. *Int J Nanomedicine*. 2019; 14: 9275-9284.
85. Habib BA, Abdeltawab NF, Salah Ad-Din I. D-optimal mixture design for optimization of topical dapsons niosomes: in vitro characterization and in vivo activity against *Cutibacterium acnes*. *Drug Deliv*. 2022; 29(1): 821-836.
86. Zhang W, Zhao X, Yu G, Suo M. Optimization of propofol loaded niosomal gel for transdermal delivery. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2021; 32(7): 858-873.
87. El-Ridy MS, Yehia SA, Elsayed I, Younis MM, Abdel-Rahman RF, El-Gamil MA. Metformin hydrochloride and wound healing: from nanoformulation to pharmacological evaluation. *J Liposome Res*. 2019; 29(4): 343-356.
88. Eltellawy YA, El-Kayal M, Abdel-Rahman RF, Salah S, Shaker DS. Optimization of transdermal atorvastatin calcium - Loaded proniosomes: Restoring lipid profile and alleviating hepatotoxicity in poloxamer 407-induced hyperlipidemia. *Int J Pharm*. 2021; 593: 120163.
89. Salem HF, Kharshoum RM, Abou-Taleb HA, Farouk HO, Zaki RM. Fabrication and Appraisal of Simvastatin via Tailored Niosomal Nanovesicles for Transdermal Delivery Enhancement: In Vitro and In Vivo Assessment. *Pharmaceutics*. 2021; 13(2): 138.
90. Mostafavi M, Sharifi I, Farajzadeh S i sur. Niosomal formulation of amphotericin B alone and in combination with glucantime: In vitro and in vivo leishmanicidal effects. *Biomed Pharmacother*. 2019; 116: 108942.
91. Mohamed MI, Abdelbary AA, Kandil SM, Mahmoud TM. Preparation and evaluation of optimized zolmitriptan niosomal emulgel. *Drug Dev Ind Pharm*. 2019; 45(7): 1157-1167.

92. Akbari J, Saeedi M, Morteza-Semnani K i sur. Innovative topical niosomal gel formulation containing diclofenac sodium (niofenac). *J Drug Target*. 2022; 30(1): 108-117.
93. Akbari J, Saeedi M, Enayatifard R i sur. Curcumin Niosomes (curcusomes) as an alternative to conventional vehicles: A potential for efficient dermal delivery. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2020; 60: 102035.
94. Shah H, Nair AB, Shah J, Bharadia P, Al-Dhubiab BE. Proniosomal gel for transdermal delivery of lornoxicam: optimization using factorial design and in vivo evaluation in rats. *Daru*. 2019; 27(1): 59-70.
95. Shah H, Nair AB, Shah J, Jacob S, Bharadia P, Haroun M. Proniosomal vesicles as an effective strategy to optimize naproxen transdermal delivery. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2021; 63: 102479.
96. Abu Hashim II, Abo El-Magd NF, El-Sheakh AR, Hamed MF, Abd El-Gawad AEH. Pivotal role of Acitretin nanovesicular gel for effective treatment of psoriasis: ex vivo-in vivo evaluation study. *Int J Nanomedicine*. 2018; 13: 1059-1079.
97. Pandey SS, Shah KM, Maulvi FA i sur. Topical delivery of cyclosporine loaded tailored niosomal nanocarriers for improved skin penetration and deposition in psoriasis: Optimization, ex vivo and animal studies. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2021; 63: 102441.
98. Aghajani A, Kazemi T, Enayatifard R, Amiri FT, Narenji M. Investigating the skin penetration and wound healing properties of niosomal pentoxifylline cream. *Eur J Pharm Sci*. 2020; 151: 105434.
99. Elmowafy M, Shalaby K, Ali HM i sur. Impact of nanostructured lipid carriers on dapsone delivery to the skin: in vitro and in vivo studies. *Int J Pharm*. 2019; 572: 118781.
100. Gupta S, Wairkar S, Bhatt LK. Isotretinoin and α -tocopherol acetate-loaded solid lipid nanoparticle topical gel for the treatment of acne. *J Microencapsul*. 2020; 37(8): 557-565.
101. Datt N, Poonuru RR, Yadav PK. Development and characterization of griseofulvin loaded nanostructured lipid carrier gel for treating dermatophytosis. *Food Hydrocoll Health*. 2022; 2: 100074.
102. Al-Maghrabi PM, Khafagy ES, Ghorab MM, Gad S. Influence of formulation variables on miconazole nitrate-loaded lipid based nanocarrier for topical delivery. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2020; 193: 111046.

103. Saini K, Modgill N, Singh KK, Kakkar V. Tetrahydrocurcumin Lipid Nanoparticle Based Gel Promotes Penetration into Deeper Skin Layers and Alleviates Atopic Dermatitis in 2,4-Dinitrochlorobenzene (DNCB) Mouse Model. *Nanomaterials (Basel)*. 2022; 12(4): 636.
104. Ahmed S, Mahmood S, Ansari MD, Gull A, Sharma N, Sultana Y. Nanostructured lipid carrier to overcome stratum corneum barrier for the delivery of agomelatine in rat brain; formula optimization, characterization and brain distribution study. *Int J Pharm*. 2021; 607: 121006.
105. El-Salamouni NS, Gowayed MA, Seiffen NL, Abdel-Moneim RA, Kamel MA, Labib GS. Valsartan solid lipid nanoparticles integrated hydrogel: A challenging repurposed use in the treatment of diabetic foot ulcer, in-vitro/in-vivo experimental study. *Int J Pharm*. 2021; 592: 120091.
106. Ali Z, Din FU, Zahid F i sur. Transdermal delivery of allopurinol-loaded nanostructured lipid carrier in the treatment of gout. *BMC Pharmacol Toxicol*. 2022; 23(1): 86.
107. Ansari H, Singh P. Formulation and in-vivo Evaluation of Novel Topical Gel of Lopinavir for Targeting HIV. *Curr HIV Res*. 2018; 16(4): 270-279.
108. Yue Y, Zhao D, Yin Q. Hyaluronic acid modified nanostructured lipid carriers for transdermal bupivacaine delivery: In vitro and in vivo anesthesia evaluation. *Biomed Pharmacother*. 2018; 98: 813-820.
109. Zhao X, Sun Y, Li Z. Topical anesthesia therapy using lidocaine-loaded nanostructured lipid carriers: tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate-modified transdermal delivery system. *Drug Des Devel Ther*. 2018; 12: 4231-4240.
110. Liu X, Zhao Q. Long-term anesthetic analgesic effects: Comparison of tetracaine loaded polymeric nanoparticles, solid lipid nanoparticles, and nanostructured lipid carriers in vitro and in vivo. *Biomed Pharmacother*. 2019; 117: 109057.
111. Mancini G, Gonçalves LMD, Marto J i sur. Increased Therapeutic Efficacy of SLN Containing Etofenamate and Ibuprofen in Topical Treatment of Inflammation. *Pharmaceutics*. 2021; 13(3): 328.
112. Bagde A, Kouagou E, Singh M. Formulation of Topical Flurbiprofen Solid Lipid Nanoparticle Gel Formulation Using Hot Melt Extrusion Technique. *AAPS PharmSciTech*. 2022; 23(7): 257.

113. Carvajal-Vidal P, Fábrega MJ, Espina M, Calpena AC, García ML. Development of Halobetasol-loaded nanostructured lipid carrier for dermal administration: Optimization, physicochemical and biopharmaceutical behavior, and therapeutic efficacy. *Nanomedicine*. 2019; 20: 102026.
114. Carvajal-Vidal P, González-Pizarro R, Araya C i sur. Nanostructured lipid carriers loaded with Halobetasol propionate for topical treatment of inflammation: Development, characterization, biopharmaceutical behavior and therapeutic efficacy of gel dosage forms. *Int J Pharm*. 2020; 585: 119480.
115. Gao S, Tian B, Han J i sur. Enhanced transdermal delivery of lornoxicam by nanostructured lipid carrier gels modified with polyarginine peptide for treatment of carrageenan-induced rat paw edema. *Int J Nanomedicine*. 2019; 14: 6135-6150.
116. El-Telbany DFA, El-Telbany RFA, Zakaria S, Ahmed KA, El-Feky YA. Formulation and assessment of hydroxyzine HCL solid lipid nanoparticles by dual emulsification technique for transdermal delivery. *Biomed Pharmacother*. 2021; 143: 112130.
117. Lin SW, Shyong YJ, Kuo PC, Tsai JC. Topical application of sebacoyl dinalbuphine ester-loaded nanostructured lipid carriers alleviate pruritus in scratching mouse model. *Int J Pharm*. 2021; 600: 120400.
118. Sathe P, Saka R, Kommineni N, Raza K, Khan W. Dithranol-loaded nanostructured lipid carrier-based gel ameliorate psoriasis in imiquimod-induced mice psoriatic plaque model. *Drug Dev Ind Pharm*. 2019; 45(5): 826-838.
119. Pradhan M, Yadav K, Singh D, Singh MR. Topical delivery of fluocinolone acetonide integrated NLCs and salicylic acid enriched gel: A potential and synergistic approach in the management of psoriasis. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2021; 61: 102282.
120. Pradhan M, Alexander A, Singh MR i sur. Statistically optimized calcipotriol fused nanostructured lipid carriers for effectual topical treatment of psoriasis. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2021; 61: 102168.
121. Ghate VM, Kodoth AK, Shah A, Vishalakshi B, Lewis SA. Colloidal nanostructured lipid carriers of pentoxifylline produced by microwave irradiation ameliorates imiquimod-induced psoriasis in mice. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2019; 181: 389-399.
122. Viegas JSR, Praça FG, Caron AL i sur. Nanostructured lipid carrier co-delivering tacrolimus and TNF- α siRNA as an innovate approach to psoriasis. *Drug Deliv Transl Res*. 2020; 10(3): 646-660.

123. Sharma A, Upadhyay DK, Sarma GS i sur. Squalene integrated NLC based gel of tamoxifen citrate for efficient treatment of psoriasis: A preclinical investigation. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2020; 56: 101568.
124. Bhattacharya S, Sharma S. Dacarbazine-encapsulated solid lipid nanoparticles for skin cancer: physical characterization, stability, in-vivo activity, histopathology, and immunohistochemistry. *Front Oncol.* 2023; 13: 1102269.
125. de Moura LD, Ribeiro LNM, de Carvalho FV i sur. Docetaxel and Lidocaine Co-Loaded (NLC-in-Hydrogel) Hybrid System Designed for the Treatment of Melanoma. *Pharmaceutics.* 2021; 13(10): 1552.
126. Iqbal B, Ali J, Ganguli M, Mishra S, Baboota S. Silymarin-loaded nanostructured lipid carrier gel for the treatment of skin cancer. *Nanomedicine (Lond).* 2019; 14(9): 1077-1093.
127. Nirbhavane P, Sharma G, Singh B i sur. Preclinical Explorative Assessment of Celecoxib-Based Biocompatible Lipidic Nanocarriers for the Management of CFA-Induced Rheumatoid Arthritis in Wistar Rats. *AAPS PharmSciTech.* 2018; 19(7): 3187-3198.
128. Ciríaco SL, Carvalho IPS, Neto JAT i sur. Development of microemulsion of tamsulosin and dutasteride for benign prostatic hyperplasia therapy. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2020; 185: 110573.
129. Shinde UA, Modani SH, Singh KH. Design and Development of Repaglinide Microemulsion Gel for Transdermal Delivery. *AAPS PharmSciTech.* 2018; 19(1): 315-325.
130. Alkrad JA, AlKhatib HS, Musa RJ. Formulation, in vitro and in vivo evaluation of ferrous sulfate loaded microemulsions. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2019; 53: 101149.
131. Razzaq FA, Asif M, Asghar S i sur. Glimepiride-Loaded Nanoemulgel; Development, In Vitro Characterization, Ex Vivo Permeation and In Vivo Antidiabetic Evaluation. *Cells.* 2021; 10(9): 2404.
132. Saab M, Raafat K, El-Maradny H. Transdermal Delivery of Capsaicin Nanoemulgel: Optimization, Skin Permeation and In Vivo Activity against Diabetic Neuropathy. *Adv Pharm Bull.* 2022; 12(4): 780-790.
133. Zanela da Silva Marques T, Santos-Oliveira R, Betzler de Oliveira de Siqueira L i sur. Development and characterization of a nanoemulsion containing propranolol for topical delivery. *Int J Nanomedicine.* 2018; 13: 2827-2837.

134. Zhang X, Dang M, Zhang W, Lei Y, Zhou W. Sustained delivery of prilocaine and lidocaine using depot microemulsion system: in vitro, ex vivo and in vivo animal studies. *Drug Dev Ind Pharm.* 2020; 46(2): 264-271.
135. Boche M, Pokharkar V. Positive effect of alendronate on bone turnover in ovariectomised rats' osteoporosis: comparison of transdermal lipid-based delivery with conventional oral administration. *Drug Deliv Transl Res.* 2018; 8(5): 1078-1089.
136. Kaur R, Ajitha M. Transdermal delivery of fluvastatin loaded nanoemulsion gel: Preparation, characterization and in vivo anti-osteoporosis activity. *Eur J Pharm Sci.* 2019; 136: 104956.
137. Kaur R, Ajitha M. Formulation of transdermal nanoemulsion gel drug delivery system of lovastatin and its in vivo characterization in glucocorticoid induced osteoporosis rat model. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2019; 52: 968-978.
138. Patel P, Pol A, Kalaria D, Date AA, Kalia Y, Patraval V. Microemulsion-based gel for the transdermal delivery of rasagiline mesylate: In vitro and in vivo assessment for Parkinson's therapy. *Eur J Pharm Biopharm.* 2021; 165: 66-74.
139. Sarango-Granda P, Silva-Abreu M, Calpena A i sur. Apremilast Microemulsion as Topical Therapy for Local Inflammation: Design, Characterization and Efficacy Evaluation. *Pharmaceuticals.* 2020; 13: 484.
140. Farghaly DA, Aboelwafa AA, Hamza MY, Mohamed MI. Microemulsion for topical delivery of fenoprofen calcium: in vitro and in vivo evaluation. *J Liposome Res.* 2018; 28(2): 126-136.
141. Musa SH, Razali FN, Shamsudin N, Salim N, Basri M. Novel topical nano-colloidal carrier loaded with cyclosporine: Biological evaluation potentially for psoriasis treatment. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2021; 63: 102440.
142. Mittal S, Ali J, Baboota S. Enhanced anti-psoriatic activity of tacrolimus loaded nanoemulsion gel via omega 3 - Fatty acid (EPA and DHA) rich oils-fish oil and linseed oil. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2021; 63: 102458.
143. Guermech I, Lassoued MA, Abdelhamid A, Sfar S. Development and Assessment of Lipidic Nanoemulsions Containing Sodium Hyaluronate and Indomethacin. *AAPS PharmSciTech.* 2019; 20(8): 330.
144. Shewaiter MA, Hammady TM, El-Gindy A, Hammadi SH, Gad S. Formulation and characterization of leflunomide/diclofenac sodium microemulsion base-gel for the

- transdermal treatment of inflammatory joint diseases. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2021; 61: 102110.
145. Hussain A, Altamimi MA, Alshehri S, Imam SS, Shakeel F, Singh SK. Novel Approach for Transdermal Delivery of Rifampicin to Induce Synergistic Antimycobacterial Effects Against Cutaneous and Systemic Tuberculosis Using a Cationic Nanoemulsion Gel. *Int J Nanomedicine.* 2020; 15: 1073-1094.
146. Chakraborty T, Gupta S, Nair A, Chauhan S, Saini V. Wound healing potential of insulin-loaded nanoemulsion with Aloe vera gel in diabetic rats. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2021; 64: 102601.
147. Okur ME, Ayla Ş, Yozgatlı V i sur. Evaluation of burn wound healing activity of novel fusidic acid loaded microemulsion based gel in male Wistar albino rats. *Saudi Pharm J.* 2020; 28(3): 338-348.
148. Alyoussef A, El-Gogary RI, Ahmed RF, Farid OAHA, Bakeer RM, Nasr M. The beneficial activity of curcumin and resveratrol loaded in nanoemulgel for healing of burn-induced wounds. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2021; 62: 102360.
149. Najafi-Taher R, Kohneloo AJ, Farsani VE i sur. A topical gel of tea tree oil nanoemulsion containing adapalene versus adapalene marketed gel in patients with acne vulgaris: a randomized clinical trial. *Arch Dermatol Res.* 2022; 314(7): 673-679.
150. Mohammadi S, Pardakhty A, Khalili M i sur. Niosomal Benzoyl Peroxide and Clindamycin Lotion Versus Niosomal Clindamycin Lotion in Treatment of Acne Vulgaris: A Randomized Clinical Trial. *Adv Pharm Bull.* 2019; 9(4): 578-583.
151. Salem HF, Kharshoum RM, Awad SM, Mostafa MA, Abou-Taleb HA. Tailoring of Retinyl Palmitate-Based Ethosomal Hydrogel as a Novel Nanoplatfor for Acne Vulgaris Management: Fabrication, Optimization, and Clinical Evaluation Employing a Split-Face Comparative Study. *Int J Nanomedicine.* 2021; 16: 4251-4276.
152. Sabouri M, Samadi A, Nasrollahi SA i sur. Tretinoin Loaded Nanoemulsion for Acne Vulgaris: Fabrication, Physicochemical and Clinical Efficacy Assessments. *Skin Pharmacol Physiol.* 2018; 31(6): 316-323.
153. Samadi A, Sartipi Z, Nasrollahi SA i sur. Efficacy assessments of tretinoin-loaded nano lipid carriers in acne vulgaris: a double blind, split-face randomized clinical study. *Arch Dermatol Res.* 2022; 314(6): 553-561.

154. Dirschka T, Ekanayake-Bohlig S, Dominicus R i sur. A randomized, intraindividual, non-inferiority, Phase III study comparing daylight photodynamic therapy with BF-200 ALA gel and MAL cream for the treatment of actinic keratosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019; 33(2): 288-297.
155. Morton CA, Dominicus R, Radny P i sur. A randomized, multinational, noninferiority, phase III trial to evaluate the safety and efficacy of BF-200 aminolaevulinic acid gel vs. methyl aminolaevulinate cream in the treatment of nonaggressive basal cell carcinoma with photodynamic therapy. *Br J Dermatol*. 2018; 179(2): 309-319.
156. El-Housiny S, Shams Eldeen MA, El-Attar YA i sur. Fluconazole-loaded solid lipid nanoparticles topical gel for treatment of pityriasis versicolor: formulation and clinical study. *Drug Deliv*. 2018; 25(1): 78-90.
157. Mahmoud RA, Hussein AK, Nasef GA, Mansour HF. Oxiconazole nitrate solid lipid nanoparticles: formulation, in-vitro characterization and clinical assessment of an analogous loaded carbopol gel. *Drug Dev Ind Pharm*. 2020; 46(5): 706-716.
158. Abdel-Aziz RTA, Aly UF, Mady FM. Enhanced skin delivery of propranolol HCl using nonionic surfactant-based vesicles for topical treatment of infantile hemangioma. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2021; 61: 102235.
159. Eskandari SE, Firooz A, Nassiri-Kashani M i sur. Safety Evaluation of Topical Application of Nano-Liposomal Form of Amphotericin B (SinaAmpholeish) on Healthy Volunteers: Phase I Clinical Trial. *Iran J Parasitol*. 2019; 14(2): 197-203.
160. Khamesipour A, Mohammadi A, Jaafari M i sur. Pilot study of safety and efficacy of topical liposomal amphotericin B for cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* in Islamic Republic of Iran. *East Mediterr Health J*. 2022; 28(9): 658-663.
161. Farajzadeh S, Ahmadi R, Mohammadi S, Pardakhty A, Khalili M, Aflatoonian M. Evaluation of the efficacy of intralesional Glucantime plus niosomal zinc sulphate in comparison with intralesional Glucantime plus cryotherapy in the treatment of acute cutaneous leishmaniasis, a randomized clinical trial. *J Parasit Dis*. 2018; 42(4): 616-620.
162. Bhatia A, Goni V, Chopra S, Singh B, Katare OP. Evaluation of efficacy and safety of a novel lipogel containing diclofenac: A randomized, placebo controlled, double-blind clinical trial in patients with signs and symptoms of osteoarthritis. *Contemp Clin Trials Commun*. 2020; 20: 100664.

163. Fathalla D, Youssef EMK, Soliman GM. Liposomal and Ethosomal Gels for the Topical Delivery of Anthralin: Preparation, Comparative Evaluation and Clinical Assessment in Psoriatic Patients. *Pharmaceutics*. 2020; 12(5): 446.
164. Ramez SA, Soliman MM, Fadel M i sur. Novel methotrexate soft nanocarrier/fractional erbium YAG laser combination for clinical treatment of plaque psoriasis. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2018; 46: 996-1002.
165. El-Gogary RI, Ragai MH, Moftah N, Nasr M. Oleuropein as a novel topical antipsoriatic nutraceutical: formulation in microemulsion nanocarrier and exploratory clinical appraisal. *Expert Opin Drug Deliv*. 2021; 18(10): 1523-1532.
166. Kassem MA, Ghalwash MM, Abdou EM. Development of nanoemulsion gel drug delivery systems of cetirizine; factorial optimisation of composition, in vitro evaluation and clinical study. *J Microencapsul*. 2020; 37(6): 413-430.
167. Dawoud MHS, Yassin GE, Ghorab DM, Morsi NM. Insulin Mucoadhesive Liposomal Gel for Wound Healing: a Formulation with Sustained Release and Extended Stability Using Quality by Design Approach. *AAPS PharmSciTech*. 2019; 20(4): 158.
168. Najafi-Taher R, Ghaemi B, Amani A. Delivery of adapalene using a novel topical gel based on tea tree oil nano-emulsion: Permeation, antibacterial and safety assessments. *Eur J Pharm Sci*. 2018; 120: 142-151.
169. Franzè S, Musazzi UM, Cilurzo F. Chapter three - Lipid vesicles for (trans)dermal administration. U: Pippa N, Demetzos C, ur. *Nanomaterials for Clinical Applications*. Amsterdam: Elsevier; 2020. str. 71-98.
170. Biofrontera: Ameluz® gel, Sažetak opisa svojstava lijeka. 2022; Dostupno na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/ameluz-epar-product-information_hr.pdf. Pristupljeno: 21. lipnja 2023.
171. Karo Healthcare Aktiebolag: Pevaryl®. Dostupno na: <https://www.karohealthcare.com/brands/>. Pristupljeno: 21. lipnja 2023.
172. Pharmacare PLC: Supravir® krema, *Patient package insert*. Dostupno na: <http://www.pharmacare-ltd.net/main/uploads/067d8016b5ad5ed2a14dbf799dcd66e9.pdf>. Pristupljeno: 21. lipnja 2023.

173. Exeltis USA: Estrasorb®, *Prescribing Information*. 2017; Dostupno na: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2017/021371s008lbl.pdf.
Pristupljeno: 21. lipnja 2023.
174. Lifecare Innovations: Fungisome® gel. Dostupno na: <https://www.lifecareinnovations.com/fungisome-gel.php>. Pristupljeno: 21. lipnja 2023.
175. ExirNanoSina: SinaAmpholeish® Dostupno na: <https://ens.co.ir/blog/products-en/sinaampholish-en>. Pristupljeno: 21. lipnja 2023.

7. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

7e-SMAMP – mali sintetski mimetik antimikrobnog peptida (engl. *synthetic mimics of antimicrobial peptide*)

A – izotretinoin

ACT – acitretin

AG – agomelatin

ALA – 5-aminolevulinatna kiselina

ALO – alopurinol

ALP – alkalna fosfataza

ALT – alanin-aminotransferaza

AST – aspartat-aminotransferaza

ATC – atorvastatinkalcij

AUC – površina ispod krivulje (engl. *area under the curve*)

BHP – benigna hiperplazija prostate

C_{max} – maksimalna koncentracija lijeka u plazmi

CXB – celekoksib

DPPH metoda – 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil metoda

E – α-tokoferol acetat

EM – eprosartanmesilat

F – fluocinolon acetonid

GRAS – općenito priznato kao sigurno (engl. *generally recognized as safe*)

HDL – lipoproteini visoke gustoće (engl. *high density lipoproteins*)

HHCl – hidroksizin hidroklorid

HIV – virus humane imunodeficijencije

HLB – hidrofilno-lipofilna ravnoteža (engl. *hydrophilic-lipophilic balance*)

HP – halobetazolpropionat

HPMC – hidroksipropilmetilceluloza

IFN-γ – interferon gama

IL – interleukin

LDL – lipoproteini niske gustoće (engl. *low density lipoproteins*)

LID – lidokain

MAL – metil-aminolevulinat

MF – mometazonfuroat

MIK – minimalna inhibitorna koncentracija
MN – mikonazolnitrat
MRSA – metilicin-rezistentni *Staphylococcus aureus*
MTX – metotreksat
NLC – nanostrukturirani lipidni nosači (engl. *nanostructured lipid carriers*)
OLM – olmesartanmedoksomil
PASI – indeks zahvaćenosti kože psorijazom i težine psorijaze (engl. *psoriasis area and severity index*)
PG liposomi – propilenglikol liposomi
PIO – pioglitazon
PLA NP – poli(L-laktid) nanočestice (engl. *poly(L-lactide) nanoparticles*)
PTX – pentoksifilin
SA – salicilna kiselina
siRNA – mala interferirajuća ribonukleinska kiselina (engl. *small interfering ribonucleic acid*)
SLN – čvrste lipidne nanočestice (engl. *solid lipid nanoparticles*)
TAC – takrolimus
TGF-β1 – transformirajući faktor rasta beta 1 (engl. *transforming growth factor beta 1*)
THC – tetrahidrokurkumin
TMPyP – mezo-tetrakis(N-metil-4-piridil)porfirin
TNF-α – faktor nekroze tumora alfa (engl. *tumor necrosis factor alpha*)
TPGS – tokoferil polietilenglikol 1000 sukcinat (engl. *tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate*)
Tβ-4 – timozin-β4
U – ulje
V – voda
VLDL – lipoproteini vrlo niske gustoće (engl. *very low density lipoproteins*)
WOMAC indeks – Zapadni Ontario i McMaster Sveučilišta indeks osteoartritisa (engl. *Western Ontario and McMaster Universities osteoarthritis index*)