

**Luka Vitić**

**Utjecaj procesnih parametara na veličinu  
nanostrukturiranih lipidnih nosača**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

**Zagreb, 2017.**

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Kozmetologija Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za farmaceutsku tehnologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta pod stručnim vodstvom doc.dr.sc. Ivana Pepića.

Zahvala:

Zahvaljujem se svom mentoru doc. dr. sc. Ivanu Pepiću koji mi je svojim znanstvenim i stručnim savjetima pomogao u izradi ovog diplomskog rada.

Posebnu zahvalnost iskazujem svojoj obitelji i prijateljima na razumijevanju i potpori tijekom cijelog studiranja.

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. LIPIDNE NANOČESTICE ZA DERMALNU PRIMJENU .....	1
1.1.1. Čvrste lipidne nanočestice (SLN) .....	1
1.1.2. Nanostrukturirani lipidni nosači (NLC) .....	3
1.3. METODE IZRADE LIPIDNIH NANOČESTICA .....	5
1.4. METODE KARAKTERIZACIJE LIPIDNIH NANOČESTICA .....	6
1.5. PODLOGE ZA UKLAPANJE LIPIDNIH NANOČESTICA I PRIPRAVCI .....	7
1.6. UKLOPLENE AKTIVNE TVARI - KOZMECEUTICI I DJELATNE TVARI .....	8
2. OBRAZLOŽENJE TEME .....	11
3. MATERIJALI I METODE .....	12
3.1. MATERIJALI .....	12
3.2. METODE .....	12
3.2.1. KOMPOZICIJA NANOSTRUKTURIRANIH LIPIDNIH DISPERZIJA .....	12
3.2.2. PRIPRAVA NANOSTRUKTURIRANIH LIPIDNIH DISPERZIJA .....	12
3.2.3. ODREĐIVANJE VELIČINE I RASPODJELE VELIČINA NANOSTRUKTURIRANIH LIPIDNIH NOSAČA .....	13
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	16
5. ZAKLJUČCI .....	19
6. LITERATURA .....	20
7. SAŽETAK/SUMMARY .....	23
Temeljna dokumentacijska kartica/Basic documentation card	

## 1. UVOD

### 1.1. LIPIDNE NANOČESTICE ZA DERMALNU PRIMJENU

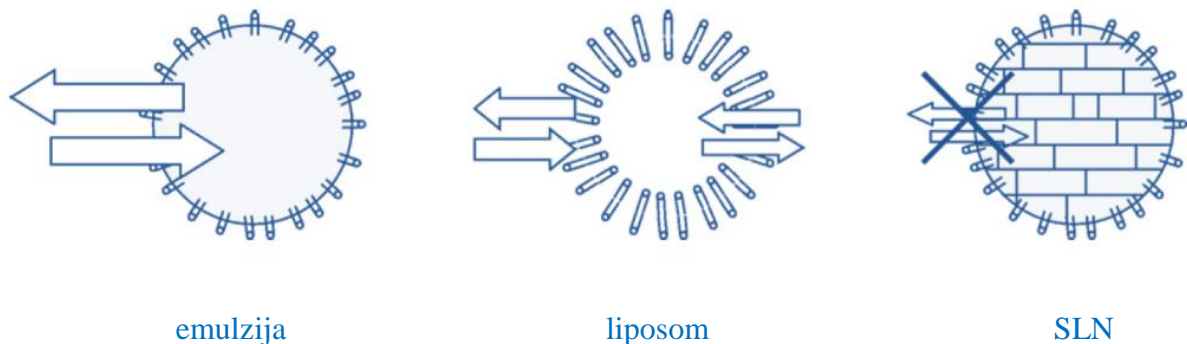
#### 1.1.1. Čvrste lipidne nanočestice (SLN)

Čvrste lipidne nanočestice (*solid lipid nanoparticles*; SLN) predstavljaju nove nosače koji su razvijeni s ciljem poboljšanja svojstava nanoemulzija ili liposoma. SLN predstavljaju prvu generaciju lipidnih nanočestica. Dobivaju se na način da se uljna faza iz U/V emulzije zamjeni s lipidima koji su u čvrstom agregatnom stanju pri sobnoj temperaturi i pri temperaturi tijela. Tako nastaje disperzija čvrstih lipida u vodi (0,1-30%, *m/m*) koja može biti stabilizirana površinski aktivnim tvarima (PAT) (0,5-5%, *m/m*) (tablica 1), a veličina takvih čestica je od 40 do 1000 nm (Lucks i Müller, 1991).

**Tablica 1.** Glavne sirovine koje se koriste za izradu čvrstih lipidnih nanočestica (preuzeto i prilagođeno iz Mehnert i Mäder, 2012).

SKUPINA	SIROVINE
Čisti trigliceridi	gliceril-tridekanoat, gliceril-trilaurat, gliceril-tripalmitat, gliceril-tristearat, hidrogenirani kokogliceridi (Softisan® 142)
Sintetski lipidi	Witepsol® W 35, Witepsol® H 35, Witepsol® H 42, Witepsol®E 85
Parcijalni trigliceridi	gliceril-behenat (Compritol® 888 ATO), gliceril-palmitostearat (Precirol® ATO 5)
Alifatski alkoholi	cetilni alkohol
Masne kiseline	stearinska kiselina, palmitnska kiselina, dekanatna kiselina, behenatna kiselina
Voskovi	pčelinji vosak, cetilni palmitat
Steroli	kolesterol
Emulgatori/koemulgatori	lecitini iz soje (Lipoid® S 75, Lipoid® S 100), lecitini iz jaja (Lipoid® E 80), fosfatidilkolin (Epikuron® 170, Epikuron 200), Pluronic (F68, L62, F127), poloksamini (908), tiloksapol, Tween (20, 60, 80), Na-kolat, Na-glikokolat, Na-taurokolat, Na-taurodeoksikolat, dioktil-Na-sulfosukcinat, trimetilamonijev bromid, Brij (30, 76, 98), PEG, PVA

Lipidne se nanočestice istražuju za parenteralnu, peroralnu, oftalmičku i pulmonalnu primjenu, ali zbog svojih svojstava sve veću važnost pronalaze u dermalnoj primjeni u farmaceutskim i kozmetičkim proizvodima. U ovom diplomskom radu se pojam "aktivna tvar" odnosi na djelatne tvari uklopljene u farmaceutske dermalne proizvode i/ili različite biološki aktivne tvari uklopljene u kozmetičke proizvode. Prednost lipidnih nosača u odnosu na klasične lipidne disperzije je njihova biokompatibilnost, manja citotoksičnost, mogućnost kontroliranog oslobađanja djelatne tvari te dobra stabilnost. Dobra biokompatibilnost i smanjena citotoksičnost rezultat su građe lipidnih nanočestica pretežno od fizioloških i biorazgradivih lipida. Aktivna tvar uklopljena u SLN podliježe smanjenoj izmjeni s vodenim (disperzijskim) sredstvom, a time i manjoj razgradnji pa je i rok valjanosti takvog pripravka dulji u odnosu na emulzije ili disperzije liposoma. Uljne kapljice disperzne faze U/V emulzije su u tekućem stanju pa je raspodjela aktivne tvari između ulja i vode brza. U vodi dolazi do razgradnje aktivne tvari, a time i do nove raspodjele aktivne tvari pa je takvom pripravku smanjen rok valjanosti. Situacija je slična i s liposomima gdje dolazi do izmjene aktivne tvari između lipidnog dvosloja/jezgre liposoma i vodene faze disperzije. S druge strane SLN je u čvrstom stanju te je razgradnja u vodenoj fazi ograničena na najmanju moguću mjeru (slika 1).



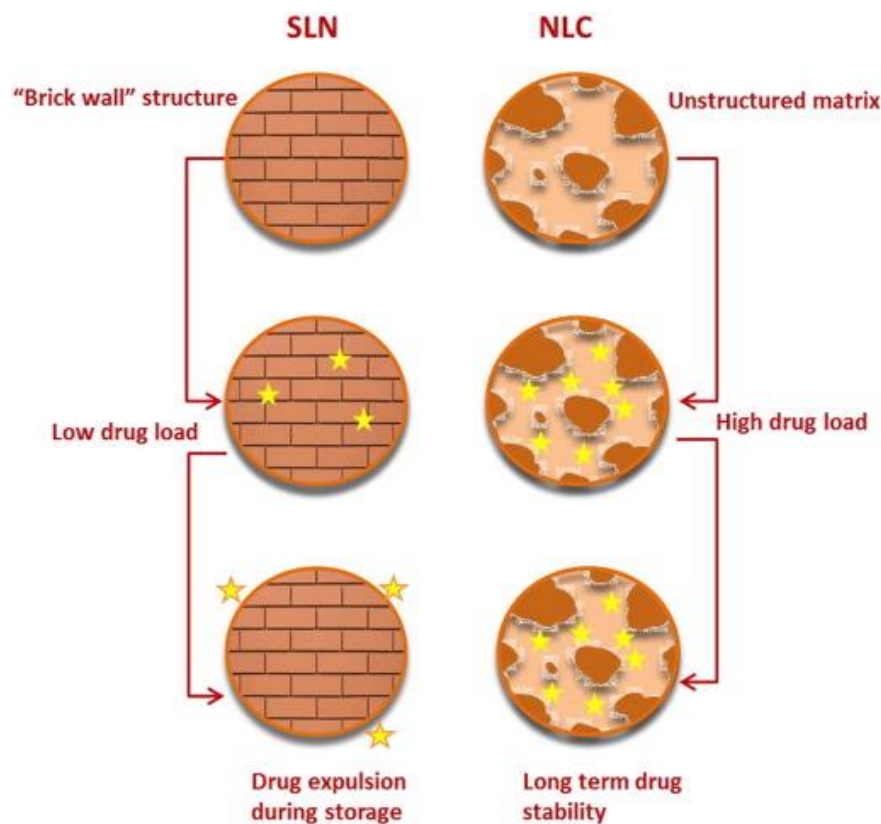
**Slika 1.** Izmjena uklopljene aktivne tvari između faza disperznog sustava (Mehnert i Mäder, 2012).

Zbog svoje veličine lipidne nanočestice imaju povećanu adhezivnost na površini kože koja se povećava sa smanjenjem veličine čestica. Nakon primjene i sušenja pri temperaturi površine kože stvara se film, a PAT iz SLN sprječavaju nastanak pora u strukturi filma. Na taj način postiže se okluzivan učinak i povećana hidratacija kože. SLN u *in vitro* ispitivanjima reflektiraju UV zračenje što je povezano s čvrstim agregatnim stanjem lipida

i nije karakteristično za nanoemulzije i slične sustave (Mehnert i Mäder, 2012; Müller i sur., 2002).

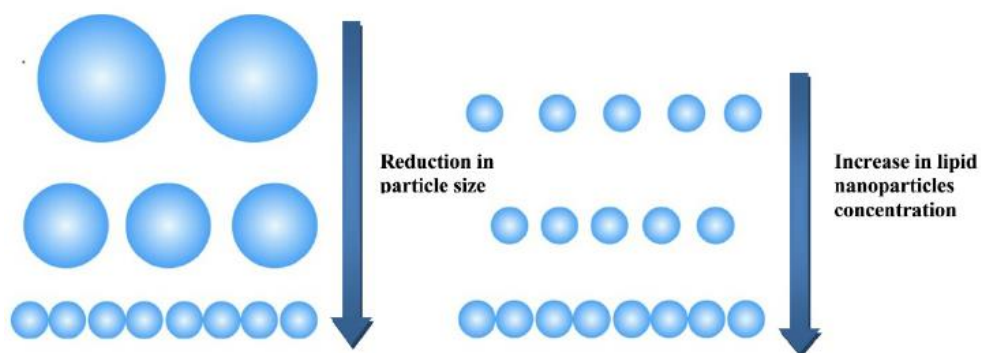
### 1.1.2. Nanostrukturirani lipidni nosači (NLC)

Nanostrukturirani lipidni nosači (*nanostructured lipid carriers*; NLC) druga su generacija lipidnih nanočestica, a izrađuju se kao smjesa čvrstih i tekućih lipida u omjerima 70:30 do 99,9:0,1. Zbog dodatka ulja u takve smjese lipida dolazi do smanjenja tališta u odnosu na smjesu lipida isključivo u čvrstom agregatnom stanju, ali je dobivena smjesa i dalje u čvrstom stanju pri tjelesnoj temperaturi. Izrađuju se kao disperzije u vodenoj sredini s udjelima lipida do 50%. U odnosu na SLN, NLC imaju veću mogućnost uklapanja aktivne tvari što je posljedica nesavršenosti kristalne rešetke NLC lipidnog matriksa. Smjese lipida koji su isključivo u čvrstom agregatnom stanju stvaraju pravilno uređenu strukturu s relativno malo slobodnog prostora za uklapanje aktivne tvari dok smjese čvrstih i tekućih lipida stvaraju čvrsti lipidni matriks, ali s više prostora za uklapanje (slika 2).



**Slika 2.** Uklapanje aktivne tvari u čvrste lipidne nanočestice (SLN) i nanostrukturirane lipidne nosače (NLC) (Beloqui i sur., 2016).

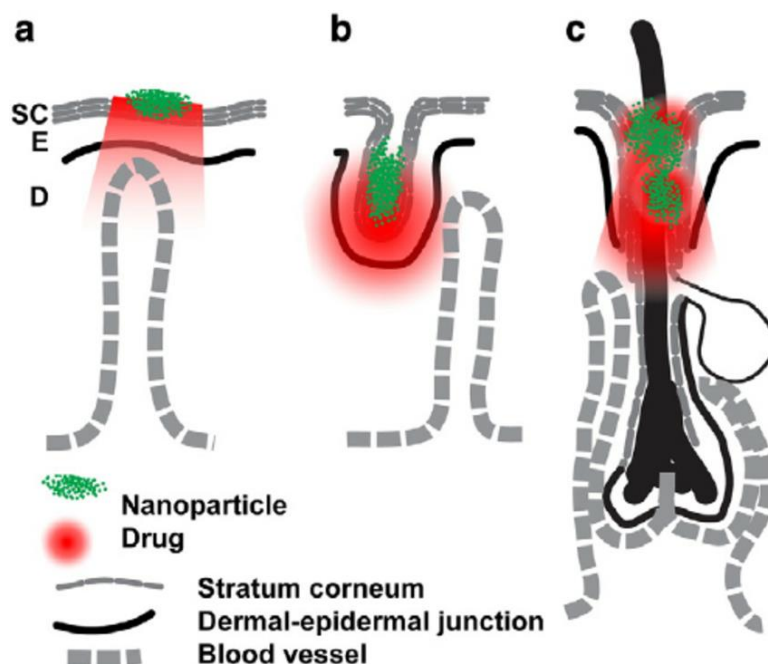
Uklapanjem aktivne tvari u NLC postiže se dugotrajna kemijska stabilnost zaštitom od oksidacije, hidrolize i/ili fotokemijske razgradnje, a struktura i kompozicija NLC određuju profil oslobađanja tako uklopljenih tvari. NLC zbog nanometarskih dimenzija imaju svojstvo dobrog prijanjanja na površinu kože pri čemu dolazi do okluzivnog učinka i posljedično do povećane hidratacije i barijernih svojstava kože. Okluzivni učinak moguće je poboljšati smanjenjem veličine čestica pri jednakom udjelu lipida, povećanjem udjela NLC jednake veličine, smanjenjem udjela tekućih ulja u sastavu NLC i povećanjem stupnja kristaličnosti lipida ili smjese lipida (slika 3) (Müller i sur., 2007).



**Slika 3.** Ovisnost okluzivnog učinka o broju i veličini lipidnih nanočestica (www.intechopen.com).

## 1.2. PRIJENOS LIPIDNIH NANOČESTICA NAKON DERMALNE PRIMJENE

Dermalni i transdermalni put primjene zahtjeva dobru penetraciju aktivne tvari kroz kožnu barijeru, a najčešće se odvija pasivnom difuzijom. Molekule primijenjene na površinu kože prolaze intracelularno, transcelularno ili putem folikula dlake. Za SLN/NLC karakteristično je da ne prolaze rožnati sloj kože, ali u dublje dijelove ulaze putem dlačnih folikula ili žlijezda znojnice (Manca i sur., 2014; Papakostas i sur., 2011). Taj put prijenosa značajan je za ione i velike polarne molekule (Sinico i Fadda, 2009). Iako je ukupna površina za penetraciju putem privjesaka kože mala (0,1-1%), takav put prijenosa ima veliku važnost za područja tijela kao što je vlasište, a koja su povezana s različitim kožnim oboljenjima kao akne, alopecija ili tumori kože (Bartosova i Baigar, 2012).



**Slika 4.** Penetracija i skladištenje lipidnih nanočestica u dlačnom folikulu (Prow i sur., 2011).

### 1.3. METODE IZRADE LIPIDNIH NANOČESTICA

Uobičajeni način izrade lipidnih nanočestica je vrućim ili hladnim postupkom visokotlačne homogenizacije. Aktivna tvar je otopljena ili dispergirana u rastaljenoj smjesi čvrstih lipida (u slučaju SLN), odnosno u tekućem lipidu (ulju) i talini čvrstog lipida (u slučaju NLC). U postupku vruće homogenizacije smjesa aktivne tvari i lipida je dispergirana u otopini PAT jednake temperature (5-10°C iznad tališta čvrstog lipida ili lipidne smjese). Tako dobivena emulzija ulazi u visokotlačni homogenizator pri tlaku od 500 do 800 bara i temperaturi jednakoj temperaturi disperzije. U postupku hladne homogenizaciji talina lipida s aktivnom tvari se ohladi pri čemu smjesa očvrstne, a mljevenjem te smjese dobiju se mikročestice. Mikročestice se dispergiraju u hladnoj otopini PAT, a dobivena disperzija se uvodi u homogenizator pri sobnoj temperaturi i tlaku od 1500 bara. Ovo je metoda izbora kod izrade nanočestica s komponentama osjetljivim na povišenu temperaturu (Müller i sur., 2005).

Lipidne nanočestice se mogu izraditi mikroemulzijskim postupkom na način da se vruća U/V mikroemulzija dispergira u hladnoj vodi. U takvim uvjetima dolazi do raspadanja emulzije, i taloženja SLN. Prednost takvog postupka je niska cijena i brzina izrade, ali



uključuje razrijeđenje dispergiranih čestica u visokom stupnju što na kraju daje disperzije vrlo niske koncentracije. Ovo posebno može biti problem u industriji jer se mora ukloniti velika količina vode iz konačnog proizvoda (Bondi i sur., 2003; Ugazio i sur., 2002, Gasco, 1993).

Ostale važne metode temelje se na upotrebi organskih otapala, a jedna od njih je i metoda injiciranja otapala (*solvent injection method*). Lipidi otopljeni u smjesi vode i organskog otapala injektiraju se u vodu uz miješanje pri čemu u kontaktu s vodom dolazi do taloženja lipidnih nanočestica (Schubert i Müller-Goymann, 2003). Ako se organsko otapalo ne miješa s vodom izrađuje se emulzija koja sadrži lipide. Uparavanjem ili razrijeđenjem organskog otapala nastaje disperzija nanočestica u vodenom mediju uslijed taloženja (Trotta i sur., 2003). Lipidne nanočestice mogu se izraditi i pomoću jake mehaničke sile, npr. upotrebom visokoturažnog homogenizatora uz (ultra)soniciranje, ali im je nedostatak polidisperznost koja može narušiti kakvoću konačne disperzije lipidnih nanočestica (Puglia i Bonina, 2012; Ricci i sur., 2005).

#### **1.4. METODE KARAKTERIZACIJE LIPIDNIH NANOČESTICA**

Za ispitivanje kakvoće lipidnih nanočestica potrebno je provesti njihovu karakterizaciju, odnosno odrediti veličinu čestica, stupanj disperznosti, zeta-potencijal i stupanj kristaličnosti jer o takvim značajkama ovisi sposobnost uklapanja i brzina oslobađanja aktivne tvari, stabilnost tijekom skladištenja i kompatibilnost s ostalim koloidnim sustavima. Veličina čestica određuje se fotonskom korelacijskom spektroskopijom (*photon correlation spectroscopy*; PCS) i laserskom difrakcijom (*laser diffraction*; LD). PCS pokazuje prosječnu veličinu čestica u rasponu od 3 do 3000 nm, dok LD pokriva šire područje od nanometarskih do milimetarskih veličina (Mehnert i Mäder, 2001). Skenirajuća elektronska mikroskopija (*scanning electron microscopy*; SEM), transmisijska elektronska mikroskopija (*transmission electron microscopy*; TEM) i mikroskopija atomskim silama (*atomic force microscopy*; AFM) također se koriste u određivanju veličine i morfologije čestica, a za mjerenje udaljenosti unutar kristalne rešetke koristi se metoda raspršenja X-zraka (*X-ray diffraction*; XRD) (Iqual i sur., 2012). Diferencijalna pretražna kalorimetrija (*differential scanning calorimetry*; DSC), raspršenje X-zraka, Ramanova spektroskopija (*Raman spectroscopy*) i Fourierova transformacija

(*Fourier transformation*) obično se koriste za analizu čvrstog stanja nanočestica (Bunjies i Unruh, 2007).

## 1.5. PODLOGE ZA UKLAPANJE LIPIDNIH NANOČESTICA I PRIPRAVCI

Izrada dermalnih pripravaka koji sadrže SLN/NLC može obuhvaćati samo jedan korak u proizvodnji pri čemu je konačni proizvod suspenzija lipidnih nanočestica. Tako se izrađuju izrazito koncentrirane i viskozne nanosuspenzije SLN s udjelima 30-40% (*m/m*) koje je moguće koristiti kao gotovu funkcionalnu podlogu. Takav pripravak ima gustu konzistenciju nalik na kremu. SLN je moguće primiješati u složene emulzijske ili podloge tipa hidrogelova u završnoj fazi njihove izrade u udjelu do 5% (*m/m*). Kod takvih proizvoda glavni je problem mogućnost raspadanja ili agregacije lipidnih nanočestica tijekom skladištenja (Müller i sur., 2002; Müller i Dingler, 1998).

NLC je moguće uklopiti u emulziju na način da se dodaje NLC disperzija uz razmjerno smanjenje vodene i lipidne faze u konačnom pripravku. Takva složena emulzijska podloga zadržava mliječno-bijeli izgled u odnosu na žuto obojene podloge s jednakim udjelom lipida, ali koji nisu oblikovani u nanostrukturirane lipidne nosače. Pripravci u obliku gelova izrađuju se dodatkom tvari za povećanje viskoznosti u vodenu suspenziju NLC; primjerice, ksantanska guma, hidroksietilceluloza 4000, Carbopol 943, kitozan. Osim emulzija i gelova izrađuju se pripravci koji sadrže samo lipidne nanočestice. Takva NLC disperzija kao konačni proizvod sadrži relativno visoki udjel lipida. Primjer tržišno dostupne koncentrirane disperzije je NanoLipidRestore CLR® koja sadrži 45% (*m/m*) NLC, a građena je od smjese lipida u čvrstom (karnauba vosak) i tekućem (ulje sjemenki crnog ribiza bogato polinezasićenim esencijalnim masnim kiselinama) agregatnom stanju. Zapaženo je produljeno oslobađanje polinezasićenih masnih kiselina iz takvog sustava, a uklapanjem koenzima Q10 u podlogu dobiven je pripravak NanoLipid Q CLR čime je poboljšana stabilnost koenzima i njegova penetracija u kožu.

NanoRepair Q 10 krema sadrži 0,5% (*m/m*) koenzima Q10, dok NanoRepair Q10 Serum sadrži 0,1% (*m/m*). Koenzim Q10 je relativno skupa aktivna tvar pa je zbog toga u malim koncentracijama u većini kozmetičkih proizvoda. Q10 ima izrazito žutu boju, a da je u malim koncentracijama u većini kozmetičkih proizvoda jasno je zbog bijele boje takvih proizvoda. Uklapanjem Q10 u NLC moguće je postići relativno visoke udjele Q10 u

konačnom proizvodu, a bez žutog obojenja takvog proizvoda. Aktivnost Q10 je povećana u takvoj formulaciji zbog poboljšane penetracije u kožu u usporedbi s klasičnim oblicima. NanoRepair Q10 je primarno namijenjena kao noćna krema, a proizvod NanoVital s 0,1% (m/m) Q10 doraden je za primjenu kao dnevna krema (Müller i sur., 2007).

## **1.6. UKLOPLENE AKTIVNE TVARI - KOZMECEUTICI I DJELATNE TVARI**

Lipidne nanočestice u topikalnoj primjeni imaju neke prednosti poput mogućnosti postizanja većih količina djelatne tvari na oboljelom području kože uz izbjegavanje sistemskih nuspojava, poboljšavajući tako omjer koristi i rizika primjene dermatika. Mogu se koristiti na oštećenoj ili upaljenoj koži jer su građeni od neiritirajućih i netoksičnih lipida. Poboljšavaju stabilnost tvari osjetljivih na svjetlo, oksidaciju i hidrolizu, a može se postići ciljano djelovanje na kožu ili njene dijelove. Djelatne tvari koje se danas istražuju za primjenu korištenjem lipidnih nanočestica su glukokortikoidi, nesteroidni protuupalni lijekovi, inhibitori COX-2 te kozmeceutici poput koenzima Q10, retinola, vitamina E, a koriste se kod bolesti poput atopijskog ekcema, psorijaze, akni, kožne mikoze i upala (Schäfler-Korting i sur., 2007).

Topikalni glukokortikoidi poput prednikarbata prva su linija kod egzacerbacija atopijskog dermatitisa i kontaktnog dermatitisa. Glavna nuspojava takvih lijekova je antiproliferativno djelovanje u dermisu, dok je protuupalni učinak značajniji u epidermisu. S obzirom da odvajanje željenog protuupalnog i neželjenog antiproliferativnog učinka još uvijek nije zadovoljavajuće, istražuje se njihova primjena uklapanjem u lipidne nanočestice. Primjenom prednikarbata uklopljenog u SLN postiže se njegovo zadržavanje u epidermisu i smanjenje neželjenog djelovanja u dermisu. Na taj način poboljšan je omjer koristi i rizika primjene dermatika (Santos Maia i sur., 2002; Santos Maia i sur., 2000).

Nesteroidni protuupalni lijekovi (celekoksib i valdekoksisib) spadaju u selektivne COX-2 inhibitore. Celekoksib se koristi kod reumatoidnog artritisa, osteoartritisa, tumora kože, ozljeda i rana, a uspoređeno je njegovo oslobađanje iz NLC u obliku gela i oslobađanje iz micelnog gela te utjecaj na edem u koži štakora u *in vivo* pokusu. Permeacija celekoksiba kroz kožu iz NLC bila je manja od permeacije iz micelnog gela što je dovelo do odlaganja djelatne tvari u koži i produljenog oslobađanja. Također je i smanjenje edema bilo poboljšano primjenom NLC formulacije (Joshi i Patravale, 2008;

Lee i sur., 2003). Valdekoksisib se koristi kod upale i artritisa. Dostupni topikalni pripravci sadrže 56% alkohola koji isušuje kožu učestalom primjenom, međutim pripravak bez alkohola baziran na NLC česticama u obliku gela pokazuje neka poboljšana svojstva. U odnosu na 100% oslobađanje djelatne tvari iz alkoholne formulacije unutar 1 sat, djelatna tvar uklopljena u NLC ima bifazični profil oslobađanja; brzo oslobađanje, nakon čega slijedi polagano oslobađanje. Na taj način NLC formulacija pokazuje i dulju aktivnost djelatne tvari, ali i bolju podnošljivost u odnosu na alkoholnu formulaciju (Joshi i Patravale, 2006).

Indometacin je jedan od najpotentnijih nesteroidnih protuupalnih lijekova, a koristi se često u liječenju dermatitisa i reumatoidnih bolova. Usporedbom penetracije indometacina iz gela s NLC i gela bez NLC kroz rožnati sloj kože u *in vivo* pokusu pronađene su veće koncentracije djelatne tvari u rožnatom sloju nakon primjene NLC formulacije što znači da je penetracija iz takvog pripravka manja u odnosu na formulaciju bez NLC (Ricci i sur., 2005).

Tretinoin je metabolit vitamina A, a koristi se kod različitih proliferativnih i upalnih kožnih bolesti kao što su psorijaza, akne, fotostarenje, epitelni tumor kože. Značajan problem upotrebe tretinoina su lokalne iritacije kože kao eritem, ljuštenje ili povećana osjetljivost na sunčevo svjetlo. Uklapanjem tretinoina u SLN postiže se permeacija usporediva s tržišnim pripravcima u obliku kreme, ali su uočene znatno manje epizode eritema u odnosu na standardnu formulaciju čime je postignut bolji omjer koristi i rizika (Shah i sur., 2007). Izotretinoin je derivat retinoične kiseline, a služi u liječenju ozbiljnih akni i drugih kožnih bolesti. Pripravci dostupni na tržištu u obliku izotretinoin kreme pokazuju značajnu iritaciju kože i sistemske apsorpciju s kojom su povezane i nuspojave (Queille-Roussel i sur., 2001). Usporedbom permeacije izotretiona iz SLN i etanolne otopine kroz kožu štakora uočeno je da iz pripravka sa SLN nema penetracije kroz kožu, dok je velika količina djelatne tvari pronađena u samoj koži, što pokazuje ciljano djelovanje takvog pripravka na kožu (Liu i sur., 2007).

Okluzivni učinak poboljšava penetraciju aktivnih tvari u kožu. Povećana penetracija koenzima Q10 uočena je nakon primjene SLN ili NLC uklopljenih s koenzimom Q10 u odnosu na nanoemulziju, otopinu izopropanola i tekućeg parafina. NLC s uklopljenim Q10 pokazuje bifazično oslobađanje, brzo početno nakon čega slijedi produljeno

oslobađanje, dok je iz nanoemulzija oslobađanje kozmeceutika konstantno (Teeranachaideekul i sur., 2007).

Postizanje produljenog oslobađanja poželjna je značajka u proizvodnji parfema. Uspoređujući oslobađanje parfema iz emulzije i SLN, nakon 6 sati 100% parfema se oslobodilo iz emulzije, a 75% iz SLN (Wissing i sur., 2000). Na oslobađanje utječe kompozicija lipidnog matriksa, uspješnost uklapanja i vrsta PAT (Hommos i sur., 2007). Prirodni insektni repelent limunovo ulje i sintetski repelent DEET (N,N-dietiltoluamid) uspješno su uklopljeni u SLN, što je rezultiralo njihovim produljenim oslobađanjem (Iscan i sur., 2005). Zbog značajki blokiranja UV zračenja, SLN može poboljšati zaštitu od sunčevog zračenja u kombinaciji s organskim UV filtrima kao hidroksi-4-metoksi benzofenon, a isto tako ova osobina omogućava smanjenje količine kemijskog UV filtra u pripravku (Wissing i Müller, 2001; Müller i sur., 2002; Wissing i Müller, 2002) U usporedbi s klasičnom emulzijom koncentracija zaštitnih molekula može se smanjiti za 50%, a da zaštitni faktor ostane isti (Wissing i Müller, 2003). Značajno povećanje zaštitnog faktora na oko 50 zapaženo je pri uklapanju titanijevog dioksida u NLC. Uklapanje anorganskog pigmenta u NLC omogućava razvoj zaštitnih pripravaka s visokim SPF koji će se dobro podnositi (Villalobos-Hernandez i Müller-Goymann, 2005).

## **2. OBRAZLOŽENJE TEME**

Nanostrukturirani lipidni nosači najčešće se izrađuju tehnikom visokotlačne homogenizacije. Takva tehnika zahtijeva nabavu relativno skupe opreme i prilično iskustvo izrade nanostrukturiranih lipidnih nosača.

Pored ostalih postupaka izrade nanostrukturiranih lipidnih nosača, literaturni navodi opisuju i postupak visokoturažne homogenizacije koji je vrlo često kombiniran s postupkom (ultra)soniciranja. Međutim, najčešći nedostatak takvog postupka je relativno visoka disperznost izrađenih nanostrukturiranih lipidnih nosača, a koja značajno utječe na parametre kakvoće izrađenih lipidnih disperzija.

Cilj ovog diplomskog rada je ispitati utjecaj procesnih parametara izrade nanostrukturiranih lipidnih nosača postupkom visokoturažnog miješanja kombiniranog s postupkom soniciranja na veličinu i raspodjelu veličina izrađenih nanostrukturiranih lipidnih nosača, kao ključnog parametra kakvoće takvih sustava.

### **3. MATERIJALI I METODE**

#### **3.1. MATERIJALI**

Za izradu nanostrukturiranih lipidnih nosača kao masna faza upotrebljena je smjesa tekućeg lipida Miglyol 812 (Kemig, Hrvatska) i čvrstog lipida Cetaceum (Medika, Hrvatska). Kao emulgatori korišteni su Polysorbat 20 (Kemig, Hrvatska), Polysorbat 60 (Kemig, Hrvatska) i gliceril-monostearat (Kemig, Hrvatska). Za razrjeđenje suspenzije nanostrukturiranih lipidnih nosača prije mjerenja veličine i raspodjele veličina čestica korištena je otopina NaCl (10 mM). Pročišćena voda korištena je kao otapalo i disperzijsko sredstvo.

#### **3.2. METODE**

##### **3.2.1. KOMPOZICIJA NANOSTRUKTURIRANIH LIPIDNIH DISPERZIJA**

Nanostrukturirani lipidni nosači izrađeni su korištenjem različitih udjela lipidne disperzne faze i emulgatora ili smjese emulgatora. Označavanje uzoraka i kompozicija nanostrukturiranih lipidnih disperzija prikazani su tablicom 2.

##### **3.2.2. PRIPRAVA NANOSTRUKTURIRANIH LIPIDNIH DISPERZIJA**

Nanostrukturirani lipidni nosači pripremljeni su postupkom visokoturažnog miješanja (UltraTurraxT25, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Njemačka) uz soniciranje. Potrebna količina čvrstog i tekućeg lipida te emulgatora ili smjese emulgatora (tablica 2) odvagana je u staklenu čašu. U drugu staklenu čašu odvagana je potrebna količina pročišćene vode. Obje faze su zagrijane u vodenoj kupelji do 70°C, nakon čega je lipidna faza dispergirana u vodenu fazu korištenjem postupka visokoturažnog homogeniziranja tijekom 5 minuta. Brzine visokoturažnog homogeniziranja prikazani su tablicom 3. Izrađena nanostrukturirana lipidna disperzija sonicirana je 10 minuta pri 45°C, a nakon toga je miješana na magnetskoj mješalici do ohlađenja (25°C).

**Tablica 2.** Kompozicija nanostrukturiranih lipidnih disperzija.

oznaka uzorka	udjel (% , m/m)					
	Miglyol 812	Cetaceum	Polysorbat 20	Gliceril- monostearat	Polysorbat 60	Pročišćena voda
MLV3A						
MLV5	1,71	4,00	1,43	1,43	/	91,43
MLV6						
MLV7						
MLV8	1,67	3,89	/	/	5,56	88,89
MLV9						
MLV10						
MLV11	0,90	2,09	0,75	0,75	/	92,52
MLV12						
MLV13						
MLV14	0,88	2,06	/	/	2,94	94,12
MLV15						

### 3.2.3. ODREĐIVANJE VELIČINE I RASPODJELE VELIČINA NANOSTRUKTURIRANIH LIPIDNIH NOSAČA

Veličina i disperznost nanostrukturiranih lipidnih nosača određena je fotonskom korelacijskom spektroskopijom (PCS) (Zetasizer 3000HS, Malvern Instruments). PCS metodom se određuje veličina dispergiranih čestica u području od 2 nm do 3 μm, a mjerenje se provodi obasjavanjem uzorka monokromatskom koherentnom laserskom zrakom. Intenzitet svjetlosti raspršene na česticama bilježi se fotomultiplikatorom pod određenim kutom i prevodi u električni signal koji se prenosi do digitalnog korelatora, što generira



autokorelacijske funkcije. Veličina čestica izračunava se iz korelacijskih funkcija uporabom različitih algoritama PCS komercijalnih programa. Dispergirane se čestice stalno gibaju (Brownovo gibanje) što rezultira stalnim fluktuiranjem promatranog intenziteta raspršene svjetlosti tijekom vremena.

**Tablica 3.** Brzine visokoturažnog miješanja korištene pri izradi nanostrukturiranih lipidnih disperzija.

oznaka uzorka	brzina visokoturažnog miješanja (okretaja/ minuti)		
	10 000	12 000	14 000
MLV3A			
MLV5			
MLV6			
MLV7			
MLV8			
MLV9			
MLV10			
MLV11			
MLV12			
MLV13			
MLV14			
MLV15			

Brzina Brownovog gibanja definirana je translacijskim difuzijskim koeficijentom ( $D$ ). Veličina čestica dobivena PCS mjerenjima izračunata je uporabom Stokes-Einsteinove jednadžbe:

$$d_h = \frac{kT}{3\pi\eta D},$$

gdje je  $d_h$  hidrodinamički promjer,  $D$  translacijski difuzijski koeficijent,  $k$  Boltzmannova konstanta,  $T$  termodinamička temperatura,  $\eta$  viskoznost. Promjer čestice dobiven PCS metodom vrijednost je koja govori o difuziji čestice unutar otopine i naziva se hidrodinamičkim promjerom ( $d_h$ ). To je promjer okrugle čestice (sfere) koja bi imala jednaki translacijski difuzijski koeficijent kao čestica koja se promatra. U mjernim sustavima uporabljen je monokromatski koherentni 10 mW He-Ne laser ( $\lambda = 633$  nm), a kut detekcije raspršene svjetlosti bio je  $90^\circ$ . U kivetu za mjerenje 10  $\mu$ l uzorka je razrijeđeno s 3,5 ml 10 mM NaCl koji je filtriran kroz filtere Minisart veličine pora 0,45  $\mu$ m (Minisart, Sartorius, Goettingen, Njemačka). Mjerenje je provedeno pri  $25^\circ\text{C}$ .

#### 4. REZULTATI I RASPRAVA

Nanostrukturirani lipidni nosači pripremljeni su postupkom visokoturažnog homogeniziranja uz soniciranje. Postupkom visokoturažnog homogeniziranja zagrijane lipidne faze s emulgatorom ili smjesom emulgatora i vodene faze sustava nastaje nanoemulzija koja hlađenjem prelazi u disperziju nanostrukturiranih lipidnih nosača. U prvoj fazi hlađenja lipidna disperzija se hladi uz soniciranje pri 45°C, a s ciljem postizanja što je moguće bolje disperznosti sustava. Nakon toga slijedi druga faza hlađenja uz umjereno miješanje na magnetskom miješaču pri sobnoj temperaturi do hlađenja disperzije nanostrukturiranih lipidnih nosača na 25°C.

Disperzije nanostrukturiranih lipidnih nosača pripremljene su pri različitim brzinama visokoturažnog miješanja s ciljem ispitivanja utjecaja brzine visokoturažnog miješanja (tablica 3) na veličinu i raspodjelu veličina nanostrukturiranih lipidnih nosača, koje su prikazane tablicom 4.

**Tablica 4.** Rezultati određivanja veličine i raspodjele veličina nanostrukturiranih lipidnih nosača 24 sata nakon pripreve.

oznaka uzorka	$d_h$ (nm)	indeks polidisperznosti (PDI)
MLV3A	260,4 ± 26,2	0,602 ± 0,047
MLV5	217,5 ± 6,3	0,541 ± 0,099
MLV6	211,6 ± 6,3	0,311 ± 0,038
MLV7	516,0 ± 9,8	1,000 ± 0,000
MLV8	427,6 ± 18,6	0,738 ± 0,314
MLV9	267,3 ± 0,8	0,323 ± 0,670
MLV10	215,5 ± 0,2	0,305 ± 0,030
MLV11	201,2 ± 5,1	0,265 ± 0,010
MLV12	182,5 ± 1,8	0,298 ± 0,019
MLV13	585,0 ± 9,1	0,371 ± 0,222
MLV14	278,5 ± 4,2	0,480 ± 0,109
MLV15	146,8 ± 0,8	0,519 ± 0,028

Iz rezultata određivanja veličine nanostrukturiranih lipidnih nosača prikazanih tablicom 4 moguće je opaziti da se s povećanjem brzine visokoturažnog miješanja smanjuje veličina nanostrukturiranih lipidnih nosača. Takav utjecaj je najizraženiji za uzorke MLV7-MLV9 u kojima se veličina nanostrukturiranih lipidnih nosača smanjuje od približno 516 nm do 267 nm; slično kao za uzorke MLV13-MLV15 u kojima se veličina smanjuje od približno 585 nm do 147 nm. Takva opažanja su očekivana jer je povećanjem brzine visokoturažnog miješanja izraženiji proces dispergiranja lipidne disperzne faze u vodenom disperzijskom sredstvu.

Indeks polidisperznosti (PDI) disperzije nanostrukturiranih lipidnih nosača govori o raspodjeli veličina čestica u sustavu. Što je manja vrijednost indeksa polidisperznosti to su čestice u sustavu sličnijih veličina. Vrijednosti indeksa polidisperznosti u svim mjerenim sustavima su zadovoljavajućih vrijednosti (tablica 4:  $PDI < 0,7$ ), osim za uzorke MLV7 i MLV8 gdje su vrijednosti indeksa polidisperznosti  $> 0,7$ , a što upućuje na izraženu nehomogenu raspodjelu veličina nanostrukturiranih lipidnih nosača. U dvije skupine uzoraka (MLV3A-MLV6; MLV7-MLV9) opaženo je smanjenje indeksa polidisperznosti sustava s povećanjem brzine visokoturažnog miješanja, a što je analogno opaženom smanjenju veličine nanostrukturiranih lipidnih nosača. Takav rezultat upućuje da se u navedenim skupinama uzoraka s povećanjem brzine visokoturažnog miješanja smanjuje veličina čestica koje su sve sličnijih veličina. Međutim, u druge dvije skupine uzoraka (MLV10-MLV12; MLV13-MLV15) takvo opažanje izostaje. Moguće je da su opažene relativno nekonzistentne vrijednosti indeksa polidisperznosti posljedica razrijeđenja uzoraka. Naime, u druge dvije skupine uzoraka smanjen je udjel lipida i emulgatora, a razmjerno je povećan udjel vode (tablica 2).

Unatoč činjenici da se uzorak MLV15 odlikuje relativno visokom vrijednošću indeksa polidisperznosti (0,519), u takvom uzorku je postignuta najmanja veličina nanostrukturiranih lipidnih nosača (približno 147 nm). Istodobno, vizualnom procjenom uzorka MLV15 moguće je opaziti mliječno-bijeli i homogeni izgleda uzorka. S tim u vezi, uzorak MLV13 koji je jednakog sastava kao i uzorak MLV15, ali izrađen pri najmanjoj ispitivanjnoj brzini visokoturažnog miješanja (10 000 okrataja/minuti) odlikuje se izraženom nehomogenošću. Jednako tako je opažena nehomogenost i proces vrhnjenja za uzorak MLV7. Vezano za vizualnu procjenu drugih uzoraka, opažena je izražena viskoznost uzoraka MLV3A-MLV6, a koja bi mogla upućivati na moguću ireverzibilnu agregaciju dijela nanostrukturiranih lipidnih nosača u sustavu tijekom vremena. Nadalje, uzorci MLV8, MLV9 i MLV14 odlikuju se

mliječno-bijelim izgledom i relativnom homogenošću, osim tankog prstena odvojene lipidne disperzne faze na stijenkama čaše. Nasuprot tome, na površini uzoraka MLV10, MLV11 i MLV 12 opažene su sporadične zrnate nakupine odvojene lipidne disperzne faze, iako je ukupna homogenost i mliječno-bijeli izgled uzoraka bio relativno zadovoljavajući.

**Tablica 5.** Vizualna procjena značajki nanostrukturiranih lipidnih disperzija.

oznaka uzorka	vizualne značajke
MLV3A	uzorak je viskoznan, vidljiva pjena na površini, mliječno-bijeli i bez vidljivih znakova nehomogenosti
MLV5	uzorak viskoznan, mliječno-bijeli, bez vidljivih znakova nehomogenosti, na stijenkama se opaža pjenasti sloj odvojene lipidne faze
MLV6	uzorak je viskoznan, mliječno-bijeli s vidljivim pjenastim lipidnim rubom na stijenkama
MLV7	uzorak je mliječno-bijeli, prisutna zrnata aglomeracija i vrhnjenje lipidne disperzne faze
MLV8	uzorak je mliječno-bijeli i homogen, osim odvojene lipidne faze u obliku prstena na stijenkama čaše
MLV9	uzorak je mliječno-bijeli i homogen, osim odvojene lipidne faze u obliku tankog prstena na stijenkama čaše
MLV10	uzorak je mliječno-bijeli i homogen, na stijenkama čaše moguće je opaziti sporadične zrnate nakupine aglomerirane lipidne disperzne faze
MLV11	uzorak je mliječno-bijeli i homogen, na stijenkama čaše moguće je opaziti sporadične zrnate nakupine aglomerirane lipidne disperzne faze
MLV12	uzorak je mliječno-bijeli i homogen, osim sporadičnih zrnatih nakupina aglomerirane lipidne disperzne faze
MLV13	uzorak je mliječno-bijeli i nehomogen
MLV14	uzorak je mliječno-bijeli i homogen, osim odvojene lipidne faze u obliku tankog prstena na stijenkama čaše
MLV15	uzorak je mliječno-bijeli i homogen

## 5. ZAKLJUČCI

- Postupkom visokoturažnog homogeniziranja uz soniciranje moguće je izraditi disperzije nanostrukturiranih lipidnih nosača.
- Pri izradi disperzija nanostrukturiranih lipidnih nosača potrebno je standardizirati postupak izrade u smislu temperature zagrijavanja disperzne faze i disperzijskog sredstva, vremena i brzine visokoturažnog miješanja, vremena i načina hlađenja sustava te vremena određivanja veličine i raspodjele veličina od pripreve sustava, a sve u cilju uspješne izrade i karakterizacije disperzija nanostrukturiranih lipidnih nosača.
- Veličina i raspodjela veličina nanostrukturiranih lipidnih nosača, kao jedan od osnovnih parametara kakvoće, ovisi o procesnim parametrima (brzini visokoturažnog miješanja) i kompoziciji lipidne disperzije.
- S povećanjem brzine visokoturažnog miješanja smanjuje se veličina nanostrukturiranih lipidnih nosača.
- Najbolji rezultat izrade disperzija nanostrukturiranih lipidnih nosača postignut je za kompoziciju sustava Miglyol (0,88%, *m/m*), Cetaceum (2,06%, *m/m*), Polysorbat 60 (2,94%, *m/m*) i pročišćena voda (94,12%, *m/m*). Lipidna nanodisperzija izrađena je pri najvećoj ispitivanoj brzini visokoturažnog miješanja tijekom 5 minuta. Izrađeni nanostrukturirani lipidni nosači odlikuju se vrlo malom veličinom čestica ( $d_h \sim 147$  nm) i relativno povećanom disperznošću sustava (PDI  $\sim 0,520$ ). Vizualnom procjenom uzorka opaža se mliječno-bijela homogena disperzija bez znakova nehomogenosti na površini sustava ili stijekama čaše.

## 6. LITERATURA

Bartosova I, Baigar J. Transdermal drug delivery in vitro using diffusion cells. *Curr Med Chem*, 2012, 19, 4671-4677.

Beloqui A, Solinis MA, Rodríguez-Gascón A, Almeida AJ, Preat V. Nanostructured lipid carriers: Promising drug delivery systems for future clinics. *Nanomedicine*, 2016, 12, 143-161.

Bunjes H, Unruh TS. Characterization of lipid nanoparticles by differential scanning calorimetry, X-ray and neutron scattering. *Adv Drug Deliv Rev*, 2007, 59, 379-402.

Gasco MR. 1993. U.S. Patent 52500236.

Hommos A, Müller RH. Release of perfumes: modulation by type of matrix lipid in NLC. In: Proceeding in the 5th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Geneva 2006.

Iqbal MA, Md S, Sahni JK, Baboota S, Dang S, Ali J. Nanostructured lipid carriers system: recent advances in drug delivery. *J Drug Target*, 2012, 20, 813-830.

Iscan Y, Wissing SA, Hekimoglu S, Müller RH. Solid lipid nanoparticles (SLN) for topical drug delivery: incorporation of the lipophilic drugs N,N-diethylm-toluamide and vitamin K. *Die Pharmazie*, 2005, 60, 905-909.

Joshi M, Patravale V. Formulation and evaluation of nanostructured lipid carrier (NLC)-based gel of Valdecoxib. *Drug Dev Ind Pharm*, 2006, 32, 911-918.

Joshi M, Patravale V. Nanostructured lipid carrier (NLC) based gel of celecoxib. *Int J Pharm*, 2008, 346, 124-132.

Lee JL, Mukhtar H, Bickers DR, Kopelovich L, Athar M. Cyclooxygenases in the skin: pharmacological and toxicological implications. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2003 192, 294-306.

Liu J, Hu W, Chen H, Ni Q, Xu H, Yang X. Isotretinoin-loaded solid lipid nanoparticles with skin targeting for topical delivery. *Int J Pharm*, 2007, 328, 191-195.

Lucks JS, Müller RH. 1991. EP0000605497.

Manca MI, Manconi M, Nacher A, Carbone C, Valenti D, Maccioni AM, Sinico C, Fadda AM. Development of novel diolein niosomes for cutaneous delivery of tretinoin: influence of formulation and in vitro assessment. *Int J Pharm*, 2014, 477, 176-186.

Manhart W, Mäder K. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications, *Adv Drug Deliv Rev*, 2012, 64, 83-101.

Manhart W, Mäder K. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications, *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 47, 165-196.

Müller RH, Radtke M, Wissing SA. Nanostructured lipid matrices for improved microencapsulation of drugs. *Int J Pharm*, 2002, 242, 121-128.

Müller RH, Radtke M, Wissing SA. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Adv Drug Deliv*, 2002, 54, 131-155.

Müller RH, Manhart W, Sauto EB. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) for dermal delivery. U: Bronaugh, R.L. (Ed.), *Percutaneous Absorption*, 4. izd., 2005, str. 719-738.

Müller RH, Petersen RD, Hommoss A. Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. *Adv Drug Deliv Rev*, 2007, 59, 522-530.

Müller RH, Dingler A. The next generation after the liposomes: solid lipid nanoparticles (SLN, LIPOPEARLS) as dermal carrier in cosmetics. *Eur Cosmet*, 1998, 7-8, 19-26.

Papakostas D, Rancan F, Sterry W, Blume-Peytavi U, Vogt A. Nanoparticles in dermatology. *Arch Dermatol Res*, 2011, 303, 533-550.

Prow TW, Grice JE, Lin LL, Faye R, Butler M, Becker W, Wurm EM, Yoong C, Robertson TA, Soyer HP, Roberts MS. Nanoparticles and microparticles for skin drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011, 63, 470-491.

Puglia C, Bonina F. Lipid nanoparticles as novel delivery systems for cosmetics and dermal pharmaceuticals. *Expert Opin Drug Deliv*, 2012, 9, 429-441.

Queille-Roussel C, Poncet M, Mesaros S, Clucas A, Baker M, Soloff AM. Comparison of the cumulative irritation potential of adapalene gel and cream with that of erythromycin/tretinoin solution and gel and erythromycin/ isotretinoin gel. *Clin Ther*, 2001, 23, 205-212.

Ricci M, Puglia C, Bonina F, Di Giovanni C, Giovagnoli S, Rossi C. Evaluation of indomethacin percutaneous absorption from nanostructured lipid carriers (NLC): in vitro and in vivo studies. *J Pharm Sci*, 2005, 94, 1149-1159.

Santos Maia C, Menhart W, Schäfer-Kortig M. Solid lipid nanoparticles (SLN) as drug carrier for topical glucocorticoides. *Int J Pharm*, 2000, 196, 165-167.

Santos Maia C, Menhart W, Schaller M, Kortig HC, Gysler A, Haberland A, Schäfer-Kortig M. Drug targeting by solid lipid nanoparticles for dermal use. *J Drug Target*, 2002, 10, 489-495.

Schäfer-Kortig M, Menhart W, Kortig HC. Lipid nanoparticles for improved topical application of drugs for skin diseases. *Adv. Drug Deliv Rev*, 2007, 59, 427-443.

Shah KA, Date AA, Joski MD, Patravale VB. Solid lipid nanoparticles (SLN) of tretinoin: potential in topical delivery. *Int J Pharm*, 2007, 345, 163-171.



Sinico C, Fadda AM. Vesicular carriers for dermal drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv*, 2009, 6, 813-825.

Schubert MA, Müller-Goymann CC. Solvent injection as a new approach for manufacturing lipid nanoparticles – evaluation of the method and process parameters. *Eur J Pharm Biopharm*, 2003, 55, 125-131.

Teeranachaideekul V, Souto EB, Junyaprasert VB, Müller RH. Cetyl palmitate-based NLC for topical delivery of Coenzyme Q(10)-development, physicochemical characterization and in vitro release studies. *Eur J Pharm Biopharm*, 2007, 67, 141-148.

Trotta M, Debernardi F, Caputo O. Preparation of solid lipid nanoparticles by a solvent emulsification-diffusion technique. *Int J Pharm*, 2003, 257, 153-160.

Ugazio E, Cavalli R, Gasco MR. Incorporation of cyclosporin A in solid lipid nanoparticles (SLN). *Int J Pharm*, 2002, 241, 341-344.

Villalobos-Hernandez JR, Müller-Goymann CC. Novel nanoparticulate carrier system based on carnauba wax and decyl oleate for the dispersion of inorganic sunscreens in aqueous media. *Eur J Pharm Biopharm*, 2005, 60, 113-122.

Wissing SA, Müller RH. Solid lipid nanoparticles (SLN)-a novel carrier for UV blockers. *Pharmazie*, 2001, 56, 783-786.

Wissing SA, Müller RH. Solid lipid nanoparticles (SLN) as carrier for sun-screens: in vitro release and in vivo skin penetration. *J Control Release*, 2002, 81, 225-233.

Wissing SA, Müller RH. Cosmetic applications for solid lipid nanoparticles (SLN). *Int J Pharm*, 2003, 254, 65-68.

Escobar-Chávez JJ, Rodríguez-Cruz IM, Domínguez-Delgado CL, Díaz-Torres R, Revilla-Vázquez AL, Casas Aléncaster N. Nanocarrier Systems for Transdermal Drug Delivery, Recent Advances in Novel Drug Carrier Systems, PhD. Ali Demir Sezer (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/50314. Available from: <https://www.intechopen.com/books/recent-advances-in-novel-drug-carrier-systems/nanocarrier-systems-for-transdermal-drug-delivery>, pristupljeno 29.06.2017.

## 7. SAŽETAK

Nanostrukturirani lipidni nosači (nanostructured lipid carriers; NLC) druga su generacija lipidnih nanočestica, a razvijeni su s ciljem poboljšanja nanoemulzija ili liposoma. Uklapanjem aktivne tvari u NLC postiže se dugotrajna kemijska stabilnost zaštitom od oksidacije, hidrolize i/ili fotokemijske razgradnje, a struktura i kompozicija NLC određuju profil oslobađanja tako uklopljenih tvari. Jedan od načina izrade NLC je upotrebom visokoturažnog homogenizatora uz (ultra)soniciranje.

Cilj ovog diplomskog rada je ispitati utjecaj procesnih parametara izrade nanostrukturiranih lipidnih nosača postupkom visokoturažnog miješanja kombiniranog s postupkom soniciranja na veličinu i raspodjelu veličina izrađenih nanostrukturiranih lipidnih nosača, kao ključnog parametra kakvoće takvih sustava. Nanostrukturirani lipidni nosači pripremljeni su uz različite količine čvrstog i tekućeg lipida te emulgatora ili smjese emulgatora, a homogenizirani su pri različitim brzinama visokoturažnog miješanja. Veličina i disperznost čestica određena je fotonskom korelacijskom spektroskopijom, PCS. Iz rezultata određivanja veličine nanostrukturiranih lipidnih nosača moguće je opaziti da se s povećanjem brzine visokoturažnog miješanja smanjuje veličina nanostrukturiranih lipidnih nosača. Takva opažanja su očekivana jer je povećanjem brzine visokoturažnog miješanja izraženiji proces dispergiranja lipidne disperzne faze u vodenom disperzijskom sredstvu. Povećanjem brzine miješanja indeks polidisperznosti se smanjuje, dok povećanjem udjela vode raste. Značajke nanostrukturiranih lipidnih disperzija podvrgnute su i vizualnom ispitivanju pri čemu se zapažala njihova homogenost i izlučivanje na stijenku čaše.

## SUMMARY

Nanostructured lipid carriers (NLC) are the second generation of the lipid nanoparticle technology produced to improve nanoemulsions and liposomes. NLC are able to enhance the chemical stability of compounds sensitive to the light, oxidation and hydrolysis. Structure and composition of NLC determines release profile of incorporated compounds.

The aim of this study was to evaluate impact of process parameters for the production of NLC. High speed homogenization and ultrasonication in association are techniques used to produce nanostructured lipid dispersions. Different particle size and polydispersity obtained by modification speed of homogenization and using different part of solid and liquid lipid, surfactant or mixtures of surfactant. Photon correlation spectroscopy (PCS) is used for particle size and polydispersity measurements. The results present that with the increased speed of homogenization smaller particle size of nanostructured lipid carrier were obtained. Such observations are expected because increased speed results in a more pronounced dispersing process of the lipid dispersion phase in the aqueous dispersion medium. By increasing the stirring speed, polydispersity is decreased, and increasing water content polydispersity is decreased. The features of nanostructured lipid dispersions were also subjected to a visual examination by observing their homogeneity and excretion on the glass wall.

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Zavod za farmaceutsku tehnologiju  
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

### Utjecaj procesnih parametara na veličinu nanostrukturiranih lipidnih nosača

Luka Vitić

#### SAŽETAK

Nanostrukturirani lipidni nosači (nanostructured lipid carriers; NLC) druga su generacija lipidnih nanočestica, a razvijeni su s ciljem poboljšanja nanoemulzija ili liposoma. Uklapanjem aktivne tvari u NLC postiže se dugotrajna kemijska stabilnost zaštitom od oksidacije, hidrolize i/ili fotokemijske razgradnje, a struktura i kompozicija NLC određuju profil oslobađanja tako uklopljenih tvari. Jedan od načina izrade NLC je upotrebom visokoturažnog homogenizatora uz (ultra)soniciranje.

Cilj ovog diplomskog rada je ispitati utjecaj procesnih parametara izrade nanostrukturiranih lipidnih nosača postupkom visokoturažnog miješanja kombiniranog s postupkom soniciranja na veličinu i raspodjelu veličina izrađenih nanostrukturiranih lipidnih nosača, kao ključnog parametra kakvoće takvih sustava. Nanostrukturirani lipidni nosači pripremljeni su uz različite količine čvrstog i tekućeg lipida te emulgatora ili smjese emulgatora, a homogenizirani su pri različitim brzinama visokoturažnog miješanja. Veličina i disperznost čestica određena je fotonskom korelacijskom spektroskopijom, PCS. Iz rezultata određivanja veličine nanostrukturiranih lipidnih nosača moguće je opaziti da se s povećanjem brzine visokoturažnog miješanja smanjuje veličina nanostrukturiranih lipidnih nosača. Takva opažanja su očekivana jer je povećanjem brzine visokoturažnog miješanja izraženiji proces dispergiranja lipidne disperzne faze u vodenom disperzijskom sredstvu. Povećanjem brzine miješanja indeks polidisperznosti se smanjuje, dok povećanjem udjela vode raste. Značajke nanostrukturiranih lipidnih disperzija podvrgnute su i vizualnom ispitivanju pri čemu se zapažala njihova homogenost i izlučivanje na stijenku čaše.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 25 stranica, 4 grafičkih prikaza, 5 tablica i 39 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Nanostrukturirani lipidni nosači, veličina čestica, polidisperznost

Mentor: **Dr. sc. Ivan Pepić**, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Ivan Pepić**, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

**Dr. sc. Anita Hafner**, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

**Dr. sc. Dubravka Vitali Čepo**, *izvanredna profesorica, Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: srpanj, 2017.

## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Department of Pharmaceutical  
Technology  
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### Influence of process parameters on partical size of nanostructured lipid carriers

Luka Vitić

#### SUMMARY

Nanostructured lipid carriers (NLC) are the second generation of the lipid nanoparticle technology produced to improve nanoemulsions and liposomes. NLC are able to enhance the chemical stability of compounds sensitive to the light, oxidation and hydrolysis. Structure and composition of NLC determines release profil of incorporated compounds.

The aim of this study was to evaluate impact of process parameters for the production of NLC. High share homogenization and ultrasonication in association are techniques used to produce nanostructured lipid dispersions. Different partical size and polydispersity obtained by modification speed of homogenization and using different part of solid and liquid lipid, surfactant or mixtures of surfactant. Photon correlation spectroscopy (PCS) is used for particle size and polydispersity measurements. The result present that with the increased speed of homogenization smaller particle size of nanostructured lipid carrier were obtained. Such observation are expected because increased speed result more pronounced dispersing process of the lipid dispersion phase in the aqueous dispersion medium. By increasing the stirring speed, polydispersity is decreased, and increasing water content polydispersity is decreased. The features of nanostructured lipid dispersions were also subjected to a visual examination by observing their homogeneity and excretion on the glass wall.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 25 pages, 4 figures, 5 tables and 39 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Nanostructured lipid carriers, partical size, polydispersity

Mentor: **Ivan Pepić, Ph.D.** Assistant Professor University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Ivan Pepić, Ph.D.** Assistant Professor University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Anita Hafner, Ph.D.** Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Dubravka Vitali Čepo, Ph.D.** Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: July, 2017.

