

# POLIELEKTROLITNI KOMPLEKSI KOT OSNOVA ZA RAZVOJ NOVIH NANODELCEV IN NANOOBLOG

## POLYELECTROLYTE COMPLEXES AS A PLATFORM FOR DEVELOPMENT OF NOVEL NANOPARTICLES AND NANOCOATINGS

AVTOR / AUTHOR:

Asist. Janja Mirtič, mag. farm.<sup>1</sup>

Prof. dr. Ksenija Kogej, univ. dipl. kem.<sup>2</sup>

Prof. dr. Mirjana Gašperlin, mag. farm.<sup>1</sup>

Dr. Aleš Lapanje, univ. dipl. biol.<sup>3,4</sup>

Prof. dr. Julijana Kristl, mag. farm.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,  
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

<sup>2</sup> Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo,  
Večna pot 113, 1000 Ljubljana

<sup>3</sup> Inštitut za metagenomiko in mikrobne tehnologije, d.o.o.,  
Clevelandska ulica 19, 1000 Ljubljana

<sup>4</sup> Saratov State University,  
83 Astrakhanskaya Street, Saratov, 410012, Ruska federacija

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:  
janja.mirtic@ffa.uni-lj.si

### POVZETEK

Nastanek polielektrolitnih kompleksov temelji na ionskih interakcijah med ioniziranim polimerom (polielektrolitom) in spojino z nasprotnim nabojem, ki je lahko polimer, protein, površinsko aktivna snov oziroma katera koli spojina z nabojem. Zdravilne učinkovine lahko spadajo v katero od naštetih kategorij in se v te komplekse vgradijo na osnovi ionskih interakcij, lahko pa so vgrajene preprosto z mehaniškim ujetjem med nastankom kompleksa. Nastanek polielektrolitnih kompleksov je spontan, vendar je treba pri oblikovanju upoštevati številne dejavnike, med katerimi je najpomembnejše prav razmerje nabojev ioniziranih skupin, ki odločilno vpliva na koloidno stabilnost nastalih kompleksov. Za ugotavljanje mehanizma kompleksiranja in vrednotenje nastalih kompleksov so znane številne metode. Polielektrolitni kompleksi so pogosto predmet raziskav in uporabe predvsem kot funkcionalni polimerni dostavni sistemi učinkovin. Pri zadnjih so v ospredju predvsem nanodostavni sistemi, kjer so polielektrolitni kompleksi osnova za njihov nastanek ter omogočajo prirejeno sproščanje učinkovin, njihovo zaščito pred razgradnjo in ciljano dostavo.

### KLJUČNE BESEDE:

Polielektroliti, kompleksiranje, ionske interakcije, dostavni sistemi, prirejeno sproščanje

### ABSTRACT

Polyelectrolyte complexes are based on ionic interaction between the charged polymer (polyelectrolyte) and the substance with the opposite charge, which can be a polymer, a protein, a surfactant or any other charged substance. Active pharmaceutical ingredients that fall in any of the aforementioned categories, can be incorporated into these complexes based on the electrostatic interaction, or can be simply physically entrapped into the complex during its formation. The polyelectrolyte complex formation is spontaneous, although it is important to take into the consideration many different parameters that can affect it. Amongst them the most important one is the charge ratio of the components, which has crucial impact on the colloidal stability of the formed complexes. This concept of complexation can be used in the development of

functional polymer drug delivery systems, where the nanodelivery systems are very well investigated, where polyelectrolyte complexation can enable the controlled drug release, the protection of the drug from degradation or targeted drug delivery.

#### KEYWORDS:

Polyelectrolyte, complexation, ionic interactions, delivery systems, controlled release

# 1 UVOD

Polielektrolitni (PEL) kompleksi postajajo vse pomembnejši v razvoju dostavnih sistemov (DS) zdravilnih učinkovin. Kompleksiranje temelji na ionskih interakcijah med ioniziranim polimerom (polielektrolitom) in spojino z nasprotnim nabojem, ki je lahko polimer, protein, površinsko aktivna snov oziroma katera koli spojina z nabojem. Izdelava DS zahteva dobro poznavanje fizikalno-kemijskih lastnosti zdravilnih učinkovin (ZU) in polimerov ter nadzorovano makro- in mikromolekularno strukturo tvorjenih kompleksov (1). PEL-komplekse lahko uporabljamo za izdelavo nano DS, v katere lahko vgrajujemo nizkomolekularne ZU ter peptide, proteine in nukleinske kisline. Metoda PEL-kompleksiranja poteka pri blagih pogojih in tako zavaruje izbrano ZU. Poleg tega je izbira polionov, ki lahko tvorijo nosilni sistem, velika in ponuja možnost za pripravo različnih farmacevtskih oblik za različne načine aplikacije (2).

# 2 POLIELEKTROLITNO KOMPLEKSIRANJE

PEL so polimeri, ki nosijo negativni ali pozitivni naboj, PEL-kompleksiranje pa je fizikalno premreženje, ki nastane med molekulami PEL in spojinami z nasprotnim nabojem. Te so lahko dvovalentni oziroma večvalentni ioni (npr.  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) (3), polimeri z nasprotnim nabojem (alginat in hitosan (4)), ionske površinsko aktivne snovi (cetilpiridinijev klorid, benzalkonijev klorid) ali pa ZU z nabojem ali površinsko aktivnimi lastnostmi. Izmed slednjih velja posebej omeniti še biofarmacevtike (peptide, proteine in nukleinske kisline), ki so posebna vrsta ZU ter so najpogostejše hidrofilne molekule

z veliko molekulsko maso in gostoto nabojev. Glede na naravo premreževala za nastale komplekse uporabljamo različna poimenovanja (slika 1).

Izbrani PEL za razvoj DS morajo biti biokompatibilni, biorazgradljivi, stabilni ter netoksični in neimunogeni. Tem merilom ustrezajo predvsem polimeri naravnega izvora, na primer polisaharidi in njihovi derivati, ki zaradi nabitih monomernih enot omogočajo PEL-kompleksiranje (Na-alginat, Na-pektin, karagenani). Glede na zelene lastnosti DS prilagajamo izbiro polimera tudi glede na njegovo hitrost razgradnje, molekulsko maso in gostoto naboja, od katere je odvisna jakost ionskih interakcij v kompleksu. Vse pogosteje srečamo tudi PEL polsinteznega (karboksimetilceluloza, dekstran in derivati, hitosan) in sinteznega (polialilamin klorid, poliakrilna kislina, polistirensulfonat) izvora (5).

## 2.1 IONSKI KOMPLEKSI

Metodo ionskega premreženja že zelo dolgo uporabljamo za pripravo hidrogelov in mikro- ali nanodelcev (ND), kjer ti nastanejo s premreženjem hidrofilnih PEL z nasprotno nabitimi dvovalentnimi ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) ali večvalentnimi ioni ( $\text{PO}_4^{3-}$ , citrat, tripolifostat). Mehanizem vezave je natančno znan za interakcijo med  $\text{Ca}^{2+}$  in Na-alginatom, kjer nastane struktura, znana kot »škafca«. Z ionskim premreženjem lahko nastanejo ND le v razredčenih raztopinah polimera, medtem ko v bolj koncentriranih sistemih lahko pride do nastanka hidrogela ali agregatov (6).

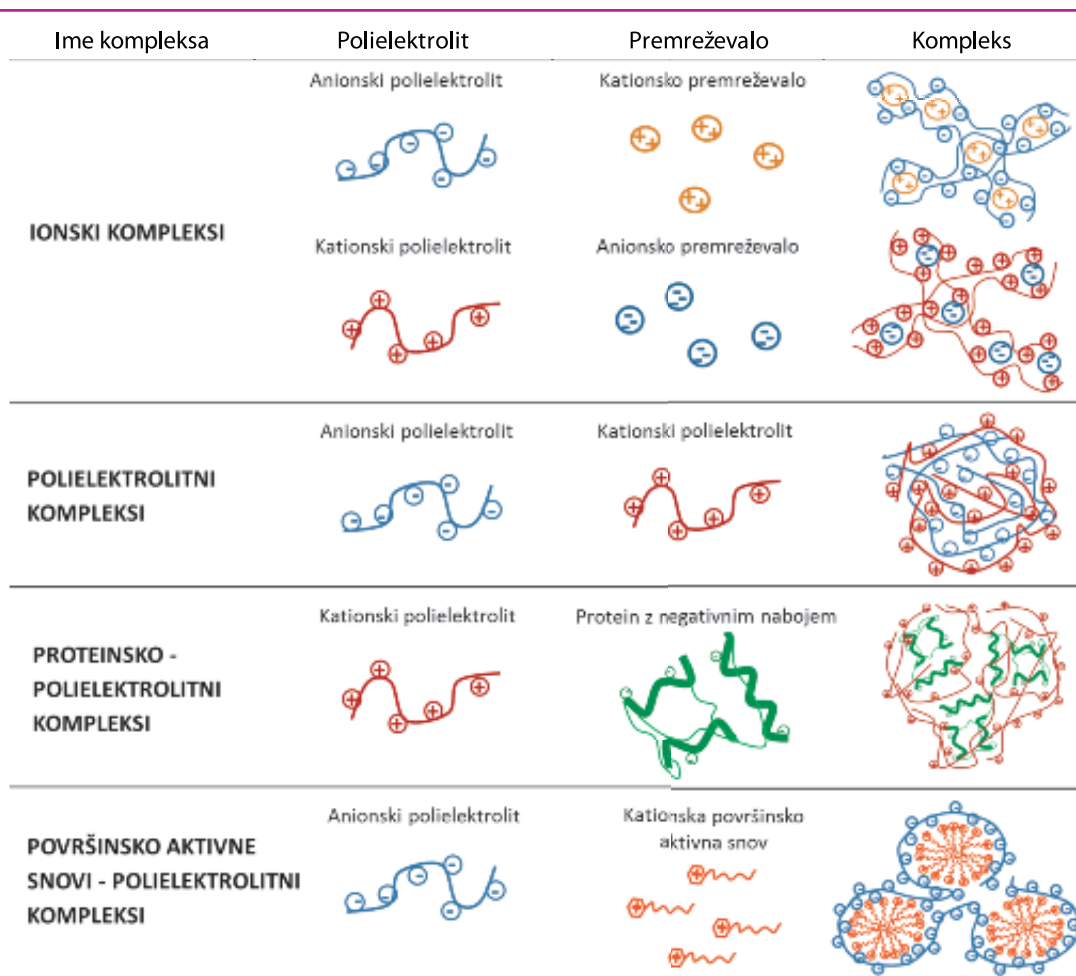
## 2.2 POLIELEKTROLITNI KOMPLEKSI

PEL-kompleksiranje med dvema nasprotno nabitima PEL je lahko osnova za razvoj mikro- in ND, ki jih nekateri imenujejo PEL-kompleksni ND. Slika 1 kaže, da že med enostavnim mešanjem razredčenih raztopin nasprotno nabitih PEL nastanejo nanometrične strukture (2). Mehanizem njihovega nastanka temelji na kinetično nadzorovanem povezovanju nasprotno nabitih PEL. Nastanek PEL-kompleksov lahko zaznamo vizualno kot prehod transparentne disperzije v opalescentno oziroma motno disperzijo homogenega videza (7).

## 2.3 PROTEINSKI POLIELEKTROLITNI KOMPLEKSI

Proteini so makromolekule, sestavljene iz dolgih verig aminokislinskih preostankov, povezanih s peptidnimi vezmi. Za njihovo funkcijo so poleg primarne pomembne tudi sekundarna, terciarna in kvartarna struktura. S farmacevt-





Slika 1: Shema različnih vrst kompleksov, v katerih so udeleženi polielektroliti.

Figure 1: Scheme of different types of complexes with polyelectrolytes.

skega vidika nas zanimajo predvsem proteini kot ZU, denimo protitelesa, antigeni, encimi in hormoni. Interakcije med proteini in PEL lahko prispevajo bodisi k stabilizaciji proteina bodisi k njegovi denaturaciji. Pomembno je, da proteini ne vsebujejo nečistot ter so fizikalno in kemijsko stabilni ves čas, od priprave ZU in DS, med shranjevanjem ter tudi med dostavo do ciljanega mesta. Za izbrani protein je zato zelo pomembna pravilna izbira PEL, ki prepreči agregacijo in denaturacijo proteina ter tako ohrani njihovo integriteto in biološko aktivnost (8).

Kompleksi med PEL in nasprotno nabitim proteinom temeljijo na elektrostatskih interakcijah, določen delež pa lahko doprinesejo tudi vodikove vezi ter šibke van der Waalsove vezi. Nastanek koloidnih delcev je hiter; primarni delci nastanejo hipno zaradi zmanjšanja topnosti izhodiščnih makromolekul, do katere pride zaradi združitve razto-

pin nasprotno nabitih PEL in proteinov. Primarni delci se lahko združujejo v večje skupke zaradi naključnih medsebojnih trkov, do katerih prihaja med Brownovim gibanjem. S tem njihova velikost naraste (1-2  $\mu\text{m}$ ), tako kot opisuje koagulacijska teorija Smoluchowskega (8).

## 2.4 POVRŠINSKO AKTIVNE SNOVI – POLIELEKTROLITNI KOMPLEKSI

Posebno zanimivo področje, ki prav tako zadeva PEL-kompleksiranje, so sistemi ionskih površinsko aktivnih snovi (PAS) in PEL. Ti so zanimivi za farmacijo, ker se tudi nekatere ZU zaradi svoje amfifilne zgradbe obnašajo kot PAS. PAS imajo tudi sposobnost samozdruževanja (*self-association*) v micelle oziroma druge vrste asociacijskih struktur (dvoplasti, tekoči kristali). Na tem mestu jih omejnemo zato, ker nastanek kompleksov med nasprotno na-

bitima polimerom in PAS temelji na ionskih interakcijah med obema, dodatno pa k tvorbi PAS-PEL-kompleksa prispevajo tudi hidrofobne interakcije med lipofilnimi verigami PAS (9). Molekule PAS se namreč v vodi uredijo v micela, v katerih se s svojimi hidrofobnimi verigami obrnejo proti notranjosti in tako zmanjšajo stik slednjih z vodo. V raztopini PAS in nasprotno nabitega PEL je zaradi medsebojnih interakcij v bližini PEL lahko tudi do 1000-krat večja koncentracija PAS kot v okoljni raztopini. Tako je lokalno dosežena kritična micelarna koncentracija (KMK) PAS pri veliko manjših koncentracijah, kot je njena vrednost za določeno PAS v vodi. To privede do tvorbe »micelom podobnih asociatov« v bližini polimera. Interakcije komponent kompleksa so kooperativne narave, kar pomeni, da se na PEL ne vežejo posamezne molekule PAS, temveč njihovi miceli; slednji so navzven obrnjeni z ioniziranimi polarnimi glavami, ki tvorijo močne interakcije s PEL (slika 1). Koncentracijo, pri kateri se začne kooperativna vezava micelov na PEL, definiramo kot kritično asociacijsko koncentracijo PAS v raztopini PEL. Vezava vodi v nastanek micelom podobnih agregatov vzdolž polimerne verige, kar poimenujejo *verižici podobna struktura (necklace-like model)* (9). Povezava med PEL in miceli PAS je zelo močna in nastane hipoma, saj je površina slednjih močno nabita, zaradi velikega števila molekul PAS, ki tvorijo posamezen micel. S povečevanjem elektrostatskih interakcij in hidrofobnega učinka se kompleksi »kompaktirajo« in tako stabilizirajo. Tako nastanejo PAS-PEL-kompleksi nanometer-skih velikosti (7).

### 3 KRITIČNI PARAMETRI ZA NASTANEK POLIELEKTROLITNIH KOMPLEKSOV

Od številnih parametrov je odvisno, ali bodo PEL-kompleksi nastali, katere vrste kompleksov bodo nastale ter kakšne bodo njihove velikost, lastnosti in uporabnost. Glede na cilje, ki jih želimo doseči, je tako potrebna skrbna izbira komponent ter prilagajanje parametrov sistema in okolja. Parametri, ki bistveno vplivajo na PEL-kompleksiranje, so: razmerje nabojev, od katerega je odvisna predvsem koloidna stabilnost nastalih kompleksov (2), lastnosti PEL (vrsta in gostota naboja, molekulska masa, viskoznost, dolžina vztrajnosti – *persistence length*), hidrofobnost in ionski značaj premreževal, koncentracije uporabljenih komponent ter pH in ionska moč disperznega medija (7).

## 4 METODE ZA VREDNOTENJE POLIELEKTROLITNIH KOMPLEKSOV

S tehnološkega in biofarmacevtskega vidika je pri PEL-kompleksih pomembno poznavanje tako mehanizma njihovega nastanka kot tudi njihovih lastnosti. Za razumevanje mehanizma vezave uporabljamo metode, ki pripomorejo k razumevanju interakcij med nasprotno nabitimi komponentami, kar hkrati omogoča tudi razlago načina sproščanja učinkovine (10). Primerne metode so izotermna titracijska kalorimetrija, potenciometrija z ionoselektivno elektrodo, elektroforeza in dializne metode (11). Za vrednotenje lastnosti kompleksov, ki so pomembne za določen DS in lahko vplivajo na njegovo stabilnost oziroma funkcionalnost, pa uporabljamo naslednje metode: fotonsko korelacijsko spektroskopijo za določanje velikosti in polidisperznosti delcev, lasersko Dopplerjevo elektroforezo za določanje zeta potenciala delcev (12), spektroskopske meritve za določanje nastanka kompleksov, rentgensko sipanje pod majhnim kotom (SAXS) za določanje oblike kompleksov in zgradbe znotraj delcev (7) ter elektronsko mikroskopijo za opazovanje morfologije delcev. Pomembna je tudi določitev deleža vgrajene ZU, za kar uporabljamo različne kromatografske (HPLC, UPLC) in spektroskopske tehnike (UV-Vis, IR, MS, Raman). Pri proteinskih ZU je pomembna tudi določitev njihove strukturne integritete in biološke aktivnosti po vgradnji v PEL-komplekse; za določanje integritete proteina najpogosteje uporabljajo poliakrilamidno gelsko elektroforezo v prisotnosti natrijevega lavrilsulfata (SDS-PAGE) in gelsko elektroforezo z izoelektričnim fokusiranjem (IEF), za določanje aktivnosti proteina pa encimsko imunoadsorpcijsko preiskavo (ELISA) in druge primerne tehnike.

## 5 POLIELEKTROLITNI KOMPLEKSI KOT DOSTAVNI SISTEMI

V biomedicini uporabljajo PEL-komplekse kot multifunkcionalne ter mestno specifične DS ali kot diagnostična sredstva, vse v odvisnosti od izbranega PEL. Kot DS se pojavljajo v različnih farmacevtskih oblikah, kot so nano- in mikrodelci, tablete, hidrogeli in filmi (13). ZU lahko vgradimo v PEL-kompleks že v fazi nastanka slednjega (na osnovi mehanskega ujetja), lahko jo pozneje adsorbiramo na površino že izdelanih kompleksov ali pa sodeluje pri na-



stanku kompleksa kot premreževalo. Zadnji primer je lahko osnova za sproščanje nadzorovano z ionsko izmenjavo, ki omogoča podaljšano sproščanje ZU. Sproščanje ZU iz PEL-kompleksov je lahko nadzorovano tudi na druge načine, navadno v povezavi s spremembami na obolelem mestu, npr. s spremembo temperature, redoks potenciala, pH na mestu vnetja, z encimsko razgradnjo ali svetlobo (14). V tem pregledu se bomo usmerili predvsem na PEL-kompleksne ND, obenem pa se bomo dotaknili tudi nekaterih drugih DS, pri katerih se PEL-kompleksiranje komplementarno uporablja za njihovo stabilizacijo.

## 5.1 PRIPRAVA NANODELCEV Z IONSKIM KOMPLEKSIRANJEM

Farmacevtska nanotehnologija je usmerjena v načrtovanje in izdelavo polimernih ND kot DS. Izbira metode izdelave je odvisna predvsem od narave ZU, mesta njenega delovanja in pomožnih snovi. Ionsko geliranje in PEL-kompleksiranje temeljita na ionskih interakcijah ter tvorbi kompleksov med nasprotno nabitimi funkcionalnimi skupinami (6). Priprava polimernih ND z ionskim premreženjem je že dolgo znana metoda, pri kateri običajno uporabljamo ione  $\text{Ca}^{2+}$  za premreženje anionskih PEL in tripolifosfat za premreženje pozitivno nabitega hitosana (12). Kompleksiranje dveh nasprotno nabitih polimerov prav tako uporabljamo za tvorbo ND. V literaturi največkrat zasledimo ND iz hitosana in alginata ali hialuronske kisline za dostavo majhnih molekul, kot so vitamin  $\text{B}_2$  (4), nifedipin (15), paklitaksel (16), in visokomolekularnih ZU, kot je inzulin (17). Hitosan kot osnovni polimer za različne DS pogosto preiskujejo v kombinaciji tako z makromolekulami naravnega izvora (dekstran sulfat, hialuronska kislina, želatina, ksantan) kot s sintezniimi polimeri (poliakrilna kislina, kopolimer metakrilne kisline in metilmetakrilata) (18).

## 5.2 POLIELEKTROLITNI KOMPLEKSI ZA DOSTAVO PEPTIDOV IN PROTEINOV

Specifičen primer uporabe PEL-kompleksov so tudi DS za proteinske ZU, ki so zelo občutljive za razmere med izdelavo DS in hidrolitično razgradnjo v telesu (17, 19). Z vgradnjo proteinskih ZU v PEL-komplekse se želijo izogniti intravenski aplikaciji in omogočiti druge načine vnosa, na primer peroralno (pri čemer protein s kompleksiranjem zaščitimo pred razgradnjo) ali subkutano (pri čemer s kompleksiranjem dosežemo upočasnjeno sproščanje). Pri razvoju DS imajo prednost biokompatibilni polimeri, kot so derivati celuloze, poli-L-arginin in hialuronska kislina (19). Izmed proteinov, ki jih v PEL-komplekse vgradimo na osnovi fizikalnih interakcij, je na splošno najbolj proučevan modelni protein inzulin, ki ima dovolj nega-

tivnih nabojev, da tvori ionske interakcije s pozitivno nabitimi polimeri brez uporabe dodatnih premreževal (20).

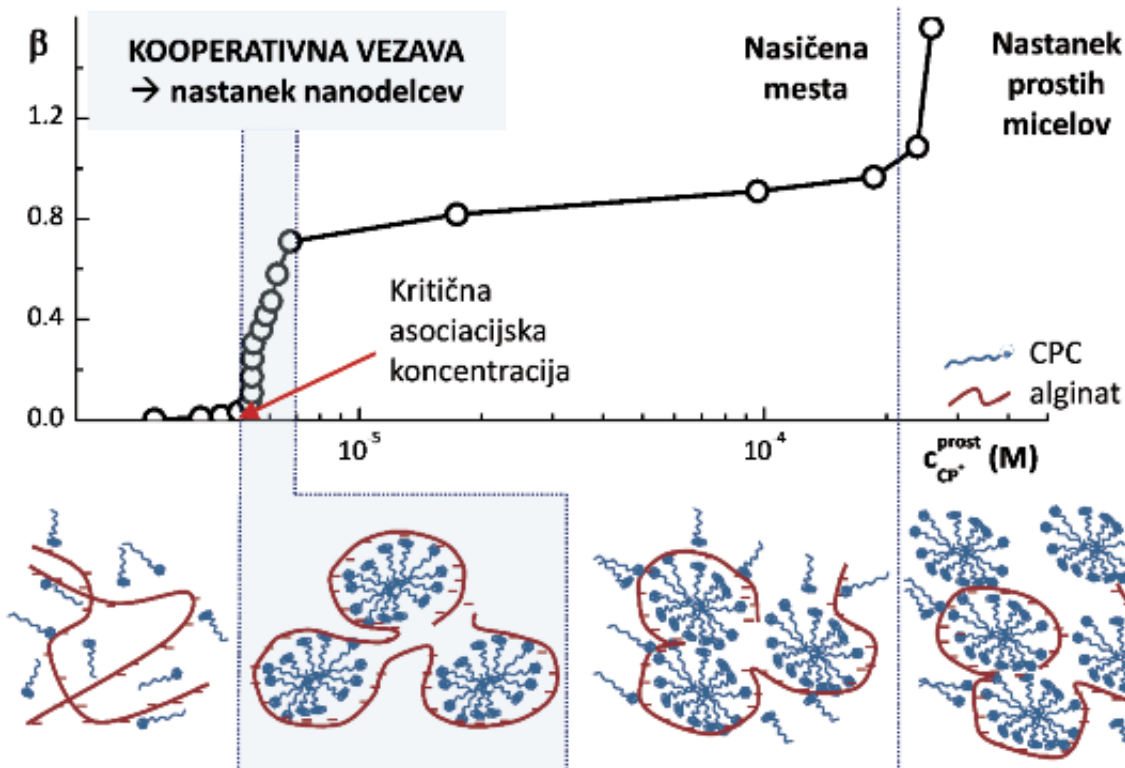
S pomočjo PEL-kompleksov so na primer pripravili tudi DS s prirejenim sproščanjem za dostavo v kolon; specifični PEL-kompleksi preprečijo hidrolitično razgradnjo proteinov v želodcu in tankem črevesju, razgradijo pa se pod vplivom encimov v kolonu. Tako so izdelali kapsule s premerom ~ 2 mm, sestavljene iz vodotopnega hitosana, Na-celuloznega sulfata in natrijevega polifosfata, za dostavo laktoferina (globularni protein s protimikrobnim delovanjem). S pomočjo nasprotno nabitih polimerov so dosegli tvorbo tanke ovojnice PEL-kompleksa, ki zaščiti protein v notranjosti (21).

V literaturi je opisan tudi razvoj mikrodelcev iz biorazgradljivih polimerov za subkutano dostavo eritropoetina. S ciljem podaljšanega sproščanja, ki bi omogočilo manj pogosto injiciranje zdravila (enkrat tedensko ali mesečno namesto običajnih vsakodnevnih injekcij), so eritropoetin kompleksirali s serumskim albuminom in poli-L-lizinom ter nato inkapsulirali v kopolimer mlečne in glikolne kisline (PLGA) (22).

V DS lahko proteine uporabimo tudi za funkcionalizacijo izdelanih delcev in ne zgolj kot ZU. Najpogosteje za ciljano dostavo uporabljamo protitelesa, ki jih vežemo na površino nano DS s kovalentnimi ali ionskimi vezmi. V literaturi je opisana tvorba PEL-kompleksov med hitosanom in dekstran sulfatom ter hitosanom in heparinom, kjer so kot modelno ZU uporabili adenozin monofosfat, na površino pripravljenih kompleksov pa so adsorbirali različna monoklonska protitelesa IgA (na osnovi elektrostatskih interakcij s PEL) (7).

## 5.3 KOMPLEKSI POVRŠINSKO AKTIVNIH SNOVI IN POLIMERA KOT DOSTAVNI SISTEMI

Interakcije med ionsko PAS in PEL nasprotnega naboja lahko vodijo do spontanega nastanka ND. Če ionsko PAS nadomestimo z nabito amfifilno ZU, lahko takšni kompleksi služijo tudi kot osnova prirejenega sproščanja iz klasičnih farmacevtskih oblik (23). Primer ZU, ki je obenem PAS, je cetilpiridinijev klorid (CPC), ki je kationska piridinijeva spojina z antiseptičnim delovanjem in dokazano učinkovitostjo v zgodnjih stadijih parodontoze (24). V sistemu CPC-anionski PEL pride do kompleksiranja in nastanka ND ob upoštevanju pravega molskega razmerja nabojev in koncentracije obeh spojin. V našem primeru smo kot PEL uporabili Na-alginat, ki je biokompatibilen, biorazgradljiv in mukoadheziven polimer. Izdelali smo okrogle cetilpiridinijeve-alginatne ND premera 150-200 nm, z monomodalno porazdelitvijo velikosti in negativnim zeta potencialom ( $< -30$  mV) ter velikim deležem vgradnje ZU (95 %) (25). Hkrati smo s po-



Slika 2: Vezavna izoterma cetilpiridinja in alginata v vodi ( $\beta$  vs.  $C_{CP^+}^{prost}$ ) ter shematski prikaz nastanka cetilpiridin-alginatnih ND.  $\beta$  predstavlja delež ionskih mest na alginatni verigi, zasedenih z ioni  $CP^+$ , in je v vezavni izotermi predstavljen v odvisnosti od prostih ionov  $CP^+$  ( $C_{CP^+}^{prost}$ ).  
 Figure 2: Binding isotherm for binding of cetylpyridinium cation by alginate in water and schematic presentation of cetylpyridinium-alginate nanoparticles formation.  $\beta$  represent the fraction of alginate ionic sites occupied by  $CP^+$  cations and is presented in dependence on free  $CP^+$  ions.

tenciometrijo proučevali mehanizem vezave z uporabo membranske ionoselektivne elektrode, specifične za cetilpiridinijev kation. Kot rezultat smo dobili vezavne izoterme, ki dokazujejo kooperativno vezavo med  $CP^+$  in alginatom in povedo, v katerem molskem razmerju je ta optimalna. Slika 2 prikazuje vezavno izotermo v vodnem mediju, ki po obliki nakazuje na kooperativno vezavo; nad kritično asociacijsko koncentracijo se v bližini alginatnih verig tvorijo miceli CPC, ki se v trenutku (z ionskimi vezmi) vežejo na alginat ter tvorijo agregate nanometrskih velikosti (25).

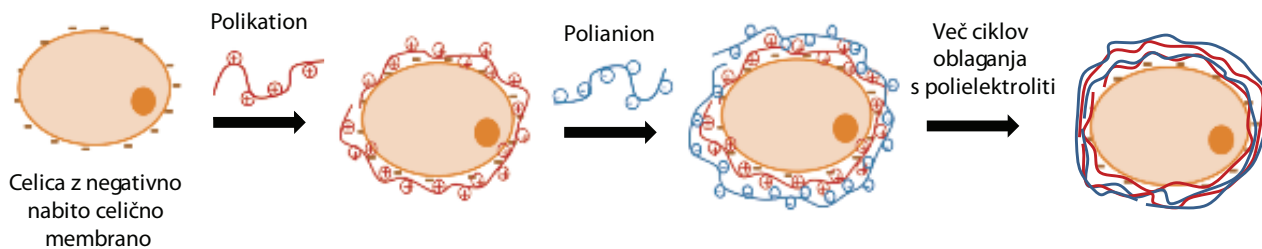
## 6 POLIELEKTROLITNO OBLAGANJE

PEL-kompleksiranje lahko uporabljamo tudi komplementarno z drugimi metodami za pripravo različnih DS, predvsem

za stabilizacijo DS in nadzorovano sproščanje ZU. Tak primer je metoda oblaganja s PEL plast-na-plast oziroma plastenje (LBL, *layer-by-layer deposition method*), pri kateri se na površini oblaganega delca tvori tanek film, sestavljen iz več plasti nasprotno nabitih PEL, ki tvorijo ovojnico ter tako zaščitijo vgrajeno ZU. Nastala tanka ovojnica omogoča tudi nadzorovano sproščanje ZU, ker plasti PEL delujejo kot difuzijska membrana. Priprava je relativno enostavna, in sicer oblaganec, DS v našem primeru, izmenično izpostavljamo raztopinam PEL s pozitivnim in negativnim nabojem. S postopnim nalaganjem plasti se povečuje debelina obloge; z debelino slednje (od nekaj nm do nekaj  $\mu$ m) pa lahko prilagajamo hitrost sproščanja ZU iz končne oblike (26).

### 6.1 POLIELEKTROLITNO OBLAGANJE CELIC

Tehniko plastenja s PEL lahko uporabljamo tudi za oblaganje živih celic, tako evkariontskih kot prokariontskih. Cilj takšnega oblaganja je bodisi sprememba naboja in struk-



Slika 3: Oblaganje celic z metodo plastenja.

Figure 3: Layer by layer nanoencapsulation of cells.

ture celične površine bodisi priprava osnovnega sloja za pritrjanje encimov, rastnih dejavnikov, proteiteles itd. Evkariontske celice imajo zaradi nanoobloge izboljšane nekatere lastnosti, kot je mehanska odpornost med shranjevanjem in rokovanjem z njimi. Take celice imajo velik potencial v zdravljenju in regenerativni medicini, kjer bi jih lahko uporabili kot napreden DS, ki bi v telesu proizvajal in ciljano dostavljal zelene faktorje oziroma snovi za določen terapevtski pristop. Poleg tega je možno s spremembo naboja celice tvoriti večcelične agregate, ki predstavljajo možnost priprave psevdotkiv.

V zadnjem času veliko pozornosti namenjamo vplivu mikroorganizmov na človeško zdravje. Zanimivo je dejstvo, da je število celic mikroorganizmov mikroflora enako, če ne celo večje, od števila celic, lastnih človeškemu telesu. Pri razvoju naravne imunosti mikroorganizmi pogosto sodelujejo tako, da se pritrjajo na površino epitelija. Metoda polielektrolitnega oblaganja bakterijskih celic je zato izredno uporabna pri njihovi imobilizaciji na različne površine. Poleg tega je spreminjanje bakterijske površine možno uporabiti pri metodah usmerjene bakterifekcije v celičnih kulturah, to je vnosa DNK. Najnovejše raziskave nakazujejo, da je možno uporabljati določen sev bakterije *Listeria monocitogenes* pri zdravljenju metastaz karcinomov velikosti do nekaj milimetrov, ki jih trenutne diagnostične metode ne zaznajo. S spreminjanjem bakterijske celične površine lahko na eleganten način bakterijsko celico usmerimo na specifično mesto in jo na ta način uporabimo kot DS za ciljano dostavo (27).

Pri tem pa ne smemo spregledati nekaterih omejitev. Z oblaganjem namreč ne smemo vplivati na celično viabilnost, celici moramo zagotoviti tudi nemoteno oskrbo s hranili in kisikom ter funkcionalnost (sposobnost adhezije, proliferacije, celične diferenciacije), kar je močno odvisno od vrste uporabljenega PEL za oblaganje ter od števila nanosenih slojev. Poleg tega na samo učinkovitost oblaganja in preživelost celic vplivajo tudi pogoji, v katerih določen PEL uporabimo (na primer ionska jakost, vrsta ionov, temperatura) ter intrinzični faktorji

celic, kot so na primer velikost celice, debelina in tip celične stene (pri bakterijah) oziroma glikokaliksa (pri evkariontskih celicah) kot tudi vrsta oziroma sev celic, ki se med seboj popolnoma razlikujejo v zgradbi membrane in izvenmembranskih slojev. Dodatne zaplete pri oblaganju celic povročajo še izvencelični organeli, kot so na primer bički in migetalke, ki povzročajo agregacijo celic. Slika 3 prikazuje shemo oblaganja z metodo plastenja, kjer z izmeničnim nanašanjem polikationa ter polianiona tvorimo polielektrolitno ovojnico.

## 7 SKLEP

Iz predstavljenih primerov je razvidno, da je raziskovalno področje PEL-kompleksiranja v velikem razmahu. PEL-kompleksi imajo v oblikovanju zdravil velik potencial tako za razvoj novih DS kot za izboljšanje funkcionalnosti že obstoječih. Omogočajo vgradnjo biofarmaceutikov in nizkomolekularnih ZU, oblikovanje sistemov za prirejeno sproščanje ZU, izboljšajo stabilnost vgrajenih spojin ter omogočajo njihovo ciljano dostavo. Posebej pomembni so pri razvoju novih nanodostavnih sistemov za ZU, kamor se tudi usmerja velik del raziskav na tem področju. V prihodnjih letih lahko pričakujemo prenos bazičnih raziskav v industrijsko prakso, kar se bo odražalo v novih zdravilih, ki bodo temeljila na PEL-kompleksih.

## 8 LITERATURA

1. Tang Y, Heaysman CL, Willis S et al. Physical hydrogels with self-assembled nanostructures as drug delivery systems. *Expert Opin Drug Deliv* 2011; 8 (9): 1141-1159.