

UDK 615 (497.11)

ISSN 0004-1963 (Štampano izd.)

ISSN 2217-8767 (Online)

ARHIV ZA FARMACIJU

Godina 63

Broj 3

Beograd, 2013.

ČASOPIS SAVEZA
FARMACEUTSKIH
UDRUŽENJA SRBIJE

3/2013

SADRŽAJ – CONTENTS

Pregledni radovi/Review articles

- **Mara Aleksić, Vera Kapetanović** 279

Interakcije lekova i DNK– osobine i detekcija

Drug - DNA Interactions - Properties and Detection

- **Katarina Nikolić, Slavica Filipić, Danica Agbaba** 293

Ligandi I₁-Imidazolinskih receptora sa centralnim antihipertenzivnim dejstvom

I₁-Imidazoline Receptors Ligands as central antihypertensives

Originalni naučni radovi – Original scientific papers

- **Nataša Bogavac-Stanojević, Zorana Jelić-Ivanović, Lidija Memon, Aleksandra Zeljković, Jelena Vekić, Jelena Kotur-Stevuljević, Vesna Spasojević-Kalimanovska** 307

Biomarkeri prehipertenzije

Biomarkers of prehypertension

Stručni radovi - Professional papers

- **Ljiljana Đekić, Radojka Đukić, Gordana Vučeta** 319

Nanomaterijali u kozmetičkim proizvodima– opravdanost primene i bezbednost

Nanomaterials in cosmetic products – functionality and safety issues

Prilozi – Contributions

- **Izveštaj sa 60. simpozijuma Saveza farmaceutskih udruženja Srbije, Kopaonik, 23-26. maj 2013.** 335
- **Prikaz knjige „Trovanja lekovima-odabrana poglavlja”** 344
- **Prikaz „Priručnika za stažere diplomirane farmaceute” – drugo izdanje** 346

Interakcije lekova i DNK– osobine i detekcija

Mara M. Aleksić^{1*}, Vera Kapetanović²

¹Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za fizičku hemiju i instrumentalne metode, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

²Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za analitičku hemiju, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

*adresa za korespondenciju: Mara Aleksić,

Univerzitet u Beogradu-Farmaceutski fakultet, Katedra za fizičku hemiju i instrumentalne metode, tel: +38111 3951 294; e-mail:mara@pharmacy.bg.ac.rs

Kratak sadržaj

Kompleks sa dezoksiribonukleinskom kiselinom (DNK) gradi veliki broj neorganskih i organskih jedinjenja, među kojima su od posebnog značaja lekovi iz grupe hemioterapeutika. U radu je dat pregled strukturalnih karakteristika DNK molekula i tipova interakcija (kovalentne i nekovalentne) koje se javljaju između molekula leka i DNK. Kovalentno vezivanje leka za DNK je ireverzibilno i vodi ka kompletnoj inhibiciji funkcija DNK što dovodi do smrti ćelije, dok je nekovalentno vezivanje reverzibilno i zasniva se na principu molekularnog prepoznavanja. Posebna pažnja je posvećena objašnjenju specifičnih mesta u molekulu DNK na kojima dolazi do vezivanja leka, u zavisnosti od strukturalnih karakteristika molekula leka. Najveći broj lekova koji reaguju nekovalentno su interkalatni agensi, a pored njih postoje i lekovi koji se vezuju za mali ili veliki žljeb molekula DNK.

Prilikom građenja ovih kompleksa nastaju promene kako na molekulu DNK tako i na molekulu leka. U radu je dat pregled metoda koje se koriste u ispitivanju interakcija između leka i DNK sa ciljem detekcije i objašnjenja nastalih promena. U ovu svrhu koriste se spektroskopske metode, kao što su UV/VIS, infracrvena, ramanska i NMR spektroskopija, zatim spektroskopije polarizovane svetlosti: metode linearног i cirkularног dihroizma, fluorescentne anizotropije ili rezonancije, a u novije vreme i osetljivi D NK-biosenzori. Predstavljeni su literaturni rezultati dobijeni primenom navedenih metoda koji se koriste za utvrđivanje oštećenja na D NK molekulu, određivanje mesta specifičnog vezivanja leka, redosleda vezivanja, kao i za detekciju konformacionih promena nastalih usled lek-D NK interakcije.

Ključne reči: Lek, D NK, interakcija, spektroskopske metode, D NK-biosenzori.

Uvod

Dezoksiribonukleinska kiselina (DNK) [1-3] je prirodni produkt od ogromnog značaja za razumevanje mehanizma genetskih procesa, rasta, razvića i starenja ćelije. Otuda je razumljiv interes za proučavanje procesa na nivou interakcija DNK sa lekovima iz grupe hemioterapeutika. Vezivanje peptida, malih organskih i neorganskih molekula za DNK može uticati na brojne biološke procese u kojima učestvuje DNK, kao što su transkripcija ili replikacija [2, 3]. DNK započinje transkripciju ili replikaciju kada dobije signal od regulatornog proteina koji se vezao za njen određeni deo. Ako se umesto regulatornog proteina umeša neki drugi mali molekul, funkcija DNK se veštački menja, bilo da se inhibira ili aktivira. Ovi uticaji s jedne strane mogu usporiti ili potpuno sprečiti rast ćelije, dok s druge strane mogu dovesti do prekomerne produkcije nekog proteina i nekontrolisanog rasta ćelije. Kada nastala aktivacija ili inhibicija funkcije DNK deluje tako da leči ili kontroliše bolest, mali molekul predstavlja lek, dok je u suprotnom slučaju - citotoksični agens. Veoma obimnim hemijskim i biohemijskim ispitivanjima okarakterisan je veliki broj supstanci koje reaguju sa DNK molekulima, među njima su antivirusni, antibakterijski, antiprotozoalni i antitumorski agensi. Neki od njih se primenjuju u kliničkoj praksi, dok su drugi još uvek u fazi ispitivanja.

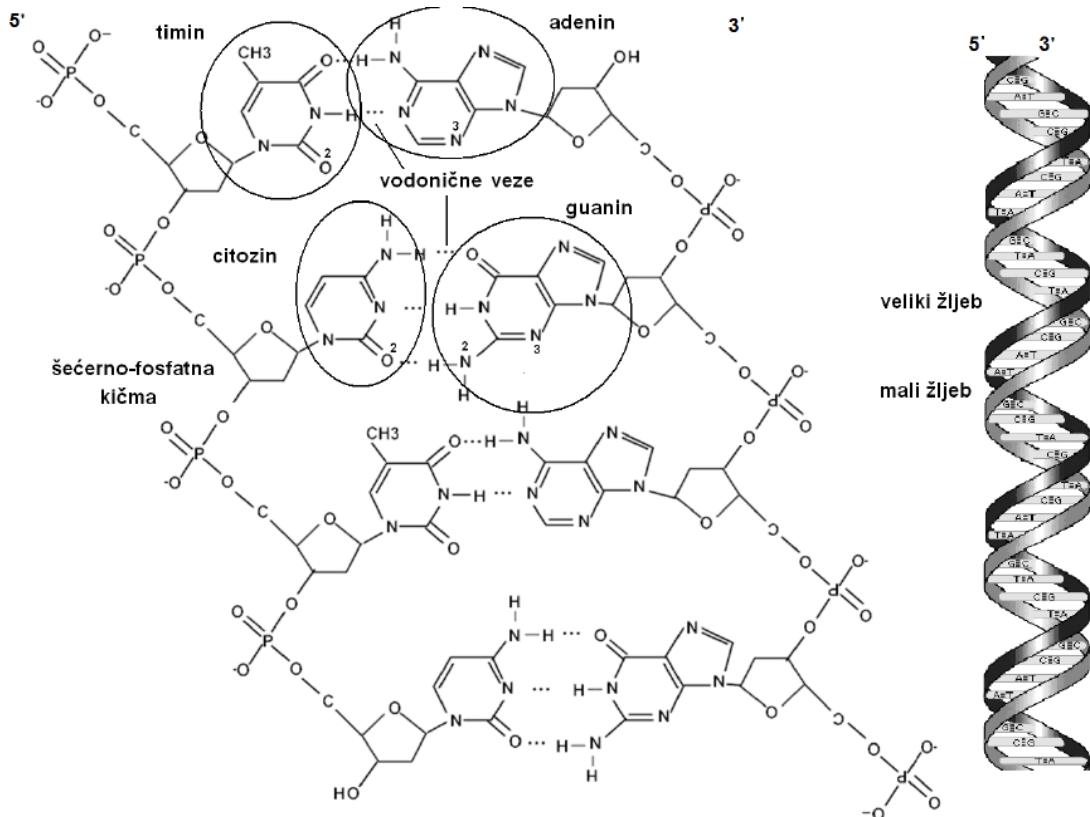
Primenom kristalografskih i NMR ispitivanja [4-6], u prethodnih dvadesetak godina, mnogo se saznao o konformacionoj fleksibilnosti DNK molekula, kao i o uticaju sekvence baza i ulozi molekula vode i kontrajona na ove parametre. Usledio je veliki izazov, prikupiti navedene podatke o kompleksima leka i DNK i na osnovu njih saznati što više o pravilima po kojima se dešava redosled specifičnog vezivanja leka (*eng. sequence specific binding*), te tako stići uvid u korelaciju između DNK strukture, sekvence vezivanja leka i aktivnosti.

Cilj ovoga rada je da se prikaže literurni pregled postojećih fizičkohemijских metoda koje se koriste u proučavanju interakcija između leka i DNK. Predstavljene su odabrane optičke i elektrohemijiske metode koje se primenjuju u ispitivanju mehanizma interakcije lek-DNK, za određivanje mesta specifičnog vezivanja leka, kao i za utvrđivanje oštećenja nastalih na DNK molekulu. Iako sve metode predstavljene u ovom radu imaju svoje specifičnosti, zajednički im je cilj da merljive biofizičke parametre povežu sa citotoksičnošću, tj. antitumorskom aktivnošću leka.

Veliki broj jedinjenja gradi komplekse sa DNK i to uglavnom kada je DNK u nativnoj formi, u obliku dvolančane spirale. Komplekse grade kako organski mali molekuli (prirodni ili sintetički proizvodi), tako i neorganska jedinjenja, kao što je cis-platina. Pre razmatranja metoda detekcije nastalih kompleksa, dat je kratak pregled strukturnih karakteristika dvolančane spirale molekula DNK, uz osvrt na raspoloživa mesta za interakciju sa lekovima i tip hemijskih veza koje se uspostavljuju između leka i molekula DNK.

Strukturne karakteristike molekula DNK

Dezoksiribonukleinska kiselina [1-3] je polinukleotid koji grade monomerne jedinice nukleotidi, jedinjenja koja se sastoje od azotne baze, purinske (adenin i guanin) ili pirimidinske (timin i citozin), monosaharida dezoksiriboze i fosforne kiseline (Slika 1). Azotna baza je N-glikozidnom vezom vezana za dezoksiribozu, a ova je fosfodiestarskom vezom vezana za fosfatnu grupu kiseline. Kada je u pitanju ceo polinukleotidni lanac onda su nukleotidi međusobno povezani fosfodiestarskim vezama između C3' ugljenikovog atoma jedne pentoze i C5' ugljenikovog atoma naredne pentoze u nizu. To su 3'-5' fosfodiestarske veze i činjenica da su one asimetrične, čini da ceo polinukleotidni lanac ima usmerenje. Osnovu sekundarne strukture DNK čini dvolančana spirala. Dva polinukleotidna lanca koja čine ovu spiralu su antiparalelna, što znači da se naspram 5' kraja jednog lanca nalazi 3' kraj drugog i obrnuto. Naspramne baze se povezuju vodoničnim vezama, a princip komplementarnosti, na kome se zasniva sekundarna struktura DNK, omogućava da redosled baza u jednom lancu automatski određuje redosled u drugom.



Slika 1. Struktura dvolančane spirale molekula DNK
Figure 1. Structure of double stranded DNA

Delovi molekula DNK preko kojih se odvijaju interakcije s malim molekulima su: negativno nanelektrisane fosfatne grupe (atomi kiseonika) u kičmi spirale, funkcionalne grupe u malom ili velikom žljebu koje mogu biti akceptor ili donori vodonika i aromatične hidrofobne komponente koje stupaju u Van der Valsove interakcije. Treba uzeti u obzir i to da je geometrija dvostrukе spirale, dubina i širina malih i velikih žljebova različita u različitim konformacijama (A, B i Z forma) DNK molekula. Pored ovoga, važnu ulogu u stabilnosti DNK molekula, ali i lek-DNK kompleksa, ima hidratacija, jer se smatra da i proces hidratacije zavisi od sekvene baza.

Tipovi DNK – lek interakcija

Lekovi stupaju u reakciju s molekulom DNK kovalentnim i nekovalentnim interakcijama.

Kovalentno vezivanje leka za DNK je ireverzibilno i nedvosmisleno vodi ka kompletnoj inhibiciji funkcija DNK, što dovodi do smrti ćelije. Cis-platina (Tabela I) je antitumorski lek i najpoznatije jedinjenje koje se kovalentno vezuje za DNK. Kovalentne veze se ostvaruju između atoma hlora cis-platine i atoma azota guanina, pri čemu dolazi do ukrštanja u samom lancu, kao i između lanaca DNK [7]. Pored cis-platine, još su dva antitumorska antibiotika našla veliku primenu u kliničkoj praksi. Mitioicin C je antitumorski antibiotik koji gradi kovalentne veze sa guaninom DNK samo u redukovanim stanju, tj. posle reduktivne aktivacije, a antramicin se kovalentno vezuje za azot N2 u guaninu smeštenom u malom žljebu DNK molekula.

Nekovalentno vezivanje leka za DNK je reverzibilno i poželjnije od kovalentnog, ako se imaju u vidu metabolizam leka i potencijalni toksični efekti. Jedan od glavnih principa hemije DNK je molekularno prepoznavanje, tj. proces u kome molekuli (mali ili veliki) selektivno prepoznaju jedni druge. Ovo se ispoljava kroz nekoliko tipova interakcija: elektrostatičke, vodonične veze i Van der Valsove (dipol-dipol). Stabilnost nagrađenog kompleksa lek-DNK zavisi od intenziteta ovih interakcija.

Lekovi koji reaguju nekovalentno mogu se svrstati u nekoliko grupa:

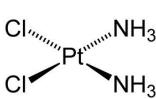
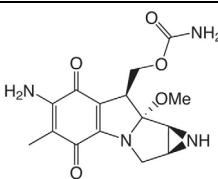
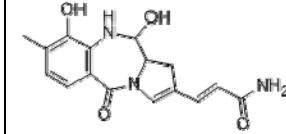
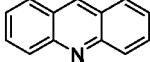
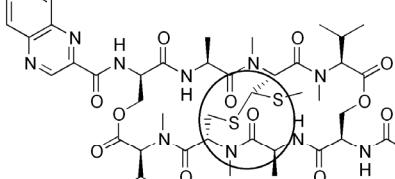
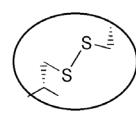
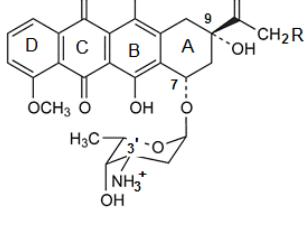
1. Interkalatni agensi
2. Lekovi koji se vezuju za mali žljeb
3. Lekovi koji se vezuju za veliki žljeb

Interkalatni agensi

Karakteristika interkalatora je da poseduju planarnu aromatičnu hromoforu koju čini nekoliko spojenih (fuzionisanih) šestočlanih prstenova s različitim supstituentima i amino šećerni ostatak. Interkalatori se dele na mono- i bifunkcionalne interkalatore, u zavisnosti od toga da li imaju jednu ili dve aromatične hromofore. Postoje prosti mono-interkalatori kao npr. akridin i oni složenije strukture (daunomicin, antraciclin) sa četiri

aromatična prstena i supstituentima u položajima 7 i 9 (Tabela I). Dve aromatične grupe u bifunkcionalnim interkalatorima razdvojene su nekim voluminoznim sistemom, kao što je krut ciklični peptidni sistem koji je kod ehinomicina i triostina A u svom centru stabilizovan kovalentno vezanim disulfidnim mostom (Tabela I).

Tabela I Lekovi koji reaguju s molekulom DNK kovalentnim i nekovalentnim interakcijama
Table I Drugs interacting with DNA, covalently and noncovalently

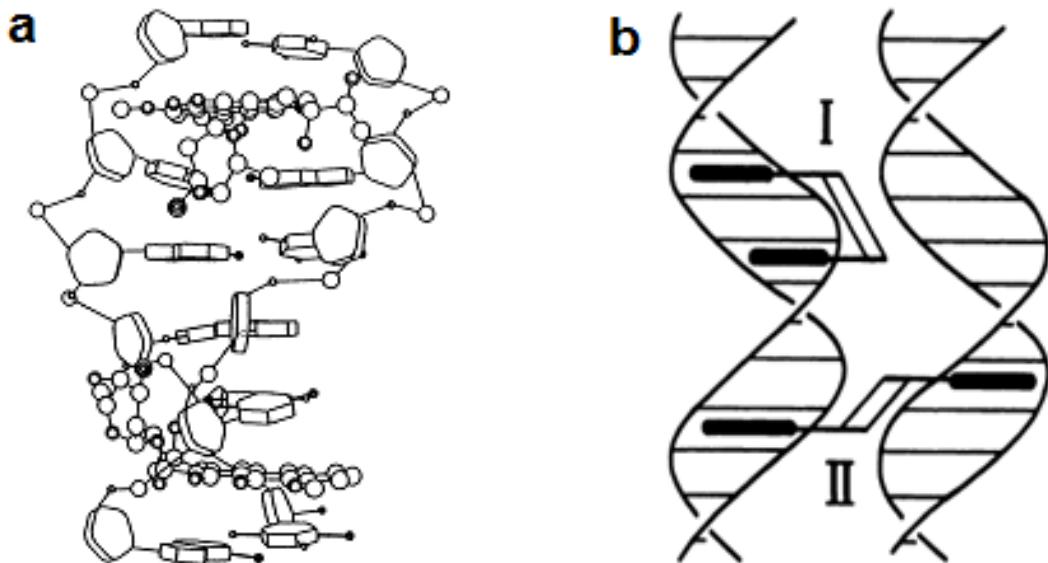
Lekovi koji stupaju u kovalentne interakcije sa DNK			
Cis-platina		Mitioicin C	Antramicin
			
Interkalatni agensi			
Mono-interkalatori		Bifunkcionalni interkalatori	
Akridin		Ehinomicin  Triostin A 	 R=H Daunomycin R=OH Adriamycin
Daunomicin			
Adriamicin			

Fenomen interkalacije predstavlja smeštanje aromatičnog dela molekula leka između parova baza (Slika 2a) [8]. Interkalatni agensi stupaju u hidrofobne interakcije s DNK, jer ovi lekovi imaju hidrofobne aromatične grupe koje reaguju s aromatičnim grupama baza DNK. Ukupna količina površinski vezane vode smanjuje se posle formiranja kompleksa. Interkalacija dovodi do povećanja rastojanja između susednih

parova baza, što bi moglo da prouzrokuje distorziju heliksa. Srećom, kičma spirale koju čini lanac šećernofosfatnih ostataka prilagođava se nastaloj promeni (odmotava se do određenog stepena) i kompenzuje nastalu distorziju. Veze koje se uspostavljaju između aromatičnih struktura u leku i baza DNK predstavljaju osnovni faktor stabilnosti nastalog kompleksa. Tako se formiraju direktnе vodonične veze između funkcionalnih grupa koje su odgovorne za dejstvo leka (kao što je hidroksilna grupa prstenu A ili NH_3^+ grupa u položaju 3' kod daunomicina) i azota N2 i N3 guanina ili O2 citozina na mestu interkalacije. Često se umesto direktnih vodoničnih veza između leka i DNK formiraju H-veze posredstvom molekula vode (*eng. water mediated contacts*).

Pored ove, opšte šeme stvaranja kompleksa, veze koje se ostvaruju između određenog leka i DNK zavise od sekvene baza na mestu interkalacije i hemijskih modifikacija samog leka.

Bifunkcionalni interkalatori mogu interkalirati u molekul DNK na dva različita načina: I - intramolekulskim ukrštanjem lanaca (obe aromatične grupe interkaliraju u jedan DNK molekul) i II - intermolekulskim ukrštanjem lanaca (dve aromatične grupe interkaliraju u dva DNK molekula) (Slika 2b) [8]. Maksimalni prinos kompleksa u idealnom slučaju nastaje kada je odnos DNA : lek = 1 : 0,125.

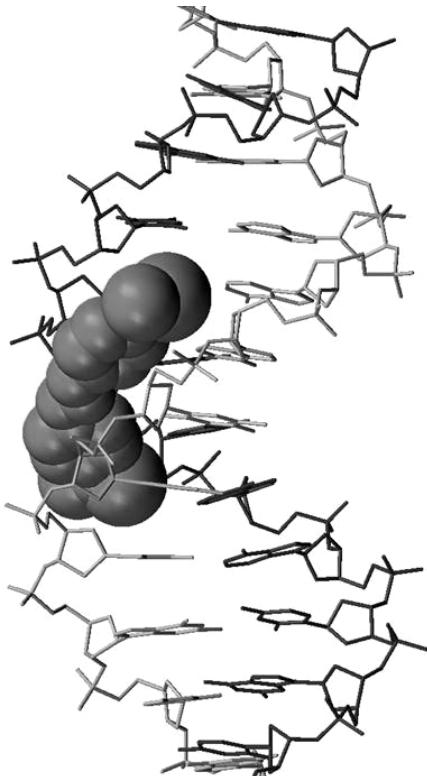


Slika 2. Stilizovani dijagram interkalacije daunomicina. (a) Atomi daunomicina predstavljeni su kružicima, a baze i šećerni ostaci diskovima [1]; (b) I- intramolekulsko ukrštanje lanaca i II intermolekulsko ukrštanje lanaca [8]

Figure 2. Stylised diagram of daunomycin intercalation. (a) Atoms of daunomycin are shown as circles, the sugar and base components of the nucleotides are represented as disks [1]; (b) I- intramolecular cross-link and II intermolecular cross-link [8]

Lekovi koji se vezuju za mali žljeb

Najpoznatiji lekovi koji se vezuju za mali žljeb DNK su netropsin, distamicin, berenil i spermin. Ovi molekuli su najčešće oblika polumeseca i komplementarni su žljebu DNK [9,10] (Slika 3) [11]. Smeštaju se u njega i većinom uspostavljaju Van der Valsove veze, dok neki od ovih lekova grade i vodonične veze sa azotom (N3) iz adenina ili kiseonikom (O2) iz timina. U svim nagrađenim kompleksima lek se smešta u šupljinu žljeba i zamenjuje hidratni sloj koji je tu bio prisutan. Iako izgleda da, prilikom nastanka ovakvog kompleksa, ne bi trebalo da dođe do promene u geometriji DNK, ipak dolazi do uvrtanja dvostrukе spirale u suprotnu stranu, usled rotiranja jedne od baza, kako bi se omogućilo formiranje vodonične veze s lekom. Vodonična veza može da se ostvari direktno između odgovarajućih grupa leka i DNK, ali i preko molekula vode iz hidratnog sloja kao medijatora. Ovaj drugi slučaj je veoma čest i tako ostvarene veze predstavljaju glavni stabilizirajući faktor u kompleksu. Van der Valsove sile su takođe prisutne i doprinose stabilnosti kompleksa, a mogu dovesti i do znatnih perturbacija dvostrukе spirale DNK u odnosu na normalnu, tzv. Watson-Krik geometriju.



Slika 3. Berenil u malom žljebu DNK [11]
Figure 3. Berenil bound to DNA minor groove [11]

Pored promena DNK molekula, primećeno je da u nastalim kompleksima i molekul leka trpi konformacione promene. Ove promene posledica su formiranja maksimalnog broja interakcija, a sve sa ciljem postizanja što veće stabilnosti kompleksa.

Lekovi koji se vezuju za veliki žljeb

Većina lekova koji se vezuju za žljeb DNK spirale „bira“ mali žljeb. To su lekovi koji u bočnim lancima imaju šećerne ostatke ili modifikovane peptidne lance s hidrofobnim karakterom, pa su komplementarni s hidrofobnim oblastima zidova žljeba. Znatno je manji broj supstanci koje se nekovalentno vezuju za veliki žljeb. Razlog verovatno leži u tome što su, za razliku od malog, u velikom žljebu atomi azota i kiseonika parova baza orijentisani ka unutrašnjosti, tj. ka osi heliksa, što ih čini dostupnim za proteine [12]. Na taj način proteini „prepoznaju“ sekvenце baza i stupaju u specifične interakcije u velikom žljebu. Stoga je bilo potrebno naći takve ligande da specifična ligand-DNK interakcija inhibira protein-DNK interakcije.

Prvi jasni dokazi o vezivanju manjih molekula (metilzeleno) za veliki žljeb DNK datiraju iz 1993. godine [13]. Kasnije su sintetizovani neki antitumorski agensi sa akridin karboksiamidnim skeletom [12], aminoglukozidni antibiotik tobramicin i drugi agensi, kao što su pluramicini, aflatoksini, azinomicini i neokarcinostatin [14,15]. Nažalost, i dalje je broj ovakvih lekova relativno skroman, a da bi se povećao, neophodno je bolje poznavanje prirode hemijskih interakcija između DNK i liganada, kao i racionalan dizajn još efikasnijih struktura kao potencijalnih lekova koji se vezuju za veliki žljeb DNK.

Lek - DNK interakcija u vodenoj sredini

Sve reakcije lekova sa DNK u živom organizmu, predstavljaju interakcije koje se odigravaju u vodenoj sredini. Kako je DNK polianjon, a i molekul leka često nosi izvesno nanelektrisanje, razumljivo je da su u vodenoj sredini obe supstance hidratisane. U blizini svih ovih nanelektrisanja nalaze se kontrajoni (negativno nanelektrisane grupe DNK privlače pozitivne kontrajone, kao što su Na^+ , Ca^{2+} ili Mg^{2+}), koji su takođe delimično hidratisani. Hidratacija (dehidratacija) je veoma složen proces i uzrokovan je dejstvom hidrofobnih sila, elektrostatičke solvatacije, Van der Valsove solvatacije, a zavisi i od prirode kontrajona.

Kada dođe do interakcije i uspostavljanja novih veza između molekula DNK i leka, dolazi do izmeštanja rastvarača (molekula vode) na mestima gde će se nagraditi veza. Prisustvo malih kontrajona olakšava vezivanje leka, jer zaklanjaju negativnu površinu DNK čime ometaju prilaz proteina, a omogućavaju prolaz neelektrolitima i malim pozitivno nanelektrisanim ligandima. Kako su DNK i lek suprotno nanelektrisani,

doći će do delimične kompenzacije nanelektrisanja, pa deo kontrajona odlazi u unutrašnjost rastvarača potpuno hidratisan.

Nastanak novih veza doveće do nekih strukturnih deformacija/adaptacija kako DNK, tako i molekula leka. Nastale strukturne promene praćene su energetskim promenama, a sve to je u krajnjem ishodu praćeno promenom entropije. Potvrđeno je da dvostruka DNK spirala u prisustvu interkalatnog agensa gradi kompleks s manjom topotom formiranja u odnosu na sam DNK molekul, tj. sistem koji je termodinamički stabilniji. Pored toga, u slučaju nekovalentnih interakcija uspostavljanje veza predstavlja ravnotežni proces, a konstante vezivanja koje karakterišu date ravnoteže, mogu se odrediti merenjem koncentracije slobodnog leka i koncentracije leka vezanog za DNK.

Metode detekcije lek – DNK interakcija

Cilj savremenih istraživanja jeste da poveže merljive biofizičke parametre sa citotoksičnošću, tj. da antitumorsku aktivnost leka poveže sa njihovom sposobnošću da interkaliraju u DNK dvostruku spiralu. Detekcija i objašnjenje nastalih promena predstavlja veliki izazov i čini osnovu na kojoj se zasniva primena savremenih fizičkohemijskih metoda u ove svrhe.

Veoma je veliki broj tehnika koje proučavaju interakcije između leka i DNK, od klasične UV-VIS spektrofotometrije, preko savremenih tehnika, kao što su dvodimenzionalna (2D) i trodimenzionalna (3D) NMR spektroskopija, pa sve do najsavremenijih biosenzora.

Interakcija između leka i DNK može se detektovati spektrofotometrijski, praćenjem promena UV-VIS apsorpcionih spektara bilo leka, bilo molekula DNK. Hipsohromni pomeraj u spektru javlja se po izvršenoj denaturaciji DNK, ali i kao posledica interakcije DNK sa lekom [16,17]. Infracrvena (IC) spektroskopija je veoma zastupljena u strukturnoj analizi DNK, jer se na osnovu infracrvenih spektara mogu razlikovati A, B i Z oblici DNK, kao neke druge strukturne karakteristike. Naročito je značajno što se ova tehnika može koristiti za ispitivanje uzorka i u čvrstom i u tečnom agregatnom stanju, pa se kombinacijom rezultata dolazi do podataka o mehanizmu interakcije leka i DNK, ali i o samom mehanizmu dejstva leka. Karakteristične četiri oblasti (trake) IC spektara nukleinskih kiselina su detaljno ispitane [18]. Pomeranje ovih traka oslikava nastale interakcije, ili promenu konformacije DNK molekula. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR) se sve više koristi za određivanje mesta specifičnog vezivanja leka, redosleda vezivanja, kao i za detekciju konformacionih promena nastalih usled lek-DNK interakcije [19-21].

Tehnika nuklearne magnetne rezonancije (NMR) zasniva se na činjenici da jezgra atoma sa neparnim brojem protona ili neutrona poseduju nuklearni spin, tj. kao mali

magnetni dipoli obrću se oko svoje ose. Kada se ovakav atom nađe u spoljašnjem magnetnom polju, njegov nuklearni spin se orijentiše u pravcu polja i uspostavlja rezonantnu NMR frekvenciju. Stepen orijentacije nuklearnog spina zavisi od jačine magnetnog polja, ali i od tipa jezgra i njegovog hemijskog okruženja. U analizi DNK koriste se ^1H , ^{13}C , ^{15}N i ^{31}P jezgra, od kojih je ^{31}P naročito koristan za ispitivanje efekata vezivanja liganda za fosforne grupe DNK molekula. NMR eksperimenti su veoma informativni jer se mogu izvoditi na različitim temperaturama i u sredinama različitih pH, jonskih jačina i dielektričnih konstanti. Karakterističan hemijski pomak u protonskom NMR spektru DNK određen je pre dvadesetak godina [22] i svaka njegova promena pripisuje se interakciji sa ligandom [23,24]. Hemijski pomak u ^{31}P -NMR spektru pruža korisne informacije konformacionim promenama koje prate vezivanje interkalatora za DNK. U novije vreme sve su značajnije 2D-NMR eksperimentalne tehnike koje pružaju informacije o prirodi kovalentnih veza i prostornom rasporedu atoma (relativno jedan u odnosu na drugi), čime se zaključuje da li je dvostruki heliks levo ili desno orijentisan.

Cirkularni i linearни dihroizam su takođe korisne tehnike za ispitivanje nekovalentnih lek-DNK interakcija. To su spektroskopije polarizovane svetlosti kojima se dobijaju informacije o relativnoj orijentaciji vezanog leka u odnosu na uzdužnu osu DNK molekula [25,26]. Orijentacija liganada koji nose fluorifore, kao i njihova udaljenost od DNK baznih parova, može se pratiti tehnikama fluorescentne anizotropije ili fluorescentne rezonancije [27,28].

U novije vreme su razvijene tehnike korišćenja enzima, kao što je tzv. tehnika „footprinting”, kojom se određuje redosled selektivnosti jedinjenja koja se vezuju za DNK na osnovu sposobnosti samog jedinjenja da zaštititi narušavanje strukture DNK na mestu vezivanja [29]. Ideja ove metode rodila se još 1978. godine, kada su je autori rada [30] koristili za proučavanje interakcija između proteina i DNK, a od tada pa do danas je identifikovan redosled vezivanja velikog broja lekova [29,31], određene su jačine uspostavljenih veza i vrednosti konstanti brzina ovih procesa asocijacije [29].

Devedesetih godina prošlog veka DNK je počela da se koristi kao bioprepoznatljiv element u biosenzorima. Tako je nastala nova generacija DNK-biosenzora koji pokazuju specifičan odgovor nastao kao posledica selektivnosti i bioafiniteta molekula DNK prema analitu. Ipak, za razliku od konvencionalnih enzimskih i imuno senzora koji se prvenstveno koriste za određivanje koncentracije analita, DNK biosenzori se prevashodno koriste za ispitivanje interakcija između DNK i analita, kao i za utvrđivanje oštećenja na DNK molekulu [32-34].

Osnovni princip detekcije ovih biosenzora zasniva se na tome da elektroda registruje promenu nastalu na molekulima DNK koji su imobilisani na površini elektrode. Signal potiče od procesa oksidacije ili redukcije određenih delova molekula DNK ili elektroaktivnih grupa u molekulu leka. Ta promena intenziteta, položaja ili

oblika signala može biti posledica promene koncentracije, orijentacije ili promene u strukturi usled oštećenja ili denaturacije samog molekula DNK [35-37]. S druge strane, do promene signala biosenzora može doći usled nekovalentnih interakcija DNK s drugim supstancama koje dovode do hibridizacije, asocijације ili građenja kompleksa s DNK molekulima [38-40]. Najveći broj supstanci, koje reverzibilno reaguju s DNK, su elektroaktivni interkalatori i tada se može pratiti i promena redoks signala interkalatora kao posledica nastale interakcije [41-45]. Značajna prednost DNK biosenzora nad drugim instrumentalnim tehnikama jeste u tome što je jednostavan za rad, brz, komercijalno pristupačan, malih dimenzija, i njime se mogu ispitivati hemijske i fizičke interakcije s drugim malim molekulima u *in vitro* uslovima.

Zaključak

Uzveši u obzir da je DNK jedan od najznačajnijih biomakromolekula, mogućnost detekcije i objašnjenje promena nastalih usled interakcije DNK s lekovima iz grupe hemoterapeutika zaslužuje veliku pažnju. Od izuzetne je važnosti korišćenje najsavremenijih metoda u analizi lekova i toksičnih jedinjenja koja mogu izazvati promene u strukturi DNK. Izbor odgovarajuće fizičkohemijske metode kojom je moguće pratiti navedene interakcije, omogućava detaljno poznavanje prirode i tipa ovih interakcija. Primena postojećih i razvoj novih tehnika i metoda ima za cilj da proširi granice ispitivanja, kako u pogledu selektivnosti i bioafiniteta molekula DNK prema leku, tako i u oblasti fundamentalnih istraživanja ovih interakcija. Interakcije između lekova i DNK predstavljaju oblast za kojom interesovanje neprekidno raste i sva do sada stečena znanja mogu se primeniti u dizajnu novih DNK liganada, kako bi se omogućilo *in vitro* i *in vivo* praćenje genetskih bolesti.

Zahvalnica

Ovaj rad finansiran je od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, projekat broj 172033.

Literatura

1. Boyer R. Concepts in Biochemistry, 3rd Edition. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons; 2006. p. 282-332.
2. Voet DJ, Voet JG, Pratt CW. Principles of biochemistry. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons; 2008. p. 40-76.
3. Zubay GL, Parson WW, Vance DE. The principles of Biochemistry. Boston: McGraw-Hill College; 1995. p. 627-677.

4. Kennard O. DNA-drug interactions. *Pure App Chem.* 1993; 65(6): 1213-22.
5. Kennard O, Hunter WN. Single-Crystal X-Ray Diffraction Studies of Oligonucleotides and Oligonucleotide–Drug Complexes. *Angew Chem Int Ed Engl.* 1991; 30: 1254-77.
6. Wang AHJ, Liaw YC, Robinson H, Gao YG. in Pullman B, Jortner J, editors. Molecular Basis of Specificity in Nucleic Acid-Drug Interactions. Proceedings of the 23rd Jerusalem Symposium on Quantum Chemistry and Biochemistry; 1990, May 14-17; Jerusalem, Israel. Kluwer Academic Publishers. Heidelberg: Springer; 1990. p. 1-121
7. Chaires JB. Drug-DNA interactions. *Curr Opin Struc Biol.* 1998; 8: 314-20.
8. Huang CH, Mirabelli CK, Mong S, Crooke ST. Intermolecular Cross linking of DNA through Bifunctional Intercalation of an Antitumor Antibiotic, Luzopeptin A. *Cancer Res.* 1983; 43: 2718-24.
9. Moravek Z, Neidle S, Schneider B. Protein and drug interactions in the minor groove of DNA. *Nucleic Acids Res.* 2002; 30: 1182-91.
10. Neidle S. DNA minor groove recognition by small molecules. *Nat Prod Rep.* 2001; 18: 291-309.
11. Hannon MJ. Supramolecular DNA recognition. *Chem Soc Rev.* 2007; 36: 280-95.
12. Neidle S. Principles of Nucleic Acid Structure. Amsterdam: Elsevier; 2008. p 151-158.
13. Kim SK, Norden B. Methyl green A DNA major-groove binding drug. *Fed Eur Biochem Soc Lett.* 1993; 315(1): 61-4.
14. Singh NN, Lambowitz AM. *J Mol Biol.* 2001; 309(2): 361-86.
15. Hamilton PL, Arya DP. Natural product DNA major groove binders. *Nat Prod Rep.* 2012; 29: 134-43.
16. Wu FY, Xiang YL, Wu YM, Xie FY. Study of the Interaction of a Fluorescent Probe with DNA. *J Lumin.* 2009; 129(11): 1286-91.
17. Islam MM, Chowdhury SR, Kumar GS. Spectroscopic and Calorimetric Studies on the Binding of Alkaloids Berberine, Palmatine and Coralyne to Double Stranded RNA Polynucleotides. *J Phys Chem B.* 2009; 113(4): 1210-24.
18. Banyay M, Sarkar M, Gräslund A. A library of IR bands of nucleic acids in solution. *Biophys Chem.* 2003; 104(2): 477-88.
19. Jangir DK, Tyagi G, Mehrotra R, Kundu S. Carboplatin interaction with calfthymus DNA: A FTIR spectroscopic approach. *J Mol Struct.* 2010; 969(1-3): 126-29.
20. Mandeville JS, N'soukpoé-Kossi CN, Neault JF, Tajmir-Riahi HA. Structural analysis of DNA interaction with retinol and retinoic acid. *Biochem Cell Biol.* 2010; 88(3): 469-77.
21. Neault JF, Tajmir-Riahi HA. Diethylstilbestrol-DNA Interaction Studied by Fourier Transform Infrared and Raman Spectroscopy. *J Biol Chem.* 1996; 271(14): 8140-3.
22. Barber J, Cross HF, Parkinson JA. High-Resolution NMR of DNA and Drug-DNA Interactions. In: Jones C, Mulloy B, Thomas AH, editors. Methods in Molecular Biology, Spectroscopic Methods and Analyses: NMR, Mass Spectrometry, and Metalloprotein Techniques Vol 17. Totowa (NJ): Humana Press; 1993. p 87-113.
23. Barber J, Cross HF, Parkinson JA. High-Resolution NMR of DNA and Drug-DNA Interactions Spectroscopic Methods and Analyses. *Methods Mol Biol.* 1993; 17: 87-113.
24. Nakamoto K, Tsuboi M, Strahan GD. Drug-DNA Interactions: Structures and Spectra. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons; 2008. 378p.
25. Rodger A. Circular and linear dichroism of drug-DNA systems. *Methods Mol Biol.* 2010; 613: 37-54.
26. Eriksson M, Nordén B. Linear and circular dichroism of drug-nucleic acid complexes. *Methods Enzymol.* 2001; 340: 68-98.

27. Suh D, Chaires JB. Criteria for the Mode of Binding of DNA Binding Agents. *Bioorg Med Chem.* 1995; 3(6): 723-8.
28. Kumar CV, Turner RS, Asuncion EH. Groove Binding of a Styrylcyanine Dye to the DNA Double Helix: the Salt Effect. *Journal Photochem Photobiol A: Chem.* 1993; 74(2-3): 231-8.
29. Hampshire AJ, Rusling DA, Broughton-Head VJ, Fox KR. Footprinting: A method for determining the sequence selectivity, affinity and kinetics of DNA-binding ligands. *Methods.* 2007; 42(2): 128-40.
30. Galas DJ, Schmitz A. DNAase footprinting- simple method for detection of protein-DNA binding specificity. *Nucleic Acids Res.* 1978; 5(9): 3157-70.
31. Cardew AT, Fox KR. DNase I Footprinting, In: Fox KR, editor. *Methods in Molecular Biology. Drug-DNA Interaction Protocols.* Chapter 10. 2nd ed. Totowa (NJ): Humana Press; 1993. p 153-72.
32. Teles FRR, Fonseca LP. Trends in DNA biosensors. *Talanta*, 2008; 77(2): 606-23.
33. Kerman K, Kobayashi M, Tamiya E. Recent trends in electrochemical DNA biosensor technology. *Meas Sci Technol.* 2004; 15(2): R1- 11.
34. Tian X, Song Y, Dong H, Ye B. Interaction of anticancer herbal drug berberine with DNA immobilized on the glassy carbon electrode. *Bioelectrochem.* 2008; 73(1): 18-22.
35. Wang J. Electrochemical nucleic acid biosensors. In: Palecek E, Scheller F, Wang J, editors. *Electrochemistry of nucleic acids and proteins. Towards electrochemical sensors for genomics and proteomics.* Amstredam: Elsevier; 2005. p. 175-94.
36. Palecek E, Jelen F. In: Palecek E, Scheller F, Wang J, editors. *Electrochemistry of nucleic acids and proteins. Towards electrochemical sensors for genomics and proteomics.* Amstredam: Elsevier; 2005. p. 74-174.
37. Paleček E, Brabec V. The relation between the polarographic behaviour of DNA and its conformation in solution. *Biochim Biophys Acta Nucleic Acids Protein Synth.* 1972; 262: 125-34.
38. Ovádeková R, Labuda J. Electrochemical DNA biosensors for the investigation of dsDNA host-guest interactions and damage. *Curr. Top. Electrochem.* 2006; 11: 21-56.
39. Ovádeková R, Labuda J. DNA binding interactions, structural damage and protection investigated by electrochemical DNA biosensor. In: Adam V, Kizek R, editors. *Utilizing of Bio-Electrochemical and Mathematical Methods in Biological Research.* Kerala, (India): Research Signpost; 2007. p. 173-201.
40. Živanović M, Aleksić M, Ostnatá V, Doneux T, Paleček E. Polylysine-Catalyzed Hydrogen Evolution at Mercury Electrodes. *Electroanalysis.* 2010; 22(17-18): 2064-70.
41. Šimkova D, Labuda J. Electrochemical DNA Biosensors and Flow-Through Analysis. *Curr. Anal. Chem.* 2011; 7: 2-7.
42. Labuda J, Brett AMO, Evtugyn G, Fojta M, Mascini M, Ozsoz M, Palchetti I, Paleček E, Wang J. Electrochemical nucleic acid-based biosensors: concepts, terms and methodology, IUPAC Technical Report. *Pure Appl Chem.* 2010; 82: 1161-87.
43. Radulović V, Aleksić MM, Kapetanović V. An electrochemical study of the adsorptive behaviour of varenicline and its interaction with DNA. *J. Serb. Chem. Soc.* 2012; 77(10): 1409-22.
44. Liébana S, Lermo A, Campoy S, Barbé J, Alegret S, Pividori MI. Magneto Immunoseparation of Pathogenic Bacteria and Electrochemical Magneto Genosensing of the Double-Tagged Amplicon. *Anal. Chem.* 2009; 81(14): 5812-20.
45. Brett AMO, Diculescu VC, Chioreea-Paquim AM, Serrano SHP. DNA -electrochemical biosensors for investigating DNA damage S.H.P. In: Alegret S, Merkoci A, editors. *Electrochemical Sensors Analysis.* Amstredam: Elsevier Science B.V; 2007. p. 413-438.

Drug - DNA Interactions - Properties and Detection

Mara M. Aleksić^{1*}, Vera Kapetanović²

¹University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Physical Chemistry and Instrumental Methods, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

²University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Analytical Chemistry, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

Corresponding author: Mara Aleksić,
University of Belgrade, Faculty of Pharmacy,
Department of Physical Chemistry and Instrumental Methods,
tel: +381 11 3951 294; e-mail: mara@pharmacy.bg.ac.rs

Summary

Large number of inorganic and organic compounds is able to bind to DNA and form the complex. Among them, very important drugs are chemotherapeutics. This paper presents the overview of DNA structural characteristics and types of interactions (covalent and noncovalent) between drugs and DNA molecule. Covalent binding of the drug is irreversible and leads to complete inhibition of DNA function, what conclusively, causes the cell death. On the other hand, noncovalent binding is reversible and based on the principle of molecular recognition. Special attention is paid to explain the specific sites in DNA molecule for drug binding. According to their structural characteristics, drugs that react noncovalently with DNA are intercalators, minor or major groove binders.

When the complex between drug and DNA is formed, both the drug molecule, as well as DNA, experienced some modifications. This paper presents the overview of the methods used for the investigation of the interactions between drug and DNA with the aim of detection and explanation of the resulting changes. For this purpose many spectroscopic methods like UV/VIS, infrared and NMR, polarized light spectroscopies like circular and linear dichroism, fluorescence anisotropy or resonance, or very sensitive DNA-biosensors are used. The presented results summarize literature data obtained by the use of mentioned methods. The results are used to confirm the DNA damage, to determine drug binding sites and sequence preference, as well as conformational changes due to drug-DNA interaction.

Key words: Drug, DNA, interacion, spectroscopic methods, DNA-biosensors.

Ligandi I₁-Imidazolinskih receptora sa centralnim antihipertenzivnim dejstvom

Katarina Nikolić*, Slavica Filipić, Danica Agbaba

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku hemiju,
Vojvode Stepe 450, 11000 Beograd, Srbija

*Autor za korespondenciju: Doc. dr Katarina Nikolić,

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku hemiju,
Vojvode Stepe 450, 11000 Beograd, Srbija

tel: +381-11-3951-259, fax: +381-11-3974-349,

e-mail adresa: knikolic@pharmacy.bg.ac.rs

Kratak sadržaj

Antihipertenzivi sa centralnim dejstvom, poput klonidina, rilmenidina i moksonidina, ostvaruju svoj farmakološki efekat aktivacijom presinaptičkih α_2 -adrenergičkih receptora (α_2 -AR) i imidazolinskih receptora (IR) u *Rostral Ventrolateral Medulla* (RVLM), dok njihovo sporedno sedativno dejstvo nastaje usled aktivacije samo α_2 -AR u *locus coeruleus-u*. Imidazolinski receptori su na osnovu farmakološkog efekta podeljeni na I₁-IR, I₂-IR i I₃-IR podtip. Ustanovljeno je da selektivna aktivacija I₁-IR podtipa imidazolinih receptora dovodi do dozno zavisne centralne inhibicije simpatikusa i sniženja krvnog pritiska. Najnovija istraživanja ukazuju da je optimalana ravnoteža u aktivaciji i I₁-IR i α_2 -adrenergičkih receptora neophodna za postizanje snažnog centralnog hipotenzivnog dejstva imidazolinskih liganada, uz minimalne sporedne efekte. Druga generacija antihipertenziva sa centralnim dejstvom, kao što su rilmenidin i moksonidin, pokazala je veću I₁-IR/ α_2 -AR selektivnost pa samim tim i manje neželjenih efekata nego klonidin koji u najvećoj meri aktivira α_2 -AR. Pored centralnog hipotenzivnog dejstva, selektivniji I₁-IR/ α_2 -AR ligandi dovode do antiaritmičkog efekta, i podstiču pojačanu renalnu cirkulaciju, diurezu i natriurezu, kao i inhibiciju aktivnosti renalnog simpatikusa. U ovom preglednom radu prikazana je analiza strukturnih karakteristika i farmakofora I₁-IR liganada, kao i najnovije eksperimentalne i teorijske studije koje su najviše doprinele napretku u istraživanju I₁-imidazolinskih receptora i selektivnijih I₁-IR liganada.

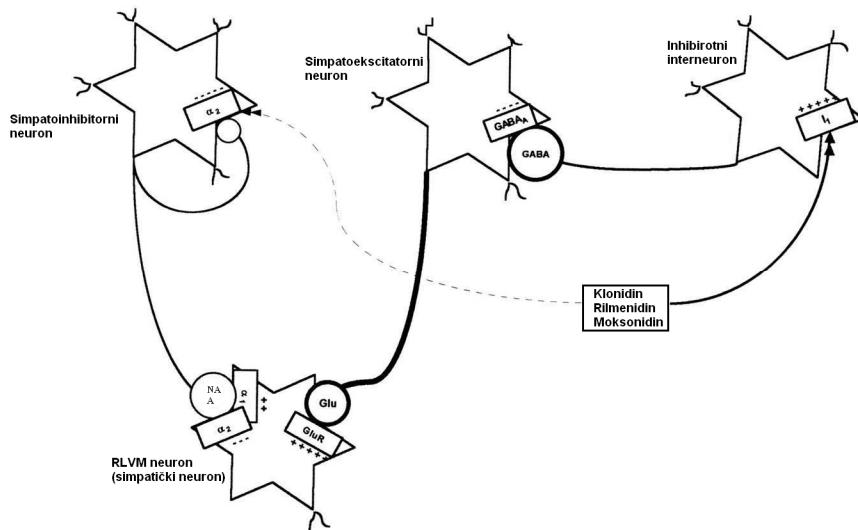
Ključne reči: I₁-imidazolinski receptori, alfa₂-adrenergički receptori, QSAR, farmakofore, moksonidin, rilmenidin, klonidin, hipertenzija, centralni antihipertenzivi.

Uvod

Pre više od dve decenije je ustanovljeno da klonidin i njemu srodnii centralni antihipertenzivi ostvaruju svoje farmakološko dejstvo aktivacijom ne samo α_2 -adrenergičkih receptora (α_2 -AR) nego i aktivacijom imidazolinskih receptora (IR) [1-3].

Imidazolinski receptori se farmakološki razlikuju od α_2 -AR po tome što se ne mogu aktivirati kateholaminima [4]. Veliki broj studija se bavio interakcijama i međusobnim uticajem I-IR i α_2 -AR [3, 5-8] i ukazao da male promene u strukturi imidazolinskih liganada mogu prouzrokovati značajnu promenu u afinitetu i selektivnosti za I-IR i α_2 -AR [9]. Imidazolinski receptori su podeljeni na I₁-IR, I₂-IR i I₃-IR podtip [10, 11], dok su alfa₂-adrenergički receptori klasifikovani na α_{2A} -AR, α_{2B} -AR i α_{2C} -AR podtip [3, 5-8]. Selektivna aktivacija I₁-IR podtipa imidazolinih receptora dovodi do dozno zavisne centralne inhibicije simpatikusa i sniženja krvnog pritiska, dok stimulacija α_{2A} -AR podtipa prouzrokuje hipotenziju, sedaciju i analgeziju [11-15].

Centralni hipotenzivni efekat klonidinu, rilmenidinu i moksinidinu-srodnih jedinjenja nastaje kao rezultat aktivacije i α_{2A} -adrenergičkih receptora (α_{2A} -AR) i I₁-imidazolinskih receptora (IR) u *Rostral Ventrolateral Medulla* (RVLM), dok njihovo sporedno sedativno dejstvo nastaje aktiviranjem α_{2A} -AR u *Locus Coeruleus-u* (Slika 1) [1, 3-8, 12-15].



Slika 1. Inhibicija simpatikusa u RVLM pomoću imidazolinskih liganada.
Figure 1. Inhibition of sympathetic RVLM by imidazoline receptor ligands.

Detaljne farmakološke studije interakcija i međusobnog uticaja I-IR i α_2 -AR su ukazale da je optimalana ravnoteža u aktivaciji I₁-IR i α_{2A} -AR važna za postizanje snažnog centralnog hipotenzivnog efekta I₁-imidazolinskih liganada [19, 20].

Druga generacija antihipertenziva sa centralnim dejstvom, kao na primer rilmenidin i moksonidin, pokazala je veću I_1 -IR/ α_2 -AR selektivnost pa samim tim i manje sporednih efekata (sedacije, bradikardije i suvoće usta) [16, 17], nego niskoselektivni antihipertenzivi prve generacije (klonidin) [5, 14, 18]. Pored centralnog hipotenzivnog dejstva, selektivniji I_1 -IR/ α_2 -AR ligandi dovode do antiaritmičkog efekta, i podstiču pojačanu renalnu cirkulaciju, diurezu i natriurezu, kao i inhibiciju aktivnosti renalnog simpatikusa [37, 38], što sveukupno ima povoljan terapijski efekat. Novosintetisani visokoselektivni I_1 -IR ligandi, poput S23515 [21], S23757 [21], LNP509 [22], LNP 906 [23] i LNP911 [24], su veoma korisni modeli za: ispitivanje I_1 -imidazolinskog receptorskog sistema, istraživanje farmakoloških efekata baziranih samo na aktivaciji I_1 -IR, eksperimentalno određivanje 3D-strukture I_1 -IR, izvođenje detaljnijih teorijskih studija u cilju definisanja osnovnih farmakofora I_1 -IR liganada i razvoj lekova sa manje izraženim sporednim efektima.

In vitro određivanje afiniteta vezivanja liganda za I_1 -IR vršeno je metodom kompetitivne inhibicije vezivanja radioliganada, kao što su [3 H]-klonidin, [125 I] *p*-jodoklonidin ([125 I] PIC) [125 I] LNP 911, na plazma membranama ćelija [25-35]. Stimulacijom I_1 -imidazolinskih receptora vrši se aktivacija signalnog puta fosfatidilholin-zavisne fosfolipaze C (*Phosphatidylcholine-sensitive Phospholipase C* (PC-PLC)) [31, 36, 37] i inhibicija aktivacije adenilciklaze [32]. Pored aktivacije ova dva glavna signalna puta, agonisti I_1 -IR učestvuju i u mnogim drugim procesima u ćeliji izazivajući odgovarajuće promene u aktivnosti ćelije [21, 38-41].

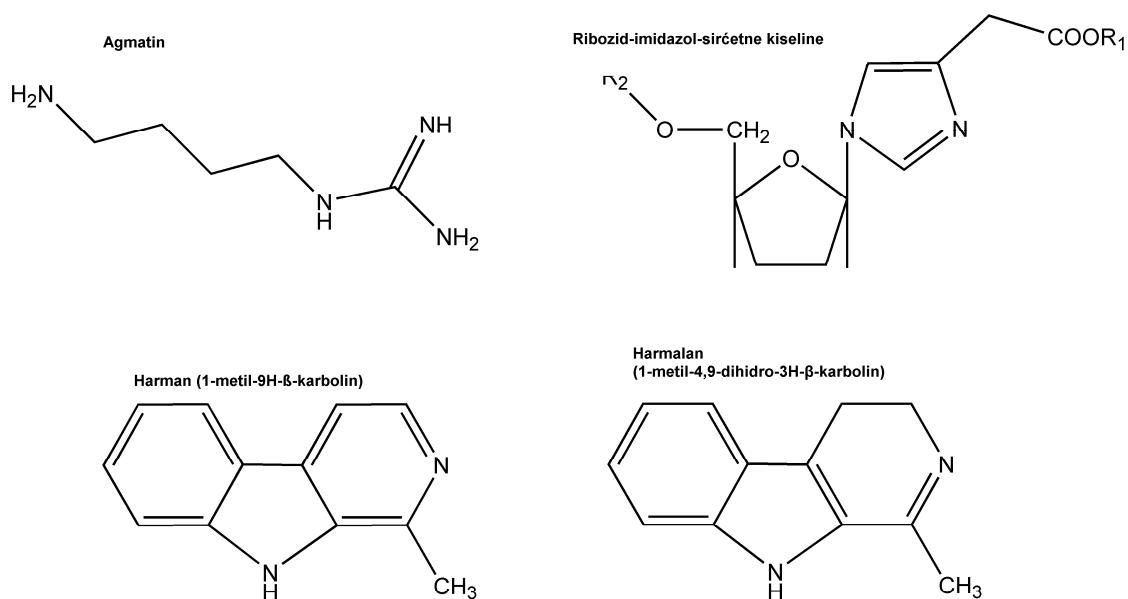
Do sada nije utvrđena 3D-struktura I_1 -IR proteina, ali je uspešno kloniran *Imidazoline Receptor Antisera-Selected* (IRAS) gen koji je odgovoran za sintezu I_1 -IR [42]. Prenos IRAS cDNA u PC 12 i *Chinese Hamster Ovary* (CHO) ćelije je doveo do ekspresije I_1 -IR [42, 43]. Humani IRAS protein, nazvan *nischarin*, uspešno je identifikovan i kloniran [42, 44-46]. Pošto je ekspresija *nischarin*-a u ćeliji od ključnog značaja za očuvanje aktivnosti I_1 -IR [46-49], pretpostavlja se da je *nischarin* zapravo I_1 -IR [46-51]. Precizne *docking* studije liganada na I_1 -IR nisu moguće zbog toga što 3D-struktura I_1 -IR proteina nije eksperimentalno određena, pa su analize kvantitativnih odnosa strukture i dejstva (*Quantitative Structure Activity Relationship*, QSAR)) I_1 -IR liganada optimalna metoda u razvoju novih I_1 -IR liganada.

U ovoj preglednoj studiji analizirane su strukturne karakteristike liganada neophodnih za selektivnu aktivaciju I_1 -imidazolinskih receptora.

Ligandi I_1 -Imidazolinskih receptora

Prirodni endogeni ligandi imidazolinskih receptora poput agmatina [52] i ribozid-imidazol-sirćetne kiseline (*imidazol-4-acetic acid riboside* (IAA-RP)) [53, 54], harmana [55, 56] i harmalana [57] (Slika 2) pokazuju dobru selektivnost ka IR, pa stoga

predstavljaju dobra polazna jedinjenja u razvoju novih aktivnijih i selektivnijih imidazolinskih liganada.



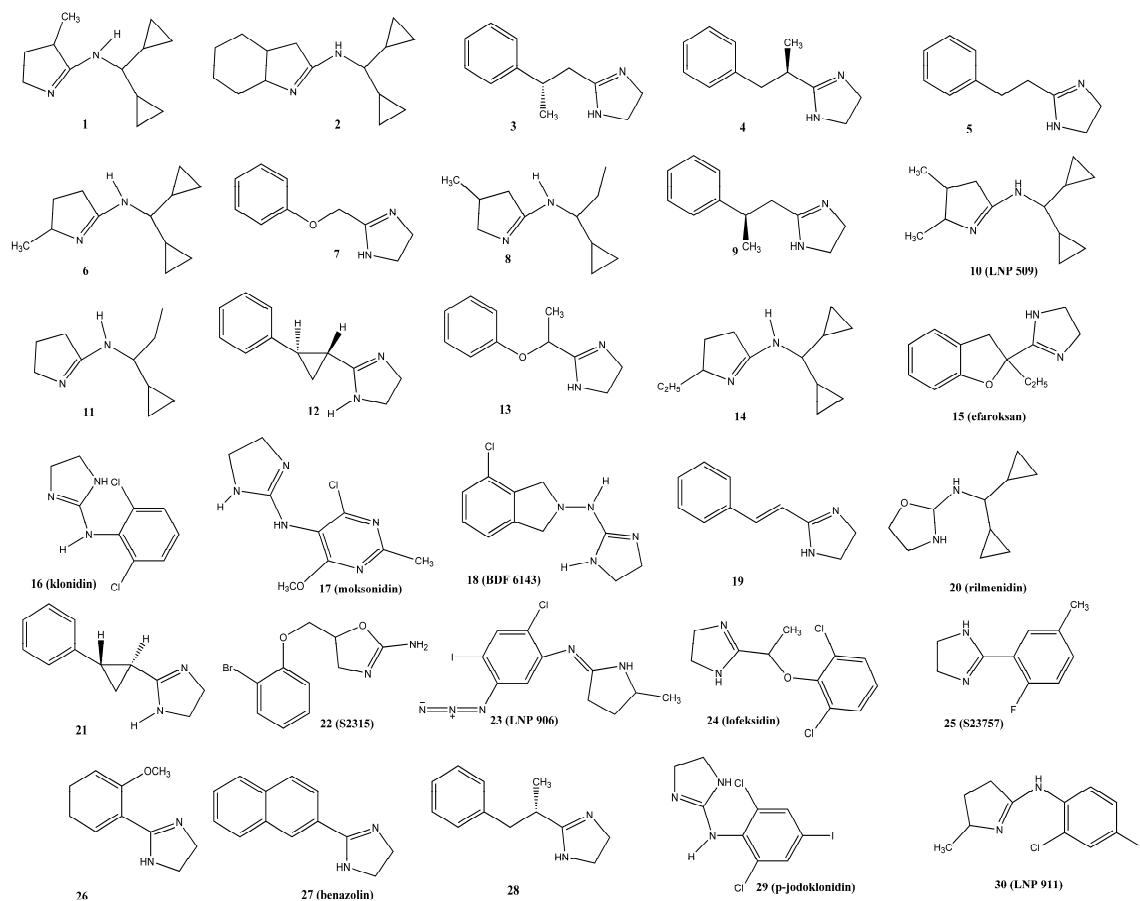
**Slika 2. Hemijske strukture najznačajnijih endogenih I₁-IR liganada.
Figure 2. Chemical structures of endogenic I₁-IR ligands.**

Agonisti I₁-imidazolinskih receptora, poput moksonidina, rilmenidina i benazolina, potstiču aktivaciju PC-PLC [31, 36, 37] i inhibiraju adenilat-ciklazu u ćeliji [32]. Parcijalni I₁-IR agonisti, kao na primer efaroksan i BDF-6143, blokiraju aktivaciju PC-PLC signalnog puta i istovremeno inhibiraju adenilat-ciklazu [31, 32, 36]. Antagonisti I₁-IR, poput S23757 [21], LNP 906 [23] i LNP911 [24], blokiraju aktivaciju PC-PLC signalnog puta i istovremeno ne inhibiraju adenilat-ciklazu. Ovi rezultati su ukazali na nove aspekte ispitivanja uloge I₁-IR u fiziološkim aktivnostima ćelije.

Različiti farmakološki efekti I₁-IR agonista, I₁-IR antagonista i I₁-IR parcijalnih agonista posledica su različitih mehanizama interakcije liganada sa aktivnim mestima receptora. Radi boljeg razumevanja agonističkog, antagonističkog i parcijalnog agonističkog mehanizma dejstva potrebno je formirati 3D-strukturu farmakofore odgovorne za I₁-IR agonističku aktivnost i 3D-farmakofore specifične za I₁-IR antagonističku aktivnost. Na ovaj način bi se razjasnile i definisale strukturne karakteristike koje uslovjavaju različite tipove interakcije sa receptorom. Pored toga,

potrebno je razviti odgovarajuće QSAR modele za predviđanje aktivnosti I₁-IR agonista i I₁-IR antagonistika.

Značajne razlike u rezultatima *in vitro* određivanja afiniteta vezivanja za I₁-IR, koje su izvedene pomoću različitih radioliganada (^{[125]I} PIC) i (^{[125]I} LNP 911) i na različitim ćelijama (PC 12 i humani trombociti) [24, 32, 34, 58], ukazuju na otežano poređenje rezultata različitih *in vitro* studija, kao i na mogućnost formiranja više specifičnih aktivnih centara na I₁-IR [59]. Do danas je sintetisan i ispitivan veliki broj različitih hemijskih grupa I₁-IR liganada kao što su derivati gvanidina, 2-aminoimidazolina, 2-aminoooksazolina, aminopirolina, 2-arylimidazolini, 2-fenilimidazolini, 2-imidazolini, endogeni amini i karbolini [21-24, 32, 33, 60-62] (Slika 3 i Tabela I).



**Slika 3. Hemijske strukture I₁-IR liganada.
Figure 3. Chemical structures of I₁-IR ligands.**

Tabela I Eksperimentalno određeni afiniteti I_1 -IR liganada ka I_1 -IR [21-24, 32, 33, 60], I_2 -IR [21-24, 32, 33, 60, 75] i α_2 -AR [21, 22, 24, 32, 33, 58, 60]. ($pKi = \log(1/Ki)$).

Table I Experimentally determined affinities of I_1 -IR ligands for I_1 -IR [21-24, 32, 33, 60], I_2 -IR [21-24, 32, 33, 60, 75] and α_2 -AR [21, 22, 24, 32, 33, 58, 60]. ($pKi = \log(1/Ki)$).

Jedinjenje	I_1 -IR: upotrebljen radioligand, membrana/ćelija	pKi (I_1 -IR)	pKi (I_2 -IR)	pKi (α_2 -AR)
1	[³ H] klonidin, chromaffin ćelije ovce	4.00	<5]	<5
2	[³ H] klonidin, chromaffin ćelije ovce	4.00	<5	<5
3	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	5.14	7.00	5.80
4	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	5.20	4.90	5.40
5	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	5.43	8.60	5.70
6	[³ H] klonidin, chromaffin ćelije ovce	5.80	<5	<5
7	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	6.15	9.05]	7.28
8	[³ H] klonidin, chromaffin ćelije ovce	6.19	<5	<5
9	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	6.23	5.60	5.90
10-LNP 509	[³ H] klonidin, chromaffin ćelije ovce	6.27	<5	<5
11	[³ H] klonidin, chromaffin ćelije ovce	6.29	<5	<5
12	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	6.46	8.22	6.92
13	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	6.51	5.75	7.01
14	[³ H] klonidin, chromaffin ćelije ovce	6.77	<5]	<5
15-Efaroksan	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	6.84	-	8.01 α_{2A} -AR, 8.00 α_{2B} -AR, 8.01 α_{2C} -AR
16-Klonidin	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	6.90	6.02	8.06 α_{2A} -AR, 7.50 α_{2B} -AR, 8.03 α_{2C} -AR
17-Moksonidin	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	7.47	<5	5.44 α_{2A} -AR, 5.59 α_{2B} -AR, 5.03 α_{2C} -AR
18-BDF 6143	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	7.55	-	8.55 α_{2A} -AR, 8.31 α_{2B} -AR, 8.96 α_{2C} -AR
19	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	7.72	8.72	4.85
20-Rilmenidin	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	7.90	<5	7.44 α_{2A} -AR, 7.37 α_{2B} -AR, 7.90 α_{2C} -AR
21	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	7.93	6.91	6.62
22-S23515	[³ H] klonidin, plazma membrana chromaffin ćelija	8.19	<4	6.39
23-LNP 906	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	8.22]	3.88	5.65 α_{2A} -AR, 5.43 α_{2B} -AR, 5.08 α_{2C} -AR

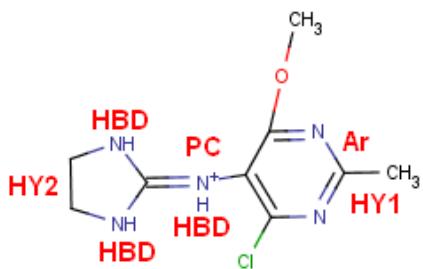
Jedinjenje	I ₁ -IR: upotrebljen radioligand, membrana/ćelija	pKi (I ₁ -IR)	pKi (I ₂ -IR)	pKi (α ₂ -AR)
24 -Lofeksidin	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	8.25	-	-
25 -S23757	[³ H] klonidin, plazma membrana chromaffin ćelija	8.28	<4	8.21
26	[³ H] klonidin, plazma membrana chromaffin ćelija	8.53	5	<5
27 -Benazolin	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	8.89	9.07	5.45 α _{2A} -AR
28	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	8.97	6.84	5.30
29 -p-Jodoklonidin (PIC)	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	9.10	<5	8.66 α _{2A} -AR, 8.13 α _{2B} -AR, 9.10 α _{2C} -AR
30 -LNP 911	[¹²⁵ I] PIC, PC 12	9.75	4.79	<4 α _{2A} -AR

Klonidin (Slika 3, jedinjenje **16**) pokazuje veći afinitet ka I₁-IR i α₂-AR, nego prema I₂-IR (Tabela I), dok p-jodoklonidin (Slika 3, jedinjenje **29**) poseduje veći afinitet i selektivnost ka I₁-IR u odnosu na klonidin, ali je zadržao i sposobnost aktivacije α₂-AR (Tabela I). Daljim modifikacijama molekula klonidina sintetisani su moksonidin i rilmenidin (Slika 3, jedinjenja **17** i **20**) kao centralni antihipertenzivi druge generacije koji su ispoljili snažan afinitet ka I₁-IR i visoku selektivnost ka I₁-IR u odnosu na I₂-IR and α₂-AR (Tabela 1). Izosterna zamena oksazolidina pirolinskim prstenom u molekulu rilmenidina (Slika 3, jedinjenja **1**, **2**, **6**, **8**, **10**, **11** i **14**) dovela je do značajnog pada afiniteta ka α₂-AR, dok je afinitet ka I₁-IR samo neznatno oslabio (Tabela I). Najnovija istraživanja su potvrdila da benazolin i srođna jedinjenja (Slika 3, jedinjenja **26** i **27**) poseduju snažan afinitet ka I₁-IR i I₂-IR, sa visokom selektivnošću u odnosu na α-AR [32, 60]. Ove studije su ukazale da I₁-IR pokazuju snažan afinitet ka 2-fenil-imidazolinima sa metil ili metoksi grupom na položaju 2' ili 3' (Slika 3, jedinjenja **26**) [60]. Strukturnim modifikacijama feniletlen-imidazolinskih derivata (Slika 3, jedinjenje **5**) došlo je do značajnog porasta selektivnosti za I₁-IR u odnosu na I₂-IR [33] (Tabela I). Snažniji I₁-IR afinitet i veća I₁-IR/α₂-AR i I₁/I₂-IR selektivnost jednog u odnosu na drugi enantiomer (Slika 3, jedinjenja **4** i **28**; **12** i **21**) ukazuje na stereospecifičnost interakcije sa aktivnim centrima I₁-IR, I₂-IR i α₂-AR [33].

Derivati 2-aminoimidazolina su nastali povezivanjem strukture agmatina i imidazolinskog prstena. Ovim inkorporiranjem gvanidinske strukture u imidazolinski prsten došlo je do značajnog pojačanja afiniteta ka I₁-IR [62].

U cilju razvoja novih I₁-IR liganda pristupilo se izvođenju teorijskih ispitivanja strukturnih karakteristika I₁-IR liganada, 2D/3D-QSAR (dvodimenzionalne/trodimenzionalne-QSAR) studijama i analizi 3D-strukture farmakofore I₁-IR liganada [61, 63-77]. 2D-QSAR studije I₁-IR liganada su ukazale da porast lipofilnosti ($\log D_{pH\ 7.4}$), molarne refraktivnosti i dipolnog momenta, zajedno sa

sniženjem naelektrisanja na N-atomu u heterociklusu I_1 -IR liganada, dovodi do snažnijeg afiniteta ka I_1 -IR [63, 64], dok su lipofilnost (ClogP) i HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) energija I_1 -IR liganada važni parametri I_1 -IR/ α_2 -AR selektivnosti [63]. Primenom *3D-QSAR* metoda odabrane su kombinacije elektrostatičkih i sternih deskriptora značajnih za afinitet na I_1 -IR i kreirale farmakofor I_1 -IR liganada koja se sastoji iz dve grupe donora vodonične veze (*Hydrogen-Bond Donor Groups (HBD)*), dva hidrofobna regionala (HY1 i HY2), aromatičnog prstena (AR) i pozitivno naelektrisanog dela strukture (*Positively Charged moiety (PC)*) (Slika 4) [77].



Slika 4. Šematski prikaz farmakofore I_1 -IR liganada na primeru moksonidina.
Figure 4. Pharmacophore of I_1 -IR ligands, presented on moxonidine.

Zaključak

Istraživanje imidazolinskih receptora je veoma aktuelna tema za medicinske hemičare, farmakologe i biologe. Farmakološke studije I_1 -imidazolinskih liganada su ukazale da je optimalna ravnoteža u aktivaciji I_1 -IR i α_{2A} -AR neophodna za postizanje snažnog centralnog hipotenzivnog efekta. Smanjena incidencija sporednih neželjenih efekata, antiaritmička aktivnost, kao i povoljni metabolički i renalni efekti selektivnijih I_1 -IR liganada ukazuju da njihove strukture predstavljaju dobru osnovu za razvoj novih, snažnijih i bezbednijih centralnih antihipertenziva.

Razvoj novih, snažnijih i selektivnijih I_1 -IR liganada baziran je prvenstveno na *QSAR* studijama različitih grupa I_1 -IR liganada zbog nepostojanja detaljnijih informacija o 3D-strukturi imidazolinskih receptora. Veoma različiti farmakološki efekti agonista, antagonista i parcijalnih agonista na I_1 -IR ukazuju na potrebu razvoja 3D-strukture farmakofore odgovorne za I_1 -IR agonističku aktivnost, 3D-farmakofore

specifične za I_1 -IR antagonističku aktivnost, kao i *QSAR* modela za predviđanje agonističke i antagonističke aktivnosti na I_1 -IR.

Zahvalnica

Ovaj rad je finansiran od strane Ministarstva nauke Republike Srbije, Ugovor broj 172033.

Literatura

1. Schmitt H, Boissier JR, Giudicelli JF, Fichelle J. Cardiovascular effects of 2-(2,6-dichlorophenylamino)-2-imidazoline hydrochloride (ST 115). II. Central sympathetic structures. *J Eur J Pharmacol.* 1968;2:340-6.
2. Schmitt H, Fenard S. Action of alpha-adrenergic blocking drugs on the sympathetic centres and their interactions with the central sympatho-inhibitory effect of clonidine. *Arzheimittel-Forschung* 1973;23:40-5.
3. Bousquet P, Schwartz J. Alpha-adrenergic drugs. Pharmacological tools for the study of the central vasomotor control. *Biochem Pharmacol.* 1983;32:1459-65.
4. Bousquet P, Feldman J, Schwartz J. Central cardiovascular effects of alpha-adrenergic drugs: differences between catecholamines and imidazolines. *J Pharmacol Exp Ther.* 1984;230:232-36.
5. Ernsberger P, Giuliano R, Willette RN, Reis DJ. Role of imidazole receptors in the vasodepressor response to clonidine analogs in the rostral ventrolateral medulla. *J Pharmacol Exp Ther.* 1990; 253:408-18.
6. Mayorov DN, Burke SL, Head GA. Relative importance of rostral ventrolateral medulla in sympathoinhibitory action of rilmenidine in conscious and anesthetized rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2001;37:252-61.
7. Mayorov D, Chernobelski M, Medvedev O. Sympathoinhibitory action of rilmenidine in conscious sinoaortically denervated rats. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1993;22:314-20.
8. Brurban V, Estato V, Schann S, Ehrhardt JD, Monassier L, Renard P, Scalbert E, Feldman J, Bousquet P. Evidence for synergy between α_2 -adrenergic and nonadrenergic mechanisms in central blood pressure regulation. *Circulation* 2002;105:1116-21.
9. Hieble JP, Ruffolo RR, Jr Possible Structural and Functional Relationships between Imidazoline Receptors and α_2 -Adrenoceptors. *Ann NY Acad Sci.* 1995;763:8-21.
10. Regunathan S, Reis DJ. Imidazoline receptors and their endogenous ligands. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 1996;36:511-44.
11. Ernsberger P, Haxhiu MA. The I_1 -imidazoline-binding site is a functional receptor mediating vasodepression via the ventral medulla. *Am J Physiol.* 1997;273:R1572-79.

12. Bousquet P, Bricca G, Dontenwill M, Feldman J, Greney H, Belcourt A, Stutzmann J, Tibirica E. From the α_2 -adrenoceptors to the imidazoline preferring receptors. *Fundam Clin Pharmacol.* 1992;6 (Suppl 1):15S–21S.
13. Head GA, Mayorov DN. Imidazoline receptors, novel agents and therapeutic potential. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem.* 2006;4:17–32.
14. Chan CKS, Burke SL, Head GA. Contribution of imidazoline receptors and α_2 -adrenoceptors in the rostral ventrolateral medulla to sympathetic baroreflex inhibition by systemic rilmenidine. *J Hypertension* 2007;25:147–55.
15. Tibirica E, Feldman J, Bousquet P. Differences in the ability of yohimbine to antagonize the hypotensive effect of clonidine in normotensive and spontaneously hypertensive anesthetized rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1988;244:1062–66.
16. Delbarre B, Schmitt H. Sedative effects of α -sympathomimetic drugs and their antagonism by adrenergic and cholinergic blocking drugs. *Eur J Pharmacol.* 1971; 13:356–63.
17. De Sarro GB, Ascioti C, Froio F, Libri V, Nistico G. Evidence that locus coeruleus is the site where clonidine and drugs acting at α_1 -and α_2 -adrenoceptors affect sleep and arousal mechanisms. *Br J Pharmacol.* 1987;90:675–85.
18. Head GA, Chan CKS, Burke SL. Relationship between imidazoline and α_2 -adrenoceptors involved in the sympatho-inhibitory actions of centrally acting antihypertensive agents. *J Auton Nerv Syst.* 1998;72:163–69.
19. Hein L Limbird, LE Eglen RM, Kobilka BK. Gene substitution/knock-out to delineate the role of the α_2 -adrenoceptor subtypes in mediating central effects of catecholamines and imidazolines. *Ann NY Acad Sci.* 1999;881:265–71.
20. Talentino-Silva FP, Haxiu MA, Waldbaum S, Breshaj IA, Ernsberger P. Alpha₂-adrenergic receptors are not required for central anti-hypertensive action of moxonidine in mice. *Brain Res.* 2000;862:26–35.
21. Bruban V, Feldman J, Greney H et al. Respective contributions of α -adrenergic and non-adrenergic mechanisms in the hypotensive effect of imidazoline-like drugs. *Br J Pharmacol.* 2001;133:261–66.
22. Schann S, Bruban V, Pompermayer K, Feldman J, Pfeiffer B, Renard P, Scalbert E, Bousquet P, Ehrhardt J-D. Synthesis and biological evaluation of pyrrolinic isosteres of rilmenidine. Discovery of cis-/trans-dicyclopropylmethyl-(4,5-dimethyl-4,5-dihydro-3H-pyrrol-2-yl)- amine (LNP 509), an I₁ imidazoline receptor selective ligand with hypotensive activity. *J Med Chem.* 2001;44:1588–93.
23. Urosevic D, Schann S, Ehrhardt J-D, Bousquet P, Greney H. LNP 906, the first high-affinity photoaffinity ligand selective for I₁ imidazoline receptors. *Br J Pharmacol.* 2004;142:609–17.
24. Greney H, Urosevic D, Schann S, Dupuy L, Bruban V, Ehrhardt J-D, Bousquet P, Dontenwill M. [¹²⁵I]2-(2-Chloro-4-iodo-phenylamino)-5-methyl-pyrroline (LNP 911), a High-Affinity Radioligand Selective for I₁ Imidazoline Receptors. *Mol Pharmacology* 2002;62:181–91.
25. Piletz JE, Andorn AC, Unnerstall JR, Halaris A. Binding of [³H]-p-aminoclonidine to α_2 -adrenoceptor states plus a non-adrenergic site on human platelet plasma membranes. *Biochem Pharmacol.* 1991;42:569–84.
26. Heemskerk FM, Dontenwill M, Greney H, Vontron C, Bousquet P. Evidence for the existence of imidazoline-specific binding sites in synaptosomal plasma membranes of the bovine brainstem. *J Neurochem.* 1998;71:2193–202.
27. Ernsberger P, Shen IH. Membrane localization and guanine nucleotide sensitivity of medullary I₁ imidazoline binding sites. *Neurochem Int.* 1997;30:17–23.
28. Dontenwill M, Vontron C, Greney H, Magnier C, Heemskerk F, Bousquet P. Identification of human I₁ receptors and their relationship to α_2 -adrenoceptors. *Ann NY Acad Sci.* 1999;881:123–35.

29. Molderings GJ, Moura D, Fink K, Bonisch H, Gothert M. Binding of [³H] clonidine to I₁-imidazoline sites in bovine adrenal medullary membranes. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 1993;348:70–76.
30. Ernsberger P, Piletz JE, Graff LM, Graves ME. Optimization of radioligand binding assays for I₁-imidazoline sites. *Ann NY Acad Sci.* 1995;763:163–68.
31. Separovic D, Kester M, Ernsberger P. Coupling of I₁-imidazoline receptors to diacylglyceride accumulation in PC12 rat pheochromocytoma cells. *Mol Pharmacol.* 1996;49:668–75.
32. Greney H, Ronde P, Magnier C, Maranca F, Rascente C, Quaglia W, Giannella M, Pigini M, Brasili L, Lugnier C, Bousquet P, Dontenwill M. Coupling of I₁-imidazoline receptors to the cAMP pathway: studies with a highly selective ligand benazoline. *Mol Pharm.* 2000;57:1142–51.
33. Gentili F, Bousquet P, Brasili L, Dontenwill M, Feldman J, Ghelfi F, Giannella M, Piergentili A, Quaglia W, Pigini M. Imidazoline Binding Sites (IBS) Profile Modulation: Key Role of the Bridge in Determining I₁-IBS or I₂-IBS Selectivity within a Series of 2-Phenoxyethylimidazoline Analogues. *J Med Chem.* 2003;46:2169–76.
34. Piletz JE, Sletten K. Nonadrenergic imidazoline binding sites on human platelets. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993;267:1493–502.
35. Felsen D, Ernsberger P, Sutaria PM, Nejat RJ, Nguyen P, May M, Breslin DS, Marion DN, Vaughan D Jr Identification, localization and functional analysis of imidazoline and alpha adrenergic receptors in canine prostate. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994;268:1063–71.
36. Separovic D, Kester M, Haxhiu MA, Ernsberger P. Activation of phosphatidylcholine-selective phospholipase C by I₁-imidazoline receptors in PC12 cells and rostral ventrolateral medulla. *Brain Res.* 1997;749:335–39.
37. Zhang J, El Mas MM, Abdel-Rahman AA. Imidazoline I(1) receptor-induced activation of phosphatidylcholine-specific phospholipase C elicits mitogen-activated protein kinase phosphorylation in PC12 cells. *Eur J Pharmacol.* 2001;415:117–25.
38. Zhang J, Abdel-Rahman AA. Mitogen-activated protein kinase phosphorylation in the rostral ventrolateral medulla plays a key role in imidazoline (I1)-receptor-mediated hypotension. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005;314:945–52.
39. Edwards L, Fishman D, Horowitz P, Bourbon N, Kester M, Ernsberger P. The I(1)-imidazoline receptor in PC12 pheochromocytoma cells activates protein kinases C, extracellular signal-regulated kinase (ERK) and c-jun N-terminal kinase (JNK). *J Neurochem.* 2001;79:931–40.
40. Edwards L, Ernsberger P. The I(1)-imidazoline receptor in PC12 pheochromocytoma cells reverses NGF-induced ERK activation and induces MKP-2 phosphatase. *Brain Res.* 2003;980:71–79.
41. Ernsberger P. The I(1)-imidazoline receptor and its cellular signaling pathways. *Ann NY Acad Sci.* 1999;881:35–53.
42. Piletz JE, Ivanov TR, Sharp JD et al. Imidazoline receptor antisera-selected (IRAS) cDNA: Cloning and characterization. *DNA Cell Biol.* 2000;19:319–29.
43. Dontenwill M, Piletz JE, Chen M, Baldwin J, Pascal G, Ronde P, Dupuy, L, Greney, H, Takeda, K, Bousquet, P. IRAS is an anti-apoptotic protein. *Ann NY Acad Sci.* 2003;1009:400–12.
44. Alahari SK, Lee JW, Juliano RL. Nischarin, a novel protein that interacts with the integrin alpha5 subunit and inhibits cell migration. *J Cell Biol.* 2000;151:1141–54.
45. Piletz JE, Jones JC, Zhu H, Bishara O, Ernsberger P. Imidazoline receptor antisera-selected cDNA clone and mRNA distribution. *Ann NY Acad. Sci.* 1999;881:1–7.
46. Piletz JE, Wang G, Zhu H. Cell signaling by imidazoline-1 receptor candidate, IRAS, and the nischarin homologue. *Ann NY Acad Sci.* 2003b;1009:392–99.
47. Zhang J, Abdel-Rahman AA. Nischarin as a functional imidazoline (I1) receptor. *FEBS Letters* 2006;580:3070–74.

48. Li F, Wu N, Su RB, Zheng JQ, Xu B, Lu XQ, Cong B, Li J. Involvement of Phosphatidylcholine-Selective Phospholipase C in Activation of Mitogen-Activated Protein Kinase Pathways in Imidazoline Receptor Antisera-Selected Protein. *J Cell Biochem*. 2006;98:1615–28.
49. Sun Z, Chang ChH, Ernsberger P. Identification of IRAS/Nischarin as an I₁-imidazoline receptor in PC12 rat pheochromocytoma cells. *J Neurochem*. 2007;101:99–108.
50. Alahari SK. Nischarin inhibits Rac induced migration and invasion of epithelial cells by affecting signaling cascades involving PAK. *Exp Cell Res*. 2003;288:415–24.
51. Baranwal S, Wang Y, Rathinam R, Lee J, Jin L, McGoey R, Pylayeva Y, Giancotti F, Blob GC, Alahari SK, Molecular Characterization of the Tumor-Suppressive Function of Nischarin in Breast Cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2011;103:1513–28.
52. Li G, Regunathan S, Barrow CJ, Eshraghi J, Cooper R, Reis DJ. Agmatine: An endogenous clonidine-displacing substance in the brain. *Science* 1994;263:966–69.
53. Prell GD, Martinelli GP, Holstein GR, Matulic-Adamic J, Watanabe KA, Chan SL, Morgan NG, Haxhiu MA, Ernsberger P. Imidazoleacetic acid-ribotide: an endogenous ligand that stimulates imidazol(in)e receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:13 677–82.
54. Halaris A, Plietz J. Agmatine: Metabolic pathway and spectrum of activity in brain. *CNS Drugs*, 2007;21:885–900.
55. Husbands SM, Glennon RA, Gorgerat S, Gough R, Tyacke R, Crosby J, Nutt DJ, Lewis JW, Hudson AL. Beta-carboline binding to imidazoline receptors. *Drug Alcohol Depend*. 2001;64:203–8.
56. Musgrave IF, Badoer E. Harmane produces hypotension following microinjection into the RVLM: possible role of I₁-imidazoline receptors. *Br J Pharmacol*. 2000;129:1057–9.
57. Parker ChA, Anderson NJ, Robinson ESJ, Price R, Tyacke RJ, Husbands SM, Dillon MP, Eglen RM, Hudson AL, Nutt DJ, Crump MP, Crosby J. Harmane and Harmalan Are Bioactive Components of Classical Clonidine-Displacing Substance. *Biochemistry* 2004;43:16385–92.
58. Piletz JE, Zhu H, Chikkala DN. Comparison of ligand binding affinities at human I₁-imidazoline binding sites and the high affinity state of alpha-2 adrenoceptor subtypes. *J Pharmacol Exp Ther*. 1996;279(2):694–702.
59. Nikolic K, Agbaba D. Imidazoline Antihypertensive Drugs: Selective I₁-Imidazoline Receptors Activation. *Cardiovascular Therapeutics* 2012;30: 209–16.
60. Anastassiadou M, Danoun S, Cane L, Baziard-Mouysset G, Payard M, Caillard D-H, Rettori M-C, Renard P. Synthesis and pharmacological evaluation of imidazoline sites I₁ and I₂ selective ligands. *Bioorg Med Chem*. 2001;9:585–92.
61. Gentili F, Bousquet P, Carrieri A, Feldman J, Ghelfi F, Giannella M, Piergentili A, Quaglia W, Vesprini C, Pigini M. Rational design of the new antihypertensive I₁-receptor ligand 2-(2-biphenyl-2-yl-1-methyl-ethyl)-4,5-dihydro-1H-imidazole. *Letters in Drug Design and Discovery* 2005;2:571–8.
62. Treder AP, Andruszkiewicz R, Zgoda W, Ford C, Hudson AL. New analogues of agmatine with higher affinity to imidazoline receptors. *Bioorg Med Chem Lett*. 2009;19:1009–11.
63. Nikolic K, Filipic S, Agbaba D. QSAR study of Imidazoline antihypertensive drugs. *Bioorg Med Chem*. 2008;16:7134–40.
64. Nikolic K, Filipic S, Agbaba D QSAR study of selective I₁-Imidazoline Receptor Ligands. *SAR & QSAR Environ Res* 2008;20:133–44.
65. Filipic S, Nikolic K, Krizman M, Agbaba D. The quantitative structure-retention relationship (QSRR) analysis of some centrally acting antihypertensives and diuretics. *QSAR and Combinatorial Science* 2008;27:1036–44.

66. Eric S, Pavlovic M, Popović G, Agbaba D. Study of retention parameters obtained in RP-TLC system and their application on QSAR/QSPR of some alpha adrenergic and imidazoline receptor ligands. *J Chromatogr Sci.* 2007;45:140-5.
67. Eric S, Solmajer T; Zupan, J Novic, M Oblak, M Agbaba, D. Prediction of selectivity of α_1 -adrenergic antagonists by counterpropagation neural network (CP-ANN). *Farmaco.* 2004;59:389-95.
68. Eric S, Solmajer T, Zupan J, Novic M, Oblak M, Agbaba D. Quantitative structure-activity relationships of α_1 adrenergic antagonists. *J Molec Model.* 2004;10:139-50.
69. Vučićević K, Popović G, Nikolic K, Vovk I, Agbaba D. An experimental design approach to selecting the optimum HPLC conditions for the determination of 2-arylimidazoline derivatives. *J Liq Chromat Rel Techn.* 2009;32:656-67.
70. Filipic S, Nikolic K, Krizman M, Agbaba, D. Theoretical study of inclusion complexes between β -cyclodextrin and guanidine/imidazoline analogs. *Drugs Fut.* 2008;33 (Suppl. A) P067.
71. Filipic S, Nikolic K, Agbaba D. Separation and migration behavior of some centrally acting antihypertensives. *Arh Farm.* 2010;60:912-13.
72. Filipic S, Nikolic K, Vovk I, Krizman M, Agbaba D. The Quantitative Structure-Retention Relationship (QSRR) analysis of some centrally acting antihypertensives and diuretics in cyclodextrin-mediated capillary electrophoresis. *Mac Pharmac Bull.* 2011;57:Supp II - 37.
73. Eric S, Solmajer T, Oblak M, Kotnik M, Agbaba D. Modelling of alpha1-adrenergic receptors: The application in the design of selective alpha1b-adrenergic antagonists, *D Biopolymers* 2005;80:561.
74. Carrieri A., Brasili L, Leonetti F, Pigini M, Giannella M, Bousquet P, Carotti A. 2-D and 3-D modeling of imidazoline receptor ligands: Insights into pharmacophore. *Bioorg Med Chem.* 1997;5:843-56.
75. Pigini M, Bousquet P, Carotti A, Dontenwill M, Giannella M, Moriconi R, Piergentili A, Quaglia W, Tayebati SK, Brasili L. Imidazoline receptors: Qualitative structure-activity relationships and discovery of tracizoline and benazoline. Two ligands with high affinity and unprecedented selectivity. *Bioorg Med Chem.* 1997;5:833-41.
76. Pigini M, Bousquet P, Brasili L, Carrieri A, Dontenwill M, Gentili F, Giannella M, Leonetti F, Piergentili A, Quaglia W, Carotti A. Binding of tracizolines to the imidazoline receptor. Role of lipophilicity in quantitative structure-activity relationship models. *Ann. NY Acad. Sci.* 1999;881:118-22.
77. Nicolotti O, Carotti A, Carrieri A, Pigini M, Gentili F, Brasili L, Giannella M, Quaglia W, Piergentili A, Bousquet P, Dontenwill M. Pharmacophore development and 3D-QSAR study of I_1 imidazoline binding site ligands. *Med Chem Res.* 2004;13:170-89.

I₁-Imidazoline Receptors Ligands as central antihypertensives

Katarina Nikolic*, Slavica Filipic, Danica Agbaba

University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Vojvode Stepe 450, 11000 Belgrade, Serbia

*Corresponding Author: Katarina Nikolic,

University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Vojvode Stepe 450, 11000 Belgrade, Serbia.

tel: +381-11-3951-259, fax: +381-11-3974-349, e-mail: knikolic@pharmacy.bg.ac.rs

Summary

The mechanism by which central antihypertensives, such as clonidine, rilmenidine, and moxonidine, lower blood pressure is activation of both α_2 -adrenergic receptors (α_2 -AR) and imidazoline receptors (IR) in *Rostral Ventrolateral Medulla* (RVLM), while sedation, as main side effect, is result of activation of only α_2 -AR in *locus coeruleus*. Three imidazoline receptor subtypes, I₁-IR, I₂-IR, and I₃-IR, have been characterized by extensive pharmacological studies. Selective activation of I₁-IR is responsible for dose dependant central inhibition of sympathetic and hypotensive effect of the I₁-IR ligands. Recent studies indicated that optimal balance between activation of both the I₁-IR and α_2 -AR is crucial factor for strong central hypotensive effect. The second generation of centrally acting antihypertensives, such as rilmenidine and moxonidine, exert higher I₁-IR/ α_2 -AR selectivity and therefore induce fewer side effects than clonidine which mainly activate α_2 -AR. Also, the selective I₁-IR ligands produce antiarrhythmic and diuretic effect too. In the present review we provide a brief update to the field of imidazoline research, highlighting some of the chemical diversity and progress made in the experimental and theoretical studies of the I₁-IR ligands.

Keywords: I₁-imidazoline receptors, alpha₂-adrenergic receptors, QSAR, pharmacophores, moxonidine, rilmenidine, clonidine, hypertension, centrally acting antihypertensives.

Biomarkeri prehipertenzije

**Nataša Bogavac-Stanojević^{1*}, Zorana Jelić-Ivanović¹, Lidija Memon²,
Aleksandra Zeljković¹, Jelena Vekić¹, Jelena Kotur-Stevuljević¹,
Vesna Spasojević-Kalimanovska¹**

¹ Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za medicinsku biohemiju,
Vojvode Stepe 450, 11000 Beograd, Srbija

² Klinička laboratorija, Kliničko-bolnički centar „Bežanijska kosa”, Beograd, Srbija

*Adresa za korespondenciju: Nataša Bogavac-Stanojević

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za medicinsku biohemiju,
Vojvode Stepe 450, 11000 Beograd, Srbija, Tel: (+381 11) 3970272
Fax: (+381 11) 3972840 E-mail: naca@pharmacy.bg.ac.rs

Kratak sadržaj

Osobe sa sistolnim krvnim pritiskom (SKP) između 120 i 139 mm Hg i dijastolnim krvnim pritiskom (DKP) od 80 do 89 mm Hg ili sa prehipertenzijom imaju dva puta veću verovatnoću razvoja kardiovaskularnih bolesti (KVB) i veći rizik za razvoj hipertenzije. U ovoj studiji ispitivana je veza biomarkera KVB sa prehipertenzijom. U istraživanje je uključeno 99 normotenzivnih osoba. Određivane su koncentracije lipidnih parametara, visoko osjetljivog C reaktivnog proteina, mokraćne kiselina (MK), fibrinogena i demografske karakteristike pacijenata. Utvrđena je pozitivna veza SKP sa indeksom telesne mase (ITM) i odnosom struka i kuka (indeks S/K) i negativna korelacija sa koncentracijama holesterola u lipoproteinima visoke gustine i apolipoproteina A-I. Takođe, visoke vrednosti indeksa S/K nezavisno od ostalih parametara doprinose povećanju SKP (standardizovani koeficijent $\beta = 0.483$; $p=0.002$). Veći indeks S/K ($\beta = 9.380$, $p = 0.004$) i viša koncentracija MK ($\beta = 0.006$, $p = 0.013$) povećavaju verovatnoću pojave viših vrednosti krvnog pritiska (KP). Kod normotenzivnih osoba više vrednosti KP su u vezi sa abdominalnom gojaznošću, pa cilj preventivnih mera treba da bude smanjenje indeksa S/K. Buduće studije bi pored proučavanja efekata lekova na smanjenje KP, trebalo da ispitaju uticaj tih lekova na koncentraciju MK, u cilju nalaženja novih mogućnosti za smanjenje rizika za KVB.

Ključne reči: abdominalna gojaznost, mokraćna kiselina, indeks struk/kuk,
kardiovaskularne bolesti

Uvod

Brojna istraživanja, epidemiološke i kliničke studije ukazale su da je arterijska hipertenzija (HT) bolest koja ozbiljno utiče na zdravlje i kvalitet života ljudi (1). Osobe sa HT imaju visok rizik za razvoj kardiovaskularnih bolesti (KVB) i on se udvostručava sa svakim porastom krvnog pritiska (KP) za 20/10 mm Hg (2). Vrednosti sistolnog KP (SKP) i dijastolnog KP (DKP) deo su globalne procene rizika za desetogodišnje oboljevanje od KVB (3, 4) ili procene rizika za smrtnosti od fatalnog kardiovaskularnog događaja (5). Zato je rana identifikacija osoba sa rizikom za HT veoma bitna u prevenciji KVB i predstavlja važan prioritet javnog zdravlja (6).

Dijagnoza HT se postavlja ukoliko su izmerene vrednosti SKP više od 140 mm Hg i/ili vrednosti DKP više od 90 mm Hg (2). Međutim, osobe sa SKP između 120 i 139 mm Hg i dijastolnim krvnim pritiskom (DKP) između 80 i 89 mm Hg (prehipertenzija) imaju potencijalni rizik da kasnije u životu razviju HT (7). Ove osobe imaju dva puta veću verovatnoću razvoja KVB u odnosu na osobe sa optimalnim KP (SKP < 120 mm Hg i DKP < 80 mm Hg) (8). Primena preventivnih mera u modifikaciji faktora uključenih u razvoj prehipertenzije odložila bi nastanak HT i KVB.

U studijama rađenim na populacijama razvijenih zemalja utvrđena je veza između inflamacije, gojaznosti, parametara oksidativno-stresnog statusa i tradicionalnih faktora rizika sa prehipertenzijom i HT (9, 10). Međutim, slična istraživanja retko su sprovedena na populaciji Srbije. Potreba za ovakvim studijama je utoliko veća ako se u obzir uzme činjenica da je u zemljama u razvoju, uključujući i Srbiju, broj osoba sa HT i KVB u dramatičnom porastu (11). Smatra se da će u ovim zemljama 2025. godine prevalenca HT iznositi 60% (12). Neophodna su istraživanja na populacijama zemalja u razvoju kako bi se utvrdila relacija između modifikujućih faktora rizika sa prehipertenzijom sa ciljem da se primene odgovarajuće preventivne mere.

U ovoj studiji sprovedeno je istraživanje na zdravim osobama sa vrednostima SKP nižim od 140 mm Hg i DKP nižim od 90 mm Hg kako bi se utvrdila veza između biomarkera KVB sa visinom KP. Takođe, cilj je bio da se analizira sposobnost ovih parametara u proceni rizika za razvoj prehipertenzije.

Materijal i metode

Ispitanici

U istraživanju je učestvovalo 99 ispitanika (53 muškarca i 46 žena prosečne starosti 54.11 ± 11.12 godina) koji su dolazili na redovne sistematske pregledе u Dom zdravlja „Palilula“ i Dom zdravlja „Novi Beograd“. Kriterijumi za isključivanje prilikom formiranja grupe ispitanika bili su: prisustvo HT (SKP veći ili jednak 140 mm Hg i/ili DKP veći ili jednak 90 mm Hg), uzimanje antihipertenzivne terapije, prisustvo KVB, bilo koje druge sistemske inflamatorne (visoko osetljivi C reaktivni protein (hs-

CRP \geq 10 mg/L)) (13) ili metaboličke bolesti, bolesti jetre ili bubrega. Sa svim učesnicima u istraživanju je obavljen standardizovan intervju. Sakupljeni su anamnistički podaci koji su uključivali: pol, godine, visinu, težinu, KP, osnovne životne navike i porodičnu istoriju KVB u prvostepenom srodstvu. Iz podataka za visinu i težinu izračunat je indeks telesne mase (ITM), a iz podataka za obim struka i kuka odnos obima struk/kuk (indeks S/K).

Ispitanici su klasifikovani u tri kategorije na bazi JNC VI i WHO-ISH kriterijuma: optimalni KP (SKP manji od 120 mm Hg i/ili DPK manji od 80 mm Hg), normalni KP - prehipertenzija (SKP od 120 do 129 mm Hg i/ili DPK od 80 do 84 mm Hg), ili visoki normalni KP - prehipertenzija (SKP od 130 do 139 mm Hg i/ili DPK od 85 do 89 mm Hg) (14, 15). Ukoliko su SKP i DPK u različitim kategorijama, ispitanici su svrstavani u kategoriju sa višim KP. KP je definisan kao srednja vrednost iz dva merenja koja je obavio lekar, a pacijent je bio u sedećem položaju.

Istraživanje je planirano i sprovedeno prema etičkim principima u skladu sa Deklaracijom iz Helsinkija, a na osnovu odobrenja Etičkog komiteta za klinička ispitivanja Farmaceutskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Svi ispitanici su dali pismeni pristanak za učestvovanje u istraživanju.

Biohemijske analize

Uzorci krvi iz prednje kubitalne vene su uzeti od svih ispitanika posle dvanaestočasovnog noćnog gladovanja. Krv je uzeta u epruvete sa EDTA, citratom ili separacionim gelom. Serum i plazma su odvojeni od krvnih ćelija u roku od jednog sata, a uzorci su zatim podeljeni u porcije od 200 μ L i čuvani u zamrzivaču na -80 $^{\circ}$ C do izvođenja analiza. Koncentracije ukupnog holesterola (UH), holesterola u lipoproteinima niske gustine (LDL-h), holesterola u lipoproteinima visoke gustine (HDL-h), triglicerida (TG), apolipoproteina B (apoB), apolipoproteina AI (apoA-I) i mokraćne kiseline (MK) određene su standardnim biohemiskim metodama. Hs-CRP je meren latex-imunoturbidimetrijskom metodom reagensima firme Quantex hs-CRP kit, BIOKIT, Barcelona, Spain. Koncentracija lipoproteina (a) [Lp(a)] je takođe određivana imunoturbidimetrijskom metodom uz korišćenje reagenasa firme (BIOKIT, Barcelona, Spain). Fibrinogen je meren u citratnoj plazmi Clauss metodom sa ACL 200 Instrumentation laboratory reagensima.

Statistička analiza

Kako bi se utvrdilo da li su podaci distribuirani po normalnoj raspodeli korišćen je Kolmogorov-Smirnov test. Pre analize parametara sa log normalnom raspodelom izvršena je njihova logaritamska transformacija (Tg, Lp(a), hs-CRP). Za analizu rezultata upotrebljena je analiza varijanse (ANOVA) i Tucky post hoc test.

Jačina veze između SKP i DKP sa ispitivanim parametrima proverena je pomoću Spearman-ove neparametarske analize, dok je multipla linearna regresiona analiza primenjena za ispitivanje nezavisnih faktora uticaja na varijacije u visini SKP i DKP po forward principu selekcije. Korišćena je ordinalna regresiona analiza za analiziranje prediktivne sposobnosti ispitivanih parametara na nivo KP. Kao zavisna promenljiva korišćena je varijabla za KP podeljena u 3 kategorije na osnovu JNC VI i WHO-ISH kriterijuma (15). Korišćen je proporcionalni Odds model u kome je pretpostavljeno da je OR između svakog susednog nivoa KP isti.

Vrednosti u tabelama za parametre sa normalnom raspodelom prikazane su kao aritmetička srednja vrednost \pm standardna devijacija ($\bar{x} \pm SD$). Za log-normalno distribuirane parametre, vrednosti su prikazane kao geometrijska srednja vrednost i 95% interval pouzdanosti (CI) za geometrijsku sredinu.

Statistička obrada podataka izvedena je statističkim programima MS Excel i MedCalc (verzija 9.6.3; Mariakerke, Belgija). Statistička značajnost bila je dokazana u svim slučajevima kada je verovatnoća iznosila $p \leq 0.05$ (dvostrani test).

Rezultati

Opšte kliničke i demografske karakteristike učesnika u studiji, koji su klasifikovani u tri grupe na osnovu vrednosti KP, prikazane su u Tabeli I. Nakon primene ANOVA analize dokazan je značajan pad koncentracija HDL-h i porast koncentracija MK i indeksa S/K sa porastom KP. Takođe, koncentracija fibrinogena razlikovala se značajno između ispitivanih grupa. Na osnovu rezultata Tukey's *post hoc* testa, osobe sa normalnim KP imaju značajno viši fibrinogen u odnosu na osobe sa optimalnim KP ($p=0.041$). HDL-h je značajno viši kod osoba sa optimalnim KP u odnosu na osobe sa normalnim KP ($p=0.024$) i osobe sa visokim normalnim KP ($p=0.034$). Osobe sa visokim normalnim KP imaju značajno više koncentracije MK u odnosu na osobe sa optimalnim KP ($p=0.031$) kao i značajno veći indeks S/K u odnosu na osobe sa normalnim KP ($p=0.008$).

Tabela I Demografski parametri i faktori rizika KVB u tri grupe KP kod normotenzivnih osoba**Table I** Demographic data and CHD risk parameters in the three nonhypertensive blood-pressure categories

	Optimalni KP (16)	Normalni KP (56)	Visoko normalni KP (27)	p ¹
Starost, godine	53,94±13,05	56,00±11,00	52,70±10,19+	0,430
Pol, M/Ž	6/10	29/27	18/9	
ITM, kg/m ²	25,02±2,38	25,61±3,13	26,75±3,05	0,139
Indeks S/K	0,80±0,106	0,81±0,09	0,84±0,102 ^{b **}	0,006
UH, mmol/L	5,32±0,87	5,26±0,93 ^{a *}	5,39±0,57 ^{a *}	0,789
TG, mmol/L [*]	1,22 (0,83-1,81)	1,33 (0,86-2,05)	1,49 (0,85-2,61)	0,375
LDL-h, mmol/L	3,31±0,78	3,45±0,82	3,63±0,62	0,406
HDL-h, mmol/L	1,41±0,38	1,14±0,33	1,13±0,36	0,021
Lp(a), mg/L [*]	102,97 (40,58- 261,28)	91,96 (29,55 – 286,15)	100,93 (23,19-439,24)	0,918
ApoB, g/L	1,27±0,29	1,26±0,26	1,31±0,18	0,348
ApoAI, g/L	2,03±0,46	1,81±0,43	1,79±0,43	0,166
Fibrinogen, g/L	4,59±1,52	3,73±1,15 ^{a *}	4,35±1,09	0,016
CRP [*] , mg/L	1,10 (0,42-2,83)	1,25 (0,38-4,10)	1,11 (0,36-3,47)	0,870
MK, µmol/L	247,8±56,17	285,38±77,78	315,96±99,94 ^{a *}	0,039

Kontinuirane varijable su prikazane kao srednja vrednost ± standardna devijacija (SD), kategoričke varijable su prikazane kao apsolutne frekvence; ^{*}ZaTG i Lp(a) prikazane su geometrijska srednja vrednost i 95% interval pouzdanosti srednje vrednosti. ¹Uporedivanje je vršeno ANOVA testom

***P<0.001; **P<0.01; *P<0.05 (Tukey's *post hoc* test).

^aZnačajno različit od grupe sa optimalnim KP nakon primene Tukey's *post hoc* testa.

^bZnačajno različit od grupe sa normalnim KP nakon primene Tukey's *post hoc* testa.

Povezanost visine SKP i DKP sa određivanim i merenim biomarkerima ispitivana je Spearman-ovom korelacionom analizom i prikazana je u Tabeli II. Utvrđili smo da je povišena koncentracija TG i MK u korelaciji sa višim vrednostima SKP. SKP je u pozitivnoj korelaciji sa ITM i indeksom S/K. Koncentracija HDL-h i apoAI je u negativnoj korelaciji sa SKP. Porast vrednosti DKP je uslovljen samo porastom ITM.

Table II Korelacija između SKP i DKP sa faktorima rizika KVB

Table II Correlations between systolic and diastolic blood pressure and CHD risk parameters

	SKP		DKP	
	r	p	r	p
ITM, kg/m ²	0,225	0,025	0,269	0,009
Indeks S/K	0,569	<0,001		
TG, mmol/L	0,205	0,045		
HDL-h, mmol/L	-0,285	0,004		
ApoAI, g/L	-0,190	0,060		
MK, µmol/L	0,313	0,002		

Da bi se ispitao nezavisni uticaj biomarkera na visinu SKP i DKP, ovi parametri su uključeni u *forward stepwise* multiplu regresionu analizu. Dobijeni rezultati pokazali su da visoke vrednosti indeksa S/K nezavisno od ostalih parametara doprinose povećanju SKP (standardizovani koeficijent $\beta = 0.483$; $p=0.002$; $R^2 = 0.234$). Ni jedan od ispitivanih parametara nije nezavisna determinanta visine DKP.

Ordinalna regresiona analiza je korišćena za analiziranje prediktivne sposobnosti ispitivanih parametara na nivo KP. Analizom je dokazano da veći indeks S/K ($\beta = 9.380$, $p = 0.004$) i viša koncentracija MK ($\beta = 0.006$, $p = 0.013$) povećavaju verovatnoću za pojavu viših vrednosti KP. Slično visoke koncentracije HDL-h su prediktori nižeg KP ($\beta = -1.235$, $p = 0.030$).

Diskusija

U ovoj studiji je dokazano: 1. da postoji korelacija između SKP i lipidnih parametara (TG, HDL-h i apo A-1), parametara gojaznosti (indeksa S/K i ITM) i MK, a jedini nezavisni prediktor varijacije u veličini SKP je indeks S/K; 2. na osnovu koncentracija MK, HDL-h i vrednosti indeksa S/K mogu se sa značajnom verovatnoćom predvideti više vrednosti KP.

Rezultati iz naše studije o vezi SKP sa parametrima gojaznosti i lipidnog statusa su očekivni. Vrednosti SKP se povećavaju sa porastom indeksa S/K, ITM i sa porastom koncentracije TG i obrnuto opadaju sa porastom koncentracija HDL-h i apo A-1. Kod gojaznih osoba povišene koncentracije insulina dovode do povećane resorpcije natrijuma u bubrežima (16), do povećanog volumena krvi, do povećane aktivnosti simpatikusa i na kraju do HT. Osobe sa visokom gojaznošću imaju više koncentracije insulina u cirkulaciji u odnosu na osobe sa subkutanom gojaznošću (17), tako da se kod osoba sa većim indeksom S/K ranije razvija HT. Jedini nezavisni prediktor viših vrednosti arterijskog KP u našoj studiji je indeks S/K. Korekcija je izvršena sa svim ispitivnim parametrima, što znači da će visoke vrednosti indeksa S/K povećavati arterijski KP i kod osoba sa niskim ITM. Slični rezultati su dobijeni i u Cardiovascular Disease Prevention Project studiji (18) gde je dokazana značajna korelacija indeksa S/K sa KP kod muškaraca i žena bele rase, ali ne i kod afričkih Amerikanaca nakon normalizacije za ITM. U radu publikovanom na učesnicima ARIC studije ista zavisnost je dokazana kod obe rase (19). I u istraživanjima koja su rađena na populacijama država u razvoju dokazana je veza visokog KP sa indeksom S/K koji je, u poređenju sa drugim antropometrijskim parametrima, pokazao najjaču korelaciju sa SKP ali i DKP (20, 21, 22). Ovaj podatak je od značaja jer daje dodatne informacije o pravilnoj primeni preventivnih i terapijskih mera za HT. Smanjenje telesne težine je prva preporuka za gojazne osobe sa HT i smatra se najefikasnijim nefarmakološkim tretmanom ovih osoba. Gubitkom telesne težine povećava se insulinska osetljivost i smanjuje se aktivnost simpatičkog nervnog sistema. Za razliku od osoba sa HT, a na osnovu rezultata naše studije i studija koje su rađene na drugim normotenzivnim populacijama, evidentno je da bi kod ove grupe osoba smanjenje abdominalne gojaznosti bilo od većeg značaja za redukciju prehipertenzije nego samo redukcija telesne mase (23).

Značajan podatak iz naše studije je taj da indeks S/K može da posluži i u predviđanju pojave prehipertenzije. Indeks S/K je značajan prediktor normalnog i visokog normalnog KP (prehipertenzija) sa beta koeficijentom od 9,38. Ukoliko osoba ima veću abdominalnu gojaznost, imaće i veću verovatnoću da će razviti prehipertenziju, a kasnije i HT. Još neka istraživanja su potvrdila da je indeks S/K bolji prediktor bolesti koje su posledica gojaznosti u odnosu na ITM (24, 25).

Osim indeksa S/K i za MK je pokazana pozitivna korelacija sa SKP. Veza između visokih vrednosti MK i visokog KP može da se objasni smanjenim protokom krvi kroz bubrege, što je česta pojava u HT, a slab protok krvi kroz bubrege stimuliše resorpciju urata (26). Rezultat HT je i mikrovaskularna bolest koja dovodi do lokane tkivne ishemije (27), oslobađanja laktata koji blokira sekreciju urata u proksimalnim tubulima bubrega. U našoj studiji je potvrđeno da opisani mehanizmi funkcionišu i kod normotenzivnih osoba. Veza između visokog SKP i MK je utoliko značajnija ukoliko se u obzir uzmu i mehanizmi kojima MK oštećuje zid krvnih sudova i dovodi do KVB. Visoke vrednosti MK dovode se u vezu sa disfunkcijom endotela, produkcijom citokina iz leukocita i hemokina iz glatkih mišićnih ćelija. Ovo ukazuje na potencijalnu ulogu MK u sistemskom inflamatornom odgovoru koji je u vezi sa KVB (28).

Iako su neke studije dokazale da HT i prehipertenzija dovode do porasta koncentracije MK i tako povećavaju rizik za KVB, u našoj studiji je utvrđeno da MK može da predvidi pojavu višeg KP kod normotenzivnih osoba. U studiji Masuo i srodnika koja je rađena na 433 muškaraca 1,0-mg/dL povećanja u MK predviđa povećanje KP za 27mm Hg, u periodu od 5 godina praćenja (29).

Postavlja se pitanje da li bi lekovi koji snižavaju koncentraciju MK doprineli sporijem razvoju HT i samim tim smanjili rizik od razvoja KVB. Diuretici, tiazidi, povećavaju koncentraciju MK jer stimulišu resorpciju natrijuma i urata u proksimalnim tubulima (30). Međutim, rađeni su eksperimenti na pacovima koji su hranjeni fruktozom uz primenu alopurinola. Pacovi koji nisu primali navedeni lek razvili su metabolički sindrom, imali su povišene TG, KP, MK, insulin i telesnu masu. Primena alopurinola u drugoj grupi pacova sprečila je pojavu ovih efekata (31). U studiji sprovedenoj na ljudima dokazan je dozno zavisnost efekata alopurinola na endotelnu funkciju. Zaključak studije je da je to posledica redukovanih oksidativnih stresa, a ne redukcije urata (32). Slično, u novijim studijama je dokazano da hipolipemici osim što utiču na lipide deluju i na MK. Prve studije su proučavale dejstvo fibrata (fenofibrata) na koncentraciju MK i već tada se pretpostavilo da fenofibrati snižavaju nivo MK u cirkulaciji tako što povećavaju izlučivanje urata i to nezavisno od promena u nivou lipida (33). Osim fenofibrata u novijim studijama se uočio efekat statina (atorvastatina) na sniženje MK, ali mehanizam dejstva još nije utvrđen (34).

Iz svega sledi zaključak da su kod normotenzivnih osoba više vrednosti KP u direktnoj vezi sa abdominalnom gojaznošću i da preventivne mere u razvoju HT treba da budu usmerene ne samo na sniženje IMT već prvenstveno na smanjenje indeksa S/K. Iako se još uvek sa sigurnošću ne zna da li visok KP uslovljava visoke koncentracije MK ili je obrnuto, u ovoj studiji je pokazano da zavisnost postoji i kod normotenzivnih osoba, a da buduće studije treba da proučavaju uticaj lekova koji će delovati ne samo na visinu KP već i na koncentraciju MK i na taj način višestruko povoljno uticati na smanjenje rizika od KVB.

Zahvalnica

Ovaj rad je finansijski podržan sredstvima Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije (Projekat br. 175035).

Literatura

1. National Clinical Guidance Centre, Hypertension (NICE CG127) 2011. [ww.nice.org.uk/nicemedia/live/13561/56007/56007.pdf](http://www.nice.org.uk/nicemedia/live/13561/56007/56007.pdf)
2. Arterijska hipertenzija. Nacionalni vodič za lekare u primarnoj zdravstvenoj zaštiti. 2005. <http://www.zdravlje.gov.rs/downloads/2008/Sa%20Zdravlja/dokumenta/Vodici/ARTERIJSKA%20HIPERTENZIJA.pdf>
3. National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) final report. Circulation 2002;106:3143–421.
4. Assmann G, Cullen P, Schulte H. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective cardiovascular Munster (PROCAM) study. Circulation. 2002;105:310–5.
5. Conroy RM, Pyorala K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, Backer G, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: The SCORE project. Eur Heart J. 2003;24:987–10036.
6. Lopez AD, Mathers CD, Ezzati M, Jamison DT, Murray CJ. Global and regional burden of disease and risk factors: systematic analysis of population health data. Lancet 2006;367:1747–57.
7. Vasan RS, Beiser A, Seshadri S, Larson MG, Kannel WB, D'Agostino RB et al. Residual lifetime risk for developing hypertension in middle-aged women and men. JAMA 2002;287:1003-10.
8. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. Lancet 2002;360:1903-13.
9. Zhang Y, Lee ET, Devereux RB, Yeh J, Best LG, Fabsitz RR et al. Prehypertension, diabetes, and cardiovascular disease risk in a population-based sample. Hypertension 2006;47:410-4.
10. King DE, Egan BM, Mainous AG, Geesey ME. Elevation of C-reactive protein in people with prehypertension. J Clin Hypertens 2004;6:562-8.
11. Nacionalni program prevencije, lečenja i kontrole kardiovaskularnih bolesti u republici Srbiji do 2020. godine. <http://www.minzdravlja.info/downloads/Zakoni/Strategije/NacionalniProgramKardiuloskeZdravstveneZastite.pdf>
12. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. Lancet 2005;365:217-23.

13. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003;107:499-511.
14. The sixth report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Arch Intern Med* 1997;157:2413-46. [Erratum, *Arch Intern Med* 1998;158:573.]
15. Guidelines Subcommittee. World Health Organization-International Society of Hypertension guidelines for the management of hypertension. *J Hypertens* 1999;17:151-83.
16. de Fronzo, R. A. The effect of insulin on renal sodium metabolism: a review with clinical implications. *Diabetologia* 1981; 21: 165-71.
17. Pouliot MC, Després JP, Nadeau A, Moorjani S, Prud'Homme D, Lupien PJ **et al.** Visceral obesity in men: association with glucose tolerance, plasma insulin, and lipoprotein levels. *Diabetes*. 1992; 41: 826-34.
18. Lackland DT, Orchard TJ, Keil JE, Saunders DE Jr, Wheeler FC, Adams-Campbell LL, **et al.** Are race differences in the prevalence of hypertension explained by body mass and fat distribution? A survey in a biracial population. *Int J Epidemiol*. 1992; 21: 236-45.
19. Harris MM, Stevens J, Thomas N, Schreiner P, Folsom AR. Associations of fat distribution and obesity with hypertension in a bi-ethnic population: (The ARIC Study). *Obes Res* 2000;8:516-24.
20. Adair LS. Dramatic rise in overweight and obesity in adult Filipino women and risk of hypertension. *Obes Res* 2004;12:1335-41.
21. Biswas M, Manna CK. Prevalence of hypertension and sociodemographic factors within the scheduled caste community of the district Nadia, West Bengal, India. *High Blood Press Cardiovasc Prev* 2011;18:179-85.
22. Al-Sharbatti S, Shaikh R, Mathew E, Sreedharan J, Muttappallymyalil J, Basha S. The Use of Obesity Indicators for the Prediction of Hypertension Risk among Youth in the United Arab Emirates, *Iran J Public Health* 2011;40:33-40.
23. Wing RR, Lang W, Wadden TA, Safford M, Knowler WC, Bertoni AG, et al. Benefits of modest weight loss in improving cardiovascular risk factors in overweight and obese individuals with type 2 diabetes. *referenca o fizičkoj aktivnosti. Diabetes Care* 2011;34:1481-6.
24. Janssen I, Katzmarzyk P, Ross R. Waist circumference and not body mass index explains obesity-related health risk. *Am J Clin Nutr* 2004;79:379-84.
25. See R, Abdullah SM, McGuire DK, Khera A, Patel MJ, Lindsey JB, et al. The Association of Differing Measures of Overweight and Obesity With Prevalent Atherosclerosis: The Dallas Heart Study. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:752-9.
26. Messerli FH, Frohlich ED, Dreslinski GR, Suarez DH, Aristimuno GG. Serum uric acid in essential hypertension: an indicator of renal vascular involvement. *Arch Intern Med* 1980;93:817-21.
27. Puig JG, Ruilope LM. Uric acid as a cardiovascular risk factor in arterial hypertension. *J Hypertens* 1999;17:869-72.
28. Puddu P, Puddu GM, Cravero E, Vizioli L, Muscari A. The relationships among hyperuricemia, endothelial dysfunction, and cardiovascular diseases: Molecular mechanisms and clinical implications. *J Cardiol* 2012;59: 235-42.
29. Masuo K, Kawaguchi H, Mikami H, Ogiura T, Tuck ML. Serum uric acid and plasma norepinephrine concentrations predict subsequent weight gain and blood pressure elevation. *Hypertension* 2003; 42:474-80.

30. Ohshiro K, Sakima A, Nakada S, Kohagura K, Yamazato M, Tana T, et al. Beneficial effect of switching from a combination of angiotensin II receptor blockers other than Losartan and Thiazides to a fixed dose of Losartan/Hydrochlorothiazide on uric acid metabolism in hypertensive patients. *Clin Exp Hypertens* 2011;33:565-70.
31. Nakagawa T, Hu H, Zharikov S, Tuttle KR, Short RA, Glushakova O, et al. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290:F625-31.
32. George J, Carr E, Davies J, Belch JJ, Struthers A. High-dose allopurinol improves endothelial function by profoundly reducing vascular oxidative stress and not by lowering uric acid. *Circulation* 2006;114:2508-16.
33. Milionis HJ, Elisaf MS. Management of hypertension and dyslipidaemia in patients presenting with hyperuricaemia: case histories. *Curr Med Res Opin* 2000;16:164-70.
34. Giral P, Bruckert E, Jacob N. Homocysteine and lipid lowering agents: a comparison between atorvastatin and fenofibrate in patients with mixed hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 2001;154:421-7.

Biomarkers of prehypertension

Nataša Bogavac-Stanojević^{1*}, Zorana Jelić-Ivanović¹, Lidija Memon²,
Aleksandra Zeljković¹, Jelena Vekić¹, Jelena Kotur-Stevuljević¹,
Vesna Spasojević-Kalimanovska¹

¹ University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Medical Biochemistry,
Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

² Clinical Chemistry laboratory, Clinical Centre Bežanijska kosa, Belgrade, Serbia

*Address for correspondence: Nataša Bogavac-Stanojević
University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Medical Biochemistry,
Belgrade, Serbia, Phone: (+381 11) 3970272 Fax: (+381 11) 3972840
E-mail: naca@pharmacy.bg.ac.rs

Summary

Prehypertension, which was defined as a systolic blood pressure (SBP) between 120 and 139 mmHg or a diastolic blood pressure (DBP) between 80 and 89 mmHg is shown to be associated with a twofold higher risk of cardiovascular disease (CVD) in addition to a higher risk of developing hypertension. We examined the association between CVD biomarkers and prehypertension in 99 adults who were free of hypertension. We measured concentrations of lipid parameters, high sensitivity serum C-reactive protein, uric acid (UA), fibrinogen and collected demographic data. The SBP positively correlated with body mass index (BMI), waist-to-hip ratio (WHR), triglycerides and UA and negatively with high density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein A-I concentrations. There was independent association of higher WHR with higher SBP (standardized coefficients $\beta = 0.483$; $p=0.002$). The ordinal regression analysis revealed that WHR ($\beta = 9.380$, $p = 0.004$) and UA concentration ($\beta = 0.006$, $p = 0.013$) were predictors of higher blood pressure (BP). Higher BP in asymptomatic persons is associated with abdominal obesity. Lifestyle modifications, especially WHR reduction, should be recommended to individuals with prehypertension. Therapy with positive effect on BP and UA concentration may improve CVD management. These should be further investigated in longitudinal population-based studies.

Key words: abdominal obesity, uric acid, asymptomatic persons, waist-to-hip ratio, cardiovascular disease

Nanomaterijali u kozmetičkim proizvodima – opravdanost primene i bezbednost

Ljiljana Đekić*, Radojka Đukić, Gordana Vuleta

Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd

(* Tel.: +3951359; E-mail: ljiljanadjek@gmail.com)

Kratak sadržaj

Nanomaterijali u kozmetičkim proizvodima obuhvataju čestice kozmetički aktivnih supstanci (KAS) u obliku *nanokristala*, *nanočestice* (kao što su nanočestice titan dioksida, cink oksida, srebra, zlata) i različite *nanonosače* (liposomi, niosomi, nanoemulzije, čvrste lipidne čestice), bez ili sa inkapsuliranim KAS, kod kojih je jedna ili više dimenzija u rasponu 1 - 100 nm. Koriste se u kozmetičkim proizvodima da bi doprineli odgovarajućoj funkciji, izgledu i/ili poboljšali njihovu stabilnost. Neki od nanomaterijala mogu da poboljšaju ili ograniče penetraciju KAS u/kroz kožu. Ulaze u sastav nekih kremova za negu kože (koloidno zlato, fulereni, liposomi, lipidne nanočestice), kozmetičkih proizvoda za kosu (mikroemulgovan silikonska ulja), proizvoda dekorativne kozmetike (nanočestice plemenitih metala i metalnih oksida), pasti za zube (koloidno srebro) i proizvoda za zaštitu kože od sunca (UV filteri inakapsulirani u lipidnim nanočesticama ili polimernim nanokapsulama ili ultrafini oblici (nanočestice) titan dioksida ili cink oksida). Uprkos prednostima nanomaterijala, oni se još uvek ne upotrebljavaju široko u kozmetičkim proizvodima, jer ne postoji dovoljno podataka o njihovoj bezbednosti za korisnika. Trenutno su u toku brojna istraživanja o prolasku nanočestica u/kroz kožu i njihovom potencijalnom ulasku u sistemsku cirkulaciju. Ispituje se i uticaj kozmetičkih proizvoda sa nanomaterijalima na zdravlje ljudi i životnu sredinu. Propisi vezani za nanomaterijale su uključeni u Kozmetičku uredbu EU 1223/2009, posebno kroz članove 16 i 19. U oblasti nanomaterijala propisi još uvek nisu definitivni i očekuju se odgovarajuće izmene i dopune, u skladu sa rezultatima novih istraživanja i potrebama tržišta i proizvodača.

Ključne reči: nanomaterijali, kozmetički proizvodi, bezbednost, Kozmetička uredba EU 1223/2009

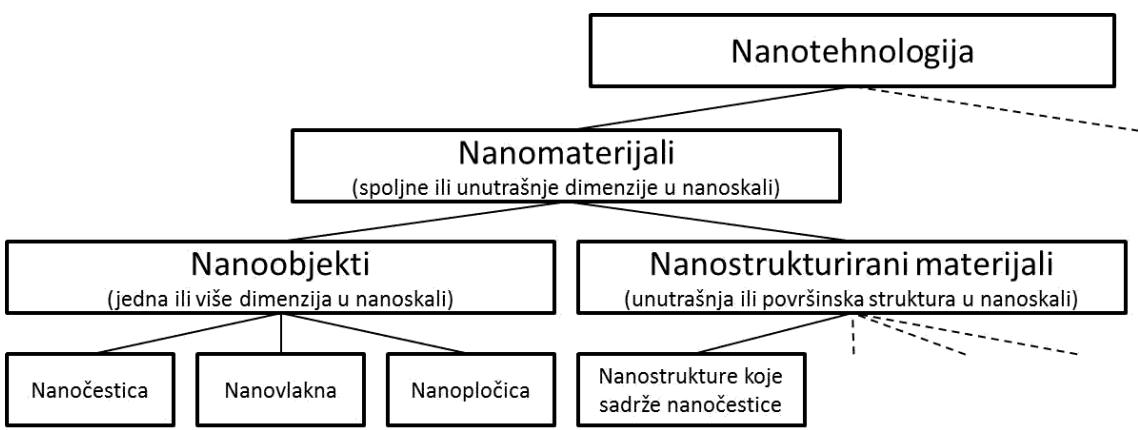
1. Nanomaterijali u kozmetičkim proizvodima

Razvoj nanotehnologije omogućio je dizajn raznovrsnih materijala (nanomaterijali) koji imaju jedinstvena fizičko-hemijska svojstva (npr. rastvorljivost, optičke karakteristike, temperatura topljenja), zbog toga što su im dimenzije u okviru nanoskale i odlikuju se visokim količnikom površina/zapremina i velikim brojem čestica po jedinici mase. Nanomaterijali su vrlo brzo našli primenu u kozmetičkoj industriji. U periodu 1994-2005. godine kompanija L’Oreal (Francuska) bila je rangirana na petom mestu u svetu po broju patenata koji su razvijeni korišćenjem nanotehnoloških pristupa [1]. Iako su nanomaterijali relativno nove sirovine u kozmetičkoj industriji, njihova upotreba datira od davnina. Stari Grci, Rimljani i Egipćani koristili su olovo-sulfid za bojenje kose i obrva, koji se deponuje u keratinu dlake u vidu nanokristala veličine oko 5 nm, koji su slični nanočesticama ove soli koje se proizvode primenom savremenih tehnoloških postupaka [2]. Nanomaterijali su prisutni u brojnim kozmetičkim proizvodima, uključujući kremove za negu kože, kozmetičke proizvode za negu kose, dekorativnu kozmetiku, paste za zube, proizvode za brijanje i posle brijanja i proizvode za zaštitu kože od sunca [3, 4].

Za sada ne postoji jedinstvena, međunarodno prihvaćena definicija nanomaterijala. Nemački institut za norme/standarde (Deutsches Institut für Normung, DIN) i Međunarodna organizacija za standardizaciju (International Organization for Standardization, ISO) predlažu sledeće definicije nanomaterijala (Sl. 1):

- *nanoobjekat* (objekat čije su jedna ili više spoljašnjih dimenzija nanometarskih veličina);
- *nanočestica* (objekat čije su sve tri spoljašnje dimenzije nanometarskih veličina);
- *nanovlakno (nanoštapić)* (objekat čije su dve spoljašnje dimenzije nanometarskih veličina);
- *nanofilm (nanopločica)* (objekat čija je jedna spoljašnja dimenzija nanometarskih veličina);

pri čemu se nanoskala okvirno definiše kao skala 1- 100 nm [4, 5].



Slika 1. Shematski prikaz klasifikacije nanomaterijala [6].

Figure 1. Classification of nanomaterials [6].

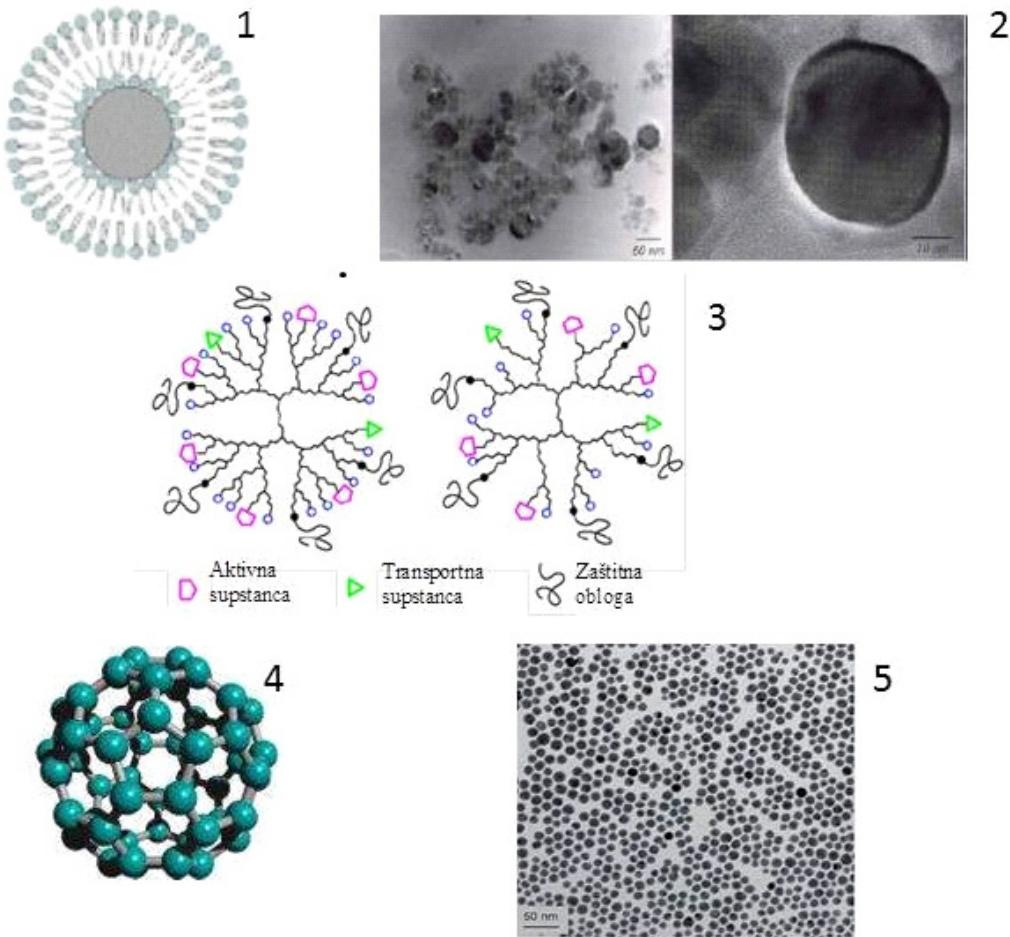
Osnovna jedinica nanometarskih veličina je *nanočestica* čije su sve tri dimenzijske (dužina, širina, visina) u oblasti nanoskale. U literaturi se za nanočesticu koristi skraćenica NSP (eng. *nanoscale particle*) [7]. Da bi se sastavila precizna definicija nanomaterijala nije dovoljno samo opisati veličinu njegovih čestica. Bitno je imati u vidu da postoje materijali čije su čestice van *nano* opsega, ali se sastoje od agregata ili aglomerata manjih čestica ili kristala, pri čemu su ove manje čestice u *nano* opsegu. DIN i ISO opisuju nanomaterijale rečima „agregati nanostruktura“ ili „aglomerati nanostruktura“. Izrazi agregati i aglomerati često se mešaju ili koriste pogrešno, iako su njihove razlike jasne. Agregat je čestica sastavljena od čvrsto spojenih ili fuzionisanih čestica, kod koje spoljašnja površina može biti značajno manja od zbiru površina pojedinačnih elemenata. A glomerat je skup slabo vezanih čestica, agregata ili mešavine agregata i čestica, kod koga je spoljašnja površina približna zbiru površina pojedinačnih delova [4, 5].

Prema Kozmetičkoj uredbi EU 1223/2009 nanomaterijal je „nerastvorljiv, bioperzistentan i namenski proizveden materijal, sa jednom ili više dimenzija ili unutrašnjom strukturom u rasponu 1 – 100 nm“ [8]. Ova definicija se odnosi na nanomaterijale kao što su nanočestice metala, metalnih oksida i fulereni, ali ne obuhvata niz nanomaterijala koji se takođe upotrebljavaju u kozmetičkim proizvodima, a rastvaraju se ili degradiraju nakon primene (npr. nanokristali KAS, liposomi, nanoemulzije, mikroemulzije).

Dve glavne grupe nanomaterijala koje se koriste u kozmetičkim proizvodima su:

- nanočestice KAS (npr. teško rastvorljive organske KAS, plemeniti metali, metalni oksidi), i

nanonosači pogodni za inkapsulaciju KAS (npr. lipidne nanočestice, polimerne nanokapsule, liposomi, nanosomi, niosomi, nanoemulzije, mikroemulzije, dendrimeri, veoma razgranati polimeri, fulereni). Primeri nanomaterijala koji ulaze u sastav kozmetičkih proizvoda prikazani su na Slici 2 i u Tabeli I. Nanokristali KAS, dendrimeri, razgranati polimeri i fulereni se, za sada, retko koriste, ali se intenzivno istražuju mogućnosti njihove upotrebe u kozmetičkim proizvodima.



Slika 2. Primeri nanomaterijala: 1) liposom, 2) nanočestice titan-dioksida, 3) dendrimeri (levo) i veoma razgranati polimer (desno), 4) fuleren C₆₀, 5) nanočestice zlata.
Figure 2. Examples of nanomaterials: 1) liposome, 2) nanoparticles of titanium dioxide, 3) dendrimers (left), and hiperbranched polymer (right), 4) fullerene C₆₀, 5) gold nanoparticles.

Tabela I Primeri nanomaterijala u kozmetičkim proizvodima sa tržišta [3].**Table I** Examples of nanomaterials in cosmetic products from the market [3].

Tip nanomaterijala	Nanomaterijal	Uloga u kozmetičkom proizvodu	Primer sastojka kozmetičkog proizvoda ili kozmetičkog proizvoda
Kozmetički aktivna supstanca (KAS)	Arbutin	Posvetljivanje/izbeljivanje kože	Nano Bright®
Metali i metalni oksidi	Srebro	Bakteriostatska supstanca	GNS Nanogist; Susie-K Nano Beauty Soap
	Zlato (nanočestice su vezane za mikrovlakna svile)	Vlažeće sredstvo, antioksidans	Chantecaille Nano Gold Energizing Cream
	ZnO/TiO ₂	Pigmenti u "make-up" puderima i korektorima	Face Brushes® After Glow Brush and Brush Colores
Ugljovodonici	Fulereni	Antioksidans	Zelens®; Radical Sponge®
Nanogline i silicijum dioksid	SiO ₂	Abrazivi, adsorbensi, nosači KAS	LEOREX: Rénergie
	ZnO/TiO ₂	UV filter	Dual Finish Pressed Compacts
Vezikularni nanonosači	Liposomi, ceramidi, nanoemulzije	Nosači KAS	Revitalift®; Lyphazome®; Celazome®
Čvrste lipidne nanočestice	Čvrsti lipidi	Nosači KAS	Lipopearl®; Nanopearl®
Prirodni i modifikovani polimeri	Modifikovane poliaminokiseline	Zaštita kože od UV zraka	Collamin G®
	Hijaluronska kiselina	Vlažeće sredstvo	PowerMoist® Nano Hyaluronic acid
Sintetski polimeri	Nanokapsule	Nosači KAS	Primordiale Intense; Hydra Flash® Bronzer

1.1 Nanokristali

Nanokristali su agregati sastavljeni od nekoliko stotina do nekoliko desetina hiljada molekula grupisanih u strukturu nalik grozdu, veličine 10 - 400 nm. Kontrolisanjem njihove veličine i morfologije površine može se uticati na njihove osobine. Nanokristali moraju biti stabilizovani da ne bi došlo do njihove agregacije u veće kristale. Nanokristali KAS imaju poboljšanu stabilnost, bioadhezivnost, rastvorljivost i perkutanu penetraciju, u poređenju sa supstancama koje su obrađene konvencionalnim tehnološkim postupcima. Nanokristali rutina i hesperidina su od skoro našli primenu u kozmetičkim proizvodima za zaštitu od UV zraka i „anti-aging“ proizvodima (Juvedical Age-Decoder fluid & Cream (Juvena, Nemačka), Cellular Serum Platinum Rare (La Prairie, Švajcarska)). Rutin i hesperidin su teško rastvorljivi biljni glikozidi sa antioksidativnim delovanjem. Njihova primena postala je moguća tek nakon pripreme nanokristala [9].

1.2. Koloidni sistemi koji se destabilizuju nakon primene na koži

Koloidni sistemi kao što su liposomi, nanosomi, niosomi, nanoemulzije i mikroemulzije, posle primene na koži (utrljavanja) se destabilizuju tako da se supramolekulski agregati raspadaju do polaznih sastojaka.

Liposomi su vezikularne strukture sa vodenim jezgrom, okruženim jednim ili većim brojem dvoslojeva koji su sastavljeni od gusto pakovanih molekula fosfolipida i holesterola (Sl. 2). Veličina liposoma kreće se u rasponu 15 nm – 5 µm i oni mogu imati jedan dvosloj (unilamelarni liposomi) ili više dvoslojeva (multilamelarni liposomi). Liposomi sitniji od 100 nm (*nanosomi*) spadaju u kategoriju nanomaterijala, dok su krupniji liposomi praktično izvan ovog opsega. Fosfolipidi iz liposoma se vezuju za keratin i formiraju film što dovodi do smanjenja transepidermalnog gubitka vode i jačanja kožne barijere. Fosfolipidi su bezbedni sastojci (imaju Generally Recognized As Safe (GRAS) status), te se stoga i liposomi mogu smatrati bezbednim nosačima kozmetički aktivnih supstanci. U vodi rastvorne supstance mogu da se inkorporiraju u hidrofilnom jezgru liposoma, a lipofilni molekuli u fosfolipidnom dvosloju, što ih čini pogodnim nosačima za hidrofilne i lipofilne KAS (npr. biljni ekstrakti, aminokiseline, peptidi, proteini, α -hidroksi kiseline, hijaluronska kiselina, vitamini A i E, koenzim Q₁₀, UV filteri). Lipidni dvosloj liposoma može da se spoji sa drugim dvoslojnim membranama, poput ćelijske membrane, kada dolazi do oslobođanja inkapsulirane KAS na površini ili u dubljim slojevima kože [10]. Kompanija Dior (Francuska) plasirala je prve kozmetičke proizvode sa liposomima (Capture[®] krem za negu kože) pre gotovo dve decenije. Na savremenom tržištu prisutan je veliki broj kozmetičkih proizvoda sa KAS inkapsuliranim u nosače tipa liposoma, u obliku kremova, losiona i hidrogelova za različite namene (npr. Efect du Soleil (L'Oréal, Francuska), Cure de Vitalité[®] Revitalizing and Firming Cream (Payot, Francuska), Liftosome Lifting Cream[®]

(Guinot, Francuska), Soothing After-Shaving Balm for Him (Pevonia Botanica, Velika Britanija), Advanced Stop Signs[®] cream (Clinique, SAD), Formule Liposome Gel[®] (Payot, Francuska), Future Perfect Skin Gel[®] (Estee Lauder, SAD), Natipide[®] II (Nattermann PL, Nemačka), Aquasome[®] LA (Nikko Chemical Co., Japan), Daylong[®] (Spirig Pharma, Nemačka)) [11]. Jedan od glavnih razloga za širu upotrebu liposoma u kozmetičkoj industriji je njihovo jednostavno dobijanje i sposobnost da poboljšaju prolazak KAS u/kroz kožu. Veliki potencijal za penetraciju u dublje slojeve kože pripisuje se najsitnjim liposomima (*nanosomi*), prečnika 50 - 60 nm [12]. Glavni nedostatak liposoma je podložnost hemijskoj destabilizaciji (hidroliza i oksidacija fosfolipida) ili fizičkoj degradaciji (agregacija liposoma u prisustvu ulja i/ili emulgatora i prevremeno oslobađanje inkapsulirane KAS) [13]. Liposomi se mogu stabilizovati podešavanjem pH vrednosti, dodatkom antioksidanasa ili helatnih sredstava, oblaganjem polietilenglikolima ili čuvanjem u smrznutom ili liofilizovanom obliku [12, 14].

Niosomi su vezikule dobijene hidratacijom sintetskih nejonskih surfaktanata, uz ili bez dodatka holesterola ili drugih lipida [15]. Imaju strukturu sličnu liposomima. Razvijeni su i patentirani pod imenom Niosome[®] u kompaniji L'Oréal (Francuska) tokom sedamdesetih i osamdesetih godina prošlog veka, a ubrzo su na tržište plasirani prvi „anti-aging” kozmetički proizvodi u kojima su upotrebljeni kao nosači KAS (npr. Lancome Niosome Plus Daily Treatment Face Cream, Lancome Nisome Plus Anti-ageing whitening & moisture foundation). Niosomi se mogu koristiti za inkapsulaciju hidrofilnih, ambifilnih i lipofilnih KAS. Neke od prednosti niosoma u kozmetičkim proizvodima, u poređenju sa liposomima, su bolja stabilnost i penetracija KAS u kožu. Međutim, komponente niosoma nisu supstance GRAS statusa i stoga, u odnosu na liposome, češće dovode do iritacije kože [15 - 17].

Nanoemulzije (submikronske emulzije, miniemulzije) su ulje-u-vodi (U/V) emulzije kod kojih je prečnik kapi dispergovane faze između 50 nm i 1000 nm, a najčešće od 100 - 500 nm [18]. To su termodinamički nestabilni, ali kinetički stabilni sistemi [19]. Nanoemulzije su transparentne ili opalescentne i imaju veliku međupovršinu na granici uljane i vodene faze, zbog male veličine kapi. Smanjenjem veličine kapi, povećava se stabilnost i poboljšavaju osobine nanoemulzija kao nosača KAS. Komponente nanoemulzija su obično supstance koje imaju GRAS status, pa se zbog toga smatraju relativno bezbednim nosačima [7, 20]. Studije su pokazale da nakon nanošenja nanoemulzija na površinu kože dolazi do isparavanja vode i obrazovanja koherentnog lipidnog filma, koji pokazuje izvestan okluzivni efekat. Takođe je pokazano da sa smanjenjem veličine kapi dispergovane faze, okluzivni efekat eksponencijalno raste. Kompanija TRI-K Industries/Kemira (SAD) patentirala je 2007. godine NanoGel[®] i NanoGel-UV[®] voda-u-ulju nanoemulzije za jednostavnu pripremu U/V nanoemulzija dodatkom vodene faze, koji su pogodni za razvoj kozmetičkih

proizvoda za zaštitu kože od sunca, kremova za negu kože sa vlažećim efektom i „anti-aging“ kremova [20].

Mikroemulzije su termodinamički stabilni, izotropni, transparentni sistemi u kojima su dve tečnosti koje se ne mešaju (voda i ulje) sjednjene dodatkom surfaktanata i kosurfaktanata. Prisustvo relativno visokih koncentracija surfaktanata i kosurfaktanata u sistemu čini međupovršinski napon između dve tečnosti veoma niskim, zbog čega se mikroemulzije formiraju spontano. Veličina kapi mikroemulzija iznosi 10 - 100 nm. Uobičajeni sastojci kozmetičkih mikroemulzija su uljana faza (npr. etiloleat, mineralna ulja, izopropil miristat, dekanol, oleinska kiselina, trigliceridi srednje dužine lanaca (Mygliol® 812)), surfaktanti (npr. polisorbati, lauromakrogol 300, lecitin, decil poliglukozid, (Labrafil® M 1994 LS), poligliceril-6-dioleat (Plurol® Oleique), PEG-8 kaprilno/kaprilni triglyceridi (Labrasol®)) i kosurfaktanti (sorbitan monoleat, sorbitan monostearat, propilenenglikol, propilenenglikol monokaprilat (Capryol® 90), dietilenglikolmonoetiletar (Transcutanol® P), etanol). Većina navedenih sastojaka su efikasni inhenseri perkutane penetracije, pa je generalno penetracija KAS iz mikroemulzija bolja u poređenju sa losionima tipa rastvora i emulzija, kao i kremovima. Različiti kozmetički proizvodi mogu biti tipa mikroemulzija: proizvodi za zaštitu kože od UV zraka, antiperspiransi, sredstva za čišćenje kože (neki su poznati pod nazivom micelarne vode), kondicioneri za kosu. Mikroemulzije su pogodne za inkorporiranje relativno visokih koncentracija u vodi teško rastvorljivih KAS i sastojaka kozmetičkih proizvoda (npr. vitamini A i E, organski UV filteri, silikonska ulja). Mikroemulzije su značajne i u proizvodnji parfema, jer se mikroemulgovanjem mirisnih materija smanjuje upotreba organskih rastvarača [21, 22]. Na tražištu se nalazi veliki broj kozmetičkih proizvoda koji nose oznaku „mikroemulzija“, međutim, oni neretko predstavljaju submikronske emulzije.

1.3. Nanočestice

Nerastvorne čvrste nanočestice se ne dezintegrišu nakon primene na koži. U kozmetičkim proizvodima trenutno su najzastupljenije nanočestice neorganskih UV filtera (cink oksid i titan dioksid), nanočestice plemenitih metala i nosači kozmetički aktivnih supstanci tipa čvrstih lipidnih nanočestica i polimernih nanokapsula [7].

Titan dioksid (TiO_2) (Slika 2) i **cink oksid** (ZnO) se već dugo koriste u kozmetičkim proizvodima za zaštitu kože od sunca. Oni su bezbedna fizička zaštita od dela UVB i dela UVA zraka, a deluju mehanizmom refleksije, rasipanja, a delom, apsorbovanja sunčevih zraka [23]. Nanočestice ovih oksida, prečnika od nekoliko desetina ili nekoliko stotina nanometara, su popularne i u upotrebi su oko 20 godina. One imaju ista, ili čak bolja zaštitna svojstva od čestica ovih oksida mikrometarskih veličina, a ne ostavljaju na koži beli trag koji je karakteristika konvencionalnih preparata, sa standardnom veličinom praškova TiO_2 ili ZnO . Proizvodi koji sadrže

nanočestice ZnO ili TiO₂ su transparentni (providni), estetski prihvatljiviji za potrošače, ublažen im je neprijatan miris i manje su masni. Njihova površina se može oblagati silikonskim uljima, silicijum dioksidom ili aluminijum oksidom, u cilju lakšeg dispergovanja u kozmetičkom proizvodu i bolje fotostabilnosti [7, 19]. Proizvođači koji u izradi kozmetičkih proizvoda koriste nanočestice ZnO ili TiO₂ su, na primer, Avon, L'Oréal i Beiersdorf. Nanočestice ZnO i TiO₂, kao i drugih metalnih oksida (npr. aluminijum oksid, gvožđe oksid, hrom oksid, cerijum oksid) upotrebljavaju se kao pigmenti u proizvodima dekorativne kozmetike (puder, korektori). Ove nanočestice su transparentne, difuzno reflektuju svetlost i doprinose poboljšanju izgleda kože [3].

Nanočestice plemenitih metala (zlato, platina, srebro) mogu imati različit oblik i veličinu, koji se jednostavno kontrolišu u toku procesa proizvodnje [24]. Nanočestice zlata i srebra imaju jedinstvena optička svojstva (boja, fluorescencija), u zavisnosti od oblika i veličine, što ih čini vrlo atraktivnim za upotrebu u proizvodima dekorativne kozmetike (puder, korektori, rumenila, senke za oči, ruževi za usne), često u kombinaciji sa nanočesticama metalnih oksida. Nanočestice zlata imaju nisku toksičnost i koriste se u kozmetičkim proizvodima za negu kože (kremovi, maske) [3, 25]. Nanočestice soli srebra, kao što je srebro-citrat, (koloidno srebro) imaju baktericidno svojstvo, koje potiče od jona srebra, i upotrebljavaju se u različitim kozmetičkim proizvodima, kao što su paste za zube (u SAD, Kanadi i Poljskoj), dezodoransi i antiperspiransi, pene i gelovi za brijanje, balzami i losioni posle brijanja (npr. Nivea For Men® Silver Protect, Hansaplast Silver Active Fußspray) [26].

Čvrste lipidne nanočestice kao alternativni nosači za liposome i nanoemulzije, razvijene su devedesetih godina dvadesetog veka. To su čestice submikronskih dimenzija (50 nm – 1000 nm) sa jezgrom sastavljenim od lipida (glicerida) koje okružuje sloj fosfolipida i blok kopolimera. Na sobnoj i telesnoj temperaturi su u čvrstom stanju [27]. Čvrste lipidne nanočestice pružaju brojne prednosti u formulaciji kozmetičkih proizvoda sa lipofilnim i ambifilnim KAS. One štite inkapsulirane supstance od degradacije (koenzim Q₁₀ [27], retinol [28] i tokoferol, ostaju stabilni u dužem vremenskom periodu nakon inkorporiranja u čvrste lipidne nanočestice), omogućavaju kontrolisano oslobađanje KAS i poboljšavaju penetraciju supstanci u *stratum corneum* [29]. Čvrste lipidne nanočestice imaju niz prednosti u proizvodima za zaštitu kože od UV zraka u odnosu na tradicionalne proizvode tipa emulzionih losiona za sunčanje. Ugrađivanjem UV filtera u čvrste lipidne nanočestice, njihova penetracija se smanjuje za oko 40%, tj. oni ostaju na koži i štite je od UV zraka [32, 33]. Čvrste lipidne nanočestice imaju sposobnost da efikasno rasipaju svetlost, pa same po sebi predstavljaju „fizičke blokatore” [33]. Najznačajniji nedostaci čvrstih lipidnih nanočestica su: rast čestica, nepredvidivi rizik za geliranje i prevremeno oslobađanje („curenje”) inkorporirane KAS, tokom čuvanja. Osim toga, kapacitet za inkapsulaciju KAS je generalno nizak, naročito kod hidrofilnih supstanci [27].

Krajem devedesetih godina prošlog veka razvijeni su **nanostrukturirani lipidni nosači**, u cilju prevazilaženja nedostataka čvrstih lipidnih nanočestica. Na sobnoj i telesnoj temperaturi su čvrsti, sadrže kombinaciju pogodnih čvrstih i tečnih lipida, čime se povećava kapacitet za inkapsulaciju KAS i mogućnost kontrolisanog oslobađanja, a smanjuje se rizik za njeno „curenje” iz nosača [30]. Formiraju film na koži koji deluje okluzivno, tako da se povećava vlažnost kože i poboljšava penetracija mnogih KAS [30]. Koriste se u kozmetičkim proizvodima za negu kože i zaštitu kože od sunca. Disperzije nanostrukturiranih lipidnih nosača Nanopearls® (PharmaSol, Nemačka) se jednostavno inkorporiraju u kozmetičke proizvode tipa losiona, kremova, gelova. Lipidne nanočestice imaju zadovoljavajući bezbednosni profil [31]. Prvi kozmetički proizvodi sa lipidnim nanočesticama pojavili su se na tržištu 2005. godine (Cutanova Cream Nano Repair Q₁₀®, Intensive Serum Nano Repair Q₁₀®, Cutanova Cream Nano Vital Q₁₀® - Dr Rimpler GmbH, Nemačka). Ubrzo su plasirani na tržište i drugi kozmetički proizvodi sa lipidnim nanočesticama (npr. SURMER Creme Legere Nano-Protection, SURMER Creme Contour Dex Yeux Nano-Remodelante - Isabelle Lancray, Francuska, Nanolipid Repair - Dr Kurt Richter, Nemačka, IOPE Super Vital Cream - Amore Pacific, Koreja, Swiss Cellular White Illuminating Eze Essence - La Praire, Švajcarska, Olivenöl Anti Falten Pflegekonzentrat - Dr Theiss, Nemačka) [30].

Polimerne nanokapsule su nanočestice sa polimernim omotačem u čiju se unutrašnjost mogu inkorporirati hidrofobne i hidrofilne kozmetički aktivne supstance. Za izradu omotača nanokapsula koriste se polimeri, proteini i neki biomolekuli. Najčešće se koriste sintetski polimeri (poli-ε-kaprolakton, polilaktid-ko-glikolid), polialkilcijanoakrilati, etilceluloza) [34]. Nanokapsule mogu da zaštite KAS (različite liposolubilne supstance biljnog porekla, organske UV filtere, fluorescentne boje) od oksidacije ili da obezbede njihovo produženo oslobađanje [7]. Takođe, moguće je modifikovati površinu polimernih nanokapsula tako da se ciljno vezuju za određene molekule. Oslobađanje inkapsulirane KAS može biti indukovano ultrazvukom ili magnetnim poljem, pod uticajem svetlosti ili promene pH vrednosti ili temperature nakon primene. Takvi polimeri nazivaju se *adaptivni polimeri* [35]. Polimerne nanokapsule u kozmetičkim proizvodima prvi put su upotrebљene u kompaniji L’Oreal 1995. godine. Glavno područje primene i razvoja ovog tipa nanonosača je inkapsulacija organskih UV filtera u cilju sprečavanja njihove penetracije u kožu [34].

1.4. Dendrimeri i veoma razgranati polimeri

Dendrimeri (Sl. 2) su unimolekularne, monodisperzne nanostrukture, slične micelama, veličine oko 20 nm, simetrično razgranate, sa velikim brojem funkcionalnih grupa na obodu. To su kovalentna jedinjenja trodimenzionalne strukture [36]. **Veoma razgranati polimeri** (Sl. 2) su strukturno neorganizovani, asimetrični dendrimeri, sintetisani polimerizacijom u jednom koraku, što ih čini isplativijim od dendrimera.

Dendrimeri i razgranati polimeri pogodni su za inkapsulaciju molekula KAS. Veliki broj funkcionalnih grupa po obodu strukture doprinosi njihovoj multifunkcionalnosti u ulozi nosača KAS. L'Oréal je patentirao formulaciju koja sadrži veoma razgranate polimere i dendrimere. Ova formulacija se može koristiti za nekoliko vrsta proizvoda, kao što su maskare ili lakovi za nokte. Proizvodi na bazi dendrimera ili veoma razgranatih polimera po nanošenju formiraju tanak film lepog izgleda. Nedostatak tog filma je dugo vreme potrebno za njegovo formiranje. Kompanija Unilever (Velika Britanija) je takođe patentirala formulacije kozmetičkih prizvoda tipa gelova i losiona sa dendrimerima [36-38].

1.4.1 Fulereni

Fulereni (Sl. 2) su jedinjenja poligonalne strukture koja se sastoje od 60 ugljenikovih atoma. Postoji velika zainteresovanost za njihovu primenu, zbog visokog afiniteta za određena tkiva [39]. Jedinstvena struktura fulerena omogućava im da vezuju slobodne radikale bolje nego bilo koji do sada korišćen antioksidans (npr. vitamin E). Budući da su slobodni radikali molekuli koji uzrokuju oksidativni stres i starenje kože, fulereni bi mogli postati osnova za izradu kozmetičkih proizvoda protiv starenja kože. Od 2005. godine na tržištu je dostupan patentirani hidrosolubilni derivat fulerena Radical Sponge® (Vitamin C60 BioResearch Corporation, Japan), koji ispoljava citoprotektivne efekte i štiti keratinocite od UV zračenja, zbog čega se razmatra njegova potencijalna upotreba u preparatima za zaštitu kože od sunca [40-42]. Ista kompanija 2009. godine patentirala je i liposolubilni oblik fulerena LipoFullerene®. Iako su mnogi autori saglasni da fulereni, uključujući i C₆₀, nisu supstance značajne sistemske toksičnosti, ispitivanja fulerena u kozmetičkim proizvodima će tek biti sprovedena, budući da se ne razgrađuju u organizmu [43].

2. Bezbednost kozmetičkih proizvoda sa nanomaterijalima

Sa razvojem i primenom kozmetičkih proizvoda sa nanomaterijalima, pojavilo se pitanje koliko je zaista moguće kontrolisati penetraciju i ulazak nanočestica u sistemsku cirkulaciju, posebno kozmetički aktivnih supstanci u obliku nanočestica i da li nanokozmetički proizvodi mogu negativno da utiču na zdravlje ljudi i životnu sredinu [44, 45].

Nanoemulzije i nanovezikule se razlažu na svoje sastojke nakon primene na koži ili kosi, pa se procena rizika ne razlikuje od procene rizika kod konvencionalnih kozmetičkih emulzija. Procena bezbednosti ovakvih proizvoda svodi se na razmatranje bezbednosti sastojaka koji ulaze u sastav ovih proizvoda. Činjenica da je njihova struktura organizovana na *nano* nivou nije od značaja za bezbednost kozmetičkih proizvoda [44, 45].

Nasuprot tome, trenutne polemike o upotrebi nanomaterijala u kozmetičkim proizvodima fokusiraju se na nerastvorne nanočestice, jer se one zadržavaju na koži i nakon primene proizvoda [7, 44, 45]. Njihov oblik i veličina su konstantni. Za sada, od svih nanočestica, dovoljan broj kliničkih dokaza o bezbednosti postoji jedino za nanočestice titan dioksida i cink oksida. Naučnom komitetu za kozmetičke proizvode i proizvode koji nisu namenjeni za ishranu potrošača pri Evropskoj uniji (Scientific Committee of Consumer Products/Safety, SCCNFP) su poslati opsežni dosije o TiO₂ i ZnO u proizvodima za zaštitu od sunca, na procenu i kasnije uključivanje u EU listu odobrenih UV filtera (Aneks VI u Kozmetičkoj uredbi EU 1223/2009). Istraživanja su pokazala da je titan dioksid bezbedan za upotrebu u kozmetičkim proizvodima pri maksimalnoj koncentraciji od 25%, za zaštitu kože od štetnih efekata UV zračenja. Ovo se odnosi na kristalni (anatas i/ili rutil) titan dioksid, obložen i neobložen, bez obzira na veličinu čestica, pod uslovom da takvi tretmani ne ugrožavaju bezbednost proizvoda. Ne predlažu se nikakve zabrane u pogledu upotrebe titan diokside u kozmetičkim proizvodima [4]. Potencijalna toksičnost titan diokside i cink oksida, povezana sa stvaranjem slobodnih radikala, ispoljiće se samo ukoliko nanočestice penetriraju u žive ćelije. U gotovo svim studijama pokazano je da je verovatnoća penetracije u slojeve kože ispod *stratum corneum*-a i oštećenje živih ćelija posle penetracije veoma niska. Ispitivanja toksičnosti ovih čestica su pokazala da su bezbedne za primenu u kozmetičkim proizvodima i da ne prodiru čak ni kroz oštećenu kožu ljudi i životinja [45]. Trenutno, ne postoji dokaz da nerastvorne čestice ZnO i TiO₂ u kozmetičkim proizvodima za zaštitu kože od UV zraka mogu da dovedu do lokalnih ili sistemskih neželjenih efekata. Dokazi o koristi ovih proizvoda značajno premašuju nedokazane i hipotetičke rizike. Ostale nanočestice moraju dodatno da se ispitaju i mora biti dokazana njihova bezbednost u kozmetičkim proizvodima [4]. Istraživanja koja su sproveli Lademann i sar. [46] su pokazala da nanočestice TiO₂ penetriraju u folikule dlaka, ali se izlučuju na površinu kože, sa izlivanjem znoja.

3. Propisi o kozmetičkim proizvodima sa nanomaterijalima

Pitanje o rizicima upotrebe kozmetičkih proizvoda sa nanomaterijalima pokrenulo je druga pitanja, koja se odnose na zakonske obaveze o ispitivanju ovih proizvoda pre plasiranja na tržište, kao i obaveze u njihovom obeležavanju.

Na mnogim skupovima gde se diskutovalo o ovim pitanjima, došlo se do zaključka da je neophodno uraditi reviziju Kozmetičke direktive (76/768/EEC), između ostalog i zbog sve šire upotrebe nanomaterijala u kozmetičkim proizvodima. Upotreba nanomaterijala u kozmetičkim proizvodima delimično je regulisana donošenjem Kozmetičke uredbe EU 1223/2009 [8]. U članu 19 ove uredbe navedeno je da se kod obeležavanja sastojaka kozmetičkog proizvoda u obliku nanomaterijala dodaje sufiks „nano“ u zagradi uz INCI naziv (npr. titanium dioxide (nano), titanium dioxide [nano],

titanium dioxide {nano}, ili titanium dioxide <nano>) [47]. U članu 16 Kozmetičke uredbe EU 1223/2009 [8] navedeno je da se Evropskoj komisiji (European Comission) moraju dostaviti podaci o kozmetičkom proizvodu koji sadrži nanomaterijale šest meseci pre stavljanja u promet, a za proizvode koji su plasirani na tržište do 11. januara 2013. godine, podaci se moraju dostaviti do 11. jula 2013. godine. Tražene informacije se odnose na: identifikaciju nanomaterijala, uključujući hemijsko ime po IUPAC-u, veličinu čestica, fizičke i hemijske osobine nanomaterijala, količinu nanomaterijala koja će sa kozmetičkim proizvodom dospeti na tržište (na godišnjem nivou), toksikološki profil i bezbednost nanomaterijala za datu kategoriju kozmetičkog proizvoda. Ukoliko postoji zabrinutost u pogledu bezbednosti nanomaterijala, odnosno, nanokozmetičkih proizvoda, Evropska komisija traži njenu procenu od Naučnog komiteta za bezbednost potrošača (Scientific Committee on Consumer Safety, SCCS). Na osnovu dostavljenih podataka, SCCS daje zvanično mišljenje o bezbednosti kozmetičkog proizvoda, koje je javno dostupno i podložno izmenama i dopunama, ukoliko se pojave nove informacije koje se odnose na potencijalni rizik po ljudsko zdravlje. Do 11. januara 2014. godine Evropska komisija će pripremiti i publikovati katalog svih nanomaterijala, uključujući one koje se upotrebljavaju kao boje, UV filteri i konzervansi, u kozmetičkim proizvodima koji se nalaze na tržištu.

Propisi u ovoj oblasti još uvek nisu potpuni i očekuju se različite izmene, dopune i prilagođavanja postojećih propisa, u skladu sa rezultatima novih istraživanja o efikasnosti i bezbednosti kozmetičkih proizvoda sa nanomaterijalima, kao i u skladu sa potrebama tržišta i proizvođača. Prva revizija odredbi Kozmetičke uredbe EU 1223/2009 koje se odnose na nanomaterijale biće izvršena do 11. jula 2018.godine [8].

Literatura

1. Alencar MSM, Porter AL, Antunes AMS. Nanopatenting patterns in relation to product life cycle. Technol Forecast Soc 2007; 74: 1661–80.
2. Walter P, Welcomme E, Hallégot P, Zaluzec N, Deeb C, Castaing J, Veyssiére P, Bréniaux R, Lévéque J, Tsoucaris G. Early Use of PbS Nanotechnology for an ancient hair dyeing formula. NanoLett 2006; 6: 2215-19.
3. Mihranyan A, Ferraz N, Strømme M. Current status and future prospects of nanotechnology in cosmetics. Prog Mater Sci 2012; 57: 875–910.
4. Hewitt JP. Status of nanotechnology in sunscreens. Personal Care April 2012; 129-133.
5. ISO/TS 27687: Nanotechnologies - Terminology and definitions for nano-objects - Nanoparticle, nanofibre and nanoplate. CEN 2008.
6. Schambil F. Focusing on the Consumer and Environment: Latest News on REACH, Allergies. Poison Information and nanomaterials. SÖFW 2011; 136(5): 70 – 4.

7. Vuleta G, Jovanović J, Korać R, Savić S. Bezbednost kozmetičkih proizvoda sa nanočesticama. Arh Farm 2009; 59 (4): 305 – 20.
8. Regulation (EC) No 1223/2009 of The European Parliament and of The Council of 30 November 2009 on cosmetic products. Official Journal of the European Union 2009; L342/59 - L342/209.
9. Shegokar R, Müller RH. Nanocrystals: industrially feasible multifunctional formulation technology for poorly soluble actives. Int J Pharm 2010; 399: 129-39.
10. Cevc, G. Transfersomes, liposomes and other lipid suspensions on the skin: permeation enhancement, vesicle penetration, and transdermal drug delivery, Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 1996; 13: 257–388.
11. Pepić I, Vujučić M, Lovrić J, Filipović-Grčić J. Nanočestice u demokozmetičkim pripravcima: liposomi, mikroemulzije i polimerne micerole. Farmaceutski glasnik 2012; 68: 763 – 72.
12. Lasic DD. Novel applications of liposomes. Trends in Biotechnology 1998; 16 (7): 307-21.
13. Simonnet JT. Lipid vesicles. Cosmet Toiletries 1994; 109: 45 – 52.
14. Patravale VB, Mandawgade SD. Novel cosmetic delivery systems: an application update. Int J Cosmet Sci 2008; 30(1): 19-33.
15. Walker W, Brewer JM, Alexander J. Lipid vesicle-entrapped influenza A antigen modulates the influenza A specific human antibody response in immune reconstituted SCID-human mice. Eur J Immunol 1996; 26: 1664–7.
16. Procédé de fabrication de dispersions aqueuses de sphères lipidiques et nouvelles compositions correspondantes. L'Oréal, French Patent 2315991, 1975.
17. Cosmetic and pharmaceutical compositions containing niosomes and a water-soluble polyamide, and a process for preparing these compositions, L'Oréal, US Patent 4830857, 1989.
18. Vuleta G. Farmaceutska tehnologija sa biofarmacijom, Priručnik za praktičnu nastavu: emulzije, suspenzije, polučvrsti preparati za spoljašnju upotrebu. Beograd: Nauka, 2007.
19. Storsber J. Nanotechnology in Cosmetics – The Key to Better Performance? SÖFW 2009; 135(9): 42 - 7.
20. Sharma S, Sarangdevot K. Nanoemulsions For Cosmetics. IJARPB 2012; 1(3): 408 – 15.
21. Đorđević Lj, Primorac M, Stupar M. Mikroemulzioni sistemi za kozmetičku primenu. Arh farm 2004; 54(5): 681 – 96.
22. Grampurohit N, Ravikumar P, Mallya R. Microemulsions for topical use – a review. Ind J Pharm Edu Res 2001; 45(1): 103 – 10.
23. Dunford R, Salinaro A, Cai LZ, Serpone N, Horikoshi S, Hidaka H, Knowland J. Chemical oxidationand DNA damage catalysed by inorganic sunscreen ingredients. FEBS Lett 1997; 418: 87-90.
24. Daniel MC, Astruc D. Gold nanoparticles: Assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis and nanotechnology. Chem Rev 2004; 104: 293-346.
25. Xu ZP, Zeng QH, Lu GQ, Yu AB. Inorganic nanoparticles as carriers for efficient cellular delivery. Chem Eng Sci 2006; 61: 1027 – 40.
26. Von Goetz N. Consumer exposure to silver (nanoparticles) in consumer products. BfR-Conference on Nanosilver, Berlin, 8-9.2.2012.
27. Müller RH, Radtke M, Wissing SA. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. Adv Drug Deliv Rev Suppl. 2002; 54: 131–50.
28. Müller RH, Dingler A. Feste Lipid-Nanopartikel (Lipopearls) als neuartiger Carrier für kosmetische und dermatologische Wirkstoffe, PZ Wiss. 1998; 49: 11 – 5.

29. Jenning V, Gohla S. Encapsulation of retinoids in solid lipid nanoparticles (SLN), *J. Microencapsul.* 2001; 18:149 – 58.
30. Pardeike, J., Hommoss, A., Müller, R.H. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products, *Int. J. Pharm.* 2009; 366:170-84.
31. Feste VJ. Lipid-Nanopartikel (SLN) als Trägersystem für die dermale Applikation von Retinol. Berlin, Germany; Free University Berlin: 1999.
32. Butz T. Dermal penetration of nanoparticles – what we know and what we don't. *SOFW* 2009; 135(10): 30 – 4.
33. Milić, J., Kovačević, A., Savić, S., Vučeta, G. Čvrste lipidne nanočestice - osobine i primena, *Arh. Farm.*, 2005; 55/5-6: 540 - 58.
34. Guterres SS, Alves MP, Pohlmann AR.. Polymeric Nanoparticles, Nanospheres and Nanocapsules, for Cutaneous Applications. *Drug Target Insights.* 2007; 2: 147–57.
35. Luppi B, Cerchiara T, Bigucci F, Basile R, Zecchi V. Polymeric nanoparticles composed of fatty acids and polyvinylalcohol for topical application of sunscreens. *J Pharm Pharmacol* 2004; 56: 407–11.
36. Svenson, S., Tomalia, D. A. Dendrimers in biomedical applications - reflections on the field, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2005; 57:2106–29.
37. Use of hyperbranched polymers and dendrimers comprising a particular group as film-forming agent, film-forming compositions comprising same and use particularly in cosmetics and pharmaceuticals. L'Oréal, U.S. Patent 6432423, 2002.
38. Self-tanning cosmetic composition. L'Oréal, U.S. Patent 6399048, 2002.
39. Xiao, L., Aoshima, H., Saitoh, Y., Miwa, N. Highly Hydroxylated Fullerene localizes at Cytoskeletons and inhibits Oxidative stress in Adipocytes and a Subcutaneous Adipose-tissue Equivalent. *Free Radic Biol Med.* 2011;51(7):1376-89.
40. Aoshima, H., Yamana, S., Nakamura, S., Mashino, T. Biological safety of water-soluble fullerenes evaluated by genotoxicity, phototoxicity studies, and pro-oxidant activity. *J Toxicol Sci.* 2010; 35 (3): 401-9.
41. Kato, S., Taira, H., Aoshima, H., Saitoh, Y., Miwa, N. Clinical Evaluation of Fullerene-C60 Dissolved in Squalane for Anti-Wrinkle Cosmetics. *J Nanosci Nanotechnol.* 2010;10:6769-74.
42. Saitoh, Y., Miyanishi, A., Mizuno, H., Kato, S., Aoshima, H., Kokubo, K., Miwa, N. Super-highly hydroxylated fullerene derivative protects human keratinocytes from UV-induced cell injuries together with the decreases in intracellular ROS generation and DNA damages. *J Photochem Photobiol B.* 2010; 102: 69-76.
43. Aoshima, H., Saitoh, Y., Ito, S., Yamana, S., Miwa, N. Safety evaluation of highly purified fullerenes: based on screening of eye and skin damages. *J Toxicol Sci.* 2009;34 (5): 555-62.
44. Strosberg, J. Nanotechnology in cosmetics - the key to better performance? *SÖFW-Journal*, 2009; 135 (9):42 - 7.
45. Nohynek GJ, Lademann J, Ribaud C, Roberts MS. Grey goo on the skin? Nanotechnology, cosmetic and sunscreen safety. *Crit Rev Toxicol* 2007; 37(3): 251–77.
46. Lademann J, Richter H, Teichmann A, Otberg N, Blume-Peytavi U, Luengo J, et al. Nanoparticles—an efficient carrier for drug delivery into the hair follicles. *Eur J Pharm Biopharm* 2007; 66(2): 159–64.
47. Colipa guidelines on cosmetic product labeling, Compliance with regulation 1223/2009 on cosmetic products. Brussels; COLIPA – The European Cosmetic Association: 2011.

Nanomaterials in cosmetic products – functionality and safety issues

Ljiljana Đekić*, Radojka Đukić, Gordana Vuleta

University of Belgrade – Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology, Vojvode Stepe 450, 11 221 Belgrade

Summary

Nanomaterials in cosmetic products include particles of active ingredients (AI) (*nanocrystals, nanoparticles*) (e.g., ultrafine/nanoparticles titanium dioxide, zinc oxide, silver, gold) as well as a variety of *nanocarriers* (e.g., liposomes, niosomes, nanoemulsions, solid lipid nanoparticles), unloaded or AI-loaded, which one or more dimensions in a range from 1 - 100 nm and which are intentionally manufactured. They may contribute to the function, appearance and/or stability of the cosmetic products. Some of the nanomaterials are useful to retard or enhance penetration of AIs through the skin. Nanomaterials are already used in a numerous skin-care creams (e.g., colloidal gold, fullerenes, liposomes, lipid nanoparticles), hair care products (e.g., silicone oil microemulsions), make-up products (e.g., nanoparticles of noble metals and metal oxides), toothpastes (colloidal silver), sunscreen products (UV filters encapsulated in liposomes or polymeric nanocapsules). In spite of the advantages of nanomaterials, their current usage in cosmetic products is unfrequent, due to lack of safety data. A numereous studies on percutaneous penetration/permeation of nanoparticles and their potential entrance in systemic circulation are in progess. The influence of the nanomaterials containing cosmetic products on human health and environmet is under current evaluation. Regulation (EC) No 1223/2009 of The European Parliament and of The Council of 30 November 2009 on cosmetic products provides current regulations on nanomaterials. However, regulations in this field are not completed and scientific progress as well as demands from the market and cosmetic industry stimulate their further modifications and amendments.

Keywords: nanomaterials, cosmetic products, safety, Regulation (EC) No 1223/2009

Prilozi – Contributions

Izveštaj sa 60. simpozijuma Saveza farmaceutskih udruženja Srbije

Organizator: Savez farmaceutskih udruženja Srbije

Vreme i mesto: Kopaonik, 23-26. maj 2013.

24.05.2013.

Kurs 1.

Bolesti kože – klinički, terapijski i kozmetološki pristupi

Rešenje broj: 153-02-562/2013-01 od 01.03.2013.

Oznaka kursa: B-146/13

Broj bodova za predavače: 12

Broj bodova za slušaoce: 6

Kurs je akreditovan za farmaceute i farmaceute specijaliste farmaceutske tehnologije i kozmetologije

Ciljevi kursa:

1. etiologija ekcema i dermatitisa
2. klasifikacija lekova za dermatološku primenu
3. redefinisanje značaja izrade magistralnih i galenskih lekova
4. biljni lekoviti proizvodi u dermatologiji
5. novi i klasični humektansi i emolijensi za izradu dermokozmetičkih emulzija

PROGRAM KURSA 1.

Moderator: Gordana Vuleta

Satnica	Tema	Metod obuke*	Predavač
9.00-9.30	Ekcemi (dermatitis) - klinički oblici i terapijski pristupi	predavanje	Sonja Vesić
9.30-10.00	Lekovi za dermatološku primenu: klasifikacija i mehanizmi dejstva	predavanje	Miroslav Savić
10.00-10.30	Magistralni i galenski lekovi u dermatologiji – prošlost ili sadašnjost	predavanje	Gordana Vuleta, Ivana Pantelić, Snežana Savić
10.30-11.00	Pauza		
11.00-11.30	Primena biljnih lekovitih proizvoda u dermatologiji	predavanje	Zoran Maksimović, Silvana Petrović, Stevan Samardžić
11.30-12.00	Suva koža kao stanje i simptom: uloga dermokozmetičkih preparata	predavanje	Snežana Savić, Milica Lukić, Gordana Vuleta
12.00-13.00	Diskusija		
13.00-14.00	Pauza za ručak		
14.00-16.00	Najčešći farmaceutsko-tehnološki problemi u izradi preparata za lečenje kožnih bolesti Slučajevi iz prakse	radionica	Nataša Živanović, Mirjana Gajdaš, Gordana Vuleta
16.00-16.30	Test i evaluacija		

Satelitski simpozijumi

Kongresna dvorana Konaci

16.30-17.00 GOODWILL PHARMA: Dona - Hondroprotektor sa preporukom u lečenju osteoartroze, dipl. farm. spec. Tatjana Milošević

17.00-17.30 PHOENIX:

- 17.30-18.00 BELUPO: Značaj topijskih retinoida u dermatologiji,
dr Milica Marković; Mudrim izborom do zdrave kože,
dr Nevenka Urošević**
- 18.00-18.30 JADREN GALENSKI: Morska voda, Milovanović Jovica**
- 18.30-19.00 BERLIN-CHEMIE MAMARINI: Farmaceutsko tehnološki aspekti
lokalne primene ketoprofen gela i heparin 1000 gela,
prof. dr Gordana Vuleta**
- 19.30-20.00 PHARMASWISS: Sinbiotik - borac za poboljšanje zdravlja,
Ivan Jovanović**

25.05.2013.

Kurs 2.

Prevencija i lečenje poremećaja venske cirkulacije

Rešenje broj: 153-02-562/2013-01 od 01.03.2013.

Oznaka kursa: B-145/13

Broj bodova za predavače: 12

Broj bodova za slušaoce: 6

Kurs je akreditovan za farmaceute, farmaceute specijaliste farmaceutske tehnologije i kozmetologije, i farmaceute specijaliste farmaceutske zdravstvene zaštite

Ciljevi kursa

1. upoznavanje farmaceuta se etiopatogenezom venskih oboljenja
2. faktori rizika za razvoj venskih oboljenja
3. savremeni pristupi za prevenciju venskih oboljenja
4. savremeni pristupi za terapiju venskih oboljenja
5. biljni lekoviti proizvodi i nefarmakološke mere kod hronične venske bolesti

PROGRAM KURSA 2.

Moderator: Ilijas Činara

Satnica	Tema	Metod obuke*	Predavač
9.00-9.30	Hronična venska bolest	predavanje	Ilijas Činara
9.30-10.00	Lekovi u prevenciji i terapiji venskog tromboembolizma	predavanje	Maja Tomić, Radica Stepanović-Petrović
10.00-10.30	Farmaceutska zdravstvena zastita u terapiji duboke venske tromboze	predavanje	Sandra Vezmar Kovacević, Milica Ćulafić, Branislava Miljković
10.30-11.00	Pauza		
11.00-11.30	Ulcus cruris venosum – savremeni terapijski pristup	predavanje	Sonja Vesić
11.30-12.00	Primena biljnih lekovitih proizvoda kod hronične venske bolesti	predavanje	Silvana Petrović, Zoran Maksimović, Jelena Kukić-Marković
12.00-12.30	Farmaceutsko-tehnološki aspekti preparata za prevenciju i lečenje poremećaja venske cirkulacije	predavanje	Ljiljana Đekić, Danina Krajišnik, Jelena Đuriš, Marija Primorac
12.30-13.00	Diskusija		
13.00-14.00	Pauza za ručak		
14.00-16.00	Poremećaji venske cirkulacije, uloga farmaceuta u savetovanju pacijenta (procena o obaveznom upućivanju lekaru i pomoć oko izbora lekova i dijetetskih proizvoda za samolečenje-slučajevi iz prakse) Nefarmakološke mere kod poremećaja venske cirkulacije - slučajevi iz prakse	radionica	Tatjana Žunić Milojka Ponjavić
16.00-16.30	Test i evaluacija		

Satelitski simpozijumi

Kongresna dvorana Konaci

17.00-17.30 BAYER: Bayer i Aspirin kroz vekove, mr ph Tatjana Milošević

17.30-18.00 TAKEDA GMBH: Uloga farmaceuta u terapiji učestale gorušice, prof. dr Miodrag Krstić, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Izložba:

Hotel Grand - Sportska dvorana

Svi radovi su objavljeni u online izdanju časopisa Arhiv za farmaciju 2/2013.

Simpozijumu je prisustvovalo 714 registrovanih učesnika.

Tokom održavanja simpozijuma učesnici su posetili izlagače i razgovarali sa stručnim saradnicima o novim lekovima, medicinskim sredstvima i dijetetskim proizvodima.

Posebnu zahvalnost dugujemo članovima sekcije Mladi farmaceuti : *Nini Milekić, Marini Mirković i Zorani Miladinović*, za veliku pomoć u distribuciji štampanog materijala, registraciji učesnika, izdavanju uverenja.

Zahvaljujemo se svim kolegama koji su podržali svojim prisustvom ovaj skup i svim onima koji su popunili Anketu i na taj način nam omogućili da procenimo uspešnost skupa i da se upoznamo sa interesovanjima, primedbama i predlozima, kako bismo ubuduće organizovali još uspešnije simpozijume.

ANALIZA ANKETE SPOROVEDENE NA 60. SIMPOZIJUMU

UKUPNO REGISTROVANIH UČESNIKA 714

Šta Vas je opredelilo da dođete na Simpozijum?

1. Tema	98
2. Bodovi	38
3. Predavači	16
4. Mesto održavanja	6
5. Edukacija	93
6. Druženje	36
Ukupno:	203
Nije odgovorilo:	110

1. Opšta ocena Simpozijuma

1. Odličan	217
2. Vrlo dobar	129
3. Dobar	29
4. Zadovoljava	7
5. Ne zadovoljava	0
Ukupno:	382
Nije odgovorilo:	10

2. Kako procenjujete sadržaj Simpozijuma?

1. Bitno bolji od drugih	75
2. Bolji od drugih	150
3. Prosečan	41
4. Lošiji od drugih	0
Ukupno:	266
Nije odgovorilo:	47

3. Da li ste zadovoljni?

1. Organizacija

1. Veoma zadovoljan	181
2. Zadovoljan	127
3. Nisam zadovoljan	4
Ukupno:	312
Nije odgovorilo:	1

2. Sala

1. Veoma zadovoljan	141
2. Zadovoljan	135
3. Nisam zadovoljan	36
Ukupno:	312
Nije odgovorilo:	1

3. Oprema

1. Veoma zadovoljan	158
2. Zadovoljan	133
3. Nisam zadovoljan	8
Ukupno:	298
Nije odgovorilo:	14

4. Šta vam se najviše dopalo?

1. Tema i predavanja	101
2. Predavači	10
3. Radionica	31
4. Organizacija	19
5. Druženje	23
Ukupno:	184
Nije odgovorilo:	129

5. Šta Vam se nije dopalo?

- | | |
|-------------------------|------------|
| 1. Sala | 21 |
| 2. Mesto održavanja | 8 |
| 3. Probijanje termina | 23 |
| Ukupno: | 52 |
| Nije odgovorilo: | 261 |

6. Da li imate neke primedbe na „Zbornik radova“?

Potreban štampani oblik Zbornika 17

OCENE PREDAVAČA, KURS 1

Registrovanih učesnika: 714

Opšta ocena Kursa 1: 4,38

PREDAVAČ		ODLIČAN	VRLO DOBAR	DOBAR	ZADOVOLJAVA	NE ZADOVOLJAVA	PROSEČNA OCENA	RANG
1	SONJA VESIĆ	215	77	9	7	0	4,623	4
2	MIROSLAV SAVIĆ	206	71	19	7	0	4,571	8
3	GORDANA VULETA	231	61	10	7	1	4,658	2
4	ZORAN MAKSIMOVIĆ	203	75	11	4	1	4,616	5
5	SNEŽANA SAVIĆ	215	50	5	5	0	4,727	1
6	GORDANA VULETA – radionica	215	53	17	3	1	4,654	3
7	NATAŠA ŽIVANOVIĆ – radionica	194	72	9	5	1	4,612	6
8	MIRJANA GAJDAŠ – radionica	188	74	9	5	1	4,599	7

OCENE PREDAVAČA - KURS 2

Registrovanih učesnika: **714**

Opšta ocena Kursa 2: **4,51**

PREDAVAČ		ODLIČAN	VRLO DOBAR	DOBAR	ZADOVOLJAVA	NE ZADOVOLJAVA	PROSEČNA OCENA	RANG
1	ILIJAS ČINARA	207	77	15	7	2	4,558	8
2	MAJA TOMIĆ	222	57	9	2	0	4,721	2
3	SANDRA VEZMAR KOVAČEVIĆ	226	57	6	3	0	4,733	1
4	SONJA VESIĆ	205	77	16	6	1	4,570	7
5	SILVANA PETROVIĆ	219	60	17	5	1	4,626	6
6	LJILJANA ĐEKIĆ	198	63	10	4	0	4,655	4
7	TATJANA ŽUNIĆ- radionica	197	68	8	2	0	4,673	3
8	MILOJKA PONJAVIĆ - radionica	175	62	9	2	0	4,653	5

Beograd, 13.06.2013.

Stručni i Organizacioni odbor 60. simpozijuma SFUS

Prikaz knjige

„Trovanja lekovima - odabrana poglavlja”

Izuzetno mi je zadovoljstvo da Vas obavestim da je izašla iz štampe knjiga pod naslovom „Trovanja lekovima - odabrana poglavlja”, autora Vesne J. Matović, redovnog profesora; Zorice L. Bulat, docenta i Aleksandre A. Buhe, asistenta Katedre za toksikologiju „Akademik Danilo Soldatović”. Knjigu je izdao Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu, a recenziju su uradile Slavica Vučinić, vanredni profesor Medicinskog fakulteta VMA, Univerziteta odbrane u Beogradu i načelnik Centra za kontrolu trovanja Vojnomedicinske akademije i Biljana Antonijević, redovni profesor Katedre za toksikologiju „Akademik Danilo Soldatović”.

O značaju i aktuelnosti ove publikacije govore alarmantni podaci Svetske zdravstvene organizacije da akutna trovanja, među kojima su procentualno najzastupljenija upravo trovanja lekovima, uz karcinome i bolesti kardiovaskularnog sistema, predstavljaju najznačajnije uzročnike smrti na našoj planeti. Često zaboravljamo da lekovi, baš kao i sve hemikalije, upravo po principima Paracelzusa „da svaka supstanca pri određenoj dozi ispoljava toksičnost”, mogu ispoljiti i toksične efekte. Odnosno, možemo reći da nema sigurnih lekova, samo ima sigurnih načina njihove upotrebe.

Svake godine se u svetu i kod nas beleži veliki broj trovanja lekovima, posebno samoubilačkih, ali se ne sme zanemariti ni značajan broj trovanja lekovima koji su rezultat greške zdravstvenih radnika. S obzirom na to da je farmaceut poslednja stručna osoba koja lek „predaje u ruke” pacijentu, može se slobodno reći da je njegova odgovornost izuzetno velika, posebno sa aspekta prevencije. Osim toga, iako je lek predmet izučavanja više biomedicinskih fakulteta, upravo je farmaceut taj koji tokom studija stiče najšire znanja o leku, od hemijskih karakteristika i kinetike leka, pa do njegovih farmakoloških osobina, kontrole leka, kao i eventualnih toksičnih efekata. Novije generacije Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu imaju mogućnost i šireg upoznavanja sa problematikom trovanja lekovima kroz izborni predmet Akutna trovanja lekovima s analitikom, a izdavanjem knjige „Trovanja lekovima - odabrana poglavlja” pruža se mogućnost svim farmaceutima, ali i drugim profilima da upotpune svoje znanje iz ove oblasti.

Pomoćni udžbenik pod nazivom „Trovanja lekovima - odabrana poglavlja” napisan je na 111 strana formata A5 i tematski je podeljen na tri celine.

U prvom delu dati su podaci o učestalosti akutnih trovanja lekovima na osnovu podataka Američkog udruženja centara za kontrolu trovanja iz 2010. godine i Godišnjaka Centra za kontrolu trovanja VMA iz iste godine, koji ukazuju na visoku incidencu trovanja lekovima u svetu i kod nas.

U ovom priručniku nisu obrađene sve grupe lekove. Opredelili smo se za određene grupe lekova imajući u vidu učestalost njihove primene, ali i toksičnost. Obrađeni su neopiodni analgetici (nesteroидни antiinflamatori lekovi i paracetamol), antibiotici (penicilini, cefalosporini, makrolidi, aminoglikozidi, tetraciklini, hloramfenikol, rifampin), lekovi koji deluju na nervni sistem (barbiturati, benzodiazepini, antidepresivi, antipsihotici, antiepileptici), lekovi koji deluju na kardiovaskularni sistem (beta blokatori, blokatori Ca kanala, kardiotonični glikozidi), oralni antidijabetici, antihistaminici, antineoplastici (alkilirajući agensi, antimetaboliti, citotoksični antibiotici, derivati biljaka, ostali agensi) i antiretroviralni lekovi. Za navedene lekove je data hemijska struktura, kratak istorijat, osnovni mehanizmi toksičnosti, toksičnost, kao i principi terapije trovanja. S obzirom na to da je farmaceut deo tima koji ima značajnu i složenu ulogu u toksikološkoj praksi, u okviru svake grupe lekova nabrojane su metode njihove kvalitativne i kvantitativne analize, kao i analitika najznačajnijih predstavnika date grupe. Kod većine lekova dat je i prikaz slučaja iz prakse kako bi se čitaocu približila ova problematika.

U poslednjem poglavlju dati su predlozi mera za smanjenje broja trovanja lekovima koje zahtevaju sveobuhvatno angažovanje države i njenog zdravstvenog sistema, a posebno farmaceuta.

Ovo je prvi udžbenik koji se bavi problematikom trovanja lekovima koji je objavljen na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Napisan na jasan i koncizan način, udžbenik će omogućiti da studenti Farmaceutskog fakulteta usvoje znanja iz oblasti trovanja lekovima koja su neophodna za kvalitetno i adekvatno obavljanje farmaceutske struke, a biće od koristi i svim farmaceutima u apotekama i laboratorijama, kao i ostalima koji rade sa lekom ili ih interesuje ova problematika.

Osnovni cilj ove publikacije bio je da doprinesemo boljem sagledavanju problematike trovanja lekovima, a što bi adekvatnom ulogom farmaceuta moglo rezultirati i smanjenjem broja trovanja lekovima.

Vesna Matović

Prikaz „Priručnika za stažere diplomirane farmaceute”

Sa zadovoljstvom Vas obaveštavamo da je izšlo drugo izdanje *Priručnika za stažere diplomirane farmaceute*.

Drugo izdanje donosi potpunije obrađen pristup uloge farmaceuta u apoteci. Iako je primarno bio osmišljen za stažere, i naše kolege sa iskustvom često ga koriste u svakodnevnom radu.

Publikacija je izšla iz štampe skoro tri godine posle prve, nakon detaljnog istraživanja, čiji je fokus bio na relevantnosti podataka i njihovoј primenljivosti u apoteci od strane farmaceuta.

Drugo izdanje, između ostalog, sadrži:

- Najčešće hronične bolesti (dijabetes, arterijska hipertenzija, osteoporiza, gojaznost, glaukom).
- Ažurirana postojeća opšta poglavља koja prate aktuelne probleme gastrointestinalnog trakta, genourinarnog trakta žene, bol, sezonske boleti, kožu i kožne infekcije, zdravstvene probleme u dečijem uzrastu, oboljenja očiju i ušiju, negu stopala, upotpunjena su novim poglavljem o lajmskoj bolesti i krpeljima, kao i lekovima i kontaktnim sočivima.
- Kompletan pregled registrovanih lekova (paralela, prikaz generičkih i zaštićenih imena) i OTC preparata.
- Opis pripreme pacijenata za različita dijagnostička testiranja (analize telesnih tečnosti, snimanja, endoskopija, merenje rada telesnih funkcija, biopsija).
- Praktične savete i uputstva za pravilno korišćenje različitih farmaceutskih oblika, primenu lekova u osetljivim populacijama, neželjena dejstva lekova i interakcije.
- Pregled referentnih zdravstvenih institucija i udruženja pacijenata, nacionalnih i svetskih dana dana zdravlja.

Sagledavanje racionalne terapije u savetovanju pacijenata jeste osnovi cilj priručnika, a sa drugim izdanjem idemo u korak sa novim zdravstvenim problemima, novim savetima i terapijama koji stalno pristižu u svetu medicine i farmacije.

Sve informacije možete dobiti na:

Adresa: Bulevar vojvode Mišića 25, 11000 Beograd, Srbija

Telefon/Fax: +381 11 2648 385

e-mail: sfus@farmacija.org

Web: <http://www.farmacija.org>

S poštovanjem,

Savez Farmaceutskih udruženja Srbije

Recenzent: prof. dr Bogdan Bošković

Autori: mr ph spec. Marija Stijović, mr ph spec. Nataša Nikolić