



XVII Nedelja bolničke kliničke farmakologije, 27-28 decembar 2025.
Sekcija za kliničku farmakologiju "dr Srdjan Djani Marković"
Srpsko lekarsko društvo



Inovativne lipozomske formulacije ekstrakta lista masline: komparativna analiza fizičko-hemijskih karakteristika, antioksidativnog efekta i stabilnosti

Aleksandar L. Rašković¹, Jovan M. Baljak^{2,3}, Luka Đ. Vidović³, Aleksandra A. Jovanović⁴, Andrea M. Pirković⁴, Dragana P. Dekanski⁴

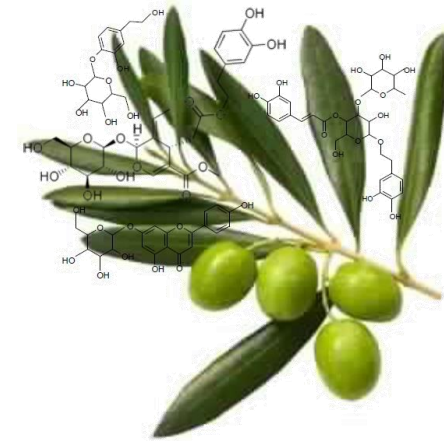
¹ Katedra za farmakologiju, toksikologiju i kliničku farmakologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, 21000 Novi Sad, Srbija

² Centar za sudsku medicinu, toksikologiju i molekularnu genetiku, Klinički centar Vojvodine, 21000 Novi Sad, Srbija

³ Medicinski fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, 21000 Novi Sad, Srbija

⁴ Institut za primenu nuklearne energije INEP, Univerzitet u Beogradu, 11080 Beograd, Srbija

Maslina (*Olea europaea* L., Oleaceae)



- *Olea europaea* L. – jedna od najznačajnijih biljaka Mediterana
- Koristi se **od davnina** u ishrani i kao lekovito sredstvo
- **Naučna istraživanja** potvrdila terapijske efekte i podstakla nova ispitivanja
- **Nusproizvod proizvodnje maslinovog ulja** – važan izvor bioaktivnih jedinjenja
- Potencijal primene:
 - prehrambena industrija
 - farmaceutska industrija
 - kozmetička industrija
- **Podrška cirkularnoj ekonomiji kroz iskorišćenje poljoprivrednih nusproizvoda**

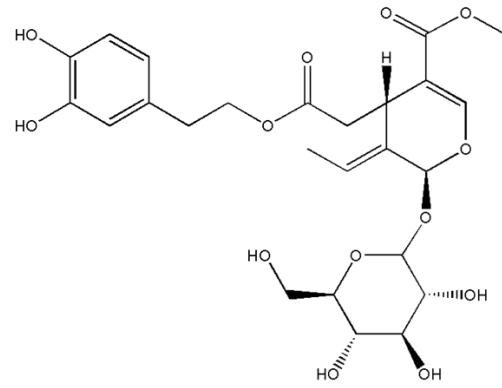
Hemijski sastav

- Biološki aktivna jedinjenja: sekoiridoidi, fenolna jedinjenja, flavanoidi i flavanoidni glikozidi
- **Oleuropein**– sekoiridoid, najzastupljeniji u mladim listovima i nezrelim plodovima

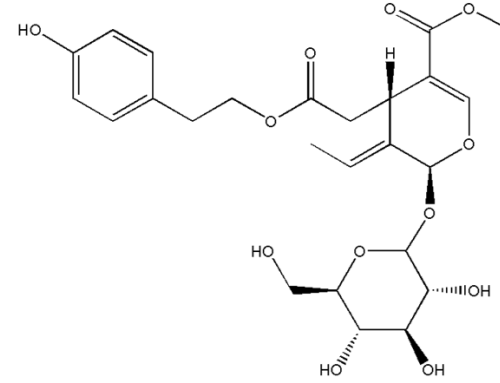
Farmakološki efekti:

- Antioksidativno delovanje
- Antiinflamatorno delovanje
- Hipolipidemijsko delovanje
- Antimikrobno delovanje

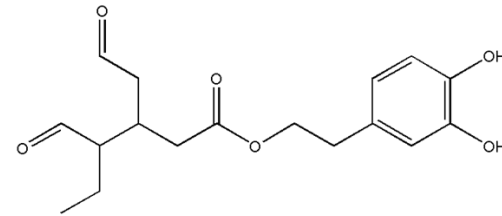
Druge komponente: **hidroksitirozol, verbasakozid, ligustrozid, oleacein, oleuropein aglikon** i druge komponente zajedno doprinose biološkim efektima



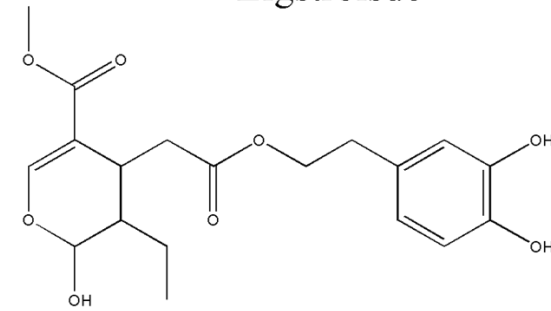
Oleuropein



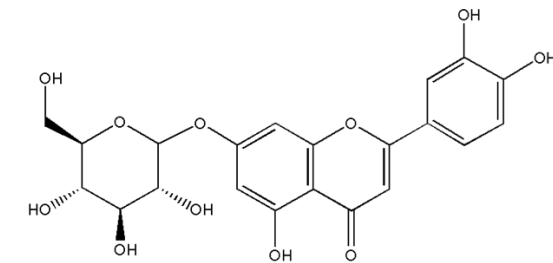
Ligstroiside



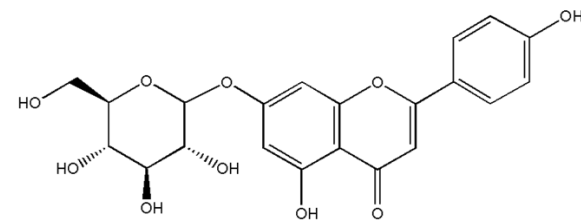
Oleacein



Oleuropein-aglycone



Luteolin-7-O-glucoside



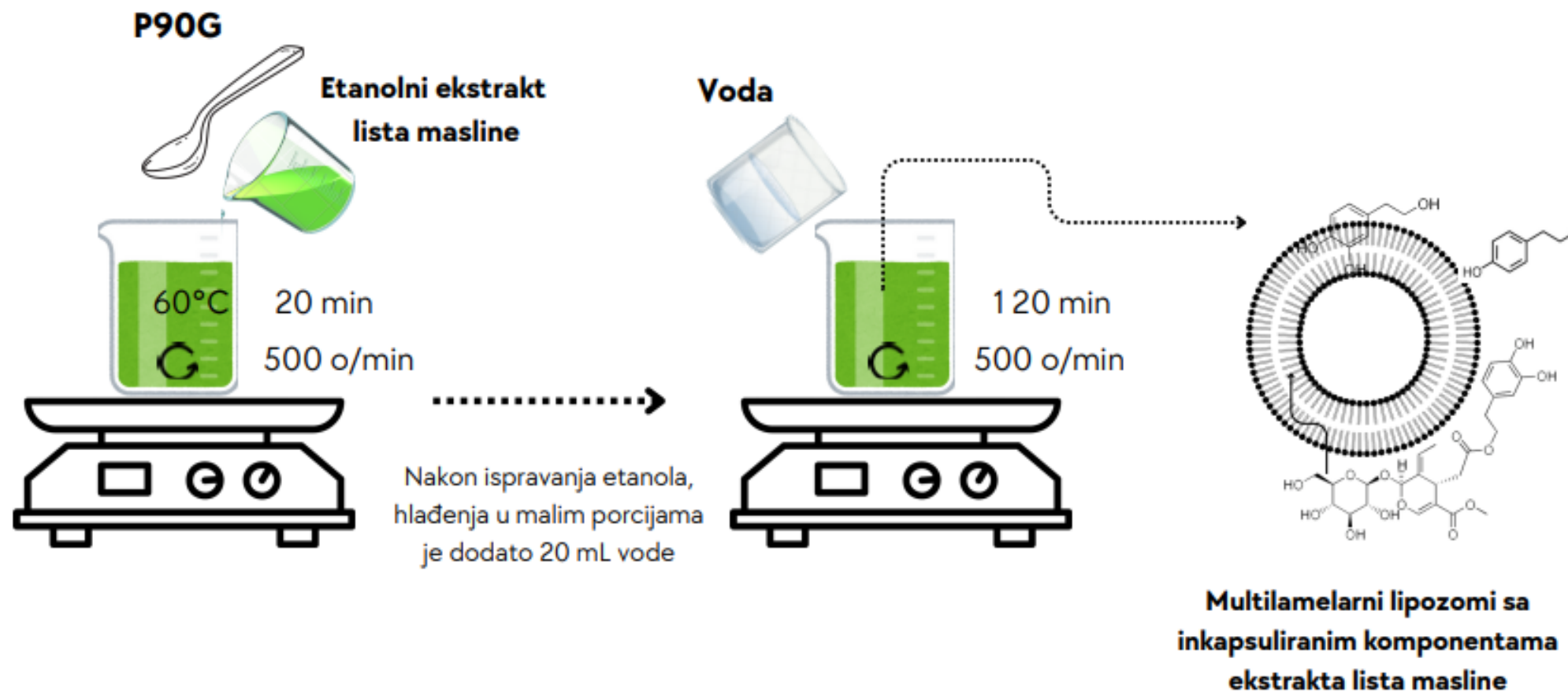
Apigenin-7-O-glucoside

CILJEVI STUDIJE

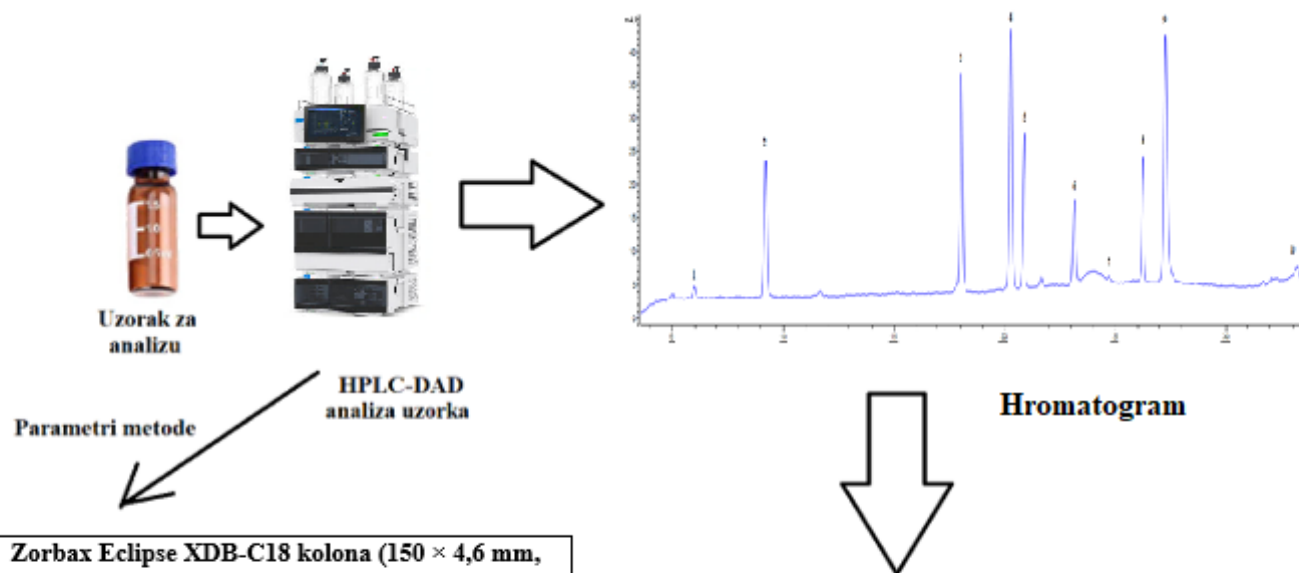
- Formulirati lipozomalne sisteme namenjene inkapsulaciji ekstrakta lista masline
- Ispitati uticaj različitih fosfolipidnih matriksa (AL, PG90 i PH90) na efikasnost inkapsulacije
- Karakterisati fizičko–hemijska svojstva dobijenih formulacija, uključujući veličinu vezikula, polidisperznost, zeta potencijal, morfologiju, FT-IR spektre, gustinu, viskoznost i površinski napon.
- Proceni antioksidativni potencijal lipozomalno inkapsuliranih polifenola u poređenju sa neinkapsuliranim ekstraktom.
- Analizirati stabilnost lipozoma tokom 60 dana skladištenja, sa posebnim osvrtom na promene u veličini čestica, zeta potencijalu, hemijskom profilu i koncentraciji bioaktivnih komponenti.
- Ispitati kinetiku oslobađanja polifenola iz lipozoma korišćenjem *Franzove* difuzione ćelije radi procene kontrolisanog oslobađanja.
- Identifikovati fosfolipidni sistem koji omogućava najpovoljniju stabilnost, zaštitu, isporuku i funkcionalnu aktivnost fenolnih jedinjenja ekstrakta lista masline.

MATERIJAL I METODE

Razvoj formulacije lipozoma sa inkapsuliranim ekstraktom lista masline- metoda prolipozoma (INEP)

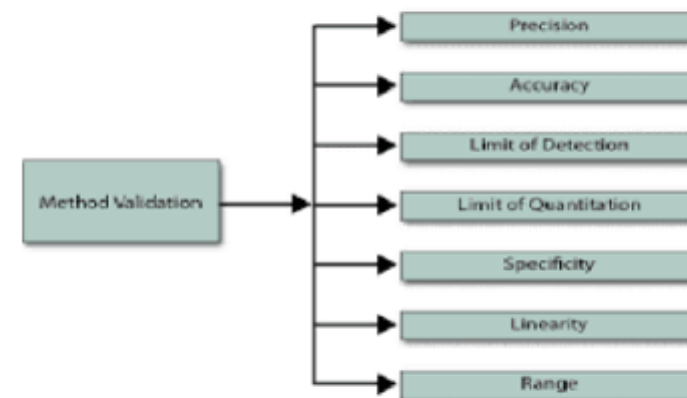


- **Određivanje sadržaja sekoiridoida, fenola i flavonoida**



Kolona		Zorbax Eclipse XDB-C18 kolona (150 × 4,6 mm, veličina čestica 5 μm)
Injekciona zapremina		5 μl
Detekcija-talasna dužina		250 nm (oleuropein, oleuropein aglikon, oleacein, ligustrozid, kvercetin i kvercitrin) 330 nm (apigenin-7-O-glukozid i hlorogenska kiselina) 350 nm (luteolin 7-O-glukozid)
Protok mobilne faze		0,8 mL/min
Temperatura		25 °C
Gradijentni program elucije		
Vreme (min)	A 2,5% sirćetna kiselina u vodi (%)	B ACN (%)
0	95	5
0-20	75	25
20-40	50	50
40-50	20	80
50-60	95	5
60-65	95	5

Validacija metode





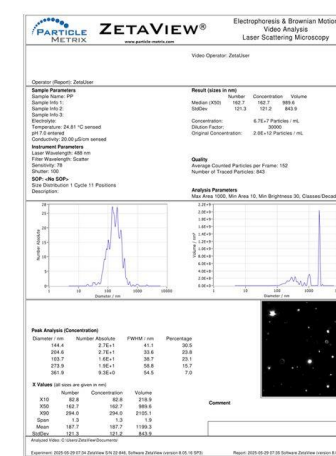
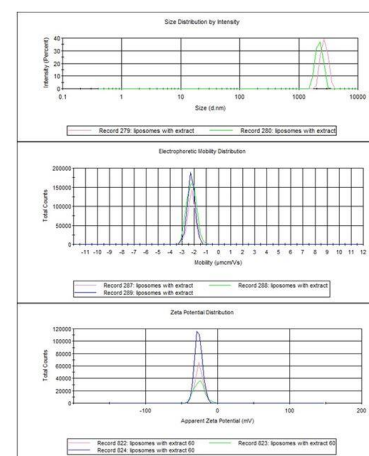
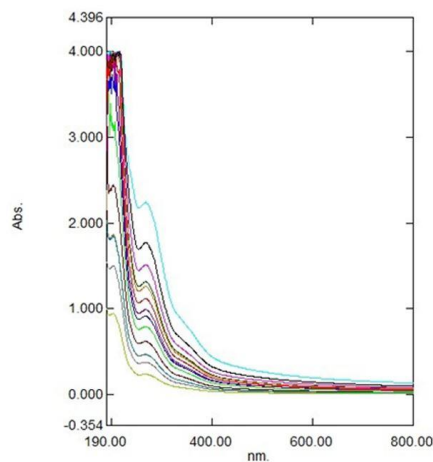
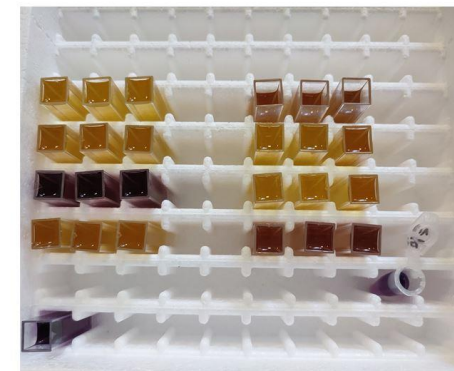
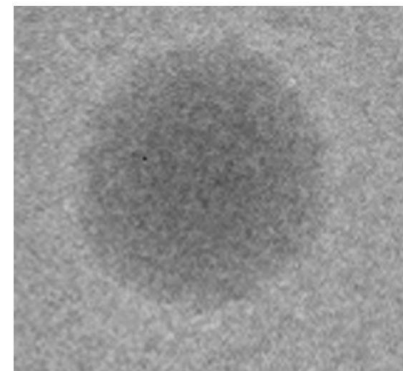
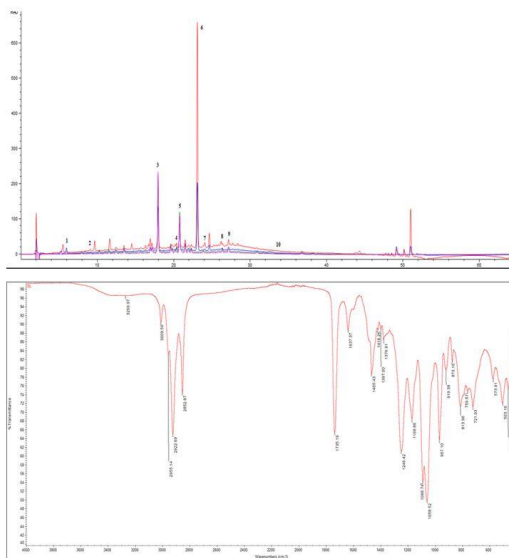
Olive Leaf
Extraction



Liposomal
Encapsulation:
phospholipids
from Avanti Polar
Lipids and
granulated and
hydrogenated
phospholipids
from Lipoid

HPLC and GC-MS
Encapsulation
Efficiency
FTIR
Morphology
Antioxidant
Capacity

Release kinetics
Stability
Nano-tracking
Analysis

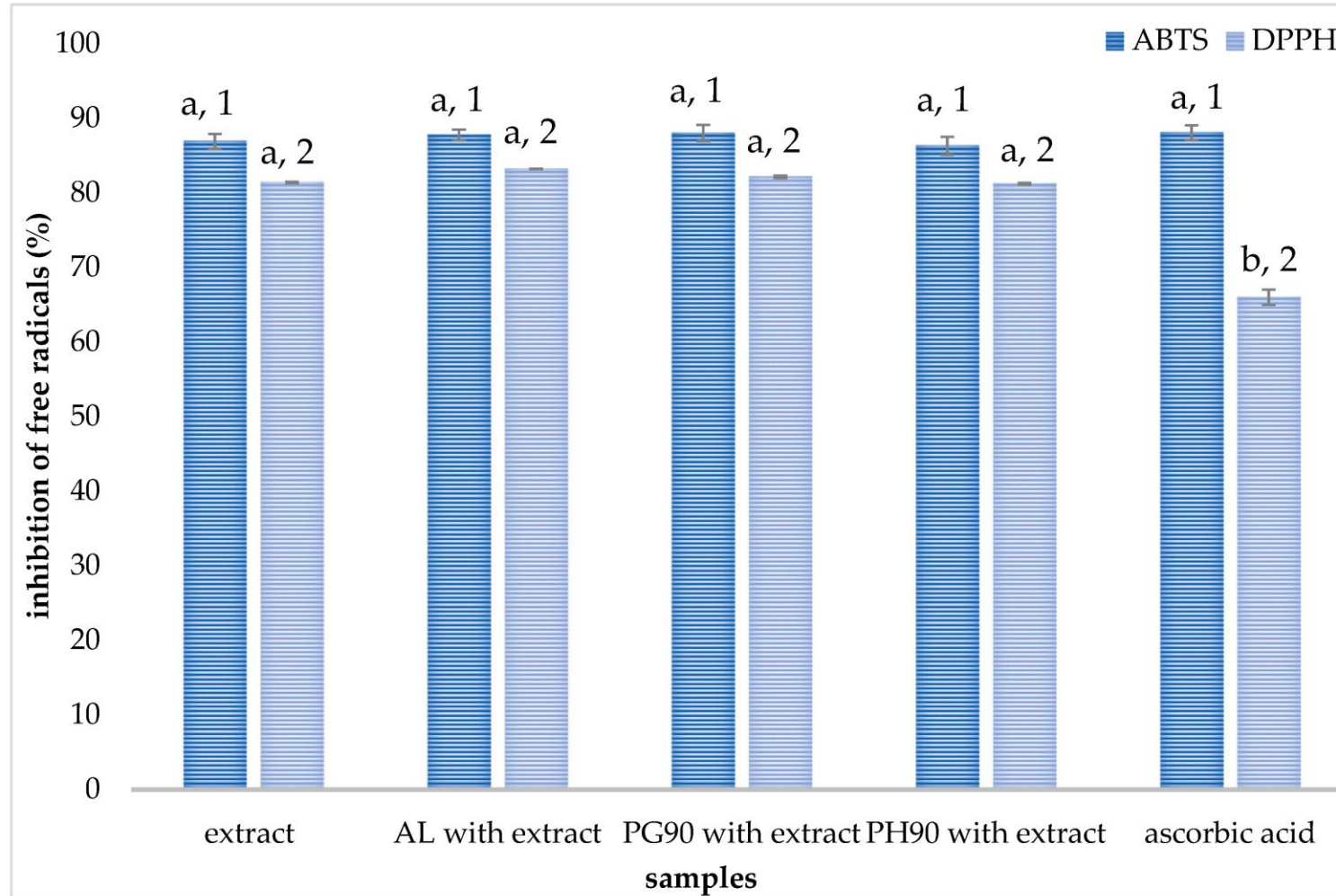


Hemijska karakterizacija lipozoma i ekstrakta lista masline HPLC-DAD metodom

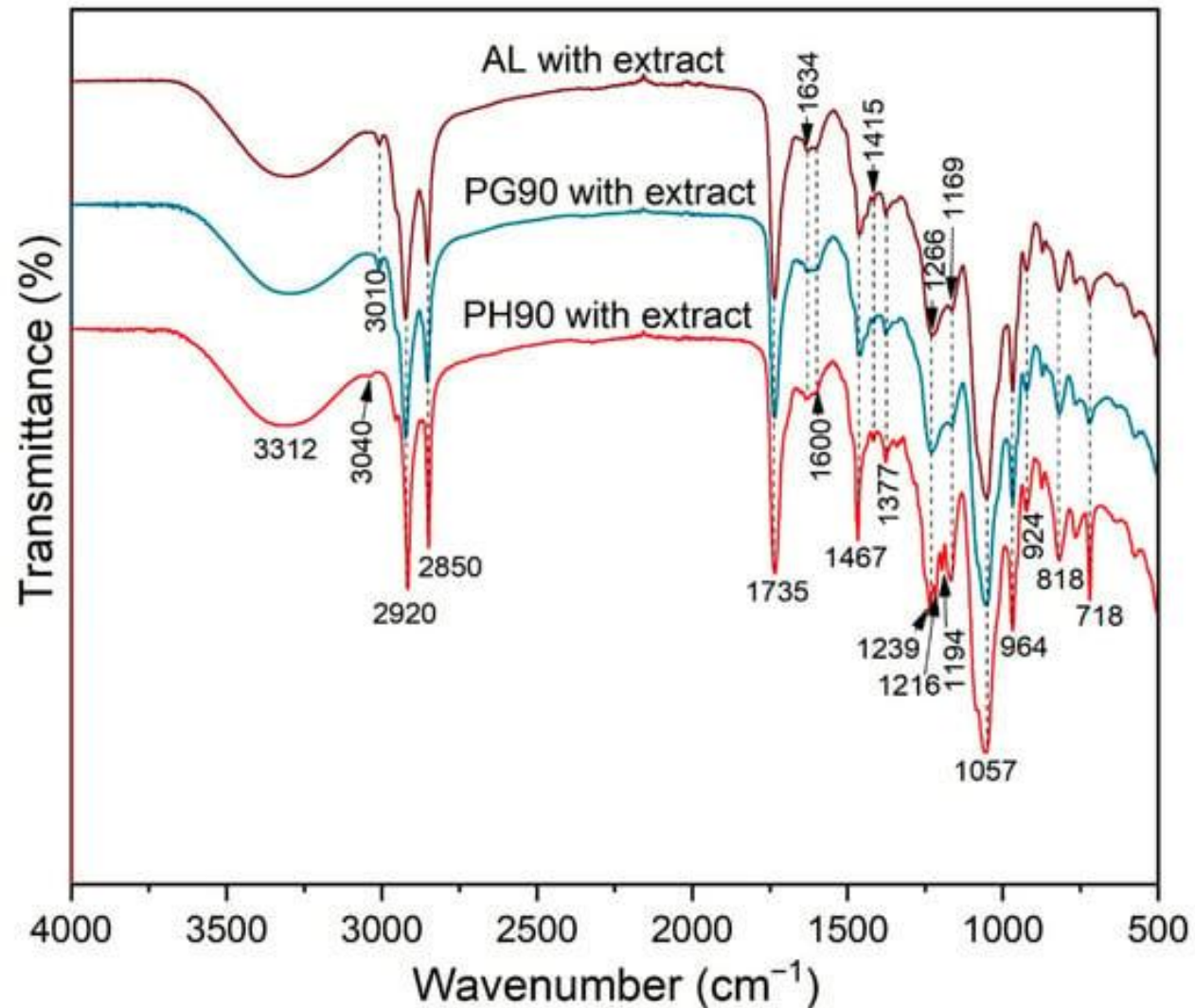
- Dobijeni rezultati prikazuju koncentracije pojedinačnih jedinjenja (μg analita/mg suvog ekstrakta) prisutnih u ekstraktu, pri čemu su identifikovane i kvantifikovane glavne biološki aktivne komponente karakteristične za ovaj ekstrakt
- Među kvantifikovanim jedinjenjima, **oleuropein** je identifikovan kao najzastupljenije jedinjenje u ekstraktu lista masline (11,18%).
- Pored njega, uočen je i značajan sadržaj **luteolin-7-O-glukozida** (0,98%) i **apigenin-7-O-glukozida** (0,52%), koji dominiraju među flavonoidnim komponentama.

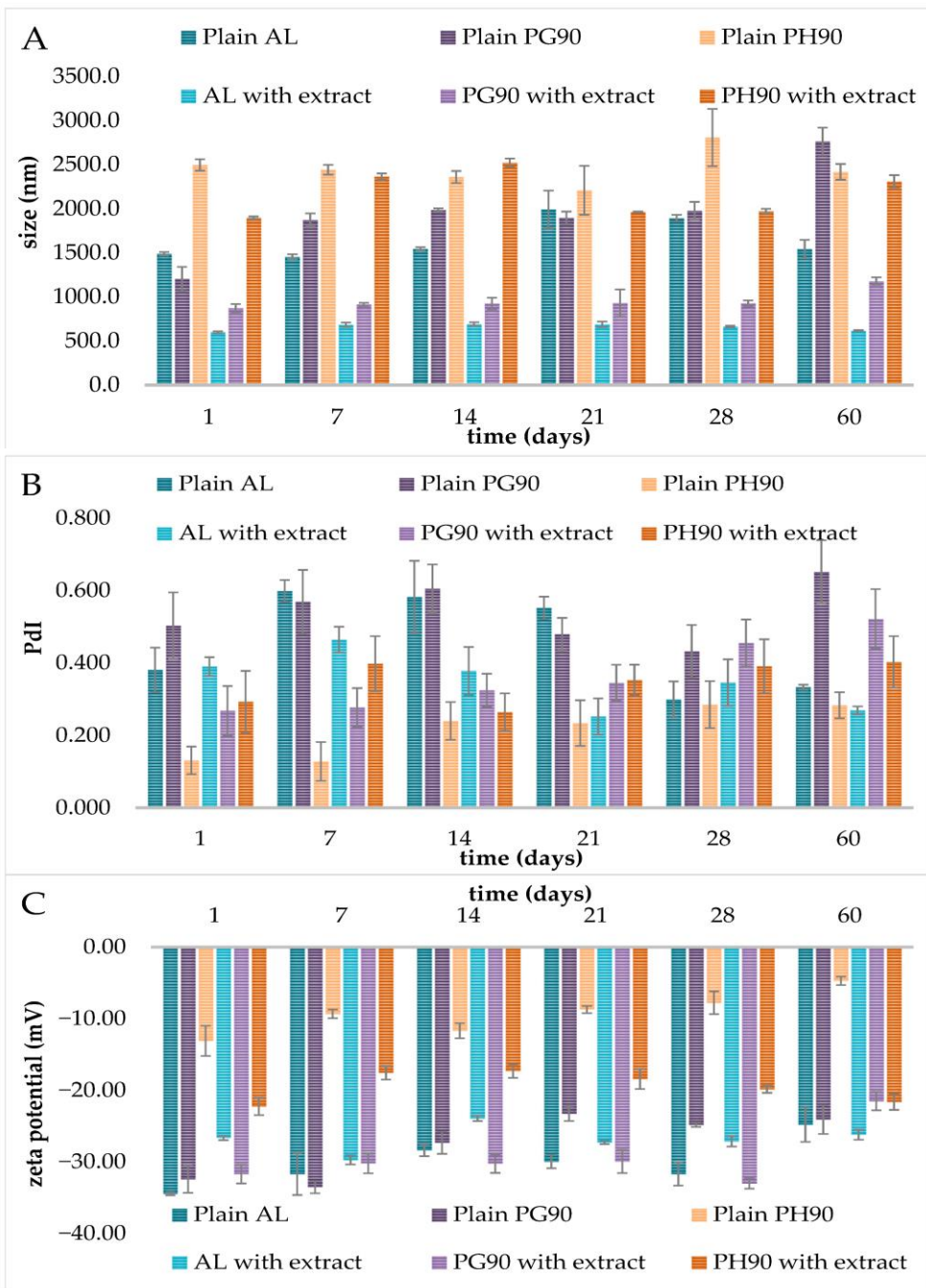
Uzorak		Ekstrakt lista masline	Liposomi opterećeni ekstraktom		
			AL	PG90	PH90
Klasa	Analit	$\mu\text{g}/\text{mg}$ suhog ekstrakta			
Sekoiridoidi	Oleuropein	$111,8 \pm 10,85^{\text{a}*}$	$98,28 \pm 3,50^{\text{a}}$	$85,75 \pm 4,18^{\text{b}}$	$87,18 \pm 2,18^{\text{dana}}$
	Oleacein	$3,75 \pm 0,24^{\text{b}}$	$4,23 \pm 0,15^{\alpha}$	$4,25 \pm 0,15^{\alpha}$	$4,03 \pm 0,10^{\text{ab}}$
	Ligstrozid	$1,06 \pm 0,14^{\text{ab}}$	$0,98 \pm 0,06^{\text{b}}$	$0,99 \pm 0,04^{\text{b}}$	$1,28 \pm 0,20^{\alpha}$
	Oleuropein aglikon	$0,43 \pm 0,08^{\text{a}}$	$0,24 \pm 0,02^{\text{b}}$	$0,36 \pm 0,05^{\text{a}}$	$0,31 \pm 0,03^{\text{a}}$
Pentaciklički triterpeni	Oleanolna kiselina	$42,88 \pm 3,10^{\text{a}}$	$15,61 \pm 1,10^{\text{°C}}$	$20,94 \pm 1,6^{\text{b}}$	$43,28 \pm 2,10^{\alpha}$
	Maslinska kiselina	$5,76 \pm 0,38^{\text{a}}$	$0,18 \pm 0,03^{\text{d}}$	$0,31 \pm 0,05^{\text{°C}}$	$3,11 \pm 0,20^{\text{b}}$
Flavonoidi i flavonoidni glikozidi	Luteolin 7-O-glukozid	$9,84 \pm 1,21^{\text{a}}$	$7,82 \pm 0,60^{\text{b}}$	$7,04 \pm 0,15^{\text{°C}}$	$7,74 \pm 0,31^{\text{b}}$
	Apigenin-7-O-glukozid	$5,21 \pm 0,65^{\alpha}$	$3,94 \pm 0,80^{\text{ab}}$	$3,75 \pm 0,20^{\text{b}}$	$4,40 \pm 0,18^{\alpha}$
	Kvercetin	$0,63 \pm 0,08^{\text{a}}$	$0,50 \pm 0,10^{\text{ab}}$	$0,45 \pm 0,05^{\text{b}}$	$0,49 \pm 0,07^{\text{ab}}$
	Kvercitrin	$0,18 \pm 0,01^{\text{ab}}$	$0,20 \pm 0,01^{\text{a}}$	$0,16 \pm 0,03^{\text{ab}}$	$0,17 \pm 0,01^{\text{b}}$
	Hidroksitirosol	$1,56 \pm 0,28^{\text{ab}}$	$2,15 \pm 0,35^{\text{a}}$	$1,90 \pm 0,10^{\text{a}}$	$1,60 \pm 0,05^{\text{b}}$
Jednostavni fenoli	Hlorogenska kiselina	$0,14 \pm 0,03^{\text{a}}$	$0,08 \pm 0,01^{\text{b}}$	$0,05 \pm 0,01^{\text{°C}}$	$0,09 \pm 0,02^{\text{ab}}$

Poređenje antioksidativnog efekta ekstrakta lista masline i lipozomskih formulacija (sposobnost hvatanja ABTS i DPPH radikala)



FT-IR SPEKTRI EKSTRAKTA LISTA MASLINE I LIPOZOMALNIH FORMULACIJA EKSTRAKTA

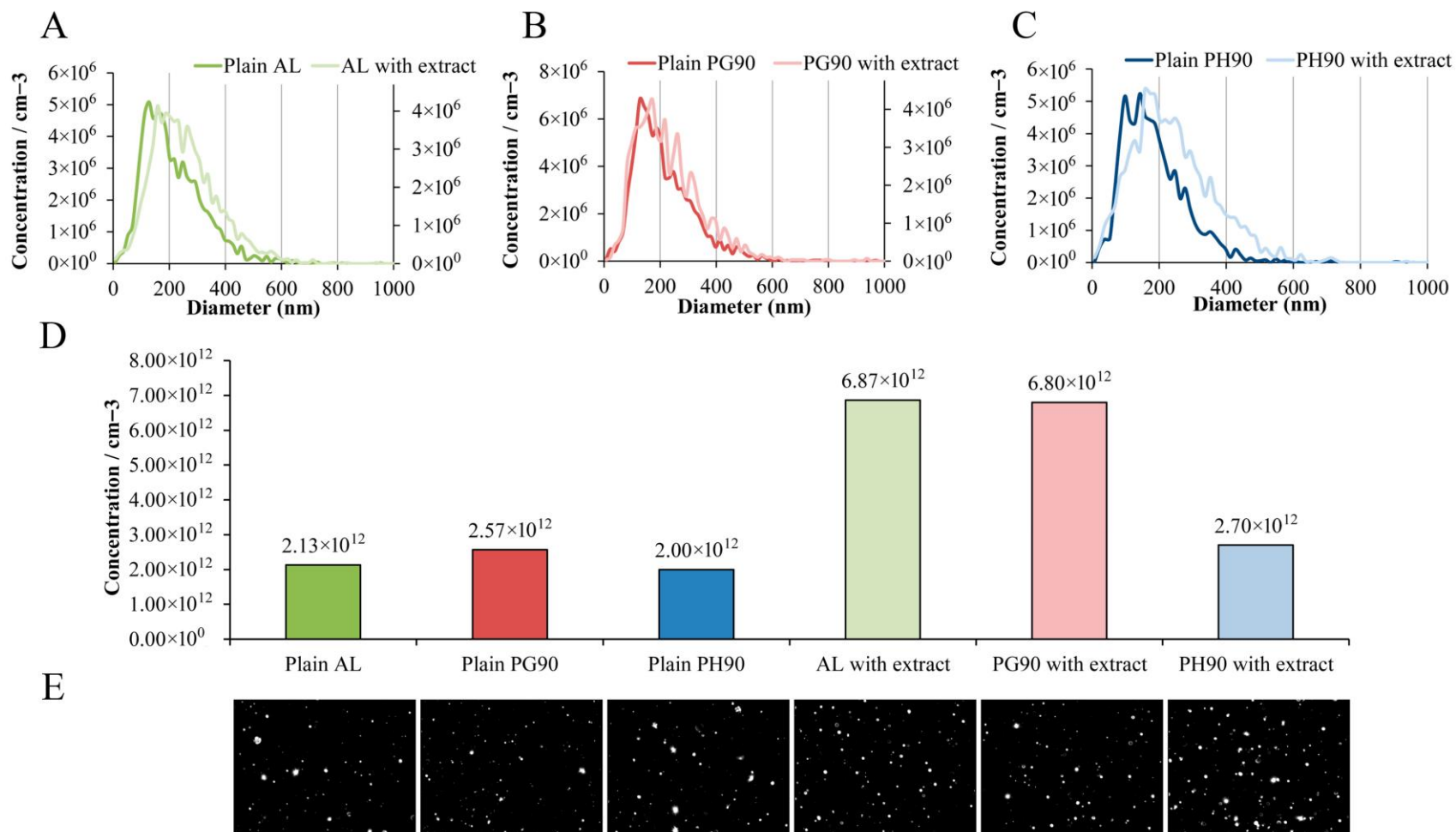




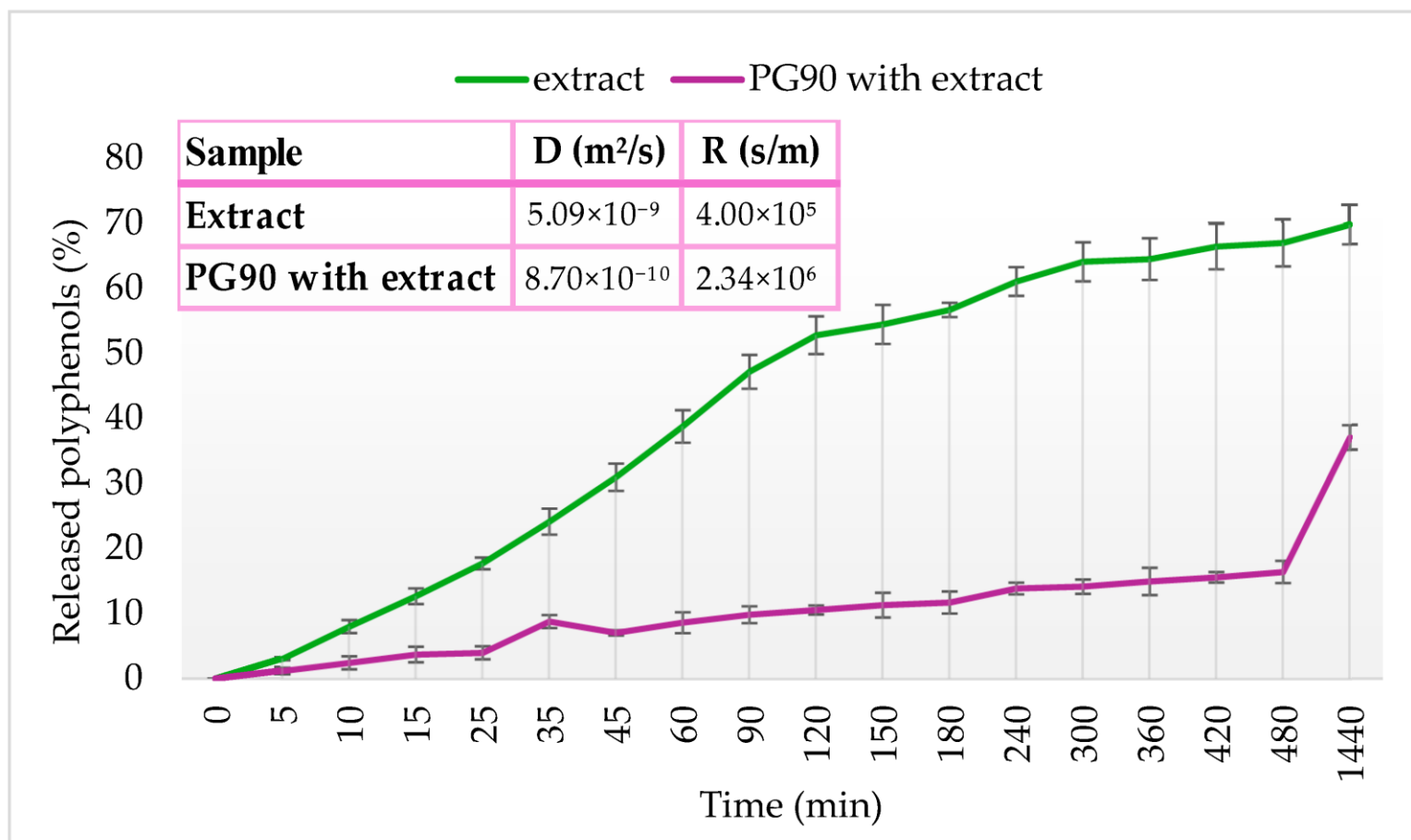
Stabilnost lipozoma tokom vremena

- Analizirane su promene u veličini čestica, polidisperzitetu (PdI) i zeta-potencijalu
- AL i PG90 formulacije pokazale su veću stabilnost u pogledu veličine i PdI u odnosu na PH90 lipozome.
- PH90 lipozomi pokazali su tendenciju ka većem povećanju veličine i manjim vrednostima zeta-potencijala, što ukazuje na smanjenu koloidnu stabilnost.
- Zeta-potencijal svih formulacija ostao je u opsegu koji ukazuje na relativnu stabilnost, ali AL lipozomi su pokazali najpovoljniji profil.
- Ukupna stabilnost lipozoma bila je najviša kod AL formulacije zbog optimalne kombinacije fluidnosti membrane i interakcije sa fenolnim jedinjenjima.
- Rezultati ukazuju da sastav fosfolipida značajno utiče na fizičko-hemijsku stabilnost lipozoma tokom čuvanja.

Analiza lipozomskih formulacija metodom praćenja nanočestica (NTA)



Kinetika otpuštanja polifenola iz čistog ekstrakta lista masline i inkapsulirane lipotomske formulacije (PG90 lipozomi) u simuliranim fiziološkim uslovima (fosfatni pufer, pH 7,4, 37 °C) tokom 24 h



ZAKLJUČAK

- **Analiza ekstrakta:** HPLC i GC-MS → oleuropein dominantan; efikasno inkapsuliran u svim lipozomima.
- **Inkapsulacija:**
 - PG90 → najveća EE za oleuropein (polarno).
 - PH90 → bolje zadržava lipofilne triterpene (oleanolna i maslinska kiselina).
 - AL i PG90 → najbolja enkapsulacija flavonoidnih glikozida (luteolin, apigenin).
- **FT-IR analiza:**
 - Nezasićeni fosfolipidi (AL, PG90) → jača interakcija sa ekstraktom.
 - Hidrogenizovani (PH90) → uredniji, manje interaktivni bilajer.
- **Antioskidantna aktivnost:** Lipozomi sa ekstraktom → visok kapacitet hvatanja radikala; prazni liposomi minimalno aktivni.
- **Stabilnost:**
 - Ekstrakt smanjuje veličinu čestica, povećava negativni zeta potencijal → bolja koloidna stabilnost.
 - PG90 lipozomi → stabilni 60 dana.
 - NTA → ekstrakt povećava uniformnost i koncentraciju čestica.
- **Otpuštanje:** Lipozomi → kontrolisano/prodženo otpuštanje polifenola, veća zaštita i bioraspoloživost.
- **Budući eksperimenti:** Termodinamika, mikrobiološka degradacija oleuropeina, in vivo bioraspoloživost i farmakodinamski efekat.