

Liposomy – znane nieznanie narzędzia farmakologiczne

Liposomes – a known unknown pharmacological tools

Wojciech Fijałkowski¹, Mateusz Gąbka¹, lek. Małgorzata Kopycińska³, dr hab. inż. Magdalena Przybyło^{1,2},
prof. dr hab. Marek Langner¹

¹Lipid Systems sp. z o.o.

²Politechnika Wrocławska

³Szpital Bielański w Warszawie

ORCID: Marek Langner – 0000-0003-1772-4550

Nr art. Lek.202302.03 ©

■ **Słowa kluczowe:** kierowane nośniki leków, liposomy, agregaty lipidowe, farmakokinetyka.

■ **Streszczenie:** Lipidy od lat stosowane są jako bezpieczne substancje pomocnicze do tworzenia nanoagregatów lipidowych w formie liposomów przeznaczonych do zastosowań farmakologicznych. Pozwalają one na zwiększenie rozpuszczalności i stabilności oraz modyfikację biodostępności i/lub farmakokinetyki substancji farmakologicznie czynnych. Z tego powodu są ważnym elementem wielu nowoczesnych terapii farmakologicznych. Agregaty lipidowe są m.in. niezbędnym elementem terapii genetycznych oraz wygodnym narzędziem w modyfikacji układu immunologicznego poprzez ekspozycję terapeutycznie ważnych epitopów. Powstające w wyniku efektu hydrofobowego agregaty lipidowe mogą zawierać w ich strukturze praktycznie wszystkie substancje biologicznie czynne. Właściwe stosowane nanoagregaty lipidowe umożliwiają osiągnięcie zwiększonej selektywności tkankowej i/lub komórkowej terapii, a co za tym idzie, mogą zredukować toksyczność układową substancji czynnej. Zastosowanie lipidów jako substancji pomocniczych zmienia jakościowo terapie farmakologiczne, czego przejawem jest nowa, oparta na mRNA, szczepionka przeciw COVID-19. W nowoczesnej farmakologii agregat lipidowy pozwala zakodować w jego strukturze to, jak będzie zachowywał się w organizmie, a jego powierzchnia doskonale nadaje się do komunikacji z kompetentnymi komórkami organizmu. Celem artykułu jest przedstawienie podstawowych informacji dotyczących nanoagregatów lipidowych w postaci liposomów oraz wskazanie na korzyści wynikające z ich stosowania w terapiach farmakologicznych. Wskazano także na zmieniające się w związku z tym paradygmaty farmakologiczne.

■ **Keywords:** targeted drug delivery systems, liposomes, lipid aggregates, pharmacokinetics.

■ **Abstract:** Lipids have been used for years as safe excipients to create lipid nano-aggregates in the form of liposomes intended for pharmacological applications. They allow to increase the solubility and stability, and to modify the bioavailability and/or pharmacokinetics of pharmacologically active substances. For this reason, they are an important component of many modern pharmacological therapies. Lipid aggregates are, among others, an essential element of genetic therapy and a convenient tool in the modification of the immune system by exposure of therapeutically important epitopes. Lipid aggregates formed because of the hydrophobic effect may contain practically all biologically active substances in their structure. When properly used, lipid nano-aggregates make it possible to achieve increased tissue selectivity and/or cellular therapy and thus can reduce the systemic toxicity of the active ingredient. The use of lipids as excipients is qualitatively changing pharmacological therapies, as evidenced by the new mRNA-based COVID-19 vaccine. In modern pharmacology, the lipid aggregate allows to encode in its structure how it will behave in the body, and its surface is perfect for communication with competent cells of the body. The aim of the article is to present basic information on lipid nano-aggregates in the form of liposomes and to indicate the benefits of their use in pharmacological therapies. The changing pharmacological paradigms were also pointed out.

■ Wprowadzenie

Liposomy to narzędzia farmakologiczne, które z racji swoich rozmiarów mogą przenosić znaczne ilości substancji biologicznie czynnych, nie tracąc przy tym zdolności selektywnego pokonywania barier fizjologicznych [1-3].

Aby wskazać na korzyści wynikające ze stosowania liposomów, posłużymy się obecnym na rynku farmaceutycznym lekiem, który jest liposomową postacią doksorubicyny (Caelix) [4]. Doksorubicyna to antybiotyk antracyklinowy, który wykorzystuje się w leczeniu nowotworów takich jak nowotwory piersi, dróg żółciowych, gruczołu krokowego czy mięsaka Kaposiego. Wyizolowana z bakterii *Streptomyces peucetius* we wczesnych latach 60. wciąż pozostaje, w wyniku szerokiego spektrum działania, jednym z powszechniej stosowanych leków przeciwnowotworowych. Stosuje się go samodzielnie lub jako element terapii kombinowanych. Ogólnie akceptowany model działania cytostatycznego opiera się na założeniu, że doksorubicyna interkaluje w helisę DNA, powodując inhibicję topoizomerazy II. W ten sposób zablokowana jest synteza białek [5]. Ten generalnie toksyczny efekt występuje szczególnie w komórkach szybko dzielących się, co w przypadku komórek nowotworowych pozwala uzyskać ograniczoną specyficzność.

Liczne badania pokazują jednak, iż profil działania doksorubicyny nie ogranicza się jedynie do interakcji z DNA, lecz również ma wpływ na inne białka [6]. Doksorubicyna może także zmienić elementy strukturalne komórki, takie jak błony, co może modyfikować funkcjonalność związanych z nimi białek [7]. Przykład ten jest przejawem szerszego problemu polegającego na tym, że farmakologicznie aktywne substancje niskocząsteczkowe mają praktycznie zawsze ograniczoną selektywność na wszystkich poziomach, od tkankowej poprzez komórkową do molekularnej [8].

W celu oceny selektywności substancji biologicznie czynnej stosowany jest parametr

ilościowy, zwany indeksem terapeutycznym, który jest miarą zakresu dawek koniecznych, aby osiągnąć pożądaną efekt terapeutyczny bez wywoływania nieakceptowalnych skutków ubocznych. Ograniczona specyficzność doksorubicyny podawanej samodzielnie (indeks terapeutyczny wynosi 1.8) powoduje, że terapia z jej wykorzystaniem cechuje się wysoką toksycznością wobec wątroby, serca, mózgu oraz nerek [9]. W przypadku gdy specyficzność substancji czynnej jest niska, a skutki uboczne są trudne do zaakceptowania, podejmowane są próby zwiększenia indeksu terapeutycznego. W tym celu syntetyzuje się analogi lub proleki o korzystniejszej charakterystyce farmakologicznej. Innym podejściem jest zastosowanie kierowanych nośników leków, które zwiększają akumulację substancji farmakologicznie czynnej w tkance docelowej (nowotworowej), przy zachowaniu jej efektywności.

Spektakularnym efektem opracowania kierowanego nośnika dla doksorubicyny jest jej postać liposomalna (Caelix). W rezultacie indeks terapeutyczny dla Caelix udało się zwiększyć do 4,2, co w praktyce przełożyło się na wyeliminowanie, powszechnie występującej w przypadku stosowania doksorubicyny, kardiotoxyczności. Caelix był jednym z pierwszych leków opartych na kierowanych nośnikach. Technikę kierowanych nośników leków można obrazowo porównać do przesyłki pocztowej, w której wnętrzu znajduje się substancja farmakologicznie czynna. Natomiast powierzchnia otoczki (opakowanie) może być modyfikowana w taki sposób, aby przesyłka nie była widoczna dla „osób postronnych” (np. komórek układu immunologicznego), czy też „otwierała” się w ściśle określonych miejscach. Aby jeszcze bardziej sprecyzować odbiorcę przesyłki, na powierzchni liposomu umieszcza się ligandy lub przeciwciała do wybranych epitopów znajdujących się na powierzchni komórek docelowych, co można porównać do umieszczenia adresu na przesyłce. Dzięki

„zapakowaniu” substancji aktywnych możliwe jest nie tylko kierowanie leku do wybranych tkanek czy nawet komórek, lecz także można poszerzyć spektrum stosowanych substancji czynnych czy znacząco zwiększyć ich lokalne stężenie [3,8,10,11].

■ Nanoagregaty lipidowe modyfikują farmakokinetykę substancji czynnej

W klasycznej farmakologii w celu zmniejszenia toksyczności czy też zwiększenia efektywności i biodostępności substancji modyfikuje się jej strukturę chemiczną, co często prowadzi do zmniejszenia jej aktywności. Oznacza to, że tradycyjny sposób opracowywania leku z wykorzystaniem modyfikacji chemicznych substancji czynnej jest kompromisem pomiędzy wymaganiami farmakodynamiki (wiązania się ze zdefiniowanym celem molekularnym) a optymalną farmakokinetyką i biodystrybucją (zachowanie się leku w organizmie). Takie podejście wyklucza możliwość osiągnięcia specyficzności molekularnej, tkankowej i komórkowej, co skutkuje występowaniem efektów ubocznych oraz ograniczeniem efektywności terapeutycznej substancji.

Zastosowanie nanoagregatów lipidowych (np. liposomów) pozwala uniknąć wielu problemów związanych z optymalizacją efektywności substancji czynnej na drodze modyfikacji chemicznej. Zamiast zmieniać jej strukturę chemiczną, substancję czynną można wbudować w nanoagregaty lipidowe (liposomy). W ten sposób optymalizację farmakokinetyki uzyskuje się poprzez dobranie składników nanoagregatu lipidowego bez konieczności obniżenia poziomu oddziaływania substancji czynnej z celem molekularnym.

Korzyści wynikające z zastosowania nanoagregatów lipidowych w postaci liposomów bardzo dobrze obrazuje wspomniana wcześniej liposomowa postać doksorubicyny (Caelix). Przy kumulatywnej administracji liposomowego preparatu przekraczającej 500 mg/m² nie za-

obserwowano niewydolności serca wtórnej do kardiomiopatii, która jest charakterystyczna dla terapii z wykorzystaniem roztworu doksorubicyny. Gdy zastosowano postać liposomową, stężenie leku było od 4 do 16 razy wyższe w nowotworze niż w przypadku podania samej doksorubicyny, a jej maksymalne stężenie w nowotworze pojawia się od 3 do 7 dni po podaży dożylniej [4]. Terapeutyczne stężenie doksorubicyny podanej samodzielnie osiągane jest tylko w trakcie podaży dożylniej. Oznacza to, że po podaży Caelix stężenie substancji czynnej w nowotworze jest istotnie zwiększone przez znacznie dłuższy czas. Aby możliwe było uzyskanie zwiększonej akumulacji liposomowej doksorubicyny w nowotworze, konieczne było wydłużenie czasu półtrwania leku w surowicy. Za wydłużoną obecność Caelix w układzie krążenia odpowiada skład molekularny liposomu (obecność na powierzchni dwuwarstwy lipidowej łańcucha glikolu polietylenowego). Natomiast zwiększone gromadzenie się nanoleku w miejscu docelowym zostało osiągnięte poprzez dopasowanie rozmiaru liposomu do patofizjologicznych uwarunkowań w tkance nowotworowej (efekt zwiększonej przepuszczalności i retencji; ang. *EPR effect*) [12].

Morfologia naczyń krwionośnych i limfatycznych w nowotworze różni się od tych w tkance zdrowej. Różnice te można wykorzystać w celu uzyskania specyficzności tkankowej liposomów z lekiem. Liposomy mające rozmiary poniżej 100 nm pasywnie przenikają przez ściany naczyń krwionośnych w masie guza, co umożliwia ich lokalną akumulację.

■ Nanoagregaty lipidowe powstają w wyniku efektu hydrofobowego

Powstawanie i topologia agregatów lipidowych wynikają z właściwości molekuł (lipidów) je tworzących. Lipidy to grupa substancji słabo rozpuszczalnych w wodzie [13]. Wśród nich wyróżnić można kilka klas, z których do formo-

wania nanoagregatów najczęściej wykorzystuje się glicerofosfolipidy i cholesterol [14]. Substancje te zostały uznane przez amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA) za bezpieczne (GRAS) [15]. Zakwalifikowanie materiału budulcowego agregatów lipidowych do grupy bezpiecznych substancji pomocniczych wynika z braku zidentyfikowanych efektów toksycznych.

Stwierdzenie, że lipidy nie rozpuszczają się w wodzie oznacza, iż nie rozpuszczają się w wodzie, w formie monomerów. Zamiast tego tworzą zawiesiny wodne spontanicznie powstających agregatów. Powstawanie agregatu lipidowego zależy od sposobu, w jaki lipidy oddziałują z wodą. Procesem odpowiedzialnym za spontaniczne powstawanie agregatów jest efekt hydrofobowy, który wynika z dążenia cząsteczek wody do specyficznego dla nich sposobu oddziaływania, podyktowanego koniecznością tworzenia wiązań wodorowych. Z punktu widzenia oddziaływania z wodą, lipid zalicza się do substancji amfifilowych, charakteryzujących się tym, że ich oddziaływanie z wodą jest niejednorodne, tzn. cząsteczka amfifilu posiada dwa obszary różniące się sposobem oddziaływania z wodą. Rysunek 1 przedstawia przykład cząsteczki amfifilowej (fosfatydylocholiny) z zaznaczonymi obszarami charakteryzującymi się różnym powinowactwem do wody. Fosfatydylocholina jest przykładem lipidu, który tworzy liposomy, czyli

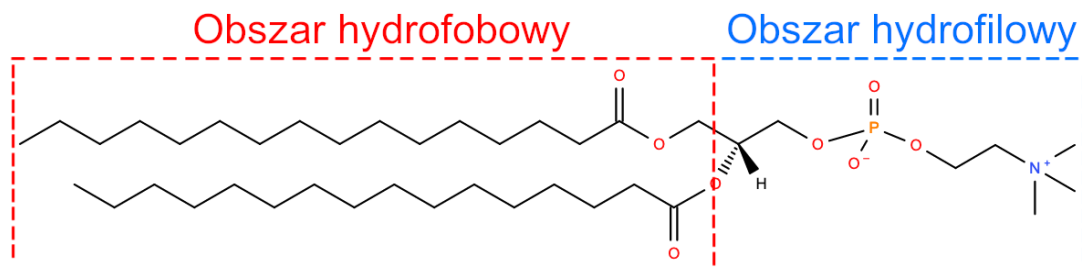
sferyczne agregaty charakteryzujące się tym, że ich ściana uformowana jest z dwumolekularnej błony zwanej dwuwarstwą lipidową (rysunek 2 [13]).

Podkreślić należy, że bez efektu hydrofobowego, tzn. obecności wody, liposomy nie mogą powstać. Preparat w formie stałej może zawierać lipidy, ale z pewnością nie ma w nim liposomów. Liposomy, gdy powstaną, tworzą bardzo stabilną zawiesinę w wodzie, którą trudno zmodyfikować czynnikami fizycznymi [16]. Agregaty lipidowe są natomiast podatne na działanie czynników biologicznych, takich jak detergenty (kwasy tłuszczowe) czy enzymy (lipazy). Te czynniki biologiczne odpowiedzialne są za uwolnienie substancji czynnej z formacji liposomowych [17,18].

■ Liposomy jako narzędzie farmakologiczne

Przez długi czas proces formowania jednorodnych liposomów zbudowanych z pojedynczej dwuwarstwy lipidów na skalę przemysłową był trudny do osiągnięcia. Dziś, dzięki opracowaniu technologii wstrzykiwania lipidu rozpuszczonego w etanolu do fazy wodnej, można uzyskać powtarzalnie jednorodną, z punktu widzenia rozmiaru i składu, populację agregatów lipidowych w objętościach od 60 mL do nawet 3 litrów [19].

Dużo większe możliwości daje technologia *Liposhell®*, która umożliwia wytwarzanie lipo-



Rysunek 1. Cząsteczka fosfatydylocholiny z zaznaczonymi obszarami o różnym powinowactwie do wody. Obszar zaznaczony na czerwono jest hydrofobowy, tzn. nieoddziałujący z wodą, a obszar zaznaczony na niebiesko jest obszarem polarnym (hydrofilowym), który z wodą oddziałuje.



PRODUKTY LIPOSOMALNE W OPATENTOWANEJ TECHNOLOGII

LIPO-SHELL® 1
TECHNOLOGY

ASCOLIP® LIPOSOMALNA WITAMINA C

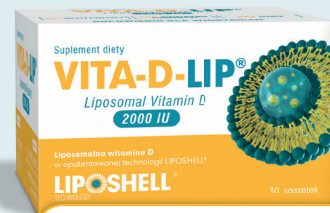
- 80% lepsze wchłanianie witaminy C w formie liposomalnej niż witaminy C w formie tradycyjnej – **WYSOKA SKUTECZNOŚĆ²**
- Dwukrotne wydłużenie czasu działania witaminy C w formie liposomalnej²



1000 mg, 500 mg

VITA-D-LIP® LIPOSOMALNA WITAMINA D

- 6 razy szybsze wchłanianie liposomalnej witaminy D niż witaminy D w formie olejowej³



4000 IU, 2000 IU, 1000 IU

FE-LIP® LIPOSOMALNE ŻELAZO

- Dodatkowa droga wchłaniania w formie liposomalnej – **WYSOKA SKUTECZNOŚĆ**
- Mniejsze ryzyko wystąpienia skutków ubocznych w formie liposomalnej tj. nudności, ból brzucha⁴



20 mg, 7 mg

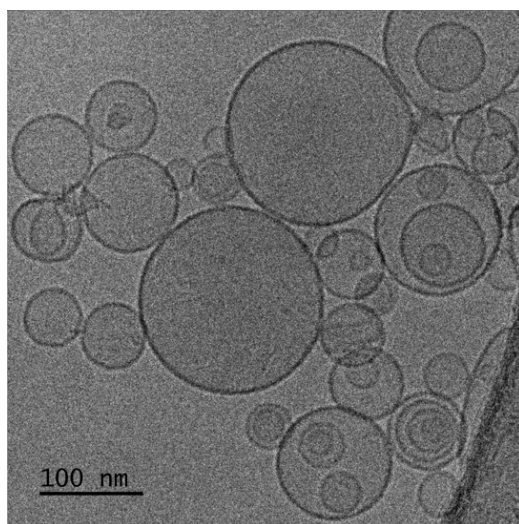
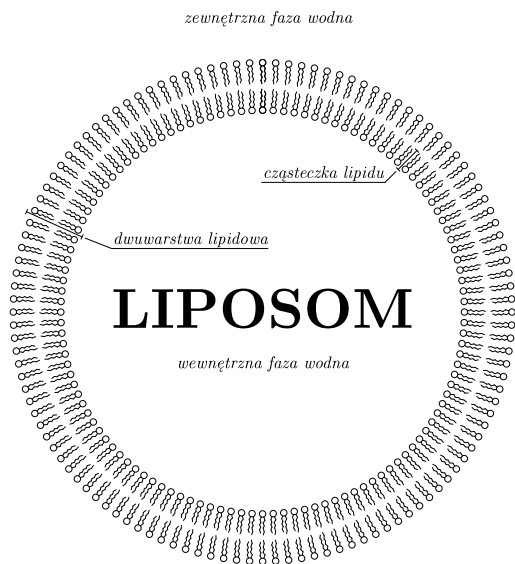
WŁAŚCIWOŚCI PRODUKTÓW POTWIERDZONE W BADANIACH

1. Zgłoszenie międzynarodowe nr. PCT/EP2018/057400. 2. Łukawski M., et al., "New oral liposomal vitamin C formulation: properties and bioavailability", Journal of Liposome Research, 2019 Jul 2:1–8. 3. Dalek P., et al., "Bioavailability by design – Vitamin D3 liposomal delivery vehicles", Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine 43 (2022) 102552. 4. Malhotra J. et al., "Oral Liposomal Iron: A Treatment Proposal for Anemia", World Journal of Anemia, October–December 2017;1(4):1–6. Suplement diety nie może być stosowany jako substytut (zamiennik) zróżnicowanej diety. Zalecany jest zrównoważony sposób żywienia i zdrowy tryb życia. Porcja produktu zalecana do spożycia w ciągu dnia: 1 saszetka 1 raz dziennie. Kobiety w ciąży oraz matki karmiące piersią przed zastosowaniem powinny skonsultować się z lekarzem. Przeciwwskazaniem do stosowania jest nadwrażliwość na którykolwiek składnik produktu. ASCOLIP® liposomalna witamina C – ostrzeżenia: Nie stosować u osób mających predyspozycję do tworzenia kamieni nerkowych lub chorujących na kamicę nerkową. Witamina C w dawce ≥ 1000 mg może powodować łagodne zaburzenia żołądkowe u osób nadwrażliwych. VITA-D-LIP® liposomalna witamina D – ostrzeżenia: Przed zastosowaniem wskazane jest wykonanie badania 25-(OH)D we krwi oraz konsultacja wyniku badania z lekarzem lub farmaceutą. Nie należy stosować z innymi preparatami zawierającymi witaminę D. FE-LIP® liposomalne żelazo – ostrzeżenia: Nie należy stosować z innymi preparatami zawierającymi żelazo. Wytwórca: Lipid Systems Sp. z o.o., ul. Krzemieniecka 48C, 54-613 Wrocław. Dystrybutor: Genexo Sp. z o.o., ul. Gen. Żajączka 26, 01-510 Warszawa, tel. (+48 22) 839 11 99; INFOLINIA: 516 203 516.

somów o ściśle określonym rozmiarze w skali przemysłowej (pojedyncze szarże wytwarzane są w tonach – US patent 2022/0331250 A1 przyznany dla Lipid Systems sp. z o.o.). Technologia ta polega na mieszaniu fazy niepolarniej zawierającej duże ilości lipidów (do 60% w/w) z fazą wodną. W rezultacie uzyskuje się żel liposomowy, w którym większość fazy wodnej znajduje się we wnętrzu liposomów. Technologia ta pozwala na wydajne zamykanie w liposomach substancji hydrofilowych (rozpuszczalnych w wodzie).

Na rysunku 2 przedstawiono liposom zbudowany ze sferycznej dwuwarstwy lipidowej, tworzącej wydzielony obszar wodny, w którym możliwe jest zamykanie związków hydrofilowych, w tym także dużych polimerów biologicznych. Ta zdolność pozwala na transport substancji wrażliwych lub niebezpiecznych do miejsca docelowego. Podobne rozwiązanie zastosowano w preparacie Caelix. W tym przypadku skryształizowany siarczan doksorubicyny znajduje się w obszarze wodnym ograniczonym dwuwarstwą lipidową [4].

Możliwości liposomów nie kończą się na zdolności transportowania i ochrony zamkniętych w nich substancji. Dzięki odpowiednio dobranemu rozmiarowi liposomy akumulują się preferencyjnie w miejscach, gdzie występują rozszczelnione naczynia włosowate (w Caelix wielkość liposomu wynosi ok. 80 nm [4]). Z punktu widzenia drożności naczyń krwionośnych liposomy nie stanowią zagrożenia. Przyjmując, że światło naczyń włosowatych wynosi ok. 6 μm , to liposomy Caelix są od nich sto razy mniejsze. Warto także zauważyć, że liposomy stosowane w farmakologii są mniejsze niż większość stale krążących w naszym organizmie lipoprotein czy egzosomów [14,20, 21]. Dzięki odpowiednio małemu rozmiarowi możliwe jest dostarczenie substancji aktywnej wszędzie tam, gdzie pojawia się nieciągłość w strukturach naczyń krwionośnych czy limfatycznych. Rozszczelnienia komórek śródbłonna występują w miejscach, gdzie obecny jest stan zapalny lub tam, gdzie ma miejsce gwałtowna angiogeneza, która prowadzi do powstania źle uformowanych ścian naczynia [22]. Efekt ten



Rysunek 2. Topologia liposomu

Prawy panel pokazuje schemat liposomu, natomiast panel prawy przedstawia obraz liposomu zbudowanego z fosfatydylocholiny, wytworzonego z wykorzystaniem technologii *Liposhell*®. Zdjęcie liposomów wykonano techniką Cryo-TEM.

często zachodzi w tkankach nowotworowych [12].

Także ładunek elektrostatyczny na powierzchni liposomu nie pozostaje bez wpływu na zdolność dostarczania substancji aktywnej do wybranych komórek. Na przykład komórki nowotworowe wykazują się zmienionym potencjałem powierzchniowym w stosunku do ich zdrowych odpowiedników, a odpowiednie dobranie ładunku nanosfery może znacząco wpłynąć na wydajność wnikania substancji czynnej do tkanek czy komórek [23,24].

Oprócz zwiększonego powinowactwa do określonego typu tkanek w wyniku czynników o ograniczonej specyficzności (celowanie pasywne), stosowane są także narzędzia charakteryzujące się wysoką specyficznością, oparte na ligandach lub przeciwciałach, do określonych receptorów czy epitopów w tkance lub na powierzchni komórek docelowych (celowanie aktywne) [8,25]. W tym przypadku egzogenne korony białkowe związane są kowalencyjnie z powierzchnią liposomu. Przykładem takiego podejścia jest wykorzystanie transferryny, białka kompleksującego i transportującego żelazo, które łączy się z odpowiednim receptorem. Komórki ulegające niekontrolowanym podziałom wymagają dużych ilości jonów żelaza, a co za tym idzie, posiadają znacznie większą ilość receptorów transferryny, co może być wykorzystane jako cel molekularny do kierowania nośników leków [26].

■ Oddziaływanie nanoagregatów lipidowych z układem immunologicznym

Wprowadzenie nanoagregatów do organizmu stymuluje układ odpornościowy, który wyposażony jest w mechanizm niespecyficznej odpowiedzi immunologicznej, znanej jako układ dopełniacza. Białka dopełniacza rozpoznają i atakują liposomy, które znalazły się w krwiobiegu, powodując ich zniszczenie i/lub usunięcie przez kompetentne komórki [26,27]. Efekt ten powoduje, że liposomy mogą być także

z powodzeniem wykorzystane w celu dostarczania substancji czynnych do komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego [28]. Działanie dopełniacza powodujące usunięcia nanoagregatów z organizmu można ograniczyć poprzez pokrycie powierzchni liposomu silnie hydrofiliowym i nieposiadającym stabilnej struktury przestrzennej polimerem. W liposomowej postaci doksorubicyny wykorzystano w tym celu kowalencyjnie związany z cząsteczką lipidu glikol polietylenowy o masie 2000 D [29].

Liposomy, których powierzchnia jest niedostępna dla białek osocza, nazywane są liposomami typu *stealth* [29]. Charakteryzują się one wydłużonym czasem życia w krwiobiegu i zostały wykorzystane przy projektowaniu liposomowej postaci doksorubicyny [4].

■ Uwalnianie substancji farmakologicznie czynnej z liposomów

Akumulacja nanonośnika z substancją czynną farmakologicznie w tkankach czy komórkach docelowych jest warunkiem koniecznym, ale niewystarczającym dla jego skuteczności. Aby osiągnąć efekt terapeutyczny, substancja czynna powinna opuścić nośnik w miejscu przeznaczenia. Stabilność i szczelność liposomów, która jest zaletą podczas transportu substancji aktywnej do miejsca docelowego, jest problemem po dotarciu do niego. Substancja czynna może być uwolniona z liposomów w wyniku procesów fizykochemicznych (powolny wyciek substancji farmakologicznie czynnej lub reakcja na lokalną zmianę pH).

Wykorzystanie powolnego uwolnienia substancji czynnej jest rozwiązaniem najprostszym, jednakże proces ten nie jest optymalny, ponieważ ciągły wyciek występujący także poza miejscem docelowym może być przyczyną niespecyficznych toksyczności układowych. Dodatkowo, powolny wyciek powoduje, że ilość substancji czynnej możliwej do wykorzystania w miejscu przeznaczenia jest ograniczona. Liposomy mogą być także

rozszerzone w wyniku działania procesów fizjologicznych (obecność detergentów czy enzymów). Uwarunkowania fizjologiczne dają większe możliwości uzyskania specyficzności tkankowej czy komórkowej. Wspomniana wcześniej selektywność rozmiaru i ładunku powierzchniowego wobec tkanek patologicznie zmienionych oraz podatność na działanie lokalnych warunków w tkance (podwyższona aktywność enzymatyczna) pozwalają na uzyskanie ograniczonej selektywności [30].

Ograniczone uwalnianie substancji czynnej farmakologicznie w wybranym miejscu organizmu można rozwiązać poprzez zastosowanie mechanizmów pozwalających na lokalną destabilizację liposomów, powodując w ten sposób uwolnienie substancji czynnej. Do tego celu można wykorzystać liposomy podatne na lokalne warunki panujące w tkance docelowej, np. obniżone pH w guzie nowotworowym czy podwyższony poziom lipaz w stanie zapalnym [17,31]. Substancje czynne można także lokalnie uwolnić z liposomów, gdy są one podatne na działanie czynników zewnętrznych, np. fali ultradźwiękowej, światła czy pola magnetycznego [32,33]. Podejście takie wymaga, aby w strukturze agregatu znajdował się element wrażliwy na zadany czynnik zewnętrzny. W przypadku ultradźwięków jest to mechanika samego agregatu, w przypadku fototerapii jest to obecność w nanoagregacie substancji wrażliwej na światło, natomiast w wyniku działania pola magnetycznego na ferromagnetyki uzyskuje się lokalne podwyższenie temperatury w tkance, co może spowodować rozszczenie liposomu [1,34].

Możliwość sprzęgnięcia nano-agregatu lipidowego z urządzeniem zewnętrznym otwiera interesujące możliwości diagnostyczne, zdolne zlokalizować w organizmie nawet pojedyncze komórki czy bardzo wczesne zmiany w organizacji macierzy zewnątrzkomórkowej [22]. Możliwości takie są niezmiernie cenne w diagnostyce

nowotworów lub w wykrywaniu wczesnych zmian w przypadku chorób przewlekłych, gdzie nie ma jeszcze objawów czy widocznych zmian patologicznych. Niektóre z efektów, które można uzyskać poprzez odpowiedni dobór składników nanoagregatów wraz z przykładami ich zastosowań przedstawiono w tabeli 1.

■ **Lipidy zmieniają ugruntowane paradygmaty farmakologii**

Pomimo że nanoagregaty lipidowe stosowane były sporadycznie w farmakologii od około 30 lat, dopiero teraz ich możliwości zaczynają być doceniane [33]. Przejawem tej zmiany jest coraz większa liczba zaakceptowanych przez FDA nanoformulacji leków, takich jak wincristyna, daunorubicyna, mifamurtyd czy irynotekan [1,2,33]. Powszechne stosowanie agregatów, w których skład wchodzi lipidy, powoduje powolne zmiany paradygmatu, według którego lek to substancja chemiczna czynna farmakologicznie. Paradygmat ten ukształtował cały proces badawczy nad lekami wraz z niezbędnymi regulacjami prawnymi dotyczącymi opracowywania, testowania i wytwarzania klasycznych postaci leków [39]. Zmianom charakteru preparatów farmakologicznych towarzyszą zasadnicze zmiany w metodologii opracowania, analizowania i testowania farmakokinetyki, biodystrybucji czy efektywności preparatów nowych generacji [11,28,40,41].

Nanoagregaty lipidowe stały się także platformą, na której oparte są preparaty skierowane na modyfikację układu immunologicznego, jak to pokazano w trakcie prac nad szczepionką przeciw COVID-19. Wszystko to oznacza, że preparaty oparte na nanoagregatach lipidowych na stałe wpisują się jako element nowych i futurystycznych farmakoterapii [2,3,4,6]. Preparatom farmakologicznym nowej generacji (kierowane nośniki leków, teranostyka, leki biologiczne czy terapie genowe [42–45]) towarzyszy także szybka i systemowa zmiana regulacji prawnych.

Tabela 1. Funkcjonalne efekty modyfikacji składu lipidowego liposomów [1,10,28,35–38]

Rola	Przykładowy składnik	Zastosowanie
Elastyczna dwuwarstwa lipidowa	fosfatydylocholina z nienasyconymi łańcuchami alkilowymi	zwiększenie pasywnego wycieku substancji aktywnej, zwiększenie zdolności do integracji z komórkami skóry
Sztywna dwuwarstwa lipidowa	cholesterol, uwodorniona fosfatydylocholina	zapobieganie wyciekom substancji aktywnej, zwiększenie stabilności in vivo
Ujemny ładunek powierzchniowy liposomu	fosfatydyloseryna, kwas fosfatydowy	reakcja układu immunologicznego, przyspieszenie endocytozy
Dodatni ładunek powierzchniowy liposomu	dioleoilo-3-trimetyloamoniowy propan (DOTAP)	kondensacja ujemnie naładowanych molekuł takich jak DNA, zwiększenie wydajności endocytozy
Dwuwarstwa wrażliwa na zmianę pH	fosfatydyloetanolamina, hemibursztynian cholesterolu	uwalnianie substancji aktywnej przy obniżonym pH (endosom, guz nowotworowy)
Dwuwarstwa wrażliwa na zmianę temperatury	lipidy z nasyconymi łańcuchami alkilowymi	uwalnianie substancji aktywnej w wyniku lokalnie podwyższonej temperatury
Obniżenie przepuszczalności dwuwarstwy lipidowej	uwodorniona fosfatydylocholina sojowa, cholesterol	zapobieganie wyciekom substancji aktywnej, zwiększenie stabilności in vivo
Ligand na powierzchni liposomów	transferyna, glikoproteina wirusa wścieklizny, lipopolisacharyd	kierowanie liposomów do komórek układu odpornościowego
Przeciwciało na powierzchni liposomów	Anty-CD20, Anty-VCAM	kierowanie liposomów na konkretne cele molekularne, charakterystyczne dla wybranych komórek (epitopy)
Polimer na powierzchni liposomów	poli(tlenek etylenu), kwas hialuronowy	opóźnienie odpowiedzi układu immunologicznego

■ Podsumowanie

Perspektywy na przyszłość

Zastosowanie w farmakologii agregatów lipidowych jest przejawem nowego postrzegania interwencji farmakologicznej. Agregaty lipidowe stają się powoli platformą, na której opartych jest większość przyszłościowych terapii. Współczesne preparaty farmakologiczne to

złożone narzędzia przeznaczone do wykonania różnorodnych zadań, poczynając od zapobiegania chorobom, poprzez diagnozowanie, leczenie, a kończąc na modyfikacjach genetycznych [42–45]. Połączenie technologii pozwalających wytworzyć wyroby medyczne czy preparaty farmakologiczne w nanoskali z narzędziami umożliwiającymi obrazowanie o wysokiej roz-

dzielczości oraz wiedzę w zakresie genetyki i maszyn molekularnych pozwala przypuszczać, że możliwe stanie się w niedalekiej przyszłości zaprojektowanie i wytworzenie autonomicznych nanonarzędzi farmakologicznych, zdolnych zidentyfikować i wyeliminować patologię na poziomie komórkowym *in vivo* [20,46].

Nadesłano: 02-03-2023

Adres do korespondencji: redakcja@lekwpolsce.pl

Piśmiennictwo:

1. Bitounis, D., et al., Optimizing druggability through liposomal formulations: new approaches to an old concept. *ISRN Pharmaceutics*, 2012. 2012.
2. Langner, M. and M. Ugorski, The macromolecular aggregate as a drug carrier. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2000. 5(4): p. 433-440.
3. Langner, M. and T.E. Kral, Liposome-based drug delivery systems. *Polish Journal of Pharmacology*, 1999. 51(3): p. 211-222.
4. Barenholz, Y., Doxil - the first FDA-approved nano-drug: lessons learned. *J. Contrlled Release*, 2012. 160: p. 117-134.
5. Sritharan, S. and N. Sivalingam, A comprehensive review on time-tested anticancer drug doxorubicin. *Life Sci*, 2021. 278: p. 119527.
6. Gabizon, A.A., H. Shmeeda, and S. Zalipsky, Pros and cons of the liposome platform in cancer drug targeting. *J Liposome Res*, 2006. 16(3): p. 175-83.
7. Fraczowska, K., , Alterations of biomechanics in cancer and normal cells induced by doxorubicin. *Biomed Pharmacother*, 2018. 97: p. 1195-1203.
8. Madni, A., et al., Liposomal Drug Delivery: A Versatile Platform for Challenging Clinical Applications. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2014. 17(3): p. 401-426.
9. Zocchi, E., et al., Encapsulation of doxorubicin in liver-targeted erythrocytes increases the therapeutic index of the drug in a murine metastatic model. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989. 86(6): p. 2040-4.
10. Merino, M., S. Zalba, and M.J. Garrido, Immunoliposomes in clinical oncology: State of the art and future perspectives. *Journal of Controlled Release*, 2018. 275: p. 162-176.
11. Yamashita, F. and M. Hashida, Pharmacokinetic considerations for targeted drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013. 65: p. 139-147.
12. Fang, J., H. Nakamura, and H. Maeda, The EPR effect: unique features of tumor blood vessels for drug delivery, factors involved, and limitations and augmentation of the effect. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011. 63: p. 136-151.
13. Kohli, A.G., et al., Designer lipids for drug delivery: From heads to tails. *Journal of Controlled Release*, 2014. 190: p. 274-287.
14. van der Koog, L., T.B. Gandek, and A. Nagelkerke, Liposomes and Extracellular Vesicles as Drug Delivery Systems: A Comparison of Composition, Pharmacokinetics, and Functionalization. *Adv Healthc Mater*, 2022. 11(5): p. e2100639.
15. Chen, M.L., Lipid excipients and delivery systems for pharmaceutical development: a regulatory perspective. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008. 60: p. 768-777.
16. Doskocz, J., et al., The effect of lipid phase on liposome stability upon exposure to the mechanical stress. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2020. 1862(9): p. 183361.
17. Aroui, A., et al., Lipases, liposomes and lipid-prodrugs. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2013. 18(5): p. 419-431.
18. Hofmann, A.F., Bile Acids: Trying to Understand Their Chemistry and Biology with the Hope of Helping Patients. *Hepatology*, 2009. 49(5): p. 1403-1418.
19. Kiaie, S.H., et al., Recent advances in mRNA-LNP therapeutics: immunological and pharmacological aspects. *J Nanobiotechnology*, 2022. 20(1): p. 276.
20. Tenchov, R., et al., Exosomes horizontal line Nature's Lipid Nanoparticles, a Rising Star in Drug Delivery and Diagnostics. *ACS Nano*, 2022. 16(11): p. 17802-17846.
21. Kovrov, O., et al., Lipoprotein size is a main determinant for the rate of hydrolysis by exogenous LPL in human plasma. *J Lipid Res*, 2022. 63(1): p. 100144.
22. Bar, A., et al., In Vivo Magnetic Resonance Imaging-Based Detection of Heterogeneous Endothelial Response in Thoracic and Abdominal Aorta to Short-Term High-Fat Diet Ascribed to Differences in Perivascular Adipose Tissue in Mice. *J Am Heart Assoc*, 2020. 9(21): p. e016929.
23. Eloy, J.O., et al., Liposomes as carriers of hydrophilic small molecule drugs: Strategies to enhance encapsulation and delivery. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, 2014. 123: p. 345-363.
24. Chen, B., et al., Targeting Negative Surface Charges of Cancer Cells by Multifunctional Nanoprobes. *Theranostics*, 2016. 6(11): p. 1887-98.
25. Belfiore, L., et al., Towards clinical translation of ligand-functionalized liposomes in targeted cancer therapy: Challenges and opportunities. *Journal of Controlled Release*, 2018. 277: p. 1-13.
26. Shi, N.O., et al., Deepened cellular/subcellular interface penetration and enhanced antitumor efficacy of cyclic peptidic ligand-decorated accelerating active targeted nanomedicines. *International Journal of Nanomedicine*, 2018. 13: p. 5537-5559.
27. La-Beck, N.M., X.L. Liu, and L.M. Wood, Harnessing Liposome Interactions With the Immune System for the Next Breakthrough in Cancer Drug Delivery. *Frontiers in Pharmacology*, 2019. 10.
28. Ernsting, M.J., et al., Factors controlling the pharmacokinetics, biodistribution and intratumoral penetration of nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 2013. 172(3): p. 782-794.
29. Cao, Y., X. Dong, and X. Chen, Polymer-Modified Liposomes for Drug Delivery: From Fundamentals to Applications. *Pharmaceutics*, 2022. 14(4).
30. Nehoff, H., et al., Nanomedicine for drug targeting: strategies beyond the enhanced permeability and retention effect. *International Journal of Nanomedicine*, 2014. 9: p. 2539-2555.
31. Felber, A.E., M.H. Dufresne, and J.C. Leroux, pH-sensitive vesicles, polymeric micelles, and nanospheres prepared with polycarboxylates. *Adv Drug Deliv Rev*, 2012. 64: p. 979-992.
32. Franco, M.S., et al., Triggered Drug Release From Liposomes: Exploiting the Outer and Inner Tumor Environment. *Front Oncol*, 2021. 11: p. 623760.
33. Park, H., A. Otte, and K. Park, Evolution of drug delivery systems: From 1950 to 2020 and beyond. *J Control Release*, 2022. 342: p. 53-65.
34. Kalas, W., et al., Photoactin Liposomal Formulation of PVP-Conjugated Chlorin e6 for Photodynamic Reduction of Atherosclerotic Plaque. *Int J Mol Sci*, 2019. 20(16).
35. Anselmo, A.C., et al., Elasticity of Nanoparticles Influences Their Blood Circulation, Phagocytosis, Endocytosis, and Targeting. *Acs Nano*, 2015. 9(3): p. 3169-3177.
36. Bahadori, A., et al., Remotely controlled fusion of selected vesicles and living cells: a key issue review. *Rep Prog Phys*, 2018. 81(3): p. 032602.
37. Huynh, E. and G. Zheng, Engineering multifunctional nanoparticles: all-in-one versus one-for-all. *Wiley Interdisciplinary Reviews-Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 2013. 5(3): p. 250-265.
38. Loney, C., M. Vandenbranden, and J.M. Ruysschaert, Cationic liposomal lipids: From gene carriers to cell signaling. *Progress in Lipid Research*, 2008. 47(5): p. 340-347.
39. Quintero, F.A., et al., Review of Existing QSAR/QSPR Models Developed for Properties Used in Hazardous Chemicals Classification System. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2012. 51(49): p. 16101-16115.
40. Ying, C.T., et al., Mathematical modeling of vesicle drug delivery systems 2: targeted vesicle interactions with cells, tumors, and the body. *J. Lab. Automation*, 2013. 18: p. 46-62.
41. Hrynyk, R., et al., Pharmacokinetic modeling of the *in vivo* fate of long-circulating liposomes in rats. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2002. 7(2): p. 285-285.
42. Anselmo, A.C. and S. Mitragotri, Nanoparticles in the clinic. *Bioengineering & Translational Medicine*, 2016. 1(1): p. 10-29.
43. Man, F., T. Lammers, and R.T.M. de Rosales, Imaging Nanomedicine-Based Drug Delivery: a Review of Clinical Studies. *Molecular Imaging and Biology*, 2018. 20(5): p. 683-695.
44. Xia, Y., et al., Liposome-based probes for molecular imaging: from basic research to the bedside. *Nanoscale*, 2019. 11(13): p. 5822-5838.
45. Mukai, H., et al., Recent advances in lipid nanoparticles for delivery of nucleic acid, mRNA, and gene editing-based therapeutics. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2022. 44: p. 100450.
46. Kievit, F.M. and M.Q. Zhang, Cancer Nanotheranostics: Improving Imaging and Therapy by Targeted Delivery Across Biological Barriers. *Advanced Materials*, 2011. 23(36): p. H217-H247.