

Liposomy – postać modyfikująca transport substancji aktywnych przez skórę

Część 1. Zastosowanie w transporcie leków o działaniu miejscowym

Liposomes – structure modifying transport of active substances through the skin
Part 1. Application in the transport of drugs with local activity

Andrzej Jankowski, Beata Sarecka-Hujar, Joanna Wysocka

STRESZCZENIE

Zakład Technologii Postaci Leku
Katedry Farmacji Stosowanej
Wydziału Farmaceutycznego
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego
w Katowicach

Spostrzeżenie, że w wyniku ręcznego wytrząsania fosfolipidów w dyspersji fazy wodnej tworzą się struktury, których budowa jest bardzo zbliżona do naturalnie występującej w organizmach żywych błony komórkowej, dało początek intensywnym badaniom nad liposomami jako postacią leku i kosmetyku. W szczególności stosowanie liposomów w transdermalnej drodze podania leku dawało nadzieję na zwiększenie skuteczności w porównaniu z tradycyjnymi postaciami leku podawanymi na skórę. Zdolność liposomów do transportu zróżnicowanych chemicznie substancji czyni z nich niemal idealne przenośniki substancji leczniczych. Zalety stosowania liposomów dotyczą zarówno poprawy skuteczności terapii, związanej ze wzrostem biodostępności w porównaniu z klasycznymi postaciami leków dermatologicznych, jak i działania ochronnego tej postaci w stosunku do samej substancji aktywnej.

ADRES

DO KORESPONDENCJI:

Dr n. med. Beata Sarecka-Hujar
Zakład Technologii Postaci Leku
Katedry Farmacji Stosowanej
Wydziału Farmaceutycznego
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego
w Katowicach
ul. Kasztanowa 3
41-200 Sosnowiec
tel.: +48 32 269 98 20
e-mail: beatasarecka@poczta.onet.pl

Celem pracy była ocena efektywności transportu przez skórę form liposomalnych leków o działaniu miejscowym w porównaniu z lekami konwencjonalnymi. Przedyskutowano doniesienia z piśmiennictwa ostatnich lat, dotyczące badań porównawczych wybranych leków należących do różnych grup farmakologicznych podawanych w formie liposomów w stosunku do form konwencjonalnych tych leków. Badania dotyczyły: lokalnych anestetyków, leków przeciwwirusowych i przeciwbakteryjnych, retinoidów, kortykosteroidów, leków przeciwhistaminowych, immunosupresyjnych, przeciwwirusowych, kwasów tłuszczowych, prostaglandyn, a także polisacharydów. Przeprowadzone badania wykazały, że postać liposomalna zwiększa przezskórną wchłaniania testowanych leków o charakterze zarówno hydrofilowym, jak i hydrofobowym. Wynika to z budowy liposomu, wiążącego substancję leczniczą niezależnie od jej właściwości. Liposomy zatem otworzyły nowe możliwości zwiększenia skuteczności terapii transdermalnej.

Ann. Acad. Med. Siles. 2011, 65, 4, 38–44
Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny
w Katowicach
ISSN 0208-5607

SŁOWA KLUCZOWE

liposomy, transport przez skórę, leki o działaniu miejscowym

ABSTRACT

The observation that, as a result of manual shaking of phospholipids dispersed in aqueous phase, form the structure, whose construction is very similar to naturally occurring in living organisms and the cell membrane, gave rise to intensive research into the liposomes as a form of medicine and cosmetic. In particular, the use of liposomes by the transdermal administration gave hope for larger effectiveness compared to traditional forms of medicine administered to the skin. The ability of liposomes to transport chemically diverse substances makes them almost ideal carriers of medicinal substances. Advantages of using liposomes apply to both improve the effectiveness of therapy, associated with increased bioavailability compared to the classic form of dermatological drugs, as well as the protective effect of this form in relation to the same active substance. The aim of the present study was to assess the efficiency of transport of the liposomal forms through the skin, drugs with local activity compared to conventional medicines. We discussed data of recent years, comparative studies of selected drugs belonging to different pharmacological groups given in the liposomal formulations compared to conventional forms of these medicines. The study focused on: local anesthetics, antifungals and antimicrobials, retinoids, corticosteroids, antihistamines, immunosuppressants, antivirals, fatty acids, prostaglandins and polysaccharides.

Our review showed that the liposomal form of increased percutaneous absorption of drugs tested, of both hydrophilic and hydrophobic. This follows from the construction of the liposome binding drug substance regardless of its properties. Liposomes thus opened up new opportunities for increasing the effectiveness of transdermal therapy.

KEY WORDS

liposomes, transport through the skin, drugs with local activity

WSTĘP

Termin „liposom” wprowadzili na początku lat sześćdziesiątych ubiegłego wieku Bangham i wsp. [1], którzy zauważyli, że w wyniku ręcznego wytrząsania fosfolipidów w dyspersji fazy wodnej tworzą się struktury o budowie bardzo zbliżonej do naturalnie występującej w organizmach błony komórkowej. Strukturom tym początkowo nadano nazwę „bangosomy”, w późniejszym okresie zaproponowano również termin „amfisomy”, ze względu na ich charakterystyczne właściwości amfifilowe. Ostatecznie jednak kuliste pęcherzyki fosfolipidowe nazwano liposomami. Odkrycie to stało się początkiem intensywnych badań wykorzystujących liposomy jako modele błon biologicznych.

Liposomy to sferyczne lub owalne struktury wodno-lipidowe, które z uwagi na budowę

nazwano również „uproszczoną formą żywych komórek” (*simplified forms of living cells*). Rdzeń stanowi mikrokropelka fazy wodnej otoczonej alternatywnie pojedynczą otoczką, złożoną z podwójnej warstwy lipidowej (liposomy jednokompartментowe) lub też kilkoma otoczkami, złożonymi z błon lipidowych układających się koncentrycznie na przemian z warstwami wody [2]. Podobieństwo budowy błony liposomów i błon biologicznych sprawia, że stanowią one doskonały model do badania właściwości błon komórkowych.

Głównymi składnikami błony liposomalnej są lipidy lub/i fosfolipidy. Otoczką liposomalna zwykle ma charakter obojętny, jednak możliwa jest modyfikacja poprzez wprowadzenie komponentu zawierającego określony ładunek. Może to mieć znaczenie w terapii „celowanej”, w której liposomy spełniają rolę nośników leków do określonych narządów lub tkanek (*targeting*). Z jednej strony umoż-

liwia to związanie zróżnicowanych chemicznie substancji leczniczych w obrębie liposomu, z drugiej natomiast może to mieć znaczenie w dotarciu liposomów do określonej struktury organizmu. W skład liposomów dodatnich lub ujemnych wchodzi zwykle 3 składniki, np. fosfolipid, cholesterol i komponent zawierający określony ładunek (np. kwas fosfatydowy). Liposomy obojętne zawierają jedynie fosfolipidy (np. fosfatydylocholinę lub kardiolipidy) lub też fosfolipid z dodatkiem cholesterolu. Dzięki takiej budowie liposomów, umieszczona w nich substancja aktywna, w zależności od stopnia hydrofilowości, może być rozpuszczona w fazie wodnej lub związana mieszaniną fosfolipidów stanowiących otoczkę liposomu. Właściwość ta zapewnia kontrolowane, ale także przedłużone uwalnianie substancji aktywnej.

Rola skóry w transporcie substancji leczniczych przez wiele lat była bagatelizowana, mimo że stanowi ona jeden z największych i najłatwiej dostępnych narządów naszego ciała. Przełomem stało się zaproponowanie przez Menzei i Gula-sekharam [3] aplikacji leku w formie liposomalnej na skórę, czym udowodniono przewagę tego typu podania nad tradycyjnymi postaciami leku. W 1990 r. Artmann i wsp. [4] zaobserwowali, że liposomy promują przenikanie wielkocząsteczkowych substancji przez warstwę rogową naskórka. Badania te stały się ważnym krokiem do stworzenia nowych możliwości podania substancji aktywnych transdermalnie.

Celem tej części pracy była ocena efektywności transportu przez skórę form liposomalnych leków o działaniu miejscowym w porównaniu z lekami konwencjonalnymi.

ZALETY PODANIA LIPOSOMALNYCH FORM LEKU NA SKÓRĘ

Zalety stosowania liposomów dotyczą z jednej strony poprawy skuteczności terapii związanej ze wzrostem biodostępności w porównaniu z klasycznymi postaciami leków dermatologicznych, a z drugiej strony działania ochronnego tej postaci w stosunku do samej substancji aktywnej.

Liposomy:

- ułatwiają penetrację substancji aktywnych w kolejnych warstwach naskórka, przez co umożliwiają uzyskanie odpowiedniego stężenia terapeutycznego leku w skórze,
- dają możliwość umieszczenia w nich związków o charakterze zarówno hydrofilowym, lipofilowym, jak i amfifilowym,

- izolują substancję leczniczą w swoim wnętrzu, co zapewnia zwiększenie trwałości preparatu i ochronę związków wrażliwych przed czynnikami zewnętrznymi,
- umożliwiają zastosowanie terapii celowanej,
- minimalizują wystąpienie reakcji ubocznych przy zastosowaniu biodegradowalnych i nietoksycznych komponentów do wytworzenia liposomów.

Van Kuijk-Meuwissa i wsp. [5] porównali stopień przenikania roztworów micelarnych i postaci liposomalnej przez warstwy skórne u szczurów w określonym czasie. W czasie pierwszych 3 godzin nie stwierdzili istotnych różnic w głębokości penetracji, jednak po 6 godzinach wyniki jednoznacznie wskazały, że liposomy głębiej wnikają w poszczególne warstwy skórne [5].

Podanie formy liposomalnej na skórę wiąże się z wzajemnym oddziaływaniem liposom–komórki skóry. Interakcje te mogą przebiegać w 4 różnych warstwach: na powierzchni skóry, w warstwie rogowej, w głębszych warstwach naskórka oraz w skórze właściwej. W wyniku zetknięcia się z powierzchnią skóry, a tym samym z zewnętrzną warstwą *stratum corneum*, część liposomów ulega rozkładowi, a pozostałe przylaczają się do zrogowaciałych komórek i w zależności od składu fazy wodnej i lipidowej mogą pełnić rolę uzupełnienia niedoborów niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT) lub czynnika nawilżającego skórę (NMF). W efekcie liposomy przyczyniają się do nawilżenia i wygładzenia skóry.

Liposomy, które nie zostały zatrzymane na powierzchni skóry, przedostają się do warstwy rogowej, następnie wnikają do przestrzeni międzykomórkowej i tam uwalniają swoją zawartość. Ich rozpad przyczynia się do poprawy wilgotności skóry, a także sprzyja jej regeneracji w przypadku uszkodzenia np. przez promienie UV lub wolne rodniki innego pochodzenia. W głębszych warstwach naskórka interakcje między komórkami a liposomami opierają się na różnych mechanizmach, do których należą endocytoza, adsorpcja, wymiana lipidów, fuzja (wbudowanie otoczki liposomu do błony cytoplazmatycznej komórki) oraz mechanizm *contact-release*. Mechanizm *contact-release* nie jest do końca poznany, następuje jednak w momencie zetknięcia się liposomu z błoną komórki. Polega on na uwolnieniu z liposomu substancji umieszczonej w fazie lipidowej lub

wodnej, w wyniku wzrostu rozpuszczalności otoczki liposomu.

FORMY LIPOSOMALNE SUBSTANCJI AKTYWNYCH O DZIAŁANIU MIEJSCOWYM

Wśród leków o działaniu miejscowym, które aplikowane są na skórę w postaci liposomalnej wyróżnić można przedstawicieli kilku grup farmakologicznych: lokalne anestetyki, leki przeciwgrzybiczne i przeciwbakteryjne, retinoidy, kortykosteroidy, leki przeciwhistaminowe, immunosupresyjne, przeciwwirusowe, kwasy tłuszczowe, prostaglandyny oraz polisacharydy.

Stosowane obecnie miejscowe anestetyki charakteryzują się stosunkowo krótkim okresem działania. Opracowanie technologii długo działających leków miejscowo znieczulających stanowiłoby ważny krok w rozwoju anestezjologii, szczególnie w przypadku leczenia pacjentów cierpiących na ból przewlekły. Najczęściej stosowanymi lekami znieczulającymi aplikowanymi na skórę są lidokaina, benzokaina oraz bupiwakaina. Uniemożliwiają one przenoszenie impulsów nerwowych przez blokadę błony komórek nerwowych.

W 1990 r. Menzie i wsp. [6] przeprowadzili badania dotyczące liposomalnych anestetyków o działaniu miejscowym, udowadniając m.in. przewagę formy liposomalnej lidokainy nad postacią standardową stosowaną w formie maści [6]. Inne prace dotyczące liposomów zawierających lidokainę wskazują, że wbudowywanie fosfolipidowych pęcherzyków w zwarte struktury żelu Carbopol powoduje znacznie wolniejsze uwalnianie leku niż z hydrożeli (18% w ciągu 24 godzin vs 32–37%) [7]. Zaobserwowano, że po 3 godzinach liposomy zachowywały się jak rezerwuary dla ciągłego dostarczania zamkniętego leku [7].

Badania nad liposomalną formą innego anestetyku, benzokainą, prowadzili Mura i wsp. [8], stwierdzając, że metoda formowania liposomów może mieć istotny wpływ na poprawę klinicznego efektu znieczulenia. Autorzy przygotowali pęcherzyki MLV i SUV zawierające benzokainę z użyciem mieszaniny fosfatydylocholina–cholesterol w stosunku 50 : 50, jako fazy lipofilowej i mieszaniny etanol–woda w stosunku 50 : 50, jako fazy hydrofilowej. Stwierdzono, że dodanie leku do fazy hydrofilowej podczas przygotowywania liposomów, umożliwiło poprawę wydajności wiązania benzokainy w MLV z prawie 30% do 82%

w stosunku do fazy lipofilowej [8]. Wszystkie liposomalne struktury zawierające benzokainę charakteryzowały się spowolnionym uwalnianiem substancji aktywnej oraz intensywniejszym efektem anestetycznym w porównaniu ze standardowymi postaciami leku. Stwierdzono jednak, że warunki sonikacji stosowane podczas przygotowywania małych jednowarstwowych pęcherzyków SUV wpływały m.in. na rozmiar liposomów oraz redukcję wydajności wychwytywania leku o około 30% [8]. W późniejszych badaniach autorzy wykazali ponadto, że pęcherzyki SUV charakteryzuje największa skuteczność działania benzokainy. Może to być prawdopodobnie wynikiem znacznie bliższego kontaktu liposomów z epithelium, ze względu na ich większą całkowitą powierzchnię, co z kolei umożliwia wydłużenie czasu działania leku [9].

W przypadku innego anestetyku, bupiwakainy, wykazującej 4-krotnie silniejsze działanie i większą toksyczność niż lidokaina, Grant i wsp. porównując standardową i liposomalną postać leku zauważyli znaczne wydłużenie okresu znieczulenia bupiwakainą podaną w formie liposomalnej [10]. Średni czas znieczulenia standardową 0,5% bupiwakainą wynosił 1 godzinę, a średnie okresy znieczulenia po iniekcji 0,5 ml 0,5%, 1% i 2% bupiwakainą w formie liposomalnej wynosiły odpowiednio: 19, 38 i 48 godzin. W badaniach tych wykorzystano wielowarstwowe pęcherzyki (MLV) o średnim rozmiarze $2,439 \pm 544$ nm. Zaobserwowano również, że uwalnianie bupiwakainy z liposomów w warunkach *in vitro* zachodzi najwolniej w temperaturze 40°C [10].

Konwencjonalnymi lekami stosowanymi na skórę w terapii zakażeń grzybiczych są mikonazol i ekonazol. Agarwal i wsp. [11] zaobserwowali, że umieszczenie azotanu mikonazolu w liposomach ułatwia dostarczenie leku do miejsca przeznaczenia i zwiększa jego dostępność. W przypadku podania formy liposomalnej odnotowano wydłużony czas działania leku w skórze [11]. Z kolei Menzie i wsp. [6] porównali biodystrybucję 7 wybranych leków zawierających ekonazol lub azotan ekonazolu, enkapsulowanych w liposomach, w stosunku do wolnych postaci tych leków, umieszczonych w kremie, zawiesinie i liotonie. Jako model zwierzęcy zastosowano świnkę morską. Eksperyment wykazał wyższe stężenie leku we wszystkich warstwach skóry (zwiększoną penetrację skórną), a także mniejszą kumulację w organach wewnętrznych substancji aktyw-

nej w przypadku zastosowania form liposomalnych w porównaniu ze standardowymi postaciami ekonazolu [6].

Przykładem substancji leczniczej z grupy środków przeciwbakteryjnych jest stosowany w leczeniu trądziku kwas laurynowy. Badania nad jego aktywnością przeciwbakteryjną prowadzili m.in. Yang i wsp. [12], stwierdzając, że umieszczenie leku w liposomach ułatwia penetrację substancji aktywnej do komórek zakażonych, a także wzmacnia aktywność przeciwbakteryjną nawet przy niskim stężeniu kwasu: przy stężeniu 51 µl/ml kwasu umieszczonego w liposomach następowało całkowite zabicie *Propionibacterium acnes*, podczas gdy zastosowanie kwasu, o tym samym stężeniu w formie roztworu w buforze fosforanowym (PBS) z dodatkiem 5% DMSO, powodowało niewielki efekt bakteriobójczy. Dalsze badania wskazały, że liposomy zawierające kwas laurynowy mogą fuzować z błonami *P. acnes* i w ten sposób uwalniać lek bezpośrednio do błon bakteryjnych. Autorzy sugerują, że liposomalna postać kwasu laurynowego jest optymalną postacią zwiększającą biodostępność leku i eliminację *P. acnes* [12].

Przedstawicielem retinoidów podawanych na skórę jest tretinoina, metabolit witaminy A również stosowany w leczeniu trądziku. Foong i wsp. [13] w badaniach *in vitro* ocenili biodystrybucję tretinoiny enkapsulowanej w liposomach, w porównaniu z wolną postacią leku umieszczoną w kremie i żelu. Zauważono, że preparaty w postaci liposomalnej charakteryzowały się zwiększoną dostępnością biologiczną, a stężenie leku w naskórku oraz w skórze właściwej było znacznie wyższe niż po podaniu leku zawartego w maści i żelu [13]. Z kolei Masini i wsp. [14] badali wchłanianie radioaktywnie znakowanej tretinoiny, zamkniętej w liposomach zaaplikowanych na sierść myszy, w porównaniu z wolnym lekiem zaaplikowanym w formie żelu. Stwierdzono, że stężenie leku w naskórku oraz skórze właściwej jest w przypadku liposomalnej zawiesiny znacznie wyższe niż w przypadku żelowej postaci tretinoiny [14].

W leczeniu miejscowym wykorzystywane są również steroidowe leki przeciwzapalne. Szacuje się, że 50% preparatów dermatologicznych zawiera w swoim składzie właśnie kortykosteroidy. Przedstawicielem tej grupy leków jest triamcynolon. Wykazuje on 5-krotnie większą aktywność przeciwzapalną niż hydrokortyzon i charakteryzuje się umiarkowanie długim

działaniem. W badaniach Jaafari i wsp. [15] oceniano przeciwzapalny efekt wywołany przez 0,1% triamcynolon zawarty w liposomach w porównaniu z maścią z triamcynolonem. Działanie przeciwzapalne leku było efektywniejsze w przypadku zastosowania formy liposomalnej, przy czym największy procent zmniejszenia obrzęku ucha u myszy wystąpił, gdy stosowane liposomy zawierały oprócz triamcynolonu również promotory wchłaniania. Wyniki tych badań sugerują, że efekt terapeutyczny, jaki powoduje maść z triamcynolonem, można uzyskać stosując kortykosteroid o dużo niższym stężeniu, zamknięty w liposomach [15].

Wśród leków przeciwhistaminowych aplikowanych na skórę w postaci liposomalnej często stosowana jest hydroksyzyna, antagonist receptorów H1. Elzainy i wsp. [16] przeprowadzili badania mające na celu ocenę aktywności H1-przeciwhistaminowej i zasięgu absorpcji hydroksyzyny z liposomów SUV i MLV aplikowanych na skórę pleców sześciu królików. Autorzy wykazali, że hydroksyzyna uwalniana z tych liposomów, charakteryzuje się doskonałą miejscową aktywnością przeciwhistaminową [16].

W terapii miejscowej wykorzystywana jest także prostaglandyna E1 (PGE1). Dane literaturowe wskazują, że PGE1 w formie liposomalnej może być skutecznym lekiem w terapii zaburzeń erekcji [17]. Foldvari i wsp. analizowali korelację między penetracją przez skórę PGE1 w formie liposomalnego preparatu podawanego na skórę napletka a wystąpieniem pożądanego efektu leczniczego. Badania przeprowadzono *in vivo* na grupie 5 pacjentów w wieku 54–70 lat, którym w odstępie 1 tygodnia aplikowano 3 różne formy leku, zawierające 0,05% PGE1 oraz placebo. Po nałożeniu leku dokonywano – co 15 minut przez 1 godzinę – pomiaru prędkości przepływu krwi przez tętnice ciał jamistych. Zaobserwowano, że wzrosła ona znacząco (maksymalnie 7-krotnie) w porównaniu ze stanem pierwotnym [17].

Interesujące wyniki uzyskano po aplikacji na skórę kwasu linolowego (LA, *linoleic acid*) oraz interferonu w postaci liposomalnej. Efekty aktywności wybielającej kwasu linolowego oceniali Shigeta i wsp. [18]. Na grzbiety świńek morskich wcześniej poddanych działaniu promieniowania UV zaaplikowano: LA w połączeniu z etanolem, LA w hydrożelu oraz liposomalną formę LA w hydrożelu. Efekt wybielania skóry był znacznie większy w przypadku hydrożelu zawierającego liposomy z LA

w porównaniu z wolną formą LA w etanolu lub standardowym hydrożelu. Następnie oceniano efekt wybielania przez LA ludzkiej skóry w okolicy ramion, wcześniej również wystawionej na promieniowanie UVB. Stosowano 0,1% LA w formie liposomalnej oraz LA w formie nieliposomalnej o stężeniu 3% i 10%. Zaobserwowano, że efekt wybielania po aplikacji 0,1% liposomalnego LA był porównywalny z efektem uzyskanym przez zastosowanie 10% LA w formie nieliposomalnej i znacznie większy w stosunku do 3% nieliposomalnego LA [18]. Z kolei Weiner i wsp. zademonstrowali, że miejscowa aplikacja interferonu zamkniętego w liposomach powoduje zmniejszenie zmian w obrębie skóry spowodowanych wirusem opryszczki, podczas gdy ten sam lek zaaplikowany w postaci roztworu lub emulsji nie wywołuje efektu terapeutycznego [19]. W innych doświadczeniach badano m.in. stopień odbudowy skóry zaatakowanej wirusem w przypadku leczenia liposomalnym interferonem, a także „wolnym” interferonem w postaci żelu [20]. Po 24, 48 i 72 godzinach od rozpoczęcia leczenia Yang i wsp. zaobserwowali 4-krotny wzrost odbudowy komórek skóry po aplikacji interferonu liposomalnego w porównaniu z zastosowaną wolną formą leku w postaci żelu [20].

W leczeniu zakrzepowego zapalenia żył powierzchniowych (ZZP) wykorzystywana jest miejscowo liposomalna postać heparyny. Schorzenie to polega na występowaniu w żyłach, tuż pod skórą, niewielkich zakrzepów. Leczenie heparyną ma na celu zapobieganie rozbudowie skrzeplin oraz powstaniu powikłań w postaci zapalenia żył głębokich. Badania przeprowadzone przez Katzenschlagera i wsp. wykazały, że aplikacja na skórę liposomalnej heparyny w sprayu, w kombinacji z terapią uciskową stosowaną u pacjentów z ZZP potwierdzonym sonograficznie, dawała wyniki porównywalne z podskórnym podaniem heparyny drobnocząsteczkowej [21]. W badaniach tych heparynę w sprayu zaaplikowano 18 pacjentom, a 21 pacjentom podawano zastrzyki z heparyny drobnocząsteczkowej. Jedna dawka sprayu zawierała 0,19 g, co odpowiada 458 IU heparyny sodowej, jedna dawka w iniekcji odpowiadała 4000 jednostek anti-Xa. Stwierdzono, że obie badane podgrupy pacjentów wykazywały porównywalną redukcję długości zakrzepu [21]. Pozwala to stwierdzić, że liposomalny spray pozwala uzyskać podobny efekt terapeutyczny przy niższych stężeniach heparyny [22].

Efektywność stosowania liposomalnej postaci heparyny niefrakcjonowanej i drobnocząsteczkowej w warunkach *in vitro* z użyciem komórek ludzkiej skóry była również przedmiotem badań Betz i wsp. [23]. Autorzy ci nie stwierdzili znamionnego przenikania heparyny przez błony naskórka, jednak zaobserwowali, że penetracja heparyny drobnocząsteczkowej jest większa niż niefrakcjonowanej. Zaobserwowano również, że liposomalna postać heparyny drobnocząsteczkowej – porównaniu z wodnym roztworem hormonu – wykazywała tendencję do kumulacji w głębszych warstwach naskórka [23]. W innym modelu badawczym wykazano, że heparyna drobnocząsteczkowa może być dostarczana do głębszych warstw skóry przez aplikowanie jej w postaci kationowych, elastycznych liposomów, które wykazywały trzykrotnie wyższą zdolność „zamykania” hormonu [24].

Lekiem stosowanym miejscowo na skórę od ponad 20 lat jest cyklosporyna A, której działanie polega głównie na hamowaniu reakcji zapalnych z udziałem makrofagów, limfocytów oraz keratynocytów. W dermatologii wykorzystywana jest głównie w leczeniu łuszczycy, odczynów polekowych, w pęcherzycy i toczniu rumieniowatym, w ciężkich postaciach atopowego zapalenia skóry, a także w łysieniu plackowatym.

Łysienie plackowate (*Alopecia areata* – AA) należy do przewlekłych chorób skóry o podłożu autoimmunologicznym. Verma i wsp. [25] analizowali skuteczność różnych form 0,5% cyklosporyny A (CyA) podanej przezskórną w leczeniu AA. Badania przeprowadzono *in vivo*, wykorzystując jako model zwierzęcy szczury doświadczalne bez sierści (*Dundee Experimental Bald Rat*). Szczury zostały podzielone na 3 grupy po 5 osobników. Pierwszej grupie na 4 cm² skóry zaaplikowano lek zamknięty w liposomach zawierających etanol i dodatkowo promotory wchłaniania (PW), w postaci terpenów. Druga grupa otrzymała CyA w liposomach niemających w swoim składzie PW. Trzeciej grupie podano lek jedynie w postaci etanolowego roztworu. Lek był aplikowany 2 razy dziennie przez 6 tygodni. W grupie pierwszej odrost włosów w miejscu aplikacji CyA widoczny był już po 1 tygodniu stosowania leku, w grupie drugiej pod koniec 2 tygodnia. Po 6 tygodniach leczenia w obydwu grupach zaobserwowano maksymalną gęstość włosów na skórze, a w badaniu histologicznym potwierdzono zmniejszenie się

stanu zapalnego i poprawę kondycji włosów. W trzeciej grupie nie stwierdzono widocznych oznak wzrostu włosów oraz zmniejszenia się stanu zapalnego mieszków włosowych. Wyniki wskazują, że liposomalna cyklosporyna A może być potencjalnym lekiem w terapii transdermalnej AA [25].

PODSUMOWANIE

Skóra, jako największy narząd organizmu, jest rozpatrywana jako doskonałe miejsce podania substancji leczniczych zarówno o działaniu miejscowym, jak i ogólnoustrojowym.

Dane literaturowe dotyczące badań nad przenikaniem substancji leczniczych o działaniu miejscowym wskazują, że liposomalne postaci są znacznie efektywniejsze niż standardowe formy leków powszechnie stosowanych; efekty terapeutyczne w przypadku stosowania form liposomalnych pojawiają się szybciej, substancje lecznicze uwalniane są wolniej niż w przypadku stosowania leków konwencjonalnych, przez co efekty terapeutyczne utrzymują się dłużej. Forma liposomalna pozwala również prowadzić skuteczną terapię przy zastosowaniu znacznie mniejszych stężeń substancji leczniczych niż przy aplikowaniu konwencjonalnych postaci transdermalnych.

PIŚMIENNICTWO

- Bangham A.D., Home R.W. Negative staining of phospholipids and their structural modification by surface-active agents as observed with electron microscopy. *J. Mol. Biol.* 1964; 8: 660–668.
- Pentak D., Sułkowski W. Some properties of liposome membranes. *Czasopismo Techniczne. Środowisko* 2006; 103: 33–38.
- Williams A. Transdermal and topical drug delivery from theory to clinical practice. Pharmaceutical Press, London. 2003; 124–126.
- Artmann C., Rödinger J., Ghyczy M. i wsp. Liposomes from soya phospholipids as percutaneous drug carriers. 1st communication: qualitative in vivo investigations with antibody-loaded liposomes. *Arzneimittelforschung* 1990; 40: 1363–1365.
- Van Kuijk-Meuwisen M., Mouglin L., Junginger H.E., Bouwstra J.A. Application of vesicles to rat skin in vivo: a confocal laser scanning microscopy study. *J. Control Release* 1998; 56: 189–196.
- Mezei M. Biodisposition of liposome-encapsulated active ingredients applied on the skin. W: O. Braun-Falco, H.C. Korting and H.I. Maibach, eds, *Griesbach Conference on Liposome Dermatics*, Heidelberg: Springer-Verlag, Berlin 1992, 206–214.
- Glavas-Dodov M., Simonoska M., Goracinova K. Formulation and characterization of topical liposome gel bearing lidocaine HCl. *Bull. Chem. Technol. Macedonia* 2005, 24: 59–65.
- Mura P., Maestrelli F., González-Rodríguez M.L., Michelacci I., Ghelardini C., Rabasco A.M. Development, characterization and in vivo evaluation of benzocaine-loaded liposomes. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2007; 67: 86–95.
- Maestrelli F., Capasso G., González-Rodríguez M.L., Rabasco A.M., Ghelardini C., Mura P. Effect of preparation technique on the properties and in vivo efficacy of benzocaine-loaded ethosomes. *J. Liposome Res.* 2009; 19: 253–260.
- Grant G.J., Barenholz Y., Bolotin E.M. i wsp. A novel liposomal bupivacaine formulation to produce ultralong-acting analgesia. *Anesthesiology* 2004; 101: 133–137.
- Agarwal R., Katare O.P. Miconazole nitrate – loaded topical liposomes. *Pharm. Tech.* 2002: 48–60.
- Yang D., Pornpattananangkul D., Nakatsuji T. i wsp. The antimicrobial activity of liposomal lauric acids against *Propionibacterium acnes*. *Biomaterials* 2009; 30: 6035–6040.
- Foong W.C., Harsany B.B., Mezei M. Biodisposition and histological evaluation of topically applied retinoic acid in liposomal, cream and gel dosage forms, W: Hanin I., Pepeu G.: *Phospholipids*. New York, Plenum Press, 1990; 279–282.
- Masini V., Bonte F., Meybeck A., Wepierre J. In vitro percutaneous absorption and in vivo distribution of retinoic acid in liposomes and in a gel on hairless rats. *Proc. Control. Rel. Bioact. Mater* 1990; 17: 425–426.
- Jaafari M.R., Malaekheh-Nikouei B., Nasirli H., Hosseinzadeh H., Formulation of topical liposomes encapsulated with triamcinolone and comparison of their anti-inflammatory effects with available conventional topical ointment in mice Iran. *J. Basic Med. Sci.* 2005; 8: 195–201.
- Elzainy A.A., Gu X., Simons F.E., Simons K.J. Hydroxyzine from topical phospholipid liposomal formulations: evaluation of peripheral antihistaminic activity and systemic absorption in a rabbit model. *AAPS Pharm. Sci.* 2003; 5: 41–48.
- Foldvari M., Oguejiofor C., Afridi S., Kudell T., Wilson T. Liposome encapsulated prostaglandin E1 in erectile dysfunction: correlation between in vitro delivery through foreskin and efficacy in patients. *Urology* 1998; 52: 838–843.
- Shigeta Y., Imanaka H., Ando H. i wsp. Skin whitening effect of linoleic acid is enhanced by liposomal formulations. *Biol. Pharm. Bull.* 2004; 27: 591–594.
- Weiner N., Williams N., Birch G., Ramachandran C., Shipman C. Jr, Flynn G. Topical delivery of liposomally encapsulated interferon evaluated in a cutaneous herpes guinea pig model. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1989; 33: 1217–1221.
- Yang L., Yang W., Bi D., Zeng Q. Preparation and characterization of liposomal gel containing interferon- γ and its local skin retention in vivo. *Asian J. Pharm. Sci.* 2006; 1: 31–34.
- Katzenschlager R., Ugurluoglu A., Minar E., Hirschl M. Liposomal heparin-spraygel in comparison with subcutaneous low molecular weight heparin in patients with superficial venous thrombosis. A randomized, controlled, open multicentre study. *J. Kardiol.* 2003; 10: 375–378.
- Poletajew S. Liposom jako nośnik heparyny w terapii zakrzepowego zapalenia żył powierzchownych. *Monitor Zakrzepica* 2007; 1: 1–4.
- Betz G., Nowbakht P., Imboden R., Imanidis G. Heparin penetration into and permeation through human skin from aqueous and liposomal formulations in vitro. *Int. J. Pharm.* 2001; 228: 147–159.
- Song Y.K., Kim C.K. Topical delivery of low-molecular-weight heparin with surface-charged flexible liposomes. *Biomaterials* 2006; 27: 271–280.
- Verma D.D., Verma S., McElwee K.J., Hoffman R., Fahr A. Treatment of alopecia areata in the DEBR model using Cyclosporin A lipid vesicles. *Eur. J. Dermatol.* 2004; 14: 332–338.