

Nowe rozwiązania w technologii leków wziewnych.

Część I

Bożena Karolewicz, Janusz Pluta

Katedra Technologii Postaci Leku, Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich, Wrocław

Adres do korespondencji: Bożena Karolewicz, Katedra Technologii Postaci Leku, Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich, ul. Szewska 38, 50-139 Wrocław, tel. 071 7840324, e-mail: bozkar@wp.pl

Development of pulmonary drug delivery technologies.

Part I · The use of the lung as a portal for the delivery of drugs and for the delivery of systemically-acting drugs whether they are small molecules or macromolecules presents some different challenges from those associated with traditional asthma therapy drugs. In their part of review have been described new pulmonary drug forms i. e. liposomes, lipid microparticles, polymer microparticles and nanoparticles (biodegradable microsphere and nanosphere, large porous particles), cyclodextrins and dendrimers.

Keywords: alternative drug delivery route, pulmonary drug delivery, liposomes, microspheres, nanopatricles, large porous particles, cyclodextrins, dendrimers.

© Farm Pol, 2009, 65(11): 812-820

Dawniej przy opracowywaniu nowych postaci leku skupiano się głównie na otrzymaniu efektu przedłużonego działania substancji, na uzyskaniu szybkiego działania leku oraz na poprawie sposobu jego podawania. Obecnie przy konstruowaniu postaci szczególną uwagę zwraca się na możliwość uzyskania podobnego efektu terapeutycznego przy jednoczesnej redukcji dawki oraz na możliwość celowanego dostarczenia leku, np. do narządu.

Droga wziewna jest sposobem podawania głównie substancji leczniczych działających miejscowo w obrębie drzewa oskrzelowego. Ostatnio dużo uwagi poświęca się jednak zagadnieniu podawania tą drogą leków działających ogólnoustrojowo (**tabela 1**). Ten rodzaj dostarczenia substancji leczniczej ze względu na dużą powierzchnię absorpcji (100 m²), niewielką grubość błony śluzowej (0,1–0,2 μm), jej dużą przepuszczalność oraz dobre ukrwienie i niską aktywność enzymów może stanowić alternatywę dla inwazyjnych sposobów podawania leków, a w szczególności dla podawania peptydów oraz białek [1]. Schemat

absorpcji inhalowanej substancji po depozycji w pęcherzykach płucnych przedstawiono na **rycynie 1**.

Droga wziewna podawania substancji leczniczych zyskuje na znaczeniu ze względu na możliwość wchłaniania leku bezpośrednio do krwiobiegu, co pozwala na zredukowanie narażenia substancji na działanie środowiska przewodu pokarmowego, minimalizując takie problemy, jak: niska rozpuszczalność leku, niska wchłaniania, podrażnienie, obecność metabolitów oraz niepewność związaną z wchłanianiem substancji w obecności pokarmu.

Wziewna inhalacja leków staje się alternatywnym sposobem podawania m.in. chemioterapeutyków, np. interleukiny 2 lub doksorubicyny w terapii nowotworów, czy morfiny w terapii bólu [6, 7]. Preparat zawierający morfinę opracowany przez Aradigm Corp. podawano wziewnie 89 pacjentom po operacji. Po trzech inhalacjach morfiny odnotowano zmniejszenie bólu porównywalne z podaniem 4 mg substancji dożylnie.

Podobnie do innych nieinwazyjnych dróg podania, tj. podanie doustne, donosowe, transdermalne, biodostępność substancji po podaniu wziewnym zależy w dużej mierze od jej masy molekularnej, a absorpcji po inhalacji ulegają substancje o masie molekularnej poniżej 30 kDa [8]. W przypadku podawania substancji wyżej wymienionymi drogami wraz ze wzrostem masy cząsteczkowej absorpcja jest wolniejsza i później pojawia się T_{max}. Jednak całkowity procent zaabsorbowanej substancji po podaniu wziewnym zależy przede wszystkim od jej stabilności w obrębie tkanki płucnej (**tabela 2** pokazuje, iż, np. biodostępność interferonu po inhalacji wynosi 10%, podczas gdy małej cząstki adrenaliny 4%) [9].

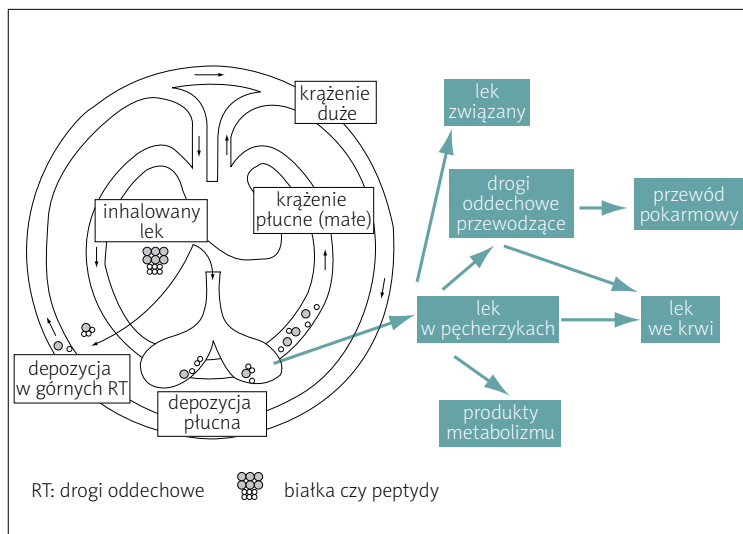
Trwają badania nad możliwością podawania w terapii wziewnej substancji leczniczych w nowych postaciach leku, tj. liposomy, mikrocząstki lipidowe, mikrocząstki i nanocząstki polimerowe

(biodegradowalne mikrosfery i nanosfery oraz duże porowate mikrocząstki), cyklodekstryny czy dendrymery. Rozpatruje się również perspektywy modyfikacji chemicznej struktury substancji leczniczych poprzez wykorzystanie proleków, koniugatów makrocząsteczka-substancja lecznicza oraz możliwości wykorzystania metod zwiększających absorpcję

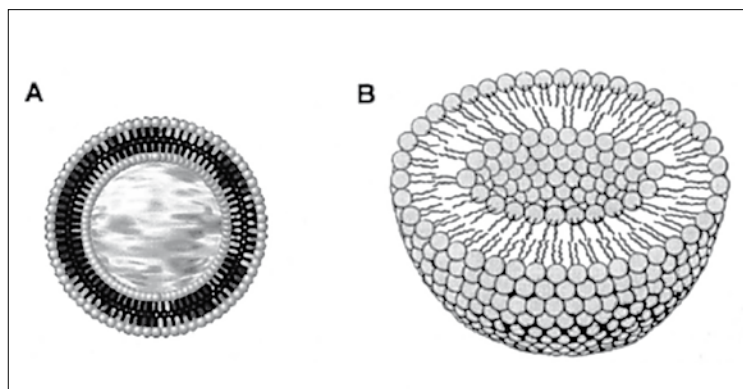
substancji z płuc do krwioobiegu poprzez zwiększenie ich transportu przez nabłonek płucny lub poprzez zmniejszenie stopnia ich miejscowej degradacji. W końcu duże nadzieje wiąże się z opracowaniem nowych rozwiązań w inhalatorach ciśnieniowych (MDI), proszkowych (DPI) i nebulizatorach.

Tabela 1. Przykłady substancji leczniczych podawanych w postaci wziewnej w miejscowej terapii chorób płuc oraz w terapii systemowej [2–5]

Substancja	Choroba
Terapia miejscowa	
β ₂ -bimimetyków	astma
Kortykosteroidy (budezonid, beklometazon)	astma, zwłóknienie płuc
Leki cholinolityczne (bromek ipratropium)	astma
Mukolityki (N-acetylocysteina, mesna, ambroksol)	mukowiscydoza
Szczepionki wirusowe/bakteryjne	zakażenia infekcyjne
Pentamidyna	mukowiscydoza, rozstrzeń oskrzeli, AIDS
Przeciwbakteryjne (aminoglikozydy, karbenicylina, kolistyna, ceftazydim, wankomycyna, amfoterycyna B)	infekcje
Kromony (kromoglikan disodowy)	astma
Enzymy proteolityczne (dornaza alfa)	mukowiscydoza
Przeciwwirusowe (rybawiryne)	infekcja wirusem RSV (Respiratory Syncytial Virus), zespół ostrej niewydolności oddechowej (ARDS), zespół niewydolności oddechowej niemowląt (IRDS)
Surfaktanty	
Prostaglandyny	nadciśnienie płucne
Leki immunosupresyjne	–
Proteazy (trypsyna)	proteinoza pęcherzykowa płuc
Przeciwnowotworowe (interferon α)	nowotwór płuc
Przeciwgruźlicze	–
Terapia systemowa	
Insulina	cukrzyca
Amylina	
Heparyna	choroba zakrzepowo-zatorowa
Kalcytonina	osteoporoza
Hormon przytarczyc	
Kalcytonina	choroba Pageta
Ergotamina	migrena
Hormon wzrostu	postępujący zanik mięśni kartowatość przysadkowa
Erytropoetyna	anemia
Czynnik stymulujący makrofagi i granulocyty	infekcje towarzyszące chorobom nowotworowym
Interferon α	zapalenie wątroby, nowotwór
Interferon β	stwardnienie rozsiane
Interferon γ	choroba przewlekła ziarniniakowa
Interleukina 2	nowotwór nerki
Interleukina 6	trombocytopenia 1
Interleukina 11	
Leuprolid	nowotwór prostaty endometrioza
Wazopresyna	enureza
Adrenalina/adrenaline	reakcja anafilaktyczna
Opioidy (fentanyl, morfina)	terapia bólu, duszności
Inhibitory fosfodiesterazy (pentoksyfilina, sildenafil)	pierwotne nadciśnienie płucne
Midazolam	działanie uspokajające



Rycina 1. Absorpcja inhalowanej substancji po depozycji w pęcherzykach płucnych [2]



Rycina 2. Budowa liposomów [14]

Liposomy

Liposomy są to pęcherzyki o rozmiarze najczęściej rzędu kilku μm zbudowane z jednej lub kilku warstw naturalnych i syntetycznych lipidów otaczających koncentrycznie warstwę wodną. Konwencjonalne liposomy zbudowane są z obojętnych i anionowych lipidów, większość zawiera lecytynę (fosfatydylocholinę), fosfatydyloetanolaminę (PE), sfingomielinę, fosfatydyloserynę, fosfatydylglicerol (PG) i fosfatydyloinozytol (PI) [10]. Dzięki takiej budowie pęcherzyki mogą zawierać leki o różnej litofilności, działające miejscowo i systemowo. Depozycja liposomów w płucach po wziewnym podawaniu zależy od kilku czynników, tj. rozmiaru liposomów, składu lipidów, ich ładunku, stosunku substancji do lipidu, metody przygotowania liposomów oraz od sposobu ich podawania. W warunkach *in vivo* małe liposomy (<100 nm) trudniej opsonizują niż większe. Klinicznie przydatne okazały się liposomy o rozmiarach 50–200 nm. Wykazano, iż tracą one mniej leku i łatwiej unikają fagocytozy. Duże liposomy mają z kolei tendencję do przedłużonego uwalniania substancji rozpuszczalnych w wodzie.

Na zachowanie się liposomów wpływa także płynność warstwy organicznej. Lipidy mają swoją charakterystyczną temperaturę przemiany fazowej – T_c , zależną od długości i wysycenia łańcucha węglowego w kwasie tłuszczowym (T_c waha się od -20 do 90°C). Poniżej wymienionej temperatury lipidy mają strukturę żelową, a powyżej płynną. Lipidy o temperaturze przemiany fazowej $>37^\circ\text{C}$ są mniej płynne, bardziej szczelne w warunkach fizjologicznych oraz trudniej podlegają usunięciu przez makrofagi. Wbudowanie

Tabela 2. Porównanie parametrów farmakokinetycznych w badaniach klinicznych po podaniu wybranych substancji drogą inwazyjną (iniekcja) i drogą nieinwazyjną (inhalacja) [9]

Substancja	Iniekcja					Nieinwazyjna metoda podania (inhalacja)			
	Metoda	Początek działania	T_{\max}	Czas działania	Biodostępność	Początek działania	T_{\max}	Czas działania	Biodostępność
Epinefryna 183 Da $t_{1/2}=2$ min	I.M.	–	8 min	1 h	100%	–	1–2 min	1 h	4%
Opioidy 300–500Da $t_{1/2}=2$ –40 h	I.V.	1–2 min	–	2–6 h	100%	–	3–7 min	–	59%
	S.C., I.M.	10–30 min	–	2–6 h	>90%	–	–	–	(doustnie 24–75%, podjęzykowo 30–50%)!
Analog LHRH 1.2 kDa $t_{1/2}=1.2$ –63 h	I.V.,	–	0	–	100%	–	1.1–2.3 h	–	18%
	S.C.	–	38–90 min	–	–	–	–	–	(donosowo 3%)!
Insulina 6 kDa $t_{1/2}=5$ –6 min	S.C. lispro	5–15 min	50 min	4–6 h	–	30 min	0.7–1.6 h	6–7 h	10%
	S.C.	30–60 min	2 h	6–10 h	70%	–	–	–	–
	S.C. long	2–4 h	8 h	16–20 h	–	–	–	–	–
Interferon α -2b 19.3 kDa $t_{1/2}=2$ –3 h	I.V., S.C.	–	3–12 h	24 h	100%	–	8–10 h	–	10%
Hormon wzrostu 22 kDa $t_{1/2}=22$ min	S.C., I.M.	–	3–6 h	–	65–90%	–	4 h	–	4–10%

I.V. – podanie dożylnie; S.C. – podanie podskórne; I.M. – podanie domięśniowe

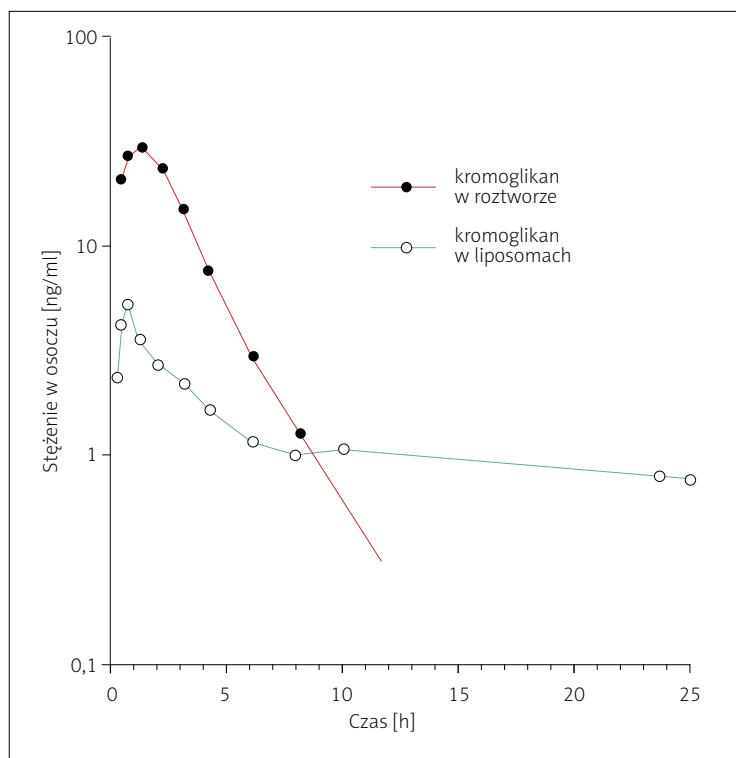
cholesterolu do warstwy lipidowej liposomu utwar-
dza go, a gdy stanowi on ponad 30% masy cząstecz-
kowej, może zapobiec przemianie fazowej. Ładunek
na powierzchni liposomu tzw. ładunek powierzch-
niowy może wpływać na jego agregację, interakcje
z komórkami oraz szybkość eliminacji. Liposomy ka-
tionowe są skutecznymi nośnikami genów, jednak
indukują toksyczność w wyniku tworzenia wolnych
rodników [11]. Przeżywalność liposomu w drogach
oddechowych mogą zwiększyć procesy technolo-
giczne np. wprowadzenie na powierzchnię liposomu
warstwy hydrofilowej w postaci glikolu polioksyety-
lenowego (PEG), co przyciąga warstwę wodną i za-
pobiega przyłączaniu się opsonin, które zmieniając
napięcie na powierzchni liposomu ułatwiają rozpo-
znanie przez makrofagi.

Celem wziewnego stosowania liposomów z sub-
stancją leczniczą jest przede wszystkim uzyskanie
przedłużonego działania leków w schorzeniach płuc,
zwiększenie efektywnej dawki docierającej do płuc,
zmniejszenie ryzyka powikłań związane z faktem, iż
pęcherzyki lipidowe stanowią magazyn leku o spo-
wolnionym uwalnianiu substancji z minimalnym ryzy-
kiem działań niepożądanych, a tym samym możliwą
redukcją toksyczności [12].

Dla większości hydrofobowych substancji jest to
bardziej efektywny nośnik wziewny, zwiększający
depozycję w płucach i zapewniający większą reten-
cję, w stosunku do substancji rozpuszczalnych w wod-
zie. Wśród zalet podawania wziewnego liposomów
wymienia się również możliwość poprawy stabilności
substancji zamkniętej w rdzeniu. W badaniach
nad wziewnym podawaniem liposomów wykazano,
iż w przeciwieństwie do wysokiego klirensu elimina-
cji z płuc leków hydrofilowych podawanych w postaci
wolnej substancji, około 60% liposomów zawierają-
cych te substancje pozostaje w płucach po 24 godzi-
nach od inhalacji. Podawanie substancji leczniczej
w liposomach jest nieinwazyjnym sposobem leczenia,
pozwala także, ze względu na podobieństwo
strukturalne liposomów do błon komórkowych, na
prowadzenie terapii genowej oraz na zapobieganie
miejscowym podrażnieniom [1, 11]. Liposomy mogą
być podawane w inhalacji w roztworze (nebulizacja)
lub w formie suchego proszku (inhalatory DPI). Lip-
osomy dostępne w formie suchego proszku produk-
wane są poprzez liofilizację, a następuje mielenie lub
otrzymywane są w procesie suszenia rozpyłowego.

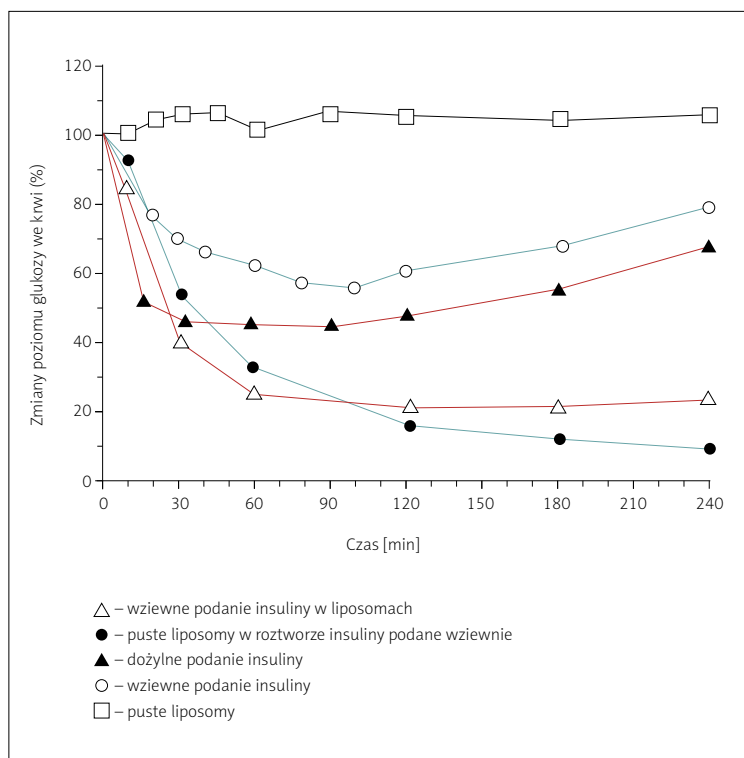
Poniżej wymieniono przykłady korzyści wynika-
jących z wziewnego podawania w liposomach leków
należących do różnych grup, działających miejscowo
czy ogólnoustrojowo.

Zamknięcie w liposomach leku cytostaticznego,
arabinozydu, inhalowanego wziewnie w terapii no-
totworów pozwoliło na uzyskanie przedłużonego
działania substancji ($t_{1/2} = 8$ h) z niewielką tylko jej
dystrybucją do innych tkanek. Arabinozyd podawany



Rycina 3. Zmiany stężenia kromoglikanu sodowego w osoczu po podaniu wziewnym roztworu wolnej substancji i kromoglikanu w roztworze liposomów [14]

wziewnie w postaci wolnej był szybko usuwany z płuc ($t_{1/2} = 40$ min) i absorbowany systemowo, ujawniając działania niepożądane. Leki rozszerzające oskrzela, tj. izoprenalina i orcyprenalina, są ostrożnie polecane do podawania wziewnego, gdyż nieselektywnie pobudzają receptory β_2 , powodując rozkurcz oskrzeli, jednocześnie pobudzając receptory β_1 , co może wywoływać tachykardię. Podanie wymienionych substancji w liposomach ogranicza opisane działanie niepożądane poprzez minimalizowanie przenikania substancji do krwiobiegu. Wziewne podanie świnikom morskim zamkniętej w liposomach orcyprenaliny powodowało w porównaniu do wolnej substancji mniejszą tachykardię i jednocześnie umożliwiło uzyskanie przedłużonego działania bronchodilatoryjnego. W grupie leków wykorzystywanych w terapii astmy w liposomach podawano kromoglikan sodowy i salbutamol. Doustne podanie kromoglikanu sodowego jest nieefektywne ze względu na jego niską biodostępność. Inhalacja wziewna substancji w liposomach umożliwiła uzyskanie jej wysokiego stężenia, utrzymującego się nawet do 25 godzin po inhalacji. Po wziewnej inhalacji roztworu wolnej substancji stężenie kromoglikanu oznaczane w osoczu było początkowo 7 razy wyższe w stosunku do osiąganego po jej podaniu w liposomach, jednak po czasie 25 h praktycznie nieoznaczalne [13]. Zmiany stężenia kromoglikanu sodowego podawanego wziewnie w roztworze oraz w liposomach przedstawiono na **rycynie 3**.



Rycina 4. Zmiany poziomu glukozy w czasie, we krwi szczurów po podaniu insuliny [14]

Działająca przeciwbakteryjnie w infekcjach płuc amikacyna inhalowana wziewnie po zamknięciu w liposomach, wykazywała w stosunku do wolnej substancji około 100-krotny wzrost aktywności wobec *Mycobacterium avium*. Po podaniu owcom roztworu amikacyny osiągnięto $t_{1/2}=2$ h i $C_{max}=8,3$ $\mu\text{g/ml}$, z kolei w liposomach o składzie fosfatydylocholina: fosfatydoglicerol: cholesterol (4: 3: 3) parametry te wynosiły odpowiednio $t_{1/2}=10$ h i $C_{max}=3,3$ $\mu\text{g/ml}$. Podanie substancji w liposomach przyczyniło się do wydłużenia czasu jej działania przy jednoczesnej redukcji systemowych efektów ubocznych i przy zachowanej wysokiej wrażliwości bakterii na podany antybiotyk [13].

Po 1 godzinie od podania pacjentom w nebulizacji zamkniętej w liposomach działającej przeciw-wirusowo enwiroksyny odnotowano jej wysokie stężenie w dolnych odcinkach płuc i niską absorpcję systemową (tylko u 1 z 5 pacjentów oznaczono lek we krwi). W przeprowadzonych badaniach nie zaobserwowano żadnych działań niepożądanych. Antyoksydanty tj. dyzmutaza nadtlenkowa i katalaza po podaniu w liposomach charakteryzowały się przedłużonym czasem retencji w płucach. Podanie wziewne dyzmutazy w liposomach minimalizowało także jej toksyczność i opóźniło hipoksję. Inhalacja wziewna cyklosporyny stanowi alternatywą metodę terapii w zapobieganiu odrzucenia przeszczepu płuco-serca u pacjentów po transplantacji. Systemowe podawanie tej substancji jest związane

z występowaniem poważnych działań niepożądanych, tj. nefro- i hepatotoksyczność. Lek zamknięty w liposomach inhalowany wziewnie psom był w dużym stężeniu, selektywnie deponowany w płucach. Podawanie leku myszom w roztworze liposomów wydłużało czas jego retencji w płucach z 17 minut dla czystej substancji do 4,8 godzin dla substancji zamkniętej w liposomach. Zwiększenie biodostępności i zmniejszenie toksyczności osiągnięto również po podaniu w liposomach interleukiny-2. Zamknięcie budezonidu w liposomach spowodowało, iż jego stosowanie raz w tygodniu było tak samo skuteczne w leczeniu zapalenia alergicznego u uczulonych owoalbuminą myszy, jak jego codzienne podawanie [12].

Po podaniu szczurom insuliny zamkniętej w liposomach uzyskano w porównaniu do wolnej substancji jej przedłużone działanie. Nie obserwowano jednak znaczących różnic pomiędzy absorpcją insuliny zamkniętej w liposomach, a fizyczną mieszaniną pustych liposomów i roztworu insuliny, co sugeruje, iż jest to wynikiem przypuszczalnie związania insuliny do powierzchni liposomów.

W innych badaniach w liposomach otrzymanych na bazie fosfatydylocholiny i cholesterolu (70/30 mol%) oraz fosfatydylocholiny, cholesterolu i PEG-DPPE (N-metoksypolietylenoglikol sukcyntylo-2-N-dipalmitynylofosfatydylo etanoloamina – 70/30/1 mol%) zamykano insulinę. Film lipidowy otrzymywano konwencjonalną metodą wytrząsania po rozpuszczeniu lipidów w rozpuszczalniku organicznym i dodaniu rozpuszczonej w buforze cytrynianowym insuliny. Liposomy tworzyły się poprzez kilkakrotne (około 5–10 razy) przeciskanie roztworu poprzez filtry o średnicy 200 nm. Insulinę, która była stabilna w roztworze liposomów podawano w nebulizatorze ultradźwiękowym, gdzie uzyskano średnicę rozpylanych cząstek do 1 μm . Badania na myszach pokazały, iż poziom glukozy we krwi po zamknięciu insuliny w liposomach dzięki zwiększonej absorpcji białka był redukowany bardziej efektywnie [1].

Mikrocząstki lipidowe

Przykładem wziewnie podawanych mikrocząstek lipidowych o rozmiarach 3–5 μm są otrzymane z fosfatydylocholiny porowate pulmosfery (z wgłębieniami), charakteryzujące się doskonałą zdolnością do dyspersji. Pulmosfery te otrzymywano w procesie dwuetapowym, obejmującym przygotowanie emulsji olej-perflubon (perfluorobromooktan) w wodzie metodą homogenizacji wysokociśnieniowej, a następnie suszeniu rozpyłowym. Podanie immunoglobulin, np. ludzkiej immunoglobuliny (IgG), w pulmosferach inhalowanych w postaci suchego proszku (DPI) pozwoliło na uzyskanie u myszy odpowiedzi immunologicznej lokalnej i systemowej. Prowadzone są badania nad podawaniem

w pulmosferach gentamycyny, salbutamolu i budesonidu [1]. Pulmosfery przedstawiono na **rycynie 5**.

Mikro- i nanocząstki polimerowe

1. Biodegradowalne mikrosfery

Biodegradowalne mikrosfery (1–3 μm) podawane na drodze wziewnej mogą być otrzymywane z syntetycznych polimerów-poliestrów, tj. kopolimer kwasu mlekowego z kwasem poliglikolowym (PLGA) oraz z naturalnych związków wielkocząsteczkowych, tj. albuminy, żelatyna, chitozan i dekstran. Substancja uwalnia się z mikrosfer zarówno na drodze rozpuszczania, jak i dyfuzji z systemu. Stopień uwalniania zależy od wielu czynników, tj. zawartość substancji, jej właściwości, tj. rozpuszczalność, rozmiar cząsteczki oraz właściwości związku wielkocząsteczkowego, tj. jego masy molekularnej, porowatości, krętości, rozmiaru i jednorodności polimeru. Zmiana tych parametrów wywiera wpływ na uwalnianie substancji i pozwala na modyfikację tego procesu oraz na przedłużenie działania i wzrost stabilności substancji. Zaletą podawania leków w mikrosferach w porównaniu do liposomów jest ich większa stabilność fizyczna i chemiczna, możliwość zamykania większej dawki leku oraz zdolność do przedłużonego uwalniania substancji. Powlekanie mikrosfer polimerami mukoadhezyjnymi, tj. chitozan przedłuża czas retencji nośnika w płucach [11]. Powlekanie dipalmitoylofosfatydylocholiną powoduje z kolei spadek ich wychwytywania przez makrofagi. Mikrosfery te mogą być podawane zarówno w roztworze, jak i w formie suchej w inhalatorach proszkowych. Przykłady substancji podawanych w mikrosferach zamieszczono w **tabeli 3**.

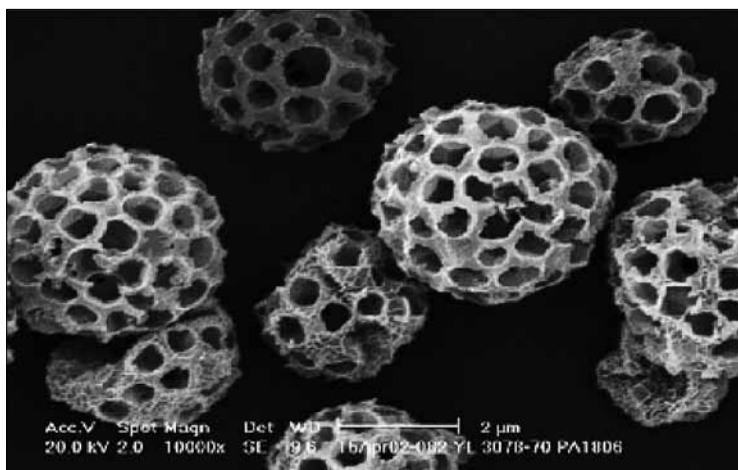
Nowy nośnik tzw. Technosphere™ (**rycina 6**) był wykorzystywany do podania insuliny i hormonu przytarczyc (4,1 kDa). Biodostępność insuliny z tego nośnika zwiększyła się o 30% w stosunku do podskórnej iniekcji, a osiągnięte T_{max} uległo skróceniu do 13 minut. Nośnik stanowiąc małe organiczne sfery, o średnicy około 2 μm, tworzące się samoistnie w wyniku gromadzenia się cząsteczek 6-biz(N-fumarylo)-N-nbutyloamino-2,5-diketopiperazyny w umiarkowanie kwaśnym środowisku. Po inhalacji suche sfery rozpuszczają się w obojętnym pH płuc [15, 16].

2. Biodegradowalne nanosfery

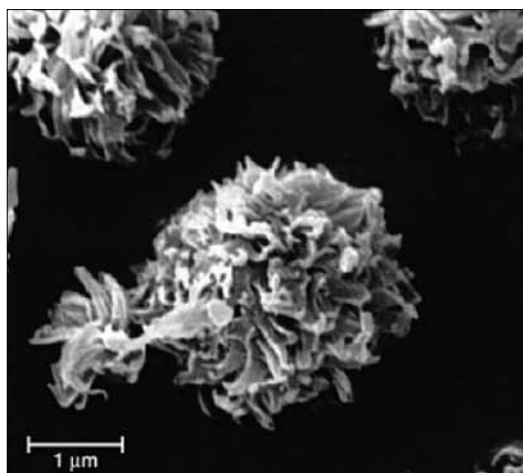
Po podaniu świnikom morskim insuliny w zawieszynie nanosfer uzyskano obniżenie poziomu glukozy przedłużone do 48 godzin, w porównaniu do 6-godzinnego efektu osiągniętego po nebulizacji roztworu insuliny [11].

3. Duże porowate cząstki (Large Porous Particles – LPPs)

Porowate cząstki mają stosunkowo duże rozmiary (powyżej 5 μm) przy jednocześnie małej średnicy aerodynamicznej (<5 μm), związanej z ich niską



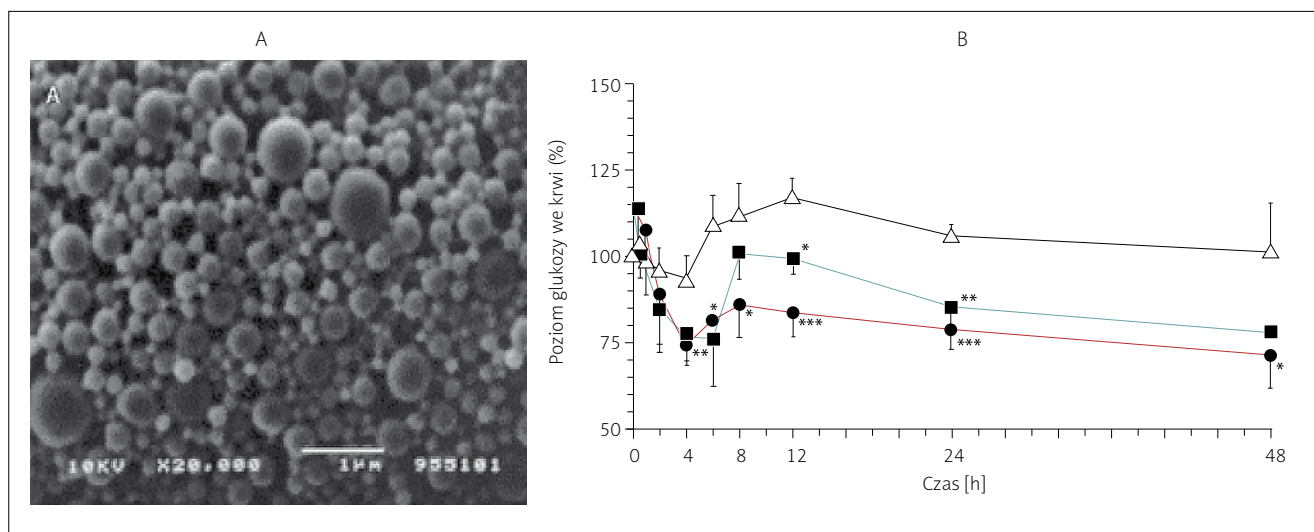
Rycina 5. Pulmosphere™ (Nektar Therapeutics Inc.) [15]



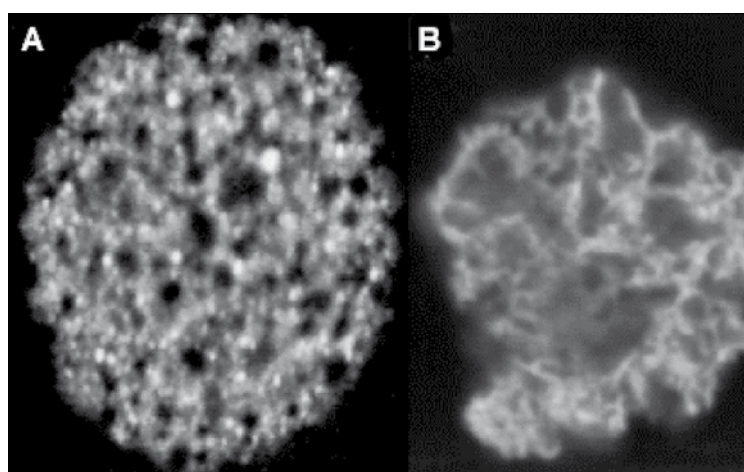
Rycina 6. Zdjęcie z mikroskopu skaningowego mikrocząstek polimerowych Technosphere® z insulimą [18]

Tabela 3. Przykłady substancji leczniczych podawanych wziewnie w mikrosferach [11]

Substancja	Polimer	Efekt
Kalcitonina	Żelatyna	– dodatnio naładowane mikrosfery – wysoka odpowiedź po podaniu u szczurów
Leuprolid	Albumina	– skuteczność systemowa
Insulina	PEG (ProMaxx)	– szybko obniża poziom glukozy u psów
	Hialuronian sodu	– modyfikacja farmakokinetyki, wzrost średniego czasu przebywania leku w organizmie (9-razy) – wzrost AUC/dawka (2,5-krotny) – wzrost T_{max} (3-krotny)
	Diketopiperazyny pochodne (Technosphere)	– szybki początek działania i dłuższy efekt metaboliczny niż w s. c. iniekcji ponad 3 godziny, zastosowano insulinę w proszku i inhalator uruchamiany wdechem
	Fosforan wapnia-PEG	– dłuższy $t_{1/2}$ – dłuższy średni czas przebywania leku w organizmie – wolniejsza eliminacja w porównaniu do roztworów insuliny – wzrost biodostępności (1,8-krotny) w porównaniu do s. c. iniekcji
	Mikrosfery powlekane dipalmitoylofosfatydylocholiną	– przedłużone działanie



Rycina 7. Wziewne podanie insuliny w nanosferach o wielkości 400 nm świnkom morskim (A) nanosfery z kopolimeru kwasu mlekowego i glikolowego (PLGA) zawierające insulinę, (B) poziom glukozy we krwi po wziewnym podaniu insuliny w zawiesinie nanosfer (Δ): kontrola, (■): roztwór insuliny, (●): insulina zamknięta w zawiesinie nanosfer [11]



Rycina 8. (A) porowate cząstki z kopolimeru kwasu mlekowego z kwasem poliglikolowym (PLGA) o średnicy 8,2 μm i gęstości <0,1 g/cm³ (B) porowate z kwasu polimlekowego potężzonego z polilizyną (PLAL-Lys) o średnicy 8,5 μm i gęstości wynoszącej 0,1 g/cm³ [11]

gęstością (<0,1 mg/ml). Zwykle duże cząstki osiadają w jamie ustnej i gardle, z kolei małe mają tendencję do agregacji i wychwytywania przez makrofagi. Zaletą dużych porowatych cząstek jest jednak ich dobry przepływ, niska agregacja oraz możliwość uniknięcia fagocytozy ze względu na ich rozmiary. Cząstki te łatwo ulegają dyspersji i mogą być podawane zarówno w inhalatorach ciśnieniowych jak i proszkowych [17].

Duże cząstki o średnicy 5–20 μm (AIR™, Alkermes) utworzono dla insuliny (20%) w oparciu o PLGA (80%). W pierwszej godzinie po wziewnym podaniu tych cząstek w inhalatorze proszkowym, uruchamianym wdchem chorego, uzyskano wysoki, utrzymujący się do 96 godzin, poziom insuliny we krwi [15].

Inne opracowane cząstki tzw. „Trojan” (AstraZeneca) łączą dwie ważne właściwości, umiejętność

unikania fagocytozy z ograniczoną możliwością ich usuwania wraz ze śluzem z dróg oddechowych w wyniku ruchu rzęsek. Są to nanocząstki otrzymane z różnych materiałów, np. z polistyrenu, które po suszeniu rozpyłowym, skupiają się w mikrocząstki o niskiej gęstości (<0,1 mg/ml) podawane w inhalatorach proszkowych DPI. Cząstki w czasie inhalacji łatwo ulegają redispersji do nanocząstek, docierających do końcowych odcinków drzewa oskrzelowego. „Trojan” to nanocząstki otrzymywane z żelatyny (242 nm) lub polibutylocyanoakrylanu (173 nm) skupione w matrycy laktozowej o średnicy rzędu 2,5 μm (wielkość frakcji reostabilnej/fine particle fraction FPF 38–42%) [19].

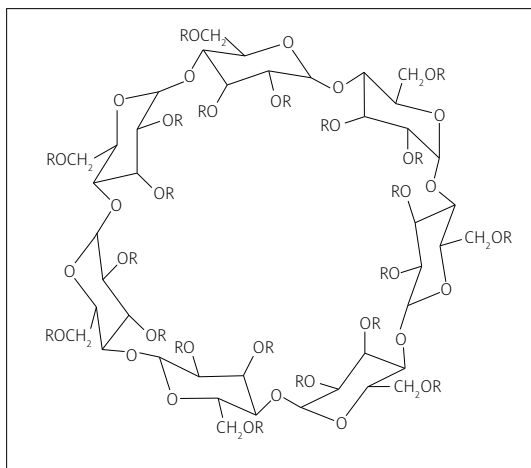
Sacharydy

Nośnik w inhalatorach proszkowych stanowi głównie laktoza. W USA jedynie laktoza jest zatwierdzona jako substancja pomocnicza do powszechnego użycia w preparatach wziewnych.

Dodatek laktozy, mannitolu czy sorbitolu poprawia przepływ i rozpraszanie, jak również może zwiększać stabilność substancji podczas procesu technologicznego. Badania wykazały, iż stabilność interferonu β w trakcie mielenia była zależna od zawartości sorbitolu w formulacji. W technologii leków wziewnych stosuje się również dodatki trehalozy, glukozy, maltitolu i ksylitolu [11].

Cyklodekstryny

Cyklodekstryny są cyklicznymi oligosacharydami, które dzięki hydrofobowości wnętrza, są zdolne do tworzenia kompleksów inkluzyjnych typu „gość-gospodarz” ze związkami o charakterze lipofilowym. W opisanych kompleksach cyklodekstryna pełni



Rycina 9. Wzór β -cyklodekstryny [21]

funkcję gospodarza, a kompleksowana substancja hydrofobowa jest gościem. Cały kompleks jest rozpuszczalny w rozpuszczalnikach polarnych [20, 22].

Badania nad podawaniem wziewnym cyklodekstryn wykazały, iż wartości odnotowanego po ich inhalacji czasu absorpcji są znacznie wyższe w porównaniu do wprowadzania ich innymi nieinwazyjnymi drogami. Pomimo to uznano, iż inhalacja wziewna matych hydrofobowych substancji leczniczych w cyklodekstrynach może stanowić alternatywną drogę ich podania. Czas półtrwania wymienionych w tabeli 4 cyklodekstryn był porównywalny do ich podania dożylnego.

Hydroksypropylo- β -cyklodekstrynę wykorzystano do podania rolipramu (inhibitor fosfodiesterazy) i testosteronu u szczurów oraz salbutamolu u królików. Dla salbutamolu uzyskano większą stabilność i przedłużone działanie substancji [20].

Dendryмеры

Są to regularnie rozgałęzione makrocząsteczki, w których budowie wyróżnia się 3 elementy: cząsteczkę rdzeniową (którą stanowi pojedynczy atom lub cząsteczka zawierająca co najmniej dwie identyczne grupy funkcyjne), dołączone do cząstki rdzeniowej monomery tworzące kolejne generacje (G – zależne od stopnia rozgałęzienia dendrymeru) oraz grupy funkcyjne zlokalizowane najczęściej na zewnątrz (do reszt funkcyjnych dendrymeru można przyłączyć cząsteczki substancji leczniczej) [20, 23].

Wziewnie podawano dendryмеры z enoksaparyną, drobnocząsteczkową heparyną o małej masie cząsteczkowej, wykazującą aktywność wobec czynnika Xa układu krzepnięcia krwi i w mniejszym stopniu wobec czynnika IIa. Kompleks substancja-dendrymer otrzymywano w wyniku jonowej interakcji (elektrostatycznej) pomiędzy grupami aminowymi kationowych dendrymerów i grupami karboksylowymi i sulfonowymi enoksaparyny. Po podaniu dendrymerów *in vivo* szczurom uzyskano wzrost biodostępności

Tabela 4. Parametry farmakokinetyczne po podaniu wziewnym wybranych cyklodekstryn u królików [22]

	β -CD	DM- β -CD	HP- β -CD
T_{max} (min)	30,0	22,4	113,0
C_{max} (μ g/ml)	23,5	26,8	14,4
$T_{1/2}$ (min)	44,2	44,3	63,0
MAT (min)	26,1	20,7	113,0
F (%)	65,9	73,9	79,8

β -CD – β -cyklodekstryna; DM- β -CD – dimetylo- β -cyklodekstryna; HP- β -CD – hydroksypropylo- β -cyklodekstryna; MAT – średni czas absorpcji; F – biodostępność

Tabela 5. Parametry farmakokinetyczne uzyskane po wziewnym i podskórnym podaniu dendrymerów z enoksaparyną u szczurów [23]

Formulacja z enoksaparyną	C_{max} (U/ml)	T_{max} (min)	AUC ₀₋₃₆₀ (Umin/ml)	F (%)
Bez dendrymeru	0,166	30	31,94	32,5
0,5% G2 dendrymeru	0,173	100	25,62	26,1
1% G2 dendrymeru	0,253	120	62,97	64,10
2% G2 dendrymeru	0,165	60	12,30	12,5
0,5% G3 dendrymeru	0,335	60	71,57	72,9
1% G3 dendrymeru	0,191	100	40,55	41,3
2% G3 dendrymeru	0,196	60	30,75	31,3
Podanie podskórne	0,349	160	98,24	–

G – generacje dendrymerów, F – biodostępność. W badaniu podawano 50 U/kg enoksaparyny

enoksaparyny do 40% i nie obserwowano żadnych efektów ubocznych. Formułacje zawierające dendryмеры 1% G2 czy 0,5% G3 PAMAM (dendryмеры poliamidaminowe) z enoksaparyną charakteryzowały się podobną skutecznością w zapobieganiu zakrzepicy żył głębokich do podskórnej iniekcji substancji [23].

W drugiej części artykułu omówione zostaną nowe rozwiązania w technologii leków wziewnych, obejmujące modyfikacje chemiczne struktury substancji leczniczych poprzez wykorzystanie proleków, koniugatów makrocząsteczka-substancja lecznicza oraz możliwości wykorzystania metod zwiększających absorpcję substancji z płuc do krwioobiegu, poprzez zwiększenie ich transportu przez nabłonek płucny lub poprzez zmniejszenie stopnia ich miejscowej degradacji. W końcu przedstawione zostaną nowe rozwiązania w inhalatorach ciśnieniowych (MDI), proszkowych (DPI) i nebulizatorach.

Otrzymano: 2009.06.24 · Zaakceptowano: 2009.08.27

Piśmiennictwo

- Huang Y. Y., Wang C. H.: Pulmonary delivery of insulin by liposomal carriers. *J. Control. Rel.* 2006, 113, 9–14.
- Scheuch G., Kohlhaeufel M. J., Brand P., Siekmeier R.: Clinical perspectives on pulmonary systemic and macromolecular delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2006, 58, 996–1008.
- Gonda I.: Peptides and Proteins: Pulmonary Absorption. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. New York: Marcel Dekker 2002, 2114–2124.

4. Groneberg D. A., Paul H., Welte T.: Novel strategies of aerosolic pharmacotherapy. *Exp. Toxicol. Pathol.* 2006, 57, 49–53.
5. Shoye S. A., Slowey A.: Prospects of formulating proteins/peptides as aerosols for pulmonary drug delivery. *Int. J. Pharm.* 2006, 314, 1–8.
6. Suda T., Hashizume H., Aoshima Y., Yokomura K., Sato J., Inui N., Nakamura Y., Fujisawa T., Enomoto N., Chida K.: Management of interleukin-2-induced severe bronchoconstriction. *Eur. Respir. J.* 2007, 29, 612–613.
7. Farr S. J., Otulana B. A.: Pulmonary delivery of opioids as pain therapeutics. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2006, 58, 1076–1088.
8. Frijlink H. W., Boer A. H.: Trends in the technology-driven development of new inhalation devices. *DDT: Technologies.* 2005, 1, 47–56.
9. Vanbever R.: Performance-driven, pulmonary delivery of systemically acting drugs. *DDT: Technologies.* 2005, 1, 39–45.
10. Troy D. B., Remington P. B.: *The Science and Practice of Pharmacy.* Lippincott Williams & Wilkins 2005.
11. Cryan S. A.: Carrier-based Strategies for Targeting Protein and Peptide Drugs to the Lungs. *AAPS J.* 2005, 7, 20–40.
12. Szmids M.: Nowe glikokortykosteroidy w leczeniu astmy. *Problemy kliniczne w alergii i astmie.* 2004, 1, 35–38.
13. Zeng X. M., Martin G. P., Marriott Ch.: The controlled delivery of drugs to the lung. *Int. J. Pharm.* 1995, 124, 149–164.
14. Dhand R.: New Frontiers in aerosol delivery during mechanical ventilation. *Respir. Care.* 2004, 6, 666–675.
15. Chan H. K., Chew N. Y. K.: Novel alternative methods for the delivery of drugs for the treatment of asthma. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2003, 55, 793–805.
16. Pfützner A., Mann A. E., Steiner S. S.: Technosphere™/Insulin- A New Approach for Effective Delivery of Human Insulin Via the Pulmonary Route. *Diab. Tech. Therapeut.* 2002, 4, 589–594.
17. Edwards D. A., Hanes J., Caponetti G., Hrkach J., Ben-Jebria A., Eskew M. L., Mintzes J., Deaver D., Lotan N., Langer R.: Large Porous Particles for Pulmonary Drug Delivery. *Science.* 1997, 20, 1868–1872.
18. Owen D. R.: New horizons – alternative routes for insulin therapy. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2002, 1, 529–540.
19. Tsapis N., Bennett D., Jackson B., Weitz D. A., Edwards D. A.: Trojan particles: Large porous carriers of nanoparticles for drug delivery. *PNAS.* 2002, 99, 12001–12005.
20. Winnicka K.: Dendrymery i nowe możliwości polimerów. *Farm. Pol.* 2007, 5, 221–227.
21. Uchegbu I. F.: Parenteral drug delivery: 2. *Pharm. J.* 1999, 263, 355–358.
22. Rajewski R. A., Stella V. J.: Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 2. *In vivo Drug delivery. J. Pharm. Sci.* 1996, 11, 1142–1165.
23. Bai S., Thomas Ch., Ahsan F.: Dendrimers as a carrier for pulmonary delivery of enoxaparin, a low-molecular weight heparin. *J. Pharm. Sci.* 2007, 8, 2090–2106.