บทความวิชาการเพื่อการศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง ระบบนำส่งยาทางปากระดับนาโนกับการป้องกันการถูกทำลายของตัวยาก่อนการดูดซึม

ผู้เขียน อาจารย์ ดร. เภสัชกรวงศกร สุเชาว์อินทร์
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

รหัสกิจกรรม 1017-1-000-002-02-2567
จำนวนหน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่อง 2.5 หน่วยกิต
วันที่รับรอง 6 กุมภาพันธ์ 2567
วันหมดอายุ 5 กุมภาพันธ์ 2568

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. ทราบถึงกระบวนการแปรสภาพของตัวยาสำคัญก่อนถูกดูดซึม
2. ทราบถึงระบบนำส่งยาทางปากระดับนาโนในรูปแบบต่าง ๆ ที่สามารถป้องกันการถูกทำลายของตัวยาสำคัญก่อนการดูดซึม

บทคัดย่อ

การบริหารยาโดยการให้ทางปากมีข้อจำกัดสำหรับยาบางชนิดที่อาจจะเกิดปัญหาด้านการดูดซึมที่ไม่สมบูรณ์ เนื่องจากตัวยาสำคัญ (active pharmaceutical ingredients; API) อาจถูกทำลายโดยกระบวนการแปรสภาพยาก่อนถูกดูดซึมในทางเดินอาหาร (pre-systemic metabolism) การพัฒนาระบบนำส่งยาระดับนาโนมีประโยชน์ในแง่ของการปกป้องตัวยาสำคัญจากการถูกทำลายก่อนถูกดูดซึม จากโครงสร้างและส่วนประกอบของระบบนำส่งยาอาจแบ่งประเภทได้ 2 รูปแบบหลักคือระบบนำส่งยาระดับนาโนประเภทพอลิเมอร์ ได้แก่ polymeric nanoparticles และ polymeric micelles และระบบนำส่งยาระดับนาโนประเภทไขมัน ได้แก่ self-emulsifying drug delivery systems หรือ SEDDS, liposomes และ solid lipid nanoparticles หรือ SLN โดยระบบนำส่งยามีกลไกในการปกป้องตัวยาสำคัญหลายกลไก ได้แก่ การปกป้องการสัมผัสของยาที่บรรจุในระบบนำส่งยากับเอนไซม์โดยตรง หรือการที่ส่วนประกอบของระบบนำส่งยาสามารถยับยั้ง activity ของเอนไซม์ในทางเดินอาหาร นอกจากนี้ยังมีการนำเทคนิคต่าง ๆ มาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการปกป้องตัวยาสำคัญหรือเพิ่มการดูดซึมของตัวยามากขึ้น เช่น การใช้เทคนิคที่เพิ่มความสามารถในการแทรกผ่านชั้นเมือกของอนุภาคนาโน รวมถึงการใช้ส่วนประกอบที่ช่วยเพิ่มการดูดซึมของตัวยาสำคัญ เป็นต้น ซึ่งการวิจัยและพัฒนาระบบนำส่งยาระดับนาโนในรูปแบบที่ให้ทางปากนั้นจะช่วยเพิ่มชีวประสิทธิผลของยาที่ดูดซึมได้น้อยในทางเดินอาหาร เป็นผลให้เพิ่มความร่วมมือในการใช้ยาของผู้ป่วยได้

คำสำคัญ

ระบบนำส่งยาทางปาก, นาโนเทคโนโลยี, การแปรสภาพยา, ทางเดินอาหาร

บทนำ

การบริหารยาโดยการให้ทางปาก (oral administration) เป็นช่องทางการบริหารยาที่สะดวกและได้รับความนิยมที่สุด เนื่องจากไม่ก่อให้เกิดความเจ็บปวดดังเช่นที่พบในยาที่บริหารโดยการฉีด อีกทั้งผู้ป่วยยังสามารถบริหารยาได้เอง วิธีการดังกล่าวจึงเป็นที่ยอมรับของผู้ใช้ยา อย่างไรก็ตามยาบางชนิดอาจจะเกิดปัญหาด้านการดูดซึมที่ไม่สมบูรณ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งตัวยาสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ (active pharmaceutical ingredients; API) ที่จัดอยู่ในการจัดกลุ่มตัวยาตามสมบัติทางชีวเภสัชกรรมกลุ่ม 3 และ 4 (Biopharmaceutics Classification System (BCS) class III-IV) เนื่องจากภายในทางเดินอาหารมีตัวกีดขวางทางกายภาพ ได้แก่ เซลล์เยื่อบุทางเดินอาหารและชั้นเมือก รวมถึงตัวกีดขวางทางชีวเคมี เช่น เอนไซม์ ความเป็นกรด หรือจุลชีพในทางเดินอาหาร เป็นต้น ตัวกีดขวางการดูดซึมดังกล่าวทำให้เกิดการแปรสภาพหรือทำลายตัวยาสำคัญก่อนที่จะถูกดูดซึมหรือเรียกว่า “pre-systemic metabolism” ทำให้ชีวประสิทธิผล (bioavailability) ของยาหลายชนิดลดลง เช่น doxorubicin, paclitaxel ซึ่งเป็นกลุ่มยาเคมีบำบัด รวมถึงยาซึ่งมีโครงสร้างเป็นเปปไทด์และกรดนิวคลีอิก ส่งผลให้ผู้ป่วยไม่ได้รับประสิทธิผลจากการรักษาด้วยยาเมื่อให้ทางปาก (1)

ปัจจุบันมีการนำความรู้ทางเทคโนโลยีเภสัชกรรมมาพัฒนาระบบนำส่งยาในรูปแบบต่าง ๆ เพื่อเพิ่มชีวประสิทธิผลของยา เช่น การใช้เทคโนโลยีการเคลือบเม็ดยาแบบ enteric-coating หรือการใช้สารเพิ่มการดูดซึม (absorption enhancer) ในตำรับ โดยการใช้นาโนเทคโนโลยีเป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมและมีการศึกษาค้นคว้าวิจัยอย่างแพร่หลายเพื่อพัฒนาระบบนำส่งยาในรูปแบบที่ให้ทางปาก การใช้ระบบนำส่งยาระดับนาโนที่มีขนาดอนุภาคในช่วงประมาณ 10-200 nm มีข้อดีหลายประการ เช่น อนุภาคระดับนาโนสามารถปกป้องตัวยาสำคัญได้โดยเป็น carrier matrix ที่ทำหน้าที่กักเก็บตัวยา มีโครงสร้างระเกะระกะ (steric hindrance) ต่อการสัมผัสของตัวยาสำคัญกับเอนไซม์ต่าง ๆ จึงเป็นเกราะป้องกันมิให้เอนไซม์ในทางเดินอาหารแปรสภาพหรือทำลายตัวยาสำคัญได้โดยตรง รวมถึงการที่ระบบนำส่งยาสามารถแทรกผ่านชั้นเมือกในทางเดินอาหารได้อย่างรวดเร็วเนื่องจากมีขนาดที่เล็ก นอกจากนี้ยังมีการศึกษาวิจัยโดยใช้ระบบนำส่งยาระดับนาโนผนวกเข้ากับกลยุทธ์และเทคนิคต่าง ๆ เพื่อเพิ่มการดูดซึมยา เช่น การใช้ enzyme inhibitor, chelating agent หรือ multifunctional polymers ร่วมด้วยในระบบนำส่งยา เป็นต้น ซึ่งในบทความนี้จะขอกล่าวถึงระบบนำส่งยาระดับนาโน 2 รูปแบบคือ ระบบนำส่งยาระดับนาโนประเภทพอลิเมอร์ (polymer-based nanocarriers) และระบบนำส่งยาระดับนาโนประเภทไขมัน (lipid-based nanocarriers) ซึ่งมีการศึกษาวิจัยกันอย่างแพร่หลายเพื่อช่วยป้องกันการถูกทำลายของตัวยาสำคัญก่อนที่จะถูกดูดซึม

การแปรสภาพและถูกทำลายของตัวยาสำคัญก่อนถูกดูดซึม (Pre-systemic metabolism)

น้ำย่อย เอนไซม์หรือชีวโมเลกุลในระบบทางเดินอาหารของร่างกายเป็นสาเหตุของการถูกทำลายของตัวยาสำคัญก่อนที่จะถูกดูดซึมดังแสดงใน<u>ตารางที่ 1</u> เอนไซม์สำคัญที่หลั่งออกจากกระเพาะอาหารหรือลำไส้เล็กมายัง lumen ในทางเดินอาหาร เช่น pepsin, peptidase และเอนไซม์ซึ่งยึดเกาะกับ brush border membrane ของลำไส้เล็ก ได้แก่ carboxypeptidase, aminopeptidases เอนไซม์เหล่านี้ร่วมกับความเป็นกรดในกระเพาะอาหารจะทำหน้าที่ย่อยสลายยาเปปไทด์ จากโครงสร้างของยาที่มีมวลโมเลกุลใหญ่และมีความชอบน้ำ จะสามารถถูกดูดซึมได้ผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์ (paracellular pathway) เข้าสู่ systemic circulation ได้ แต่หากยาเปปไทด์มีการถูกดูดซึมผ่านเข้าสู่เซลล์เยื่อบุทางเดินอาหาร (transcellular pathway) ยาในกลุ่มนี้ก็ยังอาจถูกย่อยสลายภายในเซลล์ด้วยกระบวนการ proteolysis โดย lysosome หรือผ่าน ubiquitin-proteosome pathway (2)

เป็นที่ทราบกันดีกว่าเซลล์เยื่อบุลำไส้เล็กมีการแสดงออกของเอนไซม์ CYP3A ซึ่งทำหน้าที่ในกระบวนการเมแทบอลิซึมใน phase I ทำให้ยาหลายชนิดที่ถูกแปรสภาพผ่านเอนไซม์ชนิดนี้มีชีวประสิทธิผลที่ลดลง เช่น ยากดภูมิคุ้มกัน ได้แก่ cyclosporin, tacrolimus ยาต้านเชื้อไวรัส ได้แก่ saquinavir, indinavir ยากลุ่ม benzodiazepines ได้แก่ flurazepam, midazolam เป็นต้น นอกจากนี้เอนไซม์ใน phase II เช่น transferase ในกระบวนการ conjugation ซึ่งจะช่วยเพิ่มความมีขั้วและเพิ่มการขับออกของยาก็จะมีผลต่อชีวประสิทธิผลของยาในกลุ่มฮอร์โมน เช่น 17β-estradiol, testosterone หรือยาแก้ปวดกลุ่ม opioid drugs เช่น morphine (2)

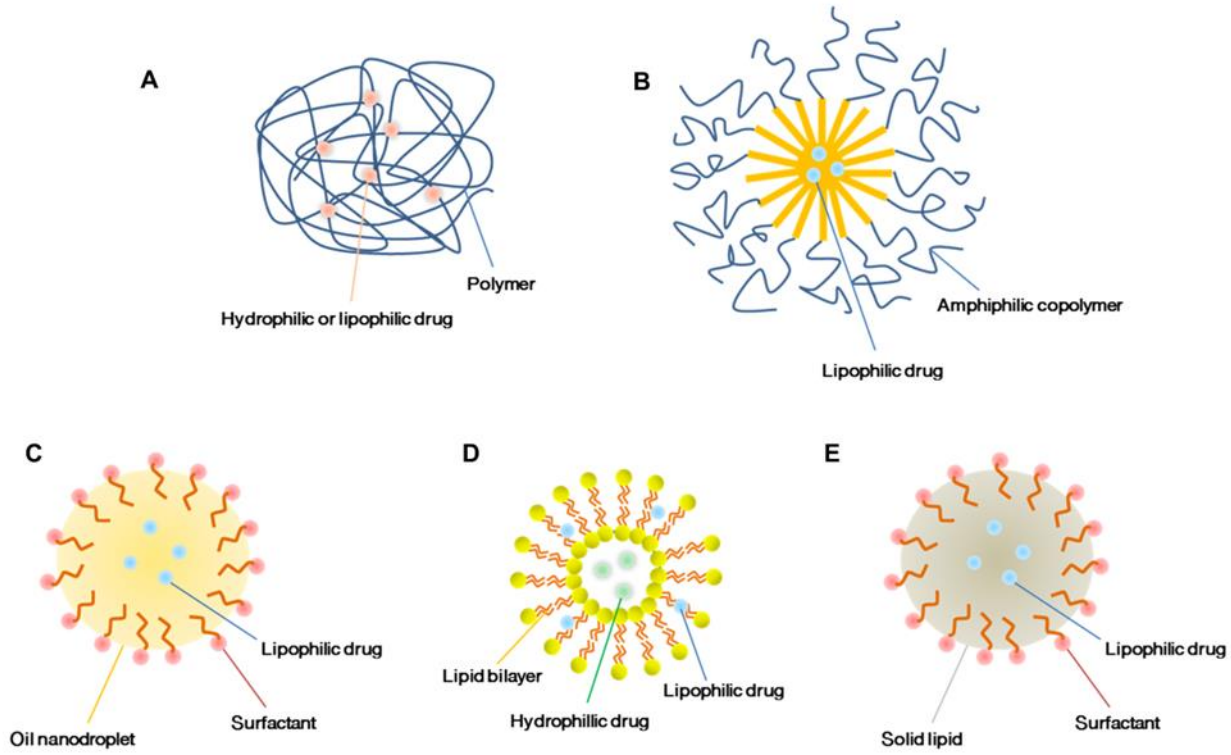
ภายในชั้นเมือกซึ่งปกคลุมเซลล์เยื่อบุทางเดินอาหารยังประกอบด้วยเส้นใยมิวซินซึ่งมีการ crosslink ด้วยพันธะ disulfide ในโครงสร้างหรือการที่มี endogenous glutathione ซึ่งมี sulfhydryl groups อยู่ในโครงสร้างอาจเกิดปฏิกิริยา thiol-disulfide exchange reaction ได้กับยาเปปไทด์ที่มีหมู่ thiol ที่เป็นอิสระหรือพันธะ disulfide ในโครงสร้าง เป็นผลให้ยาชนิดนั้นเสียสภาพไปได้ เช่น desmopressin (3) นอกจากนี้การที่ภายในลำไส้บริเวณ ileum เป็นที่อยู่ของเชื้อประจำถิ่น (normal flora) หลายชนิด เช่น Bacteroides, Bifidobacteria, Clostridia, Enterobacteria, Enterococci และ Lactobacilli เป็นต้น ก็จะมีผลต่อการแปรสภาพของยาปฏิชีวนะบางชนิด เช่น metronidazole และ sulfasalazine (1)

ตารางที่ 1 ตัวอย่างเอนไซม์หรือชีวโมเลกุลในระบบทางเดินอาหารของร่างกายซึ่งทำลายตัวยาสำคัญก่อนที่จะถูกดูดซึม (ดัดแปลงจากบทความปริทัศน์ของ Suchaoin และ Bernkop-Schnürch) (1)

เอนไซม์หรือชีวโมเลกุลที่เกี่ยวข้องในการแปรสภาพยา	**ตัวอย่าง**
Luminally secreted enzymes	Pepsin, trypsin, α-chymotrypsin, elastase, carboxypeptidase A/B, nucleases, lipases
Brush border membrane bound enzymes	Carboxypeptidase, aminopeptidases, glycosidases
Phase I metabolism	Cytochromes P450 (e.g. CYP3A)
Phase II metabolism	Transferases (e.g. uridine-diphosphate glucuronosyl transferases, sulfotransferases)
Cytosolic enzymes	Lysozyme, ubiquitin
Microbial enzymes	Microorganisms in GI tract (e.g. Bacteroides, Bifidobacteria, Clostridia, Enterobacteria, Enterococci and Lactobacilli)
Thiol-disulfide exchange reactions	Endogenous reduced glutathione, Exogenous thiol-bearing compounds (e.g. cysteine, N-acetyl cysteine, homocysteine, glutathione)

ระบบนำส่งยาระดับนาโน (nanocarriers)

ปัจจุบันระบบนำส่งยาระดับนาโนได้ถูกพัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ประโยชน์ในหลาย ๆ ด้าน เช่น นำส่งยาไปยังเป้าหมายเพื่อลดผลข้างเคียงหรือความเป็นพิษ ช่วยเพิ่มการละลายของยา ควบคุมอัตราการปลดปล่อยตัวยา หรือช่วยปรับปรุงเภสัชจลนศาสตร์ของยาให้ดียิ่งขึ้น โดยระบบนำส่งยาระดับนาโนในรูปแบบต่าง ๆ ที่มีการศึกษาวิจัยกันมากแสดงได้ดังรูปที่ 1 จากโครงสร้างและส่วนประกอบอาจแบ่งประเภทของระบบนำส่งยาได้ 2 รูปแบบหลักคือระบบนำส่งยาระดับนาโนประเภทพอลิเมอร์ (polymer-based nanocarriers) ได้แก่ polymeric nanoparticles และ polymeric micelles และระบบนำส่งยาระดับนาโนประเภทไขมัน (lipid-based nanocarriers) ได้แก่ self-emulsifying drug delivery systems หรือ SEDDS, liposomes และ solid lipid nanoparticles หรือ SLN (1)



<u>รูปที่ 1</u> โครงสร้างและส่วนประกอบของอนุภาคนำส่งยาระดับนาโนในรูปแบบต่าง ๆ ได้แก่ A) polymeric nanoparticles, B) polymeric micelles, C) self-emulsifying drug delivery systems หรือ SEDDS, D) liposomes และ E) solid lipid nanoparticles หรือ SLN (ดัดแปลงจากบทความปริทัศน์ของ Suchaoin และ Bernkop-Schnürch) (1)

ในแง่ของการพัฒนาระบบนำส่งยาทางปาก การใช้นาโนเทคโนโลยีมีข้อดีหลายประการ เนื่องจากการที่ระบบนำส่งยามีขนาดเล็กจึงสามารถแทรกผ่านชั้นเมือกได้อย่างรวดเร็วก่อนที่จะปลดปล่อยตัวยายังบริเวณผิวเยื่อบุทางเดินอาหารที่ทำหน้าที่ดูดซึมยา polymeric nanoparticles เป็นอนุภาคของแข็งที่มีโครงสร้างของสายพอลิเมอร์ที่มีลักษณะระเกะระกะทำให้ปกป้องตัวยาสำคัญที่บรรจุไว้ภายในจากการสัมผัสกับเอนไซม์หรือกรดในทางเดินอาหาร ในขณะที่ SEDDS หรือ SLN ซึ่งมีส่วนประกอบของไขมันจะทำหน้าที่ปกป้องตัวยาสำคัญจากเอนไซม์ที่มีความชอบน้ำ (1)

ระบบนำส่งยาระดับนาโนประเภทพอลิเมอร์ (polymer-based nanocarriers)

ลักษณะของพอลิเมอร์ที่พึงประสงค์สำหรับนำมาใช้ในระบบนำส่งยาระดับนาโนควรที่จะต้องสลายตัวได้ตามธรรมชาติ (biodegradable) เข้ากันได้กับร่างกาย (biocompatible) และไม่เกิดความเป็นพิษต่อร่างกาย พอลิเมอร์ที่นำมาใช้มักมาจากธรรมชาติ ได้แก่ chitosan, alginate เป็นต้น หรือเป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์หรือพอลิเมอร์ชนิดกึ่ง

สังเคราะห์ เช่น อนุพันธ์ของ cellulose, poly(d,l-lactic acid) (PLA), poly-**ε**-caprolactone (PCL) และ poly (d,l-lactic-co-glycolic acid) (PLGA) เป็นต้น (4)

กรณี polymeric nanoparticles มีกลไกในการปลดปล่อยตัวยาที่บรรจุไว้โดยหากพอลิเมอร์สามารถสลายตัวได้ในร่างกาย การปลดปล่อยตัวยาจะเกิดขึ้นเมื่อพันธะในสายพอลิเมอร์ เช่น พันธะ ester, amide หรือ anhydride เกิดปฏิกิริยา hydrolysis หรือพอลิเมอร์ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทำให้เกิดการกร่อนของผิวหรือส่วนที่กักเก็บยาในระบบนำส่งยา (surface/matrix erosion) แต่หากเป็นพอลิเมอร์ชนิดที่ไม่สลายตัว เช่น poly(acrylic acid) (PAA) การปลดปล่อยตัวยามักเป็นแบบการแพร่ของสารแบบ passive diffusion ซึ่งอัตราในการปลดปล่อยตัวยาจะขึ้นกับปริมาณหรือความเข้มข้นของยาซึ่งบรรจุไว้ในระบบนำส่งยา (5)

อีกปัจจัยหนึ่งที่ต้องคำนึงถึงในการออกแบบระบบนำส่งยาคือ ชั้นเมือกที่ปกคลุมเยื่อบุทางเดินอาหาร เนื่องจากค่าความเป็นกรด-เบสหรือ pH ในชั้นเมือกมักจะมี pH ที่ค่อนข้างเป็นกลางจนถึงเบสเล็กน้อย โดย pH ของชั้นเมือกที่กระเพาะอาหาร, ลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่เท่ากับ 6.4, 5.5–7.5 และประมาณ 7.0 ตามลำดับ (4) ชั้นเมือกจึงสามารถปกป้องเซลล์เยื่อบุทางเดินอาหารจากน้ำย่อยในทางเดินอาหาร เนื่องจากฤทธิ์ของเอนไซม์ เช่น pepsin จะถูก deactivate ที่ pH ดังกล่าว (6) ดังนั้นการใช้ระบบนำส่งยาระดับนาโนที่สามารถแทรกผ่านชั้นเมือกได้รวดเร็วจึงช่วยลดโอกาสที่ยาเปปไทด์จะสัมผัสกับเอนไซม์ในทางเดินอาหาร เป็นที่มาของการใช้ระบบนำส่งยาแบบ polymeric nanoparticles ที่สามารถแทรกผ่านชั้นเมือกได้ดียิ่งขึ้น (mucopenetrating particles) (4) เช่น

- การใช้พอลิเมอร์ที่มีประจุลบหรือไม่มีประจุเคลือบบนผิวอนุภาคที่บรรจุยาไว้ ทำให้ผิวอนุภาคลื่นและเคลื่อนที่ในชั้นเมือกได้อย่างอิสระ เนื่องจากเส้นใยมิวซินในชั้นเมือกมีประจุลบ ตัวอย่างของพอลิเมอร์ที่มีใช้ได้แก่ polyethylene glycol และ poloxamer (4)
- Virus-mimicking nanoparticles เป็นอนุภาคที่เลียนแบบลักษณะของไวรัส คือมีประจุบวกและประจุลบอยู่ที่ผิวของอนุภาคอย่างหนาแน่น ทำให้ประจุรวมที่ผิวของอนุภาคเป็นศูนย์ และแทรกผ่านชั้นเมือกได้ดี (7)
- Zeta-potential changing nanoparticles เป็นอนุภาคที่สามารถเปลี่ยนประจุโดยอาศัย intestinal alkaline phosphatase (IAP) ในทางเดินอาหาร อนุภาคประเภทนี้เกิดจากพอลิเมอร์ที่มีประจุบวกเชื่อมกับพอลิเมอร์ที่ประจุลบและมี IAP substrate เช่น 6-phosphogluconic acid หรือ glucosamine-6-phosphate เป็นส่วนประกอบของระบบนำส่งยาทำให้ศักย์ซีต้าที่ผิวอนุภาคเป็นประจุลบซึ่งแทรกผ่านชั้นเมือกได้ดี เมื่ออนุภาคสัมผัสกับเอนไซม์ IAP จะเกิดการตัดพันธะที่เชื่อมหมู่ฟอสเฟตออกไป ทำให้

ประจุที่ผิวเปลี่ยนเป็นบวกที่จะช่วยตรึงอนุภาคไว้ที่พื้นผิวของเซลล์เยื่อบุที่ดูดซึมยา เนื่องจากองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์คือ phospholipid ที่มีประจุลบ (8)

- การใช้พอลิเมอร์ที่เชื่อมต่อกับเอนไซม์ เช่น เอนไซม์ bromelain หรือ papain ในการสังเคราะห์ polymeric nanoparticles โดยเอนไซม์จะทำหน้าที่ลดความหนืดของชั้นเมือกทำให้อนุภาคแพร่ผ่านชั้นเมือกไปได้รวดเร็วขึ้น แต่การใช้วิธีนี้ไม่เหมาะกับการบรรจุตัวยาสำคัญที่เป็นยาเปปไทด์ (9)

การพัฒนาระบบนำส่งยาระดับนาโนได้มีการนำเทคนิคต่าง ๆ ที่ใช้ปกป้องตัวยาสำคัญจากการทำลายโดยเอนไซม์ในทางเดินอาหารสรุปดังใน<u>ตารางที่ 2</u> พอลิเมอร์บางชนิดสามารถยับยั้งเอนไซม์ เช่น poly(acrylates), polycarbophil สามารถยับยั้ง activity ของเอนไซม์ trypsin ได้ หรือการใช้ thiolated polymers ใน polymeric nanoparticles ก็มีผลปกป้องตัวยาสำคัญจากเอนไซม์ เช่น trypsin, α-chymotrypsin หรือ elastase ได้ (10) และ thiolated polymer ยังมีสมบัติอื่น ๆ ในการเพิ่มการดูดซึมตัวยาสำคัญได้แก่ การเปิด tight junction ซึ่งเป็นโครงสร้างกีดขวางการดูดซึมยาระหว่างเซลล์และความสามารถในการยับยั้ง P-glycoprotein ซึ่งเป็น efflux transporter บนผิวเซลล์ลำไส้ที่ทำหน้าที่ขับยาที่ถูกดูดซึมออกไปทาง lumen ของทางเดินอาหาร (11) นอกจากนี้การใช้ chelating agent เช่น ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) หรือ diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) จะเกิด chelation กับ divalent ion เช่น Ca^{2+}, Zn^{2+} ซึ่งเป็น co-factor ของเอนไซม์ต่าง ๆ เช่น เอนไซม์ protease จึงทำให้สารดังกล่าวสามารถยับยั้ง activity ของเอนไซม์ได้ (12)

<u>ตารางที่ 2</u> ตัวอย่างเทคนิคที่ใช้เพื่อปกป้องตัวยาสำคัญจากการทำลายโดยเอนไซม์ในทางเดินอาหาร (ดัดแปลงจากบทความปริทัศน์ของ Suchaoin และ Bernkop-Schnürch) (1)

เทคนิค	**กลไกในการปกป้องตัวยาสำคัญ**	**ตัวอย่าง**
การเคลือบฟิล์มชนิด enteric-coating	ปกป้องตัวยาสำคัญมิให้สัมผัสกับเอนไซม์หรือกรดในกระเพาะอาหารโดยตรง	พอลิเมอร์ เช่น poly (acrylates), polycarbophil
การใช้ enzyme inhibitor	ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ที่ทำลายยาโดยตรง	Antipain, elastatinal, Bowman-Birk inhibitor, soybean trypsin inhibitor, aprotinin

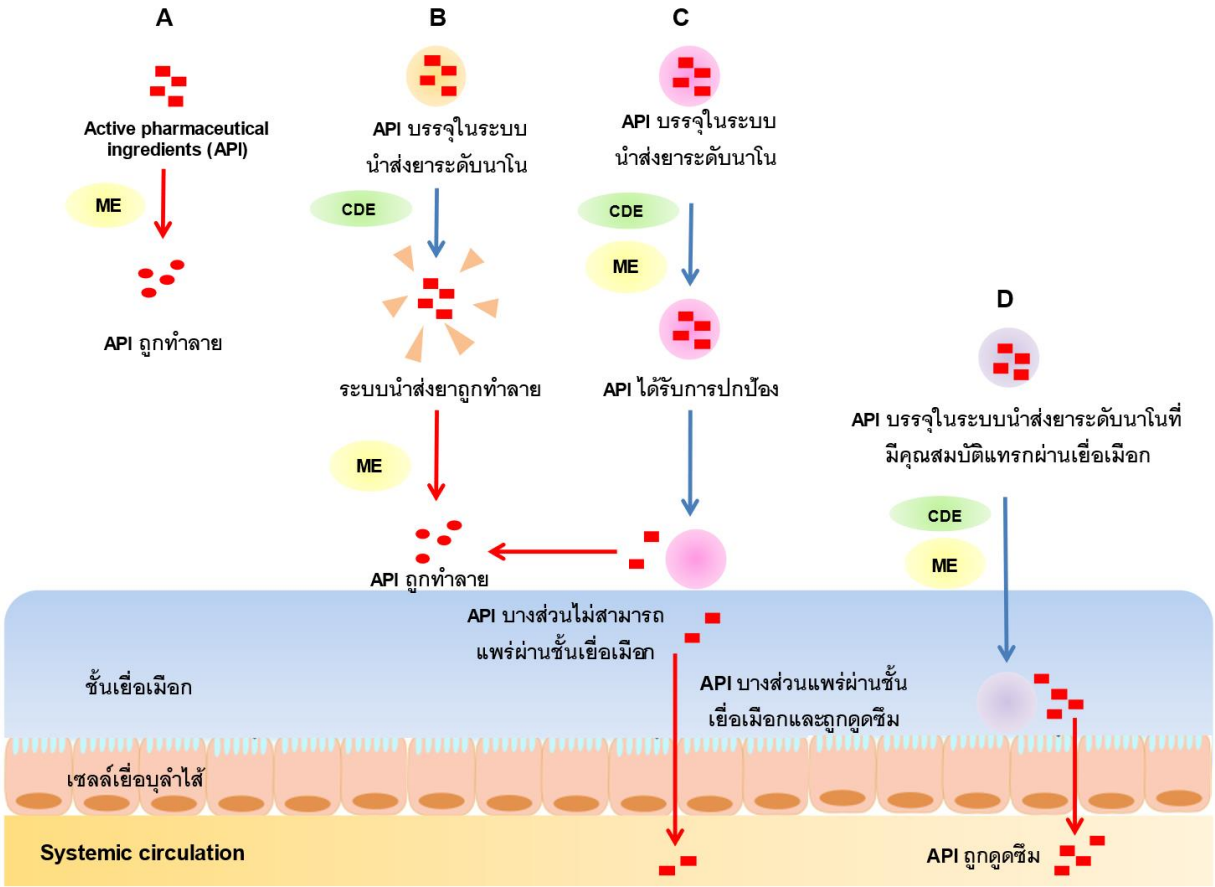
การใช้สารประกอบเชิงซ้อน (complexing agents)	ยับยั้งเอนไซม์ที่ทำลายตัวยาสำคัญแบบไม่แข่งขัน (non-competitive inhibition) โดยเกิด chelation กับ co-factor ของเอนไซม์ เช่น Ca^{2+}, Zn^{2+}	Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA)
การใช้ multifunctional polymer	โมเลกุลของ L-cysteine หรือหมู่ thiol บนสายพอลิเมอร์จับกับ co-factors ของเอนไซม์ที่ทำลายตัวยาสำคัญ รวมถึงการยับยั้ง P-gp บนผิวเซลล์ผนังลำไส้	Thiolated polymers
การทำให้อยู่ในรูป prodrug	ปกป้อง terminal carboxylic group หรือ amino group ของยาโครงสร้างโปรตีนหรือเปปไทด์จากการย่อยโดยเอนไซม์ด้วยความระเกะระกะของโครงสร้าง (steric hindrance)	สังเคราะห์ยาซึ่งมีโครงสร้างโปรตีนหรือเปปไทด์ให้อยู่ในรูปอนุพันธ์ต่าง ๆ (derivatization) หรือสังเคราะห์โดยปฏิกิริยา cyclization
การใช้ absorption enhancer ในตำรับ	ทำหน้าที่เป็น buffer ช่วยลดความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร เอนไซม์ที่ต้องอาศัยความเป็นกรด (เช่น pepsin) จึงไม่สามารถทำงานได้ รวมถึงเพิ่มความชอบไขมันของยาที่มีโครงสร้างเป็นเปปไทด์	Sodium N-[8-(2-hydroxybenzoyl) amino caprylate (SNAC)

Polymeric micelles เกิดจาก amphiphilic block copolymer ที่รวมตัวกันเอง (self-assembly process) ในน้ำ โดยบริเวณแกนกลางของ micelles จะมีความชอบไขมันซึ่งเหมาะกับการกักเก็บยาที่ละลายน้ำได้น้อย เช่น doxorubicin หรือ paclitaxel โดยมีเปลือกหรือ shell เป็นส่วนที่ชอบน้ำภายนอก พอลิเมอร์ที่นิยมใช้ในส่วนที่ชอบไขมันได้แก่ poly(d,l-lactic acid) (PLA), poly-**ε**-caprolactone (PCL) และ poly(d,l-lactic-co-glycolic acid) (PLGA) ส่วนพอลิเมอร์ที่นิยมใช้เป็นส่วนที่ชอบน้ำได้แก่ poly(ethylene glycol) (PEG) และ poly(N-vinyl pyrrolidone) (PVP) (13) โดยกลไกการปลดปล่อยตัวยาสำคัญที่ห่อหุ้มไว้จะขึ้นอยู่กับพอลิเมอร์ที่ใช้และเอนไซม์ในทางเดินอาหารได้แก่ lipase และ proteinase ตัวอย่างเช่น เอนไซม์ lipase สามารถย่อย monomethoxy-poly(ethylene glycol)-b-poly(**ε**-caprolactone) diblock copolymers (MPEG–PCL)

micelles และทำให้เกิดการปลดปล่อยตัวยาที่ห่อหุ้มไว้ได้ (14) จากงานวิจัยพบว่าการบรรจุ insulin ใน micelles ที่มีส่วนประกอบของ PEG-b-poly(aspartic acid-co-aspartamidophenylboronic acid) และ PNIPAM-b-poly(aspartic acid-co-aspartamidophenylboronic acid) สามารถช่วยปกป้องตัวยาสำคัญจากการย่อยด้วย trypsin ได้ (15) โดยสิ่งที่ต้องคำนึงเมื่อพัฒนาระบบนำส่งยารูปแบบนี้รวมถึง liposome ด้วยคือค่า critical micelle concentration (CMC) ซึ่งหมายถึงความเข้มข้นน้อยที่สุดของสารลดแรงตึงผิวที่ก่อให้เกิด micelles ซึ่งสัมพันธ์กับความเสถียรของระบบนำส่งยา โดยปกติแล้ว polymeric micelles มักมีค่า CMC ที่ต่ำกว่า micelles ที่เกิดจากสารลดแรงตึงผิวที่มีมวลโมเลกุลต่ำจึงมีความเสถียรที่มากกว่า (16) แต่อย่างไรก็ตาม การใช้ระบบนำส่งยาในรูปแบบนี้ผ่านทางปากอาจเกิดการเจือจางของอนุภาคอย่างรวดเร็วด้วยน้ำย่อยหรือของเหลวต่าง ๆ ในทางเดินอาหาร ทำให้เกิดการสลายของ micelles และปลดปล่อยตัวยาสำคัญที่กักเก็บไว้ก่อนที่ระบบนำส่งยาจะเข้าถึงบริเวณเซลล์เยื่อบุทางเดินอาหารที่ดูดซึมยา ซึ่งเป็นผลให้ตัวยาสำคัญถูกทำลายโดยเอนไซม์ในทางเดินอาหารได้

ระบบนำส่งยาระดับนาโนประเภทไขมัน (lipid-based nanocarriers)

SEDDS เป็นระบบนำส่งยาอิมัลชันชนิดเกิดขึ้นเอง ประกอบด้วยตัวยาสำคัญ ไขมัน สารก่ออิมัลชัน (emulsifier) ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิว และ/หรือตัวทำละลายร่วม โดยระบบนำส่งยาจะเป็นของเหลวที่บรรจุในแคปซูลชนิดเปลือกนิ่มหรือรูปแบบอื่น ๆ เมื่อรับประทานเข้าไประบบนำส่งยาจะสัมผัสกับของเหลวในทางเดินอาหาร ได้แก่ น้ำย่อยต่าง ๆ และน้ำดี ร่วมกับการที่ทางเดินอาหารมีกระบวนการเคลื่อนไหวแบบ peristalsis ทำให้เกิดอิมัลชันชนิด oil in water (O/W) ขึ้น (1) ระบบนำส่งยาประเภทนี้มีข้อดีในการช่วยเพิ่มการละลายของตัวยาซึ่งมีความชอบไขมันสูง และสามารถแทรกผ่านชั้นเมือกได้อย่างรวดเร็ว แต่อย่างไรก็ตามส่วนประกอบของระบบนำส่งยาก็จะมีผลต่อการปลดปล่อยตัวยา เช่น ชนิดของสารก่ออิมัลชันใน SEDDS โดยพบว่าหากใช้สารก่ออิมัลชันที่เป็นสารตั้งต้นหรือถูกย่อยได้ด้วยเอนไซม์ lipase เช่น Captex® 8000 (glyceryl tricaprylate) หรือ Capmul® MCM (glyceryl caprylate/caprate) จะเกิดการปลดปล่อยตัวยาได้เร็วกว่าสูตรตำรับที่ใช้ Labrafil® 1944 (oleoyl polyoxyl-6 glycerides) หรือ Capmul® PG-8 (propylene glycol monocaprylate) เป็นสารก่ออิมัลชัน (17) ซึ่งลักษณะของการปลดปล่อยตัวยาควรที่จะเกิดขึ้นเมื่อระบบนำส่งยาถึงบริเวณดูดซึมยาตามรูปที่ 2 เพราะการปลดปล่อยตัวยาก่อนที่ระบบนำส่งยาจะผ่านชั้นเมือกเข้าสู่เซลล์เยื่อบุทางเดินอาหารจะทำให้ตัวยาสำคัญถูกทำลายก่อนถูกดูดซึม



<u>รูปที่ 2</u> แผนภาพแสดงการปลดปล่อยตัวยาสำคัญจากระบบนำส่งยาระดับนาโนและการดูดซึมยาผ่านเซลล์เยื่อบุในทางเดินอาหาร A) ตัวยาสำคัญ (active pharmaceutical ingredients; API) ซึ่งถูกทำลายโดนเอนไซม์ในทางเดินอาหาร (ME; metabolizing enzymes) B) ตัวยาสำคัญซึ่งบรรจุในระบบนำส่งยาระดับนาโนที่ไม่ทนต่อเอนไซม์ในทางเดินอาหาร (CDE; carrier-degrading enzymes) ทำให้ตัวยาสำคัญถูกทำลาย C) ตัวยาสำคัญซึ่งบรรจุในระบบนำส่งยาระดับนาโนที่ทนต่อเอนไซม์ แต่ตัวยาสำคัญบางส่วนถูกปลดปล่อยออกจากระบบนำส่งยาและถูกทำลายโดยเอนไซม์ก่อนที่จะแพร่ผ่านชั้นเมือกแบบ passive diffusion D) ตัวยาสำคัญซึ่งบรรจุในระบบนำส่งยาระดับนาโนที่สามารถแพร่ผ่านชั้นเมือก ทำให้ตัวยาถูกปลดปล่อยออกมายังบริเวณผิวเซลล์เยื่อบุที่ใช้ในการดูดซึม ทำให้การดูดซึมยามีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น (ดัดแปลงจากบทความปริทัศน์ของ Suchaoin และ Bernkop-Schnürch) (1)

ระบบนำส่งยาประเภทไขมันนอกจากจะช่วยปกป้องตัวยาสำคัญจากการสัมผัสกับเอนไซม์ต่าง ๆ ที่มีความชอบน้ำแล้ว สารลดแรงตึงผิวหลายๆ ชนิดที่ใช้ในระบบนำส่งยาประเภทไขมันยังสามารถยับยั้ง CYP3A ได้ เช่น Cremophor® RH40 (PEG-40 hydrogenated castor oil), Cremophor® EL (PEG-35 castor oil) และ polysorbate 80 (18) ตัวอย่างที่น่าสนใจและประสบความสำเร็จในการนำส่งยาเปปไทด์ทางปาก คือการใช้

absorption enhancer ประเภท fatty acid ได้แก่ sodium N-[8-(2-hydroxybenzoyl) amino caprylate (SNAC) เพื่อช่วยเพิ่มการดูดซึมตัวยา oral semaglutide ซึ่งเป็น GLP-1 analog ที่ใช้ในการรักษาเบาหวานโดยออกฤทธิ์กระตุ้นการหลั่ง insulin โดย SNAC ทำหน้าที่เป็น buffer ช่วยลดความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร จึงทำให้เอนไซม์ pepsin สูญเสีย activity ในการทำลายตัวยา รวมถึงเพิ่มความชอบไขมันของยาที่มีโครงสร้างเป็นเปปไทด์และช่วยเพิ่มการดูดซึมยาผ่าน transcellular pathway ได้ในที่สุด จึงเป็น absorption enhancer อีกชนิดหนึ่งที่มีความน่าสนใจเพื่อนำมาใช้ในระบบนำส่งยาประเภทไขมัน (19)

การเลือกใช้ส่วนประกอบในระบบนำส่งยามีความสำคัญต่อชีวประสิทธิผลของยาเป็นอย่างมาก ตัวอย่างของระบบนำส่งยาในรูปแบบ SEDDS ที่วางจำหน่ายในท้องตลาดคือ cyclosporin gelatin capsule (Neoral®) ซึ่งเมื่อให้ทางปากสามารถก่อ microemulsion ได้ในทางเดินอาหาร ทำให้มีชีวประสิทธิผลที่เหนือกว่า standard formulation (Sandimmune®) และมีความแปรผันของการดูดซึมที่น้อยกว่าอีกด้วย (20) Neoral® มีการใช้ corn oil-mono-di-triglyceride ในตำรับและมีการเปลี่ยนสารก่ออิมัลชันเป็น Cremophor® RH40 จาก Labrafil® M-2125CS (linoleoyl polyoxyl-6 glycerides) ใน standard formulation จึงทำให้ Neoral® ก่ออิมัลชันที่มีขนาดของ droplet ที่เล็กกว่า นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพัฒนา SEDDS เพื่อนำส่งยาเปปไทด์ เช่น leuprolide acetate ซึ่งจัดเป็น gonadotropin-releasing hormone (GnRH) analog หรือยาปฏิชีวนะ daptomycin โดยใช้เทคนิค ion-pairing เพื่อเพิ่มความชอบไขมันของยาและบรรจุในระบบนำส่งยา ก็พบว่า SEDDS สามารถช่วยปกป้องตัวยาสำคัญจากเอนไซม์ เช่น trypsin, α-chymotrypsin ได้ (21, 22) แต่อย่างไรก็ตามระบบนำส่งยาดังกล่าวมีส่วนประกอบของ surfactant และ/หรือ co-surfactant ซึ่งอาจก่อให้เกิดความเป็นพิษหรือระคายเคืองได้หากใช้ในปริมาณที่มากเกินไป

ระบบนำส่งยาในรูปแบบ liposome ประกอบด้วย lipid bilayer ที่ประกอบด้วย phospholipid เรียงตัวสองชั้นล้อมรอบแกนกลางที่สามารถบรรจุตัวยาที่มีชอบน้ำสูงได้ดี ส่วนตัวยาที่ชอบไขมันจะถูกกักเก็บไว้ได้ภายใน lipid bilayer (1) ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ในรูปแบบ liposome ที่มีวางจำหน่ายได้แก่ liposomal doxorubicin (Caelyx®) และ liposomal amphotericin B (Ambisome®) ซึ่งยาทั้งสองชนิดในรูปแบบ liposome มีความเป็นพิษของยาลดลงเมื่อเทียบกับ conventional dosage form ในแง่ของการศึกษาวิจัย liposome สำหรับการบริหารยาทางปาก พบว่าการใช้ bile salt ในระบบนำส่งยามีผลเพิ่มความคงตัวของ liposome โดยมีประสิทธิภาพในการปกป้อง insulin ซึ่งเป็นยาเปปไทด์จากเอนไซม์ pepsin, trypsin และ α-chymotrypsin ซึ่งการใช้ sodium glycocholate มีประสิทธิภาพในการปกป้องตัวยาสำคัญที่ดีกว่า sodium taurocholate และ sodium

deoxycholate (23) รวมถึงมีการศึกษาการใช้เทคนิคการเคลือบผิว liposome ด้วย chitosan หรือ carbopol ที่สามารถยึดติดเยื่อเมือก (mucoadhesive properties) ได้ดีมากขึ้น จึงมีผลเพิ่มชีวประสิทธิผลของตัวยาสำคัญ เช่น insulin หรือ calcitonin ได้ (24, 25) แต่อย่างไรก็ตาม ข้อด้อยของ liposome คือการรั่วของตัวยาสำคัญที่ชอบน้ำออกสู่ภายนอก และในเรื่องของความคงตัวของ liposome ที่อาจเกิด aggregation หรือมีการเปลี่ยนแปลงของขนาดของ liposome ก่อนถึงเป้าหมาย

SLN เป็นอนุภาคนาโนไขมันที่ประกอบด้วยไขมันแข็ง (solid lipid) เช่น triglycerides และส่วนผสมของ glycerides, fatty acid, หรือ wax ที่เป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้องหรืออุณหภูมิของร่างกาย ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว 0.5-5% โดยอนุภาคกระจายตัวใน aqueous phase การเตรียม SLN สามารถทำได้หลายวิธี เช่น วิธีปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวด้วยความดันสูงที่อุณหภูมิสูง (hot high-pressure homogenization) หรือที่อุณหภูมิต่ำ (cold high-pressure homogenization), หรือวิธีก่ออิมัลชันแบบ water-in-oil-in-water (W/O/W) double emulsion หรือวิธีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น solvent emulsification diffusion เป็นต้น (1) สำหรับการพัฒนา SLN เพื่อนำส่งยาทางปาก พบว่า SLN สามารถควบคุมการปลดปล่อยตัวยาสำคัญได้ดีโดยเฉพาะอย่างยิ่งตัวยาที่ชอบไขมัน ทำให้มีการปลดปล่อยตัวยาแบบออกฤทธิ์เนิ่น (sustained release) โดยการใช้ triglyceride ประเภท long-chain fatty acid จะลดอัตราเร็วของการสลาย SLN โดยเอนไซม์ lipase และชนิดของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้มีผลต่อการสลายและปลดปล่อยตัวยาสำคัญจาก SLN เช่น การใช้ sodium cholate จะเร่งการสลายแต่การใช้ Poloxamer 407 ในตำรับจะลดอัตราเร็วของการสลาย SLN (26) นอกจากนี้การเคลือบผิวอนุภาคด้วยสารต่าง ๆ ก็จะมีผลต่อการปลดปล่อยตัวยาสำคัญด้วย เช่น การใช้ PEG-stearate เป็นสารเคลือบสามารถช่วยป้องกัน particle aggregation และลดอัตราการสลายของ SLN ที่บรรจุ insulin จาก simulated gastric fluid และ simulated intestinal fluid ได้ (27) ในขณะที่การเคลือบ SLN ที่บรรจุ calcitonin ด้วย chitosan จะให้ผลในการยึดเกาะกับชั้นเมือกที่ดีกว่าการใช้ PEG นอกจากนี้ chitosan สามารถเปิด tight junction ได้จึงส่งผลให้การดูดซึม calcitonin เพิ่มมากขึ้น (28) ข้อควรพิจารณาสำหรับการใช้ SLN เป็นระบบนำส่งยาคือปริมาณของยาที่บรรจุ (drug loading capacity) โดยสามารถบรรจุยาที่ชอบน้ำได้น้อย และปริมาณของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้จะต้องใช้ปริมาณที่เหมาะสมเพื่อไม่ให้เกิดความเป็นพิษหรือระคายเคืองต่อร่างกาย

บทสรุป

การพัฒนาระบบนำส่งยาระดับนาโนในรูปแบบที่ให้ทางปากมีประโยชน์ในแง่ของการปกป้องตัวยาสำคัญจากการถูกทำลายในระบบทางเดินอาหารก่อนที่ยาจะถูกดูดซึม จากโครงสร้างและส่วนประกอบของระบบนำส่งยาอาจแบ่งประเภทได้ 2 รูปแบบหลักคือระบบนำส่งยาระดับนาโนประเภทพอลิเมอร์ ได้แก่ polymeric nanoparticles และ polymeric micelles และระบบนำส่งยาระดับนาโนประเภทไขมัน ได้แก่ self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS), liposomes และ solid lipid nanoparticles (SLN) โดยระบบนำส่งยาเหล่านี้มีกลไกในการปกป้องตัวยาสำคัญหลายกลไก ได้แก่ การปกป้องการสัมผัสกับเอนไซม์โดยตรงจากความระเกะระกะของโครงสร้างหรือจากความชอบไขมันของระบบนำส่งยา หรือการที่ส่วนประกอบของระบบนำส่งยาสามารถยับยั้ง activity ของเอนไซม์ในทางเดินอาหาร นอกจากนี้ยังมีการนำเทคนิคต่าง ๆ มาใช้เพิ่มเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการปกป้องตัวยาสำคัญหรือเพิ่มการดูดซึมของตัวยาสำคัญมากขึ้น ได้แก่ การใช้เทคนิคที่เพิ่มความสามารถในการแทรกผ่านชั้นเมือกของอนุภาคนาโน เช่น อนุภาคที่สามารถเปลี่ยนประจุที่พื้นผิวหรือมีความสามารถในการลดความหนืดของชั้นเมือก รวมถึงการใช้ส่วนประกอบที่ช่วยเพิ่มการดูดซึมของตัวยาสำคัญ เป็นต้น ซึ่งการวิจัยและพัฒนาระบบนำส่งยาระดับนาโนในรูปแบบที่ให้ทางปากนั้นจะช่วยเพิ่มชีวประสิทธิผลของยาที่ดูดซึมได้น้อยในทางเดินอาหาร เป็นผลให้เพิ่มความร่วมมือในการใช้ยาของผู้ป่วยได้

เอกสารอ้างอิง

1.Suchaoin W, Bernkop-Schnürch A. Nanocarriers protecting toward an intestinal pre-uptake metabolism. Nanomedicine (Lond). 2017;12(3):255-69.

2.Pereira de Sousa I, Bernkop-Schnürch A. Pre-systemic metabolism of orally administered drugs and strategies to overcome it. J Control Release. 2014;192:301-9.

3.Zupančič O, Leonaviciute G, Lam HT, Partenhauser A, Podričnik S, Bernkop-Schnürch A. Development and in vitro evaluation of an oral SEDDS for desmopressin. Drug Deliv. 2016;23(6):2074-83.

4.Netsomboon K, Bernkop-Schnürch A. Mucoadhesive vs. mucopenetrating particulate drug delivery. Eur J Pharm Biopharm. 2016;98:76-89.

5.Kamaly N, Yameen B, Wu J, Farokhzad OC. Degradable Controlled-Release Polymers and Polymeric Nanoparticles: Mechanisms of Controlling Drug Release. Chem Rev. 2016;116(4):2602-63.

6.Ensign LM, Cone R, Hanes J. Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: the gastrointestinal mucus barriers. Adv Drug Deliv Rev. 2012;64(6):557-70.

7.Pereira de Sousa I, Steiner C, Schmutzler M, Wilcox MD, Veldhuis GJ, Pearson JP, et al. Mucus permeating carriers: formulation and characterization of highly densely charged nanoparticles. Eur J Pharm Biopharm. 2015;97(Pt A):273-9.

8.Suchaoin W, Mahmood A, Netsomboon K, Bernkop-Schnürch A. Zeta-potential-changing nanoparticles conjugated with cell-penetrating peptides for enhanced transfection efficiency. Nanomedicine (Lond). 2017;12(9):963-75.

9.Pereira de Sousa I, Cattoz B, Wilcox MD, Griffiths PC, Dalgliesh R, Rogers S, Bernkop-Schnürch A. Nanoparticles decorated with proteolytic enzymes, a promising strategy to overcome the mucus barrier. Eur J Pharm Biopharm. 2015;97(Pt A):257-64.

10.Perera G, Greindl M, Palmberger TF, Bernkop-Schnürch A. Insulin-loaded poly(acrylic acid)-cysteine nanoparticles: stability studies towards digestive enzymes of the intestine. Drug Deliv. 2009;16(5):254-60.

11.Bonengel S, Bernkop-Schnürch A. Thiomers--from bench to market. J Control Release. 2014;195:120-9.

12.Bernkop-Schnürch A, Freudl J. Comparative in vitro study of different chitosan-complexing agent conjugates. Pharmazie. 1999;54(5):369-71.

13.Sinani G, Durgun ME, Cevher E, Özsoy Y. Polymeric-Micelle-Based Delivery Systems for Nucleic Acids. Pharmaceutics. 2023;15(8).

14.Jiang Z, Zhu Z, Liu C, Hu Y, Wu W, Jiang X. Non-enzymatic and enzymatic degradation of poly(ethylene glycol)-b-poly(ε-caprolactone) diblock copolymer micelles in aqueous solution. Polymer. 2008;49(25):5513-9.

15.Liu G, Ma R, Ren J, Li Z, Zhang H-x, Zhang Z, et al. A glucose-responsive complex polymeric micelle enabling repeated on–off release and insulin protection. Soft Matter. 2013;9:1636-44.

16.Ghezzi M, Pescina S, Padula C, Santi P, Del Favero E, Cantù L, Nicoli S. Polymeric micelles in drug delivery: An insight of the techniques for their characterization and assessment in biorelevant conditions. Journal of Controlled Release. 2021;332:312-36.

17.Zupančič O, Grieβinger JA, Rohrer J, Pereira de Sousa I, Danninger L, Partenhauser A, et al. Development, in vitro and in vivo evaluation of a self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) for oral enoxaparin administration. Eur J Pharm Biopharm. 2016;109:113-21.

18.Zhao G, Huang J, Xue K, Si L, Li G. Enhanced intestinal absorption of etoposide by self-microemulsifying drug delivery systems: Roles of P-glycoprotein and cytochrome P450 3A inhibition. European Journal of Pharmaceutical Sciences. 2013;50(3):429-39.

19.Kim JC, Park EJ, Na DH. Gastrointestinal Permeation Enhancers for the Development of Oral Peptide Pharmaceuticals. Pharmaceuticals (Basel). 2022;15(12).

20.Coukell AJ, Plosker GL. Cyclosporin microemulsion (Neoral). A pharmacoeconomic review of its use compared with standard cyclosporin in renal and hepatic transplantation. Pharmacoeconomics. 1998;14(6):691-708.

21.Hintzen F, Perera G, Hauptstein S, Müller C, Laffleur F, Bernkop-Schnürch A. In vivo evaluation of an oral self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) for leuprorelin. International Journal of Pharmaceutics. 2014;472(1):20-6.

22.Zupančič O, Partenhauser A, Lam HT, Rohrer J, Bernkop-Schnürch A. Development and in vitro characterisation of an oral self-emulsifying delivery system for daptomycin. European Journal of Pharmaceutical Sciences. 2016;81:129-36.

23.Niu M, Lu Y, Hovgaard L, Wu W. Liposomes containing glycocholate as potential oral insulin delivery systems: preparation, in vitro characterization, and improved protection against enzymatic degradation. Int J Nanomedicine. 2011;6:1155-66.

24.Takeuchi H, Yamamoto H, Niwa T, Hino T, Kawashima Y. Enteral absorption of insulin in rats from mucoadhesive chitosan-coated liposomes. Pharm Res. 1996;13(6):896-901.

25.Takeuchi H, Matsui Y, Yamamoto H, Kawashima Y. Mucoadhesive properties of carbopol or chitosan-coated liposomes and their effectiveness in the oral administration of calcitonin to rats. Journal of Controlled Release. 2003;86(2):235-42.

26.Olbrich C, Müller RH. Enzymatic degradation of SLN—effect of surfactant and surfactant mixtures. International Journal of Pharmaceutics. 1999;180(1):31-9.

27.García-Fuentes M, Torres D, Alonso MJ. Design of lipid nanoparticles for the oral delivery of hydrophilic macromolecules. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2003;27(2):159-68.

28.Garcia-Fuentes M, Prego C, Torres D, Alonso MJ. A comparative study of the potential of solid triglyceride nanostructures coated with chitosan or poly(ethylene glycol) as carriers for oral calcitonin delivery. European Journal of Pharmaceutical Sciences. 2005;25(1):133-43.