บทความวิชาการเพื่อการศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์
เรื่อง ไลโปโซม : พัฒนาการจากอดีตจนถึงปัจจุบันและการใช้ประโยชน์

ผู้เขียน ผศ.ดร.ภญ.ลลนา คงคาเนรมิตร
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

จำนวนหน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่อง
2.5 หน่วยกิต

วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. อธิบายคุณลักษณะของไลโปโซมได้
2. อธิบายโครงสร้างหรือส่วนประกอบของไลโปโซมชนิดต่าง ๆ ได้
3. อธิบายความสัมพันธ์ของไลโปโซมชนิดต่าง ๆ กับการใช้ประโยชน์ได้

บทคัดย่อ

ระบบนำส่งยาในรูปแบบไลโปโซมได้ผ่านการพัฒนามามากกว่า 60 ปีแล้ว จนถึงปัจจุบันนี้มียาที่จำหน่ายในท้องตลาดมากกว่า 10 ชนิด ส่วนประกอบที่สำคัญที่ใช้ในสูตรตำรับ คือสารในกลุ่ม phospholipid ไลโปโซมมีโครงสร้างเป็นอนุภาคที่มีเมมเบรนหรือผนัง 2 ชั้น สามารถกักเก็บสารได้ทั้งชนิดที่ละลายน้ำและละลายน้ำมัน โดยพื้นฐานอาจจำแนกชนิดของไลโปโซมตามขนาดและจำนวนชั้นของเมมเบรน กรณีมีสารในตำรับที่ซับซ้อนมากขึ้นอาจจะจำแนกตามส่วนประกอบและ/หรือหน้าที่ที่เฉพาะเจาะจงลงไป ไลโปโซมเมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วจะมีการกระจาย ถูกทำลาย หรือกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ ซึ่งข้อมูลเหล่านี้มีประโยชน์ในการพัฒนาสูตรตำรับ ตัวอย่างไลโปโซมชนิดต่าง ๆ ได้แก่ conventional liposomes, PEGylated liposomes (stealth liposomes), ligand-targeted liposomes, theranostic liposomes, super stealth liposomes, transferosomes, ethosomes, pH-sensitive liposomes, cationic liposomes สำหรับไลโปโซมที่ได้รับการรับรองและขึ้นทะเบียนยาที่ใช้ในการรักษาโรคต่าง ๆ เช่น โรคมะเร็ง (Doxil®, DaunoXome®, Depocyt®, Myocet®, Mepact®, Marqibo®, Onivyde™) การติดเชื้อรา (Ambisome®) โรคตา (Visudyne®) การจัดการอาการปวด (DepoDur™, Exparel®) วัคซีน (Epaxal®, Inflexal® V) และที่กำลังศึกษาทดลองทางคลินิกอีกกว่า 10 ชนิด จากจำนวนเภสัชภัณฑ์ที่ปรากฏจึงเป็นที่ประจักษ์ได้ว่าระบบนำส่งยาในรูปแบบไลโปโซมเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของระบบนำส่งยาที่สามารถนำส่งยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ

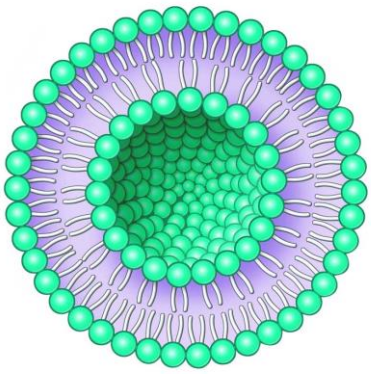
ไลโปโซม, โครงสร้าง, การถูกทำลาย, เป้าหมาย, มะเร็ง

ที่มาของไลโปโซม

ในช่วงกลางของยุค 50s Friedman และคณะ ใช้ phosphatidylcholine ที่กระจายในน้ำร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการกระจาย ทำให้ได้อนุภาคลักษณะถุงปิดชั้นเดียวขนาดเล็ก (small unilamellar vesicle) เพื่อทดลองฉีดให้กระต่ายและศึกษาผลในการรักษาโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ ต่อมาในช่วงกลางของยุค 60s Alec D. Bangham ซึ่งในขณะนั้นกำลังศึกษาคุณสมบัติของเซลล์เมมเบรนที่ Institute of Animal Physiology ณ เมืองเคมบริดจ์ ประเทศสหราชอาณาจักร ได้เป็นคนแรกที่แสดงให้เห็นว่าการกระจายฟอสโฟลิปิดที่มีความเข้มข้นสูงในน้ำ จะทำให้เกิดอนุภาคลักษณะถุงปิดชั้นเดียวขนาดเล็กที่สามารถเกิดขึ้นได้เอง อนุภาคนี้จะประกอบด้วยน้ำล้อมรอบด้วยเมมเบรนที่ประกอบด้วยฟอสโฟลิปิด 2 ชั้น (bilayered phospholipid membrane) Bangham เรียกถุงไขมันเล็กๆนี้ว่า “smectic mesophases” และต่อมา Gerald Weissman ซึ่งเป็นคณะทำงานของเขาได้ให้ชื่อเป็น “Liposomes” [1,2].

ความหมายและชนิดของไลโปโซม

ไลโปโซม หมายถึง อนุภาคที่มีเมมเบรนหรือผนัง 2 ชั้น เกิดจาก amphiphiles เช่น phospholipid (สารที่มีโครงสร้างในโมเลกุลที่มีส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ) กระจายอยู่ในตัวกลางที่เป็นน้ำ มักมีขนาดในช่วง 50-5,000 nm[3] โครงสร้างพื้นฐานของไลโปโซม ดังรูปที่ 1 ที่แสดงการจัดเรียงตัวของ amphiphiles ที่หันส่วนชอบน้ำสัมผัสกับน้ำ และส่วนที่ไม่ชอบน้ำที่เป็นสายคาร์บอนเข้าหากัน

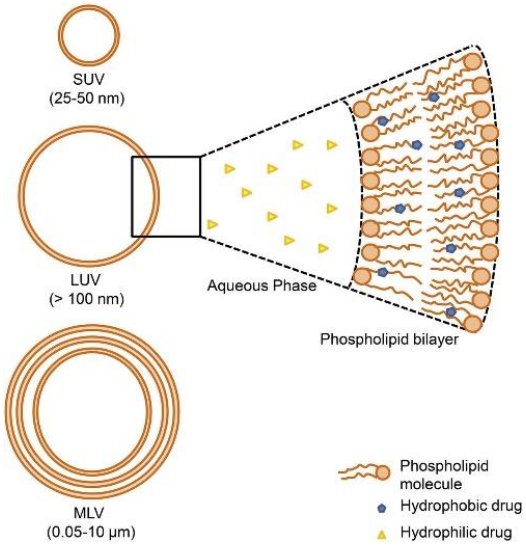


รูปที่ 1 โครงสร้างจำลองของไลโปโซม (รูปตัดขวาง).

Available from : http://spacanada.ca/liposomes-good-skin/

การกระจายยาภายในอนุภาค ขึ้นกับความสามารถในการละลายหรือความชอบน้ำหรือไม่ชอบน้ำของยา โมเลกุลยาที่ละลายน้ำได้จะกระจายอยู่ในส่วนที่มีน้ำ เช่น ช่องกลางอนุภาคหรือในน้ำที่อยู่ระหว่างชั้นเมม-เบรน ส่วนยาที่ไม่ชอบน้ำจะกระจายอยู่ในสายคาร์บอน ดังรูปที่ 2 ดังนั้นความสามารถในการกักเก็บยาได้ทั้งที่ละลายน้ำและละลายในไขมันได้นี้จึงเป็นคุณสมบัติที่เป็นข้อดีเด่นอันหนึ่งของไลโปโซม สำหรับชนิดของไลโป-โซม อาจพิจารณาจากจำนวนชั้นและขนาด แบ่งได้เป็น 3 ชนิด ได้แก่ อนุภาคที่มีเมมเบรนเดียวขนาดเล็ก (small unilamellar vesicle; **SUV**), อนุภาคที่มีเมมเบรนเดียวขนาดใหญ่ (large unilamellar vesicle; **LUV**),

อนุภาคที่มีหลายเมมเบรน (multilamellar vesicle; **MLV**) โดย SUV มีขนาด 25-50 nm LUV มีขนาดใหญ่กว่า 100 nm และMLV มีขนาด 50-10,000 nm[3,4] โครงสร้างไลโปโซมทั้ง 3 ชนิด แสดงดังรูปที่ 2 ซึ่งไลโปโซมชนิดต่าง ๆ นี้ได้มาจากการผลิตโดยเทคนิคที่ต่างกัน



รูปที่ 2 การกระจายยาภายในไลโปโซมและชนิดของไลโปโซม[4]

ข้อควรพิจารณาที่เกี่ยวกับตำรับไลโปโซม[5]

จากการศึกษาที่ผ่านมามีการศึกษากลไกการกำจัดไลโปโซมออกจากร่างกาย และมีการใช้กลวิธีในการปรับปรุงสูตรตำรับเพื่อทำให้อัตราเร็วในการกำจัดออกช้าลง ยาอยู่ในร่างกายได้นานขึ้น หรือการที่ทราบถึงพยาธิสรีรวิทยาของโรคทำให้นักวิจัยเลือกใช้กลวิธีในการนำส่งยาไปสู่เป้าหมายได้ นอกจากนี้ผลของไลโปโซมต่อร่างกายโดยเฉพาะในเรื่องของการกระตุ้นภูมิคุ้มกันจะเป็นประเด็นที่ควรคำนึงถึงเช่นกัน ข้อควรพิจารณาที่จะกล่าวถึง ได้แก่ reticuloendothelial system (RES) และการกำจัดไลโปโซมออก, enhanced permeability and retention (EPR) effect, accelerated blood clearance (ABC), complement activation-related pseudoallergy (CARPA)

<u>Reticuloendothelial system (RES) และการกำจัดไลโปโซมออก</u>

RES เป็นระบบที่มี macrophage ทำหน้าที่จับกินเซลล์ (phagocytosis) และทำลายสิ่งแปลกปลอม เช่น แบคทีเรีย ไวรัส เซลล์ที่ผิดปกติในร่างกาย เมื่อไลโปโซมเข้าสู่กระแสเลือดแล้วจะมี plasma proteins เช่น immunoglobulin, fibronectin, lipoproteins และ/หรือ complement protein ไปเกาะติดหรือดูดซับอยู่ที่ผิวของไลโปโซม ซึ่งเรียกกระบวนการนี้ว่า opsonization จากนั้นจะไปสะสมที่อวัยวะที่มี RES เป็นส่วนใหญ่ ได้แก่ ตับ ม้าม ไต ปอด ไขกระดูก และต่อมน้ำเหลือง ซึ่งกินไลโปโซมที่ผ่านกระบวนการ

opsonization นี้ จะถูก macrophage ณ อวัยวะนั้นๆ จับกินได้ โดยตับจะมีความจุมากในการจับกินไลโปโซม อวัยวะที่รองลงมาคือม้าม ดังนั้นเพื่อลด opsonization จึงมีการใช้ polyethylene glycol (PEG) มาจับที่ผิวของไลโซม เรียกว่า PEGylated liposomes จะทำให้สายพอลิเมอร์มีน้ำเข้ามาล้อมรอบ จะยับยั้งปฏิกิริยา electrostatic และ hydrophobic กับ plasma proteins และ/หรือเซลล์ลงได้ ทำให้ลดการจับกินไลโปโซมโดย RES อย่างไรก็ตามพบว่าปัญหานี้ไม่ได้ลดลงจนหมดไป เนื่องจากมีความเป็นได้ว่าอาจมีกลไกการทำลายไลโปโซมโดยไม่อาศัย opsonization

Enhanced permeability and retention (EPR) effect

การที่เนื้อเยื่อมีพยาธิสภาพที่เปลี่ยนแปลงไป อันเนื่องจากการเกิดเนื้องอกและการอักเสบ มีผลต่อหลอดเลือดทำให้เกิดการซึมผ่านหลอดเลือดได้มากขึ้น โดยหลอดเลือดจะเกิดช่องหรือรูขนาด 300-4700 nm บริเวณระหว่างเซลล์บุผนังหลอดเลือด จะทำให้ไลโปโซมสามารถรั่วไหลออกนอกเส้นเลือดไปสู่เนื้อเยื่อและสะสมในเนื้องอกได้ การสะสมของอนุภาคที่เกิดจากการซึมผ่านได้เพิ่มขึ้นนี้จะเรียกเป็น EPR และใช้เป็นกลไกของระบบนำส่งไปสู่เป้าหมาย (passive targeting) ดังนั้นไลโปโซมทุกชนิดจะเกิด EPR ได้ และสำหรับการใช้ PEGylated liposomes มีข้อดีเนื่องจากลดโอกาสการถูกกำจัดโดย RES จะอยู่ในกระแสเลือดนานและจะเกิด EPR ได้นานขึ้น

Accelerated blood clearance (ABC)

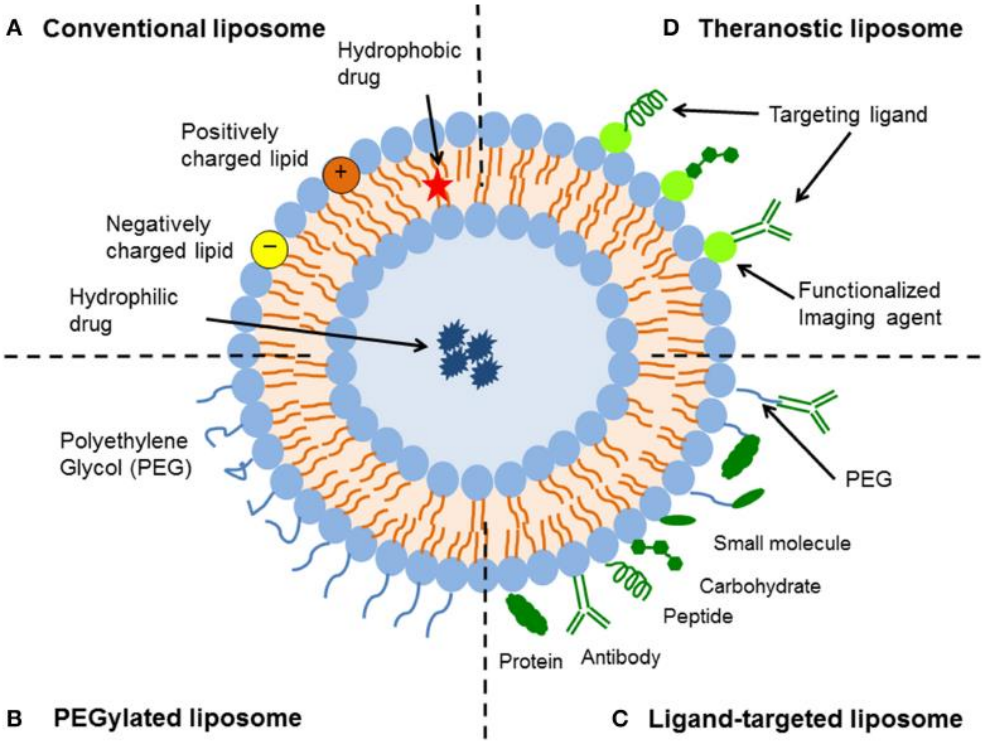
ปฏิกิริยาระหว่างส่วนประกอบของไลโปโซมกับระบบภูมิคุ้มกันอาจเกิดขึ้นได้ ทำให้มีการสร้าง antibody ต่อส่วนประกอบนั้นๆ และ/หรือยาที่กักเก็บอยู่ภายใน ซึ่งพบว่าการฉีด PEGylated liposomes ซ้ำๆ จะทำให้เร่งการถูกกำจัดออกจากกระแสเลือด (ABC) ซึ่งสาเหตุของกลไกยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด อย่างไรก็ตามพบว่าเกิดจากปริมาณไขมันที่ฉีดเข้าไป ความหนาแน่นของ PEG ที่ผิว และระยะห่างในการให้ยา และพบว่าการให้ PEGylated liposomes ที่ไม่มียา ฉีดซ้ำในหนูพบว่าเกิดการสร้าง anti-PEG IgM และคาดว่าจะเกิดจากม้าม เนื่องจากในหนูที่ถูกตัดม้ามออกมีการสร้าง anti-PEG IgM ลดลง และไลโปโซมถูกกำจัดออกจากกระแสเลือดลดลงด้วย

Complement activation-related pseudoallergy (CARPA)

ไลโปโซมบางชนิดอาจกระตุ้นให้ภูมิคุ้มกันสืบทอด (innate immunity) ตอบสนอง ด้วยการกระตุ้นระบบคอมพลีเมนต์ (โปรตีนที่อยู่ในซีรัมและสารน้ำส่วนอื่นของร่างกาย) และทำให้เกิดกลุ่มอาการที่เรียกว่า complement activation-related pseudoallergy (CARPA) มีรายงานว่าพบผู้ป่วยร้อยละ 2-45 เกิดปฏิกิริยาการแพ้ที่สัมพันธ์กับการรักษาด้วยไลโปโซมที่ให้โดยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำ CARPA เป็นปฏิกิริยาการแพ้ที่เกิดอาการเฉียบพลันที่ไม่ได้มีตัวกลางคือ IgE จะเกิดอาการ เช่น อาการแพ้รุนแรง (anaphylaxis), หน้าแดง, หน้าบวม, ปวดหัว, หนาวสั่น และอาการไม่สบายที่เกี่ยวกับหัวใจและการหายใจ ซึ่งอาการกลุ่มหลังนี้จะเป็นสิ่งที่อาจจำกัดการใช้ในผู้ป่วยโรคหัวใจ จึงมีการศึกษาต่อไปเกี่ยวกับการออกแบบสูตรตำรับไลโปโซมเพื่อลดปฏิกิริยาที่จะมีผลกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน

ความก้าวหน้าของไลโปโซมในการนำส่งยา

ไลโปโซมเป็นระบบนำส่งยาที่มีความก้าวหน้าในการวิจัยและพัฒนา มีรูปแบบใหม่ๆที่เกิดขึ้นมากมาย เพื่อแก้ไขข้อจำกัดต่าง ๆ เช่น ปรับปรุงให้สามารถลดการถูกทำลายในร่างกาย การเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านเมมเบรนต่าง ๆ เป็นต้น ปัจจุบันอาจแบ่งไลโปโซมเมื่อพิจารณาตามส่วนประกอบและหน้าที่ออกได้เป็น 4 กลุ่ม[5] ได้แก่ conventional liposomes, PEGylated liposomes, ligand-targeted liposomes, theranostic liposomes แสดงดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 รูปจำลองการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบในไลโปโซมทั้ง 4 กลุ่ม (A) conventional liposome (B) PEGylated liposome (C) ligand-targeted liposome (D) theranostic liposome [5].

Conventional liposomes เป็นกลุ่มแรกของไลโปโซมโดยอาจใช้ amphiphiles ที่มีประจุลบ (anionic), ประจุบวก (cationic), หรือไม่มีประจุ (nonionic) และอาจมีโคเลสเตอรอลร่วมด้วย งานวิจัยทางคลินิกของไลโปโซมกลุ่มนี้เริ่มในช่วงปี 1980s พบว่ามีประโยชน์ในการปรับปรุงดัชนีการรักษา (therapeutics index) ของยาที่ถูกกักเก็บ เช่น amphotericin B และ doxorubicin ซึ่งจะช่วยลดความเป็นพิษของยา และส่งเสริมการนำส่งยาไปสู่เนื้อเยื่อได้มากกว่าเมื่อเทียบกับยาในรูปอิสระ อย่างไรก็ตามพบว่ายาจะถูกกำจัดออก

อย่างจากรวดเร็วจากกระแสเลือด เนื่องจากเกิด opsonization ของส่วนประกอบในเลือดแล้วถูกทำลายโดย RES ที่อยู่ในตับและม้ามเป็นส่วนใหญ่

การพัฒนาให้ conventional liposomes อยู่ในกระแสเลือดได้นานขึ้นและมีความคงสภาพมากขึ้น นำไปสู่การพัฒนาไลโปโซมกลุ่ม PEGylated liposomes หรือ sterically-stabilized liposomes หรือ stealth liposomes โดยใช้พอลิเมอร์ที่มีความชอบน้ำ นั่นคือ PEG จับอยู่ที่ผิวอนุภาคเกิดสายพอลิเมอร์รอบ ๆ อนุภาค (steric barrier) ช่วยลด opsonization ทำให้การตรวจจับและทำลายโดย RES ลดลง อยู่ในกระแสเลือดได้นานขึ้น ทำให้มีโอกาสที่จะเกิดการสะสมของยาที่เนื้อเยื่อได้มากขึ้น และยังลดอาการข้างเคียงได้ดีกว่ายารูปแบบอิสระ มีรายงานที่แสดงถึงค่าครึ่งชีวิตของไลโปโซมในหนูจะอยู่ในช่วง 2 - 24 ชั่วโมง และในคนจะสูงถึง 45 ชั่วโมง ขึ้นกับขนาดอนุภาคและคุณลักษณะของพอลิเมอร์ที่ใช้

Ligand-targeted liposomes เป็นการใช้ลิแกนด์ เช่น antibodies, peptides/proteins, carbohydrates มาจับที่ผิวไลโปโซมหรืออยู่ที่ปลายของสายพอลิเมอร์ (PEG) ทำให้เพิ่มประสิทธิภาพในการจำเพาะต่อเป้าหมายที่มี binding site ที่อวัยวะ หรือเซลล์ที่ต้องการ การใช้ antibodies (immunoglobulin) มาจับที่ผิวไลโปโซมจะเรียกเป็น immunoliposomes โดยจะใช้ monoclonal antibodies ซึ่งมีข้อดีคือ มีความคงสภาพและจับกับตัวรับ (receptor) ได้ดี แต่มีข้อจำกัดเนื่องจากมีเภสัชจลนศาสตร์ที่ไม่ดีและอาจกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ (immunogenicity) อย่างไรก็ตามรายละเอียดของลิแกนด์ที่เกี่ยวข้องกับไลโปโซมในกลุ่มนี้มีความหลากหลายซึ่งสามารถศึกษาได้จากเอกสารอ้างอิง 4

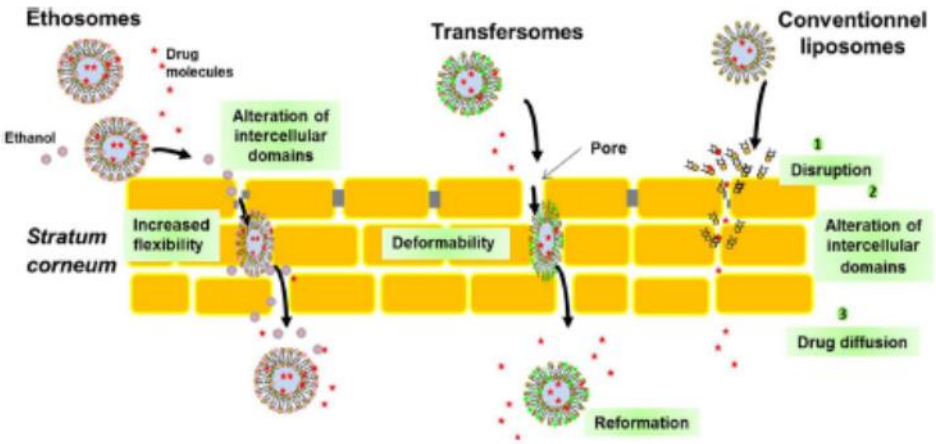
Theranostic liposomes เป็นระบบที่ประกอบด้วย therapeutic และ diagnostic tool คือไลโปโซมมีการกักเก็บยา ในขณะที่ผิวไลโปโซมมีลิแกนด์เพื่อให้จับกับเป้าหมายและมีสารช่วยในการวินิจฉัย (diagnostic tool) เช่น สารที่ทำให้เกิดภาพได้ (imaging component) มีรายงานวิจัยที่แสดงประสิทธิภาพของไลโปโซมในการนำส่งยาและการแสดงภาพที่เป้าหมายโดยเฉพาะในมะเร็งชนิดต่างๆ เช่น ECl-GLuc-liposome[6] โดย ECl-GLuc เป็น recombinant protein เกิดจากการรวม ECl peptide (artificial ligand ของ ErbB2) กับ Gaussia luciferase (GLuc) ไลโปโซมจะนำส่งยาสู่เป้าหมายทั้งใน SKOv3 cells (in vitro) และมะเร็งรังไข่ระยะแพร่กระจายที่มีการเพิ่มสูงขึ้นของ ErbB2 (in vivo) ในสัตว์ทดลองจำพวกหนู เนื่องจากมี ECl peptide และเกิดภาพได้จากการเรืองแสงทางชีวภาพ (bioluminescence) ของ GLuc

จากไลโปโซมทั้ง 4 กลุ่มข้างต้นนั้น สูตรตำรับสามารถที่จะเปลี่ยนแปลงเพิ่มเติมส่วนประกอบต่าง ๆ ทำให้มีไลโปโซมอีกหลายชนิด ได้แก่ super stealth liposomes, transferosomes, ethosomes, pH-sensitive liposomes, cationic liposomes

Super stealth liposomes (SSLs) เกิดจากการรวมตัวของ PEG-dendron-phospholipid ประกอบกันเป็นไลโปโซม ซึ่งจะเพิ่มความคงสภาพและทำให้อยู่ในกระแสเลือดได้นานขึ้น เมื่อเทียบกับ stealth liposomes แบบธรรมดา[7]

Transferosomes[8,9] หรือเรียกว่า ultradeformable liposomes หรือ deformable liposomes เป็นไลโปโซมที่ใช้นำส่งทางผิวหนังซึ่งถูกพัฒนาเพื่อปรับปรุงการซึมผ่านผิวหนังเมื่อให้โดยการทา โดยเมมเบรนของไลโปโซมจะมีความยืดหยุ่นทำให้อนุภาคสามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (deformation) ทำให้ผ่าน stratum corneum (SC) เข้าสู่ผิวชั้นที่ลึกลงไปได้ ดังรูปที่ 4 ซึ่งแนวคิดนี้ได้ริเริ่มโดย Cevc และคณะทำงาน ในปี ค.ศ. 1992 และเป็นผู้ตั้งชื่อนี้ด้วย transferosomes มีส่วนประกอบ ได้แก่ phospholipids และ edge activator (EA) สำหรับ EA มักจะเป็น single-chain surfactants ที่แทรกตัวเข้าไประหว่าง phospholipids ไปรบกวนการจัดเรียงตัวของ bilayers โดยโมเลกุล EA จะไปสะสมกันเป็นบริเวณในผนังไลโปโซมทำให้ผนังไม่แข็งแน่นมากเกินไป เนื่องจากไขมันไม่สามารถยึดกันได้อย่างต่อเนื่อง ตัวอย่าง EA เช่น sodium cholate, deoxycholate, Span 60, Span 65, Span 80, Tween 20, Tween 60, Tween 80 และ dipotassium glycyrrhizinate โดยทั่วไปมักจะใช้ EA : phospholipid ไม่เกิน 25%

สำหรับกลไกหลักของ transferosomes ในการผ่านเข้า SC จะสัมพันธ์กับ osmotic strength ที่เรียกว่า hydration force โดยหากปริมาณน้ำหรือความชื้นใน SC มีน้อยกว่าใน epidermis จะทำให้ transferosomes สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่างและผ่านเข้าสู่ intercellular ใน SC ได้ ถ้าหากทำให้ผิวเปียกคือมีน้ำที่ SC มาก จะทำให้ osmotic gradient ลดลง ทำให้มีการซึมผ่านของ transferosomes ลดลงได้ หรือในสภาวะที่ถูกปิดทับ (occlusive) อาจมีการดูดซึมผ่านผิวได้น้อยลง นอกจากนี้การกักเก็บยาที่ชอบไขมันสูงอาจทำให้ความยืดหยุ่นของระบบลดลงและอาจมีผลต่อการซึมผ่านได้



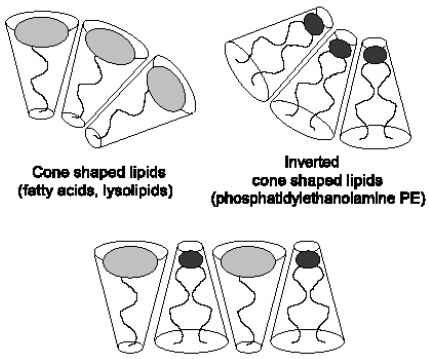
รูปที่ 4 กลไกการซึมผ่านผิวหนังของ vesicles ชนิดต่างๆ[8]

Ethosomes[8,9] เป็นไลโปโซมที่มี ethanol ปริมาณมาก (20-45%) ซึ่ง Touitou และคณะฯ ได้บรรยายไว้เป็นท่านแรก ในปี ค.ศ. 2000 เป็นระบบนำส่งสารเข้าสู่ผิวหนัง โดยจากการทดลองพบว่า ethanol และ phospholipid กระจายในทุกชั้นของผิวหนังและใน receiver ของ Franz diffusion cell ด้วย ซึ่งอาจมี

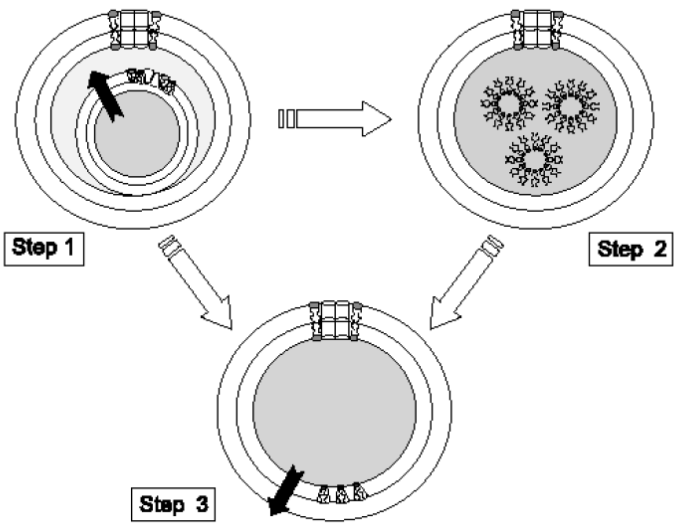
ความเป็นไปได้ดังนี้คือ 1) ethanol ซึ่งเป็น permeation enhancer ไปรบกวนการจัดเรียงตัวของไขมันใน SC 2) อนุภาคไลโปโซมกระทำกับไขมันทำให้เกิดความไม่เป็นระเบียบ ทำให้เกิดช่องทางที่ผ่านลงสู่ผิวที่ลึกลงไป 3) ethanol ทำให้อนุภาคมีความยืดหยุ่นมากขึ้น ดังรูปที่ 4

โดยทั่วไปเมื่อมีปริมาณ ethanol สูงขึ้น จะซึมผ่านผิวได้มากขึ้น และมีอีกช่องทางหนึ่งที่เป็นไปได้สำหรับการซึมผ่านเข้าสู่ผิวหนัง คือ ทางรูขุมขน (follicular pathway) สังเกตได้ว่า ethosomes มีข้อดีอันหนึ่งที่เหนือกว่า transferosomes คือ ใช้ได้ทั้งกรณี non-occlusive และ occlusive อย่างไรก็ตามแนวโน้มในการระคายเคืองอาจเกิดได้จากการใช้ ethanol ในปริมาณที่สูง

pH-sensitive liposomes[10] เป็นไลโปโซมที่ประกอบด้วย Phosphatidylethanolamine (PE) ซึ่งมี head group ขนาดเล็ก มีรูปร่างโมเลกุลเป็น inverted cone shape มักใช้ร่วมกับไขมันที่มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอช (pH) เช่น oleic acid (OA), cholesteryl hemisuccinate (CHEMS) ซึ่งในสภาวะพีเอชที่เป็นกลางของร่างกายจะเกิดการแตกตัวทำให้มีรูปร่างโมเลกุลเป็น cone shape เมื่อโมเลกุลทั้ง 2 ชนิดที่มีรูปร่างโมเลกุลทั้ง inverted cone shape และ cone shape มาประกอบกันดังรูปที่ 5 จึงจะสามารถเกิดเมมเบรนที่มีผนัง 2 ชั้นได้ และเมื่อไลโปโซมนี้ถูกนำเข้าเซลล์โดย endocytosis ไลโปโซมจะอยู่ภายใน lysosome ซึ่งมีความเป็นกรด (pH 4-5) ทำให้ OA หรือ CHEMS รับโปรตอนแล้วมีรูปร่างเป็น cylindrical ทำให้ PE เคลื่อนที่ออกมาเกาะกลุ่มกันเป็น inverted hexagonal phase H_{II} ผนังไลโปโซมเกิดความไม่คงสภาพทำให้ยาถูกปลดปล่อยออกมาได้ และโมเลกุล PE จะไปรบกวนผนัง lysosome ทำให้ยาออกจาก lysosome ไปสู่ cytoplasm และสัมผัสสิ่งแวดล้อมภายในเซลล์ได้ ดังรูปที่ 6

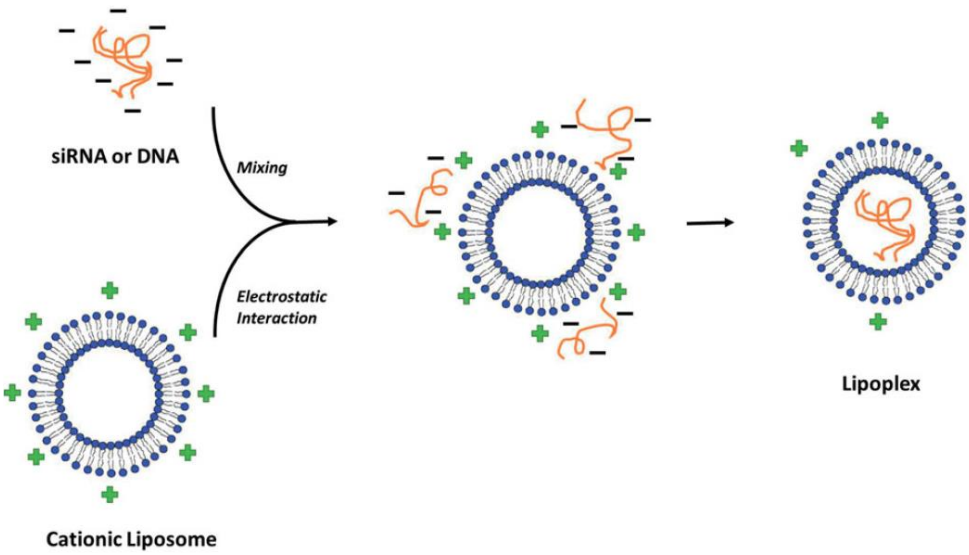


รูปที่ 5 การจัดเรียงตัวของ phosphatidylethanolamine และ pH-sensitive lipid [10]



รูปที่ 6 การปลดปล่อยยาออกจากไลโปโซม (step 1 & 2) และยาออกจาก lysosome ไปสู่ cytoplasm (step 3) [10]

Cationic liposomes[11-13] มักใช้ใน gene therapy โดยใช้เป็น non-viral vectors (ตัวพาชนิดไม่ใช่ไวรัส) ใช้นำส่ง gene, DNA, small interfering RNA (siRNA), oligonucleotides มีข้อดีคือ มีความเป็นพิษต่ำ สามารถนำส่ง DNA ที่มี base pair จำนวนมากได้ สลายตัวทางชีวภาพ และมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่ำ ไลโปโซมชนิดนี้มีส่วนประกอบของ cationic lipid, phospholipid และ/หรือ cholesterol ซึ่ง cationic lipid ที่ใช้ได้แก่ *N*-[1–(2,3-dioleyloxy)-propyl]-*N,N,N*-trimethylammonium chloride (**DOTMA**), 2-dioleoyl-3-trimethylammonium propane (**DOTAP**), dioctadecylamidoglicylspermin (**DOGS**), O-(Z,Z,Z,Z-heptatriaconta-6,9,26,29-tetraen-19-yl)-4-(*N,N*-dimethylamino) (**DLin-MC3-DMA**)



รูปที่ 7 รูปจำลองการจับ DNA ไว้ภายใน cationic liposomes [13]

การนำ cationic liposome (ไลโปโซมประจุบวก) ไปใช้โดยจะผสมหรือบ่ม (incubate) กับ oligonucleotides, DNA, หรือ RNA (มีประจุรวมเป็นลบเนื่องมาจากหมู่ฟอสเฟตในโมเลกุล) ทำให้เกิด electrostatic interaction โดยจับรวมกันเพื่อทำให้มีความเป็นกลางทางไฟฟ้า เกิดอนุภาคที่เรียกว่า lipoplex ดังรูปที่ 7

DLin-MC3-DMA ที่เป็นไขมันชนิดประจุบวกนี้ถูกใช้เป็นส่วนประกอบสำคัญในยา Onpattro™ โดยช่วยในการทำให้เกิดอนุภาค ส่งเสริมการนำส่งเข้าสู่เซลล์ และการปลดปล่อยออกจาก endosome เข้าสู่ cytoplasm[14] Onpattro™ เป็นผลิตภัณฑ์แรกที่ใช้ non-viral vector อยู่ในรูปแบบ lipid nanoparticles (LPNs) นำส่ง siRNA ที่ได้รับการรับรองจาก FDA (Food and Drug Administration) ประเทศสหรัฐอเมริกา ในเดือนสิงหาคม ค.ศ. 2018 และ EMA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products)[13] siRNA ที่ใช้คือ patisiran มีประโยชน์ในการรักษา hereditary transthyretin-mediated amyloidosis (hATTR amyloidosis) ซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากการกลายพันธ์ของ TRR gene ทำให้สร้างโปรตีนที่ผิดปกติเกิดเป็น amyloid ไปสะสมที่ระบบประสาทส่วนปลายและอวัยวะต่างๆ มักทำให้เกิด peripheral neuropathy และ cardiomyopathy[15]

เภสัชภัณฑ์ที่มีจำหน่ายและที่อยู่ระหว่างการทดลองทางคลินิก

ระบบนำส่งยาในรูปแบบไลโปโซมนี้ได้เริ่มศึกษาและทดลองตั้งแต่ในช่วงกลางของยุค 60s และศึกษาเพิ่มเติมอีกมากมายจนถึงในปี ค.ศ. 1995 จึงมี Doxil® ซึ่งเป็นยาในรูปแบบไลโปโซมชนิดแรกที่ได้รับการรับรองจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งตัวยาสำคัญคือ doxorubicin hydrochloride อยู่ในไลโปโซมชนิด PEGylated จากการศึกษาทางคลินิกในผู้ป่วยมะเร็ง 15 คนพบว่า Doxil® ให้ความเข้มข้นของยาในมะเร็งได้สูงถึง 4-16 เท่า เทียบกับการใช้ยาในรูปสารละลายและสามารถลดความเป็นพิษต่อหัวใจ (cardiotoxicity) ได้ ปัจจุบันมีเภสัชภัณฑ์ที่อยู่ในรูปแบบไลโปโซมมากกว่า 10 ชนิด ที่ใช้ในการรักษาโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง (Doxil®, DaunoXome®, Depocyt®, Myocet®, Mepact®, Marqibo®, Onivyde™) การติดเชื้อรา (Ambisome®) โรคตา (Visudyne®) การจัดการอาการปวด (DepoDur™, Exparel®) วัคซีน (Epaxal®, Inflexal® V) ดังตารางที่ 1 สามารถศึกษารายละเอียดของเภสัชภัณฑ์แต่ละชนิดได้ในรายงานของ Bulbake et al. (2017)[16] และมีเภสัชภัณฑ์ที่อยู่ระหว่างการศึกษาทดลองทางคลินิกอีกมากกว่า 10 ชนิดเช่นกัน ดังตารางที่ 2 และรูปที่ 8 จากเภสัชภัณฑ์เหล่านี้จึงเป็นสิ่งที่พิสูจน์ได้ว่าไลโปโซมเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของระบบนำส่งยาที่สามารถส่งเสริมประสิทธิภาพยา และลดผลข้างเคียงจากการใช้ยาได้

ตารางที่ 1 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไลโปโซมที่ได้รับการขึ้นทะเบียนและออกจำหน่าย (ดัดแปลงจาก Bulbake et al. , 2017)[16]

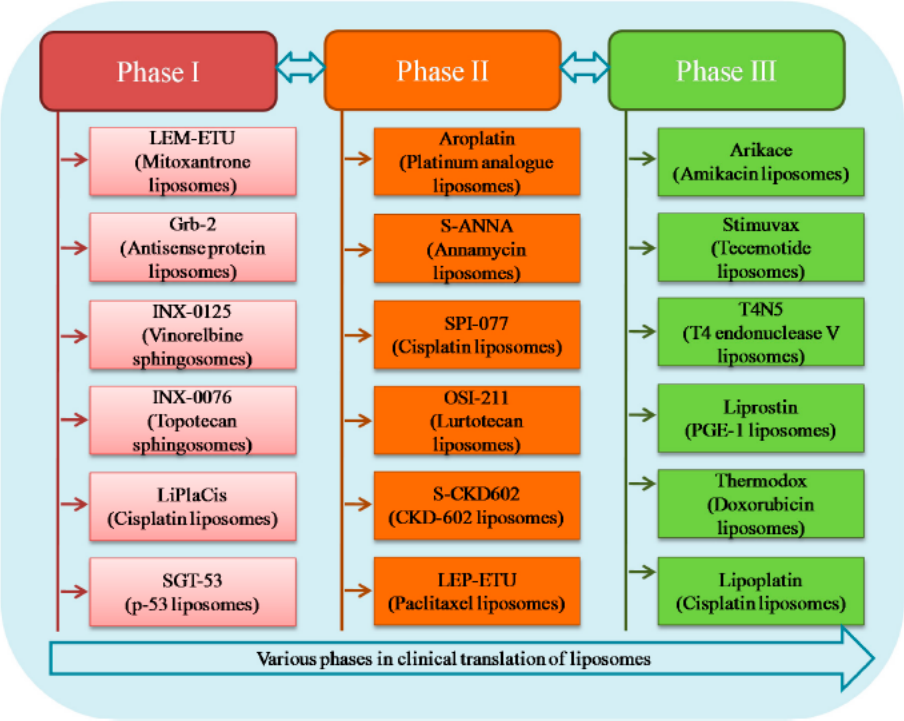
ชื่อการค้า (ปีที่ได้รับการรับรอง)	ทางให้ยา	ตัวยาสำคัญ	Lipid/Lipid:Drug Molar Ratio	ข้อบ่งใช้
Doxil® (1995)	i.v.	Doxorubicin	HSPC:Cholesterol:PEG2000-DSPE (56:39:5 molar ratio)	Ovarian, breast cancer, Kaposi's sarcoma
DaunoXome® (1996)	i.v.	Daunorubicin	DSPC:Cholesterol (2:1 molar ratio)	AIDS-related Kaposi's sarcoma
Ambisome® (1997)	i.v.	Amphotericin B	HSPC: DSPG: Cholesterol: Amphotericin B (2:0.8:1:0.4) molar ratio	Presumed fungal infections
Depocyt® (1999)	Spinal	Cytarabine/Ara-C	DOPC, DPPG, Cholesterol and Triolein	Neoplastic meningitis
Myocet® (2000)	i.v.	Doxorubicin	EPC:Cholesterol (55:45 molar ratio)	Combination therapy with cyclophosphamide in metastatic breast cancer
Visudyne® (2000)	i.v.	Verteporphin	Verteporphin:DMPC and EPG (1:8 molar ratio)	Choroidal neovascularisation
DepoDur™ (2004)	Epidural	Morphine sulfate	DOPC, DPPG, Cholesterol and Triolein	Pain management
Mepact® (2004)	i.v.	Mifamurtide	DOPS:POPC (3:7 molar ratio)	High-grade, resectable, non-metastatic osteosarcoma
Exparel® (2011)	i.v.	Bupivacaine	DEPC, DPPG, Cholesterol and Tricaprylin	Pain management
Marqibo® (2012)	i.v.	Vincristine	SM:Cholesterol (60:40 molar ratio)	Acute lymphoblastic leukaemia
Onivyde™ (2015)	i.v.	Irinotecan	DSPC:MPEG-2000:DSPE (3:2:0.015 molar ratio)	Combination therapy with fluorouracil and leucovorin in metastatic adenocarcinoma of the pancreas

i.v. (intravenous); HSPC (hydrogenated soy phosphatidylcholine); PEG (polyethylene glycol); DSPE (distearoyl-sn-glycero-phosphoethanolamine); DSPC (distearoylphosphatidylcholine); DOPC (dioleoylphosphatidylcholine); DPPG (dipalmitoylphosphatidylglycerol); EPC (egg phosphatidylcholine); DOPS (dioleoylphosphatidylserine); POPC (palmitoyloleoylphosphatidylcholine); SM (sphingomyelin); MPEG (methoxy polyethylene glycol); DMPC (dimyristoyl phosphatidylcholine); DMPG

(dimyristoyl phosphatidylglycerol); DSPG (distearoylphosphatidylglycerol); DEPC (dierucoylphosphatidylcholine); DOPE (dioleoyl-sn-glycero-phosphoethanolamine).

ตารางที่ 2 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไลโปโซมที่อยู่ในระหว่างการศึกษาทางคลินิก (ดัดแปลงจาก Sercombe et al. , 2015)[5]

Drug	Disease	Status	Type of liposomal-based delivery system
siRNA	Ovarian cancer	Phase I	DOPC neutral liposomes
Paclitaxel EndoTAG-1	Advanced triple-negative breast cancer	Phase II	Cationic
Paclitaxel EndoTAG-1	Pancreatic cancer	Phase II	Cationic
Mitoxantrone LEM-ETU	Acute myeloid leukemia, multiple sclerosis, and prostate cancer	Phase I	Cationic
Amikacin	Lung infection	Phase II/III	Conventional
Tretinoin	Acute promyelocytic leukemia and hormone-refractory prostate cancer	Phase II	Conventional
Irinotecan SN-38	Metastatic colorectal cancer	Phase I/II	Conventional
Annamycin	Acute lymphoblastic leukemia	Phase I/II	Conventional
Lurtotecan	Ovarian cancer, head and neck cancer	Phase I/II	Conventional
Vinorelbine	Newly diagnosed or relapsed solid tumors	Phase I	Conventional
Topotecan	Advanced solid tumors	Phase I/II	Conventional
Nystatin	Fungal infection	Phase I/II	Conventional
Thermosensitive doxorubicin	Liver tumors	Phase III	PEGylated
Thermosensitive doxorubicin	Chest wall recurrences of breast cancer	Phase I	PEGylated
Irinotecan	Advanced refractory solid tumors and colorectal cancer	Phase I	PEGylated
Camptothecin analog	Ovarian cancer	Phase I	PEGylated



รูปที่ 8 ผลิตภัณฑ์ไลโปโซมที่อยู่ในระหว่างการศึกษาทางคลินิกจากรายงานในปี ค.ศ. 2017[16]

สรุป

องค์ความรู้ในการเตรียมไลโปโซมให้มีโครงสร้างและส่วนประกอบต่าง ๆ โดยเฉพาะส่วนประกอบที่อยู่ที่ผิวของไลโปโซม ได้มีการศึกษาและพัฒนามาอย่างต่อเนื่อง และความรู้ความเข้าใจที่เพิ่มขึ้นด้านเภสัชจลนศาสตร์และพยาธิวิทยาของโรค เมื่อมีความรู้ทั้งหมดมาประกอบกันจะสามารถทำให้พัฒนาไลโปโซมที่สามารถนำส่งยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ ได้เภสัชภัณฑ์ที่มีประโยชน์ในการรักษาและเพิ่มคุณภาพชีวิตให้กับผู้ป่วยได้ และอาจจะยังมีโรคอีกมากที่อาจรักษาได้ผลดีมีความเหมาะสมกับการใช้ไลโปโซม ดังนั้นความหวังนี้จะเป็นแรงขับเคลื่อนให้มีการศึกษา วิจัยและพัฒนาได้อย่างต่อเนื่องต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Barenholz Y, Crommelin DJA. Liposomes as pharmaceutical dosage forms. In: Swarbrick J, Boylan J, editors. Encyclopedia of pharmaceutical technology. New York: Marcel Dekker; 1994(9):1-9.

2. Hiemenz JW, Walsh TJ. Lipid formulations of amphotericin B: recent progress and future directions. Clinical Infectious Disease 1996;22 Suppl 2:S133-44.

3. Sharma A, Sharma US. Liposomes in drug delivery: progress and limitations. International Journal of Pharmaceutics 1997;154:123-40.

4. Yingchoncharoen P, Kalinowski DS, Richardson DR. Lipid-based drug delivery systems in cancer therapy: what is available and what is yet to come. In: Barker EL, associate editor. Pharmacological Reviews. USA: The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics; 2016(68):701–787. Available from: http://dx.doi.org/10.1124/pr.115.012070.

5. Sercombe L, Veerati T, Moheimani F, Wu SY, Sood AK, Hua S. Advances and challenges of liposome assisted drug delivery. Frontiers in Pharmacology 2015;6:286. doi: 10.3389/fphar.2015.00286.

6. Han XJ, Wei YF, Wan YY, Jiang LP, Zhang JF, Xin HB. Develoment of a novel liposomal nanodelivery system for bioluminescence imaging and targeted drug delivery in ErbB2-overexpressing metastatic ovarian carcinoma. Int J Mol Med 2014;34:1225-32. doi: 10.3892/ijmm.2014.1922.

7. Zylberberg C, Matosevic S. Pharmaceutical liposomal drug delivery: a review of new delivery systems and a look at the regulatory landscape. Drug Delivery 2016;23:3319-29.

8. Sala M, Diab R, Elaissari A, Fessi H. Lipid nanocarriers as skin drug delivery systems: properties, mechanisms of skin interactions and medical applications. International Journal of Pharmaceutics 2018;535:1-17.

9. Jain S, Patel N, Shah MK, Khatri P, Vora N. Recent advances in lipid-based vesicles and particulate carriers for topical and transdermal application. Journal of Pharmaceutical Sciences 2017;106(2):423-45.

10. Fattal E, Couvreur P, Dubernet C. “Smart” delivery of antisense oligonucleotides by anionic pH-sensitive liposomes. Advanced Drug Delivery Reviews 2004;56(7):931-46.

11. Tao J, Ding W-F, Che X-H, Chen Y-C, Chen F, Chen X-D, Ye X-L, Xiong S-B. Optimization of a cationic liposome-based gene delivery system for the application of miR-145 in anticancer therapeutics. International Journal of molecular medicine 2016;37:1345-54.

12. Majzoub RN, Ewert KK, Safinya CR. Cationic liposome–nucleic acid nanoparticle assemblies with applications in gene delivery and gene silencing. Phil Trans R Soc A [Internet]. 2016 [cited 2019 Dec 25]. Available from: http://dx.doi.org/10.1098/rsta.2015.0129.

13. Singh PP, Vithalapuram V, Metre S, Kodipyaka R. Lipoplex-based therapeutics for effective oligonucleotide delivery: a compendious review. Journal of Liposome Research [Internet]. 2019 [cited 2019 Dec 25]. Available from: https://doi.org/10.1080/08982104.2019.1652645.

14. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Assessment report: Onpattro. EMA/554262/2018. [Internet]. European Medicine Agency; 2018 [cited 2019 Dec 25]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/onpattro-epar-public-assessment-report_.pdf.

15. Hoy SM. Patisiran: first global approval. Drugs [Internet]. 2018 [cited 2019 Dec 25]. Available from: https://doi.org/10.1007/s40265-018-0983-6.

16. Bulbake U, Doppalapudi S, Kommineni N, Khan W. Liposomal formulations in clinical use: an updated review. Pharmaceutics 2017;9(12):1-33. doi:10.3390/pharmaceutics9020012.