

Diss. ETH Nr. 7149

HERSTELLUNG VON LIPOSOMEN AUS SYNTHETISCHEN LIPIDEN
UND EINSCHLUSS VERSCHIEDENER MODELLSUBSTANZEN:
TOXIZITÄTSPRUEFUNGEN IM HINBLICK AUF EINE MOEGLICHE
TOPISCHE APPLIKATION

Abhandlung
zur Erlangung des Titels eines
Doktors der Naturwissenschaften
der Eidgenössischen Technischen Hochschule
Zürich

vorgelegt von
WALTER BERTSCHI
eidg. dipl. Apotheker
geboren am 31. Mai 1952
von Suhr, Kanton Aargau

angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. H.G. Weder
Prof. Dr. O. Sticher

1982

Mittels der Detergens-Dialyse wurden Liposomen aus DPPC, DSPC, DHPC und EYL/DHPC hergestellt; durch Säulenchromatographie, dynamisches Light Scattering und UZ-Sedimentation wurden sie charakterisiert. 1,2-Di-O-Hexadecyl-Glycero-3-phosphorylcholin (DHPC) wurde nach einer modifizierten Vorschrift synthetisiert. Homogenitätsunterschiede der verschieden zusammengesetzten Liposomen wurden aufgezeigt und die Gründe dafür diskutiert. Neutrale Liposomen wiesen eine starke Tendenz zur Fusion und/oder Aggregation auf. Durch den Einbau eines Ladungsträgers im Bilayer konnte die Stabilität der Vesikelsuspensionen verbessert werden.

Als Arzneistofffreigabemodell wurde 6-Carboxyfluorescein als hydrophile Substanz in DPPC/DCP- und in DSPC/DCP-Liposomen eingeschlossen, und dessen Einschlussstabilität bei verschiedenen Temperaturen untersucht.

Der Sedimentationskoeffizient sowie die Diffusionskonstante von Liposomen, bestehend aus synthetischen Lipiden, und die CF-Einschlussversuche derselben wiesen daraufhin, dass diese im Vergleich zu EYL-Liposomen einen viel dichter gepackten Bilayer aufweisen. Hieraus resultiert, dass bei äquimolaren Lipidkonzentrationen, EYL-Liposomensuspensionen ein Vielfaches an Vesikeln enthalten als entsprechende "synthetische"-Liposomensuspensionen.

Ferner wurden steroidbeladene Liposomen hergestellt. Hierzu wurden BM-17-V, BM-21-P und PD-21-P in DPPC/DMPA-Liposomen eingebaut. Die Einbaustabilität von frisch hergestellten, sterilisierten und gelagerten Liposomen wurde mittels Säulenchromatographie und durch ein Dialyseverfahren unter-

sucht. Steroidenthaltende Liposomen wurden bei verschiedenen Temperaturen mit einem Modellmembran-System (EYL-MLV) inkubiert, und der Steroid-Transfer von den Liposomen zur Modellmembran untersucht. Ein Zusammenhang zwischen Fettsäurekettenlänge der derivatisierten Steroide und Einschliessstabilität konnte bestätigt werden.

Schliesslich wurden Hautvertäglichkeitstests und Toxizitätsversuche an Keratinocytenkulturen mit DPPC-, DSPC- und EYL-Liposomen durchgeführt. Dabei erwiesen sich DPPC- und DSPC-Liposomen, im Gegensatz zu EYL-Liposomen, als nicht toxisch.

S U M M A R Y

A modified synthesis of 1,2-Di-O-hexadecyl-3-phosphorylcholine (DHPC) and a method for the preparation of DPPC-, DSPC-, DHPC- and EYL/DHPC-liposomes by means of controlled dialysis is described. The different physicochemical properties of these liposomes were characterized and are discussed.

The described neutral liposomes exhibited a tendency to aggregate or to fuse. By incorporating negatively charged lipids into the bilayer a better stability of these liposomes could be achieved.

For a drug release study 6-carboxyfluorescein as a hydrophilic model substance was entrapped in DPPC/DCP- and in DSPC/DCP-liposomes, and the release of the entrapped marker was studied at different temperatures. The studies of sedimentation coefficient, diffusion constant and of CF-entrapping results indicate that the bilayer of synthetic lipids seems to be much more compact than EYL-bilayers. These facts indicate a smaller amount of vesicles per ml liposome suspension at equimolar lipid concentrations.

As well steroid loaded liposomes were prepared incorporating BM-17-V, BM-21-P and PD-21-P into DPPC/DMPA-liposomes. The concentration of entrapped steroid was measured using columnchromatography and the dialysis method, immediately after the preparation, after sterilisation, and after two months storage.

Steroid loaded liposomes were incubated at different temperatures in a membrane model system (EYL-MLV). The steroid transfer from loaded liposomes to the model system was measured. The stability of entrapment depends on the length

of the fatty acid chain attached to the steroid skeleton.

Finally, skin sensitivity tests on human skin and toxicity tests with keratinocytes were made with DPPC-, DSPC- and EYL-liposomes. EYL-liposomes showed a pronounced toxicity, whereas synthetic liposomes did not.