



Doctoral Thesis

Pharmakokinetik von physikalisch-chemisch definierten unilamellaren und multilamellaren Liposomen in der Ratte

Author(s):

Bellenberg, Georg

Publication Date:

1980

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000314581> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH Nr: 6644

Pharmakokinetik von physikalisch-chemisch definierten
unilamellaren und multilamellaren Liposomen
in der Ratte

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

vorgelegt von
Georg Bellenberg
Dipl. Pharm. ETH
geboren am 23. November 1951
von Bundesrepublik Deutschland

angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. H.G. Weder, Referent
Prof. Dr. M.H. Bickel, Korreferent

1980

7. Zusammenfassung

Das in vivo-Verhalten der Liposomen wird von zwei Faktoren entscheidend beeinflusst, nämlich von der Homogenität des verwendeten Liposomenpräparates und von der Grösse der Liposomen, wie in der Untersuchung von neutralen und sehr homogenen unilamellaren Liposomen (Grössenbereich 30 bis 177 nm) und inhomogenen, multilamellaren Liposomen (Grössenbereich 20 bis 1'000 nm) bewiesen werden konnte. Dabei zeigte sich die deutlich verlangsamte Elimination der homogenen, unilamellaren Liposomen, für die ein grössenmässiges Optimum zum Erreichen hoher Plasmawerte im Bereich der maximalen Porengrösse im sinusoidalen Kapillarbereich (100 nm) nachgewiesen werden konnte. Multilamellare Liposomen zeigen deutlich niedrigere Plasma-Leber-Quotienten als homogene Liposomen, mit steigender Inhomogenität (und Grösse) steigen die Leber- und Milzspiegel signifikant an, die Plasmaspiegel nehmen entsprechend ab.

Dieser Einfluss der Homogenität zeigt sich deutlich im Plasmaeliminationsverhalten von geladenen, durch Detergens-Dialyse hergestellten und sehr homogenen, relativ grossen Liposomen (46 - 53 nm). Sowohl positive als auch negativ geladene Liposomen wiesen eine signifikant verlangsamte Plasmaelimination auf, verglichen mit in der Literatur beschriebenen Eliminationsdaten von kleinen, durch Beschallung hergestellten Liposomen (ca. 25 nm). Bestätigt werden konnte die Beobachtung verschiedener Autoren, dass die Plasmaelimination von Liposomen einen biphasischen Verlauf aufweist, gleichzeitig wurde demonstriert, dass dieser biphasische Verlauf durch die Anreicherung in der Leber deutlich beeinflusst wird. So findet sich die niedrigste Leberkonzentration nach der Applikation von neutralen Liposomen, die die langsamste Plasmaelimination zeigen, und die höchste Leberkonzentration bei der Verwendung von negativen Liposomen, die am raschesten aus dem Plasma eliminiert werden.

Auch bei der Untersuchung der ladungsabhängigen Verteilung zeigt

te sich die erhöhte Gewebsaffinität der negativ geladenen Liposomen sowohl für beschallte, kleine unilamellare Liposomen (18 bis 25 nm) als auch für die relativ grossen, durch Detergens-Dialyse hergestellten und sehr homogenen unilamellaren Liposomen (46 bis 53 nm). Dies wurde auch aus dem Leber-Plasma-Quotienten deutlich, der für neutrale Liposomen die höchsten Werte zeigt und für negativ geladene Liposomen die niedrigsten Werte. Allerdings ist der Ladungseffekt wesentlich schwächer ausgeprägt, als auf Grund der Resultate verschiedener Autoren angenommen werden konnte, während Grösse und Bilayerzusammensetzung einen starken Einfluss auf das in vivo-Verhalten zeigen.

Für die Untersuchungen über das in vivo-Verhalten von liposomal eingeschlossenem Arzneistoff wurde Inulin als Modells substanz eingesetzt. Es konnte nachgewiesen werden, dass im Moment der Applikation oder auch noch kurze Zeit später ein geringer Teil der Liposomen zerstört wurde, dass also gleichsam eine Initialdosis freigesetzt wurde. Die noch verbleibenden Liposomen zirkulieren noch über einen Zeitraum von mindestens 4 Stunden intakt im Plasma, wie durch säulenchromatographische Analysen nachgewiesen werden konnte. Durch Doppelmarkierung (Lipid und eingeschlossene Modells substanz) konnte nachgewiesen werden, dass an den im Blut zirkulierenden Liposomen ein kontinuierlicher Lipidaustausch stattfindet, dass aber dadurch keine Zerstörung der Liposomen erfolgt. Daher kann der in die Liposomen eingeschlossene Arzneistoff als ein zirkulierendes Depot angesehen werden, was für einen pharmazeutischen Einsatz von Liposomenpräparaten von Interesse sein dürfte. Es zeigte sich allerdings deutlich, dass für weitere Untersuchungen mit Liposomen in vivo ein Lipidmarker eingesetzt werden sollte, der nur dem Liposomenverhalten folgt, aber nicht dem Gesamtlipidverhalten, um dadurch Artefakte auszuschliessen, die durch Lipidaustausch bedingt sind.

Aus den Ergebnissen geht eindeutig hervor, dass Liposomen als Drug-Carrier gezielt eingesetzt werden können, und zwar gezielt nach dem beabsichtigten Eliminationsverhalten: eine rasche Eli-

mination aus der Zirkulation, die zu entsprechend hohen Leber- (und Milz-)spiegeln führt, erfordert den Einsatz von grossen Multibilayer-Liposomen, während hohe Lipidspiegel in der Zirkulation und entsprechend niedrige Gewebsspiegel (und auch eine verringerte Elimination des Arzneistoffes durch Ausscheidung oder Metabolismus) durch homogene, unilamellare Liposomen in Grössen um 100 nm erzielt werden können.

Summary

The in vivo distribution and elimination of liposomes after i.v. application in the rat was studied with respect to the influence of size, homogeneity and charge of the liposome populations used.

Using neutral, very homogeneous unilamellar liposomes (size range: 30 to 177 nm) and inhomogeneous multilamellar liposomes (size range: 18 to 1'000 nm) it could be demonstrated that there are two factors affecting the elimination and distribution of liposomes in vivo: homogeneity and size. There is a clear decrease in plasma elimination of unilamellar liposomes compared to multilamellar liposomes of similar size. The lowest plasma elimination could be demonstrated for unilamellar liposomes of a diameter near the maximal pore width of the capillaries of the sinusoidal system. Increasing inhomogeneity and size is accompanied by an increasing liver and spleen retention.

Regarding the plasma elimination of homogeneous unilamellar liposomes of different charge (size range: 46 to 53 nm, prepared using the detergent dialysis method) and their corresponding liver concentrations it could be shown, that the slowest elimination (neutral liposomes) results in the lowest liver marker concentrations, the fastest elimination (negatively charged liposomes) leads to the highest liver marker enrichment. Compared to literature data of small unilamellar vesicles prepared by sonication there is a clear decrease in the plasma elimination of large homogeneous unilamellar liposomes. The plasma elimination can be separated in a first rapid phase and a second slower phase, both following first order kinetics.

A higher affinity of negatively charged liposomes to tissue could be demonstrated with large homogeneous unilamellar liposomes (size range: 46 to 53 nm, prepared by the detergent dialysis method) and with small unilamellar vesicles (size range: 18 to 25 nm, prepared by sonication). The effect of charge is smaller than assumed earlier, while size and composition of the bilayer lipids affect the

the distribution and elimination of liposomes in vivo to a greater extent.

In vivo experiments using inulin entrapped in homogeneous unilamellar liposomes as an internal marker showed, that a smaller part of the liposomes was destroyed within the first time after application. The amount of the immediately released drug could be regarded as the initial dose. The greater part of the liposomes still containing the entrapped inulin remained intact. A continuous lipid exchange could be observed during the incubation in vivo up to 4 hours without any loss of entrapped inulin.

These results demonstrate that liposomes are useful as drug carriers in vivo, either representing a depot circulating in the blood or a carrier for rapid enrichment of entrapped drugs in liver and spleen. Summarized the in vivo distribution and the elimination of liposomes depend on size, homogeneity and number of bilayers of the liposomes used.