



Doctoral Thesis

Optimierung von Dexamethason enthaltenden Liposomen zur intraartikulären Therapie der Arthritis

Author(s):

Bonanomi, Myriam Hélène

Publication Date:

1987

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000413019> →

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. 8279

**OPTIMIERUNG VON
DEXAMETHASON ENTHALTENDEN LIPOSOMEN
ZUR
INTRAARTIKULÄREN THERAPIE DER ARTHRITIS**

Abhandlung
zur Erlangung des Titels eines
Doktors der Naturwissenschaften
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von
Myriam-Hélène Bonanomi
eidg. dipl. Apothekerin
geboren am 24. April 1956
von Courchavon/JU

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

Zürich 1987

5. Zusammenfassung

Die intraartikuläre Applikation von liposomal verpackten Arzneimitteln zur Therapie von Gelenksarthritiden könnte die Wirksamkeit der Arzneimittel erhöhen und deren lokalen und systemischen Nebenwirkungen verringern. Die bereits am gesunden und am arthritischen Kaninchen getesteten neutralen, Dexamethasonpalmitat-haltigen, unilamellaren Liposomen mit Durchmessern von 160 nm sollten zur Verbesserung ihrer Retention im Gelenk und ihrer Aufnahme in die Synovialzellen weiter optimiert werden. Die Angriffspunkte dieser Optimierung waren einmal die Grösse der Vesikel, ihre Nettoladung (neutral, positiv oder negativ) und ihre Fluidität, die durch die Übergangstemperatur des Hauptlipides vorgegeben wird. Je grösser die Vesikel sind, desto weniger werden sie aus dem Gelenkraum gespült, andererseits werden zu grosse Vesikel von den Zellen nicht mehr phagozytiert.

Mittels kontrollierter Detergentsdialyse wurden Dexamethasonpalmitat (DMP) enthaltende Liposomen verschiedener Grösse und Zusammensetzung hergestellt und auf ihre Stabilität bei einer Lagerung bei 4°C geprüft. Von den getesteten Detergentien konnten nur mit n-Octyl-tetraoxyäthylen und n-Octyl-pentaoxyäthylen Liposomen mit mittleren Durchmessern über 600 nm hergestellt werden. Bei den getesteten Lipiden ergab das Eigelb-Phosphatidylcholin (egg-PC, von Lipid Products, Grade A) die stabilsten Liposomen. Die Ladungsträger Phosphatidsäure (negativ) und Stearylamin (positiv) verbesserten die Stabilität der Präparate. Für die pharmakokinetischen Untersuchungen an gesunden Kniegelenken von Kaninchen wurden deshalb die folgenden Präparate eingesetzt: neutrale, positiv und negativ geladene oligolamellare egg-PC-Liposomen mit Durchmessern von 3550 nm, respektive 950 und 750 nm, die in der Literatur schon oft für die intraartikuläre Therapie dokumentierten multilamellaren Liposomen mit Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC), die entsprechenden multilamellaren egg-PC-Liposomen, da sie etwas stabiler waren als die DPPC-Liposomen, die neutralen, 160 nm grossen, unilamellaren egg-PC-Liposomen als Referenz und ihr negativ geladenes Pendant mit 140 nm Durchmesser, um die Wirkung der negativen Ladung vom Einfluss der Grösse der Vesikel abzugrenzen. Um die Pharmakokinetik der liposomalen DMP-Präparate mit derjenigen der heute üblichen Kortikoid-Kristallsuspensionen zu vergleichen, wurden parallel auch Triamcinolonacetonid-Suspensionen (TAC) verabreicht.

Nach der intraartikulären Injektion wurden die Plasmaspiegel, die Retention im Gelenkspunktat und die Aufnahme des radioaktiv markierten DMP und Phospholipids in die Synovialis, die Menisci, Knorpel, Sehnen und Bänder, die Knochenteile und in die poplitealen Lymphknoten gemessen. Gleichzeitig wurden auch Urin und Fäzes gesammelt und ebenfalls deren Gehalt an DMP und Phospholipid bestimmt. Zur Abschätzung der systemischen Wirkung der verschiedenen Präparate wurden die Cortisolplasmawerte gemessen.

Die liposomalen Präparate waren den Kristallsuspensionen klar überlegen: die nach Verabreichung von Kortikosteroid-Liposomen gemessenen Plasmaspiegel waren viel tiefer, es blieb bedeutend mehr im Gelenkspunktat zurück und es wurde viel mehr in die Gelenksgewebe aufgenommen als vom kristallinen Kortikosteroid. Auch supprimierten die liposomalen Präparate den endogenen Cortisolspiegel überhaupt nicht, wohingegen die Kortikosteroidsuspension die endogene Cortisolausschüttung völlig unterbanden. Bei der Gelenksretention ergaben sich auch bei den Liposomen grosse Unterschiede. Die 4 verschiedenen negativ geladenen Präparate waren stabiler im Punktat und wurden vom Gewebe stärker aufgenommen als die neutralen und die positiv geladenen Liposomen. Da die Versuche nur über 24 oder 48 Stunden liefen, können diese 4 Präparate nicht in eine endgültige Rangfolge gestellt werden, es zeichnete sich aber ab, dass die kleinen unilamellaren egg-PC-Liposomen (140 nm) doch schneller aus dem Gelenk verschwinden als die 750 nm grossen oligolamellaren, diese wiederum sind den aus der Literatur entnommenen multilamellaren DPPC-Liposomen mindestens gleichwertig. Von den multilamellaren egg-PC-Liposomen blieb am meisten in der Synovialflüssigkeit zurück, die Aufnahme in die Gelenksgewebe war aber genau gleich wie bei den 750 nm grossen, oligolamellaren egg-PC- und den multilamellaren DPPC-Liposomen. Welches der 4 negativ geladenen Liposomenpräparate nun die besten pharmakokinetischen und therapeutischen Resultate bringt, müsste mit pharmakokinetischen Untersuchungen über mehr als 48 Stunden und mit Messungen der verschiedenen therapeutischen Wirkungen bestimmt werden.

Summary

The entrapment of drugs in liposomes for intra-articular administration in therapy of rheumatoid arthritis could enlarge its effectiveness and reduce its local and systemic side effects. Therefore the neutral and unilamellar liposome preparation with dexamethasone palmitate, already tested in healthy and arthritic rabbits, had to be improved in relation to its retention in joint and its uptake in synovial lining cells. To achieve such an improvement of pharmacokinetics there were the possibilities of enlargement of the vesicles mean diameter, variations in its net charge (neutral, positive or negative) and its fluidity arising from the transition temperature of the main lipid component. The larger the vesicles are, the less will be washed out from the joints, on the other hand vesicles too large in diameter won't be phagocytosed anymore.

Dexamethasone palmitate (DMP) entrapping liposomes of various sizes and compositions were produced by controlled detergent dialysis and their stability upon storage at 4°C was tested. Among all detergents used only n-octyl-tetraoxyethylene and n-octyl-pentaoxyethylene yielded liposomes with mean diameters above 600 nm and among the tested lipids egg phosphatidylcholine (egg-PC, Lipid Products, grade A) gave the most stable liposomes. The charge carriers phosphatidic acid (PA) and stearylamine (SA) improved the liposomes stability. Therefore the pharmacokinetic studies on healthy joints of rabbits were done with the following preparations: oligolamellar egg-PC-liposomes with neutral, positive or negative charge with diameters of 3550 nm, 950 nm and 750 nm respectively, multilamellar and negatively charged dipalmitoyl-phosphatidylcholine(DPPC)-liposomes well documented in literature for intra-articular therapy, the corresponding multilamellar and again negatively charged egg-PC-liposomes as they were more stable upon storage, unilamellar neutral egg-PC-liposomes of 160 nm in diameter as reference and their negatively charged equivalent of 140 nm in diameter to mark off the influence of the negative charge from the vesicles size. To compare the pharmacokinetics of liposomal DMP-preparations with conventional microcrystalline corticosteroid preparations corresponding experiments with triamcinolone acetonide suspensions were made.

After the intra-articular injection plasma levels, retention in synovial fluid and uptake of labelled DMP and phospholipid in synovialis, menisci, cartilage, tendons and ligaments, in bones and popliteal lymph nodes was measured. At the same time urine and feces were collected and their content of DMP and

phospholipid was examined too. To estimate systemic effects of the different preparations the endogenous cortisol plasma level was measured.

The liposomal preparations were clearly superior to the crystalline suspensions: the plasma levels reached after administration of liposomal corticosteroid were much lower, the retention in synovial fluid was considerably better and the uptake in joint tissues was much higher than after injection of crystalline corticosteroids. In addition, the liposomal preparations didn't suppress the endogenous cortisol level at all, whereas the crystalline suspension prevented all endogenous cortisol output. There were also significant differences in retention in joint among the liposome preparations. The 4 negatively charged preparations were much more stable in synovial fluid and were taken up in joint tissues to a greater extent than the neutral or positively charged liposomes. As the experiments took only 24 or 48 hours the 4 negatively charged preparations can't be put in a final order of precedence. Nevertheless it became apparent that the small unilamellar egg-PC-liposomes (140 nm) were disappearing from the joint a bit faster than the larger, oligolamellar ones (750 nm) which were at least equivalent to the multilamellar DPPC-liposomes drawn from literature. Best retention in synovial fluid was reached by the multilamellar egg-PC-liposomes, on the other hand their uptake in joint tissues was the same as with the oligolamellar egg-PC- (750 nm) or the multilamellar DPPC-preparations. To find out which one of these 4 negatively charged preparations gives best pharmacokinetic and therapeutic results, should be evaluated by pharmacokinetic experiments lasting more than 48 hours and by assessment of its various therapeutic effects.