

17. Aug. 1990

Diss. ETH Nr. 9072

PHARMAKOSOMEN®
ALS
OKULARES DRUG DELIVERY SYSTEM

ABHANDLUNG

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

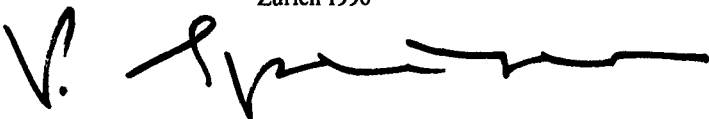
vorgelegt von

ROGER RENATO KAISER

eidg. dipl. Apotheker
geboren am 23. August 1957
Deutscher Staatsangehöriger

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. P. Speiser, Referent
PD Dr. O. Vaizoglu, Korreferent

ok Kohler
Zürich 1990



ZUSAMMENFASSUNG

Gegenstand dieser Arbeit war die Entwicklung eines neuen okularen Drug Delivery Systems. Als Modellarzneistoff diente Bupranolol HCl, das sowohl beim Tier als auch beim Menschen den Augeninnendruck zu senken vermag.

Die Bioverfügbarkeit eines in den Bindehautsack applizierten Arzneistoffes wird weitgehend vom Penetrationsvermögen eines Arzneistoffes in okulare Gewebe und somit von dessen physikalisch-chemischen Eigenschaften bestimmt. Daneben spielt die Kontaktzeit des Pharmakons am Applikationsort für die Bioverfügbarkeit eine grosse Rolle und ist in der Regel bei wässrigen Systemen sehr kurz.

Die kovalente Bindung des Modellarzneistoffes an Glycerol-1,3-dipalmitat über ein Zwischenglied (Bernsteinsäure) führte zu einer ausgesprochenen amphiphilen Substanz, die in Wasser smektische Phasen bildet. Sowohl elektronenoptische Aufnahmen als auch physikalische Untersuchungen von Bupranololdipalmitat HCl Dispersionen mittels Differentialthermoanalyse (DSC) und Elektronenspinresonanzanalyse (ESR) weisen darauf hin, dass solche Glyceridprodrugs, die von Vaizoglu und Speiser (1986) als Pharmakosomen bezeichnet werden, vesikuläre Strukturen bilden. Da der Arzneistoff selbst Teil der Vesikelmembran ist, unterscheidet sich ein solches System weitgehend von liposomalen Systemen. Neben der physikalisch-chemischen Charakterisierung von Bupranololdipalmitat HCl sollte auch dessen biologische Aktivität im Tierversuch untersucht werden.

Die Herstellung von Bupranololdipalmitat HCl Dispersionen erfolgte über die klassische Filmmethode und anschliessender Beschallung der Dispersionen während 60 Minuten bei 50 kHz. Der mittlere Teilchendurchmesser solcher Dispersionen lag im Bereich von 100 nm. Die Dispersionen können als homogen bezeichnet werden. Als Dispersionsmittel wurde Wasser und isotone Nichtelektrolyt-Lösungen verwendet.

Die Zugabe verschiedener Elektrolyt-Lösungen führte bereits bei geringen molaren Konzentrationen zu Aggregationen, so dass eine Isotonisierung von Bupranololdipalmitat HCl Pharmakosomen® mit Natriumchlorid und anderen Elektrolyten nicht möglich ist.

Stabilisierungsuntersuchungen bei 4 °C und 25 °C haben gezeigt, dass Dispersionen von Bupranololdipalmitat HCl in Wasser und Glucose 5% eine beschränkte Haltbarkeit von rund 3 Wochen bei 25 °C und von 2 Monaten bei 4 °C besitzen. Dabei kommt es ausschliesslich zu einer hydrolytischen Abspaltung der pharmakophoren Gruppe. Bupranololhemisuccinat HCl als weiteres mögliches Hydrolyseprodukt konnte nur in geringem Ausmass festgestellt werden.

Die Haltbarkeit von Bupranololdipalmitat HCl Pharmakosomen® lässt sich durch Lyophilisation deutlich erhöhen, wobei als Gerüstbildner ausschliesslich Nicht-elektrolyte verwendet wurden. Bei der Respispergierung kommt es zu einer merklichen Grössenzunahme der Vesikel, wobei diese durch Fusionen einzelner Partikel zustande kommen dürfte.

Die biologische Aktivität von Bupranololdipalmitat HCl Pharmakosomen® in isotoner Glucose-Lösung wurde am Kaninchenauge bestimmt. In einem sogenannten Cross Over Design wurde die augeninnendrucksenkende Wirkung von Bupranolol HCl und Bupranololdipalmitat HCl nach Applikation von jeweils 50 µl in den Bindehautsack mit Hilfe der Applanationstonometrie bei 6 Kaninchen gemessen.

Bei allen 3 gewählten Konzentrationen im Bereich von 0.1 - 1.0% (bezogen auf Bupranolol Base) zeigte Bupranololdipalmitat HCl eine signifikante Senkung des Augeninnendruckes ($P < 0.01$), wobei die maximale prozentuale Erniedrigung gegenüber dem Ausgangswert im Bereich von 20 - 30% lag. Im Falle von Bupranolol HCl konnte bei einer Konzentration von 0.1% (bezogen auf Bupranolol Base) keine signifikante Erniedrigung des Augeninnendruckes festgestellt werden. Erst bei Konzentrationen von 0.5 - 1.0% kam es zu einer maximalen Erniedrigung von 20% ($P < 0.01$). Diese maximale Erniedrigung wurde bei allen Prüfpräparaten nach 1 - 2 Stunden erreicht, wobei das t_{max} bei Bupranololdipalmitat HCl eher später auftrat. Die Wirkdauer aller Präparate ist abhängig von der applizierten Wirkstoffkonzentration und betrug im Falle von Bupranolol HCl maximal 6.3 ± 2.0 Stunden. Demgegenüber betrug die Wirkdauer beim Glycerid-Prodruq im Konzentrationsbereich von 0.5 - 1.0% mehr als 8 Stunden.

Der Vergleich der Flächen zwischen Effekt-Zeit-Kurve und Basislinie als Mass für die biologische Aktivität zeigt deutlich die Überlegenheit des Bupranololdipalmitat HCl gegenüber der Muttersubstanz Bupranolol HCl. Die Berechnung der AUC^{0-8} nach der Trapezregel lieferte im Falle von Bupranololdipalmitat HCl bei einer Konzentration von 1.0% (bezogen auf Bupranolol Base) eine um den Faktor 2.3, bei einer Konzentration von 0.5% um den Faktor 3.0 höhere biologische Aktivität.

SUMMARY

Subject of this work at hand is the development of a new ocular drug delivery system. Bupranolol hydrochloride served as a model drug.

This drug lowers the intra-ocular pressure (IOP) of humans as well as animals. The bioavailability of a drug being applied into the fornix is influenced at large by the ability of penetration into ocular tissues. Therefore it is also influenced by the physico-chemical properties. Besides this the contact-time at the place of application plays an important role. The contact-time is normally very short when aqueous systems are used.

The covalent binding of the model drug to a glycerol-1,3-dipalmitate having used succinic acid as a spacer lead to a amphiphilic substance that forms smectic phases in water. Electromicroscopic pictures as well as physical experiments (DSC and ESR) show that such prodrugs of glycerid form vesicular structures. These systems are called after Vaizoglu and Speiser (1986) pharmacosomes[®]. Such a system differs by far from liposomal ones since the drug itself is a part of the vesicular membrane. Apart from the physico-chemical characterization of bupranololdipalmitate hydrochloride pharmacosomes[®] the biological activity was examined as well.

The vesiculation of bupranololdipalmitate hydrochloride dispersions resulted from the classical film-method with sonication of the dispersion (50 kHz during 60 minutes). The average diameter of those vesicles was about 100 nm. These dispersions may be regarded as homogenous. Water and non-electrolytic solutions served as media of dispersion. The addition of diverse electrolytic solutions lead to aggregations - even at low molar concentrations. An isotonization of the dispersion with sodium chloride and other electrolytes is therefore impossible.

Examinations of the stability at 4 °C and 25 °C proved that dispersions of bupranololdipalmitate hydrochloride in water and aqueous isotonic solution of glucose have limited shelf-life. At 25 °C the shelf-life is limited to 2 - 3 weeks, whereas the temperature at 4 °C enhanced the shelf-life to 2 months. During storage an exclusive hydrolytic separation of the pharmacophore group can be observed. Bupranololhemisuccinate as another possible product of hydrolyse was detected only in small amounts. The shelf-life of bupranololdipalmitate hydrochloride pharmacosomes[®] can be considerably enhanced by freeze-drying if only non-electrolytes were used. The vesicles gain in dimension after redispersion. This might be caused by the fusion of the sole particles.

The biological activity of bupranololdipalmitate hydrochloride pharmacosomes[®] (in isotonic solution of glucose) was tested at rabbits. The lowering of the intraocular pressure (IOP) was measured with the help of an applanation-tonometer in a so-called cross-over design (6 rabbits). A significant lowering of the IOP ($p < 0.01$) was reached with bupranololdipalmitate hydrochloride in all the 3 chosen concentrations of 0.1 - 1.0% (referring to bupranolol base). The maximal lowering power compared to the base-line was within the range of 20 - 25%. In the case of bupranolol hydrochloride with the concentration of 0.1% (referred to bupranolol base) no significant lowering of IOP could be detected. Only with the concentration of 0.5 - 1.0% (referred to bupranolol base) there was a maximal lowering activity of 20% ($p < 0.01$). This maximal effect was reached after 1 - 2 hrs with all preparations. The t_{\max} of bupranololdipalmitate hydrochloride appeared later. The duration of activity of the preparations is dependent of the applied dosis. In the case of bupranolol the duration of effect was 6.3 ± 2.0 hrs. On the other hand, the duration of effect of the glycerid-prodrug (in the concentration of 0.5 - 1.0%) was more than 8 hrs. The comparison of areas between the effect-time-curve and the base-line (as a measure of biological activity) clearly showed the superiority of bupranololdipalmitate hydrochloride as compared to the mother-substance. The calculation of the AUC^{0-8} - following the rules of trapezoid - yielded the two following results:

- 1) bupranololdipalmitate hydrochloride prodrug in the concentration of 1.0% (referring to bupranolol base) showed an enhanced biological activity compared to aequimolar bupranolol mother drug with the factor of 2.3
- 2) bupranololdipalmitate hydrochloride prodrug in the concentration of 0.5% (referring to bupranolol base) showed an enhanced biological activity compared to aequimolar bupranolol mother drug with the factor of 3.0.