

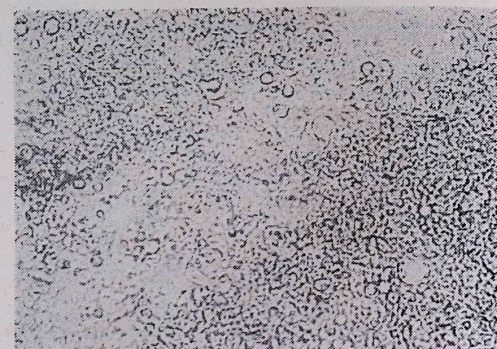
Liposomy zawierające dexamethason — maść oczną

LIPOSOMES CONTAINING DEXAMETHASONE OPHTHALMIC OINTMENT

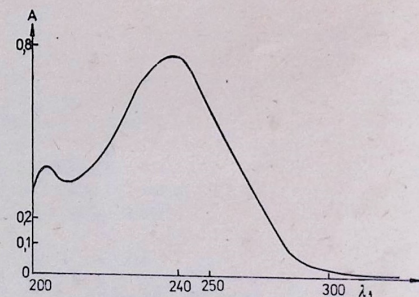
Presented is the method of production of the liposomal form of dexamethasone. The liposomes have been obtained by the method of manual shaking out. Dexamethasone contained in liposomes MLV was connected with a base forming a 0.05% ophthalmic ointment. The drug prepared in this manner was used in an experimental viral interstitial keratitis in rabbits.

HASŁA: liposomy, dexamethason, maść

KEY WORDS: liposomes, dexamethasone, ointment



Ryc. 1. Zdjęcie preparatu zawiesiny liposomalnej (pow. 800 \times).



Ryc. 2. Widmo absorcyjne UV etanolowego roztworu dexamethasonu. Oś odciętych — długość fali, oś rzędnych absorbancja.

waniu połączonych ekstraktów w próżni i rozpuszczeniu suchej pozostałości w 96% alkoholu etylowym. Widmo absorcyjne UV roztworów etanolowych rejestrowano za pomocą spektrofotometru Specord UV-Vis. Z chwilą stwierdzenia w przebiegu krzywej absorbancji braku charakterystycznego dla dexamethasonu maksimum pochłaniania przy 240 nm (ryc. 2), przemycanie przerywano a osad liposomów zawieszano w 0,00008 mM

PROBLEM zwiększania penetracji oraz utrzymywania przedłużonego działania leków stosowanych miejscowo w okulistyce pozostaje nadal w kręgu badań okulistów¹. Wydaje się, że szansą dla rozwiązania tego problemu mogą być liposomy^{2,3}. Dlatego w ostatnich latach możemy zaobserwować wzrost zainteresowania liposomami jako nośnikami leków stosowanych w obrębie oczu u zwierząt doświadczalnych^{4,5,7,11}.

Stosowanie kortykosteroidów w schorzeniach układu wzrokowego jest nadal powszechne mimo możliwości użycia niesteroidowych leków przeciwzapalnych¹⁰.

Celem pracy jest przedstawienie metodyki wykonania maści ocznej 0,05% dexamethasonu zamkniętego w liposomach dla celów doświadczalnych.

MATERIAŁ I METODYKA

Materiał użyty do badań: lecytyna z jaj kurzych, preparat handlowy „Merck” oczyszczony metodą *Singletona* na kolumnie z tlenkiem glinu, cholesterol (Byk-Mallinckrodt Chemische Produkte GmbH), dexamethason (świadczenie badania 1093/1070 wystawione przez Warszawskie Zakłady Farmaceutyczne Polfa dla preparatu dexamethason micronise, Ph.Eur.U.S.P.J.Ph. Chloroform-Merck), metanol cz.d.a. (POCH Gliwice), etanol 96% (POCH Gliwice), wirówka T-24 Janetki, wyparka rotacyjna „Ratavapour RE” (Büchl), spektrofotometr Specord UV-Vis (Carl-Zeiss-Jena), mikroskop świetlny Docouval (Carl-Zeiss-Jena).

Otrzymywanie liposomów zawierających dexamethason

Liposomy zawierające dexamethason sporządzono metodą ręcznego wytrząsania^{2,3}: 100 mg lecytyny, 20 mg cholesterolu i 30 mg dexamethasonu (2:1:1,4 mol/mol) umieszczono w kolbie okrągłodennej o pojemności 250 cm³ i rozpuszczono w mieszaninie chloroform-metanol (2:1 v/v). Rozpuszczalniki odparowano w temperaturze 60°C z użyciem rotacyjnej wyparki próżniowej. W wyniku tego procesu na ściankach kolby osadzała się cienka błona lipidowa. Po dodaniu 20 cm³ 0,00008 mM CaCl₂ ogrzanego do temperatury 60°C, zawartość kolby wytrząsano przez 15 minut na łaźni wodnej w tej samej temperaturze. Powstałą dyspersję wielowarstwowych liposomów zawierających dexamethason wbudowany w dwuwarstwy lipidowe pozostawiono do zrównoważenia na jedną godzinę w temperaturze pokojowej. Obecność liposomów w dyspersji potwierdzono metodą mikroskopii świetlnej (ryc. 1).

W celu oddzielenia liposomów od niezamkniętego dexamethasonu preparat liposomalny poddawano 15-minutowemu wirowaniu przy 20 000 g. Po zdekantowaniu osad zawieszano w 0,00008 mM CaCl₂ i ponownie odwirowywano. Procedurę przemycania osadu powtarzano kilkakrotnie. Obecność dexamethasonu w supernatantach określano spektrofotometrycznie po uprzedniej trzykrotnej ekstrakcji supernatantu chloroformem, odparow-

Z Oddziału Okulistycznego Szpitala Górniczego w Sosnowcu, ordynator: doc. dr med. Jerzy Szaflik i z Katedry Biochemii i Biofizyki Wydziału Farmaceutycznego w Sosnowcu AM w Katowicach, kierownik: prof. dr n. przyr. Tadeusz Wilczok

Reprint requests to: Dr Edward Wylęgała, ul. Piastowska 45; 43-300 Bielsko-Biala, Poland

Tabela I

Autorzy	Rodzaj liposomów	Metoda otrzymywania	Zwierzęta, sposób podawania	Substancja lecznicza
Singh, Mezei ¹¹ 1983	MLV	Ręczne wytrząsanie	Zdrowe króliki, krople oczne	Triamcinolone acetonide
Barza i współprac. ³ 1984	SUV	Reversephase evaporation method (RPEM)	Zdrowe króliki, wstrzyknięcia podspójówkowe	Gentamycini sulfate
Barza i współprac. ⁴ 1985	SUV	RPEM	Zdrowe małpy, wstrzyknięcia doszkliskowe	Amphotericin B
Dharma i współprac. ⁵ 1986	SUV	RPEM	Zdrowe króliki, krople oczne	Idoxuridine
Peyman i współprac. ⁷ 1987	LUV	RPEM	Zdrowe króliki, wstrzyknięcia doszkliskowe	Trifluorothymidine

CaCl₂ 1 cm³ zawiesiny rozpuszczano w 96% etanolu. Na podstawie wyznaczonego spektrofotometrycznie stężenia dexamethasonu w otrzymanym roztworze (pomiar absorbancji przy 240 nm), określano bezwzględną ilość tej substancji leczniczej zamkniętej w liposomach. Pozostałość dyspersji liposomalnej doprowadzano przez odwirowanie do objętości 1 cm³ i łączono porcjami z podłożem aż do uzyskania stężenia 0,05% maści zawierającej dexamethason zamknięty w liposomach. Stosowano podłoże maściowe o składzie: paraffinum liquidum 10,0, lanolinum 10,0, vaselinum album ad 100,0.

OMÓWIENIE

Liposomy ze względu na ilość dwuwarstw fosfolipidowych oraz średnicę można podzielić na: MLV (*multilamellar vesicles*) — liposomy wielowarstwowe średnicy rzędu kilkuset do kilku tysięcy nanometrów, LUV (*large unilamellar vesicles*) — duże liposomy jednowarstwowe o średnicy 100—2400 nm, SUV (*small unilamellar vesicles*) — małe liposomy jednowarstwowe o średnicy 20—30 nm⁸. Podane liposomy MLV miejscowo penetrują wgłąb tkanek wolniej aniżeli SUV⁹. Pozostając dłużej w przestrzeniach międzykomórkowych stopniowo uwalniają zamkniętą substancję leczniczą⁴. Podanie leku okulistycznego w postaci SUV może zwiększyć jego penetrację przez liczne bariery w układzie wzrokowym³.

W tab. I przedstawiono przykłady zastosowań liposomów w badaniach doświadczalnych w obrębie oczu. Przedstawiony przez nas sposób wykonania liposomalnej postaci dexamethasonu jest podobny do prezentowanego przez Singha i Mezei¹¹, którzy zamykali triamcinolon i stosowali go następnie w postaci kropli ocznych. Zastosowane przez nas podłoże maściowe, naszym zdaniem, wydłużyło czas kontaktu leku z galką oczną

oraz znacznie uwierzytelniło dawkowanie leku w klinicznych badaniach doświadczalnych.

Wykonaną przez nas liposomalną postać dexamethasonu stosowaliśmy w wirusowym śródmiąższowym zapaleniu rogówki u królików. Obserwacje oraz wyniki zostaną przedstawione w kolejnej pracy.

PIŚMIENNICTWO

- Assil K.K., Weinreb R.N.: Multivesicular Liposomes: Sustained Release of the Antimetabolite Cytarabine in the Eye. *AMA Arch. Ophthalmol.* 105: 400—403 (1987).
- Bangham A.D., Hill M.W., Miller N.G.A.: Methods in membrane biology, 68—80 (Pergamon Press, New York 1974).
- Barza M., Baum J., Szoka F.: Pharmacokinetics of Subconjunctival Liposome-Encapsulated Gentamicin in Normal Rabbit Eyes. *Invest. Ophthalmol.* 25: 486—490 (1984).
- Barza M., Baum J., Trmblay C., Szoka F., D'Amico D.: Ocular Toxicity of Intravitreally Injected Liposomal Amphotericin B in Rhesus Monkeys. *Amer. J. Ophthalmol.* 100: 259—263 (1985).
- Dharma S.K., Fishman P.H., Peyman G.A.: A preliminary study of corneal penetration of ¹²⁵I-labelled idoxuridine liposome. *Acta Ophthalmol.* 64: 298—301 (1986).
- Gregorialis G., Allison A.C.: Liposomy w biologicznych systemach, 30—42 (Izd. Medicina, Moskwa 1983).
- Liu K., Peyman G., Khoobehi B., Alkan H., Fischella R.: Intravitreal Liposome-encapsulated Trifluorothymidine in a Rabbit Model. *Ophthalmology* 94: 1155—1159 (1987).
- Mazhy P., Leserman L.D.: Small liposomes are better than large for targeting specific drugs in vitro. *Bioch. Biophys. Acta* 73: 313—320 (1983).
- Papahadjopoulos D., Watkins J.: Permeability properties of hydrated liquid crystals. *Bioch. Biophys. Acta* 68: 639—652 (1967).
- Rousselle F.: Utilisation des corticoïdes en pratique courante. *Ophthalmologie* 1: 113—122 (1987).
- Singh K., Mezei M.: Liposomal ophthalmic drug delivery system. I. Triamcinolone acetonide. *Int. J. Pharm.* 16: 339—344 (1983).

Praca wpłynęła: 1.12.1988 (nr 5475).