



Liposomer i lægemiddelforskning

Franzen, Ulrik; Jørgensen, Lene; Larsen, Claus Selch; Jensen, Henrik; Østergaard, Jesper

Published in:
Lægemiddelforskning

Publication date:
2007

Document version
Også kaldet Forlagets PDF

Citation for published version (APA):
Franzen, U., Jørgensen, L., Larsen, C. S., Jensen, H., & Østergaard, J. (2007). Liposomer i lægemiddelforskning. *Lægemiddelforskning*, 14-15.



Liposomer i lægemiddel- forskningen

Liposomer er små vesikler, som består af et dobbeltlag af fosfolipider, der omslutter en vandig opløsning. I forskningen anvendes liposomer som model for biologiske membraner, og inden for medicinsk behandling bruges de til at transportere lægemiddelstoffer ud i kroppen.

Af Ulrik Franzen, Lene Jørgensen, Claus Larsen, Henrik Jensen og Jesper Østergaard

Liposomer har i årevis været genstand for stor interesse i de farmaceutiske og biologiske videnskaber. Det skyldes især liposomernes lighed med cellemembraner og deres stigende anvendelse i drug delivery-systemer, hvor målrettede liposomer kan transportere lægemiddelstoffer hen til det ønskede virkningssted i kroppen.

Navnet liposom oprinder af betegnelsen "fedt legeme", men der er snarere tale om en hul struktur opbygget af fosfolipider. Disse fedtstoffer har både en hydrofil og en lipofil del, og på grund af fosfolipidernes særlige struktur har de tendens til at danne dobbeltlag i vandige opløsninger. Her vender fosfolipidernes hydrofile dele udad mod vandet, mens de lipofile dele samles i dobbeltlagets midte. Liposomer kan bestå af et eller flere lipiddobbeltlag adskilt af vandfyldte hulrum. Kæderne i fosfolipiderne er typisk 14 til 18 kulstofatomer lange, og diameteren på unilamellære liposomer med kun ét dobbeltlag varierer fra 25 nanometer til 10 mikrometer. Afhængigt af den valgte lipidsammen-

HVAD ER FORDELINGSKOEFFICIENTER?

Når et lægemiddelstof tilsættes et system bestående af to ikke-blandbare faser – fx en lipidfase som i en liposomopløsning samt en vandig fase eller to ikke-blandbare væsker som oktanol og vand – vil stoffet, når ligevægt er opnået, fordele sig mellem de to faser i et givent koncentrationsforhold.

Forholdet mellem ligevægtskoncentrationerne i de to faser i fortyndede opløsninger er uafhængig af mængden af lægemiddelstof tilsat ved en fastholdt temperatur. Forholdet mellem ligevægtskoncentrationerne C_{lipid} og C_{buffer} er en ligevægts-

konstant også kendt som fordelings- eller distributionskoefficienten: $K_d = \frac{C_{lipid}}{C_{buffer}}$

K_d er således et mål for den relative affinitet af et lægemiddelstof for en vandig henholdsvis en lipid-fase. Fordelingskoefficienter har fundet bred anvendelse til at forudsige lægemiddelstoffers biologiske aktivitet, fx transport over membraner og receptorbinding.

sætning kan man således fremstille liposomer med meget forskellige størrelser, ladninger og membranpermeabilitet. Lægemiddelstoffer kan indkapsles i liposomernes vandige hulrum, indbygges i lipidmembranen eller adsorberes til liposomets overflade. Lægemiddelstoffets placering vil primært afhænge af dets fysisk-kemiske egenskaber; fx dets lipofilitet, ladning, størrelse og grænsefladeaktivitet. Når lægemiddelstoffer er indkapslet i hulrummet, frigives de typisk ved, at liposomet nedbrydes på virkningsstedet i kroppen,

desuden kan forbindelser, som er omsluttet af liposomets membran, undslippe ved diffusion over lipiddobbeltlaget. Hastigheden af frigivelsen er afhængig af lægemiddelstoffets egenskaber og i særdeleshed af membranens rigiditet, som igen afhænger af de anvendte fosfolipider. Liposomernes evne til at indpakke og transportere lægemiddelstoffer gør dem til et interessant udgangspunkt for lægemiddelformuleringer, som kan indgives intravenøst, intramuskulært eller oralt med henblik på at reducere et lægemiddelstoffs toksicitet, øge dets optagelse i kroppen eller forlænge virkningen via en langsom og kontrolleret frigivelse af det aktive stof fra liposomet.

Behandling af kræft

Der findes i dag flere markedsførte lægemidler baseret på liposomteknologi; især kemoterapeutiske cellegifte til behandling af kræft. I forbindelse med behandlingen af visse former for kræft anvendes liposomer til at optimere fordelingen af lægemiddelstoffet i kroppen. Brugen af liposomer reducerer bivirkningerne af de ofte meget celletoksiske anticancerstoffer ved at forhindre lægemiddelstofferne i at trænge ud i normalt væv og ved at øge den fraktion af dosis, som havner i kræftsvulsten.

Dette kan opnås, fordi liposomindkapslet lægemiddelstof kun i ringe grad kan trænge ud i raskt væv, og fordi visse tumorers fysiologi og liposomernes størrelse medfører en opkoncentrering af lægemiddelstoffet i det syge væv. Nogle af de anvendte liposomer er såkaldte stealth-liposomer; navngivet efter de amerikanske stealth-jagerfly, som ikke ses på radarer. Stealth-liposomer er kemisk modificerede, så de bliver usynlige for leveren og milten, som er kroppens primære renseanlæg for fjernelse og nedbrydning af konventionelle liposomer.

Model for membraner

Liposomers lighed med biologiske membraner som fx cellemembraner har gjort dem til meget anvendte modelsystemer i naturvidenskabelig og farmaceutisk forskning. Lægemiddelstoffers evne til at trænge over et liposoms lipidmembran og deres fordeling i en liposomholdig opløsning mellem lipidfasen og den vandige fase ved ligevægt kan også bruges til at forudsige lægemiddelstoffers mulighed for at trænge gennem huden og tarmvæggen samt deres tendens til at blive indlejret i fedtvæv. Relativt simple forsøg med liposomer kan således hjælpe med til at evaluere nye potentielle lægemiddelstoffers chance for at blive til et færdigt lægemiddel. Hvis et lægemiddelstof har meget ringe evne til at passere liposomernes lipidmembraner – og dermed cellemembraner og barrierer i organismen – vil stoffets mulighed for at komme ind i kroppen og efterfølgende nå sit virkningssted være meget ringe.



Cand.pharm. Ulrik Franzen er ph.d.-studerende ved Institut for Farmaci og Analytisk Kemi.



Ph.d. Lene Jørgensen er adjunkt ved Institut for Farmaci og Analytisk Kemi.



Dr.pharm. Claus Larsen er professor ved Institut for Farmaci og Analytisk Kemi.



Ph.d. Henrik Jensen er adjunkt ved Institut for Farmaci og Analytisk Kemi.



Ph.d. Jesper Østergaard er lektor ved Institut for Farmaci og Analytisk Kemi.

DPPA

POPC

Øverst til venstre ses en skematisk repræsentation af to fosfolipider (DPPA og POPC), og nederst til venstre ses et unilamellært liposom. Fosfolipiderne, vist øverst til højre, består af et hydrofilt hoved og to lipofile alkylkæder. I et vandigt miljø danner fosfolipiderne et dobbeltlag, således at liposomernes hoveder giver membranen en hydrofil yderside og inderside, mens de lipofile kæder er placeret midt i membranen. Inderst i liposomet er der et vandigt reservoir. Lægemiddelstoffer kan anbringes i liposomernes vandige hulrum, indbygges i lipid dobbeltlaget eller adsorberes til liposomernes overflade. Nederst til højre ses et stealth-liposom, som har indbygget ugiftige polymerkæder i overfladen, der gør liposomet usynligt for leveren, milten og immunforsvaret.

POPC/DPPA liposom

Stealth-liposom

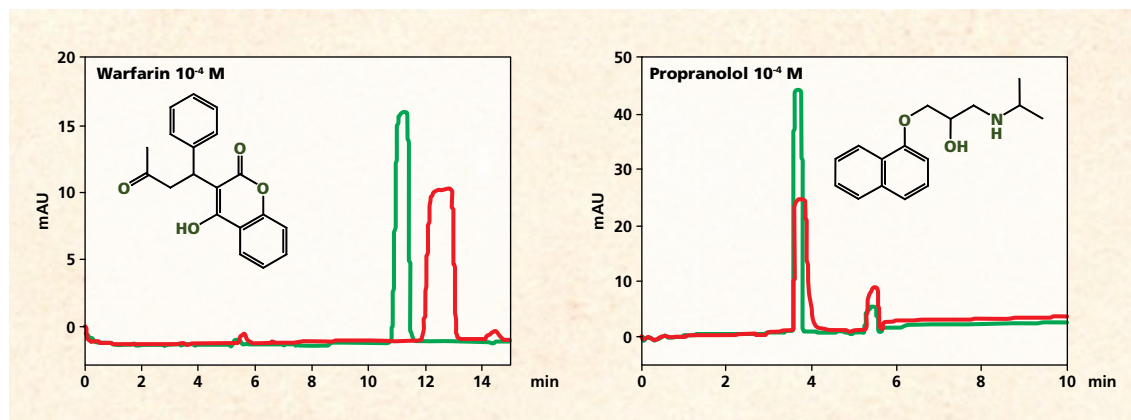
Hud og tarmvæg

Fordelingskoefficienter er en hyppigt anvendt parameter i forbindelse med forudsigelse af et lægemiddelstofs optagelse over fx tarmvæg og hud samt efterfølgende distribution i kroppen. Fordelingskoefficienter bestemmes normalt via lægemiddelstoffets fordeling mellem oktanol og vand, hvilket i dag er alment accepteret som et referencesystem og en skala for lægemiddelstoffers lipofilitet. Imidlertid er der klare indikationer på, at bedre korrelationer opnås i liposomsystemer.

Derfor arbejder vi med at etablere hurtige metoder baseret på kapillarelektroforese til bestemmelse af lægemidlers fordeling i liposomsystemer. Kapillarelektroforese er en analytisk-kemisk metode, som bruges til at separere komplekse blandinger baseret på indholdsstoffernes ladning og størrelse, og metoden er relativt hurtig og kræver meget små prøvemængder.

Vi har brugt teknikken i liposomfordelingsforsøg med to lægemiddelstoffer. Det ene er propranolol, som bruges til at behandle for højt blodtryk, og det andet er warfarin, der anvendes som forebyggende behandling til at minimere risikoen for blodpropper. Med udgangspunkt i elektroferogrammerne kan fordelingskoefficienter beregnes ud fra kendskab til forholdet mellem volumen af henholdsvis liposomerne og den vandige fase.

Muligheden for at håndtere meget små volumenmængder af et lægemiddelstof i liposomsystemer ved anvendelse af kapillarelektroforese forventes ud over bestemmelse af fordelingskoefficienter at kunne benyttes i studier af peptiders og proteiners adsorption til lipidmembraner, undersøgelser af membranpermeabilitet samt karakterisering af liposombaserede lægemiddelformuleringer. Det sidste er af stor interesse, fordi der typisk kun fremstilles få milliliter af en eksperimentel formulering.



Fordeling af lægemiddelstoffer i liposomopløsninger bestående af POPC/DPPA liposomer i 10 mM HEPES-buffer tilsat 50 mM KCl ved pH 7.40 og 25° C studeret ved kapillarelektroforese. Ved elektroforese separeres lægemiddelstoffet fra liposomet i kapillaret og føres forbi en detektor, som måler gennemstråling af ultraviolet lys. Højden af de detekterede UV-signaler er proportional med koncentrationen af lægemiddelstoffet i den vandige fase. Det vil sige, at jo større reduktionen af UV-signalet er for lægemiddelstoffet ved tilstedeværelse af liposomer (rødt UV-signal i forhold til grønt signal) desto større affinitet har stoffet for liposomfasen.