

Steuerung der kutanen Glucocorticoid-Resorption
Einfluss von festen Lipid-Nanopartikeln

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades des
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

CHIÉ NAKAMURA

aus Shizuoka, Japan

Berlin 2005

1. Gutachter: Prof. Dr. M. Schäfer-Korting
2. Gutachter: Prof. Dr. K.D. Kramer

Datum der Disputation: 21.01.2005

Veröffentlichungen

Originalarbeiten

R. Sivaramakrishnan, C. Nakamura, W. Mehnert, H.C. Korting, K.D. Kramer, M. Schäfer-Korting: Glucocorticoid entrapment into lipid carriers – characterisation by preelectric spectroscopy and influence on dermal uptake, *Journal of Controlled Release* 2004; 97: 493-502

U. Münster, C. Nakamura, A. Haberland, K. Jores, W. Mehnert, S. Rummel, M. Schaller, H.C. Korting, Ch.C. Zouboulis, U. Blume-Peytavi, M. Schäfer-Korting: RU 58841-myristat – a prodrug for acne and androgenetic alopecia, *Pharmazie* (im Druck)

Poster

U. Münster, C. Nakamura, A. Haberland, K. Jores, W. Mehnert, S. Rummel, M. Schaller, H.C. Korting, Ch.C. Zouboulis, U. Blume-Peytavi, M. Schäfer-Korting: RU 58841-myristat – a new prodrug with promising properties for acne and androgenetic alopecia. Jahrestagung der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft, Berlin 2002

C. Nakamura, W. Mehnert, R. Sivaramakrishnan, K.D. Kramer, H.C. Korting, M. Schäfer-Korting: Feste Lipid-Nanopartikel als Arzneimittelträgersystem für Glucocorticoide. Jahrestagung der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft, Würzburg 2003

C. Nakamura, W. Mehnert, R. Sivaramakrishnan, K.D. Kramer, H.C. Korting, M. Schäfer-Korting: Feste Lipid Nanopartikel für ein Glucocorticoid Targeting in die Humanhaut. 28 Frühjahrestagung der Deutschen Gesellschaft für experimentelle und klinische Pharmakologie und Toxikologie, Mainz 2004

U. Münster, S. Lombardi Borgia, C. Nakamura, A. Haberland, K. Jores, W. Mehnert, H.C. Korting, U. Blume-Peytavi, R. Sivaramakrishnan, K.D. Kramer, M. Schäfer-Korting: Drug targeting to skin and hair follicle: investigation of an antiandrogen and a

fluorescent marker. 4th Intercontinental Meeting of Hair Research Societies, Berlin 2004

C. Nakamura, C. Braem, R. Sivaramakrishnan, K.D. Kramer, M. Schäfer-Korting, W. Mehnert: Solid lipid nanoparticles for topical glucocorticoide treatment of skin diseases. Vorstellung des Wissenschaftlichen Nachwuchses der Pharmazie, Berlin, 2004

R. Sivaramakrishnan, C. Nakamura, H. Niehus, K.D. Kramer, M. Schäfer-Korting: Parellectric spectroscopy studies on solid lipid nanoparticles as drug carriers. 3rd international conference on broadband dielectric spectroscopy, delft, Netherland 2004

C. Nakamura, C. Braem, R. Sivaramakrishnan, K.D. Kramer, M. Schäfer-Korting, W. Mehnert: Solid lipid nanoparticles for topical glucocorticoide treatment of skin diseases. Gesellschaft für Dermopharmazie e.V. Symposium - Einsparung von Tierversuchen mit Humanhautmodellen, Berlin, 2004

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Aufbau der humanen Haut	1
1.2 Das atopische Ekzem	2
1.3 Glucocorticoid-Therapie des atopischen Ekzems	3
1.3.1 Struktur-Wirkung-Beziehungen von Glucocorticoiden	4
1.3.2 Topische Glucocorticoide – Betamethason-17-valerat und Prednicarbat....	5
1.3.3 Unerwünschte Wirkungen von Glucocorticoiden	6
1.4 Arzneistoffträger-Systeme für die dermale Applikation	8
1.4.1 Liposome	10
1.4.2 Feste Lipid-Nanopartikel	10
1.4.3 Dendrimere	12
1.5 Perkutane Absorption – Penetrationsweg in die Haut	13
1.6 Parelektrische Spektroskopie	15
2. Zielsetzung	17
3. Material und Methoden	18
3.1 Material	18
3.1.1 Geräte	18
3.1.2 Reagenzien und Verbrauchsmaterialien	19
3.1.3 Nährmedien und Lösungen	21
3.2 Herstellung von Festen Lipid-Nanopartikeln	21
3.2.1 Charakterisierung der Hilfsstoffe	22
3.3 Charakterisierung der Festen Lipid-Nanopartikel	25
3.3.1 Laserdiffraktometrie	25
3.3.2 Photonenkorrelationspektroskopie	25
3.3.3 Dynamische Differenzkalorimetrie	26
3.3.4 Lichtmikroskopie	27
3.3.5 Bestimmung der chemischen Stabilität von BMV-SLN	27
3.3.6 Parelektrische Spektroskopie	27
3.4 HPLC-Analytik für Betamethason-17-valerat	30
3.4.1 Methodenbeschreibung	30

3.4.2	Herstellung der Kalibrierung-Stammlösungen und Ermittlung der Eichwerte	30
3.4.3	Nachweis- und Bestimmungsgrenze.....	30
3.4.4	Überprüfung der Anwendbarkeit des internen Standard	31
3.4.5	Qualitätsparameter der Analytik	31
3.4.6	Wiederfindungsrate	32
3.5	Penetrationsuntersuchungen	33
3.5.1	Vorbereitung von Humanhaut und Schweinehaut.....	33
3.5.2	Durchführung des Penetrationsversuchs	33
3.5.3	Abtragung des Stratum corneum mittels Klebefilm	34
3.5.4	Probenaufarbeitung auf die Haut zur Penetrationsbestimmung	34
4.	Ergebnisse	36
4.1	Herstellung von Festen Lipid-Nanopartikeln	36
4.1.1	Rezepturenentwicklung.....	36
4.1.2	Partikelgrößenbestimmung	44
4.1.3	Untersuchung des Rekristallisationsgrades	52
4.1.4	Chemische Stabilität von BMV in der SLN-Dispersion	54
4.1.5	Parelektrische Spektroskopie.....	55
4.2	SLN mit Zusatz von Ceramiden und Cholesterol	57
4.2.1	Rezepturenentwicklung.....	57
4.2.2	Partikelgrößenbestimmung	59
4.3	Penetrationsstudie an intakter Haut	62
4.3.1	Untersuchungen mit exzidiierter Humanhaut	62
4.3.2	Untersuchungen mit der Schweinehaut	65
4.3.3	Einfluss von wirkstofffreien SLN auf die BMV-Penetration.....	67
4.3.4	Einfluss von Ceramiden auf die BMV-Penetration	68
5.	Diskussion	69
5.1	Feste Lipid-Nanopartikel	69
5.1.1	Rezepturenentwicklung.....	69
5.1.2	Partikelgrößencharakterisierung von SLN.....	70
5.1.3	Kristallinität und Modifikationsumwandlung der Lipide	72
5.1.4	Parelektrische Spektroskopie.....	73

5.2 Untersuchungen zur Penetration der SLN in die Haut	75
5.2.1 Humanhaut: Resorptionsquote.....	75
5.2.2 Humanhaut: Targeting	77
5.2.3 Schweinehaut.....	77
5.3 Ausblick	78
6. Zusammenfassung (Summary)	81
7. Literaturverzeichnis	88
8. Abkürzungsverzeichnis	96