

1. Einleitung

1.1 Aufbau der humanen Haut

Die Haut ist eine sehr effiziente Barriere, die das innere Milieu des Körpers von der Umwelt abtrennt. Mit einer größen- und gewichtsabhängigen Fläche von 1,5 – 2,0m² überzieht sie den Körper eines Erwachsenen. Die Funktionen der Haut sind vielfältig und sind in folgende Gruppen zu unterteilen: 1) die Haut bietet einen Schutz des Körpers vor fremden Substanzen, 2) die Haut reguliert die Wasserverdunstung und schützt so vor Austrocknung des Körpers, 3) die Haut trägt zu der Wärmeregulation des Körpers bei, 4) sie vermittelt über Sinnesrezeptoren Sinnes- und Reizempfindung und 5) ermöglicht die Aufnahme von Sauerstoff. Anhand des makroskopischen Aufbaus der Haut unterscheidet man Epidermis (Oberhaut), Dermis (Lederhaut, Korium) und Subkutis (Unterhaut), die im folgenden näher beschrieben werden.

Epidermis

Die Epidermis ist ein mehrschichtiges, verhorntes Plattenepithel, dessen Dicke in Abhängigkeit von Lokalisation, Alter und Geschlecht zwischen 40µm und 1,6mm variiert. Die Hauptzellpopulation der Epidermis sind die Keratinozyten. Darüber hinaus sind Melanozyten und Langerhanszellen als weitere wichtige Zellpopulationen in der Epidermis anzutreffen. Die Epidermis wird im allgemeinen in vier Schichten unterteilt: Die äußerste Schicht der Epidermis, das Stratum corneum (SC, Hornschicht), wird von ca. 10 - 15 Schichten abgestorbener Zellen gebildet. Den Hauptanteil stellen die Korneozyten, d.h. abgestorbene und umgewandelte Keratinozyten. Sie enthalten einen geringen Wasseranteil von ca. 5 - 10%. Hauptbestandteile sind die Lipidmatrix und Keratin, das 50% der Trockenmasse darstellt. Die Dicke der Hornschicht beträgt je nach Körperregion 10 – 80µm. Das SC verhindert die übermäßige Wasserverdunstung und erschwert das Eindringen von Fremdstoffen. Diese Barrierefunktion wird der einzigartigen Lipidmatrix, die aus Ceramiden (40%), Cholesterol (27%), Cholesterylestern (10%) und Fettsäuren (9%) besteht, zugeschrieben (Wertz et al., 1989). Der Aufbau des SC erschwert die Penetration eines Wirkstoffes. Unter dem SC befindet sich das Stratum granulosum. Im Stratum granulosum vollzieht sich die Keratinisierung, wobei unter allmählichem

Einleitung

Abbau der Phospholipide Ceramide entstehen und an der Grenze zum SC sezerniert werden. Eine relativ breite Schicht wird vom Stratum spinosum gebildet, in dem die Keratinisierung bereits vorbereitet wird. Die unterste Schicht, das Stratum basale besteht aus teilungsfähigen Keratinozyten und ermöglicht so die Regeneration der Epidermis.

Dermis

Die Dermis (Lederhaut , Korium), deren Dicke bis zu 3000µm beträgt, schließt sich an die Oberhaut an. Es handelt sich um eine Bindegewebsschicht mit reichlich kollagenen und elastischen Faserbündeln. Die hohe mechanische Stabilität der Haut wird durch diese Faserbündel gewährleistet. Die Dermis läßt sich in zwei Schichten unterteilen, das Stratum papillare und das darunterliegende Stratum reticulare. Die zahlenmäßig dominierende Zelle der Dermis ist der Fibroblast, der Kollagen, Elastin und andere Bindegewebebestandteilen bildet. Innerhalb der Dermis befinden sich zwei Gefäßplexi, die an der Themoregulation wesentlich beteiligt sind. Über dieses Gefäßnetz werden permeierte Wirkstoffe abtransportiert und im ganzen Körper verteilt. Die Dermis ist darüber hinaus Ort der Reizaufnahme.

Unterhalb der Dermis liegt des kutane Fettgewebe.

1.2 Das atopische Ekzem

Das atopische Ekzem (Neurodermitis, atopische Dermatitis) ist eine der häufigsten chronisch-entzündlichen Hauterkrankungen mit typischer Morphe. Wichtige klinische Merkmale sind starke Rötung der Haut, heftiger Juckreiz, Nässen, trockene schuppene Haut und die Bildung von aufgekratzten Bläschen und Krusten. Neben dem atopischen Ekzem sind als weitere Erkrankungen des atopischen Formenkreises die allergische Rhinitis und das allergische Bronchialasthma zu nennen, die sich an Schleimhäuten manifestieren. Die Ursache dieser Erkrankung ist bislang noch nicht vollständig bekannt. Vermutet wird jedoch, dass neben einer genetischen Veranlagung vielfältige Einflussfaktoren wie z.B. Klima, Umweltstoffe, Überempfindlichkeit der Haut oder psychosozialer Stress zusammenwirken und diese Erkrankungen unterhalten (Buske-Kirschbaum et al., 1998). Etwa 10% aller Kinder und 4,7% der jungen Erwachsenen in industrialisierten Ländern neigen zur

Ausbildung eines atopischen Ekzems (Diepgen et al., 1992). Während sich die Ekzeme bei Säuglingen gewöhnlich ab dem 3. Monat am Kopf und bei Kleinkindern im Gesicht und an den Beugeseiten der Extremitäten als nässende Erscheinungen manifestieren, treten sie bei älteren Kindern und Erwachsenen bevorzugt an den Knie- und Armbeugen, am Hals, im Gesicht und an den Händen auf, oftmals in lichenifizierter Form.

Im Mittelpunkt der allergischen Entzündungsreaktion stehen die T-Zellen, B-Zellen sowie eosinophile Granulozyten und Mastzellen als Vertreter der Effektorpopulation (Miescher et al., 2002). Bei Patienten mit atopischen Ekzemen wurde im peripheren Blut ein verringertes CD4/CD8-T-Zell-Verhältnis mit einer geringeren Population an T-Suppressorzellen und verminderter zytotoxischer T-Zell-Funktion nachgewiesen (Leung et al., 1986). T-Zellen vom Th-2-Typ kommen in der Haut in akuten Läsionen vermehrt vor und produzieren IL-4 und IL-5 (Nakazawa et al., 1997). Diese Zytokine sollen für die bei Atopie charakteristische Überproduktion von IgE verantwortlich sein (Punnonen et al., 1993), wobei IgE neben den histaminhaltigen Mastzellen als Träger der Immunreaktion Typ-1 in Erscheinung tritt. Bei Patienten mit atopischem Ekzem kommt es zu einer Allergenfokussierung durch an die Zellmembran von Langerhanszellen gebundenes IgE (Passoth, 2001), die Bindung von IgE auf den Langerhanszellen wird durch Fcε-Rezeptoren vermittelt (Hasegawa et al., 1999). IgE-vermittelte Reaktionen führen zur Degranulation von Mastzellen und zur Freisetzung von Entzündungsmediatoren, die wiederum die Rekrutierung zusätzlicher inflammatorischer Zellen wie T-Zellen und eosinophile Granulozyten veranlassen.

1.3 Glucocorticoid-Therapie des atopischen Ekzems

Glucocorticoide gehören zu den wirksamsten und vielseitig einsetzbaren Arzneistoffen. Wegen ihrer entzündungshemmenden, antiallergischen und immunsuppressiven Wirkungen sind sie von großer Bedeutung in der Therapie zahlreicher Krankheiten wie z.B. Rheuma, Bronchialasthma, Hepatitis, Nephrose, akuten Schüben der Multiplen Sklerose, verschiedenen Blutkrankheiten, Morbus Crohn und Allergien.

In der Dermatologie sind lokal wirksame Glucocorticoide auf Grund des antiphlogistischen Effekts bei der Behandlung von entzündlichen Hautkrankheiten

wie der Psoriasis oder Ekzemen unentbehrlich. Positiv hinzu kommen die immunsuppressiven, antipruriginösen und vasokonstriktorisches Wirkungen (Olivry et al., 2001). Der antiinflammatorische Effekt von Glucocorticoiden beruht hauptsächlich auf der Unterdrückung der Genaktivierung durch die Interaktion mit verschiedenen Transkriptionsfaktoren wie dem Aktivatorprotein-1 (AP-1) und dem Nukleären Faktor κ -B (NF- κ B; Barnes, 1998, De Bosscher et al., 2000). Die Glucocorticoid-Bindung an AP-1 und NF- κ B unterdrückt die Transkription von Genen, die Zytokine, chemotaktische Proteine und inflammatorische Enzyme kodieren (Göttlicher et al., 1998). Glucocorticoide beeinflussen Entzündungen vor allem durch ihre Wirkung auf die Zytokinproduktion, sie hemmen vornehmlich die durch T-Zellen produzierten Zytokine INF- γ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6 und IL-13 (Barnes, 1998), aber auch die Erzeugung vieler von Monozyten-abgeleiteter Zytokine einschließlich des Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierendem Faktors (GM-CSF), IL-1 β , des Tumor-Nekrose-Faktors- α (TNF- α) und von Chemokinen (Barnes, 1998). Somit unterdrücken Glucocorticoide die überschießende Immunreaktion und dämpfen die Entzündung ein. Trautmann et al. zeigten, dass die Apoptose der Keratinozyten, die durch T-Zellen verursacht und durch Fas vermittelt wird, ein entscheidendes Ereignis beim Übergang von der Aktivierung des Immunsystems zur Manifestation des Ekzems ist (Trautmann et al., 2001). Auf die Keratinozyten-Apoptose wirken Glucocorticoide stark hemmend.

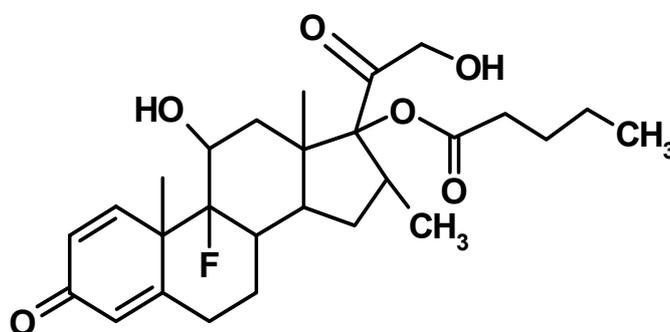
1.3.1 Struktur-Wirkung-Beziehungen von Glucocorticoiden

Extern anwendbare Glucocorticoide unterscheiden sich in ihrer anti-inflammatorischen und antiproliferativen Wirkung. Die Hydroxylgruppe am C-11 ist für die antiinflammatorische Wirkung essentiell. Ein erster Schritt bei der Synthese neuer Glucocorticoide war die Einführung einer Doppelbindung zwischen C-1 und C-2. Eine Hydroxylierung oder Methylierung in Position 16 reduziert die mineralokortikoide Wirkung. Die Einführung von Halogenatomen an C-6, C-7 und/oder C-9, vor allem die Fluorierung an Position 9 α , ergab eine beachtliche Wirkungssteigerung, was am Beispiel von Betamethason-17-valerat (BMV) und Mometasonfuroat (MF) zu sehen ist. Ist bereits eine C-17-Seitenkette vorhanden, kann die zusätzliche Veresterung an Position C-21 eine bessere Penetration in die Haut herbeiführen. Als Beispiel sei hier Betamethason-Dipropionat genannt. Wenn schließlich in Position C-21 eine

Chlorsubstitution vorgenommen wird, führt dies zum stärksten extern anwendbaren Corticosteroid überhaupt, dem Clobetasol-17-propionat.

Klinische Erfahrungen mit konventionellen halogenierten Corticosteroiden zeigen jedoch, dass eine starke antientzündliche Wirkung mit einer starken antiproliferativen Potenz gekoppelt ist (Schackert et al., 2000). Heute stehen mit den topischen Glucocorticoiden der vierten Generation Substanzen mit verbessertem Nutzen/Risiko-Verhältnis für die Therapie von Hauterkrankungen zur Verfügung, welche eine hohe antiinflammatorische Aktivität bei geringer atrophogener Wirkung besitzen (Schäfer-Korting et al., 1993). Das Bestreben, erwünschte und unerwünschte Steroidwirkungen zu trennen, führte zur Entwicklung neuer, halogenfreier Corticosteroide, zu deren Vertretern 17,21-Doppelster von Hydrocortison und Prednisolon, aber auch fluorierte Substanzen wie MF oder Fluticasonpropionat zählen.

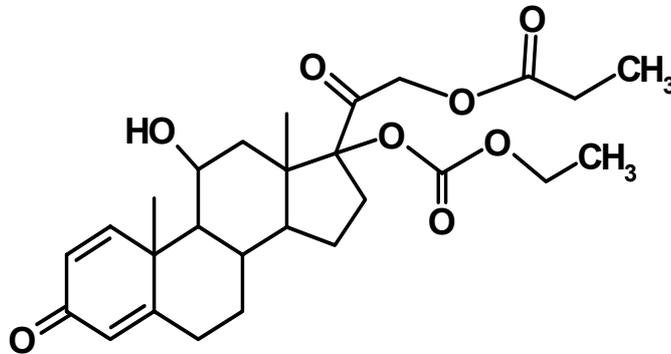
1.3.2 Topische Glucocorticoide - Betamethason-17-valerat und Prednicarbat



Betamethason-17-valerat

Betamethason-17-valerat (BMV) ist ein lipophiles (logP 3,98) und stark wirksames (Fluoratom in 9 α -Position) Glucocorticoid. In der Haut kann eine Isomerisierung zu Betamethason-21-valerat (BM21V) enzymunabhängig stattfinden (Ademola et al., 1995). Corticosteroid-17-monoester lagern sich besonders in Gegenwart von Basen schnell in 21-Monoester um (Bundgaard et al., 1981). Der 21-Monoester von Corticosteroiden ist meist deutlich schwächer wirksam als der entsprechende 17-Monoester. BM21V besitzt deshalb nur etwa 15% der biologischen Aktivität des 17-Valerates. Der Abbau von Betamethason-21-valerat zu Betamethason (BM) ist Esterase-katalysiert (Kubota et al., 1994). Der 17-Ester widersteht hingegen sowohl

hepatischen als auch kutanen Esterasen (Cheung et al., 1985). Diese Resistenz führt zu einem ausgeprägteren Reservoireffekt und somit zu einer vergleichsweise hohen Atrophogenität nach Applikation auf die Haut.



Prednicarbat

Prednicarbat (PC) ist ein nicht-halogeniertes Prednisolonderivat, die Lipophilie ist mit $\log P$ 3,82 fast ebenso hoch wie bei BMV. Obgleich nicht fluoriert zeigt PC eine den halogenierten Corticosteroiden vergleichbare therapeutische Wirkung (Schackert et al., 2000). Im Gegensatz zu BMV wird PC bei der Passage durch die Haut praktisch vollständig verändert. PC wird in Keratinozyten enzymatisch schnell zu Prednisolon-17-ethylcarbonat (P17EC) hydrolysiert, welches annähernd ebenso stark antiphlogistisch wie PC wirkt. Im Gegensatz dazu erwies sich PC in Fibroblasten als nur sehr schwach antiproliferativ wirksam. Bei Fibroblasten wird die Synthese von $IL-1\alpha$ durch PC nur um 15% reduziert, während BMV die Synthese um 38% inhibiert, während in Keratinozyten PC und BMV gleich stark (35 – 37%) die Synthese von $IL-1\alpha$ hemmen (Lange et al., 2000). Der 17-Ester wird dann in den weniger potenten 21-Ester (P21EC, Prednisolon-21-ethylcarbonat) umgewandelt. Dieser wird dann in Keratinozyten schnell zu Prednisolon (PD) hydrolysiert (Gysler et al., 1997), welches ebenfalls eine vergleichsweise niedrige Rezeptoraffinität aufweist (Spika et al., 2003).

1.3.3 Unerwünschte Wirkungen von Glucocorticoiden

Die topisch applizierten Glucocorticoide bleiben auf Grund des gut charakterisierten Nebenwirkungsspektrums Mittel der ersten Wahl bei der Therapie von atopischer

Dermatitis. Falsch angewendet jedoch, können diese Pharmaka lokal und systemisch unerwünschte Effekte hervorrufen.

Als häufigste unerwünschte Wirkung bei der lokalen Anwendung der Glucocorticoide eine Abnahme der Dicke von Epidermis und Dermis beobachtet. Das Ausmaß der zunächst reversiblen, später irreversiblen und zu Dehnungsstreifen führenden Hautatrophie ist abhängig von der Wirkungsstärke der Glucocorticoide, der Größe der behandelten Hautoberfläche, der Beschaffenheit des behandelten Areal und von der Anwendungsdauer (Montenegro et al., 1996). Bei konventionellen fluoridierten topischen Glucocorticoiden geht eine hohe antiinflammatorische Aktivität mit einem hohen Potential für Hautatrophie einher (Schakert et al., 2000). In einer klinischen Studie wurde festgestellt, dass nach einer 6-wöchigen Behandlung die durch BMV bzw. MF hervorgerufene Reduktion der Hautdicke eindeutig stärker war als die durch PC hervorgerufene (Korting et al., 2002). Dieser Befund bestätigt und ergänzt vorausgegangene Untersuchungen zum atrophogenen Potential von Glucocorticoiden (Korting et al., 1992). Betrachtet man die Wirkung von Glucocorticoiden auf die Zellsysteme der Haut, so hemmen sie die Keratinozyten-teilung (Niedner, 1991, Bauer et al., 1989). Noch auffälliger ist die antiproliferative Wirkung von Glucocorticoiden auf Fibroblasten (Hein et al., 1994, Korting et al., 1995). Die Proteinsynthese ist bei Fibroblasten in Abhängigkeit von Dosierung und Potenz der Glucocorticoide vermindert (Hein et al., 1988). Bei Keratinozyten ist IL-1 α an entzündlichen Reaktionen beteiligt. Im Gegensatz dazu sind IL-1 α und IL-6 in den Fibroblasten für die Proliferation verantwortlich (Kutsch et al., 1993, Goldring et al., 1991). Die effiziente Unterdrückung der Zytokinsynthese in Keratinozyten zeigt daher eine hohe antiinflammatorische Potenz, bei Fibroblasten dagegen einen antiproliferativen Effekt. Die verminderte proliferative Aktivität reduziert schließlich die Dicke von Epidermis und vor allem Dermis. Die Haut wird sichtbar dünner und weniger elastisch.

Auch die chemotaktische Aktivität von Fibroblasten wird durch Glucocorticoide verringert (Hein et al., 1994), so dass Wundheilungsstörungen ausgelöst werden können (Cutroneo, 2002). Darüber hinaus hemmen Glucocorticoide die Kollagen- und Mucopolysaccharidsynthese in der Dermis (Niedner, 1991), indem sie die Expression von Procollagen-Genen reduzieren. Bei Psoriasis-Patienten, die mit einer 0,1%igen Betamethason-17,21-dipropionat-Salbe behandelt wurden, zeigte sich eine

über 50%ige Reduktion von Prokollagen I, der Vorstufe des kutanen Strukturproteins Kollagen (McMichael et al., 1996).

1.4 Arzneistoffträger-Systeme für dermale Applikation

Als unerwünschte lokale Wirkung kann, wie oben ausgeführt, bei Anwendung von Glucocorticoiden eine Hautatrophie auftreten. Diese ist in ihrer Intensität außer von der Stärke des Glucocorticoids, der Beschaffenheit der Haut und der Anwendungsdauer, auch von den Eigenschaften des Trägers abhängig. Glucocorticoide zur dermalen Anwendung werden in verschiedenen Grundlagen eingesetzt. In der Regel wird bei der Anwendung von Salben auf Grund ihrer okklusiven Eigenschaften mehr Wirkstoff resorbiert als bei dem Auftragen in Form von Cremes und Gelen (Pershing et al., 1992). Glucocorticoide sind sehr lipophile Wirkstoffe. Daher werden häufig Alkohole und Glykole eingesetzt, um diese Wirkstoffe in hydrophilen Grundlagen z.B. Hydrogelen oder Wasser zu lösen. Diese unterschiedlichen Formulierungen werden abhängig von dem zu behandelnden Körperareal und dem Hautzustand des Patienten ausgewählt. Ein BMV-haltiger Schaum zeigte z.B. eine erhöhte Wirksamkeit bei der Behandlung einer Psoriasis an der Kopfhaut ohne Zunahme der Wirkstofftoxizität (Franz et al., 1999, Feldman et al., 2000, Andreassi et al., 2003).

Als konventionelle Darreichungsform werden am häufigsten O/W-Cremes eingesetzt, in denen die Partikelgrößen im Mikrometerbereich liegen. Als transdermales Arzneistoffträgersystem dienen auch Nanoemulsionen. Es handelt sich hierbei um O/W-Emulsionen mit einer Tröpfchengröße zwischen 100 und 500nm. Diese Formulierungen werden jedoch nur selten bei der Behandlung mit Glucocorticoiden eingesetzt. Bei Nanoemulsionen ist auf Grund hoher Fluidität nur eine relativ geringe Hautoberflächenaffinität zu erwarten.

Ein grundsätzliches Problem bei der dermalen Applikation ist die geringe Penetration von Wirkstoffen durch das SC in die Epidermis, die bei Ekzemen das Zielgewebe einer Glucocorticoidtherapie darstellt. So sind, um die Wirkstoff-Penetration zu verbessern, unterschiedliche Trägersysteme entwickelt worden.

Ein wichtiges modernes Trägersystem stellt die Mikroemulsion dar. Mikroemulsionen sind thermodynamisch stabile, homogene und transparente Systeme mit geringer Viskosität. Sie bestehen aus Wasser, Öl und einem Gemisch aus Tensid und Cotensid (Baroli et al., 2000). Die Tröpfchengrößen liegen im unteren Nanometerbereich (10 – 100nm), so dass diese Systeme nicht mehr als Emulsionen im eigentlichen Sinn betrachtet werden können (Kreilgaard, 2002). Im Vergleich zu Liposomen besitzen Mikroemulsionen eine sehr hohe Lagerungsstabilität. Die Herstellung ist zudem wesentlich kostengünstiger (Paolino et al., 2002). Mehrere Studien konnten belegen, dass Mikroemulsionen im Vergleich zu konventionellen Trägersystemen die Penetration sowohl von hydrophilen als auch von lipophilen Wirkstoffen erhöhen (Spiclin et al., 2003, Sintov et al., 2004, Lehmann et al., 2001). So wird beispielsweise die Hydrocortison-Penetration in die Humanhaut im Vergleich zu einer konventionellen Creme erhöht. Dabei trat allerdings ein durch Hautirritationen hervorgerufener hyperämischer Effekt auf (Lehmann et al., 2001). Mikroemulsionen enthalten eine hohe Konzentration von Tensiden, die zu erheblichen Hautreizungen führen können. Entzündete Haut reagiert besonders empfindlich auf Tenside. Daher erscheint dieses Trägersystem für die Behandlung des atopischen Ekzems weniger geeignet.

Kürzlich sind elastische Vesikel entwickelt und beschrieben worden (van den Bergh et al., 1999, Honeywell-Nguyen et al., 2002). Es handelt sich um Liposomen in einer tensidhaltigen Flüssigkeit. Elastische Vesikel erleichtern im Vergleich zu gelartigen Vesikeln den Wirkstofftransport durch die Haut (Bouwstra et al., 2002). Honeywell-Nguyen et al. konnten mittels Scanningmikroskopie nachweisen, dass die intakten elastischen Vesikel in die kanalartigen Regionen des SC eindringen und damit den Wirkstoff-Transport in und durch die Haut erleichtern (Honeywell-Nguyen et al., 2003).

Zu den kolloidalen Systemen gehören auch die Liposomen und Feste Lipid-Nanopartikel, die im folgenden beschrieben werden.

1.4.1 Liposome

Liposomen sind ein sehr umfassend untersuchtes Trägersystem, das bereits in pharmazeutischen und kosmetischen Präparaten eingesetzt wird. Liposomen sind kleine, kugelförmige Vesikel aus amphiphilen Lipiden, die einen wässrigen Kern umschließen. Als Lipide kommen hauptsächlich Phospholipide zum Einsatz, die eine oder mehrere Lipiddoppelschichten ausbilden. Die Größe variiert zwischen 20nm und ca. 10µm. Ein Einbau von hydrophilen Molekülen kann im wässrigen Kern erfolgen, während lipophile Moleküle sich in den Lipiddoppelschichten anreichern (Gregoriadis, 1991). Die Größe der Partikel und die chemische Zusammensetzung der Liposomen beeinflussen die kutane Penetration (Fresta et al., 1996, Betz et al., 2001, El Maghraby et al., 2000, Verma et al., 2003). Problematisch an dieser Arzneiform sind ihre begrenzte physikalische Stabilität während Lagerung (Couvreur et al., 1995) und ihre chemische Instabilität (Hunt et al., 1995). Umfangreiche Untersuchungen dieses Trägersystems konnten aber auch Vorteile nachweisen. Meybeck zeigte z.B., dass bei Liposom-inkorporiertem Tretinoin die maximale Wirksamkeit bereits bei einer Wirkstoffkonzentration erreicht wird, die 5 bis 10 mal niedriger als bei einem handelsüblichen Gel ist (Meybeck, 1992). Dies ermöglichte die Reduktion der Konzentration des Wirkstoffs bei erhaltener Wirksamkeit und verminderter Nebenwirkung (Schäfer-Korting et al., 1994). Dieser Effekt wurde auch bei einem Glucocorticoid für die Behandlung des atopischen Ekzems beobachtet (Korting et al., 1991). Die Verkapselung von Triamcinolonacetonid begünstigte die Anreicherung des Wirkstoffs in der Epidermis und Dermis bei gleichzeitig verminderter systemischer Permeation (Mezei et al., 1982). Liposomen begrenzen zudem die kutane Permeation von RU 58841 im Vergleich zu einer konventionellen Lösung erheblich, ferner verblieb RU 58841 länger in der Epidermis und Dermis (Bernard et al., 1995).

1.4.2 Feste Lipid-Nanopartikel

Feste Lipid-Nanopartikel (SLN) wurden als ein alternatives kolloidales Arzneistoff-trägersystem zu Emulsionen, Liposomen und Polymer-Nanopartikeln entwickelt (Müller et al., 1996). SLN bestehen aus einer festen Matrix aus physiologischen Lipiden. Die Herstellung erfolgt mit Hochdruckhomogenisation unter Ausschluß von

organischen Lösungsmitteln. Bedingt durch die Herstellungstechnik werden Dispersionen erhalten, die sich in der Regel durch eine enge Partikelgrößenverteilung und einen geringen Gehalt an Partikeln $> 5\mu\text{m}$ auszeichnen. Die mittlere Teilchengröße liegt zwischen 50 und 1000nm. Zur Stabilisierung dieser hochdispersen Dispersionen sind Tenside bzw. Tensidgemische erforderlich. Bei der Wahl der zur physikalischen Stabilisierung erforderlichen Tensidkonzentration muss berücksichtigt werden, dass insbesondere bei hoher Konzentration zusätzliche Nanokompartimente (Mizellen, Liposomen) in der Dispersion gebildet werden können, die mit den SLN um den Einschluss des Wirkstoffs konkurrieren können (Jores et al., 2000). Als wesentlicher Vorteil der Lipid-Nanopartikel ist die Verwendung von „natürlichen“ Lipiden anzusehen, so dass die Gefahr einer akuten oder chronischen Toxizität gering ist. Die eingesetzten Hilfsstoffe erfüllen zum Teil den GRAS-Status. Die Toxizität ist bereits sowohl in vitro (Müller et al., 1997, Santos Maia et al., 2000) als auch in vivo (Weyhers et al., 1995) untersucht worden. Die zur dermalen Applikation erforderliche Einarbeitung von Lipid-Nanodispersionen in Cremegrundlagen verändert die Eigenschaften der SLN nicht (Wissing et al., 2003), im Gegenteil die physikalische Stabilität wird verbessert (Dingler et al., 1999). Die Herstellung von SLN mit unterschiedlichen Lipiden und Tensiden (Mehnert et al., 2001) und die Inkorporation einer Vielzahl von Wirkstoffen (Müller et al., 2000) in dieses Trägersystem sind zusammenfassend beschrieben worden.

In den letzten Jahren wird zunehmend die dermale Anwendung von SLN-Dispersionen untersucht. Nach Auftragen der Dispersion bildet sich ein zusammenhängender Film auf der Hautoberfläche, der zu einer Okklusion führen kann. Folge dieses Okklusionseffekts ist eine bessere Penetration von Wirkstoffen in die Haut (Dingler et al., 1999). Zusätzlich ist zu berücksichtigen, dass der Wirkstoff in Lipid-Nanodispersionen in feinst verteilter Form vorliegt und sich damit eine sehr große Kontaktfläche zwischen Wirkstoff und SC ergibt. Nach dem Fick'schen Diffusionsgesetz ist deshalb eine erhöhte Penetration zu erwarten (Santos Maia et al., 2002). Permeationsuntersuchungen an rekonstruierter Epidermis zeigten, dass die Wirkstoffkonzentration im Akzeptormedium nach 6-stündiger Einwirkzeit von Prednicarbat-SLN (PC-SLN) dreifach höher ist als bei der handelsüblichen Creme (Santos Maia et al., 2002). Darüber hinaus erfolgte in exzidierte Humanhaut eine stärkere Anreicherung des Wirkstoffs nur in den oberen Hautschichten (0 - 100 μm) durch SLN im Vergleich zur Creme (Santos Maia et al., 2002). Dieses Phänomen –

Epidermis Targeting Effekt - wurde konnte ebenfalls mit Schweinehaut bei Applikation von Retinol-SLN beobachtet werden (Jenning et al., 2000B). Durch diese gezielte Anreicherung des Wirkstoffs am Wirkort ist zu erwarten, dass unerwünschte Wirkungen von Glucocorticoiden, d.h. insbesondere die Hautatrophie, reduziert werden können und die Therapie-Effizienz verbessert werden kann.

Eine weitere Entwicklung der SLN stellen nanostrukturierte Lipid-Trägersysteme (nanostructured lipid carriers, NLC) dar. Zur Herstellung dieses Trägersystems werden Mischungen von bei Raumtemperatur flüssigen und festen Lipiden hergestellt (Müller et al., 2002). Das NLC-System begünstigt die Inkorporation von Wirkstoffen in die Lipidmatrix auf Grund der in der Regel höheren Löslichkeit eines Stoffes in der flüssigen Lipidkomponente (Jenning et al., 2000C, Radtke, 2002).

1.4.3 Dendrimere

Eine neue Klasse hochverzweigter Polymere stellen Dendrimere dar, die auf Grund ihrer Struktur auch als Trägersysteme für Wirkstoffe eingesetzt werden können. Dendrimere stellen eine Variante der Sternpolymere dar. An jeder Verknüpfungsstelle findet eine Verzweigung statt, so dass anstatt der Strahlen eines Sterns baumförmige Gebilde an einem Zentrum (Kern) hängen. So werden zum Beispiel zur Synthese der Polyamidoamin-Dendrimere (PANAM, Starburst) an ein Molekül Ethylendiamin vier Moleküle Methylacrylat addiert. In einem zweiten Schritt werden die endständigen Carboxymethylgruppen mit einem Überschuss an Ethylendiamin amidiert. Damit ist die Bildung der sog. 1. Generation abgeschlossen. Die 2. Generation entsteht durch Anlagerung von weiterem Methylacrylat an die äußeren Aminogruppen. An der Oberfläche der Dendrimere können verschiedene funktionelle Gruppen lokalisiert sein, über die Wirkstoffe kovalent oder durch elektrostatische Wechselwirkungen gebunden werden können. Die freien, nicht Wirkstoff-belegten Gruppen bewirken eine hohe Wasserlöslichkeit.

Diese Makromoleküle können in sphärischer oder zylindrischer Form synthetisiert werden. Die Abmessungen von Dendrimeren sind sehr klein; abhängig von ihrer Generation betragen ihre Durchmesser 2 bis 10nm mit einem sehr geringen Polydispersitätsindex. Dendrimere bieten vielfältige Anhaftungsmöglichkeiten für unterschiedlichste Substanzen und eine kontrollierbare, gut definierte Größe und

Struktur, die leicht modifiziert werden kann, um die chemischen Eigenschaften des Systems zu ändern (Liu et al., 1999).

Auf Grund ihres multivalenten und monodispersen Charakters haben Dendrimere in Bereichen der Chemie und Biologie ein breites Interesse hervorgerufen, insbesondere bei Anwendungen wie z.B. Arzneistoffträger, Gentherapie und Chemotherapie (Bosman et al., 1999, Patri et al., 2002). Die Permeation von Indomethacin konnte durch Dendrimere sowohl in vitro als auch in vivo deutlich erhöht werden (Chauhan et al., 2003). Dies wird auf eine verbesserte Löslichkeit von Indomethacin durch Komplexbildung und/oder Verkapselung in das Dendrimer-Molekül zurückgeführt. Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass Dendrimere eine Enhancer-Wirkung ausüben können (Wang et al., 2003). Dendrimere können auf Grund ihrer sowohl hydrophoben (Kern) als auch hydrophiler (Schale) Struktur unimolekulare Mizellen ausbilden, deren Durchmesser zwischen 20 und 100nm liegen können (Liu et al., 2000). Durch Einschluß in diesen "Nano-Container" können Wirkstoffe vor chemischer Inaktivierung geschützt werden, zusätzlich kann eine verzögerte Freisetzung erreicht werden.

1.5 Perkutane Absorption – Penetrationsweg in die Haut

Für die Entfaltung einer lokalen Wirkung eines topisch applizierten Wirkstoffs muss dieser nach seiner Freigabe aus der Formulierung zuerst das SC durchdringen, um in die Epidermis penetrieren zu können. Die Wirkstofffreigabe hängt von der Art der galenischen Formulierung und deren Wechselwirkung mit dem Wirkstoff und der Haut ab. Dabei wird das Ausmaß der Diffusion des Wirkstoffs in das SC unter anderem durch die Dicke und den Hydrationszustand der Hornschicht, die Temperatur, den Verteilungskoeffizienten des Wirkstoffs zwischen Grundlage und Hornschicht, den Zustand der behandelten Hautoberfläche und die Wirkstoffkonzentration bestimmt (Wagner et al., 2003). Topisch applizierte Wirkstoffe penetrieren in und durch die Humanhaut auf zwei grundsätzlich verschiedenen Wegen: transepidermal (transzellulär und/oder interzellulär über das SC) und transappendeal über die Hautanhangsgebilde, insbesondere über Haarfollikel, die im folgenden näher erläutert werden.

Transepidermaler Weg

Für das Durchqueren eines Wirkstoffs durch das SC sind prinzipiell zwei Wege möglich. Substanzen permeieren entweder entlang der interzellulären Lipidlamellen (interzellulär) oder sie durchdringen die Keratinozyten, d.h. auf direktem Weg (transzellulär) (Barry, 1991).

Die epidermalen Lipide, die sich zwischen den Hornzellen befinden, werden als mit Skleroprotein gefüllter Mörtel zwischen Backsteinen beschrieben (Barry, 1991). Gemäß den heutigen Vorstellungen stellt der interzelluläre Transport den Hauptweg der dermalen Wirkstoffaufnahme durch die Hornschicht dar (Potts et al., 1992). Die Diffusion einer Substanz durch das SC ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt bei der dermalen Wirkstoffaufnahme (Müller, 2001).

Glucocorticoide besitzen eine ausreichende Lipophilie, die es ihnen ermöglicht, über die Lipidlamellen in und durch das SC zu gelangen. Hinsichtlich der dermalen Penetration von Glucocorticoiden ist bekannt, dass sie in den oberen Schichten des SC über längere Zeit gespeichert werden. Das SC bildet ein Glucocorticoid-Reservoir, aus dem die Corticosteroide sukzessive und gleichmäßig in die darunter liegenden Schichten abgegeben werden (Panchagnula et al., 1991). In Abhängigkeit vom Zustand der Haut, z.B. von der Intensität einer entzündlichen Hauterkrankung, verringert sich die Zeit, in der Glucocorticoide das SC durchdringen können, um 15 Minuten bis zu 2 Stunden (Niedner et al., 1992). Die darunterliegenden Schichten, die lebende Epidermis, durchdringen Glucocorticoide dagegen erheblich schneller. Hier sind Diffusionskoeffizienten beschrieben worden, die um 3 Zehnerpotenzen die des SC überschreiten (Müller, 2001).

Wirkstoffe, die den transzellulären Weg beschreiten, müssen so beschaffen sein, dass sie die Keratinstrukturen im Inneren der Korneozyten überwinden können. Entlang der polaren Route über hydratisiertes Keratin der Korneozyten können z.B. kleine Moleküle wie Harnstoff das SC überwinden (Neubert et al., 1998).

Wenn die kutane Verfügbarkeit von Wirkstoffen erhöht werden sollte, kann dies auch durch Zusatz von Penetrationserhöhern (Enhancer) erreicht werden (Williams et al., 2004). Hierzu dienen Substanzen, die entweder die Löslichkeit des Wirkstoffs in der Hautschicht erhöhen oder die Lipiddoppelschicht fluidisieren. Als Enhancer wirken z.B. Propylenglykol (Bendas et al., 1995), Terpene (El-Kattan et al., 2001) und – weniger stark – Isopropylmyristat (Gorukanti et al., 1999).

Transappendealer Weg

Der transappendeale Weg schließt den Transport über die Hautfollikel als auch über die Schweißporen ein. Obwohl Haarfollikel, Talg- und Schweißdrüsen nur ungefähr 0,1% der gesamten menschlichen Hautoberfläche ausmachen (Müller, 2001), sind sie doch an der Penetration/Permeation von Wirkstoffen in und durch die Haut beteiligt. Die Diffusionskoeffizienten der Substanzen sind in den Hautanhangsgebilden meistens erheblich größer als in der Hornschicht (Chien, 1987). Die Haarfollikel durchbrechen die lebende Epidermis und setzen deshalb polaren Substanzen einen geringeren Widerstand entgegen als das SC, das Absorptionspotential ist daher viel größer (Agarwal et al., 2000). Der transappendeale Penetrationsweg kann für geladene bzw. große polare Moleküle (Barry, 1987) und möglicherweise hydrophobe Substanzen wichtig sein (Bernard et al., 1997). Münster et al. nutzten SLN für ein gezieltes Wirkstofftargeting zum Haarfollikel. Das Ziel ist der Transport eines Anti-Androgens in den Haarfollikel zur Therapie der androgenetischen Alopezie (Münster et al., im Druck).

1.6 Parelektrische Spektroskopie

Die Lokalisation des Wirkstoffs an der Oberfläche oder im Inneren von SLN als Träger ist der Schlüssel zur Aufklärung der spezifischen Wirkung dieser Kombination. Erheblicher Aufwand wurde bislang eingesetzt, um die Frage nach der Beladungsrate der SLN mit Wirkstoff zu beantworten. So kann diese Größe z.B. aus der Differenz zwischen Gesamtmenge und der Menge des in der wässrigen Phase der SLN-Dispersion gelösten Wirkstoffs bestimmt werden (Schwarz et al., 1999). Dieses Verfahren ist jedoch aus zwei Gründen problematisch: Zum einen sind die Lipidpartikel nicht einheitlich groß und befinden sich deswegen in unterschiedlicher Höhe innerhalb des Zentrifugenglases; eine Aufenthaltsberechnung ist wegen fehlender Dichteangaben der Teilchen nicht möglich. Zum anderen sind die Lipidpartikel im allgemeinen sehr leicht und bei den dadurch notwendigen hohen Zentrifugalkräften beobachtet man häufig ein Zusammenkleben der Teilchen. Als alternatives Verfahren wurde daher die noch relativ junge Methode der Parelektrischen Spektroskopie (PS) eingesetzt (Mahlstedt et al., 2002), welche den

Bedeckungsgrad der Trägeroberfläche aus einer unterschiedlichen Beweglichkeit – sinkend mit steigender Wirkstoffbeladung der Träger – ermitteln können sollte.

Dieses Verfahren wurde von einer experimentell arbeitenden Gruppe im Fachbereich Physik unserer Universität schon für die Untersuchung von medizinischen und biophysikalischen Fragestellungen eingesetzt. Dabei erwiesen sich die Beweglichkeit und die Dichte der permanenten elektrischen Dipolmomente der untersuchten Systeme zur Charakterisierung von deren Struktur und Dynamik als erfolgreich (Mahlstedt et al., 2002).

Eine Messung der Beweglichkeit der Kombination Wirkstoff/Träger in Abhängigkeit der Wirkstoffkonzentration ließ eine Hilfe bei der Beantwortung der wichtigen Frage der Interaktion von Wirkstoff und Träger erwarten.

Bei der PS werden die elektrische Dipole tragenden Teilchen einem hochfrequenten elektrischen Wechselfeld ausgesetzt. Die frequenzabhängige Polarisierung als Antwort gestattet die Ermittlung von Dipoldichte und –beweglichkeit. Vorexperimente zeigten, dass für die Molekülmassen der untersuchten Systeme der Frequenzbereich (0,1...100) MHz optimal geeignet sein sollte (Sivaramakrishnan, 2003). Da die Massenabhängigkeit der Dipolbeweglichkeit zudem von der Wirkstoffmasse zur Masse der unbeladenen SLN-Massen abhängt, sollte auch eine Unterscheidung möglich werden, ob diese Wirkstoffmassen an der Oberfläche der SLN attachiert oder in diesen Träger inkorporiert sind.