

## 5. Diskussion

### 5.1 Feste Lipid-Nanopartikel

Die Eignung von SLN als dermal zu applizierendes Trägersystem wird zunehmend häufiger untersucht. Santos Maia et al. konnten in Versuchen mit exzidiierter Humanhaut feststellen, dass PC nach Applikation in SLN im Vergleich zu einer handelsüblichen Creme in den oberen Hautschichten angereichert wird (Santos Maia et al., 2002). Es sollte nun untersucht werden, ob auch bei einem anderen Glucocorticoid, dem BMV, ebenfalls eine optimale Zusammensetzung und ein Targeting in die Epidermis durch SLN möglich ist.

#### 5.1.1 Rezepturentwicklung

Ziel dieser Untersuchungen war die Herstellung einer mindestens über 6 Monate physikalisch stabilen SLN-Dispersion mit ausreichender Arzneistoffbeladung. Die Auskristallisation des Wirkstoffs ist eine häufig auftretende Instabilität. Hierfür können unterschiedlichste Gründe vorliegen, z.B. Übersättigung der Lipidphase, Temperatur und pH-Wert. Trotz hoher Lipophilie kristallisierte BMV (0,1%) bei einem Lipidanteil von bis zu 10% innerhalb eines Monats aus. Wie der Lipidscreeningtest ergeben hat, liegt eine sehr geringe Löslichkeit von BMV in unterschiedlichen Triglyceriden (Dynasan) vor, was auch bereits von Westesen et al. berichtet wurde (Westesen et al., 1997A). Bereits für eine Konzentration von 0,1% BMV musste daher der Anteil des Lipids auf 12,5% erhöht werden. Mit steigenden Lipidgehalt nimmt allerdings die Gefahr der Gelierung der Dispersion zu. Das Phänomen der Gelierung von SLN wurde bereits mehrfach beschrieben (Freitas et al., 1999, Westesen et al., 1997B). Bei den verwendeten Glyceriden trat in zahlreichen Fällen eine leichte bis ausgeprägte Aggregation auf. Compritol-SLN zeigten eine bessere Stabilität als SLN aus Imwitor und Geleol. Die physikalisch bessere Stabilität von Compritol-Dispersion im Vergleich zu Imwitor- und Geleol-Dispersion wurde auch von Zimmermann et al. beobachtet (Zimmermann et al., 2001). Bei einem zusätzlichen Energieeintrag, z.B. durch Licht oder Temperaturveränderung können allerdings die sich frei bewegenden Partikel häufig ein festes Gerüst ausbilden und gelieren (Freitas et al., 1998). Die oft auch spontan direkt nach Herstellung auftretende Gelierung ist in ihren Ursachen

noch nicht vollständig aufgeklärt. So wird als eine Ursache eine Modifikationsumwandlung der Glyceride diskutiert (s. 4.1.3). Compritol kann unmittelbar nach der Herstellung von SLN in der  $\alpha$ -Modifikation auskristallisieren. Da diese Modifikation sehr instabil ist, erfolgt sehr schnell die Umwandlung in die  $\beta$ -Modifikation. Damit ist gleichzeitig eine Veränderung der Partikelform von der sphäroiden in die polyedrische Gestalt verbunden, die ein Gelieren induzieren kann (Jenning, 1999, Freitas et al., 1999). Solche Instabilität kann durch eine Erhöhung der Tensidkonzentration oder eine Mischung unterschiedlicher Tenside vermieden werden (zur Mühlen, 1996). Eine zu hohe Tensidkonzentration kann sich jedoch nachteilig bei Anwendung auf der Haut auswirken, so können z.B. durch die Dehydration der Epidermis Hautirritationen entstehen (Calvo et al., 1996). Aus diesem Grund konnte bei der Rezepturoptimierung eine Tensidkonzentration von 5% nicht überschritten werden. Im Vergleich zu Compritol-SLN zeigten Precirol-SLN ein besseres Dispergierungsergebnis, wobei Precirol-SLN durch Polysorbat 80 stabilisiert werden konnten. Dies kann damit erklärt werden, dass Polysorbat 80 sich schneller an die sprunghaft anwachsenden Grenzflächen anlagern kann als Poloxamer 188. Monosteol-SLN zeigten innerhalb von einem Monat nach der Herstellung Partikelaggregation. Hierbei konnte festgestellt werden, dass die Erhöhung der BMV-Konzentration stärker als bei PC zu einer Instabilisierung führte. Mit Softisan wurden nach Homogenisation keine festen Partikel erhalten, sondern es lag eine Lipid-Nanoemulsion vor, die als eine unterkühlte Schmelze zu betrachten ist. Auf Grund dieser Ergebnisse wurden für die Herstellung BMV-haltiger SLN Compritol und Precirol als Lipidmatrix ausgewählt.

Die Einarbeitung von Cholesterol in wirkstofffreie Compritol-SLN führte in allen untersuchten Konzentrationen zur Gelierung der Dispersionen. Ceramidhaltige Compritol-SLN-Dispersionen gelierten zum großen Teil nach Einarbeitung von BMV innerhalb von zwei Wochen, wobei die Herstellung physikalisch stabiler BMV-beladener Lipid-Nanopartikel unter Zusatz von Ceramiden mit Precirol gelungen ist.

### **5.1.2 Partikelgrößencharakterisierung von SLN**

Die Partikelgröße und Partikelgrößenverteilung sind für die Eignung eines Trägersystems für die pharmazeutische und kosmetische Anwendung von sehr großer Bedeutung. Eine gut geeignete Dispersion zeichnet sich u.a. sowohl durch

eine kleine mittlere Partikelgröße als auch durch eine enge Größenverteilung aus. Die Partikelgröße ist außer von den Herstellungsbedingungen auch von der Konzentration des Tensids (Jores et al., 2000) und des Wirkstoffs, den Lagerungsbedingungen (Temperatur, Licht) und der Art des Behältnismaterials (Freitas et al., 1998) abhängig. Von entscheidender Bedeutung für die Partikelgröße ist das eingesetzte Lipid (Dingler, 1998). Lipid-Nanodispersionen weisen im Allgemeinen Partikelgrößen zwischen 50 und 1000nm auf. Die Partikelgröße einer handelsüblichen Creme liegt dagegen häufig im unteren Mikrometerbereich (1-14µm).

Compritol-SLN zeigten mit einem maximalen Durchmesser von etwa 500nm die größten Partikel im Vergleich zu SLN, die mit anderen Lipiden hergestellt wurden. Mit einer 15%igen Compritol-Formulierung konnte überraschenderweise eine höhere Dispersität erreicht werden, d.h. ein kleinerer mittlerer Partikeldurchmesser und eine kleinere Partikelgrößenverteilung, als mit einer Formulierung mit 12,5% Compritol. Es wäre stattdessen zu erwarten gewesen, dass eine Erhöhung der Lipidkonzentration zu größeren Partikeln und einer breiteren Partikelgrößenverteilung führt. Vermutlich ist dieses Ergebnis auf die höhere Tensidkonzentration (Poloxamer 188 5%) zurückzuführen. Im Vergleich zu Compritol-SLN wiesen Precirol-SLN mit Partikelgrößen zwischen 200 und 250nm deutlich kleinere Partikel auf, die auch über einen Zeitraum von 6 Monaten nahezu unverändert blieben. Dieser Unterschied in der Partikelgröße zwischen Compritol-SLN und Precirol-SLN liegt nicht an dem unterschiedlichen Gehalt an Partialglyceriden, sondern vorrangig scheint der Schmelzpunkt der Lipidmatrix den größten Einfluss auf die mittlere Partikelgröße und den PI der SLN-Systeme zu besitzen. Bunjes et al. zeigten, dass die Tendenz zu einer Partikelvergrößerung mit der Kettenlänge des Triglycerids auf die steigende Viskosität der Triglycerid-Schmelze zurückzuführen ist. Die Polarität der Moleküle oder die Präsenz von Partialglyceriden sollten einen minimalen Einfluss auf die Partikelgröße haben (Bunjes et al., 1996). Die Einarbeitung von zunehmenden Wirkstoffmengen in Compritol- und Precirol-SLN veränderte die Dispersionsqualität allerdings nicht. Auch Tetracain und Etomidate beeinflussten bei Compritol-Dispersion die Partikelgröße nicht (Schwarz et al., 1999). Im Gegensatz dazu wurde bei Monosteol als Lipidmatrix beobachtet, dass mit steigendem BMV-Gehalt die Partikelgröße zunimmt und die Partikelgrößenverteilung breiter wird, was von einer Destabilisierung begleitet wurde. Besonders bei Lipiden mit niedrigem Schmelzpunkt

– im Gegensatz zu Compritol mit höherem Schmelzpunkt – scheint der Wirkstoff einen bedeutenden Einfluss auf das Rekristallisationsverhalten der Lipidmatrix zu haben. Eine Beeinflussung der Rigidität des sich an der Partikeloberfläche ausbildenden Emulgatorfilms ist denkbar.

### 5.1.3 Kristallinität und Modifikationsumwandlung der Lipide

Lipide sind polymorphe Stoffe. Die Modifikationen unterscheiden sich in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften wie Dichte und Schmelzpunkt. Die Glyceride liegen nach der Herstellung der SLN häufig in der instabilen  $\alpha$ -Modifikation vor, wobei die Umwandlung über die  $\beta'$ -Form in die stabilere  $\beta_i$ - oder  $\beta$ -Modifikation sehr schnell erfolgen kann (zur Mühlen, 1996). Diese Modifikationsumwandlungen beeinflussen die Aufnahme bzw. die Freigabe des Wirkstoffs in bzw. aus der Lipidmatrix. Laut Jennings et al. findet durch Wasserverdunstung nach der Applikation der SLN-Dispersion auf der Haut eine solche Modifikationsumwandlung der Lipide statt, wobei u.a. die Packungsdichte des Kristalls steigt, wodurch der Wirkstoff aus der Lipidmatrix gedrängt werden kann. Dieser Vorgang führt zu einer schnellen Freisetzung des Wirkstoffs aus den Lipid-Nanopartikeln (Jennings, 1999). Es wird daher angenommen, dass der Wirkstoff sich durch die Veränderung der räumlichen Lipidstruktur nicht im Kristallgitter, sondern sich vorzugsweise an der Partikeloberfläche oder in oberflächennahen Bereichen des Partikels befindet. Diese Annahme wird durch die Ergebnisse der Penetrationsuntersuchungen (kein Targeting von BMV im Gegensatz zu PC) und der PS unterstützt (s. 4.1.5). Die Bildung einer hochkristallinen Lipidmatrix nach der Heißhomogenisation ist die Grundvoraussetzung zur Bildung fester Lipid-Nanopartikel. Compritol und Precirol zeigten nach der Herstellung mit mehr als 97% eine vollständige Rekristallisation. Der Rekristallisationsgrad betrug bei Monosteol nur etwa 70%. Das deutet darauf hin, dass die Rekristallisation verzögert abläuft, eine vollständige Kristallisation ist während der Lagerung zu erwarten. Im Gegensatz dazu wurde bei Softisan nach der Homogenisation des geschmolzenen Lipids keine Kristallbildung mit Hilfe der DSC nachgewiesen, es liegt eine unterkühlte Schmelze vor. Auf Grund der Rekristallisationseigenschaften sind Compritol und Precirol geeignete Lipide zur Herstellung von SLN.

### 5.1.4 Dielektrische Spektroskopie

Ziel dieser Untersuchungen war es auch, Zusammenhänge zwischen der Struktur der Wirkstoff-assoziierten Partikel und dem Einfluß auf das Penetrationsverhalten aufzuklären. Eine entsprechende Hypothese wurde im Rahmen der Kooperation von den Physikern aufgestellt.

Bei  $c = 0$  bewegen sich die wirkstofffreien SLN als Träger im elektrischen Feld  $\underline{E}$ . Bei  $c = c_{\max}$  liegt eine weitest gehende Bedeckung der SLN mit Wirkstoff vor und das System Träger+Wirkstoff bildet einen (größeren) Komplex mit lückenarmer Oberfläche. In beiden Fällen müssen sich bei Bewegung der Dipolträger die übrigen Komponenten der Dispersion in der direkten Umgebung um ihre eigene Dimension bewegen. Sie benötigen dazu nach der Theorie der Platzwechselforgänge die Aktivierungsenergie  $\Delta E_0$ . Bei teilweiser Bedeckung für  $c$ -Werte  $0 \leq c \leq c_{\max}$  finden bei Bewegung der Dipolträger die Nachbarn Plätze in den Lücken zwischen den anhaftenden Wirkstoff-Molekülen und müssen bei ihren 'Ausweichmanövern' eine geringere Aktivierungsenergie  $\Delta E < \Delta E_0$  aufbringen: Durchläuft also  $\Delta E(c)$  zwischen den Werten  $c = 0$  und  $c = c_{\max}$  ein Minimum, so muss  $f_0(c)$  notwendig zwischen  $c = 0$  und  $c = c_{\max}$  ein Maximum durchlaufen.

Um nun auch die ebenfalls gemessene Abhängigkeit  $\Delta \varepsilon = \Delta \varepsilon(c)$  zu verstehen, muss die Definition der Dipoldichte  $\Delta \varepsilon$  näher betrachtet werden. Es seien  $p$  das permanente (bei den Messungen jeweils konstante) Dipolmoment und  $N/V$  die Teilchenzahldichte. Dann gilt für den - bei dielektrischen Messungen immer erfüllten Fall  $p \cdot E \ll k \cdot T$  mit  $E =$  elektrische Feldstärke,  $k =$  Boltzmann-Konstante und  $T =$  absolute Temperatur - der Zusammenhang

$$\Delta \varepsilon = \left( \frac{1}{3} \cdot \varepsilon_0 \cdot k \cdot T \right) \cdot p^2 \cdot \left( \frac{N}{V} \right), \quad \varepsilon_0 = \text{Influenz-Konstante.}$$

Bei Inkorporation der Wirkstoffe im Träger nimmt die Teilchenzahldichte stetig mit steigender Wirkstoffkonzentration ab. Bei Außenanlagerung ist die Dichte  $N/V$  in den beiden Grenzfällen  $c = 0$  und  $c = c_{\max}$  am größten. Zwischen diesen  $c$ -Werten durchläuft die Dichte  $N/V$  ein Minimum und es ist eine nach unten über der  $c$ -Achse durchhängende Parabel zu erwarten.

Die Lokalisation des Wirkstoffs in den SLN-Dispersionen wird kontrovers diskutiert. Ob der Wirkstoff sich im oder am Partikel befindet, ist bestimmend für die Geschwindigkeit der Freisetzung des Wirkstoffs und für die Aufnahme in das SC.

Z.B. kann mit Phospholipid-Liposomen nicht nur die eingeschlossene, sondern auch die nicht eingeschlossene Substanz in das SC und möglicherweise in tiefere Hautschichten transportiert werden (Verma et al., 2003). Mehrere Untersuchungen ergaben bereits Hinweise dafür, dass Arzneistoffe an der Partikeloberfläche von SLN angelagert sind (Bunjies et al., 2001, Jores et al., 2003). Denkbar ist, dass die physikalischen Eigenschaften eines Kristalls Fehlstellen nicht ermöglichen und der Arzneistoff aus dem regelmäßigen Gitter verdrängt wird (DSC Untersuchung 4.1.3) (Jenning et al., 2000A). Zur Zeit wird neben der Bestimmung des Wirkstoffgehaltes in der wässrigen und lipophilen Phase (Santos Maia, 2002., Schwarz et al., 1999) die ESR (Elektronenspinresonanzspektroskopie) von Spinlabeln (Jores et al., 2003) für die Untersuchung dieser Fragestellung eingesetzt. Für diese Arbeit wurde mit der PS ein weiteres Verfahren zur Untersuchung der Verteilung von Glucocorticoiden im Lipid-Trägersystem entwickelt (Sivaramakrishnan et al., 2004).

Die konzentrationsabhängigen Änderungen von Dipoldichte und Mobilität zeigten, dass Glucocorticoide in der Lipidmatrix von SLN nicht inkorporiert sind, sondern an der Partikeloberfläche adsorbiert vorliegen (Abb. 4.16). Die Resultate der PS rühren daher, dass ein Trägermolekül (Dipol) ohne Oberflächenbeladung für eine Einstellung im elektrischen Feld eine größere Aktivierungsenergie benötigt als ein Trägermolekül mit partieller Oberflächenbeladung, d.h., steigende BMV-Konzentrationen führen zu einer Abnahme von Aktivierungsenergie (und damit einer Zunahme der Frequenz). Die Ergebnisse zeigen, dass bei BMV die ganze Trägermoleküloberfläche mit den Wirkstoffmolekülen bei 0,05% bedeckt wird. Im Gegensatz zu BMV zeigte PC keine Sättigung der Trägermoleküle mit Wirkstoff. Dies deutet darauf hin, dass bei BMV die Assoziationskapazität der Partikeloberfläche wesentlich niedriger als bei PC ist. Diese beschränkte Assoziationskapazität von BMV wurde auch mit einem anderen SLN-System gezeigt (Westesen et al., 1997A). Durch eine Filterabtrennungsmethode konnte eine hohe PC-Menge > 90% in der SLN-Dispersionsphase und PC < 2% in der Wasserphase bereits nachgewiesen werden (Santos Maia, 2002). Es ist vorstellbar, dass der aus dem Partikel verdrängte Arzneistoff BMV eine Nanosuspension in Wasser bildet, so dass in der Wasserphase ein höherer Anteil von BMV als bei PC bzw. mittels der Filterabtrennung erfaßbar befindet.

Um diese unterschiedliche Assoziation beider Substanzen zu erklären, wurde eine Hypothese aufgestellt, dass die Assoziation abhängig von der Lipophilie der

Wirkstoffe sei. Bei PD ( $\log P$  1,69) z.B. wurde eine niedrige Beladung von ca. 50% beobachtet (zur Mühlen et al., 1998). Die Lipophilie von BMV und PC ist jedoch sehr ähnlich ( $\log P$  3,98 bzw.  $\log P$  3,82). Die Ergebnisse weisen daher darauf hin, dass die Assoziation des Wirkstoffs an der Partikeloberfläche nicht nur von der Lipophilie des Wirkstoffs abhängig ist, vielmehr könnten auch lipophile Seitenketten die Assoziation fördern. Bei PC handelt es sich um einen Doppolester, bei BMV um einen Monoester. Das Epidermis-Targeting durch Lipidnanopartikel ist offensichtlich auf eine ausreichende Assoziation des Wirkstoffs mit der Partikeloberfläche zurückzuführen.

## 5.2 Untersuchungen zur Penetration der SLN in die Haut

Da die Penetration eines Glucocorticoids das Ausmaß unerwünschter Wirkungen an der Haut bestimmt, sollte bei einer Glucocorticoid-Behandlung die Eindringtiefe der Glucocorticoide in die einzelnen Hautschichten limitiert sein. Ziel dieser Arbeit war es daher, eine Anreicherung von Glucocorticoiden (BMV) in der Epidermis durch Nutzung der targetierenden Eigenschaften der SLN zu ermöglichen. Da BMV stark antiproliferativ wirkt (Lange et al., 2000), würde ein Targeting das Nutzen/Risiko-Verhältnis bei der Behandlung von Ekzemen mit diesem Standard-Glucocorticoid erheblich verbessern.

### 5.2.1 Humanhaut: Resorptionsquote

Vergleichende Untersuchungen zur BMV-Penetration in Humanhaut aus unterschiedlichen Wirkstoffcarriern zeigten eine stärkere Penetration von BMV in die Epidermis, aber auch Dermis bei BMV-SLN im Vergleich zu BMV-NE und BMV-Creme (Abb. 4.21). Der Effekt bei BMV-Compritol-SLN war besonders stark ausgeprägt. Nach 6-stündiger Einwirkung der BMV-SLN auf exzidierte Humanhaut lag die BMV-Menge in der Haut bis zu einer Gewebetiefe von 200 $\mu$ m 3,5 fach höher als bei Applikation der Creme und NE. In tieferen Hautschichten war BMV nicht mehr mittels HPLC detektierbar. Die parallel steigende Menge von BMV in den tieferen Hautschichten (100 - 200 $\mu$ m) zeigte, dass sich BMV-Compritol-SLN nicht für ein Targeting des BMV zur Epidermis eignen, eine Verbesserung des Nutzen/Risiko-Verhältnisses ist also mittels SLN bei BMV nicht möglich. Im Vergleich zu Compritol-

SLN fördern Precirol-SLN die Aufnahme von BMV in die Haut weniger. Das bedeutet darauf hin, dass die Freisetzung der Wirkstoffe aus den SLN im starken Maße von der Lipidmatrix abhängt, unterschiedliche Wechselwirkungen der Lipidmatrices von Compritol und Precirol mit den Hautzellen könnten dies begründen. Bis zu einem bestimmten Grad erscheint die Wirkstofffreisetzung aus den SLN-Trägern durch die Wahl von Matrixbestandteilen steuerbar.

Bei Anwendung als NE unterschied sich die Aufnahme des Wirkstoffs in die Hautschichten nicht von der aus einer Creme, obgleich auch NE eine nanopartikuläre Lipiddispersion darstellt. Im Gegensatz zu den NE bilden sich SLN nach dem Aufbringen auf die Haut auf Grund ihrer adhäsiven Eigenschaften eine feste geschlossene Schicht aus den Lipidpartikeln auf der Haut, wenn das in der Zubereitung enthaltene Wasser verdunstet. Dadurch findet die oben beschriebene Modifikationsumwandlung der Lipide statt, die eine schnellere Freisetzung des Wirkstoffs fördert (s. 5.1.3). Darüber hinaus führt der Okklusionseffekt durch einen Film des Lipids zu einer Zunahme der Hydratation und Temperatur der oberen Schichten der Haut und die Aufnahme des Wirkstoffes wird beschleunigt (Dingler, 1998). Dies könnte den zwischen SLN und NE beobachteten Unterschied der Penetration erklären. Es ist denkbar, dass bei Hauterkrankungen mit Barrierschädigung (Imokawa et al., 1991, Paige et al., 1994) bei längerer Einwirkzeit der BMV-SLN oder bei wiederholter Applikation die Penetrationsrate steigt. Insbesondere bei geschädigter Haut sollte die Formulierung mit hauteigenen SC-Lipiden optimal sein, da die Schutzbarriere regeneriert werden könnte (Mao et al., 1993). So senkt der Zusatz von Ceramid zu einer O/W-Emulsion den transepidermalen Wasserverlust von normaler und geschädigter Haut im Vergleich zu der ceramidfreien Zubereitung (Farin et al., 1995). Gleichzeitig sollte die Affinität der Lipidpartikel zum SC durch Einarbeitung von Ceramiden und Cholesterol in die Lipidmatrix der SLN steigen und damit eine Interaktion der Partikel mit der Haut erleichtert werden. Schmalfuß et al. zeigten, dass Cholesterol bei Mikroemulsionen zu einer um 20% erhöhten Penetration in die Epidermis führte (Schmalfuß et al., 1997). Liposomen, die Ceramide enthalten, beschleunigen die Aufnahme des Wirkstoffs in die Epidermis im Vergleich zu Liposomen, die nur Phospholipide enthalten (Fresta et al., 1996). Dieser Befunde deutet darauf hin, dass Ceramide und Cholesterol die Fixierung des Wirkstoffs in Epidermis fördern. Die Herstellung physikalisch stabiler BMV-beladener Lipid-Nanopartikel unter Zusatz von Cholesterol

ist aber nicht gelungen, wobei unter Zusatz von Ceramiden eine physikalische stabile SLN-Dispersion herstellbar war. Bei ceramidhaltigen SLN zeigten Penetrationsexperimente an frischer Humanhaut allerdings weder Verbesserungen noch Verschlechterungen der kutanen Penetration bis in 200µm Hauttiefe im Vergleich zu ceramidfreien Compritol-SLN. Auch ein Targeting-Effekt von BMV war nicht zu erreichen. Einige Untersuchungen ergaben, dass die oben beschriebenen Wirkungen der hauteigenen Lipiden nicht durch Ceramid alleine sondern erst zusammen mit Cholesterol und freien Fettsäuren hervorgerufen wurden. Das Entscheidende war die hautähnliche Zusammensetzungen der Formulierungen (Mao et al., 1996). Daher könnten die hier getesteten Systeme noch nicht hinreichend optimiert sein.

### **5.2.2 Humanhaut: Targeting**

Im Gegensatz zu den in dieser Arbeit untersuchten BMV-SLN konnte bei PC-SLN die erwünschte Anreicherung in den obersten Hautschichten beobachtet werden (Santos Maia et al., 2002). Dieser gravierende Unterschied im Penetrationsverhalten aus BMV- und PC-SLN sollte in der besseren Assoziation von PC mit den Lipidpartikeln begründet sein.

Über die Penetrationstiefe der Liposomen gibt es sehr unterschiedliche Ergebnisse und Auffassungen. Bei einer Hydrocortison-Liposomen-Präparation war nach 30 min Einwirkungszeit der Wirkstoff bis in die tiefen Lagen der Dermis vorgedrungen (Wohlrab et al., 1989). Andererseits erhöhten Liposomen die Konzentration von Tretinoin in den oberen Hautschichten im Vergleich zu einem konventionellen Gel. Die vesikuläre Struktur der Liposomen geht verloren, wenn sie die erste Schicht von Korneozyten durchdringen und es entsteht ein Reservoir des Wirkstoffs im SC (Masini et al., 1993). Für die Penetration intakter Liposomen (Li et al., 1992, Lieb et al., 1992) und SLN (Münster et al., im Druck) werden die follikuläre Route als bedeutend angesehen.

### **5.2.3 Schweinehaut**

Als weitere Testhaut wurde daher Schweinehaut in die Penetrationsstudien einbezogen. Im Allgemeinen schließt die wesentlich stärkere Behaarung bei tierischer Haut, z.B. bei Ratten, eine Vergleichbarkeit mit Humanhaut aus.

Hinzukommt die wesentlich dünnere Epidermis, so dass eine stärkere Penetration als bei Humanhaut gegeben ist (Van de Sandt et al., 2000). Diese Nachteile sind bei Schweinehaut wesentlich geringer ausgeprägt. Sie erweist sich auf Grund ihrer der Humanhaut ähnlichen Lipidzusammensetzung für Permeations-/Penetrationsstudien als geeignet (Andega et al., 2001).

Nach 6-stündiger Inkubation der Schweinehaut zeigten sich ebenfalls keine Unterschiede zwischen den BMV-Gehalt einzelner Hautschichten bei unterschiedlichen BMV-Formulierungen. Jennings et al. zeigten jedoch eine verminderte Aufnahme von Retinol im Vergleich zu NE durch SLN-Dispersionen nach 24-stündiger Applikation. Allerdings konnten sie eine hohe Wirkstoffkonzentration bis zu einer Tiefe von 500µm Hautschichten beobachten (Jennings et al., 2000B); ein Phänomen, das bei der Glucocorticoid-Behandlung vermieden werden soll. Diese verstärkte Penetration des Wirkstoffs in tiefere Hautschichten kann in der von Jennings et al. verwendeten okklusiven Methode begründet sein. Unter okklusiven Bedingungen steigt die Permeabilität der Haut durch Hydratation. Daher wird die nicht-okklusive Anwendung von SLN bei Glucocorticoid-Behandlungen bevorzugt, sie ist zudem für den Patienten meist angenehmer.

Die fehlende verstärkte BMV Aufnahme aus Compritol-SLN im Bereich zwischen 0 - 200µm bei Schweinehaut im Vergleich zur Humanhaut könnte in den unterschiedlichen Oberflächenstrukturen begründet sein. Da die Dimensionen der Follikel und Poren bei Schweinehaut um ein Vielfaches größer sind als bei Humanhaut, stellen sie auch ein größeres Wirkstoffreservoir dar, aus dem der Wirkstoff in vertikaler Richtung freigesetzt werden kann.

### **5.3 Ausblick**

Während mit PC-SLN eine gezielte Anreicherung in der Epidermis gelungen ist, konnte mit dem weniger gut verträglichen BMV ein solches Targeting nicht erreicht werden, allerdings war eine Erhöhung der in die Haut penetrierten Menge um das 3,5 fache im Vergleich zur handelsüblichen BMV-Creme möglich.

Mit Hilfe der PS konnte nachgewiesen werden, dass die Lipid-Nanodispersionen bereits in einer Konzentration von 0,1% BMV - anders als bei PC - überladen waren und somit ein erheblicher Teil des Wirkstoffs nicht mit der Oberfläche der Lipid-Nanopartikel assoziiert war. Daher erscheint eine stabile Assoziation bzw.

Inkorporation des Wirkstoffs für ein Epidermis-Targeting erforderlich. Angesichts der ähnlichen Lipophilie von BMV und PC ist zu vermuten, dass die Doppellesterstruktur für die gute Oberflächenassoziation von PC verantwortlich ist. Der Monoester fördert die Assoziation offenbar weniger. Dies experimentell zu klären, ist eine der zentralen Fragestellungen für die nahe Zukunft. Daher sind weitere Untersuchungen an Glucocorticoid-SLN mittels PS wichtig.

Zusätzlich bedarf es einer weiteren Optimierung des Trägersystems für Glucocorticoide, wobei auch NLC (nanostructured lipid carriers) in die Untersuchungen einbezogen werden sollten. Flüssige Lipide könnten die Assoziationskapazität der Partikel mit Wirkstoffen erhöhen, ein Zusatz von Ölsäure die kutane Penetration fördern und eventuell die hohen Ansprüche eines Epidermis-Targeting-Effekts befriedigen. Weiterhin muss geprüft werden, ob bzw. wie Tenside die Penetration und ein mögliches Targeting beeinflussen.

Für die Gewinnung eines optimalen Präparats ist auf jeden Fall eine eingehende Charakterisierung des Trägersystems durchzuführen. Somit sollten nicht nur Partikelgrößenbestimmung oder DSC-Untersuchung, sondern auch die Atomic Force Microscopy (AFM) bzw. Elektronmikroskopie eingesetzt werden. Anschließend sollten die Wechselwirkung der Lipid-Nanopartikel mit der Haut und der Weg des Wirkstoffs näher untersucht werden. Mit diesen Ergebnissen kann der Träger hinsichtlich seiner Zusammensetzung und Größe verändert werden, um eine möglichst hohe Nutzen/Risiko-Relation für Glucocorticoid-Behandlung erreichen zu können.

Die hier dargestellten Ergebnisse zeigen die Penetration von Glucocorticoiden bei intakter Haut, wobei handelsübliche Zubereitungen und Lipid-Nanopartikel verglichen wurden. Es ist bekannt, dass gesunde Haut der Penetration von Fremdstoffen im Allgemeinen einen höheren Widerstand entgegensetzt als erkrankte. Deswegen sind Studien auch an geschädigter Haut notwendig, um abzuschätzen, ob die Risiken lokaler bzw. systemischer Nebenwirkungen bei erkrankter Haut durch partikuläre Trägersysteme wesentlich verändert werden. Dies kann, besonders zur Erprobung antiinflammatorisch wirkender Wirkstoffe, an einem Entzündungsmodell erfolgen, z.B. an mit Klebefilm gestrippter Haut. So kann die Bedeutung des SC als Penetrationsbarriere und Wirkstoffreservoir quantifiziert werden. Diese Erkenntnisse könnten dazu dienen, auch die Aufnahme von Wirkstoffen anderer Art für die

## Diskussion

topische Behandlung entzündlicher bzw. hyperproliferierender Hautkrankheiten in erster Annäherung vorherzusagen.

Im Humanversuch muss schließlich untersucht werden, ob das an exzidierten Humanhaut beobachtete Targeting von PC tatsächlich zu einer verbesserten Nutzen/Risiko-Relation führt.