

**Der Dopaminagonist Protergurid:
Transdermalapplikation in vitro
und
Aktivität an nicht-dopaminergen Monoaminrezeptoren**

**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

**Björn Christoph Schurad
aus Berlin**

September 2005

1. Gutachter: Privatdozent Dr. Ralph Lipp
2. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Roland Bodmeier

Disputation am 16. Dezember 2005

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde unter Anleitung von Herrn Privatdozenten Dr. Ralph Lipp bei der NeuroBiotec GmbH und am Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin angefertigt.

Herrn Privatdozenten Dr. Ralph Lipp danke ich sehr herzlich für die stets engagierte Betreuung meines Dissertationsvorhabens und die Diskussionsbereitschaft, welche zu wertvollen Anregungen und somit zum Gelingen dieser Arbeit beitrug. Auch bei Herrn Professor Roland Bodmeier möchte ich mich für seine Unterstützung im Rahmen dieser Dissertation ganz herzlich bedanken.

Mein ganz besonderer Dank gilt den Herren Dr. Johannes Tack und Dr. Reinhard Horowski, ihres Zeichens Gründer der Firma NeuroBiotec, für die Überlassung des interessanten und vielschichtigen Themas, das entgegengebrachte Vertrauen, die Möglichkeit, Teilergebnisse auf nationalen und internationalen Kongressen präsentieren zu können, die ständige Diskussionsbereitschaft, die exzellenten Arbeitsbedingungen und die vielen Freiräume, meine eigenen Ideen in die Arbeit einbringen zu können.

Auch Herrn Professor Heinz H. Pertz bin ich zu besonderem Dank verpflichtet. Die temporäre Aufnahme in seinen Arbeitskreis und die Einarbeitung in die pharmakologischen Untersuchungsmethoden haben es mir ermöglicht, wichtige Ergebnisse zu erzielen, welche meine Arbeit ungemein bereichert haben. Seine jederzeit freundliche Unterstützung und Diskussionsbereitschaft waren eine unschätzbare Hilfe. Frau Alkje Moritz, Herrn Tilo Görnemann und Herrn Dr. Sven Jähnichen danke ich für die freundliche und geduldige Erklärungsbereitschaft bei der Durchführung der pharmakologischen Experimente und die besondere Arbeitsatmosphäre.

Bei Herrn Dr. Adrian P. Funke möchte ich mich für seine Diskussionsbereitschaft und den Erfahrungsaustausch auf dem Gebiet der transdermalen Arzneistoffapplikation ganz herzlich bedanken.

Inhaltsverzeichnis

1	ALLGEMEINER TEIL	1
1.1	EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
1.2	HAUT	3
1.2.1	FUNKTIONEN DER HAUT	3
1.2.2	AUFBAU DER MENSCHLICHEN HAUT	3
1.2.3	HAUTMODELLE	6
1.2.4	TRANSDERMALE ABSORPTION VON ARZNEISTOFFEN	8
1.2.5	HAUTPERMEATION IN VITRO	9
1.3	TRANSDERMALE THERAPEUTISCHE SYSTEME (TTS)	12
1.3.1	EINLEITUNG	12
1.3.2	AUFBAU VON MATRIXSYSTEMEN	12
1.3.3	WIRKSTOFFFREISETZUNG AUS MATRIXSYSTEMEN	13
1.3.4	AUFBAU VON RESERVOIRSYSTEMEN	15
1.3.5	WIRKSTOFFFREISETZUNG AUS RESERVOIRSYSTEMEN	15
1.3.6	HILFSSTOFFE	16
1.3.7	ANFORDERUNGEN AN ARZNEISTOFFE ZUR TRANSDERMALEN APPLIKATION	18
1.3.8	VORTEILE UND NACHTEILE DER TRANSDERMALEN APPLIKATION	18
1.3.9	MARKTÜBERSICHT TRANSDERMALSYSTEME	20
1.4	PERMEATIONSSTEIGERUNG	21
1.4.1	EINLEITUNG	21
1.4.2	PASSIVE PERMEATIONSSTEIGERUNG	21
1.4.2.1	Arzneistoffkonzentration	21
1.4.2.2	Chemische Permeationsverstärker	22
1.4.2.3	Mikronadeln	24
1.4.2.4	Prodrug-Bildung	24
1.4.2.5	Okklusion	25
1.4.3	AKTIVE PERMEATIONSSTEIGERUNG	25
1.4.3.1	Iontophorese	25
1.4.3.2	Elektroporation	27
1.4.3.3	Sonophorese	27

1.4.3.4	Druckwellen	28
1.5	DIREKTE DOPAMINAGONISTEN UND MORBUS PARKINSON	29
1.5.1	DIREKTE DOPAMINAGONISTEN	29
1.5.2	PATHOPHYSIOLOGIE UND THERAPIE DES MORBUS PARKINSON	32
1.5.3	KONTINUIERLICHE DOPAMINERGE STIMULATION	34
2	TRANSDERMALE APPLIKATION VON PROTERGURID.....	36
2.1	EIGENSCHAFTEN VON PROTERGURID	36
2.1.1	PHYSIKO-CHEMISCHE EIGENSCHAFTEN VON PROTERGURID.....	36
2.1.2	KURZZEITSTABILITÄT	38
2.2	MATRIX-TRANSDERMALSYSTEME AUF BASIS UNTERSCHIEDLICHER HAUTHAFTKLEBER ...	39
2.2.1	HAUTPERMEATION.....	39
2.2.2	PHYSIKALISCHE STABILITÄT.....	44
2.2.3	HAUTADHÄSION UND HAUTIRRITATION IN VIVO.....	45
2.2.4	DISKUSSION	47
2.3	EINFLUSS DER ARZNEISTOFFKONZENTRATION	48
2.4	FREISETZUNG VON PROTERGURID AUS GELVA [®] -MATRIZES.....	53
2.5	CHEMISCHE PERMEATIONSSTEIGERUNG BEI MATRIXSYSTEMEN	56
2.5.1	MAXIMALER TRANSDERMALER FLUSS.....	56
2.5.2	N-ALKYLPYRROLIDONE ALS PERMEATIONSVERSTÄRKER.....	58
2.5.3	HAUTIRRITATION DER N-ALKYLPYRROLIDONE	61
2.5.4	PERMEATIONSVERSTÄRKER MIT EINER C ₁₂ -SEITENKETTE.....	64
2.5.5	KOMBINATION VON CHEMISCHEN PERMEATIONSVERSTÄRKERN.....	70
2.5.6	VARIATION DER KONZENTRATION VON N-DODECYLPYRROLIDON IM VEHIKEL	73
2.5.6.1	Einfluss auf den transdermalen Fluss von Protergurid	73
2.5.6.2	Permeation von N-Dodecylpyrrolidon in vitro	77
2.5.7	VARIATION DER KONZENTRATION VON AZONE [®] IM VEHIKEL	79
2.5.7.1	Einfluss auf das Freisetzungverhalten in vitro	79
2.5.7.2	Einfluss auf den transdermalen Fluss von Protergurid	81
2.5.7.3	Permeation von Azone [®] in vitro	82
2.5.7.4	Hautirritation von Azone [®]	85
2.5.7.5	Diskussion.....	86

2.6	RESERVOIRSYSTEME AUF BASIS UNTERSCHIEDLICHER KONTROLLMEMBRANEN	88
2.6.1	MEMBRANDIFFUSION	88
2.6.2	PERMEATION DURCH DIE EXZIDIERTE HAUT DER HAARLOSEN MAUS	90
2.7	OPTIMIERUNG VON SOLUPOR [®] -RESERVOIRSYSTEMEN.....	93
2.7.1	MEMBRANDIFFUSION	93
2.7.2	HAUTPERMEATION VON PROTERGURID AUS FLÜSSIGFORMULIERUNGEN UND RESERVOIRSYSTEMEN AUF BASIS UNTERSCHIEDLICHER LÖSUNGSMITTEL.....	95
2.7.3	EINFLUSS DER ARZNEISTOFFKONZENTRATION.....	98
2.7.4	EINFLUSS VON N-DODECYLPYRROLIDON	101
2.8	BEWERTUNG DES PERMEATIONSVERHALTENS UND AUSBLICK.....	105
3	AKTIVITÄT VON PROTERGURID AN NICHT-DOPAMINERGEN MONOAMINREZEPTOREN	107
3.1	EINLEITUNG	107
3.2	AKTIVITÄT VON PROTERGURID AN α_1 -ADRENOZEPTOREN	109
3.2.1	α_1 -ADRENOZEPTOREN.....	109
3.2.2	AKTIVITÄT VON PROTERGURID AN $\alpha_{1A/B/D}$ -ADRENOZEPTOREN.....	109
3.2.2.1	Aktivität von Protergurid an α_{1A} -Adrenozeptoren.....	109
3.2.2.2	Aktivität von Protergurid an α_{1B} -Adrenozeptoren	110
3.2.2.3	Aktivität von Protergurid an α_{1D} -Adrenozeptoren.....	112
3.2.2.4	Diskussion.....	112
3.3	AKTIVITÄT VON PROTERGURID AM HISTAMIN H ₁ -REZEPTOR	113
3.4	AKTIVITÄT VON PROTERGURID AN 5-HT _{2A/2B} -REZEPTOREN	115
3.4.1	AKTIVITÄT VON PROTERGURID AN 5-HT _{2A} -REZEPTOREN.....	115
3.4.2	AKTIVITÄT VON PROTERGURID AN 5-HT _{2B} -REZEPTOREN.....	118
3.5	ZUSAMMENFASSUNG DER PHARMAKOLOGISCHEN ERGEBNISSE	123
4	ZUSAMMENFASSUNG	124
4.1	ZUSAMMENFASSUNG (DEUTSCH).....	124
4.2	SUMMARY (ENGLISCH).....	127

5	MATERIALIEN UND METHODEN	130
5.1	MATERIALIEN	130
5.1.1	MATERIALIEN AD KAPITEL 2: TRANSDERMALE APPLIKATION VON PROTERGURID	130
5.1.1.1	Wirkstoff	130
5.1.1.2	Hauthaftkleber	130
5.1.1.3	Hilfsstoffe und chemische Permeationsverstärker	131
5.1.1.4	Folien und Membranen	134
5.1.1.5	Lösungsmittel, Lösungsvermittler und Puffersubstanzen	135
5.1.1.6	Exzidierte Haut der haarlosen Maus	137
5.1.2	MATERIALIEN AD KAPITEL 3: AKTIVITÄT VON PROTERGURID AN NICHT-DOPAMINERGEN MONOAMINREZEPTOREN.....	137
5.1.2.1	Wirkstoff	137
5.1.2.2	Substanzen zur Herstellung von Nähr- und Pufferlösungen	137
5.1.2.3	Weitere Substanzen	138
5.1.2.4	Tiere	139
5.2	METHODEN	139
5.2.1	METHODEN AD KAPITEL 2: TRANSDERMALE APPLIKATION VON PROTERGURID.....	139
5.2.1.1	Herstellung von Matrix-Transdermalsystemen.....	139
5.2.1.2	Herstellung von Reservoir-Transdermalsystemen	141
5.2.1.3	Gleichförmigkeit des Matrixgewichtes	143
5.2.1.4	Gleichförmigkeit des Gehaltes bei Matrix-Transdermalsystemen.....	144
5.2.1.5	Polarisationsmikroskopische Untersuchungen.....	145
5.2.1.6	Beurteilung der Klebeeigenschaften und der Hautverträglichkeit in vivo.....	145
5.2.1.7	pH-Messungen	146
5.2.1.8	In vitro Dissolutionstest (disk assembly method).....	146
5.2.1.9	In vitro Permeationsstudien mit exzidierte Haut der haarlosen Maus und Diffusionsstudien durch synthetische Membranen.....	147
5.2.1.10	Bestimmung des Hautirritationspotentials mittels EpiDerm [®] -Modell.....	149
5.2.1.11	Bestimmung von Löslichkeit und pK _s -Wert	151
5.2.1.12	Bestimmung des Schmelzpunktes	153
5.2.1.13	HPLC-Systeme und -Methoden	153
5.2.1.14	Statistische Auswertung und Datenpräsentation	156

5.2.2	METHODEN AD KAPITEL 3: AKTIVITÄT VON PROTERGURID AN NICHT-DOPAMINERGEN MONOAMINREZEPTOREN.....	157
5.2.2.1	Allgemeine Versuchsdurchführung	157
5.2.2.2	α_{1A} -Adrenozeptor (Rattenschwanzarterie).....	158
5.2.2.4	α_{1B} -Adrenozeptor (Meerschweinchenmilz)	159
5.2.2.5	α_{1D} -Adrenozeptor (Rattenaorta).....	160
5.2.2.6	Histamin H_1 -Rezeptor (Meerschweinchenileum)	160
5.2.2.7	5-HT _{2A} -Rezeptor (Rattenschwanzarterie).....	161
5.2.2.8	5-HT _{2A} -Rezeptor (Schweinekoronararterie)	161
5.2.2.9	5-HT _{2B} -Rezeptor (Schweinepulmonalararterie).....	162
5.2.2.10	Pharmakologische Parameter	163
5.2.2.11	Statistische Auswertung und Datenpräsentation	165
6	LITERATURVERZEICHNIS	167
7	PUBLIKATIONEN.....	184
7.1	JOURNALARTIKEL	184
7.2	KONGRESSBEITRÄGE: POSTER UND ABSTRACTS	185
8	ANHANG.....	186
8.1	LEBENS LAUF	186
8.2	ERKLÄRUNG ZUR EIGENSTÄNDIGEN ANFERTIGUNG DER DISSERTATION	187