

Abstracts

Wissenschaftliches Hauptprogramm (Teil 1)



Gesellschaft für Dermopharmazie

Vorsitzende der Vortragsreihe „Dermopharmazeutische
Technologie und Biopharmazie“:

Prof. Dr. Christel Müller-Goymann, Braunschweig

Prof. Dr. Rainer Müller, Berlin

Vorsitzende der Vortragsreihe „Dermatopharmakologie“:

Prof. Dr. Hans F. Merk, Aachen

Prof. Dr. Horst Spielmann, Berlin

Wissenschaftliches Hauptprogramm, Teil 1:
Vortragsreihe „Dermopharmazeutische Technologie und Biopharmazie“

Innovative Trägersysteme für die dermale Arzneistoffapplikation – Stand und Perspektiven

*Prof. Dr. Katharina Landfester,
Max-Planck-Institut für Polymerforschung, Mainz*

Ziel ist es, mit Hilfe von innovativen Nanopartikeln eine gezielte Aufnahme in Zellen mit anschließender Freigabe von Wirkstoffen für eine Anwendung in der dermalen Arzneistoffstoffapplikation zu erreichen. Die komplexen Nanopartikel und Nanokapseln mit einer Größe von 30 und 500 nm mit einer jeweils engen Verteilung werden über den sogenannten Miniemulsionsprozess hergestellt. Als Polymere können zum Beispiel Polyacrylate (auch Polybutylcyanoacrylat), Polymethylacrylate (auch PMMA), Polyisopren, Polystyrole, Polyester, Epoxidharze, Polyurethane und Polylactide eingesetzt werden. Es können die Vorteile der Syntheseroute ausgenutzt werden, um eine unabhängige Variation von Partikelgröße, Art und Menge der inneren Phase sowie der für biologische Erkennungsprozesse relevanten Partikeloberfläche zu erreichen. Die Unterdrückung der unspezifischen Wechselwirkungen wird mit Hilfe einer Polyethylenglykol(PEG)-Funktionalisierung (PEGylierung) oder über Hydroxyethylstärke(HES)-Funktionalisierung (HESylierung) der Nanopartikeloberflächen erreicht. Die Partikel und Kapseln können eingesetzt werden, um aufgrund der Funktionalisierung sehr gewebespezifisch angebunden zu werden. Hierbei wird zunächst eine Vorfunktionalisierung der Partikel durch Carboxylgruppen, Aminogruppen, Epoxidgruppen etc., deren Gruppendichte auf der Oberfläche der Partikel frei einstellbar ist, vorgenommen. Die Funktionalisierung kann dann mit zum Beispiel Rezeptor-spezifischen Antikörpern erfolgen. Zusätzlich können die Kapseln einen pharmakologischen Wirkstoff oder eine therapeutisch relevante Substanz enthalten. Dabei können sowohl hydrophobe als auch hydrophile Wirkstoffe wie Chemotherapeutika, DNA, RNA und Peptide in Nanokapseln eingebracht werden. Außerdem können die verkapselten Substanzen entweder langsam (und punktuell) durch Diffusionsprozesse freigesetzt werden oder definiert schnell (zum Beispiel für systemische Anwendungen) durch eine gezielte Kapselöffnung, die pH-, Licht-, Temperatur- oder Enzym-induziert sein kann. Hierbei werden in die Schalen „Schalter“-Moleküle eingebaut, die auf den gewünschten Stimulus reagieren. So kann es gelingen, gezielt Substanzen in Zellen hineinzubringen und dort freizusetzen.



Wissenschaftliches Hauptprogramm, Teil 1
Vortragsreihe „Dermopharmazeutische Technologie und Biopharmazie“

Wirkstoffgleiche topische Immunmodulatorpräparate: Gleiche Dosen – Unterschiedliche Grundlagen – Gleiche Effekte?

Prof. Dr. Peter Langguth

unter Mitarbeit von K. Gogoll, P. Stein, H.J. Schild, M. Radsak,

Institut für Pharmazie und Biochemie, Pharm. Technologie und Biopharmazie, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz

Für die Behandlung von humanen Papillomaviren (HPV) induzierten Feigwarzen, kleinen superfiziellen Basalzellkarzinomen (sBCC) sowie einzelnen Formen der aktinischen Keratose (AK) steht seit 1998 das Präparat Aldara™ 5 % Creme zur Verfügung. Der enthaltene Wirkstoff Imiquimod aktiviert Immunzellen über den Toll-like Rezeptor 7 (TLR7)-MyD88-abhängigen Signalweg und bewirkt somit eine Verstärkung der Immunantwort (1).

Bei Aldara™ 5 % Creme handelt es sich um eine Zubereitung vom Typ Öl-in-Wasser. Außer der in Deutschland zugelassenen Aldara™ 5 % Creme gibt es in Russland, der Volksrepublik China sowie einigen Ländern Südamerikas noch weitere halb feste Imiquimod-haltige Präparate mit ähnlichem Wirkstoffgehalt von 4,6 – 5,3 % (2).

Wir haben fünf dieser Präparate, darunter vier aus dem chinesischen Raum, im Hinblick auf ihre Äquivalenz zum Originalpräparat untersucht (3).

Es wurden die rheologischen Eigenschaften der Präparate mittels Viskosimetrie sowie die Wirkstoffpermeation durch Hautsegmente von Mäusen im In-vitro-Franz-Zell-Diffusionsmodell ermittelt.

Die In-vivo-Effektivität wurde anhand eines Mausmodells untersucht. Dabei wurden unspezifische Entzündungsreaktionen wie auch spezifische Immunreaktionen (CD8+T-Zellen) gemessen. Bei mikroskopischer Betrachtung wurde deutlich, dass die Präparate bezüglich des Aufbaus Unterschiede aufweisen. Bei zwei der getesteten Zubereitungen handelte es sich um Suspensionsalben, bei denen der Wirkstoff nicht in der Grundlage gelöst vorliegt. Die drei weiteren Imiquimod Cremes, einschließlich des Originalpräparates Aldara™ 5 % Creme, enthielten den Wirkstoff in gelöster Form.

Die Messung des Fließverhaltens ergab bis zu sechsfache Unterschiede (Grafik 1) zwischen den einzelnen Präparaten. Dies ist insofern von Bedeutung, da die Viskosität der Grundlage einen Einfluss auf die Freigabe des Wirkstoffes ausübt.



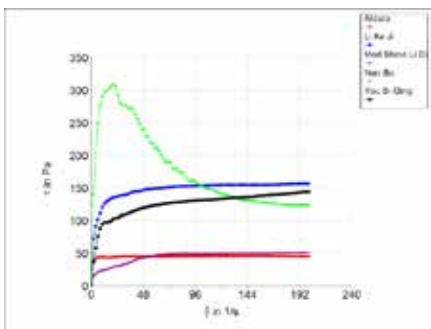
Betrachtet man die Wirkstoffpermeation der Präparate, zeigten sich auch hier Unterschiede. Die Zubereitungen mit gelöstem Wirkstoff wiesen im Vergleich zu den Suspensionssalben allesamt eine höhere Permeation auf.

Aldara™ 5 % Creme erreichte, bedingt durch galenische Maßnahmen wie die Verwendung großer Mengen an Penetrationsbeschleunigern, höhere Werte bei der Hautpermeation als die übrigen Formulierungen (Grafik 2).

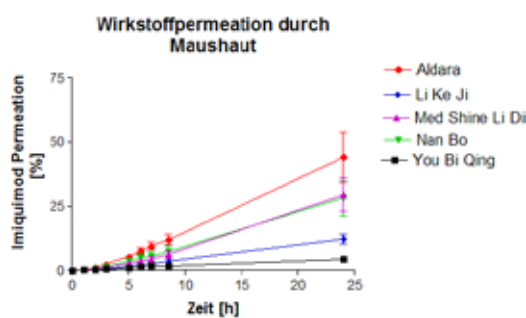
Bestätigt wurde dies auch anhand der durchgeführten In-vivo-Versuche, bei denen nach Ex-vivo-Stimulation die Bildung von Interferon- γ gemessen wurde. Aldara™ 5 % Creme erzielte hier ebenfalls den höchsten Wert (Grafik 3).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich die von uns getesteten Produkte mit Imiquimod unterschiedlich verhalten. Eine Austauschbarkeit auf der Basis des äquivalenten Wirkstoffes in gleicher Dosierung ist damit nicht gegeben.

Diese Erkenntnis verwundert insofern nicht, da die Präparate per se sehr heterogen aufgebaut sind und insbesondere bei Dermatika der Verwendung von Hilfsstoffen und der galenischen Form eine besondere Gewichtung zukommt.

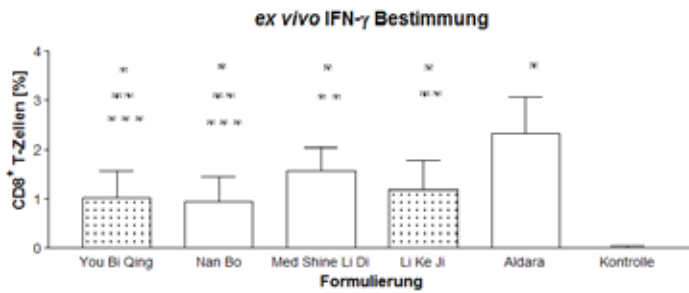


Grafik 1: Darstellung von Schubspannung τ gegen Schergefälle γ zur Beschreibung der halbfesten Charakteristik.



Grafik 2: Permeation des Wirkstoffes Imiquimod durch Hautstücke in einem Franz-Diffusions-Zell Modell über einen Zeitraum von 24 Stunden (n=4)





Grafik 3:

prozentuale Darstellung der Interferon- γ produzierenden CD8+ Zellen nach ex vivo Restimulation (n=9)

* bedeutet eine signifikant erhöhte Immunantwort gegenüber der unbehandelten Kontrollgruppe.

** bedeutet eine signifikant erhöhte Wirkung von Aldara™ 5 % Creme im Gegensatz zur entsprechend gekennzeichneten Formulierung.

***beschreibt die signifikante Überlegenheit des Effektes von „Med Shine Li Di“ im Vergleich zur entsprechend gekennzeichneten Formulierung.

$p \leq 0,05$ nach Mann-Whitney Test

Literatur

1. Hemmi, H.; Kaisho, T.; Takeuchi, O.; Sato, S.; Sanjo, H.; Hoshino, K.; Horiuchi, T.; Tomizawa, H.; Takeda, K.; Akira, S. Nat Immunol 2002, 3, (2), 196-200.
2. Harrison, L. I.; Stoesz, J. D.; Battiste, J. L.; Nelson, R. J.; Zarraga, I. E. J Dermatolog Treat 2009, 20, (3), 1-5.
3. Gogoll, K.; Stein, P.; Wei, H.; Schild, H.; Radsak, M.; Langguth, P. Biopharm Drug Dispos 2011, 33, (4), 218-28.

Innovative vehicles for transdermal drug delivery

*Eder Lilia Romero, PhD,
Nanomedicine Research Program
Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires, Argentina*

The rational design of nanostructures to be used in drug delivery depends on the organ/tissue target, the route of administration and the type of therapeutic target. In this scenario, the achieved preclinical advances and future prospective on two main platforms intended for therapeutic and prophylactic purposes will be described.

The first platform encompasses the ultradeformable liposomes (UDL) and ultradeformable archaeosomes (UDA). The UDL are unilamellar vesicles of nearly 100 nm hydrodynamic diameters made of raw phospholipids plus a given proportion of surfactants (edge activators) such as sodium cholate, Tween 80, Spans. The UDA are made of phospholipids, edge activators and a given proportion of polar lipids extracted from hyperhalophile archaeobacteria. Remarkably, the Young's module of ultradeformable vesicles is nearly 10 folds lower than that of a conventional vesicle, independently of its gel/liquid crystalline phase. Another main feature of UDL/UDA is that when applied in non occlusive conditions on the skin surface, their lipid matrix can penetrate the intact stratum corneum (SC) in the absence of conventional permeation enhancers. The penetration of UDL/UDA would not depend on diffusion (and therefore of a concentration gradient), but on the hydration gradient existing between the surface of the SC and the underlying viable epidermis. This enables the material accumulation in the deep epidermis, applying low material/application area doses and without disrupting the lipids of the intact SC. In our Nanomedicine Research Program (NRP) we have developed nanostructures made of sunlight-excitabile hydrophobic Zn phtalocyanin loaded in LUD / AUD. The anti-muco-cutaneous leishmaniasis -an endemic disease from South America- caused by the protozoan *Leishmania braziliensis/amazonensis*, was tested both in vitro and in vivo on infected Balb-c mice. We also loaded antigen models in AUD and their adjuvant activity was tested after topical non occlusive application on Balb-c mice. In the first case, a significant reduction of the skin ulcer diameters was achieved after a short dose/short treatment. In the second case, a significant humoral and cellular systemic immune reaction was raised in the absence of visible inflammation.

The second platform are the polymeric core-shell tecto-dendrimers (TD), 87-90.000 Daltons, 12 nm hydrodynamic diameter nanoparticles prepared by the introduction of covalent linkages between a generation (G) 5 polyamidoamine (PAMAM) core dendrimer and a shell of G2,5 PAMAM anionic dendrimers. The main advantage of TD is that its chemical synthesis is far simpler than that of a conventional dendrimer of similar molecular weight and size. Ongoing research at the NRP has shown that in spite of the similar rate of uptake, the structural differences between TD and its closest dendrimer counterpart (G6,5 PAMAM) are important



enough to induce their selective uptake and further intracellular processing by target cells. On such bases, we have reported the in vitro anti-melanoma activity of TD G5G2,5. We have also designed protocols in order to load the anti-folate methotrexate (MTX) and the nitrogenated bisphosphonate zoledronic acid (ZOL) to the TG structure. We found not only that void TDG5G2,5 had selective cytotoxicity against SK-Mel 28 cells but also that such toxicity was increased for TDG5G2,5-MTX at non toxic concentrations for HaCat keratinocytes. The resulting TDG5G2,5-ZOL, on the other hand, were cytotoxic both on SK-Mel 28 and on HaCat cells. Deeper collaborative research is required to gain insights on the translational feasibility of these two nanomedical platforms as anti-infective/anti-tumoral agents.



Wissenschaftliches Hauptprogramm, Teil 1:
Vortragsreihe „Dermatopharmakologie“

Menschliche Hautmodelle für Hautinfektionen und entzündete Haut

*Prof. Dr. Günther Weindl,
Institut für Pharmazie, Freie Universität Berlin*

In-vitro-Hautmodelle auf der Basis von rekonstruierter Epidermis beziehungsweise Vollhaut gewinnen für pharmakologische und toxikologische Untersuchungen zunehmend an Bedeutung. Die besonders gut etablierten Techniken bei rekonstruierter humaner Epidermis haben dazu geführt, dass im Bereich der Korrosion, Irritation und Phototoxizität validierte Methoden in Richtlinien eingegangen sind, die einen vollständigen Verzicht in diesem Bereich an Tierversuchen erlauben. Neuere Entwicklungen zielen auf die Rekonstruktion komplexerer Modelle und somit auf die Generierung von Hautmodellen für die dermatologische Grundlagenforschung bei gleichzeitiger Einsparung von Tierversuchen.

Die Entwicklung von Modellen ist insbesondere für infektiöse und entzündliche Hauterkrankungen weit fortgeschritten. Epidermale und epitheliale Infektionsmodelle für lokalisierte Kandidosen sind ein frühes Beispiel und eignen sich für die Testung topischer Antiinfektiva, der Charakterisierung fungaler Virulenzfaktoren und der Untersuchung der Immunantwort bei Candida-Infektionen. Die Integration von infektionsrelevanten Immunzellen (zum Beispiel polymorphkernige Leukozyten) in die Modelle ermöglicht eine Annäherung an die In-vivo-Verhältnisse und eine gezielte Charakterisierung des Infektionsverlaufs und der Wechselwirkung zwischen Epithelzellen und Immunzellen.

Rekonstruierte Vollhautmodelle eröffnen neue Optionen für die Nachstellung des Hautzustands bei Entzündungsprozessen und die Prüfung antiinflammatorischer Wirkstoffe. Eine Behandlung mit Entzündungsmediatoren (zum Beispiel TNF-alpha) induziert in den Modellen typische Entzündungsprozesse, die durch topische Glucocorticoide unterdrückt werden. Darüber hinaus können wichtige Parameter zur Beurteilung einer Glucocorticoid-induzierten Hautatrophie – wie die Anzahl der epidermalen Schichten und die Beeinflussung der Kollagensynthese – bestimmt werden.

Die Entwicklung immunkompetenter Hautmodelle durch Integration von in vitro generierten epidermalen dendritischen Zellen scheint in besonderem Maße richtungsweisend für die Untersuchung immunologisch-bedingter Hauterkrankungen aber auch für die Prüfung des sensibilisierenden Potentials von Fremdstoffen.

