

Abstracts

Symposium:

*„Nanopartikel in dermalen Produkten –
Update 2015“*

**Vortragssitzung III: Charakterisierung und
Effektivität von Nanopartikeln**



**Gesellschaft für
Dermopharmazie**

Vorsitz:

Dr. Erich Leitner, Bruck/Mur (Österreich)

Prof. Dr. Ulrich Schäfer, Saarbrücken

GD Symposium: Nanopartikel in dermalen Produkten – Update 2015 Teil III:
Charakterisierung und Effektivität von Nanopartikeln

Physikalisch-chemische Charakterisierung von Nanopartikeln

Prof. Dr. Eckart Rühl

Institut für Chemie und Biochemie, Freie Universität Berlin

Nanopartikel treten in der Umwelt auf und sie werden auch in innovativen Produkten verstärkt eingesetzt. Ebenso wird zurzeit das Potential von Nanopartikeln im Hinblick auf ein effizienteres Drug Delivery erforscht.

Die Charakterisierung der intrinsischen Eigenschaften von Nanopartikeln, wie z.B. ihre Größe und chemische Zusammensetzung oder ihre Oberflächenfunktionalisierung, gelingt mit einer Vielzahl von physikalisch-chemischen Methoden. Hierzu gehören vor allem Methoden der Spektroskopie wie der Mikroskopie sowie die elastische und dynamische Lichtstreuung.

Darüber hinaus spielen Methoden der Spektromikroskopie, also die Kombination von Spektroskopie und Mikroskopie, eine bedeutende Rolle, um Nanopartikel in biologischer Umgebung nachzuweisen. Hierfür dienen zum Nachweis von Nanopartikeln in Zellen und Haut vor allem Röntgenmikroskopie, Röntgentomographie sowie Fluoreszenz-Verfahren. Innovative Verfahren der optischen Nahfeldmikroskopie und der Stimulierten Raman-Streuung stellen ebenso neuartige Wege zum Nachweis von Nanopartikeln in biologischer Materie dar.



Größenanalyse von Nanopartikeln in kommerziellen Produkten

*Prof. Dr. Claudia Valenta unter Mitarbeit von Corinna Nagelreiter,
Department für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie, Universität Wien*

Nanopartikel können nicht nur mittels chemischer Prozesse oder entsprechende Formierung von Nanopartikel sind in vielen Produkten des täglichen Lebens enthalten, so auch in Kosmetika, wie beispielsweise Titandioxid-Nanopartikel in Sonnenschutzmitteln. Seit Juli 2013 gelten EU-weit neue Bestimmungen zur Kennzeichnung von Nanopartikeln in Kosmetika. Es wird gefordert, alle Bestandteile mit dem Zusatz (nano) zu kennzeichnen, deren Partikel in mindestens einer Dimension kleiner sind als 100 nm. Da Sicherheitsbedenken bestehen, wäre es von Interesse, mit einfachen und raschen Methoden herausfinden zu können, ob in einem Kosmetikprodukt derartige Nanopartikel enthalten sind.

Bisher waren äußerst aufwendige und vor allem teure elektronenmikroskopische Analysemethoden nötig, um Nanopartikel in Formulierungen nachzuweisen und zu messen. Deshalb wurde ein Weg gesucht, mit weniger aufwendigen Methoden festzustellen, ob ein Kosmetikum Nanopartikel enthält oder nicht.

Für die vorliegenden Untersuchungen wurde der Mastersizer 3000 (Malvern) gewählt, der die Größe von Partikeln mithilfe der Laserbeugung misst. Dabei wird die Intensität des gestreuten Lichts eines Laserstrahls gemessen, während dieser eine dispergierte Partikelprobe durchdringt. Anhand dieser Daten wird dann die Größe der Partikel aus dem erzeugten Beugungsmuster berechnet. Damit ist es gelungen, durch einen einfachen Extraktionsschritt, bei dem die Emulsionsreste abgetrennt werden sollten, und anschließender Messung einen Überblick über die Größenordnung von Nanopartikeln in kommerziellen O/W-Sonnenpräparaten zu erhalten. Durch eine einfache durchzuführende Rechenoperation, in der die spezifische Oberfläche der vermessenen Probe durch die Grenzwerte der relevanten Größenklassen dividiert wurde, fand eine Normierung der Messergebnisse statt, wodurch die spezifisch stark vergrößerte Oberfläche der Nanopartikel mit einberechnet wurde. Somit war es möglich, die Ergebnisse noch zu verfeinern und es konnten erste, zuverlässige Hinweise erhalten werden, ob in einer O/W-Zubereitung Nanopartikel von einer Größe kleiner als 100 nm enthalten sind oder nicht.

Darüber hinaus konnte in einer weiteren Versuchsreihe diese Methode auch auf W/O- Emulsionen ausgeweitet werden. Für diese lipophilen Zubereitungen wurde eine andere Probenaufbereitung gewählt. Auch in dieser Versuchsreihe ist es gelungen festzustellen, ob Nanopartikel unter 100 nm enthalten sind oder nicht.

Literatur

C. Nagelreiter, C. Valenta, Size analysis of nanoparticles in commercial O/W sunscreens, *Int.J.Pharm* 456, 517-519 (2013).

C. Nagelreiter, H. Kotisch, T. Heuser, C. Valenta, Size analysis of nanoparticles extracted from W/O emulsions, *Int.J. Pharm.* in press *Journal of Dermatology*, 14(5), 332-338.



In-vitro- und Ex-vivo-Untersuchungen zur Effektivität von Nanopartikeln

Priv.-Doz. Dr. Martina Meinke,

Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Charité Universitätsmedizin, Berlin

Nanopartikel können die Penetration von Wirkstoffen in die Haut verstärken, sie schützen oder eine Depotfunktion übernehmen. Oft stellt sich die Frage, wo die Wirkstoffe im NP lokalisiert sind und wann und wie schnell die Abgabe erfolgt. Hier kann die Elektronen-Spin-Resonanz-Spektroskopie angewendet werden, um diese wesentlichen Informationen zu gewinnen. Werden die Wirkstoffe mit Spinsonden markiert, kann deren Mikroumgebung erfasst werden und damit Rückschlüsse auf die Lokalisation des Wirkstoffe im Carrier als auch dessen Abgabe an die Umgebung verfolgt werden [1]. Hierbei werden u.a. die Polarisation der Umgebung und die Mobilität der Sonde erfasst. Für diese Untersuchungen stehen verschiedene ESR-Geräte mit unterschiedlichen Frequenzbändern zur Verfügung. Bei hohen Frequenzen können die Wirkstoffe im Carrier untersucht und deren magnetische Konstanten ermittelt werden. Diese ermöglichen Simulation der bei niedrigen Frequenzen in Haut gewonnenen Spektren, um die Interpretation der Spektren zu unterstützen. Mit Zuhilfenahme des Abrissverfahrens kann die Verteilung des markierten Wirkstoffes im Stratum Corneum bestimmt werden [12].

[1] S. F. Haag, M. Chen, B. Taskoparan, A. Fahr, R. Bittl, C. Teutloff, R. Wenzel, J. Lademann, M. Schäfer-Korting, M. C. Meinke, Stabilisation of reactive nitroxides using Invasomes to allow prolonged Electron Paramagnetic Resonance measurements, *Skin Pharmacol Physiol* 24(6):312-21. (2011)

[2] S. F. Haag, E. Fleige, M. Chen, A. Fahr, R. Bittl, C. Teutloff, J. Lademann, M. Schäfer-Korting, R. Haag, M. C. Meinke, Skin penetration enhancement of core-multishell nanotransporters and invasomes measured by electron paramagnetic resonance spectroscopy, *Int J Pharm.* 416(1):223-8 (2011)



GD Symposium: Nanopartikel in dermalen Produkten – Update 2015 Teil III:
Charakterisierung und Effektivität von Nanopartikeln

Getriggerte Freisetzung von Wirkstoffen aus Nanopartikeln

Prof. Dr. Dr.-Ing. Jürgen Lademann unter Mitarbeit von Heike Richter, Alexa Patzelt, Fanny Knorr, Martina C. Meinke.

Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Charité Universitätsmedizin Berlin

In der Vergangenheit konnte gezeigt werden, dass Nanopartikel in der Lage sind, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Ausgehend von diesen Ergebnissen gab es in den folgenden Jahren sowohl im universitären als auch im industriellen Bereich intensive Untersuchungen, Nanopartikel für die Wirkstoffzufuhr durch die Hautbarriere zu nutzen. Obwohl in den letzten 20 Jahren sehr intensiv auf diesem Gebiet geforscht wurde und erhebliche finanzielle Ressourcen zur Realisierung dieser Aufgabe eingesetzt wurden, gibt es heute weltweit kein einziges Produkt, welches auf der Basis von Nanopartikeln für die Stimulation der Penetration von topisch applizierten Substanzen basiert. Dennoch spielen Nanopartikel für die Wirkstoffzufuhr durch die Hautbarriere eine wichtige Rolle, wie das in diesem Beitrag dargestellt werden soll [1].

Generell wird bei der Penetration topisch applizierter Substanzen zwischen der interzellulären und folliculären Penetration unterschieden. Gelangen Nanopartikel mit einem Durchmesser ≥ 30 nm auf die menschliche Haut, so durchdringen sie diese nicht. Sie lagern sich ab und werden durch Waschen, Textilkontakt und Abschilferung einer Zellschicht von Korneozyten pro Tag wieder von der Hautoberfläche entfernt. Gelangen Nanopartikel in die Haarfollikel, so können sie hier über einen Zeitraum von 10 Tagen gespeichert werden. Mit dem Haarwachstum werden sie dann wieder an die Hautoberfläche transportiert. Ein Durchdringen der gesunden Barriere auch des Haarfollikels konnte bisher nicht beobachtet werden.

Auf der anderen Seite konnte jedoch gezeigt werden, dass Nanopartikel wesentlich besser in die Haarfollikel penetrieren als nichtpartikuläre Substanzen. In Abhängigkeit von ihrer Größe können sie unterschiedliche Zielstrukturen im Haarfollikel erreichen. Zu diesen Zielstrukturen gehören das Blutgefäßsystem, welches die Haarfollikel umgibt, aber auch die Langerhans- und die dendritischen Zellen. Wirkstoffzufuhr, Immunmodulation und regenerative Medizin erfordern eine Penetration in jeweils unterschiedliche Tiefen des Haarfollikels.

Eine optimale Penetration wird von Partikeln eines Durchmessers von 600–800 nm erreicht. Dies entspricht genau der Schichtdicke der Cuticula des menschlichen Haares, unabhängig davon, ob es sich um ein Vellus- oder ein Terminalhaar handelt. Das bewegte Haar wirkt ähnlich einer Zahnradschraube und transportiert diese Partikel effektiv in die Haarfollikel. Um einen optimalen Wirkstofftransport in den Bereich der lebenden zellulären Strukturen zu gewährleisten, werden die Nanopartikel als Transportsysteme genutzt und mit Wirkstoffen beladen. Die Nanopartikel penetrieren bis zu den entsprechenden Zielstrukturen. Hier müssen die Wirkstoffe freigesetzt werden. Im Rahmen eines Sonderforschungsbereichs der DFG werden gegenwärtig Strategien zur getriggerten Freisetzung von Wirkstoffen von Nanopartikeln untersucht [2,3].



Erste Untersuchungen, die im Bereich Hautphysiologie der Charité durchgeführt wurden, basierten auf einem Zweikomponentensystem, welches einerseits die auf den Nanopartikeln gebundenen Wirkstoffe enthielt und andererseits ein Triggersystem, das die Nanopartikel auflöste. Wurden beide Komponenten in partikulärer Form appliziert, so konnten gute Ergebnisse erzielt werden.

Da jedoch Zweikomponentensysteme für den praktischen Einsatz ungeeignet sind, wurden in einer zweiten Phase die Nanopartikel mit einer dünnen Goldschicht versehen und nach der Penetration mit Infrarotlicht bestrahlt. Hierbei kam es zu einer geringfügigen Temperaturerhöhung, die zur Auflösung der Nanopartikel führte. Dadurch wurde der Wirkstoff freigesetzt. Wünschenswert wäre es natürlich, wenn man ein Einkomponentensystem auf die Haut auftragen könnte, welches durch ein Triggersignal der menschlichen Haut zu einer Freisetzung der Wirkstoffe von den Nanopartikeln kommt. Eine solche körpereigene Größe, die diesen Prozess stimulieren könnte, ist der pH-Wert des Haarfollikels, welcher sich von der Hautoberfläche bis zur Haarwurzel ändert. Erste Untersuchungen hierzu werden gewärtig durchgeführt.

[1] W. C. Mak, A. Patzelt, H. Richter, R. Renneberg, K. K. Lei, E. Rühl, W. Sterry, J. Lademann
Triggering of drug release of particles in hair follicles
J Contr Release 160 (2012) 509-514

[2] J. Lademann, H. Richter, M. C. Meinke, B. Lange-Asschenfeldt, C. Antoniou, W. C. Mak, R. Renneberg, W. Sterry, A. Patzelt
Drug delivery with topically applied nanoparticles: Science fiction or reality?
Skin PharmacolPhysiol 2013;26:227-233

[3] W. C. Mak, H. Richter, A. Patzelt, W. Sterry, W. Sterry, K. K. Lei, R. Renneberg, J. Lademann
Drug delivery into the skin by degradable particles
Eur J Pharm Biopharm 79 (2011), 23-27

