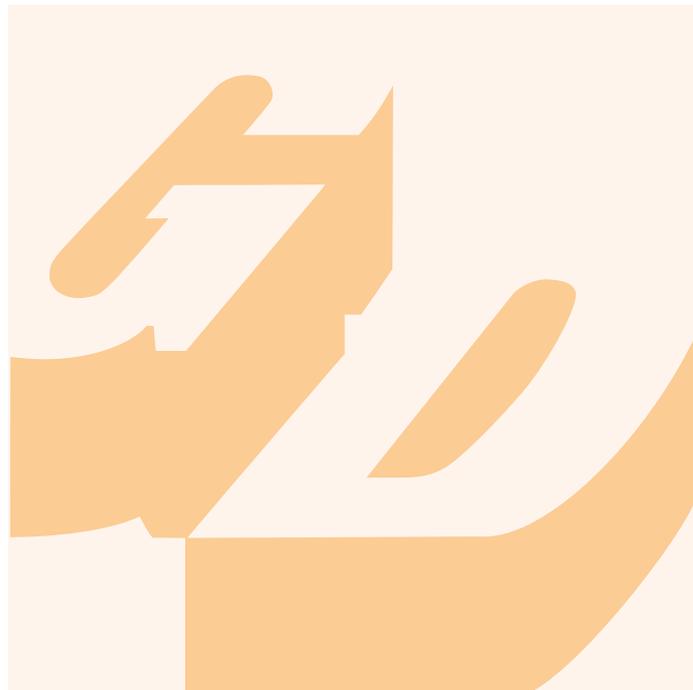


Vortragsszusammenfassungen

Symposium der GD-Fachgruppe
Dermatopharmakologie und -toxikologie



**Nanopartikel – Risiken bei Hautkontakt,
Nutzen in der Dermatologie?**

Symposium der GD-Fachgruppe Dermatopharmakologie und -toxikologie:
Nanopartikel – Risiken bei Hautkontakt, Nutzen in der Dermatotherapie?

Nanopartikel als Trägersysteme für topisch applizierte Substanzen – Perspektiven und Risiken

*Prof. Dr. Dr.-Ing. Jürgen Lademann
unter Mitarbeit von H. Richter, W. Sterry und A. Patzelt,
Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie,
Charité Universitätsmedizin, Campus Mitte, Berlin*

Die Anforderungen an Nanopartikel in den Bereichen Kosmetik und Medizin sind meist sehr unterschiedlich. Auf der einen Seite sollen Nanopartikel wie zum Beispiel TiO₂ und ZnO, welche in Sonnenschutzmitteln eine breite Anwendung finden, auf der Hautoberfläche beziehungsweise in den oberen Zellschichten des Stratum corneum lokalisiert sein, während im Bereich der Wirkstoffzufuhr Nanopartikel die Hautbarriere durchdringen sollen, um die Zielstrukturen im Bereich der lebenden Zellen zu erreichen.

An der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité Universitätsmedizin Berlin werden verschiedene Methoden eingesetzt, um die Penetration und Speicherung von Nanopartikeln in der Haut zu untersuchen. Dabei stehen speziell die Haarfollikel im Mittelpunkt des Interesses. Die menschlichen Haarfollikel stellen ideale Zielstrukturen für eine Wirkstoffzufuhr dar. Sie sind von einem dichten Netz von Blutgefäßen umgeben und weisen eine hohe Konzentration von Stammzellen und dendritischen Zellen auf.

Untersuchungen an Nanopartikeln mit verschiedenen Abmessungen, welche aus unterschiedlichen Materialien bestanden, zeigten, dass Partikel mit einem Durchmesser von ca. 600 nm besonders effektiv in die Haarfollikel eindringen und dort über einen Zeitraum bis zu 10 Tagen gespeichert werden können. Damit ist die Verweilzeit im Haarfollikel um fast eine Größenordnung länger als im Stratum corneum. Der Grund für die besonders effektive Penetration der Partikel mit einem Durchmesser von ca. 600 nm liegt in der Oberflächenstruktur der Haut. Die Haarschuppen haben eine mittlere Stärke von ca. 600 nm und bilden auf der Haaroberfläche eine „Zick-Zack-Struktur“ aus. Das bewegte Haar wirkt dadurch offensichtlich wie eine Art Zahnradschnecke und stimuliert den Transportprozess.

Bei keiner der Untersuchungen konnte jedoch im Falle einer intakten Barriere eine Penetration von Partikeln mit einem Durchmesser von 40 nm bis 1 µm aus dem Haarfollikel heraus in das lebende Gewebe beobachtet werden. Das ist verständlich, da auch der Haarfollikel über eine eigene Barrierestruktur verfügt. Nur im Falle einer künstlichen Barrierschädigung konnte ein Eindringen von Nanopartikeln mit einem Durchmesser von 40 nm in lebende Gewebestrukturen beobachtet werden. Damit kann für die untersuchten Partikelsysteme eine Penetration durch die



intakte Hautbarriere ausgeschlossen werden. Nanopartikel sind aber auf der anderen Seite sehr gut geeignet, um Wirkstoffe in die Haarfollikel zu transportieren, wo diese dann freigesetzt werden müssen.

Generell muss festgestellt werden, dass eine toxikologische Bewertung von Nanopartikeln in erster Linie in Bezug auf ihre chemische Zusammensetzung erfolgen muss. Erst in zweiter Linie muss geklärt werden, ob die spezielle Struktur der Systeme zu neuen Eigenschaften führt, die eine Gefährdung darstellen können.



Symposium der GD-Fachgruppe Dermatopharmakologie und -toxikologie:
Nanopartikel – Risiken bei Hautkontakt, Nutzen in der Dermatotherapie?

Zur Sicherheit nanopartikulärer Arznei- stoffträger für die dermale Applikation

*Prof. Dr. Monika Schäfer-Korting,
Pharmazeutisches Institut, Pharmakologie,
Freie Universität Berlin, Berlin*

Seit den 60er-Jahren des letzten Jahrhunderts werden mikro- und nanopartikuläre Arzneistoffträger erforscht, um Nutzen und Risiken einer Arzneimitteltherapie zu verbessern. Die Dermatikaforschung zielt dabei auf eine bessere Hautpenetration, allerdings sind bis heute nur einzelne trägergestützte Dermatika zugelassen worden. Außer Liposomen, deren physikalische Instabilität nicht selten eine besondere Herausforderung darstellt, haben vor allem Lipidnanopartikel (ca. 200 nm Durchmesser) und Mikropartikel (zum Beispiel microsponges, Polylactid-co-glycolid-Mikropartikel) als Trägersysteme Interesse gefunden. Der vergleichsweise große Durchmesser von Nanopartikeln für die arzneiliche Anwendung ist der Notwendigkeit einer Beladung mit dem Wirkstoff in hinreichender Menge geschuldet.

Als lokale Nebenwirkungen sind Zytotoxizität, Hautirritation, bei Fehlanwendung auch eine Augenreizung, ferner Genotoxizität und Sensibilisierung möglich. Allerdings erschweren fundamentale methodische Probleme die Sicherheitsbewertung von Nanopartikeln deutlich.

Voraussetzung für solche Schäden ist der Kontakt der Noxe mit der lebenden Haut, also das Überwinden der Hornschichtbarriere. Die therapeutisch interessanten, relativ großen Nanopartikel können nicht oder allenfalls nur in sehr kleinem Umfang interzellulär oder transzellulär die normale Hornschicht permeieren. Dies begrenzt grundsätzlich die Risiken durch den Träger; allerdings ist bislang nicht bekannt, wie sich Hautkrankheiten auf diesen Vorgang auswirken. Inter- und/oder transzellulär besser penetrieren möglicherweise sehr kleine Nanopartikel beziehungsweise solche mit hoher mechanischer Flexibilität. Größere Partikel können aber in den Haarfollikel gelangen. Zwar ist der Beitrag der transfollikulären Penetration zur Gesamtaufnahme noch offen, doch sollte dieser höher liegen als der mit 0,1 % geringe Flächenanteil von Haarfollikelöffnungen bezogen auf die Gesamtfläche unbehaarter Haut.

Am besten definiert ist die Verträglichkeit von Lipidnanopartikeln. Diese sind aus Lipiden mit GRAS (Generally Regarded As Safe) Status aufgebaut, die Zytotoxizität wird wesentlich von den zur Stabilisierung der Partikeldispersion dienenden Tensiden bestimmt, nicht ionische Tenside und Blockpolymere sind zu bevorzugen. Stärker toxisch wirken Lipidpartikel, deren Matrix langkettige Amine enthält.

Auch aus Polyethylenimin aufgebaute Nanopartikel und kationische Dendrimere wirken stärker zytotoxisch, zudem sensibilisierend. Die lokale Verträglichkeit erhöhen kann eine



Oberflächenmodifikation, zum Beispiel bei modifizierten Dendrimeren in Form sogenannter Kern-Multischale (CMS)-Nanotransporter. Die bislang unzureichende Studienlage zu den als Diagnostika interessanten Quantum Dots und zu Kohlenstoffnanoröhrchen schließt die Beurteilung der Hauttoxizität aus.



Symposium der GD-Fachgruppe Dermatopharmakologie und -toxikologie:
Nanopartikel – Risiken bei Hautkontakt, Nutzen in der Dermatotherapie?

Zur Sicherheit nanopartikulärer Arznei- stoffträger für die dermale Applikation

Prof. Dr. Claus-Michael Lehr

*unter Mitarbeit von S. Hansen und U.F. Schäfer,
Biopharmazie und Pharmazeutische Technologie,
Universität des Saarlandes, Saarbrücken*

Im pharmazeutischen sowohl als auch kosmetischen Bereich bietet sich ein großer Markt für nanotechnologische Formulierungen. Solche Formulierungen finden eine breite Akzeptanz durch Patienten wie auch Verbraucher, sei es, dass sie als besonders sicher erachtet werden, wie beispielsweise Zinkoxidnanopartikel, die als "Chemie-freie" Sonnenschutzmittel für Kinder eingesetzt werden, oder als besonders wirksam. Auf der anderen Seite haben insbesondere für technische Anwendungen hergestellte oder bei Verbrennungsprozessen anfallende Nanopartikel die Aufmerksamkeit der Toxikologen erregt. Die Haut als eine der wichtigsten Barrieren des menschlichen Körpers ist in beiden Bereichen ein wesentliches Zielorgan, insbesondere seit gezeigt werden konnte, dass Nanopartikel in die Haarfollikel einmassiert werden [Lademann et al. 2006] sowie in vorgeschädigte Haut tiefer vordringen können. Davon abgesehen können auch die Materialien, aus denen die Nanopartikel bestehen, zu einer Modulation der Barriereigenschaften der Haut führen und so das Eindringen von potentiell gefährlichen körperfremden Substanzen erleichtern.

Um das Potential nanopartikulärer Trägersysteme, bestehend aus als in der Pharmazie etablierten, biodegradierbaren Polymeren, für den Arzneistofftransport in und durch die Haut zu untersuchen, wurde das Copolymer Poly-(D,L-lactide-co-glycolide) (PLGA 50:50) als Trägermaterial eingesetzt. Als Modellarzneistoff wurde Flufenaminsäure, eine antiinflammatorisch wirksame Substanz, in die Nanopartikel inkorporiert. Unter Verwendung der „Lösungsmittel-Extraktions-Technik“ wurden Partikel im Größenbereich von 200 bis 400 nm hergestellt. Durch In-vitro-Experimente mit Franz-Diffusionszellen und dem Saarbruecker-Penetrationsmodell konnte gezeigt werden, dass, unabhängig von der Partikelgröße, der Arzneistofftransport verkapselter Flufenaminsäure in beziehungsweise durch die Haut erhöht war. Überraschenderweise konnte bei Zugabe arzneistofffreier Nanopartikel in eine Zubereitung (Hydro-Gel), die Flufenaminsäure in gelöster Form enthielt, ebenfalls eine erhöhte Arzneistoffpermeation beobachtet werden. Mit Hilfe von Multiphotonen-Mikroskopie und Permeationsexperimenten wurde als Wirkmechanismus, sowohl für gepufferte als auch für ungepufferte Präparationen, ein pH-Erniedrigung-Wert in unmittelbarer Umgebung der Partikeloberfläche als Folge von deren hydrolytischem Abbau nachgewiesen [Luengo et al. 2007; Stracke et al. 2006].

Die Ergebnisse unterstreichen das Potential polymerer, bioabbaubarer Nanopartikel als Trägersysteme für die transdermale Anwendung. Insbesondere der saure pH-Wert



im Nanometerbereich um die Partikel könnte Vorteile für die Entwicklung spezieller Formulierungen für saure Arzneistoffe bieten. Weiterhin wäre auch eine mögliche Applikation zur Wiederherstellung des physiologischen, leicht sauren pH-Wertes der Hautoberfläche im Fall pathophysiologischer Veränderungen denkbar.

Literatur

J. Luengo, B. Weiss, M. Schneider, A. Ehlers, F. Stracke, K. Koenig, K.-H. Kostka, C.-M. Lehr, and U.F. Schaefer. Influence of nanoencapsulation on human skin transport of flufenamic acid. *Skin Pharmacology and Physiology*. 19:190-197 (2006).

J. Lademann, H. Richter, A. Teichmann, N. Otberg, U. Blume-Peytavi, J. Luengo, B. Weiß, U.F. Schaefer, C.-M. Lehr, R. Wepf, and W. Sterry. Nanoparticles - An efficient carrier for drug delivery into the hair follicles. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 66:159-164 (2007).

F. Stracke, B. Weiss, C.-M. Lehr, K. König, U.F. Schaefer, and M. Schneider. Multiphoton microscopy for the investigation of dermal penetration of nanoparticle-borne drugs. *Journal of Investigative Dermatology*. 126:2224-2233 (2006).



Symposium der GD-Fachgruppe Dermatopharmakologie und -toxikologie:
Nanopartikel – Risiken bei Hautkontakt, Nutzen in der Dermatotherapie?

Die neue EU/OECD-Prüfrichtlinie zur Prüfung auf hautreizende Eigenschaften mit Hilfe von biotechnologisch hergestellten menschlichen Hautmodellen

Prof. Dr. med. Horst Spielmann^{1,2}

unter Mitarbeit von Manfred Liebsch¹

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) ¹, Berlin, und FU2, Berlin

Im Oktober 2008 hat sich eine internationale Expertenkommission der Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD) auf eine neue tierversuchsfreie Prüfmethode zur Ermittlung reizender Eigenschaften von Fremdstoffen an der Haut geeinigt. Die Methode verwendet rekonstruierte Modelle der menschlichen Haut anstelle von bisher vorgeschriebenen Kaninchen. Die Zentralstelle zur Erfassung und Bewertung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch (ZEBET) am BfR hatte sie zuvor im Auftrag der Europäischen Kommission in Ringversuchen mit internationaler Beteiligung daraufhin geprüft, ob sie den Tierversuch ersetzen kann, ohne den Arbeitsschutz und den Verbraucherschutz zu gefährden. Die Methode wird nun umgehend in die EU-Gesetzgebung einfließen und 2009 auch als OECD-Richtlinie verabschiedet. Die Methode wird in der EU dringend benötigt, damit Hersteller von chemischen Stoffen die Anforderungen der EU-Kosmetikverordnung und des neuen Gesetzes zur Chemikaliensicherheit (REACH) erfüllen können. Danach müssen sie hautreizende Eigenschaften von Stoffen ohne Tierversuche prüfen. Da für Staaten außerhalb der EU teilweise andere Regelungen gelten, war eine Richtlinie zur tierversuchsfreien Prüfung auch auf OECD-Ebene dringend erforderlich.

Chemische Stoffe müssen je nach Verwendungszweck und Menge, in der sie auf den Markt gebracht werden, auf gesundheitliche Risiken geprüft werden. In den meisten Fällen sind dazu Tierversuche vorgeschrieben, für einige Tests gibt es bereits Alternativmethoden. Da mit der neuen europäischen Chemikaliengesetzgebung REACH die Zahl der Chemikalienprüfungen in Europa drastisch zunehmen wird, ist die Anerkennung solcher Alternativmethoden dringlich. Sind diese jedoch nur in der EU anerkannt, kann das dazu führen, dass für die Vermarktung eines Stoffes auf außereuropäischen Märkten (zum Beispiel USA und Japan) zusätzlich noch herkömmliche Tests an Tieren gefordert werden. Um dies zu vermeiden, hatte die OECD für die neue Prüfmethode zur hautreizenden Wirkung ein beschleunigtes Verfahren der internationalen Konsultation mit Experten eingeleitet.

Der neue Prüfrichtlinienentwurf wird vordringlich in die EU-Gesetzgebung einfließen. Er kann voraussichtlich nach einer weiteren Expertenkonsultation im Sommer 2009 auch als OECD-



Prüfrichtlinie verabschiedet werden. Sollte die OECD-Richtlinie Änderungen enthalten, hat die EU-Kommission zugesagt, die EU-Prüfrichtlinie umgehend entsprechend anzupassen. Die erzielte Einigung bedeutet auch verfahrenstechnisch einen Durchbruch, weil sich zeigte, dass die weltweite Anerkennung von Ersatzmethoden zum Tierversuch deutlich schneller erreicht werden kann als in der Vergangenheit. Das beschleunigte Verfahren, das eine Verabschiedung der Richtlinie für die neue, tierversuchsfreie Methode auf EU- und OECD-Ebene nacheinander innerhalb kurzer Zeit ermöglicht, ist sowohl für den Tierschutz als auch für den Verbraucherschutz weltweit ein Erfolg, weil nun auch Firmen, die bisher bewusst auf Tierversuche verzichteten, eine validierte Prüfmethode für ihre Produkte zur Verfügung steht.

