

**Entwicklung und Charakterisierung  
einer halbfesten Formulierung mit den Wirkstoffen  
Nadifloxacin und Benzoylperoxid  
für Akne erkrankte Haut**

**Dissertation**

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität Tübingen  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
(Dr. rer. nat.)

vorgelegt von  
Alija Babic  
aus Rovasi (Bosnien und Herzegowina)

Tübingen  
2023

Gedruckt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Eberhard Karls Universität Tübingen.

Tag der mündlichen Qualifikation: 14.12.2023

Dekan: Prof. Dr. Thilo Stehle

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Rolf Daniels

2. Berichterstatterin: Prof. Dr. Dominique Jasmin Lunter

---

## Danksagung

Sehr herzlich möchte ich meinem Doktorvater, Herrn Professor Rolf Daniels, für die freundliche Aufnahme in seinen Arbeitskreis und die Möglichkeit, meine Doktorarbeit an seinem Lehrstuhl anfertigen zu können, danken. Danke für die wissenschaftliche Betreuung sowie die zahlreichen und hilfreichen fachlichen Diskussionen und Anregungen. Danke für Ihre stets offene Bürotür, Ihre Ehrlichkeit und die Möglichkeit, selbständig dieses „Handwerk“ zu erlernen. Danke für das Gefühl des Vertrauens, das Sie mir während meiner Ausbildungszeit am Lehrstuhl immer vermittelt haben. Das hat maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit sowie zu meiner fachlichen und persönlichen Entwicklung beigetragen!

Vielen lieben Dank an Prof. Dr. Dominique Lunter für die Erstellung des Zweitgutachtens sowie die hilfreichen Diskussionen und Anregungen im Rahmen der Doktorandenseminare.

Herrn Dr. Marcus Rudolf Goetz und der Firma Dr. Pflieger Arzneimittel GmbH, danke ich für die in der Kooperation entstandenen spannenden Fragestellung, die ich in meiner Arbeit beantworten durfte sowie für die mit der Kooperation einhergehende Drittmittelförderung.

Dem lieben Klaus möchte ich sehr herzlich danken für die Einführung in die Nutzung der Geräte, für alle wertvollen Tipps, die gemeinsam betreuten Praktika und für die fachlichen und privaten Diskussionen, die mich immer ein Stück vorwärtsgebracht haben!

Besonders möchte ich mich bei Leonie Dirscherl bedanken, die im Rahmen Ihrer Masterarbeit, eine für meine Arbeit wichtige in-vitro Methode entwickelt hat.

Ich bedanke mich sehr herzlich bei allen Kolleginnen und Kollegen, mit denen ich meine, sehr aufregende, lehrreiche und zugleich schöne Promotionszeit verbringen durfte. Danke für den fachlichen und privaten Austausch, für die Zusammenarbeit und alle gemeinsamen Freizeitaktivitäten.

Einen herzlichen Dank möchte ich der lieben Kate für das Korrekturlesen der Arbeit aussprechen. Außerdem für die zahlreichen Gespräche und Anregungen, welche einen wertvollen Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit geleistet haben!

Bei meiner großen Schwester möchte ich mich bedanken für die unermüdliche und stetige Unterstützung sowohl meines bisherigen schulischen als auch akademischen Werdeganges. Vielen herzlichen Dank dafür Bina!

Mein herzlichster Dank gilt auch meiner Mutter, meinem Bruder, meinen Freunden und meiner tollen Tübinger WG. Ohne eure Unterstützung wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen!

**"If you can't explain it simply,  
you don't understand it well enough."**

Albert Einstein

**Tagungsbeitrag**

Teile dieser Arbeit wurden bereits als Tagungsbeitrag veröffentlicht:

Alija Babic, Leonie Dirscherl, Rolf Daniels (2022):

Development of in-vitro method for investigation of interactions between semi-solid formulations and artificial sebum, 13th PBP World Meeting, Rotterdam, Netherlands

**Besondere Hinweise**

Falls nichts anderes beschrieben wird, sind die dargestellten Daten stets als Mittelwert ( $n = 3$ ) mit Standardabweichung angegeben.

Verwendete Prozentangaben bei Mischungen und Rezepturen beziehen sich, wenn nichts anderes angegeben ist, auf den Massenanteil (m/m).

Gesetzlich geprüfte Warenzeichen werden ohne besondere Kennzeichnung verwendet.

Begriffe wie Grundlage und Vehikel-Grundlage werden in dieser Arbeit synonym für den Begriff Vehikel verwendet.

Die im Kapitel 3.2.9 beschriebene in-vitro Methode zur Untersuchung der dermatobiopharmazeutischen Eigenschaften von halbfesten Zubereitungen entstand 2021 im Rahmen der Masterarbeit von Leonie Dirscherl und wird in der vorliegenden Arbeit verwendet.

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>IX</b>
<b>1 Einleitung und Zielsetzung .....</b>	<b>1</b>
<b>2 Allgemeiner Teil .....</b>	<b>3</b>
2.1 Die menschliche Haut .....	3
2.1.1 Akne erkrankte Haut.....	4
2.2 Therapieformen der Akne.....	6
2.3 Nadifloxacin und Benzoylperoxid und ihre Besonderheiten .....	8
2.4 Halbfeste Zubereitungen zur kutanen Anwendung .....	12
2.4.1 Definition .....	12
2.4.2 Salben, Cremes und Gele .....	12
2.5 Anforderungsprofil an geeignete Formulierungen für Akne erkrankte Haut.....	14
<b>3 Materialien und Methoden .....</b>	<b>16</b>
3.1 Verwendete Materialien.....	16
3.1.1 Chemikalien und Hilfsstoffe .....	16
3.1.2 Verbrauchsmaterialien.....	19
3.1.3 Geräte .....	21
3.1.4 Softwares .....	23
3.2 Verwendete Methoden .....	24
3.2.1 Herstellung der Zubereitungen .....	24
3.2.1.1 Herstellung von wirkstofffreien Vehikel-Grundlagen im Rezepturmaßstab .....	24
3.2.1.2 Herstellung von wirkstofffreien Vehikel-Grundlagen im Technikumsmaßstab .....	29
3.2.1.3 Einarbeitung von Wirkstoff in wirkstofffreien Vehikel-Grundlagen im Rezepturmaßstab .....	29
3.2.1.4 Einarbeitung von Wirkstoff in wirkstofffreien Vehikel-Grundlagen im Technikumsmaßstab .....	30
3.2.2 Bestimmung des mikro- und makroskopischen Erscheinungsbildes .....	31

---

3.2.3	Bestimmung des pH-Wertes .....	31
3.2.4	Bestimmung des Wirkstoffgehalts mittels HPLC .....	32
3.2.4.1	HPLC-Methode .....	32
3.2.4.2	Probenaufbereitung aus Formulierungen .....	34
3.2.5	Stabilitätsuntersuchung der Wirkstoffe.....	35
3.2.5.1	Untersuchung der intrinsischen chemischen Stabilität der Wirkstoffe....	35
3.2.5.2	Untersuchung der Wirkstoffstabilität unter Berücksichtigung wichtiger Vehikel-Grundlagen.....	36
3.2.5.3	Untersuchung der Wirkstoffstabilisierung von Benzoylperoxid in Vehikel- Grundlagen.....	37
3.2.6	Stabilitätsuntersuchung der Wirkstoffe in finalen Vehikel-Grundlagen .....	39
3.2.6.1	Ermittlung des geeigneten Primärpackmittels .....	40
3.2.6.2	Ermittlung der geeigneten Lagerbedingung und Laufzeit .....	40
3.2.7	Bewertungssystem der Stabilitätsuntersuchung .....	41
3.2.8	Untersuchung der rheologischen Eigenschaften mittels Rotations- und Oszillationsmessung.....	42
3.2.9	Untersuchung der dermato-biopharmazeutischen Eigenschaften mittels in- vitro Methode.....	43
3.2.9.1	Herstellung von künstlichem Sebum .....	43
3.2.9.2	Ablauf der in-vitro Methode .....	44
3.2.9.3	Quantifizierung der extrahierten Menge an künstlichem Sebum mittels HPLC.....	45
3.2.9.4	Quantifizierung der extrahierten Menge an Wirkstoff aus künstlichem Sebum.....	46
3.2.9.5	Herstellung der Kontroll- und Prüfproben zur Ermittlung der Interaktion mit Sebum .....	46
<b>4</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion .....</b>	<b>48</b>
4.1	Stabilitätsuntersuchung der Wirkstoffe .....	48
4.1.1	Untersuchung der intrinsischen chemischen Stabilität der Wirkstoffe .....	48
4.1.2	Untersuchung der Wirkstoffstabilität unter Berücksichtigung wichtiger Vehikel- Grundlagen.....	53

---

4.1.3	Untersuchung der Wirkstoffstabilisierung von Benzoylperoxid in Vehikel-Grundlagen.....	59
4.1.4	Fazit .....	71
4.2	Stabilitätsuntersuchung der Wirkstoffe in finalen Vehikel-Grundlagen .....	72
4.2.1	Ermittlung des geeigneten Primärpackmittels .....	73
4.2.2	Ermittlung der geeigneten Lagerbedingung und Laufzeit .....	78
4.2.3	Fazit .....	85
4.3	Charakterisierung der finalen Formulierung.....	86
4.3.1	Bestimmung des mikro- und makroskopischen Erscheinungsbildes .....	87
4.3.2	Bestimmung des pH-Wertes .....	88
4.3.3	Bestimmung des Wirkstoffgehalts mittels HPLC .....	89
4.3.4	Untersuchung der rheologischen Eigenschaften mittels Rotations- und Oszillationsmessung.....	90
4.3.5	Untersuchung der dermato-biopharmazeutischen Eigenschaften mittels in-vitro Methode.....	91
4.4	Maßstabsvergrößerung der finalen Formulierung .....	96
4.4.1	Bestimmung des mikro- und makroskopischen Erscheinungsbildes .....	96
4.4.2	Bestimmung des pH-Wertes .....	98
4.4.3	Bestimmung des Wirkstoffgehalts mittels HPLC .....	99
4.4.4	Untersuchung der rheologischen Eigenschaften mittels Rotations- und Oszillationsmessung.....	100
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>103</b>
<b>6</b>	<b>Verzeichnisse .....</b>	<b>105</b>
6.1	Literaturverzeichnis .....	105
6.2	Tabellenverzeichnis.....	111
6.3	Abbildungsverzeichnis.....	112
<b>7</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>117</b>
7.1	Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchung Teil 1 von Prototypen F-G mit Nadifloxacin und Benzoylperoxid in verschiedenen Primärpackmitteln.....	117

---

7.2	Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchung Teil 1 und 2 von Prototyp G mit Nadifloxacin und Benzoylperoxid.....	118
-----	--	-----

---

## Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celsius
µg	Mikrogramm
µL	Mikroliter
Abb.	Abbildung
ACN	Acetonitril
ad	fülle auf bis zum angegebenen Gesamtgewicht (adde)
ALU	Aluminium
bar	Bar
BPO	Benzoylperoxid
BS	Benzoessäure
ca.	circa
d	Tag(e) (day)
d. h.	das heißt
g	Gramm
G'	Speichermodul
G''	Verlustmodul
h	Stunden (hour)
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (High performance liquid chromatography)
HS	Hilfsstoff(e)

---

ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use
IR	Infrarot
k. r. F.	keine relative Feuchtigkeit
m	Meter
M	Molarität
m/m	Massenanteil
m <sup>2</sup>	Meter in Quadrat
MCT	Mittelkettige Triglyceride (Medium-chain triglycerides)
MeOH	Methanol
mg	Milligramm
min	Minuten
mind.	mindestens
mL	Milliliter
mm	Millimeter
MTBE	Methyl-tert-butylether
MW	Mittelwert
n	Anzahl an Messungen
NDN	Nadifloxacin
nm	Nanometer
Nr.	Nummer
O/W	Öl-in-Wasser
P•	Benzoyloxyl-Radikal

---

Pa	Pascal
PE	Polyethylen
Ph. Eur.	Europäisches Arzneibuch (Pharmacopoeia Europaea)
PTFE	Polytetrafluorethylen
q. s.	so viel wie nötig (quantum satis)
r. F.	relative Feuchtigkeit
rad/s	Radiant pro Sekunde
RGT-Regel	Reaktionsgeschwindigkeit-Temperatur-Regel (van-'t-Hoff'sche Regel)
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde
s.	siehe
SD	Standardabweichung (standard deviation)
sog.	sogenannte
Tab.	Tabelle
UpM	Umdrehungen pro Minute
UV	Ultraviolett
V/V	Volumenanteil
vgl.	Vergleich
VIS	sichtbar (visible)
W/O	Wasser-in-Öl
WS	Wirkstoff(e)

# 1 Einleitung und Zielsetzung

Die Akne gehört zu den am häufigsten auftretenden Hauterkrankungen der Welt, welche sich in verschiedenen klinischen Bildern äußert und in unterschiedlichen Lebensabschnitten auftreten kann [1]. Grundlage für Akne erkrankte Haut sind häufig entzündete Talgdrüsen mit erhöhter Sebumproduktion, verstärkte Verhornung der Haut und häufig eine mikrobielle Hyperkolonisation der Haarfollikelkanäle [2]. Zunächst werden milde Akneformen topisch therapiert mit Wirkstoffen (WS) wie Retinoide, Benzoylperoxid (BPO), Azelainsäure und mit verschiedensten Antibiotika wie z. B. Erythromycin und Nadifloxacin (NDN) [3]. Somit spielt neben der Wirkstoff-Wahl, auch die richtige Galenik der eingesetzten topischen Formulierungen eine wichtige Rolle für den Erfolg der Therapie. Eine falsche Vehikel-Wahl kann zu einer Stimulation der Bildung von Komedonen und zu weiterem Auftreten von Aknefloreszenzen führen [4]. Zur Behandlung eignen sich hydrophile Systeme wie Öl-in-Wasser-Emulsionen (O/W-Emulsionen) oder -Cremes (O/W-Cremes) und Hydrogele mit eingestellten physiologischen pH-Wert. Es sollten komedogenarme Hilfsstoffe (HS) in den Formulierungen eingesetzt werden, die die Bildung von Komedonen nicht fördern und keine physikalische und/oder chemische Irritationen der erkrankten Haut verursachen [3].

Der Einsatz von topischen Kombinationspräparaten aus zwei WS kann laut S2k-Akne-Leitlinie für leichte bis mittlere Formen der Akne empfohlen werden [3]. Dabei weisen diese Formulierungen eine Kombination aus den Basistherapeutika der Gruppe der Retinoide und BPO auf. Eine weitere Möglichkeit wäre eine Kombination aus Antibiotikum und Basistherapeutikum. Besteht der Wunsch eine Akne geeignete Formulierung auf Basis von BPO und einem Antibiotikum wie NDN zu entwickeln, spielt neben der Berücksichtigung des Hautzustandes und der Vehikel-Wahl, auch die Wirkstoffstabilität in den Vehikeln eine große Rolle [5]. BPO ist ein thermisch und chemisch instabiler WS der durch unterschiedliche Stressfaktoren wie erhöhte Temperatur, UV-Licht und ungünstige pH-Bedingungen wie im starken sauren- und alkalischen Milieu oder durch chemische Reaktionen mit inkompatiblen HS, rasch zerfällt [6]. Hingegen findet man für NDN in der Literatur nur wenig Information über seine physikalische und chemische Stabilität in halbfesten Zubereitungen. Da es zu den neuartigen topischen Fluorchinolonantibiotika gehört und wenige Fertigprodukte mit NDN auf dem Markt erhältlich sind [7]. Dies stellt eine weitere Herausforderung dar, die eine Formulierungsentwicklung beider WS in Rahmen einer Kombinationsformulierung erschwert.

Ziel dieser Arbeit war es eine Formulierung zu entwickeln, welche für Akne erkrankte Haut geeignet ist und zu einer ausreichend lagerstabilen, streichfähigen und auch kosmetisch ansprechenden Zubereitung mit der Kombination aus NDN und BPO führt.

---

Aus diesem Grund wurde ein Formulierungskonzept entwickelt und untersucht, welches auf einem Systemverständnis basiert, dass stark von der BPO-Stabilität geprägt ist. Dieses sieht vor, dass die eingesetzten komedogenarmen HS [8], Kompatibilität mit BPO zeigen und bestenfalls eine Verlängerung der BPO-Lebensdauer im Vehikel ermöglichen. Dabei wurde unter anderem der Einfluss verschiedenster Puffersysteme untersucht. Diese sollten eine ausreichende pH-Stabilität im Vehikel im physiologischen pH-Wert von ca. 5,5 [9] ermöglichen und zur einer Verlangsamung der pH-abhängigen BPO-Zerfallsreaktionen führen [10]. Des Weiteren sollte eine Herstelltechnik etabliert werden, die eine stabile und homogene wirkstoffhaltige Zubereitung mit ausreichender Laufzeit und Empfehlung der Lagerbedingung im passenden Primärpackmittel ermöglichen soll. Schlussendlich sollte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass die finale Formulierung durch eine Maßstabsvergrößerung des Produktionsansatzes und den technischen Transfer auf eine größere Prozessanlage, Scale-up tauglich ist.

## 2 Allgemeiner Teil

### 2.1 Die menschliche Haut

Die menschliche Haut besitzt eine Gesamtfläche von 1,5-2 m<sup>2</sup> und stellt somit das größte Organ des Menschen dar [11]. Die Haut erfüllt im menschlichen Körper folgende Funktionen: Wahrnehmung von Tasteindrücken, Schmerz und Temperatur. Sie bildet außerdem eine wichtige Barriere gegen physikalische, chemische, biologische und mechanische Einflüsse und schützt ebenso vor Austrocknung [9]. Die gewünschte Barrierefunktion der Haut wird durch die Hornschicht, den Hautoberflächenlipidfilm und den Säureschutzmantel ermöglicht [9]. Die Hautoberfläche hat einen leicht sauren pH-Wert, welcher einen Wert zwischen 4,5-5,5 erreicht [11]. Dieses saure Milieu schützt die Haut vor dem Wachstum unerwünschter Mikroorganismen [12]. Die Hautdicke unterscheidet sich stark und ist abhängig vom Menschen, seinem Alter, dem Geschlecht und der Körperregion [9].

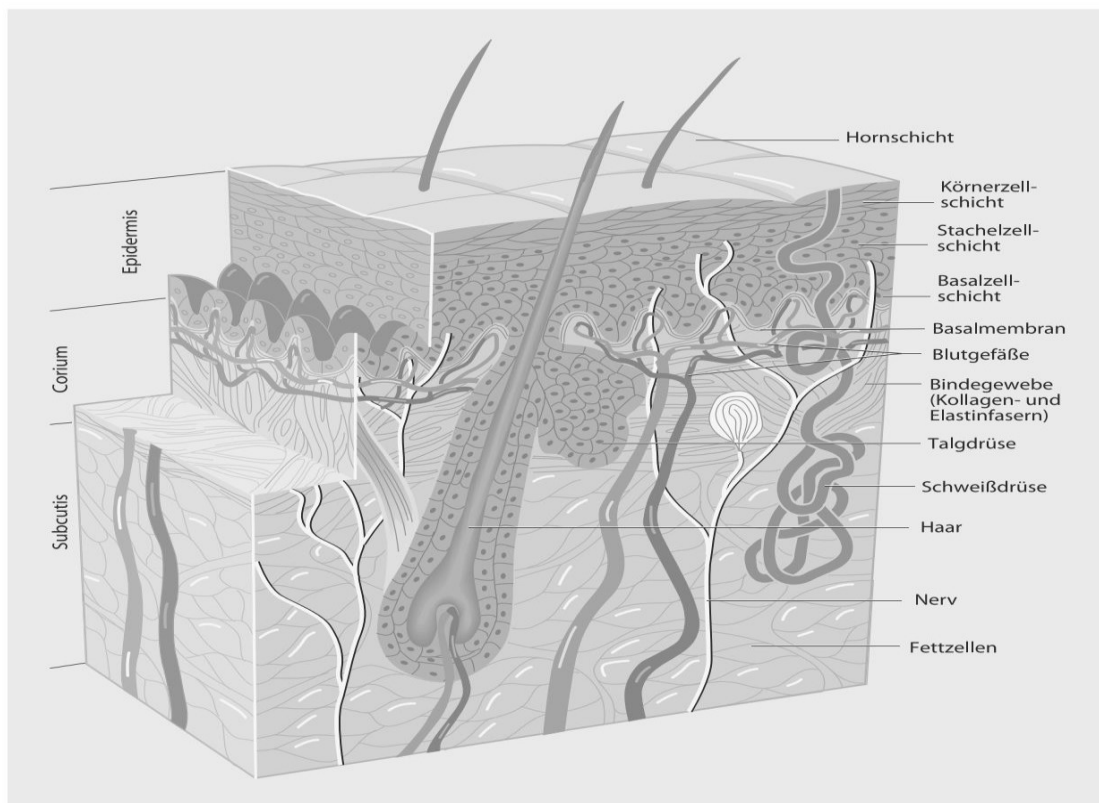


Abb. 1: Querschnitt der Haut mit Subcutis, Dermis (Corium) und Epidermis [11]

Die Haut besitzt einen schichtartigen Aufbau (s. Abb. 1), welcher in drei Abschnitte unterteilt ist. Die Epidermis (Oberhaut) stellt die oberste Schicht dar, welche von der Dermis (Lederhaut) und Subcutis (Unterhaut) gefolgt wird [11].

Histologisch kann die Epidermis in vier weitere Abschnitte unterteilt werden, welche von innen nach außen liegen: Stratum basale (Basalzellschicht), Stratum spinosum (Stachelzellschicht), Stratum granulosum (Körnerzellschicht) und an der Hautoberfläche liegt das Stratum corneum (Hornschicht) [9]. Die Epidermis zeigt stetig ein Wachstum von der Keimzellschicht in Richtung Hautoberfläche. Dabei verhornt sie und wird an der Oberfläche abgestoßen. Dieser Wachstumsprozess dauert ca. 14 Tage und bis sie abgeschilfert ist, vergehen weitere 14 Tage [11]. Die Epidermis ist durch große Kontaktflächen mit der Dermis verbunden und versorgt über Blutgefäße die Epidermis mit Nährstoffen. Die Dermis besteht aus Bindegewebszellen und Faserzellen, welche der Haut ihre Festigkeit verleihen. Des Weiteren besitzt die Dermis Nervenzellen, Haare, Nägel, Talg- und Schweißdrüsen sowie Lymphgefäße. Unter der Dermis liegende Subcutis besteht aus lockerem Bindegewebe und Fettgewebe, welches als Isolationsschicht Wärme und Energie speichern kann [12].

### 2.1.1 Akne erkrankte Haut

Akne erkrankte Haut zeichnet sich durch einen fett-feuchten Hautzustand aus [13], mit chronischer Entzündung der Haartalgdrüsen, die verschiedene klinische Formen beinhalten [1, 14]. Akne gehört zu den häufigsten Hauterkrankungen der Welt [3]. Sie kann in verschiedenen Lebensabschnitten auftreten. Ein Hauptvorkommen der Erkrankung liegt im Alter von 15-18 Jahren. In seltenen Fällen tritt die Erkrankung nach dem 25. Lebensjahr auf. 70-95 % aller Jugendlichen weisen Akne-Läsionen auf, die aufgrund des Schweregrades und/oder der Dauer eine Akne-Therapie benötigen [3]. Das typische klinische Erscheinungsbild zeichnet sich durch Seborrhö (gesteigerte Talgproduktion), Komedonen (Mitesser), Papeln (Knötchen), Pusteln (Eiterbläschen) und Narbenbildung aus [11]. Akne entsteht hauptsächlich auf talgdrüsenreichen Regionen der Haut, wie Gesicht, Schultern, Brust und Rücken [11]. Verschiedene Faktoren sind maßgeblich bei der Entstehung von Akne beteiligt: Gestörte und erhöhte Aktivität der Talgdrüsen, gestörte follikuläre Differenzierung, erhöhte Verhornung der Haut, verstärkte Ansiedlung und Vermehrung von Mikroorganismen wie *Propionibacterium acnes* und Neigung zur Bildung von Entzündungsmediatoren [1]. Ferner können genetische Prädispositionen, Umwelteinflüsse, Arzneimittel und psychische Faktoren Akne verursachen [3].

Wenn es nun zur Akne kommt, wird der Haarfollikelkanal durch die Verhornungsstörung verstopft. Der produzierte Talg kann somit schlechter abfließen und es kommt zum Talgstau [9] (s. Abb. 2).

Durch eine weitere Differenzierung der Haarfollikel, kann es zu vermehrter Bildung von Komedonen kommen, die ideale Wachstumsbedingungen für anaerobe Bakterien bilden [2]. Es gibt zwei Typen von Komedonen. Liegen die Komedonen unterhalb der Haut verschlossen vor, dann werden sie als geschlossene Komedonen bezeichnet und werden als weiße Papeln sichtbar. Platz ein geschlossener Komedo auf, dann wird ein schwarzer Talg-Pfropf sichtbar. Die typische Färbung ist erklärbar durch Schmutz und das enthaltene Melanin im Pfropf [9]. Akne kann, ohne Berücksichtigung von Sonderformen, je nach Schweregrad in drei Formen unterteilt werden: Acne comedonica, Acne papulopustulosa und Acne conglobata [11].

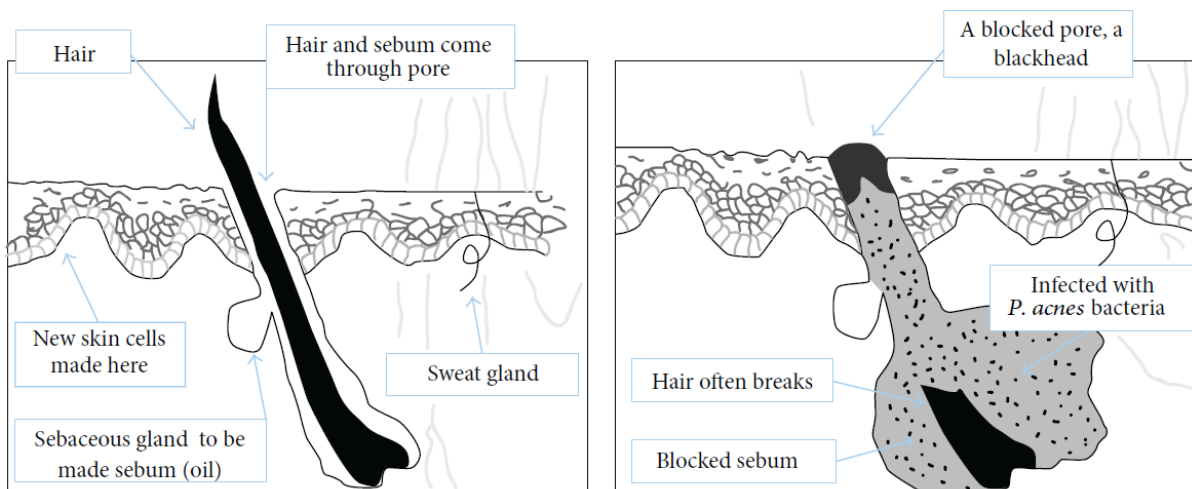


Abb. 2: Vergleich: Gesunde Haut (links) und Akne erkrankte Haut (rechts) [15]

## 2.2 Therapieformen der Akne

Die Auswahl der Therapie ist abhängig von der Akneform und dem Schweregrad der Akne erkrankten Haut. Prinzipiell kann zwischen der Therapie der klinisch akuten Akne und der Erhaltungstherapie zur Rezidivprophylaxe unterschieden werden [3]. Zielsetzung der Therapie ist es, einen normalen Hautzustand zu erreichen. Bei klinisch akuter Akne wird bei leichter bis mittelschwerer Form primär topisch behandelt.

Dabei werden die meisten topischen Therapeutika zweimal täglich dünn auf die betroffenen Stellen aufgetragen [14]. Die Therapiedauer ist abhängig vom Therapeutikum, der Akneform und dem Schweregrad der Erkrankung und dauert mind. 2 Wochen und bis zu 12 Wochen, in Ausnahmefällen auch bis zu 12 Monaten an [3]. Es kommen verschiedenste Wirkstoffe (WS) wie Retinoide (Adapalen, Isotretinoin, Tretinoin) und Benzoylperoxid (BPO) als Basistherapeutika sowie Azelainsäure und topische Antibiotika (Tetracycline, Erythromycin, Clindamycin, Nadifloxacin) zum Einsatz [3]. Bei leichter Akne wird eine Monotherapie mit Retinoiden oder BPO sowie eine Kombination dieser beiden oder deren Kombination mit einem topischen Antibiotikum empfohlen. Bei mittelschwerer Akne wird ausschließlich eine der genannten Kombinationstherapien empfohlen [3].

Retinoide sind als Basistherapeutika aufgrund ihrer entzündungshemmenden, antikomedogenen und komedolytischen Wirkung Mittel der Wahl. Ein weiteres Basistherapeutikum ist BPO, welches eine antibakterielle, entzündungshemmende und milde komedolytische Wirkung aufweist. Als Alternative kann Azelainsäure allein oder in Kombination mit Basistherapeutika bei leichter Akne eingesetzt werden. Es besitzt antibakterielle, komedolytische und entzündungshemmende Eigenschaften. Azelainsäure kann auch bei schwangeren Frauen in Form eines Monopräparats oder in Kombination mit BPO bedenkenlos eingesetzt werden. Die Substanz zeigt keine Absorption im Wellenbereich von 290-700 nm und kann somit gegenüber den Basistherapeutika problemlos im Sommer angewandt werden. Topische Antibiotika zeigen antibakterielle und antientzündliche Wirkung und werden allerdings, aufgrund auftretender Resistenzen, nicht als Monotherapie empfohlen [14]. Deshalb soll eine antibiotische Therapie stets entweder in Kombination mit topischen Retinoiden, BPO oder Azelainsäure erfolgen [3].

Bei schwerer akuter Akne wird eine systemische Therapie mit oralen Antibiotika empfohlen. Unterstützend wird topisch mit Basistherapeutikum oder Azelainsäure behandelt und ergänzend dazu, werden kosmetische Maßnahmen wie Hautreinigung- und Pflege eingesetzt.

Alternativ kann in Form einer Monotherapie mit oralem Isotretinoin behandelt werden. Bei weiblichen Patienten können in Sonderfällen antiandrogene Hormone eingesetzt werden [3].

---

Die Erhaltungstherapie zur Rezidivprophylaxe kann medikamentös auf Basis topischer Retinoide oder in Kombination mit BPO erfolgen. Bei der Erhaltungstherapie spielt die Reinigung und Pflege der Haut eine wichtige Rolle und soll dem Hautzustand der Patienten angepasst werden [3]. Die Reinigung soll in erster Linie die Entfernung von Schmutz, Zellrückständen, Talg und Bakterien ermöglichen. Es werden seifenfreie Zubereitungen (Syndets) mit physiologischem pH-Wert empfohlen, die nicht die Hautbarriere stören und das Wachstum von Bakterien minimieren [3]. Die Hautpflege soll die von der Akne auftretenden Irritationen der Haut kompensieren. Geeignete Pflegeprodukte sollen keine Hilfsstoffe (HS) enthalten, die selbst komedogen wirken und physikalische und/oder chemische Irritationen verursachen [3]. Lipidarme Zubereitungen auf Basis von Öl-in-Wasser-Emulsionen (O/W-Emulsionen) oder -Cremes (O/W-Cremes) und Hydrogele eingestellt auf physiologischen pH-Wert eignen sich gut. Gewünscht ist ein hautpflegender Effekt, der feuchtigkeitsspendend, keratolytisch, komedolytisch und in gesonderten Fällen mattierende Wirkung zeigt [9] .

### 2.3 Nadifloxacin und Benzoylperoxid und ihre Besonderheiten

Benzoylperoxid (BPO), welches auch als Dibenzoylperoxid bezeichnet wird, ist chemisch gesehen ein Peroxid, welches aus zwei äquivalenten Molekülen der Benzoesäure (BS) besteht (s. Abb. 3). Es liegt häufig als weißes, kristallines Pulver vor, das in Wasser sehr schwer löslich ist [16] und eine ausgeprägte Lipophilie ( $\log P = 3,59$ ) zeigt [17]. Reines BPO zersetzt sich bei hohen Temperaturen rasch und ist explosiv [6]. Daher ist es als Handelsprodukt in Wasser phlegmatisiert und besitzt in Arzneibuchqualität als Wasserhaltiges Benzoylperoxid einen Wassergehalt von mind. 20 %.

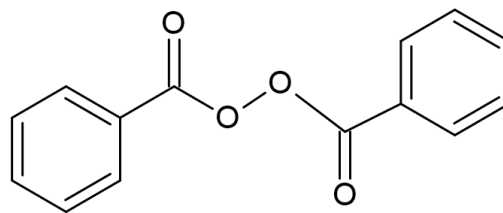


Abb. 3: Chemische Struktur von BPO

BPO hat unterschiedliche Anwendungsgebiete. Neben dem Einsatz als Aknetherapeutikum mit Konzentrationen von 2,5-10 %, wird es auch industriell als Bleichmittel und als Radikalstarter in der Polymerchemie eingesetzt [18]. Seine chemische Reaktivität verdankt es seiner Peroxidgruppe [19]. Kommt es zu einer chemischen Reaktion an dieser Gruppe, dann spaltet sich BPO homolytisch, es entstehen freie Sauerstoff-Radikale [20]. Über solche oxidativen Abbauvorgänge zeigt BPO seine ausgeprägte antimikrobielle Wirkung und seine Eignung in der Aknetherapie [21].

Besteht der Wunsch BPO in halbfeste Zubereitungen zu formulieren, ist es zwingend notwendig seine physikalische und chemische Stabilität zu verstehen. Thermische, photolytische [22] und chemische Stressfaktoren können einen verstärkten BPO-Abbau triggern und Folgereaktionen provozieren [20]. Dabei sind verschiedene Abbauege möglich (s. Abb. 4). Zum einen kann es zum radikalisch katalysierten Abbau kommen [23] und zum anderen ist eine pH-abhängige Hydrolyse beschrieben [24]. Bei beiden Abbauegen entsteht überwiegend BS, welche als Abbauprodukt mit saurem Charakter den BPO-Zerfall durch das Absenken des pH-Wertes autokatalytisch weiter verstärken kann. Zerfällt BPO durch Temperatur- ( $> 40^{\circ}\text{C}$ ) oder UV-Einfluss entsteht das Benzoyloxy-Radikal ( $\text{P}\cdot$ ), dass mit einem weiteren BPO-Molekül reagiert und eine Radikalkettenreaktion auslöst. Somit können diverse unbekannte Produkte entstehen (s. Abb. 4).



Nadifloxacin (NDN) gehört zu den Fluorchinolonantibiotika und weist dessen typische chemische Grundstruktur, ein Chinolon-Ringsystems auf (s. Abb. 5). Dabei besteht das annellierte Ringsystem aus Benzol und Pyridin [32]. Am Pyridin ist in Position 3 eine Carboxygruppe und in Position 4 eine Carbonylgruppe integriert. Am Benzol befindet sich in Position 6 ein Fluoratom, in Position 7 ein Hydroxypiperidin-Substituent und in Position 8 ein Alkyl-Substituent der beide Ringsysteme verknüpft. NDN liegt häufig als weißes bis gelbes, kristallines Pulver vor [7], das in Wasser schwer löslich ist ( $\log P = 2,47$ ) [33].

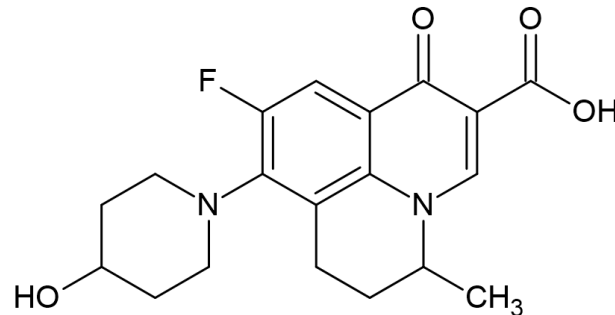


Abb. 5: Chemische Struktur von NDN

Die antibakterielle Wirkung von NDN beruht auf der Blockade der Bildung von superspiralierter Bakterien-DNA. Dabei wird die bakterielle Topoisomerase 2 (DNA-Gyrase) und Topoisomerase 4 gehemmt [3]. NDN wird ausschließlich topisch in einer Konzentration von 1 % als Aknetherapeutikum angewendet [34]. Das Wirkspektrum umfasst gram-positive und gram-negative Bakterien und Anaerobier [3].

Eine besondere Herausforderung bei der Entwicklung von NDN-haltigen Topika besteht darin, dass es kaum Literatur über die physikalische und chemische Stabilität in halbfesten Zubereitungen gibt. Dies erschwert in der Formulierungsentwicklung ressourceneffizient zu arbeiten und Vorhersagen über mögliche Kompatibilitäten im Vehikel unter Stressbedingungen zu treffen.

Für NDN konnte selbst in einer wissenschaftlichen Untersuchung [34] kein oxidativer, photolytischer oder thermischer Abbau entdeckt werden. In einem starken sauren Milieu erfolgt eine Decarboxylierung, gefolgt von einer Defluorierung und einer Hydroxylierung [34], die die Leitstruktur von NDN verändert. Somit könnten große Mengen von BS und die damit verbundene pH-Absenkung kritisch sein. Grundsätzlich ist auch eine Oxidation von Aminen denkbar, wie sie bereits für die WS Atropin und Morphin beobachtet wurde [35].

Besteht der Wunsch einer Kombination von BPO und NDN im selben Vehikel, ist davon auszugehen, dass die BPO-Stabilität eine dominante Rolle spielt. BPO als starkes Oxidationsmittel reagiert unter bestimmten Bedingungen mit aliphatischen tertiären Aminen problemlos [27, 36, 37] (s. Abb. 6). Inwiefern solche Reaktionen mit cyclischen tertiären Aminen (Hydroxypiperidin-Substituent des NDN) mit BPO in halbfesten Zubereitungen ablaufen können, ist schwer abzuschätzen, sodass eine prinzipielle Reaktion zwischen beiden WS im Vehikel nicht auszuschließen ist.

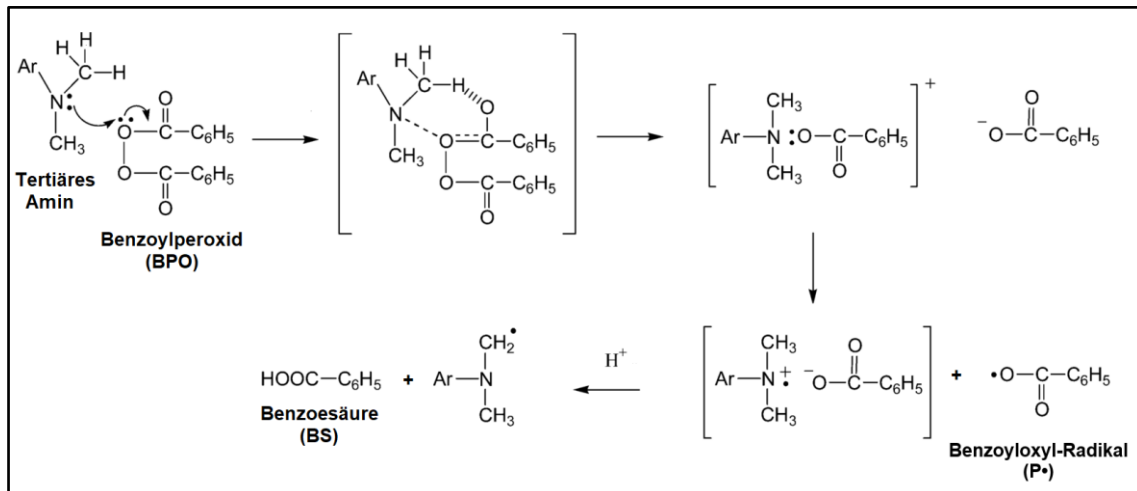


Abb. 6: Mechanismus der Reaktion zwischen BPO und tertiärem Amin angelehnt an [36]

## **2.4 Halbfeste Zubereitungen zur kutanen Anwendung**

### **2.4.1 Definition**

Halbfeste Zubereitungen zur kutanen Anwendung sind streichfähig und zur Applikation auf gesunder, erkrankter und verletzter Haut vorgesehen [35]. Sie können einen oder mehrere WS enthalten, die in gelöster und/oder suspendierter Form in der Vehikel-Grundlage vorliegen [35]. Die Grundlagen können einen Vehikel-Effekt zeigen, d. h. sie fungieren nicht nur als passives Trägersystem des WS, sondern können selbst aktive Wirkung auf der Haut zeigen [38] und somit die Wirkung der Zubereitung auf der Haut stark mitbestimmen. Halbfeste Zubereitungen bestehen aus einer oder mehreren Komponenten und sollen ein homogenes Aussehen aufweisen. Sie können unterschiedliche Polaritäten (hydrophil oder lipophil) besitzen und Ein- oder Mehrphasensysteme darstellen [35]. Es können HS wie Emulgatoren, Verdickungsmittel, Penetrationsbeschleuniger, Konservierungsmittel, Antioxidantien und Stabilisatoren enthalten sein [35]. Das europäische Arzneibuch (Ph. Eur.) unterscheidet solche halbfesten Zubereitungen im engeren Sinne in Salben, Cremes, Gele und Pasten [39]. Die in der Monographie ebenfalls aufgeführten Umschlagspasten, wirkstoffhaltige Pflaster und kutane Pflaster weisen davon deutlich abweichende Eigenschaften auf. Streichfähige Dermatika zeichnen sich im Allgemeinen dadurch aus, dass sie einen halbfesten Charakter aufweisen mit viskoelastischen Eigenschaften. Pasten zeigen häufig ein dilatantes Fließverhalten [35]. Die meisten Salben, Cremes und Gele zeigen ein plastisches Fließverhalten mit definierter Fließgrenze auf, sie lassen sich rheologisch als Casson-Körper beschreiben. Unterhalb der Fließgrenze überwiegt das elastische Verhalten der Zubereitung, das System verhält sich überwiegend wie ein Feststoff. Erst beim Überschreiten einer Mindestschubspannung, der Fließgrenze, beginnt die Zubereitung zu fließen, d.h. der viskose/fluide Anteil der Zubereitung überwiegt.

### **2.4.2 Salben, Cremes und Gele**

Salben sind wasserfreie Systeme mit halbfestem Charakter. Sie können laut Ph. Eur. in hydrophobe, hydrophile und wasseraufnehmende Salben eingeteilt werden [39]. Die Grundlagen stellen im Sinne des Arzneibuchs einphasige Systeme dar, in denen feste oder flüssige Substanzen gelöst oder dispergiert vorliegen [40]. Salben vom hydrophoben Typ können nur geringe Mengen an Wasser aufnehmen. Um solche Salben herzustellen, können als Grundlagen z. B. Paraffine, Wachse, pflanzliche Öle, tierische Fette und Vaseline genommen werden [40].

Hydrophile Salben sind mit Wasser mischbar und können geringe Mengen an Wasser aufnehmen. Als Beispiel ist hier die Macrogolsalbe zu nennen, welche aus einer Mischung von flüssigen und festen Polyethylenglykolen (Macrogolen) besteht [40].

Wird in eine hydrophobe Salbe ein Emulgator eingearbeitet, dann kann die Grundlage größere Mengen an Wasser aufnehmen. Es entsteht eine wasseraufnehmende Salbe, die je nach der Polarität des Emulgators nach Wassereinblendung zu einer O/W- oder W/O-Creme wird [40]. Die entstandene Creme stellt im Sinne des Arzneibuchs ein mehrphasiges System dar, welches aus einer hydrophilen und lipophilen Phase besteht. Des Weiteren können Cremes aus flüssigen Emulsionen hergestellt werden, indem der Außenphase ein geeigneter Gelbildner zugesetzt wird. Cremes können nach dem Ph. Eur. unterschieden werden in: Hydrophile Cremes (hier ist die äußere Phase wässrig) und lipophile Cremes (hier ist die äußere Phase lipophil) [39].

Gele sind gelierte Flüssigkeiten, die mit geeigneten Gelbildnern hergestellt werden [39]. Dabei bildet mindestens eine Feststoffkomponente das Gelgerüst in der die Flüssigkomponente immobilisiert vorliegt [41]. Ph. Eur. unterscheidet lipophile und hydrophile Gele. Beim letzteren besteht die flüssige Phase aus Wasser oder Wasser-Alkohol-Mischungen, welche Feuchthaltemittel enthalten können [39]. Als Gelbildner können quellfähige Makromoleküle verwendet werden wie z. B. Carbomere, Poloxamere und Cellulosederivate [39]. Lipophile Gele können laut Ph. Eur. Parafinöl als Grundlage aufweisen, welches mit Polyethylen eingedickt ist. Eine Gelierung von fetten Ölen mit hochdisperssem Siliciumdioxid, Aluminium- oder Zinkseifen ist ebenso möglich. Somit wird ersichtlich, dass sich lipophile Gele nicht eindeutig von der Systematik der hydrophoben Salben unterscheiden lassen können [35].

## 2.5 Anforderungsprofil an geeignete Formulierungen für Akne erkrankte Haut

Beim Entwickeln von geeigneten Formulierungen ist zu berücksichtigen, dass eingesetzte HS und HS-Kombinationen und deren Einsatzkonzentrationen die Wirkstoffstabilität in den Vehikeln entscheidend mitbestimmen [5]. Somit ist es zwingend notwendig im Vorfeld einer Entwicklungsarbeit eine Kompatibilitätsstudie durchzuführen [43]. Nach Vorauswahl der HS müssen galenisch sinnvolle Anteile der HS gewählt werden, die es ermöglichen, stabile, streichfähige und kosmetisch ansprechende Formulierungen herzustellen.

Des Weiteren ist ein Designen unter Berücksichtigung eines Anforderungsprofils (s. Tab. 1) sinnvoll, um gezielt ein Formulierungskonzept zu entwickeln, welches den erkrankten Hautzustand mitberücksichtigt [42]. Das im Anforderungsprofil beschriebene Vehikel berücksichtigt die Empfehlung der S2K-Leitlinie zur Therapie der Akne für Hautpflege (s. 2.2). Grund dafür ist, dass die gleichen Kriterien der Vehikel-Wahl, die in Abhängigkeit zum Hautzustand stehen, sowohl für kosmetische Produkte [43] als auch für topische Arzneimittel Gültigkeit haben sollten. Eine Besonderheit in diesem Anforderungsprofil ist die gezielte Verwendung von HS, die neben ihren klassischen Funktionen im Formulierungskonzept, idealerweise mit humanem Sebum wechselwirken sollen. Dies wird bei der an Akne erkrankten Haut als vorteilhaft angesehen. Da die Haarfollikelkanäle bei Akne häufig mit Sebum und abgestoßenen Korneozyten blockiert sind [44] und so das Eindringen von dermal applizierten Formulierungen erschwert wird, können Wechselwirkungen mit dem Sebum eine Voraussetzung für eine verbesserte Vehikel-abhängige follikuläre Penetration der WS schaffen [45, 46].

Dabei sind unterschiedliche Arten der Wechselwirkungen einer Formulierung mit Sebum vorstellbar, wie lösen [47], mischen (erweichen) [48] und/oder adsorbieren des Sebums aus dem Haarfollikel. Mesoporöses Siliciumdioxid (Silica) kann durch seine hohe Porosität und großen Oberfläche eingesetzt werden, um größere Mengen an flüssigen Lipiden des Sebums aufzunehmen [49, 50]. Eine Erweichung und/oder das lösen des Sebums kann durch flüssige Lipide, wie Squalan, oder durch semipolare Alkohole, wie Pentylenglycol, ermöglicht werden. Denkbar ist ebenso, dass sich in der Formulierung enthaltende Tenside, wie Polysorbat an die Sebum-Grenzfläche anlagern und durch ihren waschaktiven Effekt eine leichtere Entfernung des Sebums beim Waschvorgang ermöglichen [51].

Die eingesetzten HS sollen keine physikalischen und/oder chemischen Irritationen verursachen und eine geringe Komedogenität aufweisen. Dabei beschreibt Komedogenität die Fähigkeit von HS und Formulierungen, die Bildung von Komedonen zu fördern [52].

Die finale Komedogenität einer Zubereitung kann allerdings nicht von einzelnen HS und deren chemischer Struktur abgeleitet werden [11], sondern ergibt sich immer aus der Einsatzkonzentration [53] und Zusammensetzung der Gesamtformulierung. In Rahmen dieser Arbeit wurde aus Zeit- und Ressourcengründen keine Prüfung auf komedogene Wirkung der Zubereitungen durchgeführt.

Tab. 1: Anforderungsprofil an geeignete Formulierungen für Akne erkrankte Haut

Anforderungen	Kriterien	Umsetzungsstrategien
Kosmetisch ansprechende Formulierungen mit einer hohen Patientenakzeptanz sowie Konformität mit der S2K-Leitlinie zur Therapie der Akne [3]	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Kein Ölfilm nach der Applikation</li> <li>2. Kein Hautglanz</li> <li>3. Schnelles Einziehen in die Haut</li> <li>4. Kühleffekt [54]</li> <li>5. „Leichte“ Konsistenz</li> </ol>	Einsatz von O/W-Systemen (O/W-Emulsionen, O/W-Cremes, Hydrodispersionsgelen [55]) und Hydrogelen
Verbesserung des Vehikel-Effekts	<ol style="list-style-type: none"> <li>6. nicht/gering wirkende komedogene HS</li> <li>7. Physiologischer pH-Wert ca. 5,5</li> </ol>	HS mit geringer Komedogenität und Einsatz von Puffern
Verbesserung der folliculären Penetration durch Vehikel	<ol style="list-style-type: none"> <li>8. Interaktion mit humanem Sebum möglich</li> </ol>	Einsatz von HS wie:  Pentylenglycol, Squalan <i>(Lösender, Erweichender Effekt)</i> Polysorbat <i>(Waschaktiver Effekt)</i> Silica <i>(Adsorbierender Effekt)</i>

### 3 Materialien und Methoden

#### 3.1 Verwendete Materialien

##### 3.1.1 Chemikalien und Hilfsstoffe

Tab. 2: Übersicht der verwendeten Chemikalien und Hilfsstoffe

Bezeichnung	Handelsname	Hersteller/Lieferant
1,4-Bis(p-Tolylamino)-anthrachinon	Dragocolor Türkis (Nr. 656871)	Symrise AG
Aceton (HPLC grade)	-	Sigma-Aldrich Chemie
Ameisensäure $\geq 98 \%$		Carl Roth GmbH + Co. KG
Baumwollsaamenöl	-	Acros Organics
Benzoylperoxid, angefeuchtet mit $\sim 25 \%$ Wasser (Ph. Eur.)	-	PanReac Quimica S.L.U und Scharlab S.L
Benzoylperoxid-haltiges Fertigarzneimittel	Benzaknen 5 % Gel	Galderma Laboratorium GmbH
Bis-Ethylhexyl Hydroxydimethoxy benzylmalonat (Lipidlösliches Antioxidans)	RonaCare AP	Merck KGaA
Carbomer 35 000	Carbopol 974P NF	Noveon
Cetylpalmitat 15 (Ph. Eur.)	-	Caesar & Loretz GmbH
Cholesterol (Ph. Eur.)	-	Caesar & Loretz GmbH
Cholesterol-Oleat $> 85 \%$	-	TCI Deutschland GmbH
Dinatriumhydrogenphosphat-Anhydrat	-	Carl Roth GmbH + Co. KG
Docusat-Natrium (95%)	-	Acros Organics
Dünnflüssiges Paraffin (Ph. Eur.)	-	Caesar & Loretz GmbH
Ethanol 99 % (HPLC grade)	-	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Hartparaffin, Plätzchen (Ph. Eur.)	-	Caesar & Loretz GmbH

Hochdisperses Siliciumdioxid	Aerosil 200	Degussa-Hüls AG
Hochdisperses, hydrophobes Siliciumdioxid	AEROSIL R972 Pharma	Evonik Industries AG
Hydroxyethyl-Acrylat/Natrium-Acryloyldimethyl-Taurat-Copolymer	SEPINEO D.E.R.M	SEPPIC SA
Hydroxyethyl-Acrylat/Natrium-Acryloyldimethyl-Taurat-Copolymer	SEPINOV EMT10	SEPPIC SA
Isopropanol (HPLC grade)	-	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Isopropylpalmitat (Ph. Eur.)	-	Caesar & Loretz GmbH
Kokosfett, gehärtet	-	Caesar & Loretz GmbH
Magnesium-L-ascorbyl-2-phosphat (hydratisierte Form) (Wasserlösliches Antioxidans)	RonaCare MAP	Merck KGaA
Mesoporöses Siliciumdioxid	SYLOID 244 FP EU	Grace GmbH & Co. KG
Methanol (HPLC grade)	-	Fisher Scientific
Methyl-tert-butylether (> 99 %)	-	Acros Organics
Mikrokristalline Cellulose und Xanthan Gummi	SENSOCEL stab 026-N	CFF GmbH & Co. KG
Milchsäure-Lösung (90%ig)	(S)-Milchsäure (90 %) (Ph. Eur.)	Caesar & Loretz GmbH
Mischung aus Tocopherol-Extrakt (E306), Essigsäureester von Mono- und Diglyceriden (E472a), Mono- und Diacetylweinsäureester von Mono- und Diglyceriden (E472e) und Sonnenblumenöl (Lipidlösliches Antioxidans)	GRINDOX 1032	DANISCO
Mittelkettige Triglyceride	Kollisolv MCT 70	BASF SE
Nadifloxacin	-	Ōtsuka Seiyaku K.K
Nadifloxacin-haltiges Fertigarzneimittel	Nadixa 10 mg/g Creme	Dr. Pfleger Arzneimittel GmbH
Natives Olivenöl (Ph. Eur.)	-	Caesar & Loretz GmbH

Natriumchlorid	-	Caesar & Loretz GmbH
Natriumcocoglutamat	Plantapon ACG 50	BASF SE
Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat	-	Carl Roth GmbH + Co. KG
Natriumedetat	-	Caesar & Loretz GmbH
Natriumlactat-Lösung (50%ig)	Natrium-(S)-Lactat-Lösung 50 % (Ph. Eur.)	Caesar & Loretz GmbH
Natronlauge 0,1 mol/L	-	Grüssing GmbH
Octanol	-	BASF SE
Ölsäure (Ph. Eur.)	-	Caesar & Loretz GmbH
Palmitinsäure (95 %)	-	Alfa Aesar GmbH & Co. KG
Palmitoleinsäure (99 %)	-	Acros Organics
Pentylenglycol (1,2-Pentandiol)	Hydrolite 5P	Symrise AG
Phosphorsäure (> 85%)	-	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Poloxamer 188	Kalliphor P 188	BASF SE
Poloxamer 407	Kalliphor P 407	BASF SE
Polyacrylat-Polyalkylacrylat-Crosspolymer	Pemulen TR-1 NF Polymer	Lubrizol Advanced Materials Europe BVBA
Polyoxyethylen 20-cetyl-ether	Cetomacrogol 1000	CRODA
Polysorbat 60 (Ph. Eur.)	Tween 60	Carl Roth GmbH + Co. KG
Propylenglycol	-	Caesar & Loretz GmbH
Salzsäure 0,1 mol/L	-	Grüssing GmbH
Squalan (96 %)	-	Sigma-Aldrich International GmbH
Squalen (> 98 %)	-	Carl Roth GmbH + Co. KG
Trometamol (Ph. Eur.)	-	Caesar & Loretz GmbH
Wasser	-	Eigenproduktion per Umkehrosiose
Wasserstoffperoxid-Lösung 30 %	-	Sigma-Aldrich Chemie GmbH

Xanthan Gummi (Dehydroxanthan Gum)	KETROL F	CP Kelco U.S, Inc.
Xanthan Gummi (Dehydroxanthan Gum)	Amaze XT	Azelis Kosmetik GmbH

### 3.1.2 Verbrauchsmaterialien

Tab. 3: Übersicht der verwendeten Verbrauchsmaterialien

Bezeichnung	Typenbezeichnung	Hersteller/Lieferant
Baumwolltupfer	Schlinggazetupfer, unsteril, wallnussgroß, Gr. 5	Fuhrmann GmbH
Einmal-Injektionskanülen	Sterican, Ø 0,9 x 40 mm	B. Braun Melsungen AG
Einmal-Reaktionsgefäß	2 mL	BRAND SCIENTIFIC GmbH
Einmalspritzen mit Schraubgewinde	Omnifix, 5, 10, 50 mL	B. Braun Melsungen AG
HPLC-Bördelkappen	N 11, 1,0 mm	MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
HPLC-Säulen (RP-C18)	EC 125/4 NUCLEOSIL 100-5 C18	MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
HPLC-Vials	N 11, 1,5 mL	MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
HPLC-Vorsäulen	EC 4/3 Universal RP	MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
HPLC-Vorsäulenhalter	5 mm Länge, 3 mm Innendurchmesser	MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Injektionsbördelkappen	-	Zscheile & Klinger GmbH
Injektionsflaschen	Klarglas, Typ 1 (Ph. Eur.), 5, 20 mL	Zscheile & Klinger GmbH
Injektionsstopfen	Brombutylstopfen, grau	Zscheile & Klinger GmbH
Kartenblätter	-	handelsüblich
Kruken für Topitec- Rührsystem	TOPITEC Kruke 20, 50, 100, 200, 500 mL	WEPA Apothekenbedarf GmbH & Co. KG

Kruken für Unguator-Rührsystem	gako unguator Kruke 20, 50, 100, 200, 500 mL	Gako Deutschland GmbH
Kruken-Applikationshilfe	Lang, ohne Kappe Kurz, mit Kappe	Gako Deutschland GmbH
Membranfilter (PTFE)	Mitex 5 µm PTFE Membrane, 25 mm Durchmesser, 5 µm Porengröße	Merck Millipore GmbH
Mikroskop-Deckgläser	22 mm x 22 mm	Carl Roth GmbH + Co. KG,
Mikroskop-Objektträger	ISO 8037/1, frosted	Gerhard Menzel GmbH,
Mikrotiterplatte	PS, 98-WELL, U-Boden	Greiner Bio-One GmbH
Mischscheibe für Topitec-Rührsystem	Mischscheibe für 50 g Kruken	WEPA Apothekenbedarf GmbH & Co. KG
Nitrilhandschuhe	Größe L, puderfrei	O&M Halyard Inc.
Papierhandtücher	-	handelsüblich
Pipettenspitzen (Brand)	5 mL	Brand GmbH & Co. KG
Pipettenspitzen (epT.I.P.S.)	2-200, 50-1000 µL	Eppendorf AG
Präzisionswischtücher	KIMTECH, 11,4 x 21,3 cm, 30,4 x 30,4 cm	Kimberly-Clark GmbH
Spritzenvorsatzfilter	CHROMAFIL Xtra H-PTFE-20/25, 25 mm Durchmesser, 0,20 µm Porengröße	MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Transferpipetten	3,5 mL	Sarstedt AG & Co.
Tuben aus Aluminium mit Innenschutzlack	15 mL	WEPA Apothekenbedarf GmbH & Co. KG
Tuben aus Kunststoff (Polyethylen)	30 g	WEPA Apothekenbedarf GmbH & Co. KG
Parafilm (Verschlussfolie)	Parafilm M	Bemis Company, Inc.
Wägeschale	-	handelsüblich
Zentrifugenröhrchen	PP, 15, 50 mL	Greiner Bio-One GmbH

### 3.1.3 Geräte

Tab. 4: Übersicht der verwendeten Geräte

Bezeichnung	Typenbezeichnung	Hersteller/Lieferant
Analysenwaage	DeltaRange, Model: XPE205 d = 0,01 mg	Mettler-Toledo GmbH
Bechergläser	SCHOTT Duran 10, 50, 100, 250, 500, 1000, 2000 mL	Schott AG
Bördelzange und Entbördelzange für HPLC Vials	735211, 735311, 11 mm	MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Bördelzange und Entbördelzange für Injektionsflaschen	-	Zscheile & Klinger GmbH
Digitalkamera mit Stativ	SONY DSC-RX100M3	Sony Europe B.V.
Dispergiergerät	IKA T25 digital ULTRA-TURRAX	IKA-Werke GmbH & Co. KG
Dispergierwerkzeug	S 25 N - 18 G	IKA-Werke GmbH & Co. KG
Fantaschale mit Pistill aus Melamin	Länge Pistill: 16 cm Durchmesser Fantaschale: 15 cm	handelsüblich
Gefrierschrank	Liebherr Premium	Liebherr-International AG
Glasgestell (Borosilikatglas 3.3) für Membranfilter mit Plexiglaszylinders	Innendurchmesser- Glasgestell: 18 mm	Glaswerkstatt Universität Tübingen
Glasstab	-	handelsüblich
Grobwaage	MonoBloc inside, Model: PG5001-S d = 100 mg	Mettler-Toledo GmbH
HPLC	Systemsteuerung: CBM-20 A Autosampler: SIL-20A Pumpe: LC-20AD/T Degassing Unit: DGU-20A UV-VIS-Detektor: SPD-20A Säulenofen: CTO-10AS VP	Shimadzu GmbH
IR-Thermometer	testo 830-T4	Testo SE & Co. KGaA

Klimaschrank	TCS-1001	ThermoTEC Weilburg GmbH & Co. KG
Kühlschrank	K3130	Liebherr-International AG
Kühlschrank	MPR-214F	SANYO Electric Co., LTd.
Laborflaschen	SCHOTT Duran 100, 250, 500, 1000, 2000 mL	Schott AG
Labor-Homogenisier- Mischer	BECOMIX RW 2,5	A. Berents GmbH & Co. KG
Labor-Schüttler für Zentrifugenröhrchen	VXR basic Vibrax	IKA Werke GmbH & Co. KG
Lichtmikroskop	Axio Imager Z.1	Carl Zeiss AG
Magnetrührer mit Heizplatte und Temperaturfühler	Hei-Tec mit Pt1000	Heidolph Instruments GmbH & Co. KG
Magnetrührstab-Angel	-	handelsüblich
Magnetrührstäbchen	Zylindrisch, verschiedene Größen	VWR International
Manuelles Siebgerät mit Sieb aus Edelstahl	Siebmaschenweite: 800 µm	handelsüblich
Messkolben	SCHOTT Duran 10, 50, 100, 1000, 2000 mL	Schott AG
pH-Meter mit pH- Einstabmesskette (pH-Meter-Elektrode)	SevenEasy mit InLab Viscos Pro-ISM	Mettler-Toledo GmbH
Pipetten	Transferpette S, 200, 1000, 5000 µL	BRAND GmbH + Co. KG
Platereader	Varioskan LUX	Thermo Scientific
Reinstwasseranlage	Purelab Option Q	Veolia Water Technologies GmbH
Rezepturwaage	NewClassic MF, Model: MS403S d = 1 mg	Mettler-Toledo GmbH
Rezepturwasserbad	-	handelsüblich
Rheometer mit einer Plate-Plate Geometrie	Physica MCR 501 mit PP25	Anton Paar Group AG

Salbenmesser	-	handelsüblich
Spatel	-	handelsüblich
Spülmaschine	Professional GG05 PG 8583	Miele & Cie. KG
Stoppuhr	Labsolute Jumbo Timer	Th. Geyer GmbH & Co. GK
Teesieb aus Edelstahl	Siebmaschenweite: ca. 800 µm	handelsüblich
Topitec-Rührsystem	TOPITEC AUTOMATIC mit: Werkzeugwelle mit Mischscheibe und Mischwerkzeug	WEPA Apothekenbedarf GmbH & Co. KG
Trockenschrank	TU 60/60	Heraeus Holding GmbH
Tubenfalz-Zange	-	WEPA Apothekenbedarf GmbH & Co. KG
Tubenschweißgerät	-	LOECO Apparatebau GmbH
Ultraschallbad	Sonorex Super RK 106	Bandelin electronic GmbH & Co. KG
Unguator-Rührsystem	gako unguator PRO mit Standardflügelrührer	Gako Deutschland GmbH
Zentrifuge	Zentrifuge Megafuge 1.0 R	Heraeus Instruments

### 3.1.4 Softwares

Tab. 5: Übersicht der verwendeten Softwares

Bezeichnung	Version	Hersteller
ChemDraw	20.1	PerkinElmer Corporation
Citavi	6.10.2	Swiss Academic Software GmbH
GraphPad PRISM	8.2.1	GraphPad Software Inc.
LabSolutions	5.87 SP1	Shimadzu GmbH
Microsoft Office	365	Microsoft Corporation
Rheoplus 32	3.62	Anton Paar Group AG
ZEN	3.2 pro (blue edition)	Carl Zeiss AG

## 3.2 Verwendete Methoden

### 3.2.1 Herstellung der Zubereitungen

Alle Grundlagen (Vehikel-Grundlagen, Vehikel) ohne Wirkstoff (WS) werden nach der Herstellung mind. 24 Stunden ruhen gelassen, danach analysiert und dann weiterverarbeitet. Die Analyse der wirkstoffhaltigen Proben erfolgt einen Tag nach der Fertigstellung.

#### 3.2.1.1 Herstellung von wirkstofffreien Vehikel-Grundlagen im Rezepturmaßstab

Die Grundlagen der Prototypen A-E (s. Tab. 6), werden im gako unguator PRO (Gako Deutschland GmbH) hergestellt. Um 230 g Grundlage herzustellen, werden alle Hilfsstoffe (HS) in eine 200 g gako unguator Kruke direkt eingewogen und für 14 min bei 1400 UpM mit einem Standardflügelrührer gerührt. Für Grundlagen, die einen Phosphat-Puffer enthalten, werden die Puffersalze zuvor im verwendeten Wasser mit Hilfe eines Magnetrührers (Hei-Tec mit Pt1000, Heidolph Instruments GmbH & CO. KG) bei 500 UpM für 30 min gelöst.

Tab. 6: Zusammensetzung der Vehikel-Grundlagen von Prototypen A-E

Bezeichnung	Hilfsstoffe	Zusammensetzung [%]
Prototyp A	Poloxamer 407	25
	Pentylenglycol	1
	Dinatriummonohydrogenphosphat-Anhydrat / Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat	q. s. pH 5,5: Puffer ist auf 0,1 M Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat eingestellt
	Wasser	ad 100
Prototyp B	Poloxamer 407	20
	Polysorbat 60	1
	Hochdisperses, hydrophobes Siliciumdioxid	0,02
	Propylenglycol	15
	Dinatriummonohydrogenphosphat-Anhydrat / Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat	q. s. pH 5,5: Puffer ist auf 0,1 M Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat eingestellt

	Mittelkettige Triglyceride	5
	Wasser	ad 100
Prototyp C	Carbomer 35 000	1
	Poloxamer 188	1
	Trometamol	0,5
	Propylenglycol	5
	Squalan	2,5
	Wasser	ad 100
Prototyp D	Polyacrylat-Polyalkylacrylat-Crosspolymer	1
	Trometamol	0,5
	Natriumedetat	0,05
	Propylenglycol	10
	Squalan	7,5
	Mittelkettige Triglyceride	7,5
	Wasser	ad 100
Prototyp E	Carbomer 35 000	1
	Mesoporöses Siliciumdioxid	0,02
	Poloxamer 188	0,5
	Trometamol	0,5
	Natriumedetat	0,005
	Pentylenglykol	5
	Wasser	ad 100

Die Herstellung von 500 g Grundlage der Prototypen F, G und H (s. Tab. 8-10) erfolgt in mehreren Arbeitsschritten im TOPITEC AUTOMATIC mit TOPITEC Mischwerkzeug (WEPA Apothekenbedarf GmbH & Co. KG).

Dabei wird zuerst eine Stammlösung des Lactat-Puffers (s. Tab. 7) hergestellt, der nach der Einarbeitung in die Grundlage einen pH-Wert von 5,5 hat. Die Pufferbestandteile werden nacheinander in ein tariertes 1000 mL Becherglas eingewogen und mit Hilfe eines Glasstabes vermischt.

Tab. 7: Zusammensetzung des Lactat-Puffers

Bezeichnung	Hilfsstoffe	Soll-Einwaage [g]
Stammlösung des Lactat-Puffers für pH 5,5	90%ige Milchsäure-Lösung	12
	50%ige Natriumlaktat-Lösung	882

#### Übersicht der Herstellmethode für Vehikel-Grundlage von Prototyp F

Für Prototyp F (s. Tab. 8) wird zuerst eine Emulsion hergestellt, die in einem weiteren Schritt zu einer Öl-in-Wasser-Creme (O/W-Creme) eingedickt wird. Dafür wird ein 500 mL Becherglas mit passendem Rührfisch auf einer geeigneten Waage (NewClassic MF, Mettler-Toledo GmbH) tariert. Es werden Polysorbat 60, Pentylenglycol und Wasser nacheinander eingewogen und mit Hilfe eines Magnetrührers (Hei-Tec mit Pt1000, Heidolph Instruments GmbH & CO. KG) bei 500 UpM gerührt und auf 60 °C für 5 min erhitzt. Anschließend wird auf Raumtemperatur (RT) abgekühlt, abgewogenes Squalan zugefügt und mit einem Dispergiergerät (IKA T25 digital ULTRA-TURRAX, IKA-Werke GmbH & Co. KG) bei 500 UpM für 1 min vordispersiert und im Anschluss bei 10 000 UpM für 4 min zu einer Emulsion homogenisiert.

Danach wird eine 500 g TOPITEC Kruke auf einer geeigneten Waage (MonoBloc inside, Mettler-Toledo GmbH) tariert und anschließend zuerst Xanthan Gummi als Feststoff eingewogen und im Anschluss die Emulsion zugegeben. Im nachfolgenden Anreibeschritt wird Xanthan Gummi in der flüssigen Phase bei 2000 UpM für 10 min dispersiert. Anschließend wird Wasser zugegeben und bei 2000 UpM für 5 min homogen mit der angedickten Emulsion vermischt. Abschließend wird mit Lactat-Puffer auf 500 g ergänzt und bei 2000 UpM für 5 min gemischt.

Tab. 8: Zusammensetzung der Vehikel-Grundlage von Prototyp F

Arbeitsschritte	Hilfsstoffe	Soll-Einwaage [g]
1. Herstellung der Emulsion	Polysorbat 60	5
	Pentylenglycol	50
	Squalan	25
	Wasser	ad 220
2. Herstellung der O/W-Creme	Emulsion aus Arbeitsschritt 1	110
	Xanthan Gummi (Amaze XT)	5
	Wasser	181,6
	Lactat-Puffer (s. Tab. 7)	ad 500

#### Übersicht der Herstellmethode für Vehikel-Grundlage von Prototyp G

Die Grundlage von Prototyp G (s. Tab. 9) wird in einem einstufigen Prozess hergestellt. Eine 500 g TOPITEC Kruke wird auf einer geeigneten Waage (MonoBloc inside, Mettler-Toledo GmbH) tariert. Dann werden zuerst alle Feststoffe (Xanthan Gummi: Amaze XT, mesoporöses Siliciumdioxid) eingewogen und im Anschluss werden die flüssigen Bestandteile (Pentylenglycol und Wasser) eingewogen. Im Anreibeschritt werden die Feststoffe in der flüssigen Phase bei 2000 UpM für 10 min dispergiert. Der zweite Teil des Wassers wird eingewogen und bei 2000 UpM für 5 min eingearbeitet. Abschließend wird der fehlende Lactat-Puffer bei 2000 UpM für 5 min eingearbeitet.

Tab. 9: Zusammensetzung der Vehikel-Grundlage von Prototyp G

Arbeitsschritte	Hilfsstoffe	Soll-Einwaage [g]
1. Herstellung des Hydrogels	Xanthan Gummi (Amaze XT)	5
	Mesoporöses Siliciumdioxid	2,5
	Pentylenglycol	25
	Wasser	2 x 129,25
	Lactat-Puffer (s. Tab. 7)	ad 500

Übersicht der Herstellmethode für eine 100 g Vehikel-Grundlage von Prototyp G, um eine 50 g wirkstoffhaltige Ansatzgröße für 4.4 herzustellen

Die Herstellung der 100 g Ansatzgröße erfolgt in der gleichen Reihenfolge wie in Tab. 9 beschrieben. Jedoch wird hier als Rührsystem der gako unguator PRO mit Standardflügelrührer (Gako Deutschland GmbH) eingesetzt. Eine 100 g gako unguator Kruke wird auf einer geeigneten Waage (NewClassic MF, Mettler-Toledo GmbH) tariert. Dann werden zuerst alle Feststoffe und im Anschluss alle flüssigen Bestandteile außer dem Lactat-Puffer eingewogen. Der Anreibeschritt besteht aus dem Standardprogramm (Suspensions-Programm für WS > 2 % [56]) des gako unguator PRO, welches einmal durchgeführt wird. Abschließend wird der fehlende Lactat-Puffer bei 1400 UpM für 4 min eingearbeitet.

Übersicht der Herstellmethode für Vehikel-Grundlage von Prototyp H

Die Herstellung von Prototyp H (s. Tab. 10) erfolgt in einem zweistufigen Prozess. Zuerst wird die Gel-Stammverreibung hergestellt. Dabei wird ein 500 mL Becherglas auf einer geeigneten Waage (NewClassic MF, Mettler-Toledo GmbH) tariert und Wasser eingewogen. In einer separaten Wägeschale wird der Gelbildner (SENSOCEL stab 026-N) eingewogen. Der Gelbildner wird über 5 min in Anteilen zum Wasser zu gestreut und mit einem Dispergiergerät (IKA T25 digital ULTRA-TURRAX, IKA-Werke GmbH & Co. KG) bei 10 000 UpM vordispergiert. Nach vollständiger Zugabe des Gelbildners wird die Probenmasse zu einer 10%igen Stammverreibung bei 20 000 UpM für 5 min homogenisiert. Im zweiten Schritt wird eine O/W-Creme aus der Gel-Stammverreibung hergestellt. Dabei wird eine 500 g TOPITEC Kruke auf einer geeigneten Waage (MonoBloc inside, Mettler-Toledo GmbH) tariert und die Gel-Stammverreibung eingewogen. Im Anschluss wird das Squalan eingewogen und bei 2000 UpM für 10 min in die Gel-Stammverreibung dispergiert. Danach erfolgt die Verdünnung mit Pentylenglycol, Wasser und Lactat-Puffer durch Mischen bei 2000 UpM für 5 min. Abschließend wird der letzte benötigte Anteil an Lactat-Puffer bei 2000 UpM für 5 min eingearbeitet.

Tab. 10: Zusammensetzung der Vehikel-Grundlage von Prototyp H

Arbeitsschritte	Hilfsstoffe	Soll-Einwaage [g]
1. Herstellung der Gel-stammverreibung	Mikrokristalline Cellulose und Xanthan Gummi (SENSOCEL stab 026-N)	30
	Wasser	ad 300

2. Herstellung der O/W-Creme	Gel-Stammverreibung aus Arbeitsschritt 1	200
	Squalan	12,5
	Pentylenglycol	25
	Wasser	64,7
	Lactat-Puffer (s. Tab. 7)	(2x 98,9) ad 500

### 3.2.1.2 Herstellung von wirkstofffreien Vehikel-Grundlagen im Technikumsmaßstab

Eine Ansatzvergrößerung von 500 g auf 3000 g erfolgt ausschließlich für die Grundlage des Prototyps G (s. Tab. 9) mittels eines Labor-Homogenisier-Mischers (BECOMIX RW 2,5, A. Berents GmbH & Co. KG). Die Herstellung erfolgt als zweistufiger Prozess unter Vakuum (0,7 bar Unterdruck), bei einer Manteltemperatur von 20 °C und einer Produkttemperatur von 23 °C. Zuerst wird im Produktbehälter ca. 1/5 der gesamten Wassermenge vorgelegt, der Gelbildner (Xanthan Gummi: Amaze XT) zugegeben und mit dem restlichen Wasser ergänzt. Der Gelbildner wird für 30 min unter konstanter Anwendung des Ankerrührers (1,0 m/s; Wechsel links/rechts) und einem zu Beginn aktivierten Rotor-Stator-Homogenisator (5 min; 5 m/s; ohne Loop) dispergiert. Im zweiten Prozessschritt wird nach ablassen des Vakuums direkt auf die gelierte Produktmasse das gesamte mesoporöse Siliciumdioxid aufgestreut und mit Pentylenglycol und dem Lactat-Puffer die fehlende Masse ergänzt. Das Einarbeiten erfolgt unter Vakuum (0,7 bar Unterdruck) für 30 min bei einem aktivierten Ankerrührer (1,0 m/s; Wechsel links/rechts).

### 3.2.1.3 Einarbeitung von Wirkstoff in wirkstofffreien Vehikel-Grundlagen im Rezepturmaßstab

Beide WS werden vor der Verwendung für ca. 2 Stunden auf RT angewärmt, da Nadifloxacin (NDN) bei -20 °C und Benzoylperoxid (BPO) bei 2-8 °C gelagert wird. Die benötigte Menge an BPO wird zur Desagglomeration durch ein Teesieb aus Edelstahl (Siebmaschenweite: ca. 800 µm) in eine Fantaschale gesiebt. Eine 50 g gako unguator Kruke wird auf einer geeigneten Waage (DeltaRange, Mettler-Toledo GmbH) tariert. Im Anschluss werden ca. 25 % der wirkstofffreien Grundlage eingewogen (s. 3.2.1.1). Danach werden beide WS nacheinander

unter Berücksichtigung der Wirkstoffkonzentration und des Wirkstoff-Einwaage-Korrekturfaktors direkt in die Kruke, zentrisch auf die wirkstofffreie Grundlage, eingewogen. Mit der fehlenden Masse an wirkstofffreier Grundlage, wird der Ansatz auf 50 g ergänzt und dabei das Wirkstoffpulver komplett überdeckt. Das Einarbeiten der WS erfolgt in zwei Arbeitsschritten. Zuerst wird ein Anreibeschritt durchgeführt: Hier wird ein Standardprogramm (Suspensions-Programm für WS > 2 % [56]) des gako unguator PRO (Gako Deutschland GmbH) dreimal in Folge mit seinem Standardflügelrührer verwendet. Im Anschluss erfolgt der Homogenisierungsschritt, der die Fertigstellung der wirkstoffhaltigen Zubereitung bei 1400 UpM für 6 min gewährleistet. Bei der Herstellung der Prototypen F-H wird die Kruke während der gesamten Prozesszeit von 10 min von außen durch ein Eiswasser-Bad gekühlt, sodass die Produkttemperatur während der gesamten Verarbeitung unter 25 °C bleibt.

Pooling von 4-Einzelansätzen, um eine Ansatzgröße von 200 g mit hoher Probenhomogenität der wirkstoffhaltigen Vehikel-Grundlagen von Prototypen F-H für 4.2, 4.3 und 4.4 herzustellen

Eine 200 g gako unguator Kruke wird auf einer geeigneten Waage (NewClassic MF, Mettler-Toledo GmbH) tariert. Im Vorfeld werden vier wirkstoffhaltige Ansätze mit jeweils 60 g hergestellt (s. 3.2.1.3), von jedem Ansatz werden anschließend jeweils ca. 50 g in die Kruke eingewogen. Im anschließenden Homogenisierungsschritt wird bei 1400 UpM für 20 min 200 g Zubereitung hergestellt. Während des gesamten Rührprozesses wird die Kruke von außen durch ein Eiswasser-Bad gekühlt, sodass die Produkttemperatur während der gesamten Verarbeitung unter 25 °C bleibt.

Um eine Placebo-Kontrollgruppe mit vergleichbaren Eigenschaften zu erhalten, werden 200 g wirkstofffreie Grundlage in eine 200 g gako unguator Kruke eingewogen und dem gleichen Homogenisierungsschritt unterzogen.

### **3.2.1.4 Einarbeitung von Wirkstoff in wirkstofffreien Vehikel-Grundlagen im Technikumsmaßstab**

Die Herstellung einer wirkstoffhaltigen Zubereitung im Technikumsmaßstab erfolgt ausschließlich für den Prototyp G mit 1 % NDN und 5 % BPO. Hierfür wird zunächst eine Stammverreibung der WS im gako unguator PRO mit Standardflügelrührer (Gako Deutschland GmbH) hergestellt, um eine ausreichende Wirkstoffhomogenität zu erhalten. Dafür werden die WS aus dem Kühlschrank entnommen und zunächst auf RT erwärmt. BPO wird mit Hilfe eines manuellen Siebgerätes (Maschenweite von 800 µm) desagglomeriert.

Eine 500 g gako unguator Kruke wird auf einer geeigneten Waage (NewClassic MF, Mettler-Toledo GmbH) tariert. Im Anschluss werden ca. 10 % der wirkstofffreien Vehikel-Grundlage (die zuvor im Labor-Homogenisier-Mischer (BECOMIX RW 2,5, A. Berents GmbH & Co. KG) hergestellt wird, s. 3.2.1.2) eingewogen. Im Anschluss werden beide WS (NDN: 21 g; BPO: 140 g) nacheinander unter Berücksichtigung der Wirkstoff-Einwaage-Korrekturfaktoren direkt in die Kruke, zentrisch auf die wirkstofffreie Grundlage eingewogen. Mit der fehlenden Masse an wirkstofffreier Grundlage wird der Ansatz auf 480 g ergänzt und dabei das Wirkstoffpulver komplett überdeckt. Das Einarbeiten der WS erfolgt bei 2400 UpM für 30 min, unter ständiger Kühlung (< 25 °C) der Kruke durch ein externes Eiswasser-Bad. Um 2000 g wirkstoffhaltigen Prototyp G herzustellen, werden im Produktbehälter des Labor-Homogenisier-Mischers 750 g wirkstofffreie Grundlage vorgelegt mit 460 g Stammverreibung versetzt und auf 2000 g mit fehlender Masse an wirkstofffreier Vehikel-Grundlage ergänzt. Das Mischen erfolgt hier für 30 min bei einem aktivierten Ankerrührer (1,0 m/s; Wechsel links/rechts) unter Vakuum (0,7 bar Unterdruck), einer Manteltemperatur von 20 °C und einer Produkttemperatur von 23 °C.

### **3.2.2 Bestimmung des mikro- und makroskopischen Erscheinungsbildes**

Das mikroskopische Erscheinungsbild der Proben wird durch polarisationsmikroskopische Aufnahmen mittels Lichtmikroskop (Axio Imager Z.1, Carl Zeiss AG) mit einer AxioCam 105-Farbkamera festgehalten. Dabei wird ein 20x 0.8 Objektiv verwendet. Es wird eine Spatelspitze Probe auf einem Objektträger vorgelegt und mit einem Tropfen Wasser verdünnt. Auf die verdünnte Probenmasse wird ein Deckglas aufgelegt und im Anschluss sofort analysiert. Dieser Vorgang wird für jede Probe dreimal hintereinander durchgeführt.

Das makroskopische Erscheinungsbild wird mit einer Kamera (Sony Cyber-shot DSC-RX100M3, Sony Europe B.V.) mit Stativ dokumentiert. Dabei werden die Aufnahmen mit und ohne Schwarztafel als Hintergrund durchgeführt. Alle Aufnahmen werden ohne Tageslicht Einfluss im Endgefäß gemacht.

### **3.2.3 Bestimmung des pH-Wertes**

Die pH-Werte der Prüfproben werden mit einem pH-Meter (SevenEasy, Mettler-Toledo GmbH) und einer speziellen pH-Einstabmesskette für halbfeste Zubereitungen (InLab Viscos Pro-ISM, Mettler-Toledo GmbH) gemessen. Dabei wird in ein 2 mL Einmal-Reaktionsgefäß ca. 1 mL Prüfprobe vorgelegt. Die unverdünnten Proben werden dreimal hintereinander direkt ver-

messen und der Mittelwert (MW) mit Standardabweichung (SD) gebildet. Wird eine pH-Abnahme angegeben, dann berechnet sich diese durch die Subtraktion des Ausgangswertes ( $t = 0$  d, RT) mit dem jeweils gemessenen pH-Wert der Probe zum Prüfzeitpunkt (z. B.  $t = 14$  d,  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Aus den drei ermittelten Differenzen wird der MW mit SD gebildet.

### 3.2.4 Bestimmung des Wirkstoffgehalts mittels HPLC

Die Quantifizierung der WS in Prüfproben erfolgt mittels HPLC der Firma Shimadzu GmbH. Dabei erfolgt die Kalibrierung in unterschiedlichen Arbeitsbereichen für NDN:  $50\text{-}100\text{ }\mu\text{g/mL}$ ,  $100\text{-}250\text{ }\mu\text{g/mL}$  und für BPO:  $100\text{-}250\text{ }\mu\text{g/mL}$ ,  $250\text{-}500\text{ }\mu\text{g/mL}$  gemäß ICH Q2(R1) [57]. Die Berechnung der Wirkstoffkonzentration erfolgt auf Grundlage der Korrelation der gemessenen Peakfläche mit der Wirkstoffkonzentration.

#### 3.2.4.1 HPLC-Methode

Die Wirkstoffkonzentration wird mit einem CBM-20 A HPLC-System bestimmt, das mit einem UV-VIS-Detektor (SPD-20A) ausgestattet ist. Als stationäre Phase dient eine HPLC-Säule RP-C18 (EC 125/4 NUCLEOSIL 100-5 C18, MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG). Die Temperatur des Säulenofens wird auf  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  und die Flussrate auf  $1\text{ mL/min}$  eingestellt. Das Injektionsvolumen wird auf  $10\text{ }\mu\text{L}$  mit Acetonitril (ACN) als Injektionsmedium eingestellt. Die Detektion der WS erfolgt bei einer Wellenlänge von  $236\text{ nm}$ , dabei eluiert NDN nach einer Retentionszeit von ca.  $5,5\text{ min}$ , und BPO nach ca.  $12\text{ min}$  (s. Abb. 7).

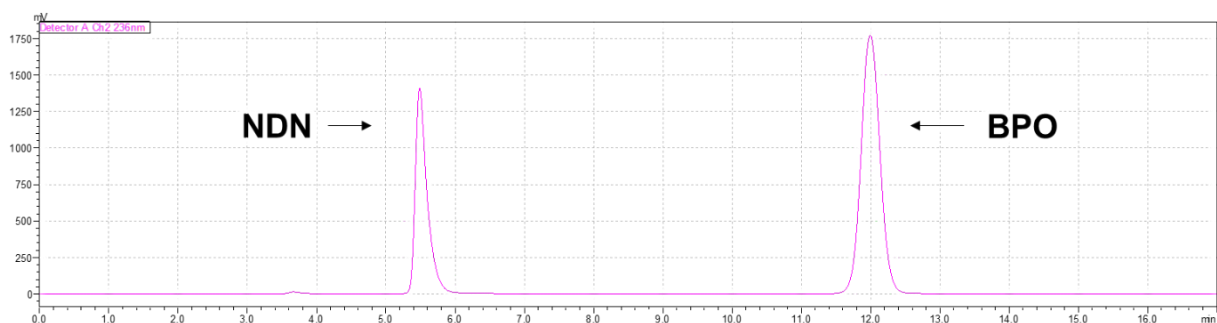


Abb. 7: Referenz-Chromatogramm von NDN und BPO in ACN

Um die gewünschte Trennung beider WS zu ermöglichen, wird ein Gradient gefahren. Die mobile Phase des Gradienten enthält ACN, Methanol (MeOH) und Wasser ( $\text{H}_2\text{O}$ ) mit einem Zusatz von  $0,1\text{ }\%$  (V/V) 98%igen Ameisensäure.

Die Zusammensetzung der mobilen Phase ändert sich über die Chromatographiedauer von 17 min gemäß Tab. 11.

Tab. 11: Zusammensetzung der mobilen Phase

Zeit [min]	Modus	Zusammensetzung [%]
0-1	isokratisch	70/30: H <sub>2</sub> O/ACN
1-2	gradient	33/67: H <sub>2</sub> O/MeOH
2-14	isokratisch	33/67: H <sub>2</sub> O/MeOH
14-15	gradient	70/30: H <sub>2</sub> O/ACN
15-17	isokratisch	70/30: H <sub>2</sub> O/ACN

Arzneibuch-konformes BPO darf bis zu 1,5 % Benzoesäure als Verunreinigung enthalten [16]. Die entwickelte HPLC-Methode kann diese mit einer Retentionszeit von ca. 3,5 min von beiden WS trennen (s. Abb. 8-10).

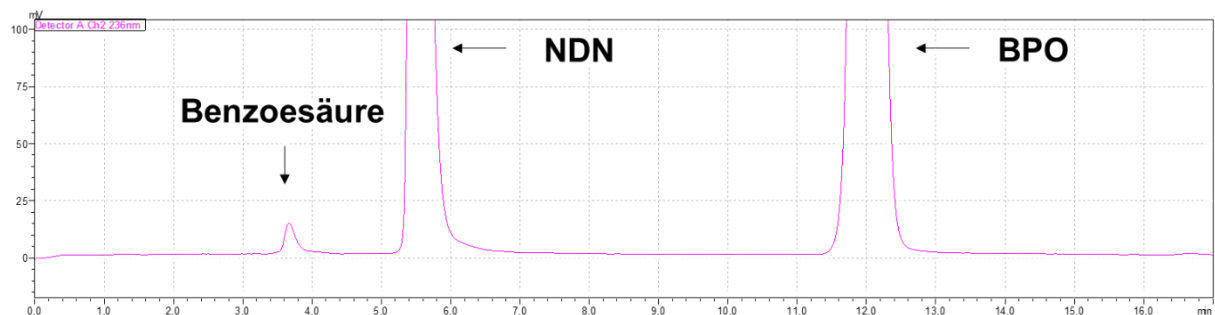


Abb. 8: Referenz-Chromatogramm von NDN und BPO in ACN gezeigt als Zoom-Modi



Abb. 9: Referenz-Chromatogramm von Benzoesäure in ACN im Rahmen der Methodenentwicklung

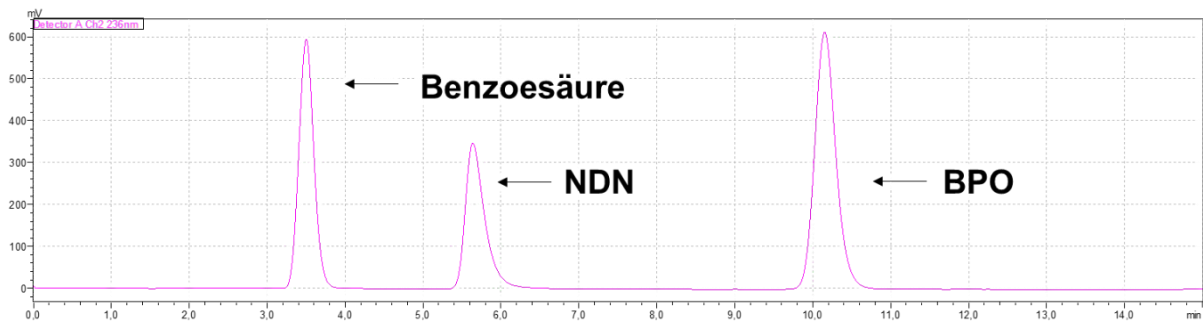


Abb. 10: Referenz-Chromatogramm von NDN, BPO und Benzoesäure  
(zu gleichen Anteilen: 1+1+1) in ACN im Rahmen der Methodenentwicklung

### 3.2.4.2 Probenaufbereitung aus Formulierungen

Aus den zu untersuchenden Proben mit 1 % NDN und 10 % BPO werden jeweils drei Aliquote zu je 0,25 g Probenmasse mit einer Transferpipette entnommen, in einen tarierten 10 mL Messkolben überführt und ca. zur Hälfte mit ACN befüllt. Die Proben werden mit einem Ultraschallbad (Sonorex Super RK 106, Bandelin electronic GmbH & Co. KG) für 30 min beschallt. Im Anschluss werden die Messkolben ad 10 mL mit ACN befüllt und manuell geschüttelt. Der vollständige Inhalt wird in 15 mL Zentrifugenröhrchen überführt und für 15 min bei 22 °C mit 3000 UpM mit einer Zentrifuge (Megafuge 1.0 R, Heraeus Instruments) zentrifugiert. Der Überstand wird mit einer 5 mL Einmalspritze abpipettiert und durch ein 0,20 µm Spritzenvorsatzfilter (CHROMAFIL Xtra H-PTFE-20/25, MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG) filtriert. Im Anschluss erfolgt eine 1:5 Verdünnung jeder Probe mit filtriertem ACN, um im Kalibrierbereich der HPLC-Methode (s. 3.2.4.1) die Wirkstoffkonzentration vermessen zu können. Jedes der drei Aliquote wird einmal vermessen und daraus der MW mit SD gebildet.

#### Optimierte Probenaufbereitung aus Formulierungen für die Prototypen F-H mit 1 % Nadifloxacin und 5 % Benzoylperoxid

Um die Probenaufbereitung zu beschleunigen und ressourceneffizienter zu Arbeiten wird für die Prototypen F-H die analytische Probenaufbereitung optimiert. Zuerst wird ein 15 mL Zentrifugenröhrchen auf eine geeignete Waage (DeltaRange, Mettler-Toledo GmbH) tariert. Im nächsten Schritt wird ca. 0,1 g wirkstoffhaltige Probe mittels Spatel in das Zentrifugenröhrchen überführt und genau gewogen. Dabei sollte die Probenmasse am Boden des Zentrifugenröhrchen platziert werden. Im ersten Extraktionsschritt wird 3 mL Wasser mit einer 5 mL Pipette (Transferpipette S, BRAND GmbH + Co. KG) zugegeben und im Anschluss wird die Probe für 5 min bei 500 UpM im Labor-Schüttler (VXR basic Vibrax, IKA Werke GmbH & Co. KG) geschüttelt. Dieser Schritt ist erforderlich, um die Gelstruktur zu verdünnen.

Beide WS sedimentieren danach als Wirkstoffpartikel am Boden des Zentrifugenröhrchen. Im zweiten Extraktionsschritt wird 2 x 5 mL ACN zupipettiert und im Anschluss wird die Probe für 60 min bei 1250 UpM geschüttelt. Dieser Schritt ist erforderlich, um beide WS in die Lösung zu bringen und störende Gelbildner auszufällen. Anschließend wird 3 mL klarer Extraktüberstand mittels 5 mL Einmalspritzen aufgezogen und durch einen 0,20 µm Spritzenvorsatzfilter (CHROMAFIL Xtra H-PTFE-20/25, MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG) filtriert. Der erste 1 mL wird verworfen, danach wird 1 mL direkt in ein HPLC-Vial filtriert, dieses verschlossen und ohne weitere Verdünnung direkt mittels HPLC analysiert.

### **3.2.5 Stabilitätsuntersuchung der Wirkstoffe**

Die Stabilitätsuntersuchung der WS gliedert sich in drei Teilaspekte, die in 3.2.5.1-3.2.5.3 beschrieben werden. Die gewählten Studiendesigns der Untersuchungen dienen dazu, bei möglichst geringem Wirkstoffverbrauch einen optimalen Erkenntnisgewinn für die finale Stabilitätsuntersuchung (s. 3.2.6) zu erzielen. Zur Bewertung der Prüfergebnisse wird das Bewertungssystem, das in 3.2.7 beschrieben wird, verwendet.

#### **3.2.5.1 Untersuchung der intrinsischen chemischen Stabilität der Wirkstoffe**

Das Studiendesign der intrinsischen chemischen Stabilität (s. Tab. 12) beinhaltet fünf Versuche, bei jeweils unterschiedlichen pH-Bedingungen. Diese Stressbedingungen ermöglichen es die Oxidations- und Hydrolysestabilität der WS zu prüfen [58, 59], die mittels Gehaltsbestimmung (s. 3.2.4) festgestellt werden.

Alle Proben werden bei RT am Arbeitsplatz und bei 60 °C im Trockenschrank (TU 60/60, Heraeus Holding GmbH) unter Lichtschutz gelagert. Proben, die bei RT eingelagert werden, weisen eine Lagerdauer von einem und 7 Tagen auf. Aufgrund der geringen Reaktionsgeschwindigkeit wird  $t = 1$  d als Startwert herangezogen. Somit erfolgt ein Probenvergleich bei RT mit Bezug auf  $t = 1$  d. Des Weiteren werden Proben bei 60 °C für 7 Tage gelagert. Als Vergleich dienen Proben, welche bei RT für 7 Tage gelagert werden.

Die gelagerten Proben werden aufgrund der geringen Löslichkeit der WS in Übereinstimmung mit ICH Q1A(R2) [60] als 1%ige Suspensionen in den jeweiligen wässrigen Medien (Wasser+Puffer/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) hergestellt. Es werden drei Ansätze hergestellt: a) NDN, b) BPO, c) NDN+BPO. Jeder Ansatz wird dreimal hergestellt und jeweils einmal vermessen und der MW mit SD gebildet.

Für die Pufferung der wässrigen Medien (bei pH: 5,5 und 7,0) wird ein Phosphat-Puffer mit Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat und Dinatriumhydrogenphosphat-Anhydrat eingesetzt. Der Puffer wird auf Basis einer 0,1 M Säure hergestellt. Für wässrige Medien bei pH 1,0 und 13,0 wird jeweils eine 0,1 M HCl- und 0,1 M NaOH-Stammlösung eingesetzt. Für die Lagerung in 0,35 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> wird eine 35%ige H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Stammlösung im Verhältnis 1:100 mit Phosphat-Puffer (pH 7,0) verdünnt. Die WS werden in einem tarierten 10 mL Messkolben exakt eingewogen, mit den wässrigen Medien versetzt und anschließend gelagert. Nach dem Erreichen des Prüfzeitpunktes werden die Proben wie folgt aufbereitet: Es wird ca. 5 mL ACN hinzugegeben, um die WS vollständig in Lösung zu bringen. Dabei werden die Proben für 30 min im Ultraschallbad (Sonorex Super RK 106, Bandelin electronic GmbH & Co. KG) beschallt und im Anschluss auf ad 10 mL mit ACN aufgefüllt und händisch geschüttelt. Im Anschluss erfolgt eine 1:5 Verdünnung mit reinem ACN. Nach der Verdünnung wird 1 mL Wirkstofflösung mittels einer 5 mL Einmalspritze abpipettiert und durch einen 0,20 µm Spritzenvorsatzfilter (CHROMAFIL Xtra H-PTFE-20/25, MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG) in ein HPLC Vial filtriert.

Tab. 12: Studiendesign der intrinsischen chemischen Stabilitätsuntersuchung

Versuche	pH-Bedingungen	Ansätze	Lagerbedingungen	Prüfzeitpunkte
1	1,0 (0,1 M HCl)	NDN BPO NDN+BPO	RT 60 °C	t = 1 d t = 7 d
2	5,5 (Puffer)			
3	7,0 (Puffer)			
4	13,0 (0,1 M NaOH)			
5	7,0 (Puffer) + 0,35% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>			

### 3.2.5.2 Untersuchung der Wirkstoffstabilität unter Berücksichtigung wichtiger Vehikel-Grundlagen

Die Stabilitätsstudie (s. Tab. 13) gibt Hinweise zur Wirkstoffstabilität in Anwesenheit relevanter Vehikel-Grundlagen. Dort werden unterschiedliche HS und HS-Kombinationen mit unterschiedlichen Konzentrationen in Vehikel-Grundlagen (s. 3.2.1.1) eingesetzt.

Für die Studie werden je Vehikel drei Ansätze hergestellt: a) NDN, b) BPO, c) NDN+BPO. Jeder Ansatz wird einmal hergestellt (s. 3.2.1.3) und entsprechend der Anzahl der Prüfzeitpunkte, jeweils in gleich große Teilmengen in Glasvials (20 mL Injektionsflaschen) überführt und im Trockenschrank (TU 60/60, Heraeus Holding GmbH) bei 40 °C eingelagert. In den Vehikeln liegen die WS in ihren topisch maximal eingesetzten Konzentrationen vor. Als Prüfzeitpunkte werden t = 0 d, 14 d und 28 d gewählt. Folgende Prüfungen werden durchgeführt: Untersuchung des makroskopischen Erscheinungsbildes, Bestimmung des pH-Wertes und des Wirkstoffgehalts mittels HPLC (s. 3.2.2-3.2.4).

Tab. 13: Studiendesign der Stabilitätsuntersuchung mit wichtigen Vehikel-Grundlagen

Ansätze	Wirkstoff-Konzentration	Lagerbedingung	Prüfzeitpunkte
NDN	NDN: 1 %	40 °C	t = 0 d
BPO	BPO: 10 %		t = 14 d
NDN+BPO			t = 28 d

### 3.2.5.3 Untersuchung der Wirkstoffstabilisierung von Benzoylperoxid in Vehikel-Grundlagen

Es werden Maßnahmen ergriffen, um die Wirkstoffstabilität von BPO in Vehikel-Grundlagen zu erhöhen. Insbesondere gehören dazu: Die Identifizierung von kritischen HS, der Einsatz von Stabilisatoren (HS) zur Verlängerung der BPO-Lebensdauer in Vehikeln und die Untersuchung des Einflusses des Herstellverfahrens auf die BPO-Probenstabilität.

#### Identifizierung kritischer Hilfsstoffe von Benzoylperoxid

Um kritische HS zu identifizieren, werden diese jeweils einzeln mit Gelbildner (SEPINEO D.E.R.M), Puffer-Substanz (NaOH/HCl-Stammlösung) und Wasser vermischt (s. 3.2.1.1). Im Anschluss erfolgt das Einarbeiten von 10 % BPO (s. 3.2.1.3). Jeder Ansatz wird einmal hergestellt und entsprechend der Anzahl der Prüfzeitpunkte, jeweils in gleich große Teilmengen in Glasvials (20 mL Injektionsflaschen) überführt und im Trockenschrank (TU 60/60, Heraeus Holding GmbH) bei 40 °C eingelagert und an den Prüfzeitpunkten t = 0 d, 14 d, 28 d und 84 d untersucht.

Es werden Untersuchungen des makroskopischen Erscheinungsbildes, Bestimmung des pH-Wertes und des Wirkstoffgehalts mittels HPLC durchgeführt (s. 3.2.2-3.2.4).

#### Einsatz von potenziellen Stabilisatoren zur Verlängerung der Benzoylperoxid-Lebensdauer in Vehikel-Grundlagen

Die Identifizierung der HS (Stabilisatoren), die möglicherweise die BPO-Lebensdauer im Vehikel erhöhen können, wie z. B. Antioxidantien und Puffersalze (s. 4.1.3), wird nach dem gleichen Prinzip wie im obigen Abschnitt „Identifizierung kritischer Hilfsstoffe von Benzoylperoxid“ durchgeführt.

Ausnahmen stellen folgende Versuchsreihen dar:

- 1) Untersuchung der BPO-Stabilität mit verschiedenen Gelbildnern:  
Hier werden die jeweiligen Gelbildner statt SEPINEO D.E.R.M. eingesetzt.
- 2) Untersuchung der BPO-Stabilität mit verschiedenen Puffersystemen:  
Hier wird 3 % KETROL F als Gelbildner verwendet und die Puffer (Milchsäure/Laktat, Essigsäure/Acetat und Dinatriummonohydrogenphosphat-Anhydrat/Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat) auf eine 0,1 M Säure eingestellt für einen pH-Wert von 5,5.
- 3) Untersuchung der BPO-Stabilität mit Docusat-Natrium und Antioxidantien:  
Hier wird zusätzlich zu 10 % BPO, 1 % NDN allein und in Kombination mit 10 % BPO untersucht. Für die Docusat-Natrium-haltigen Proben wird 2%iges SEPINEO DERM als Gelbildner verwendet. Für Proben mit Antioxidantien werden folgende Gelbildner verwendet: RonaCar AP und GRINDOX 1032: 1%iges Pemulan TR1; RonaCare MAP: 2%iges Amaze XT.

#### Einfluss des Herstellverfahrens auf die Benzoylperoxid-Stabilität in Vehikel-Grundlagen

Zur Abklärung eines möglichen Einflusses des Herstellverfahrens auf die BPO-Stabilität in Vehikel-Grundlagen (s. 3.2.1.1) ist eine systematische Untersuchung erforderlich. Dabei wird mit der bisherigen Herstellmethode (s. 3.2.1.3), der sog. Standard-Methode (STD-Methode), jeweils eine 1%ige und 10%ige BPO-Formulierung hergestellt und mit zwei weiteren Methoden (Methode 2 und 3) verglichen.

Mit Methode 2 und 3 werden lediglich 10%ige BPO-Formulierungen hergestellt. Bei der Methode 2 (sog. KÜHL-Methode) werden die gleichen Prozessparameter gefahren, wie bei der bisherigen Herstellmethode. Eine Ausnahme stellt hier die externe Kühlung (< 25 °C) des Rührgefäßes durch Eiswasser dar, welche eine starke Temperaturentwicklung während der

Herstellung verhindert und somit den Temperatureinfluss mit Hilfe eines IR-Thermometers (testo 830-T4, Testo SE & Co. KGaA) auf die BPO-Stabilität untersucht.

Methode 3 (die sog. Optimierungs-Methode: OPT-Methode) verzichtet auf den Anreibeschrift. Die benötigte homogene Wirkstoffverteilung der Grundlage wird durch den längeren Homogenisierungsschritt bei 400 UpM für 10 min erreicht. Das Ziel ist es, den Einfluss der Scherbelastung auf die BPO-Probenstabilität zu untersuchen. Eine Reduktion der Scherbelastung kann durch die Reduktion der Umdrehungszahl des Rührwerkzeuges ermöglicht werden.

Der Einfluss auf die Stabilität wird aus dem pH-Wert abgeleitet (s. 3.2.3), der nach einer Lagerdauer von  $t = 14$  und 28 Tagen bei 40 °C gemessen wird. Jede Formulierung wird einmal mit jedem Herstellverfahren hergestellt und entsprechend der Anzahl der Prüfzeitpunkte, jeweils in gleich große Teilmengen in Glasvials (20 mL Injektionsflaschen) überführt und im Trockenschrank (TU 60/60, Heraeus Holding GmbH) eingelagert.

### **3.2.6 Stabilitätsuntersuchung der Wirkstoffe in finalen Vehikel-Grundlagen**

In der finalen Stabilitätsuntersuchung (s. Tab. 14) erfolgt die Untersuchung der wirkstoffhaltigen Proben (NDN+BPO) mit 1 % NDN und 5 % BPO (s. 3.2.1.3) und wirkstofffreien Proben als Placebo-Kontrollgruppe (VEHIKEL) in Prototypen F-H (s. 3.2.1.1). Dabei wird jeder Ansatz einmal hergestellt und entsprechend der Anzahl der Prüfzeitpunkte und Lagerbedingungen, jeweils in gleich große Teilmengen in Glasvials (5 mL Injektionsflaschen) und in Tuben (aus Polyethylen (PE) Kunststoff und Aluminium (ALU)) überführt und eingelagert.

Die Stabilitätsuntersuchung gliedert sich in zwei Teile, die sich im Studiendesign unterscheiden, mit dem Ziel, Ressourcen einzusparen. Folgende Prüfungen werden in beiden Teilen durchgeführt: Mikro- und makroskopisches Erscheinungsbild, pH-Wert, Wirkstoffgehalt, und rheologische Eigenschaften (s. 3.2.2-3.2.4 und 3.2.8). Zur Bewertung der Prüfergebnisse wird das Bewertungssystem (s. 3.2.7) verwendet.

Tab. 14: Studiendesign der Stabilitätsuntersuchung für finale Vehikel-Grundlagen

Ansätze	Wirkstoff-Konzentration	Primärpackmittel	Lagerbedingungen	Prüfzeitpunkte
VEHIKEL	NDN: 1 %	Glasvial	5 °C / k. r. F.	t = 0 d
NDN+BPO	BPO: 5 %	PE-Tube	25 °C / 60 % r. F.	t = 28 d
		ALU-Tube	40 °C / 75 % r. F.	t = 84 d
				t = 168 d

### 3.2.6.1 Ermittlung des geeigneten Primärpackmittels

Der erste Teil dient der Ermittlung eines geeigneten Primärpackmittels. Folgende zum Studienstart verfügbaren Primärpackmittel werden dabei verwendet:

- 1) handelsübliche Tuben aus PE ohne Innenschutzbeschichtung.
- 2) handelsübliche Tuben aus ALU mit Innenschutzlack.
- 3) Glasvials aus Neutralglas (Glas-Typ 1 Qualität nach Ph. Eur.) als Kontrollgruppe.

Hier wird eine 3-monatige Untersuchungsdauer angesetzt, mit einer Lagerung bei 25 °C / 60 % r. F. und 40 °C / 75 % r. F. (Stressbedingung) im Klimaschrank (TCS-1001, ThermoTEC Weilburg GmbH & Co. KG). Proben werden zu den Zeitpunkten t = 28 d und 84 d untersucht.

### 3.2.6.2 Ermittlung der geeigneten Lagerbedingung und Laufzeit

Der zweite Teil ermöglicht es, die Stabilität der finalen Zubereitungen vergleichend zu bewerten und eine Laufzeit mit inklusive Lagerbedingung, mit hoher Sicherheit vorherzusagen. Hierbei wird ausschließlich Glas als Primärpackmittel verwendet, eine Prüfdauer von 6 Monaten angesetzt und die Proben im Kühlschrank (MPR-214F, SANYO Electric Co., LTd.) bei 5 °C / k. r. F., sowie bei 25 °C / 60 % r. F. und 40 °C / 75 % r. F. im Klimaschrank (TCS-1001, ThermoTEC Weilburg GmbH & Co. KG) gelagert. Eine Prüfung erfolgt hier nach t = 28 d, 84 d und 168 d.

### 3.2.7 Bewertungssystem der Stabilitätsuntersuchung




Um die Visualisierung der Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchungen (s. 3.2.5-3.2.6) zu vereinfachen, wird ein Ampelsystem als Bewertungsschema verwendet. Dabei sind folgende Parameter als kritisch anzusehen (s. Tab. 15): Wirkstoffstabilität in Vehikeln, pH-Stabilität und makroskopische Stabilität der Proben. Die Feststellung kritischer Änderung erfolgt durch den Vergleich des Prüfergebnisses der Proben nach Lagerung mit dem jeweiligen Ausgangswert ( $t = 0$  d, RT), d. h. dem Zustand der Proben nach der Herstellung.

Das makroskopische Aussehen verändert sich kritisch, wenn eine Probenverfärbung von weiß nach gelb/braun und/oder ein Viskositätsabfall, welcher zum Verlust des halbfesten Charakters führt, vorliegt. Eine leichte Synärese der Proben ist als akzeptabel zu bewerten. Erfolgt keine makroskopische Änderung der Proben, so wird dies mit gut bewertet.

Zur Bewertung der Wirkstoffstabilität erfolgt folgende Klassifizierung: Eine Wirkstoff-Gehaltsabnahme zum Ausgangswert um  $\geq 5$  %, ist als kritisch zu bewerten. Eine Abnahme von  $< 5$  %, ist als akzeptabel und keine Abnahme ist als gut zu bewerten.

Die pH-Abnahme im Vehikel stellt eine sehr wichtige Prüfgröße dar. Eine Abnahme größer als eine pH-Einheit ist als kritisch zu bewerten, da dies als treibende Kraft für weitergehend chemische und physikalische Veränderung der Formulierungen anzusehen ist. Die restliche Klassifizierung der pH-Abnahme ist in Tab. 15 aufgeführt und folgt dem gleichen Bewertungsschema.

Tab. 15: Bewertungssystem von kritischen Parametern wie WS-, pH- und makroskopische Stabilität

Abnahme: WS-Gehalt [%]	Abnahme: pH-Wert [ / ]	Änderung des makroskopischen Aussehens	Bewertungen	
$\geq 5$	$> 1,0$	Proben Verfärbung und/oder Viskositätsabfall	Kritisch	
$< 5$	0,5-1,0	Leichte Synärese der Proben	Akzeptabel	
0	$< 0,5$	Prüfprobe $\hat{=}$ Probe bei $t = 0$ d, RT	Gut	

### 3.2.8 Untersuchung der rheologischen Eigenschaften mittels Rotations- und Oszillationsmessung

Die rheologischen Eigenschaften werden mit einem Rheometer (Physica MCR 501, Anton Paar Group AG) charakterisiert. Dabei erfolgt die Messung für Proben bei  $t = 0$  Tagen 24 h nach Herstellung. Bei Lagerproben jeweils 3 Tage nachdem sie ausgelagert werden. Die Messung erfolgt mit einer Platte-Platte-Geometrie. Der Durchmesser der Platte beträgt 25 mm, der Messspalt wird auf 200  $\mu\text{m}$  und die Messtemperatur auf 20 °C festgelegt. Die detaillierte Auflistung der Methodenparameter ist in den Tab. 16 und 17 zu finden. Aus jeder Probe werden jeweils drei Aliquote mit ausreichender Probenmasse entnommen, einmal vermessen und der MW mit SD gebildet.

Tab. 16: Übersicht der Methode zur Rotationsuntersuchung (Fließkurve)

Methodenschritte	Schergeschwindigkeit [1/s]	Messpunkte	Messdauer pro Messpunkt [s]
Vorscherung	100	20	3
Schererholung	-	40	3
Aufwärtskurve	1-1000	40	4
Konstante Scherung	1000	20	6
Abwärtskurve	1000-1	40	4

Tab. 17: Übersicht der Methode zur Oszillationsuntersuchung (Amplitudentest)

Methodenschritte	Schergeschwindigkeit [1/s]	Scherdeformation [%]	Winkelgeschwindigkeit [rad/s]	Messpunkte	Messdauer pro Messpunkt [s]
Vorscherung	100	-	-	15	4
Schererholung	0	-	-	40	3
Amplituden Sweep	-	1-1000	10	16	5

### 3.2.9 Untersuchung der dermato-biopharmazeutischen Eigenschaften mittels in-vitro Methode

Für die dermato-biopharmazeutische Charakterisierung der Formulierungen wird eine dafür eigens entwickelte in-vitro Methode, die im Rahmen einer Masterarbeit [61] entstanden ist, zur Untersuchung der Wechselwirkung (Interaktion) von Vehikel-Grundlagen mit künstlichem Sebum, eingesetzt.

#### 3.2.9.1 Herstellung von künstlichem Sebum

Das künstliche Sebum wird mit HS hergestellt, die in Tab. 18 aufgeführt sind. Alle Komponenten werden in eine tarierte Fantaschale mit Pistill eingewogen und bei 60 °C im Wasserbad geschmolzen. Die geschmolzenen Komponenten werden durch ständiges Rühren zu einer homogenen Masse auf RT kaltgerührt. Um 0,1 % Farbstoffmarker (1,4-Bis(p-tolyl-amino)anthrachinon: Dragocolor Türkis Nr. 656871) in das künstliche Sebum einzuarbeiten, wird eine weitere Fantaschale mit Pistill tariert, die vollständige Masse an Farbstoffmarker gewogen und vorgelegt und mit 5 g Sebum angerieben. Anschließend erfolgt eine schrittweise Einarbeitung des restlichen Sebums, bis zur gewünschten Endmasse von 100 g.

Tab. 18: Zusammensetzung des künstlichen Sebums gemäß [62]

Hilfsstoffe	Zusammensetzung [%]
Squalen (98 %)	15
Paraffinwachs	10
Cetylpalmitat	15
Olivenöl	10
Kokosnussfett	10
Baumwollsamensöl	25
Ölsäure	1,4
Palmitoleinsäure (99 %)	5
Palmitinsäure	5
Cholesterin	1,2
Cholesterinoleat (85 %)	2,4

### 3.2.9.2 Ablauf der in-vitro Methode

Ein hydrophober Polytetrafluorethylen (PTFE) Membranfilter (Mitex 5 µm PTFE Membrane, Merck Millipore GmbH) dient zur Simulation von Haarfollikelkanälen und der Hautoberfläche. Dieser Membranfilter wird mit künstlichem Sebum (s. Tab. 18) beladen. Die Methode ist in Abb. 11 schematisch in 5 Arbeitsschritten dargestellt.

Schritt 1: Das künstliche Sebum wird in Methyl-tert-Butylether (MTBE) im Verhältnis 1:4 gelöst und durch viermal 30 µL mit einer 200 µL Pipette (Transferpette S, BRAND GmbH + Co. KG) auf den Membranfilter aufgetragen.

Schritt 2: Nach dem Trocknen (35 °C, 70 min im Trockenschrank: TU 60/60, Heraeus Holding GmbH) und Wiegen der Membran (vor und nach Beladung mit künstlichem Sebum) werden ca. 200 mg der jeweiligen Prüfproben auf die Oberseite des Membranfilters mit Hilfe eines Plexiglaszylinders aufgetragen.

Schritt 3: Der Membranfilter wird dann zwischen zwei Glashalterungen (Glasgestell) gelegt, mit Parafilm abgedeckt und 24 Stunden lang bei 32 °C gelagert.

Schritt 4: Anschließend werden die Proben mit Hilfe eines Baumwolltupfers, der mit 0,5%iger Kochsalzlösung getränkt ist, vom Membranfilter entfernt.

Schritt 5: Schließlich wird der Membranfilter im Anschluss bei 35 °C für 1 h im Trockenschrank getrocknet und danach das verbleibende künstliche Sebum mit 3 mL einer 1:2 MTBE/Ethanol-Mischung im Ultraschallbad (Sonorex Super RK 106, Bandelin electronic GmbH & Co. KG) 5 min lang extrahiert. Das gesamte Extrakt wird mit einer 5 mL Spritze mit Kanüle aufgezogen und mit einem 0,20 µm Spritzenvorsatzfilter (CHROMAFIL Xtra H-PTFE-20/25, MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG) wird 1 mL direkt ins HPLC Vial filtriert.

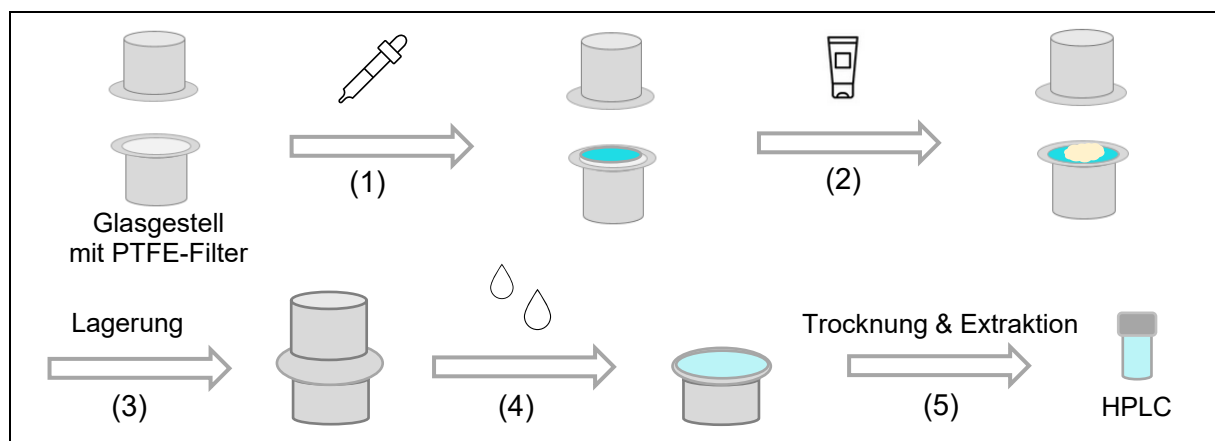


Abb. 11: Schematischer Ablauf der in-vitro Methode zur Untersuchung der Wechselwirkung von Vehikel-Grundlagen mit künstlichem Sebum

### 3.2.9.3 Quantifizierung der extrahierten Menge an künstlichem Sebum mittels HPLC

Zur Bestimmung der im Membranfilter verbliebenen Sebummenge wird ein UV-aktiver lipophiler Farbstoff (Dragocolor türkis Nr. 656871) als Marker verwendet. Die Kalibrierung erfolgt hier über eine Korrelation der Peakhöhe mit der Farbstoffkonzentration im Arbeitsbereich von: 0,5-2,5 µg/mL und 2,5-10 µg/mL gemäß ICH Q2(R1) [57]. Der Farbstoffmarker wird mit einem CBM-20 A HPLC-System bestimmt, das mit einem UV-VIS-Detektor (SPD-20A) ausgestattet ist. Als stationäre Phase dient eine HPLC-Säule RP-C18 (EC 125/4 NUCLEOSIL 100-5 C18, MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG).

Die Temperatur des Säulenofens wird auf 35 °C und die Flussrate auf 1 mL/min eingestellt. Die mobilen Phasen sind (A) Wasser mit 0,1 % (V/V) 98%igen Ameisensäure und (B) ACN unter Anwendung des folgenden Gradienten: 0,0-11,5 min: B (90 %), 11,5-12,5 min: B (90-100 %), 12,5-23,5 min: B (100-90 %), 24,5-30,0 min: B (90 %). Das Injektionsvolumen wird auf 10 µL mit einer 1:2 MTBE/Ethanol-Mischung als Injektionsmedium eingestellt. Der Farbstoffmarker eluiert bei einer Wellenlänge von 637 nm, nach einer Retentionszeit von ca. 8,3 min.

Die Menge des entfernten Sebums aus dem Membranfilter wird aus der proportional extrahierten Menge an Farbstoffmarker anhand der folgenden Gleichungen (1-3) berechnet:

#### Gleichung 1

$$\text{Masse Sebum [mg]} = \text{Masse}_{\text{Filter+Sebum}} [\text{mg}] - \text{Masse}_{\text{Filter, leer}} [\text{mg}]$$

#### Gleichung 2

$$\text{Theoretische Farbstoffkonzentration } [\mu\text{g/mL}] = \frac{(\text{Masse Sebum [mg]} \times 1000) \times \left( \frac{\text{Farbstoffmarker im Sebum [\%]}}{100 \%} \right)}{3 \text{ mL}}$$

#### Gleichung 3

$$\text{Entferntes Sebum [\%]} = 100 [\%] \times \left( 1 - \frac{\text{Gemessene Farbstoffkonzentration } \left[ \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right]}{\text{Theoretische Farbstoffkonzentration } \left[ \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right]} \right)$$

### 3.2.9.4 Quantifizierung der extrahierten Menge an Wirkstoff aus künstlichem Sebum

Zur Untersuchung des Penetrationsvermögens beider WS aus Vehikeln in künstliches Sebum wird in diesen Versuchen dem Sebum kein Farbstoffmarker zugesetzt. Die Untersuchungen werden nach dem beschriebenen Ablaufschema (s. 3.2.9.2) durchgeführt. Lediglich das Extraktionsverfahren unterscheidet sich vom beschriebenen Schema. Die penetrierte Menge an WS, die in dem, im Membranfilter verbliebenen, Sebum enthalten ist, wird folgendermaßen extrahiert: Der Membranfilter wird in ein 15 mL Zentrifugenröhrchen überführt und mit 3 mL ACN im Ultraschallbad (Sonorex Super RK 106, Bandelin electronic GmbH & Co. KG) 15 min lang extrahiert. Das gesamte Extrakt wird mit einer 5 mL Spritze mit Kanüle aufgezogen und mit einem 0,20 µm Spritzenvorsatzfilter (CHROMAFIL Xtra H-PTFE-20/25, MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG) wird direkt 1 mL ins HPLC Vial filtriert und mittels HPLC-Methode der WS (s. 3.2.4.1) analysiert.

### 3.2.9.5 Herstellung der Kontroll- und Prüfproben zur Ermittlung der Interaktion mit Sebum

Für die Negativkontrolle werden alle Komponenten in einer tarierten 50 g gako unguator Kruke eingewogen (s. Tab. 19). Dabei werden die Komponenten mit einem gako unguator PRO (Gako Deutschland GmbH) bei 1500 UpM für 4 min mit einem Standardflügelrührer gerührt. Die Positivkontrolle wird händisch in einer tarierten Fantaschale mit Pistill hergestellt. Dabei wird hochdisperses Siliciumdioxid vorgelegt und Octanol in Anteilen eingerührt (s. Tab. 19).

Tab. 19: Zusammensetzung der Kontrollgruppe

Kontrollgruppe	Zusammensetzung
Negativkontrolle	1,0 % Carbomer 35 000
	0,5 % Trometamin
	0,1 % Natriumedetat
	98,4 % Wasser
Positivkontrolle	10 % Hochdisperses Siliciumdioxid
	90 % Octanol

Wird BPO in das NDN-haltige Fertigarzneimittel Nadixa oder NDN in das BPO-haltige Fertigarzneimittel Benzaknen eingearbeitet, erfolgt dies unter ständigem Kühlen des Rührgefäßes (s. 3.2.1.3). Prüfproben die wirkstofffreie Vehikel-Grundlagen (Prototyp G) mit Zusatz von Emulgatoren (Polyoxyethylen-20-cetyl-ether (Cetomacrogol 1000) und Natriumcocoglutamat (Plantapon ACG 50)) in verschiedenen Konzentrationen enthalten, werden gemäß 3.2.1.3 hergestellt. Dabei erfolgt hier die Herstellung bei 1500 UpM für 4 min. Beim Einarbeiten von Cetomacrogol 1000 wird zuerst eine passende Stammlösung hergestellt. Dafür wird ein 50 mL Becherglas mit passendem Rührfisch auf einer geeigneten Waage (NewClassic MF, Mettler-Toledo GmbH) tariert. Es werden Cetomacrogol 1000 und Wasser nacheinander eingewogen und mit Hilfe eines Magnetrührers (Hei-Tec mit Pt1000, Heidolph Instruments GmbH & CO. KG) bei 500 UpM gerührt und auf 60 °C für 5 min erhitzt und gelöst. Nach dem Abkühlen der Stammlösung auf RT wird eine passende Menge der Stammlösung in die Grundlage eingearbeitet. Dieser Schritt entfällt bei Plantapon ACG 50, da diese Substanz durch ihren flüssigen Aggregatzustand direkt eingearbeitet werden kann.

## 4 Ergebnisse und Diskussion

### 4.1 Stabilitätsuntersuchung der Wirkstoffe

Zielsetzung dieser Untersuchung war es, ressourcensparend und schnell Erkenntnisse über die Wirkstoffstabilität zu gewinnen, welche für die Auswahl der finalen Vehikel-Grundlagen entscheidend ist. Um dies zu realisieren, wurde in dieser Arbeit eine Strategie gewählt, die an das von Alesandro Marangon entwickelte und etablierte Schema zum ressourcensparenden Vorgehen einer Kompatibilitätsuntersuchung unter Stressbedingungen [59] angelehnt ist. Die hier durchgeführte Stabilitätsuntersuchung der Wirkstoffe (WS) gliedert sich in drei Teilaspekte. Im ersten Teil erfolgte eine Einschätzung der intrinsischen chemischen Stabilität von Nadifloxacin (NDN) und Benzoylperoxid (BPO), unter verschiedenen extremen Stressbedingungen. Im zweiten Teil erfolgte die Einschätzung der Kompatibilität zwischen WS und Vehikel-Bestandteilen. Im dritten Teil erfolgte die Entwicklung von Maßnahmen, um die Wirkstoffstabilität von BPO auf Basis der Erkenntnisse von Teil 1 und 2 in den Grundlagen zu erhöhen.

#### 4.1.1 Untersuchung der intrinsischen chemischen Stabilität der Wirkstoffe

Um ein Verständnis der intrinsischen chemischen Stabilität der WS zu entwickeln und daraus potenzielle galenische Stabilisierungsmaßnahmen abzuleiten, wurden Untersuchungen zur Oxidations- und Hydrolysestabilität der WS mittels Gehaltsbestimmung durchgeführt (s. 3.2.5.1).

Die WS wurden allein und in Kombination miteinander bei unterschiedlichen pH-Bedingungen mehrtägig bei Raumtemperatur (RT) und 60 °C gelagert, um festzustellen, ob eine gegenseitige Beeinflussung der Stabilität unter Stressbedingungen existiert. Der Einsatz von 0,1 M HCl- und 0,1 M NaOH-Stammlösungen sollte eine säure- und basenkatalysierte Hydrolyse der WS provozieren. Des Weiteren wurde der pH-Wert von 5,5 eingesetzt, um die Eignung des finalen Ziel-pH-Werts der Formulierungen zu untersuchen. Als Kontrollgruppe dienten Proben, die bei einem pH-Wert von 7,0 gelagert wurden. Die Oxidationsempfindlichkeit der WS wurde mit Hilfe einer pH 7,0 gepufferten 0,35%igen Wasserstoffperoxid-Lösung geprüft.

NDN zeigt, wenn es allein gelagert wird, über 7 Tage bei RT unter allen untersuchten pH-Bedingungen keine Tendenz zu einem hydrolytischen Abbau. In Gegenwart von BPO zeigt NDN bei RT in 0,1 M NaOH eine deutliche Gehaltsabnahme (s. Abb. 12).

NDN allein zeigt auch bei 60 °C unter den verschiedenen pH-Bedingungen keine gravierenden Gehaltsabnahmen, was dafürspricht, dass NDN eine hohe hydrolytische Stabilität zugesprochen werden kann. Bei RT ergeben sich auch keine Hinweise auf eine oxidative Anfälligkeit der Substanz.

Im Gegensatz dazu erweist sich NDN in Gegenwart von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bei 60 °C allerdings als oxidationsempfindlich, die mit einer Gehaltsabnahme einhergeht (s. Abb. 13). Der oxidative Abbau von NDN konnte in einer wissenschaftlichen Untersuchung nicht beobachtet werden [34]. Grund dafür kann sein, dass der Versuch (NDN gelagert in einer 30%igen Wasserstoffperoxid-Lösung für 48 h) bei RT durchgeführt wurde und trotz hoher Konzentration von Wasserstoffperoxid die Temperatur zu niedrig war, um einen oxidativen Abbau innerhalb dieser kurzen Zeit zu triggern. Hingegen konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass in einem stark sauren Milieu (in 2 M HCl-Lösung für 48 h bei 60 °C), eine Decarboxylierung erfolgt, gefolgt von einer Defluorierung und einer Hydroxylierung, die die Leitstruktur von NDN massiv verändert. Grundsätzlich ist in der Literatur aber eine Oxidation von Aminen als mögliche Reaktion beschrieben [35], sodass es auch auf diesem Wege zu einer Änderung der Leitstruktur kommen kann (s. 2.3). NDN zeigt in Kombination mit BPO bei 60 °C nach 7 Tagen im gesamten pH-Bereich keine ausreichende Stabilität, was darauf hindeutet, dass insbesondere BPO die NDN-Stabilität unter Stressbedingungen drastisch beeinflussen kann.

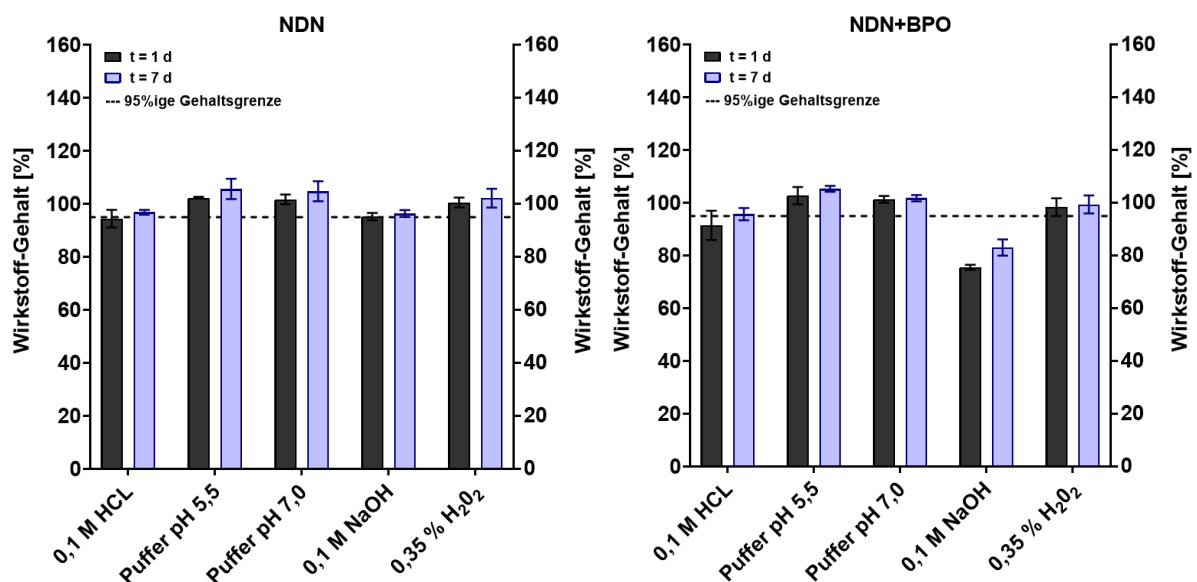


Abb. 12: Wirkstoffstabilität von NDN und NDN in Kombination mit BPO (NDN+BPO) unter Stressbedingungen nach t = 1 d und t = 7 d bei RT

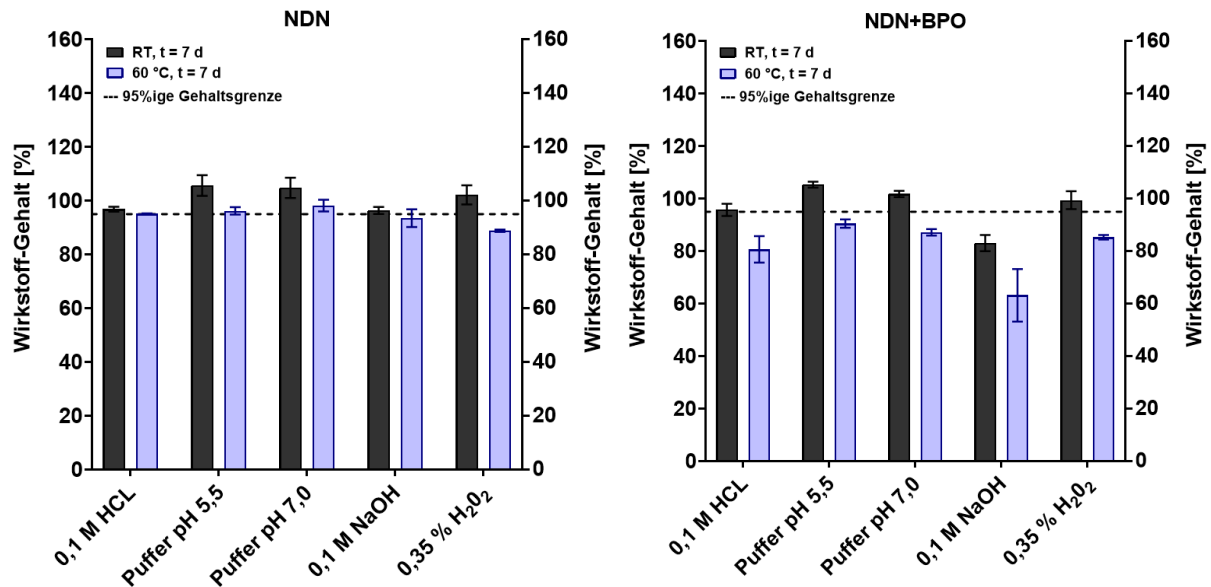


Abb. 13: Wirkstoffstabilität von NDN und NDN in Kombination mit BPO (NDN+BPO) unter Stressbedingungen nach  $t = 7$  d bei RT und  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$

Ein BPO-Abbau unter dem Einfluss von Oxidationsmittel, wie Wasserstoffperoxid, war, genauso wie eine Hydrolyse der Peroxidgruppe, nach einem und sieben Tagen Lagerung zu erwarten, da BPO eine instabile Substanz ist (s. 2.3). Die basenkatalysierte Hydrolyse verläuft bei BPO schneller als die säurekatalysierte (s. Abb. 14). Bei RT fällt der BPO-Abbau unter NaOH-Einfluss nach 7 Tagen in Gegenwart von NDN deutlich geringer aus. Anscheinend reicht hierfür die geringfügige Pufferwirkung, die NDN bewirkt, bereits aus. Erstaunlicherweise zeigt BPO allein und in Gegenwart von NDN bei  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  eine extreme Instabilität (s. Abb. 15). Dies war nicht zu erwarten, da BPO laut Literatur [30] im pH-Bereich von 4-6 als stabil gilt. Offensichtlich gilt dies aber nicht für hohe Temperaturen, sodass die gewählten  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  einen unvorhersehbar großen Einfluss auf die Stabilität von BPO haben.

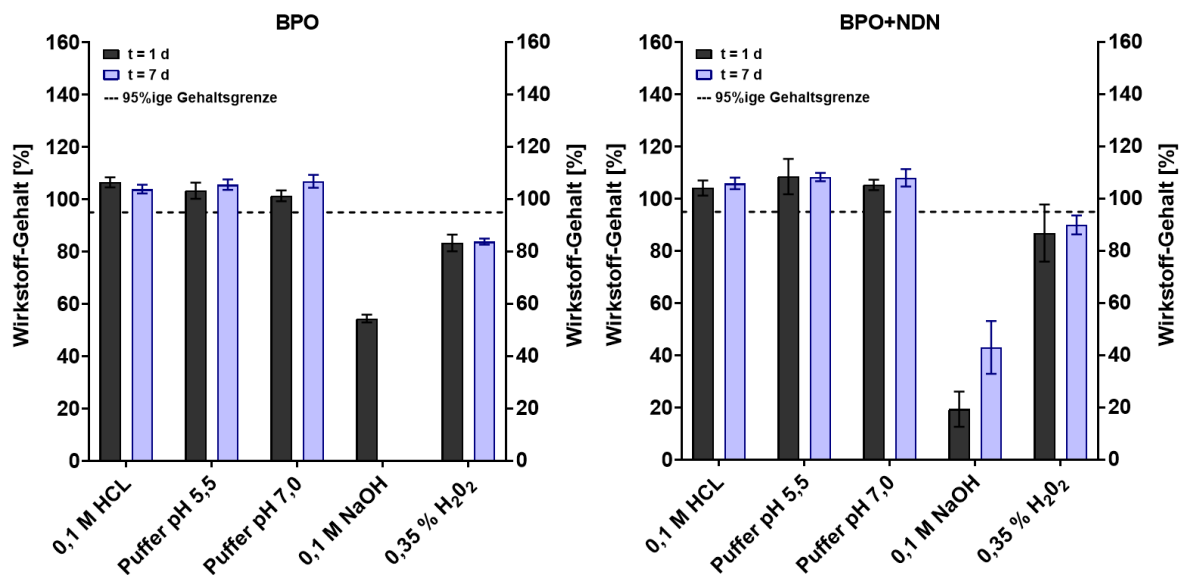


Abb. 14: Wirkstoffstabilität von BPO und BPO in Kombination mit NDN (BPO+NDN) unter Stressbedingungen nach t = 1 d und t = 7 d bei RT

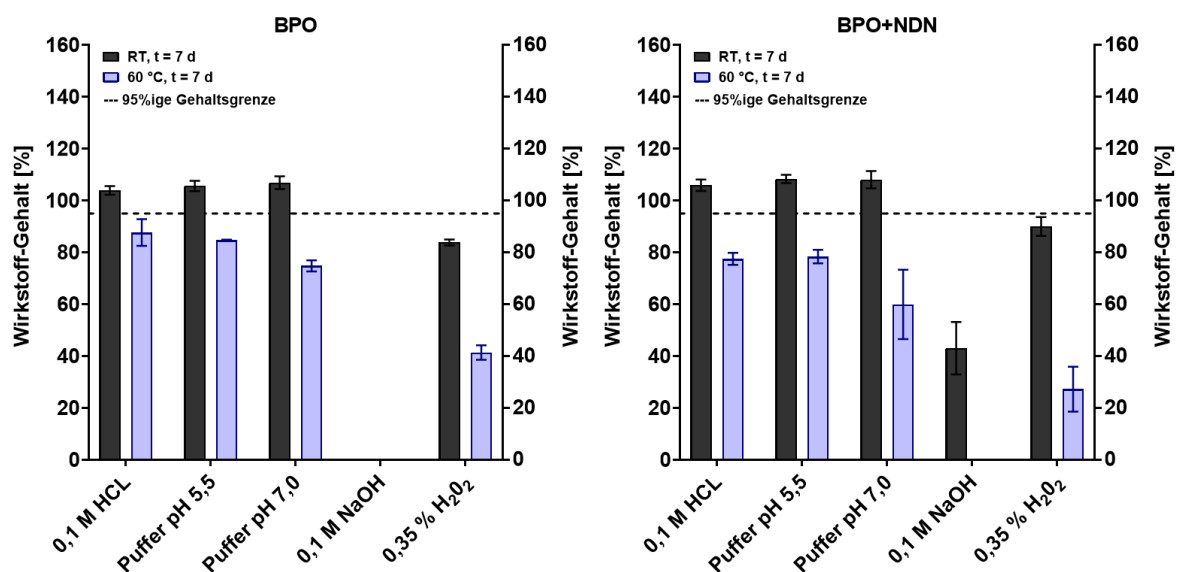


Abb. 15: Wirkstoffstabilität von BPO und BPO in Kombination mit NDN (BPO+NDN) unter Stressbedingungen nach t = 7 d bei RT und 60 °C

Demzufolge deuten die Untersuchungsergebnisse darauf hin, dass für den BPO-Abbau höchstwahrscheinlich eine Temperaturschwelle existiert, oberhalb derer die Abbaugeschwindigkeit überproportional zunimmt. Da die gemäß ICH Q1A(R2) durchgeführten Stabilitätsuntersuchungen von Fertigarzneimitteln [60], vorsehen, dass neben der Lagerung bei RT auch die Lagerung unter Stressbedingungen (z. B. bei 40 °C, um den Transport oder die Anwendung bei höheren Temperaturen zu simulieren) erfolgt, ist anzunehmen, dass die Temperaturschwelle von BPO oberhalb von 40 °C liegt, bei 60 °C allerdings schon über-

schritten ist. Dies wird auch durch die Tatsache gestützt, dass Untersuchungen an einer BPO-haltigen Formulierung eine akzeptable Stabilität bei einer 3-monatigen Lagerung bei RT und 40 °C zeigte [63].

Aus diesem Grund wurde ein Vorversuch durchgeführt, um die Temperaturschwelle schnell abschätzen zu können und um im weiteren Verlauf der Stabilitätsuntersuchung (4.1.2) die Lagertemperatur anzupassen. Die WS wurden daher in ihrer maximalen topischen Konzentration in den Vehikel-Grundlagen (Grundlagen, Vehikeln) der Prototypen: A, C, D und E (s. 3.2.1.1), nach beschriebener Methode (s. 3.2.1.3) eingearbeitet und bei 60 °C eingelagert. Der Prototyp B wurde aus Ressourcengründen nicht in diesen Versuch verwendet, da dieser eine ähnliche Zusammensetzung wie Prototyp A aufweist.

Es zeigt sich, dass alle Proben mit WS (s. Abb. 16) nach dreitägiger Lagerung bei 60 °C im Vergleich zur wirkstofffreien Probe (Placebo-Kontrollgruppe) eine weitreichende Veränderung mit Konsistenzverlust, Gelbverfärbung und Sedimentation der suspendierten WS zeigen. Die Stabilität der WS nimmt in folgender Reihung ab: Prototyp A > D > C > E.

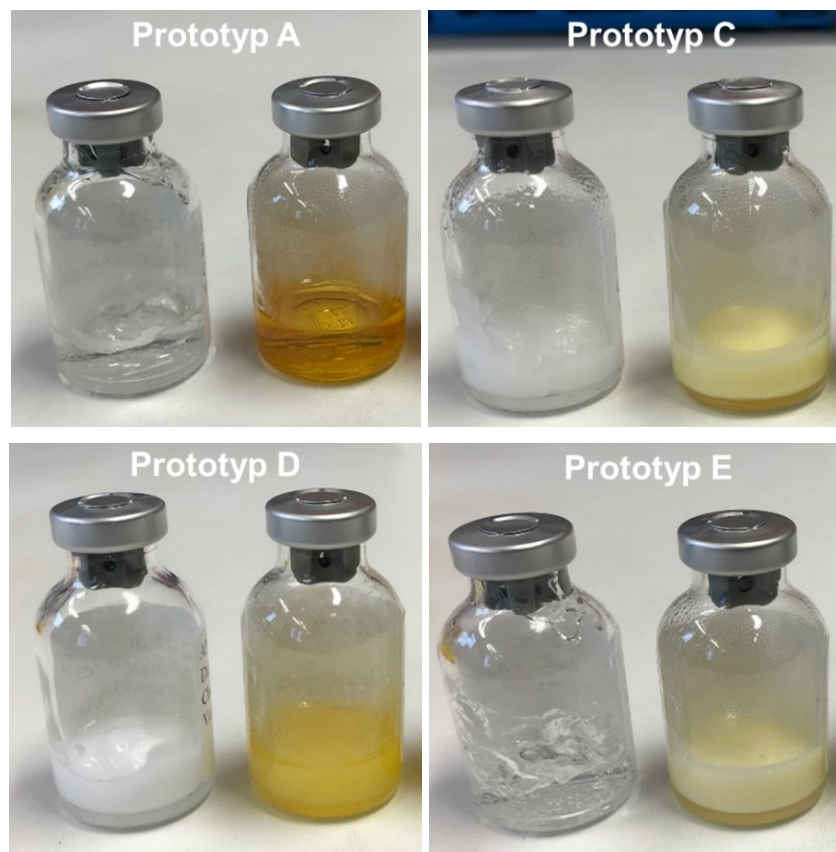


Abb. 16: Makroskopisches Erscheinungsbild von Proben der Prototypen A, C, D und E (mit jeweils: Links Placebo-Kontrollgruppe und rechts Probe mit Wirkstoffzusatz von 1 % NDN und 10 % BPO) nach  $t = 3$  d bei 60 °C

Die Vehikel-Grundlage des Prototyps E zeigt in diesem Vorversuch, den geringsten Einfluss auf die Stabilität der WS und kann somit zur Einschätzung einer potenziellen existierenden Temperaturschwelle verwendet werden. Aus diesem Grund wurde Prototyp E mit gleicher Wirkstoffkonzentration bei 40 °C für vierzehn Tage eingelagert.

Die Probe von Prototyp E bei 40 °C nach  $t = 14$  d zeigt eine deutlich weniger starke Veränderung des makroskopischen Erscheinungsbildes im Vergleich zur Probe die bei 60 °C für drei Tage gelagert wurde (s. Abb. 17). Dies legt eindrücklich nahe, dass hier offensichtlich eine Temperaturschwelle existiert und oberhalb derer die RGT-Regel ihre unmittelbare Gültigkeit verliert. Dementsprechend kann eine Lagerung oberhalb 40 °C nicht sinnvoll eingesetzt werden, um die Lagerdauer im Rahmen eines Screenings zu verkürzen und rascher belastbare Vorhersagen zu erhalten.

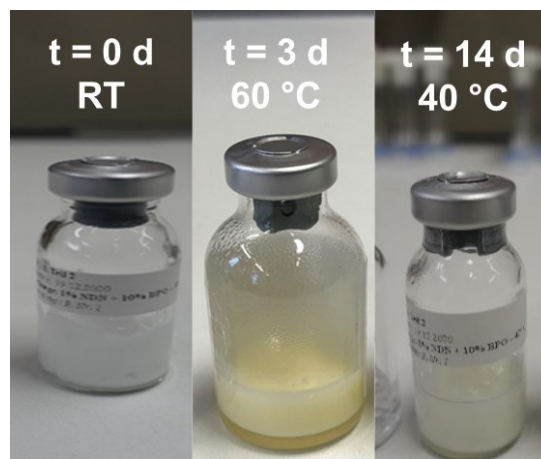


Abb. 17: Makroskopisches Erscheinungsbild von Proben mit 1 % NDN und 10 % BPO im Vehikel des Prototyps E nach  $t = 0$  d bei RT,  $t = 3$  d bei 60 °C und  $t = 14$  d bei 40 °C

#### 4.1.2 Untersuchung der Wirkstoffstabilität unter Berücksichtigung wichtiger Vehikel-Grundlagen

Um eine ressourcenaufwendige Untersuchung der Kompatibilität zwischen WS und Hilfsstoff (HS) zu vermeiden, die z. B. jeweils die Kombination beider Komponenten im Verhältnis 1:2 oder 1:10 untersucht, erfolgte in dieser Arbeit die Untersuchung der Wirkstoffstabilität direkt in Anwesenheit von Vehikel-Grundlagen (Prototypen A-E), die gemäß eines etablierten Anforderungsprofils (s. 2.5) eine geeignete Formulierung für Akne erkrankte Haut darstellen. In den Vehikel-Grundlagen wurden unterschiedliche HS und HS-Kombinationen mit unterschiedlichen Konzentrationen eingesetzt (s. 3.2.1.1).

Die WS wurden allein und in Kombination in ihren jeweils maximalen topischen Konzentrationen in den Vehikeln eingearbeitet und unter Stressbedingungen bei 40 °C eingelagert (s. 3.2.5.2). Nach einer 1-monatigen Lagerung erfolgte die Bewertung der Wirkstoffstabilität auf Basis des Bewertungssystems (s. 3.2.7).

Die Untersuchung des makroskopischen Erscheinungsbildes nach 1-monatiger Lagerung zeigt, dass NDN in allen Vehikeln der Prototypen A-E (s. 3.2.1.1) ausreichende Stabilität besitzt. Die Proben zeigen keine Konsistenzänderung, keine Phasenseparierung und keine Verfärbung (s. Abb. 18-19). Hingegen zeigen alle Ansätze, die BPO enthalten – sowohl BPO allein als auch BPO in Kombination mit NDN – mehr oder weniger stark ausgeprägte Veränderungen (s. Abb. 20-23). BPO allein zeigt für Prototyp A und B eine Konsistenzänderung, die mit einer vollständigen Probenverflüssigung einhergeht. Die Wirkstoffpartikel sind am Boden des Glasvials locker aufschüttelbar sedimentiert. BPO zeigt in Prototyp D eine leichte Phasenseparierung. Dort ist die wässrige Phase getrennt vom Gelbildner und der noch immobilisierten Lipidphase. In Prototyp C und E zeigt BPO eine leichte Konsistenzminderung, die jedoch noch nicht zum vollständigen Verlust des halbfesten Charakters führt. Während diese Veränderungen der Vehikel unabhängig davon sind, ob BPO allein oder zusammen mit NDN eingearbeitet wurde, verfärben sich BPO-haltige Ansätze in Gegenwart von NDN zusätzlich gelb bis braun. Die Farbtintensität nimmt in folgender Reihung ab: Prototyp B > A > D > C ≈ E (s. Abb. 22-23).

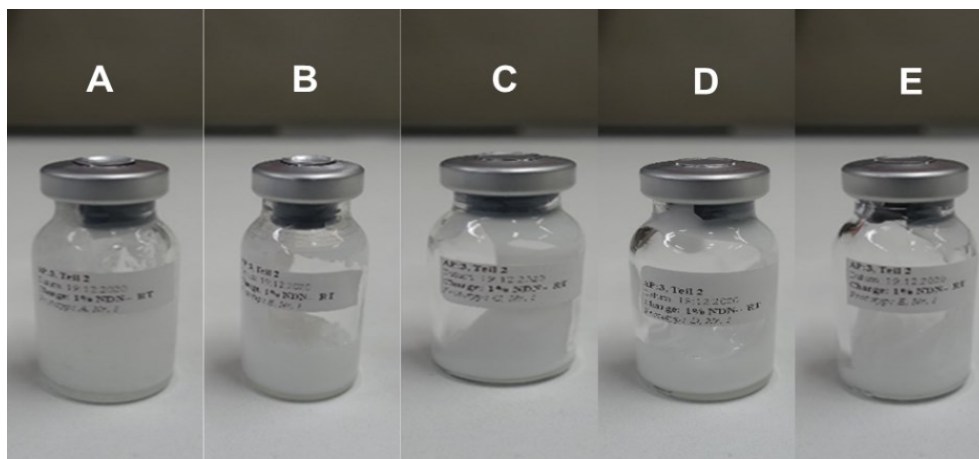


Abb. 18: Makroskopisches Erscheinungsbild von NDN in Vehikeln (von links nach rechts Prototyp: A-E) nach der Herstellung (t = 0 d) bei RT

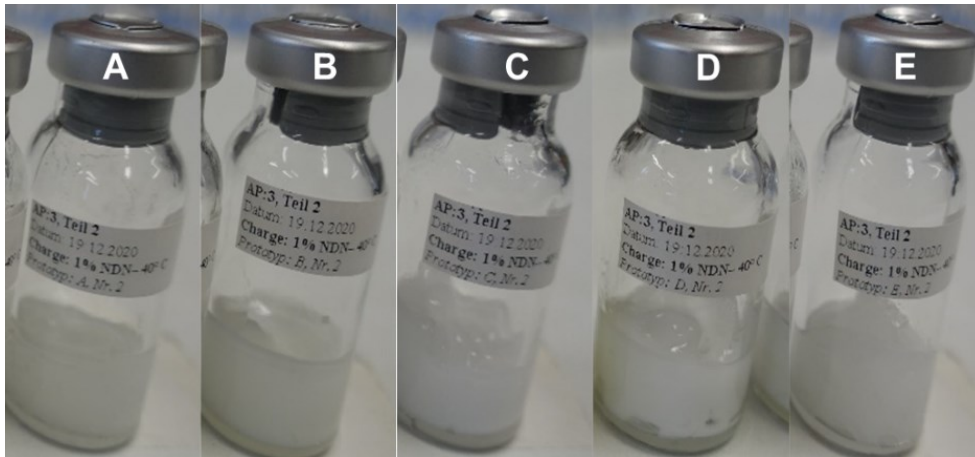


Abb. 19: Makroskopisches Erscheinungsbild von NDN in Vehikeln  
(von links nach rechts Prototyp: A-E) nach  $t = 28$  d bei  $40\text{ °C}$

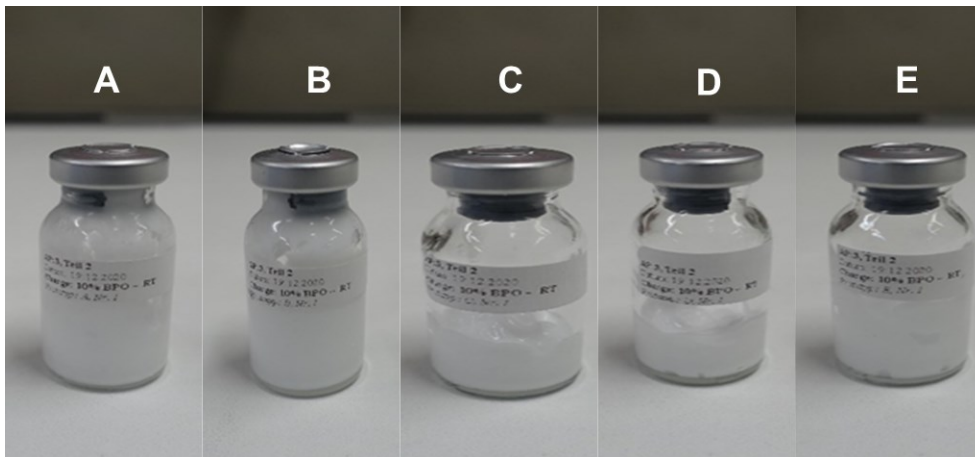


Abb. 20: Makroskopisches Erscheinungsbild von BPO in Vehikeln  
(von links nach rechts Prototyp: A-E) nach der Herstellung ( $t = 0$  d) bei RT

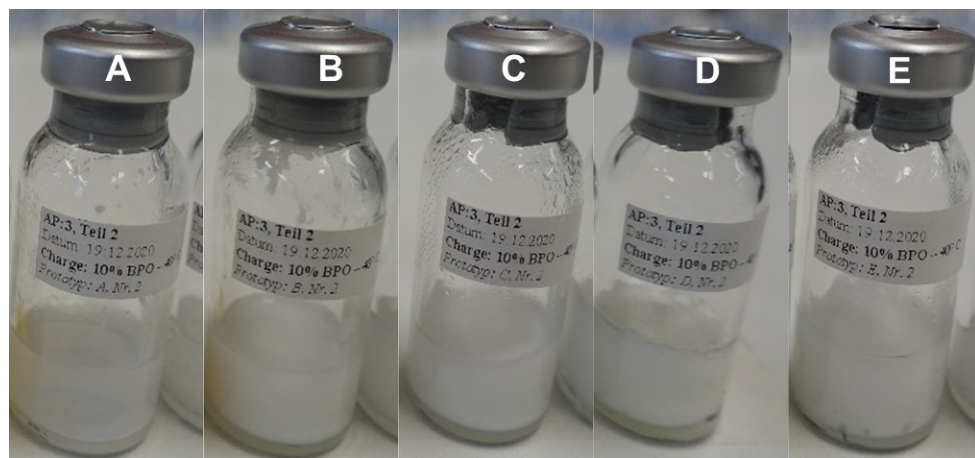


Abb. 21: Makroskopisches Erscheinungsbild von BPO in Vehikeln  
(von links nach rechts Prototyp: A-E) nach  $t = 28$  d bei  $40\text{ °C}$

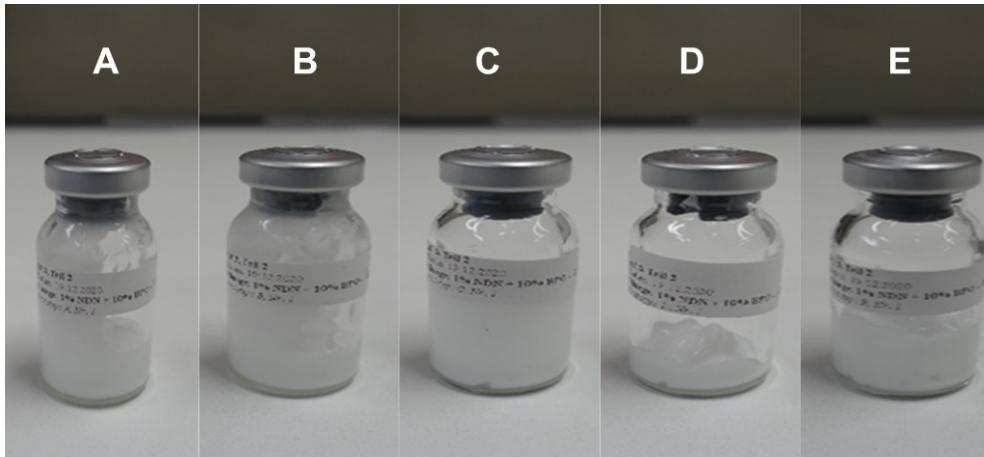


Abb. 22: Makroskopisches Erscheinungsbild von NDN in Kombination mit BPO (NDN+BPO) in Vehikeln (von links nach rechts Prototyp: A-E) nach der Herstellung (t = 0 d) bei RT

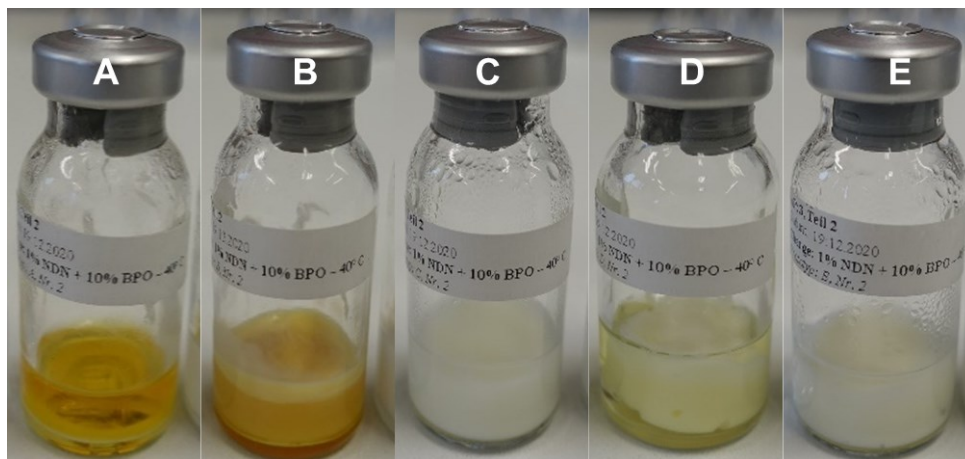


Abb. 23: Makroskopisches Erscheinungsbild von NDN in Kombination mit BPO (NDN+BPO) in Vehikeln (von links nach rechts Prototyp: A-E) nach t = 28 d bei 40 °C

Die Ergebnisse der HPLC-Untersuchung zeigen, dass NDN allein in den Vehikeln des Prototyps A-E keine deutliche Gehaltsabnahme von NDN innerhalb der Untersuchungsdauer zeigt und somit ausreichende Stabilität besitzt (s. Abb. 24). BPO-haltige Proben sind nicht ausreichend stabil und zeigen deutliche Gehaltsabnahmen (s. Abb. 24-25). Die Stabilität nimmt in folgender Reihenfolge ab: Prototyp B > A > D > C ≈ E. NDN in Kombination mit BPO zeigt vergleichbares Stabilitätsverhalten wie BPO (s. Abb. 25) und stützt die Beobachtung aus der makroskopischen Untersuchung, dass die Reaktionen des BPO unabhängig sind von NDN und ausschließlich auf BPO zurückzuführen sind.

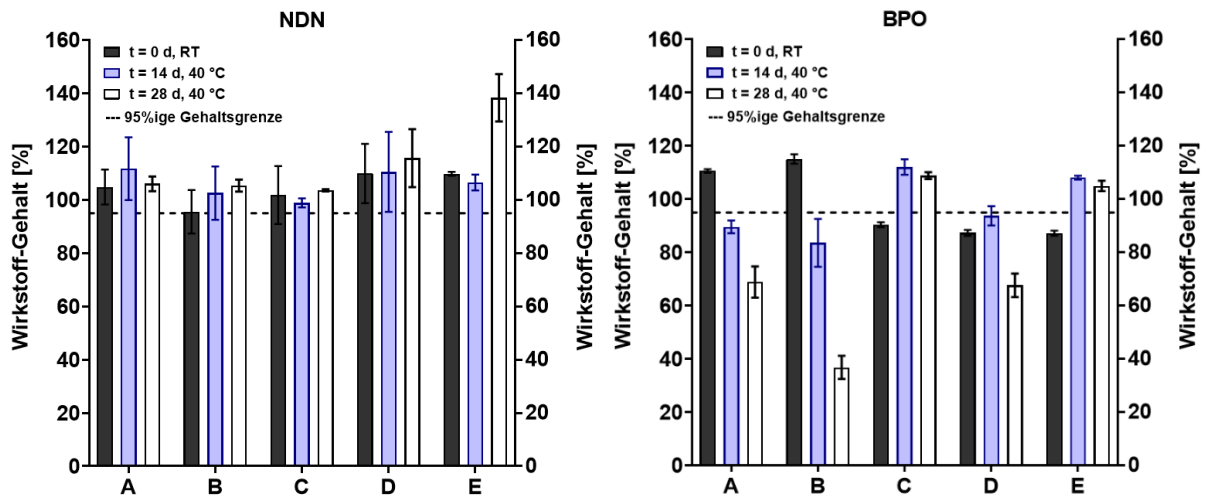


Abb. 24: Lagerstabilität von NDN und BPO in Vehikeln

(von links nach rechts Prototyp: A-E) nach t = 14 d und t = 28 d bei 40 °C

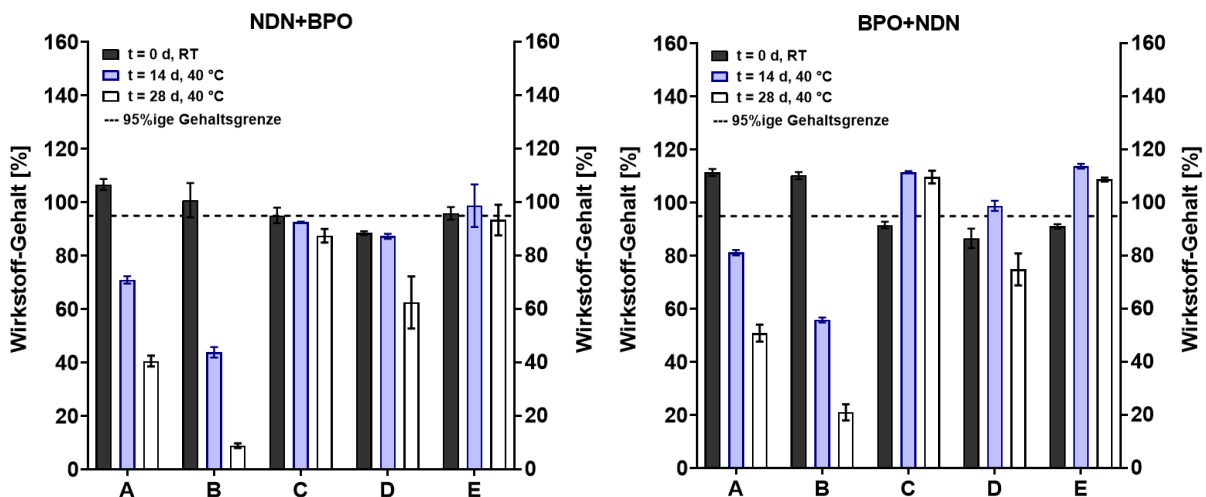


Abb. 25: Lagerstabilität von NDN in Kombination mit BPO (NDN+BPO) und BPO in Kombination mit NDN (BPO+NDN) in Vehikeln

(von links nach rechts Prototyp: A-E) nach t = 14 d und t = 28 d bei 40 °C

Die pH-Untersuchungen von NDN-haltigen Proben zeigen, dass für die Prototypen C, D, E keine kritische pH-Änderung vorliegt, die für eine ausreichende pH-Stabilität des Vehikels spricht. Für die Prototypen A und B gilt dies nach einer 1-monatigen Lagerung nicht. Hier liegt eine deutliche pH-Abnahme vor (s. Abb. 26). Wie auch bei den anderen Prüfparametern zeigen Proben, die BPO enthalten, keine ausreichende pH-Stabilität (s. Abb. 26). Für Prototypen A und B liegt bereits nach zweiwöchiger Lagerung bei 40 °C eine pH-Abnahme von mehr als 2 pH-Einheiten vor und für D eine Abnahme von mehr als 1 pH-Einheit.

Für Prototyp C und E liegen die pH-Abnahmen in einem vergleichbaren Bereich von < 1 pH-Einheit. Sie liegen somit nach 4-wöchiger Lagerung gerade noch oberhalb der unteren pH-Stabilitätsgrenze (pH 4) von BPO [30]. Darüber hinaus wird bei Betrachtung dieser Ergebnisse ersichtlich, dass die pH-Abnahme in den Vehikeln mit der BPO-Gehaltsabnahme korreliert und somit indikativ für die BPO-Stabilität ist.

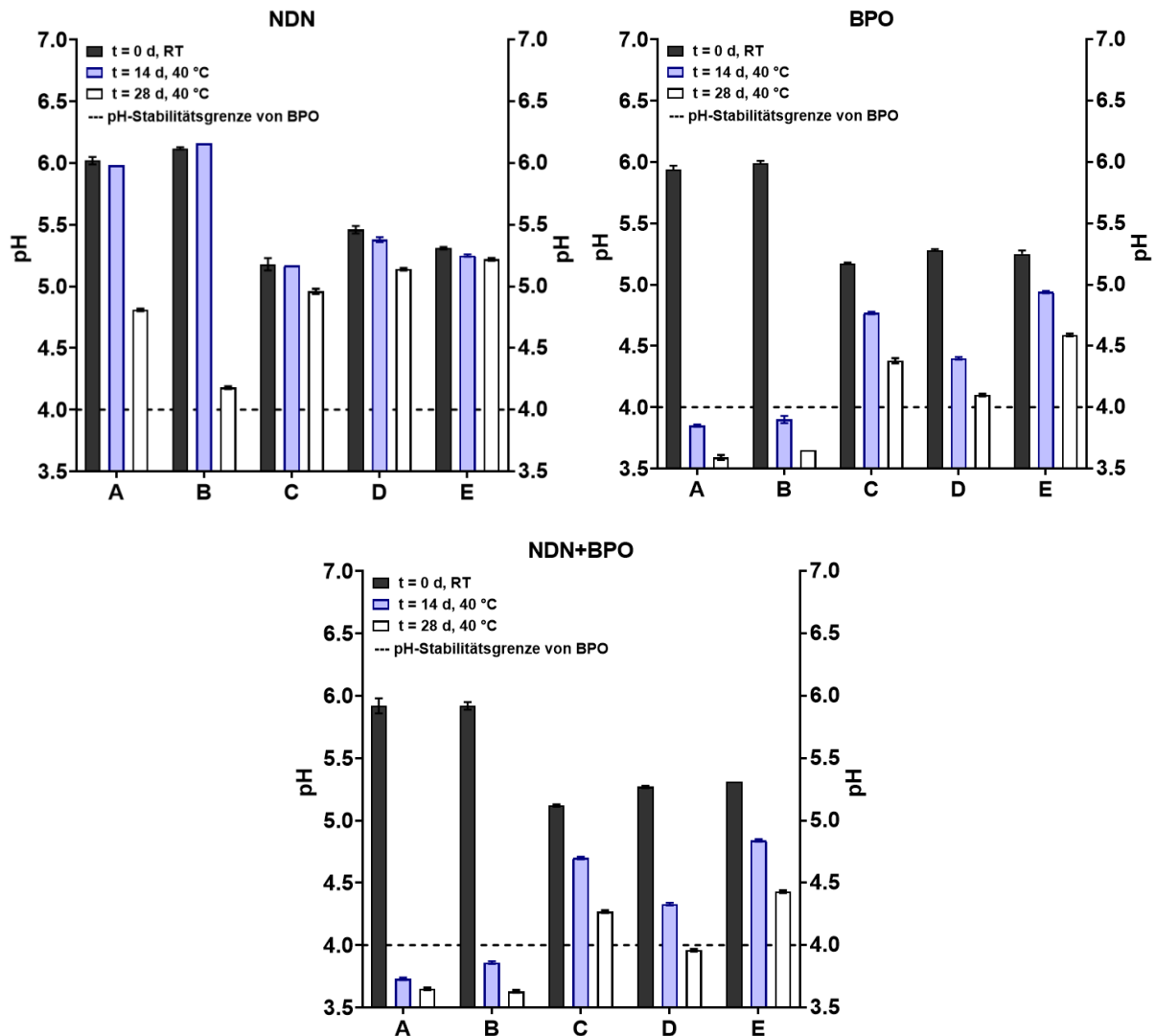


Abb. 26: pH-Stabilität von NDN-, BPO- und NDN+BPO-haltigen Vehikeln (von links nach rechts Prototyp: A-E) nach t = 14 d und t = 28 d bei 40 °C

Die Untersuchungen zeigen auch, dass die pH-Abnahme der BPO-haltigen Ansätze stets mit einem starken Verlust der Konsistenz in den betrachteten Prototypen einhergeht (A > B > D > C ≈ E). Auf Basis dieser Erkenntnis sollten die hier eingesetzten Gelbildner durch solche ersetzt werden, die eine Stabilität im pH-Bereich von mind. 3-12 aufweisen, sodass eine pH-Absenkung um eine Einheit keinen starken Konsistenzverlust zur Folge hat.

Außerdem sollte eine stabile Pufferung auf pH 5,5 möglich sein, um autokatalytischen Effekten beim BPO-Abbau vorbeugen zu können.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass, wie bereits bei den Untersuchungen zur intrinsischen chemischen Stabilität der Wirkstoffe gesehen, die BPO-Reaktivität einen maßgeblichen Einfluss auf die Stabilität der Wirkstoffkombination hat. Ein erfolgreiches Formulierungskonzept muss daher maßgeblich auf die Stabilisierung von BPO abzielen.

#### **4.1.3 Untersuchung der Wirkstoffstabilisierung von Benzoylperoxid in Vehikel-Grundlagen**

Die bisherigen Ergebnisse zeigten deutlich, dass der Lagerstabilität von BPO in Vehikel-Grundlagen eine sehr große Bedeutung zugesprochen werden kann (s. 4.1.2). Ausgehend davon, konnte folgende Arbeitshypothese aufgestellt werden:

BPO-Zerfallsreaktionen und deren Produkte triggern den NDN- und BPO-Zerfall in Vehikel-Grundlagen. Ein stabiler BPO-Zustand im Vehikel kann einen lagerstabilen Zustand beider WS im selben Vehikel ermöglichen.

Um diese Hypothese in einem einfachen Experiment zu überprüfen, wurde ein Fertigarzneimittel (Benzaknen [64]), welches 5 % BPO enthält, mit den Eigenschaften der bis dahin stabilsten Vehikel-Grundlage des Prototyps E (s. 4.1.2) mit 1% NDN in Kombination mit 10 % BPO, verglichen. Dazu wurde in das Fertigarzneimittel zusätzlich 1 % NDN oder 5 % BPO oder 1 % NDN in Kombination mit 5 % BPO eingearbeitet (s. 3.2.1.3). Nach 2- und 4-wöchiger Lagerung bei 40 °C wurde das makroskopische Erscheinungsbild und die pH-Abnahme der Proben untersucht (s. 3.2.2-3.2.3).

Die Kontrollgruppen (Benzaknen ohne Zusatz und Benzaknen mit Zusatz von 5 % BPO) zeigen keine kritische makroskopische Änderung (s. Abb. 27). Proben mit dem Zusatz von jeweils 1 % NDN im Vergleich zu Proben ohne Zusatz, zeigen eine Gelbverfärbung, welche auf die oben schon beschriebene Interaktion zwischen BPO und NDN hindeutet. Vergleicht man die Kombinationsprobe (Prototyp E) mit der Kontrollgruppe (Benzaknen mit Zusatz von + 5 % BPO + 1 % NDN) wird ersichtlich, dass die gelbe Farbe im Benzaknen-Vehikel weniger stark ausgeprägt ist.

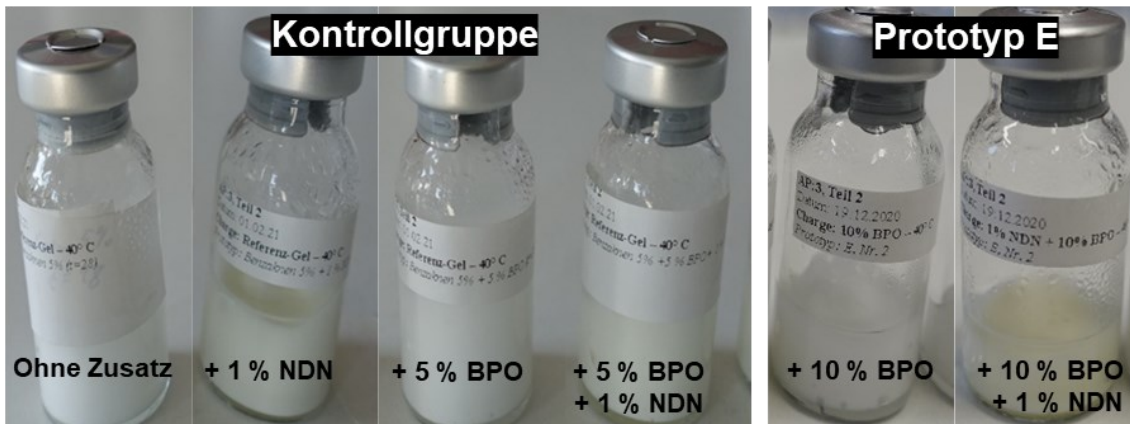


Abb. 27: Makroskopisches Erscheinungsbild von wirkstoffhaltigen Formulierungen im Vergleich (Kontrollgruppe und Prototyp E) nach Lagerung von  $t = 28$  d bei  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$

pH-Messungen nach 2- und 4-wöchiger Lagerung bestätigen das Ergebnis der makroskopischen Untersuchung. Beide Proben mit dem Prototyp E zeigen eine stärkere pH-Abnahme als die entsprechenden Proben auf Benzaknen Basis (s. Abb. 28); ein klares Indiz dafür, dass die Wahl des Vehikels signifikant die BPO-Stabilität und damit auch die Stabilität von NDN beeinflusst.

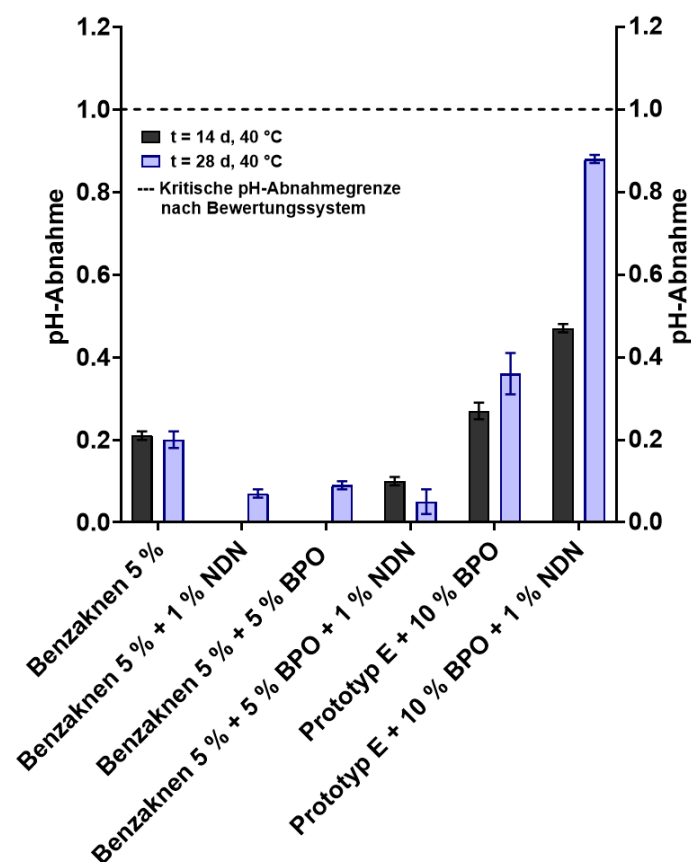


Abb. 28: pH-Abnahme von wirkstoffhaltigen Formulierungen im Vergleich (Kontrollgruppe und Prototype E) nach Lagerung von  $t = 14$  d und  $t = 28$  d bei  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$

Somit konnte mit diesem einfachen Experiment und den angewandten Untersuchungsmethoden die Plausibilität der Arbeitshypothese bestätigt werden. Nachfolgende Untersuchungen mussten daher das Auffinden besser geeigneter Vehikel in den Fokus rücken, die trotzdem das formulierte Anforderungsprofil (s. 2.5) erfüllen.

#### Identifizierung kritischer Hilfsstoffe von Benzoylperoxid

Um eine rationale Verbesserung der BPO-Stabilität im Vehikel vorzunehmen, ist eine Identifizierung kritischer HS (s. 3.2.5.3), die maßgeblich für die Stabilität der WS im Vehikel verantwortlich sind, unerlässlich.

Zur Identifizierung von HS die für die Stabilität von BPO als kritisch einzustufen sind, wurden zunächst diejenigen HS aus Vehikel-Grundlagen (s. 4.1.2) untersucht, welche ein hohes und mittleres Risiko für eine Instabilität mit BPO besitzen. In der Literatur [19] werden solche HS als kritisch beschrieben, welche die Löslichkeit von BPO im Vehikel erhöhen und somit die Gesamtreaktivität von BPO in Vehikeln steigern können. BPO zeigt eine sehr geringe Wasserlöslichkeit und liegt somit in wässrigen Systemen nahezu vollständig in seiner suspendierten Form vor (s. 2.3). Die Löslichkeit im Vehikel kann mit zunehmendem Anteil von HS, wie Lipiden (Mittelkettige Triglyceride (MCT), Squalan), Alkoholen (Pentylenglycol, Propylenglykol) und Polyethern (Poloxamer), steigen [65]. Die zu identifizierenden HS, wurden jeweils einzeln mit Gelbildner, Puffer-Substanz und Wasser vermischt und im Anschluss mit 10 % BPO verarbeitet und bei 40 °C eingelagert. Nach 3-monatiger Lagerung erfolgte die finale Identifizierung der für BPO kritischen HS (s. 3.2.7).

Die Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchung mit diesen kritischen HS sind in Abb. 29 wiedergegeben. BPO zeigt mit MCT Instabilität. Der BPO-Gehalt nimmt über die Lagerzeit von 3 Monaten ab. Dies macht sich ebenso bemerkbar durch die Abnahme des pH-Werts. Propylenglycol und Pentylenglycol erweisen sich als weitgehend indifferent gegenüber BPO. In Gegenwart beider HS ändert sich der Gehalt geringfügig während der 3-monatigen Lagerung bei 40 °C. Trotzdem sinkt der pH-Wert insbesondere initial deutlich ab. Squalan zeigt bei schwankenden, aber wenig erniedrigten Gehaltswerten (Unterschreitung der 95% Gehaltsgrenze mit größerer Streuung von ca. einer Standardabweichung von  $\pm 10\%$ , ist ein Indiz dafür, dass eine Probeninhomogenität am Prüfungszeitpunkt vorlag), eine gute pH-Stabilität und erscheint damit als kompatibel. Poloxamer wurde nicht zusätzlich untersucht. Da die BPO-Stabilität in Prototyp A und B sehr gering war (beide enthalten einen hohen Anteil an Poloxamer als Gelbildner), wurde Poloxamer als ungeeigneter HS eingestuft. Die intensive Wechselwirkung mit BPO kann dabei auf die Ether-Struktur des Poloxamer zurückgeführt werden [26], die dafür bekannt ist, sehr reaktive Ether-Peroxid-Spezies auszubilden.

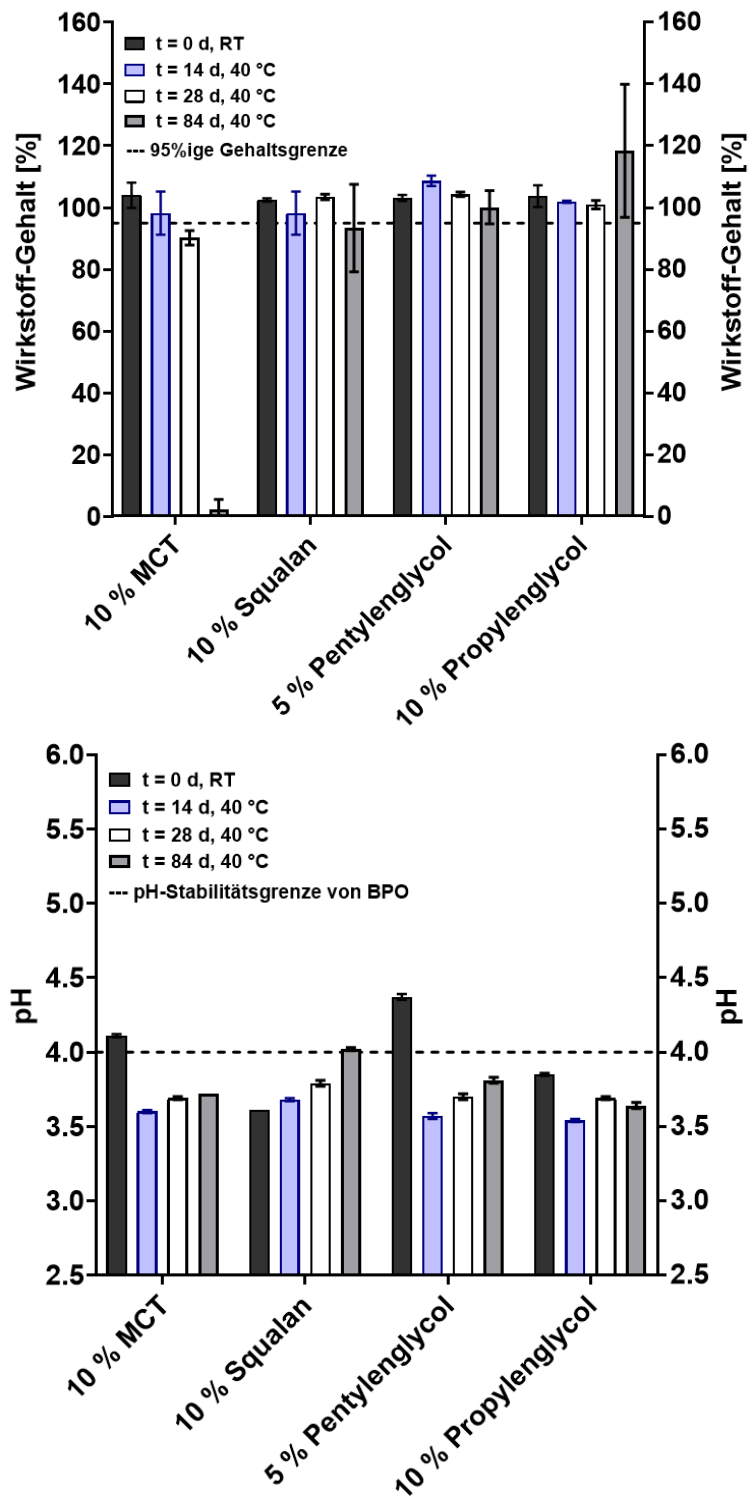


Abb. 29: Lagerstabilität von BPO in Vehikeln mit kritischen HS (oben) und pH-Stabilität von BPO-haltigen Vehikeln mit kritischen HS (unten) nach t = 14 d, t = 28 d und t = 84 d bei 40 °C

### Einsatz von potenziellen Stabilisatoren zur Verlängerung der Benzoylperoxid-Lebensdauer in Vehikel-Grundlagen

Die bisherigen Ergebnisse zeigten, dass es eine Korrelation zwischen der chemischen und physikalischen Stabilität von BPO in Vehikeln existiert. Welche wie folgt erklärt werden kann: Zerfällt BPO bedingt durch eine nicht ausreichende Stabilität im Vehikel, führt dies, stets zu einer pH-Abnahme im Vehikel, einer weiteren Abnahme des Wirkstoffgehalts und einer starken Abnahme der Konsistenz von BPO-haltigen Proben. Um diesem Instabilitätsmechanismus entgegenzuwirken, wurden HS als Stabilisatoren eingesetzt (s. Tab. 20), die möglicherweise die BPO-Lagerstabilität im Vehikel erhöhen können.

Tab. 20: Einsatz bestimmter HS als potenzielle Stabilisatoren zur Verlängerung der BPO-Lebensdauer im Vehikel

Hilfsstoff-Gruppen	Hilfsstoffe	Funktionen
Puffersysteme	Milchsäure/Laktat-Puffer (mit ca. pH 5,5) Essigsäure/Acetat-Puffer (mit ca. pH 5,5)	Soll sauer katalysierte Zerfallsreaktionen verlangsamen [10]
Gelbildner	Xanthan Gummi: (KETROL F mit 3 %, Amaze XT mit 2 %)  Co-Polymere des Taurats und Acrylats: (SEPINEO D.E.R.M mit 2 %, SEPINOV EMT mit 2 %)	Gelbildner mit breitem pH-Stabilitätsbereich: Soll starken pH-abhängigen Viskositätsabfall des Vehikels verhindern und soll Pufferung in Vehikeln ermöglichen (durch hohe Puffersalztoleranz) [66, 67]
Antioxidantien	GRINDOX 1032 (mit 1 %) RonaCare AP (mit 2 %) RonaCare MAP (mit 2 %)	Antioxidative Eigenschaften sollen NDN vor BPO und BPO vor sich selbst schützen [68]
BPO-Stabilisator	Docusat-Natrium (mit 0,2 %)	Soll BPO vor Zerfall schützen [31, 69]

Um potenzielle Stabilisatoren zu identifizieren, wurden diese jeweils einzeln mit Gelbildner, Puffer-Substanz und Wasser vermischt und im Anschluss mit WS verarbeitet und bei 40 °C eingelagert (s. 3.2.5.3). Die Eignung der aufgeführten HS als Stabilisatoren wurde nach einer Lagerung von t = 14 d, 28 d und 84 d geprüft (s. 3.2.7).

Die Ergebnisse in Abb. 30 zeigen deutliche Unterschiede bei der Verwendung eines Laktat-Puffers (Milchsäure/Laktat-Puffers) oder Acetat-Puffers (Essigsäure/Acetat-Puffers), bei der pH-Stabilität im Vehikel im Vergleich zu einem Phosphat-Puffer. Wie erwartet, zeigen Puffer mit einem pKs-Wert, welcher knapp zwei pH-Einheiten ober- und unterhalb des gewünschten pH-Wertes (pH ca. 5,0-5,5) liegt, wie der Phosphat-Puffer (pKs<sub>2</sub> = 7,2 [70]), keine ausreichende Pufferwirkung [30], wie auch der Vergleich mit der Kontrollgruppe (NaOH) eindrücklich belegt. Laktat-Puffer (pKs = 4,1 [30]) und Acetat-Puffer (pKs = 4,7 [71]) hingegen zeigen eine ausreichende Pufferung. Allerdings scheidet der Acetat-Puffer, bedingt durch seinen spezifischen Essiggeruch, aus [71].

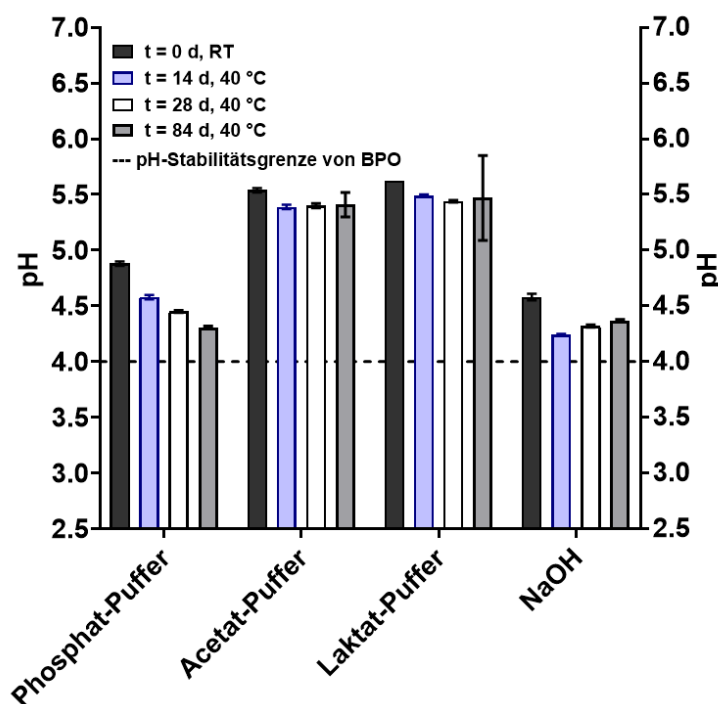


Abb. 30: pH-Stabilität von BPO-haltigen Vehikeln mit verschiedenen Puffern nach t = 14 d, t = 28 d und t = 84 d bei 40 °C

Die beiden untersuchten Gelbildner, die einen breiten pH-Toleranzbereich haben, (Xanthan Gummi: KETROL F, Amaze XT) zeigen Stabilität mit BPO, da der BPO-Gehalt nicht abnimmt (s. Abb. 31). Die pH-Abnahme bei 3-monatiger Lagerung verläuft vergleichsweise langsam (s. Abb. 31). Die gemessenen kleinen pH-Abnahmen führen aufgrund des weiten pH-Stabilitätsbereiches (pH = 3-12 [72]) nicht zum Verlust der Viskosität. Im Gegensatz dazu zeigt sich mit dem Co-Polymer des Taurats und Acrylats (SEPINEO D.E.R.M, SEPINOV EMT) eine deutliche pH-Abnahme nach Herstellung, welche den pH-Stabilitätsbereich von BPO (pH = 4-6) [30] unterschreitet. Dies deutet auf eine ausgeprägte Inkompatibilität hin (s. Abb. 31: Vergleich Prüfprobe und Vehikel), welche in der Gehaltsuntersuchung nicht ersichtlich wird.

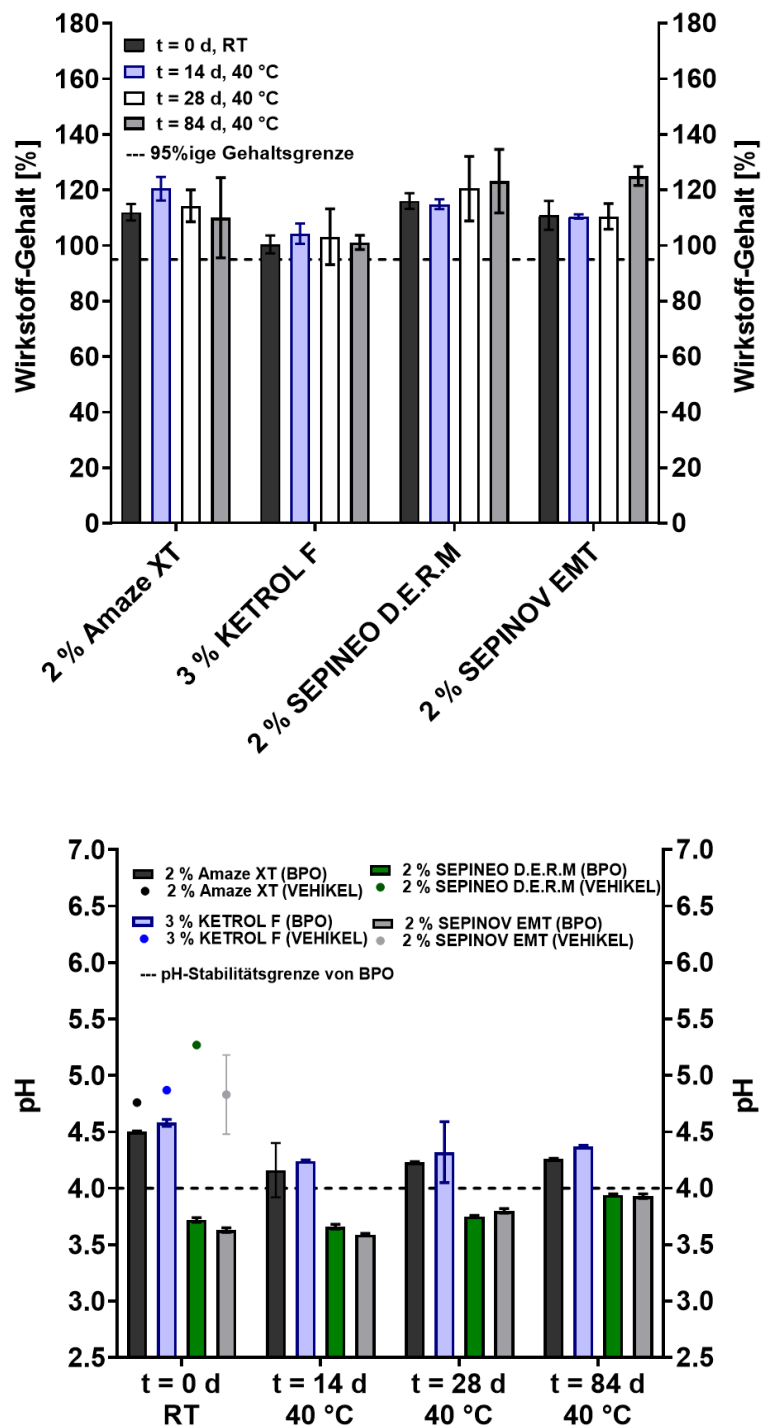


Abb. 31: Lagerstabilität von BPO in Vehikeln mit verschiedenen Gelbildnern (oben) und pH-Stabilität von BPO-haltigen Vehikeln mit verschiedenen Gelbildnern (unten) nach t = 14 d, t = 28 d und t = 84 d bei 40 °C

Eine Verlängerung der BPO-Lebensdauer und der Schutz vor Wirkstoffabbau beider WS in Vehikeln durch Antioxidantien (GRINDOX 1032, RonaCare AP und RonaCare MAP) und dem in der Literatur beschriebenen BPO-Stabilisator (Docusat-Natrium) konnte mit den untersuchten Konzentrationen nicht gezeigt werden.

Insbesondere Proben mit Antioxidantien mit BPO allein und mit NDN in Kombination, zeigen schon nach der Lagerung von einem Monat eine ausgeprägte Probenverfärbung, ein klarer Hinweis auf das Vorliegen einer Inkompatibilität (s. Abb. 32: Vergleich NDN-Probe als Kontrollgruppe und BPO-haltigen Proben). Die Proben mit BPO-Stabilisator zeigen für BPO und NDN+BPO eine deutliche Konsistenzminderung und Sedimentieren der Wirkstoffpartikel am Boden des Glasvials (s. Abb. 32).

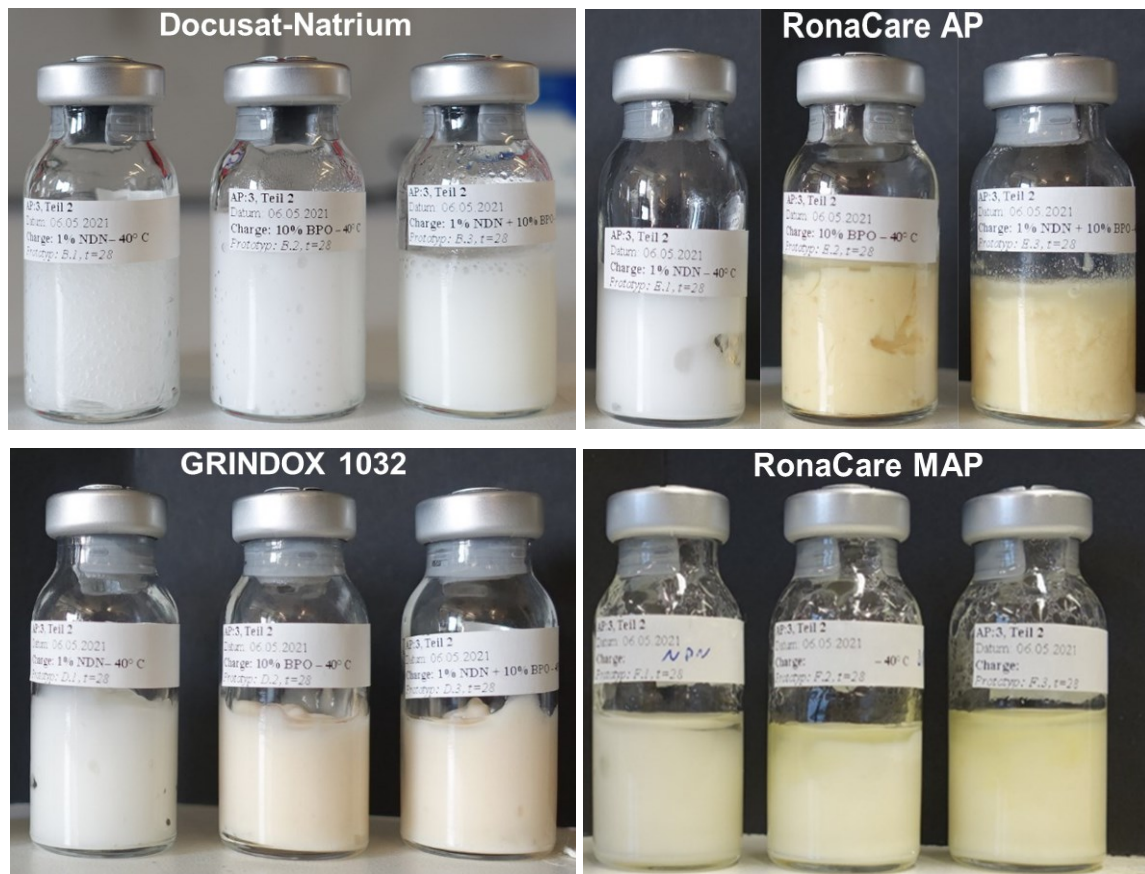


Abb. 32: Makroskopisches Erscheinungsbild von wirkstoffhaltigen Vehikeln (von links nach rechts: NDN, BPO und NDN+BPO) mit BPO-Stabilisator (Docusat-Natrium) und Antioxidantien (RonaCare AP, GRINDOX 1032, RonaCare MAP) nach  $t = 28$  d bei  $40^\circ\text{C}$

### Einfluss des Herstellverfahrens auf die Benzoylperoxid-Stabilität in Vehikel-Grundlagen

Durch das Einarbeiten von WS in die Vehikel-Grundlagen kann die Probertemperatur während der Herstellung ansteigen [35], was potenziell eine thermische Belastung für WS und HS darstellen kann. BPO wird in der Literatur (s. 2.3) als eine thermisch empfindliche Substanz beschrieben, was in den bisherigen Untersuchungen bestätigt werden konnte.

Somit ist eine systematische Untersuchung des Einflusses des Herstellverfahrens auf die BPO-Stabilität in Vehikeln (s. 3.2.5.3), unter Berücksichtigung der während der Herstellung auftretenden Scherbelastung und der Proben temperatur, zwingend erforderlich.

Um diese systematische Untersuchung zu realisieren wurden 1%ige und 10%ige BPO-haltige Ansätze mit den Prototypen A-E als Grundlagen mithilfe der bisherigen Herstellmethode, der sog. Standard-Methode (STD-Methode) hergestellt und mit zwei optimierten Methoden (Kühl-Methode (KÜHL-Methode) mit externer Kühlung der Proben und Optimierungs-Methode (OPT-Methode) mit reduzierter Umdrehungszahl des Rührwerkzeuges), mit denen 10%ige BPO-Ansätze hergestellt wurden, verglichen. Die Proben wurden bei 40 °C eingelagert und der Einfluss des Herstellverfahrens auf die BPO-Stabilität wurde aus der pH-Abnahme abgeleitet, die nach einer Lagerdauer von  $t = 14$  d und 28 d in Bezug auf den Ausgangswert gemessen wurde (s. 3.2.7).

Die Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchung zeigen bei der Proben temperatur nach der Herstellung für alle Proben, die mit den optimierten Methoden hergestellt wurden, eine Reduktion der Proben temperatur (vgl. 10%ige BPO-Ansätze mit: STD-Methode, KÜHL-Methode und OPT-Methode in Abb. 33-37). Des Weiteren zeigt sich, dass bei gleicher BPO-Konzentration ein Einfluss der unterschiedlichen Vehikel-Grundlagen auf die Wärmeentwicklung während der Wirkstoffearbeitung existiert. Dies kann damit erklärt werden, dass die Wärmeentwicklung während der Herstellung stark vom jeweiligen Prototyp und insbesondere dessen Konsistenz (weich, fest) beeinflusst wird [73]. So zeigen Poloxamerhaltige Proben (Prototyp A und B) eine festere Konsistenz als die Prototypen C, D und E. Es entsteht ein erhöhter Widerstand, welcher im Rührprozess zu Erzielung der gleichen Drehzahl überwunden werden muss und daher zu vermehrter Reibungswärme führt [74].

Die auftretende Produkttemperatur (40-65 °C) beeinflusst die BPO-Stabilität, in allen bisher eingesetzten Vehikel-Grundlagen unterschiedlich stark und führt infolge zu unterschiedlich starker pH-Reduktion. Dabei nimmt der pH-Wert in folgender Reihenfolge ab:  $A \approx B > D > C > E$  (s. Abb. 33-37). Trotz Optimierung der Herstellmethode und Reduktion der Proben temperatur, überschreitet die pH-Änderung in den Proben der Prototypen A und B den als kritische Grenze angesehenen Wert von einer pH-Einheit. Dies deutet darauf hin, dass der Einfluss der Inkompatibilität zwischen HS und WS hier stärker ausgeprägt ist als in den übrigen Prototypen. Es zeigt sich, dass eine Begrenzung der Proben temperatur während der Herstellung auf  $< 30$  °C, eine deutliche Reduktion des BPO-Abbaus herbeiführt. Eine Reduktion der Scherbelastung durch Änderung der Rührparameter (OPT-Methode) zeigt keinen zusätzlichen Einfluss auf die BPO-Stabilität in Vehikeln (s. Abb. 33-37). Dies lässt sich folgendermaßen aus den Versuchen ableiten: KÜHL- und STD-Methode bewirken die gleiche

Scherbelastung, unterscheiden sich aber in der Produkttemperatur. Kühl- und OPT-Methode weisen eine vergleichbare Produkttemperatur bei unterschiedlicher Scherbeanspruchung auf. KÜHL- und OPT-Methode bewirken eine nahezu gleiche Verbesserung der BPO-Stabilität in den Vehikeln. Somit liegt der Schluss nahe, dass überwiegend hohe Temperaturen, nicht aber starke mechanische Beanspruchung den BPO-Abbau triggern. Somit konnten die diesbezüglichen Ergebnisse einer wissenschaftlichen Arbeit [75] nicht bestätigt werden.

Die Überprüfung der konzentrationsabhängigen Zersetzung von BPO in den Prototypen A-E sollte klären, ob bei der Zersetzung des BPO überwiegend der gelöste oder auch der suspendierte Anteil an der Reaktion beteiligt ist. Dabei zeigt sich, dass 1%ige Ansätze im Vergleich zu 10%igen tendenziell stabiler sind (s. Abb. 33-37). Dies ist allerdings nicht auf eine höhere Reaktivität des suspendierten Anteils zurückzuführen, sondern auf den Umstand, dass bei der Herstellung der 10%igen Zubereitung wesentlich mehr Reibungswärme entsteht und dadurch der oben beschriebene temperaturabhängige Trigger-Effekt zu Tage tritt.

Die Reaktivität vom suspendiertem BPO kann daher problemlos durch die gezielte Kühlung des Rührgefäßes kontrolliert werden. Die BPO-Stabilität kann somit derart verbessert werden, dass sogar 10%ige BPO-Ansätze unter Verwendung der KÜHL-Methode, trotz des höheren BPO-Anteils, weniger stark in Vehikeln zerfallen und somit hinsichtlich des BPO-Abbaus mit 1%igen Ansätzen, die mittels STD-Methode hergestellt wurden, äquivalent sind (gemessen an der pH-Abnahme).

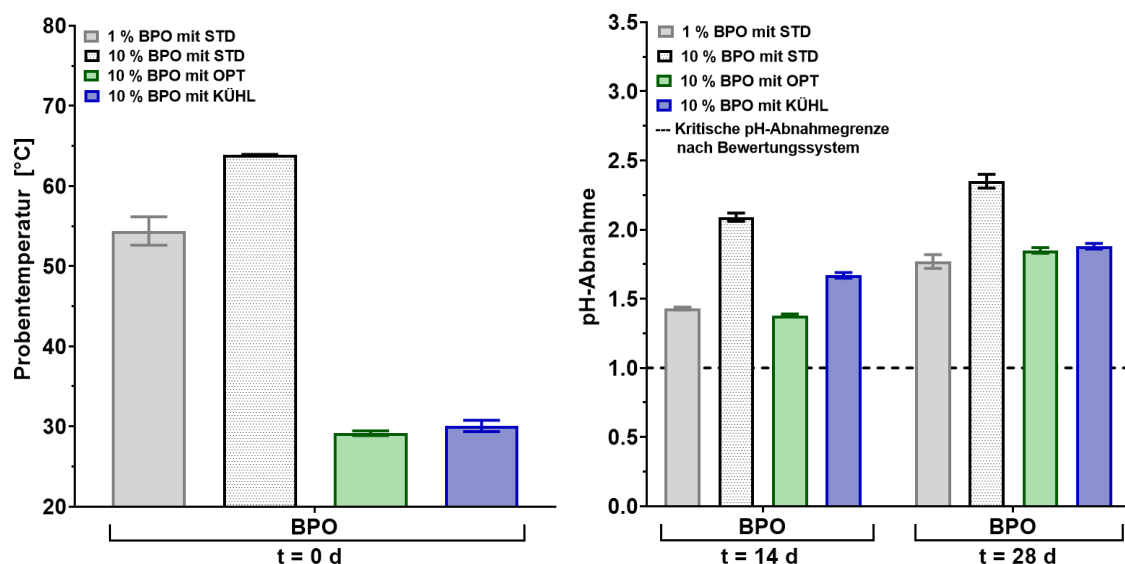


Abb. 33: Einfluss der BPO-Konzentration auf die Probestemperatur nach der Herstellung mit verschiedenen Herstellverfahren (STD-, OPT-, KÜHL-Methode) in Prototyp A sowie der pH-Stabilität nach t = 14 d und t = 28 d bei 40 °C

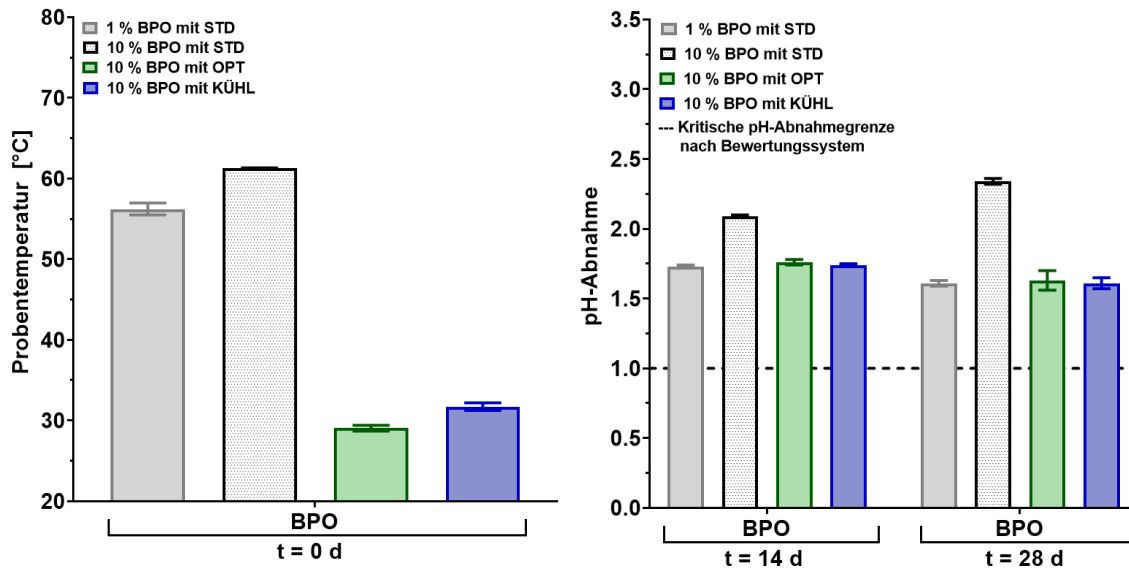


Abb. 34: Einfluss der BPO-Konzentration auf die Proben temperatur nach der Herstellung mit verschiedenen Herstellverfahren (STD-, OPT-, KÜHL-Methode) in Prototyp B sowie der pH-Stabilität nach t = 14 d und t = 28 d bei 40 °C

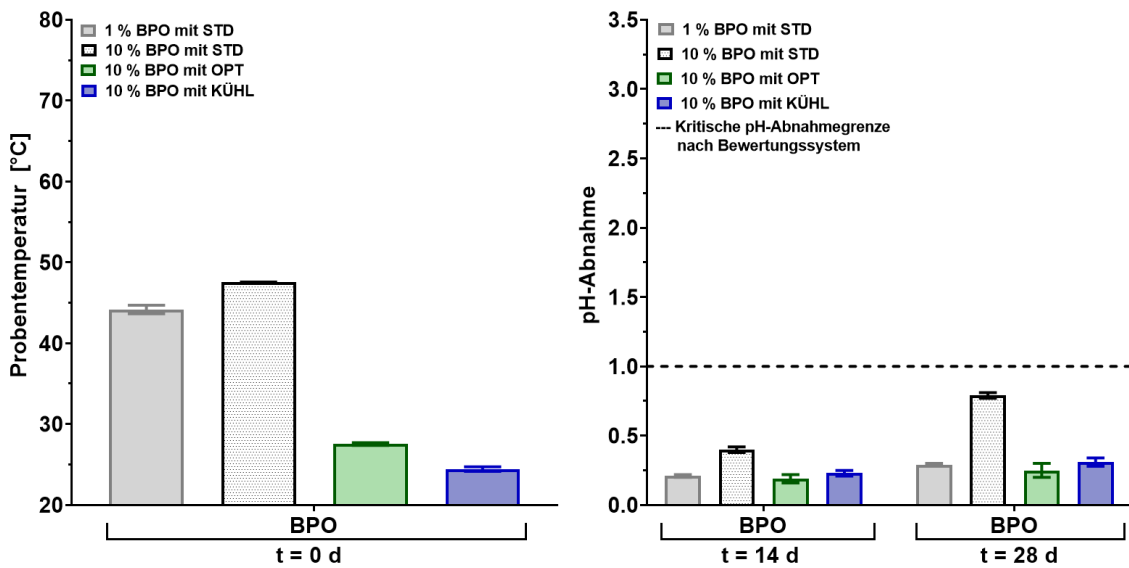


Abb. 35: Einfluss der BPO-Konzentration auf die Proben temperatur nach der Herstellung mit verschiedenen Herstellverfahren (STD-, OPT-, KÜHL-Methode) in Prototyp C sowie der pH-Stabilität nach t = 14 d und t = 28 d bei 40 °C

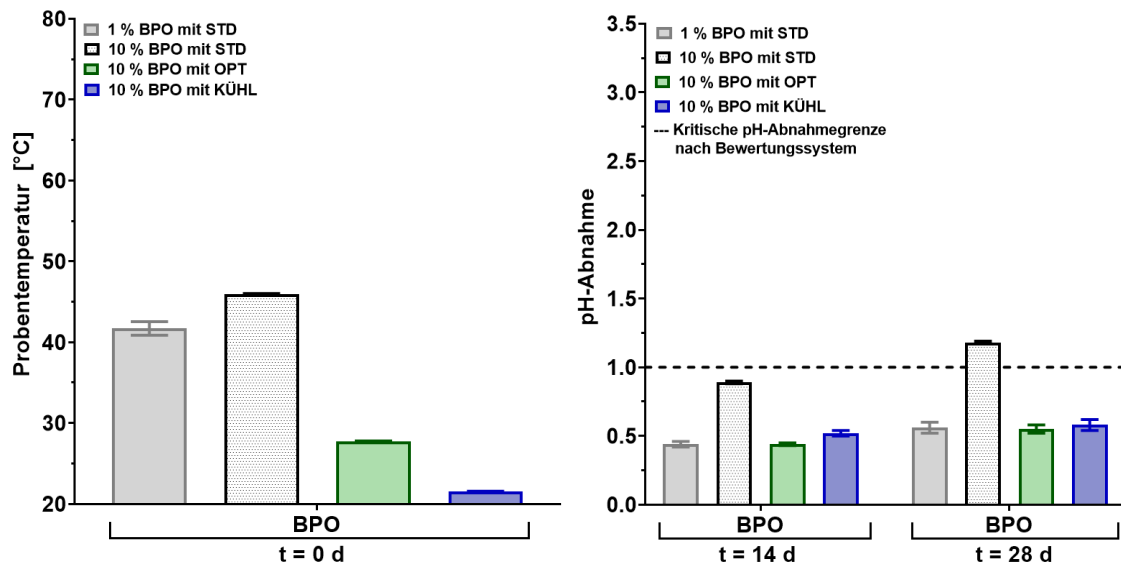


Abb. 36: Einfluss der BPO-Konzentration auf die Probentemperatur nach der Herstellung mit verschiedenen Herstellverfahren (STD-, OPT-, KÜHL-Methode) in Prototyp D sowie der pH-Stabilität nach t = 14 d und t = 28 d bei 40 °C

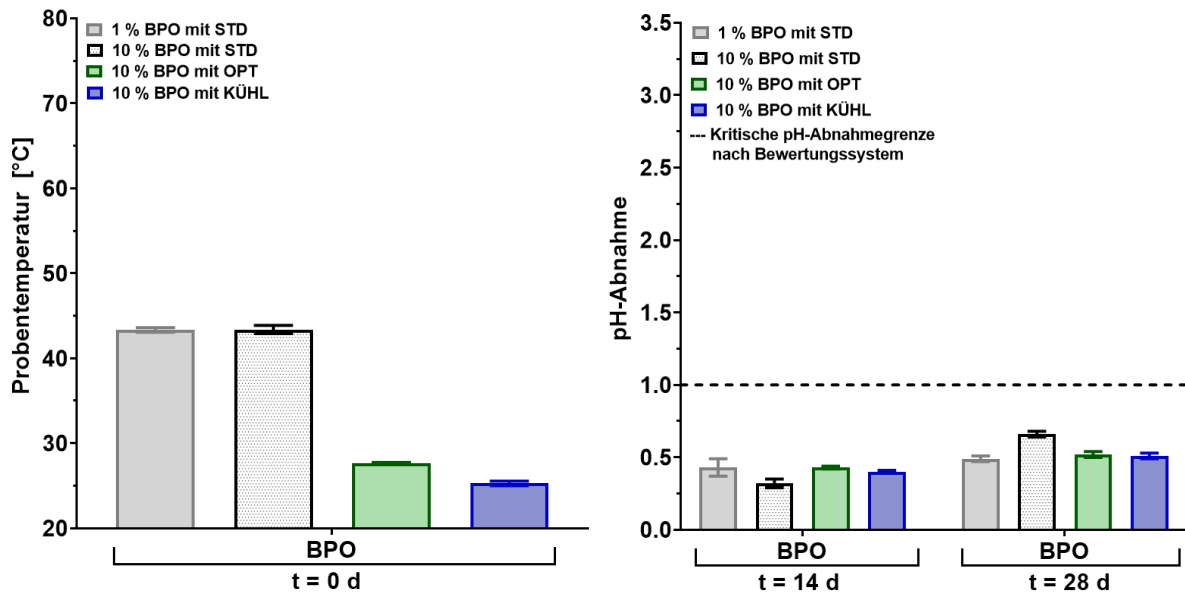


Abb. 37: Einfluss der BPO-Konzentration auf die Probentemperatur nach der Herstellung mit verschiedenen Herstellverfahren (STD-, OPT-, KÜHL-Methode) in Prototyp E sowie der pH-Stabilität nach t = 14 d und t = 28 d bei 40 °C

#### 4.1.4 Fazit

Die Durchführung der Stabilitätsuntersuchung mit NDN, BPO und deren Kombinationen zeigte, dass NDN eine außerordentliche hohe Stabilität unter den meisten Stressbedingungen aufweist. Lediglich unter Einfluss von Wasserstoffperoxid bei 60 °C zeigt sich ein NDN-Abbau. BPO erweist sich vor allem unter erhöhten Lagertemperaturen (60 °C) als ein instabiler und reaktiver WS, der die Stabilität beider WS negativ beeinflussen kann.

Des Weiteren zeigte sich, dass HS und deren Kombinationen sowie deren Einsatzkonzentrationen die BPO-Stabilität in den Vehikel-Grundlagen entscheidend mitbestimmen. Für die finalen Vehikel-Grundlagen ist es daher zwingend notwendig unterhalb der untersuchten Einsatzkonzentrationen der HS zu bleiben und galenisch sinnvolle Verhältnisse zu wählen, die es ermöglichen, stabile, streichfähige und kosmetisch ansprechende Formulierungen herzustellen. Dies gilt besonders für den Einsatz von Xanthan-Gelbildnern, welche bei 2 % und 3 % puddingartige Konsistenzen aufweisen. Vehikeln mit Squalan als Lipidphase, Milchsäure/Lactat-Puffer (pH 5,5) als Puffersystem, Pentylenglycol als Feuchthaltemittel, Amaze XT als Xanthan-Gelbildner (zeigt im Vergleich zum KETROL F bessere streichfähige Eigenschaften) erscheinen vielversprechend und kompatibel.

Aus der Stabilitätsuntersuchung wurde ersichtlich, dass die Probertemperatur während der Herstellung ein qualitätsbestimmender Prozessparameter und entscheiden für die BPO-Stabilität ist. Dies gilt es während der finalen Entwicklung der Vehikel-Grundlagen im Herstellverfahren zu berücksichtigen. Somit wird ersichtlich, dass die BPO-Stabilität, durch ein komplexes Zusammenspiel zwischen der Auswahl der HS, der Konzentration des gelösten Anteils von BPO in Vehikeln [19], der pH-Stabilität des Vehikels, der Herstelltechnik der wirkstoffhaltigen Formulierungen und der Lagertemperatur beeinflusst werden kann.

## 4.2 Stabilitätsuntersuchung der Wirkstoffe in finalen Vehikel-Grundlagen

Ziel der finalen Stabilitätsuntersuchung war es, ressourcensparend, eine lagerstabile, streichfähige und auch kosmetisch ansprechende Formulierung mit der Kombination aus NDN und BPO zu ermitteln. Um dies zu realisieren wurden Vehikel-Grundlagen (Prototypen F, G und H) die auf Basis der Erkenntnisse der Stabilitätsuntersuchung (s. 4.1.4) entwickelt sind und dem etablierten Anforderungsprofil (s. 2.5) an geeignete Formulierungen für Akne erkrankter Haut entsprechen, eingesetzt (s. 3.2.1.1).

Alternativ zum klassischen Xanthan-Gelbildner (Amaze XT), welcher in den Prototypen F und G verwendet wurde, führen Formulierungen mit SENSOCEL stab 026-N als Gelbildner (Compound bestehend aus Mikrokristalliner Cellulose und Xanthan Gummi) zu kosmetisch sehr ansprechenden Vehikeln, weshalb der Gelbildner SENSOCEL stab 026-N aus diesem Grund in der Vehikel-Grundlage des Prototyps H eingesetzt wurde.

In den Untersuchungen der Wirkstoffstabilität in Vehikeln (s. 4.1) wurde mit der für BPO maximalen Anwendungskonzentration von 10 % gearbeitet (s. 2.3). Zielsetzung hierbei war es, ein Stabilitätsprofil zu generieren, welches mit hoher Sicherheit das Stabilitätsverhalten von BPO in Vehikel-Grundlagen vorhersagen kann. Diese hohe BPO-Konzentration wird allerdings in der Kombination mit 1 % NDN bisher nicht durch klinische Studien abgedeckt. Hingegen zeigten Untersuchungen, dass eine Kombination mit 1 % NDN und 5 % BPO im Bereich der leichten bis mittleren Akne, wirksam [76] und lokal verträglich [77] ist.

Die finale Stabilitätsuntersuchung orientierte sich an diesen Wirkstoffkonzentrationen und gliedert sich in zwei Teilaspekte (s. 3.2.6). Im ersten Teil erfolgte die Ermittlung eines geeigneten Primärpackmittels. Hier wurden Tuben aus Polyethylen (PE) Kunststoff und Aluminium (ALU) mit Glasvials untersucht. Zeigen die Lagerproben in einem der beiden getesteten Primärpackmittel (PE- und ALU-Tuben) annähernd die gleiche Stabilität wie im Glas, so kann von der Eignung dieses Primärpackmittels ausgegangen werden. Der zweite Teil ermöglichte es, die Stabilität der finalen Zubereitungen vergleichend zu bewerten und eine Laufzeit von mind. 2 Jahren, inklusive der empfohlenen Lagerbedingung, mit hoher Sicherheit vorherzusagen.

Die WS wurden in Kombination mit einer temperaturschonenden Herstellmethode in die Vehikel-Grundlagen eingearbeitet (s. 3.2.1.3) und nach einer Lagerung von t = 28 d, 84 d und 168 d unter verschiedenen Lagerbedingungen (5 °C / k. r. F., 25 °C / 60 % r. F. und 40 °C / 75 % r. F.) auf Stabilität geprüft und final mit Hilfe des implementierten Bewertungssystems (s. 3.2.7) hinsichtlich kritischer Parameter bewertet.

#### 4.2.1 Ermittlung des geeigneten Primärpackmittels

Um im ersten Teil der Stabilitätsuntersuchungen ein geeignetes Primärpackmittel für die Vehikel-Grundlagen (Prototypen F-H) auszuwählen, wird im Folgenden der Wirkstoffgehalt von BPO und NDN und der pH-Wert der Proben nach einer Lagerdauer von  $t = 84$  d bei  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  und  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  betrachtet.

Der Prototyp F zeigt eine nicht ausreichende Stabilität der beiden WS in PE- und ALU-Tuben und in Glasvials, wenn Proben bei  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  gelagert werden (s. Abb. 38-40). Der Wirkstoffgehalt sinkt hier deutlich unter die 95%ige Gehaltsuntergrenze ab. Die Stabilität nimmt in folgender Reihung ab: ALU >> Glas > PE. In ALU zeigt NDN erstmals einen höheren Wirkstoffabbau im Vehikel als BPO, welches schon bei  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  deutlich auftritt. Prototyp F mit WS (NDN+BPO) zeigt eine ausreichende pH-Stabilität, da die pH-Abnahme kleiner als eine pH-Einheit ausfällt (s. Abb. 38-40). Eine Ausnahme stellt hier der pH-Wert der Placebo-Kontrollgruppe (VEHIKEL) in ALU bei  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  dar. Hier erfolgt ausschließlich eine pH-Zunahme von ca. 2 pH-Einheiten und deutet auf eine Interaktion zwischen Grundlage und Primärpackmittel bei höheren Temperaturen hin.

Beide WS zeigen in Prototyp G im Glas und PE eine ausreichende Stabilität, wenn sie bei  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  und  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  gelagert werden (s. Abb. 41-43). In ALU abgefüllte Proben zeigen hinsichtlich der WS- und pH-Stabilität mit Prototyp F vergleichbare Ergebnisse (s. Abb. 40 und 43), d. h. ALU-Tuben sind als Primärpackmittel für Prototyp G nicht geeignet.

In Prototyp H zeigen beide WS bei  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  unabhängig vom Primärpackmittel keine ausreichende Stabilität (s. Abb. 44-46). In ALU gelagerte Proben zeigen ferner die bereits für die Prototypen F und G beschriebene Interaktion mit den ALU-Tuben.

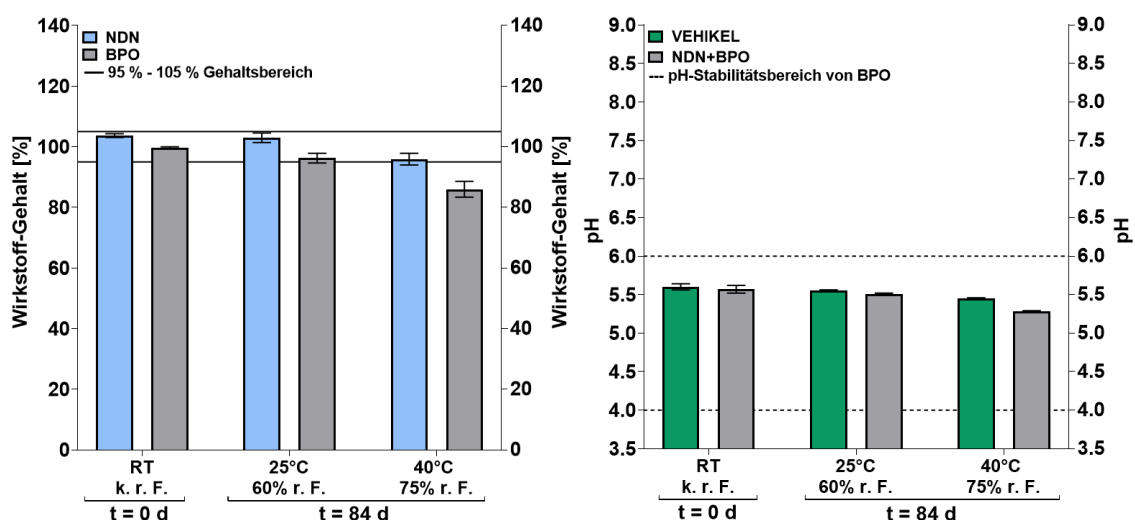


Abb. 38: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp F gelagert in Glasvial nach  $t = 84$  d

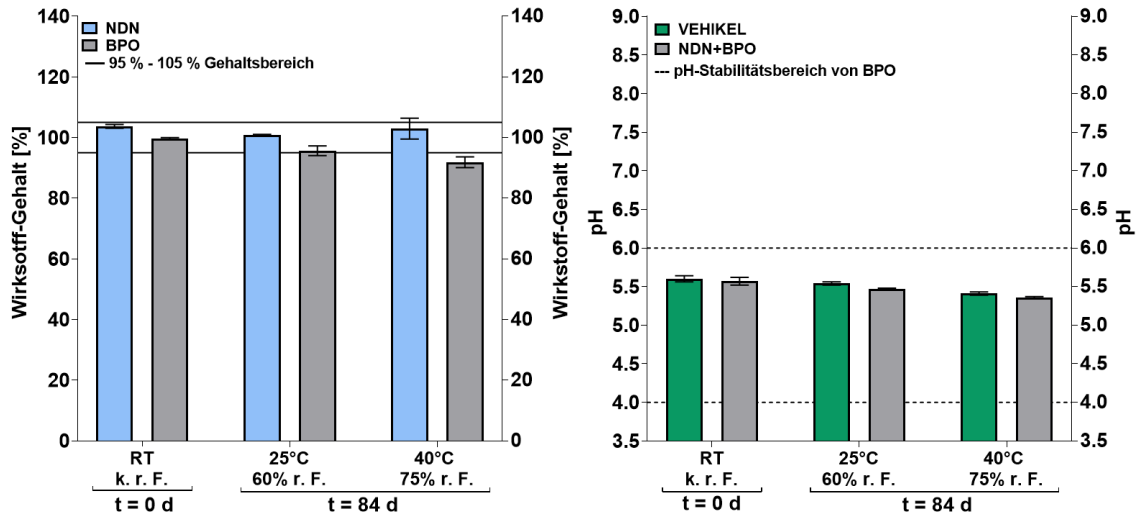


Abb. 39: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp F gelagert in PE-Tube nach t = 84 d

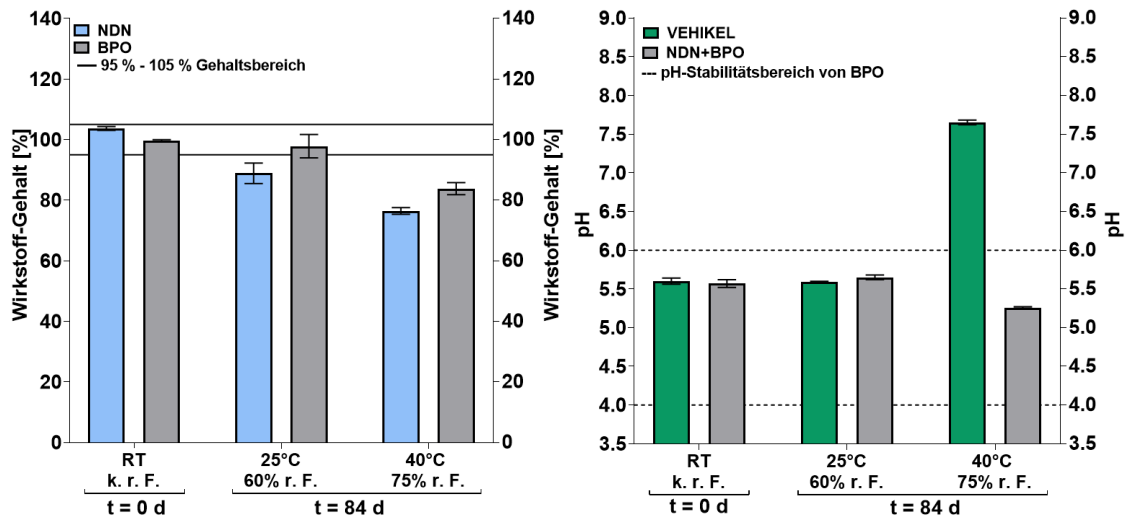


Abb. 40: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp F gelagert in ALU-Tube nach t = 84 d

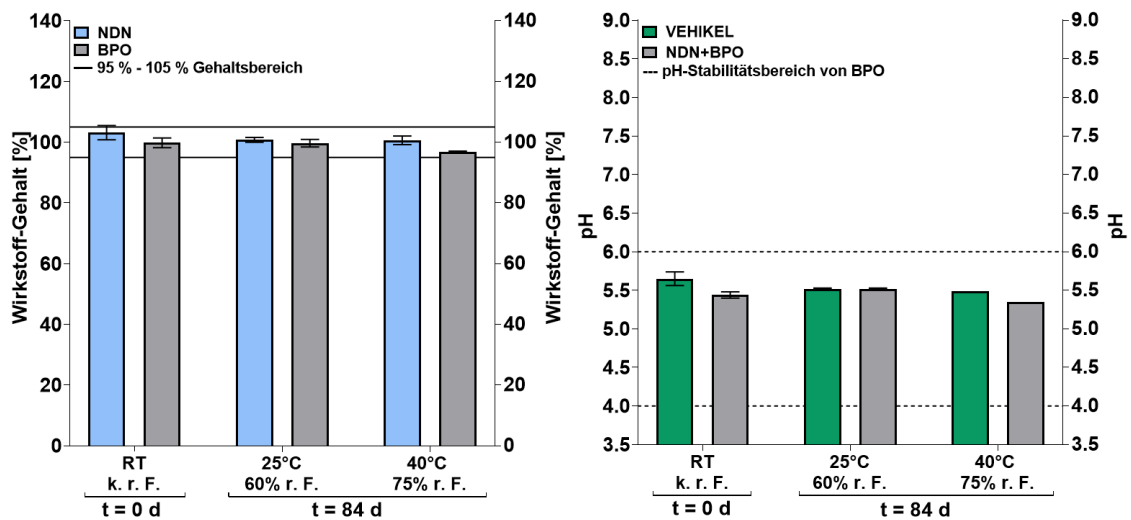


Abb. 41: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp G gelagert in Glasvial nach t = 84 d

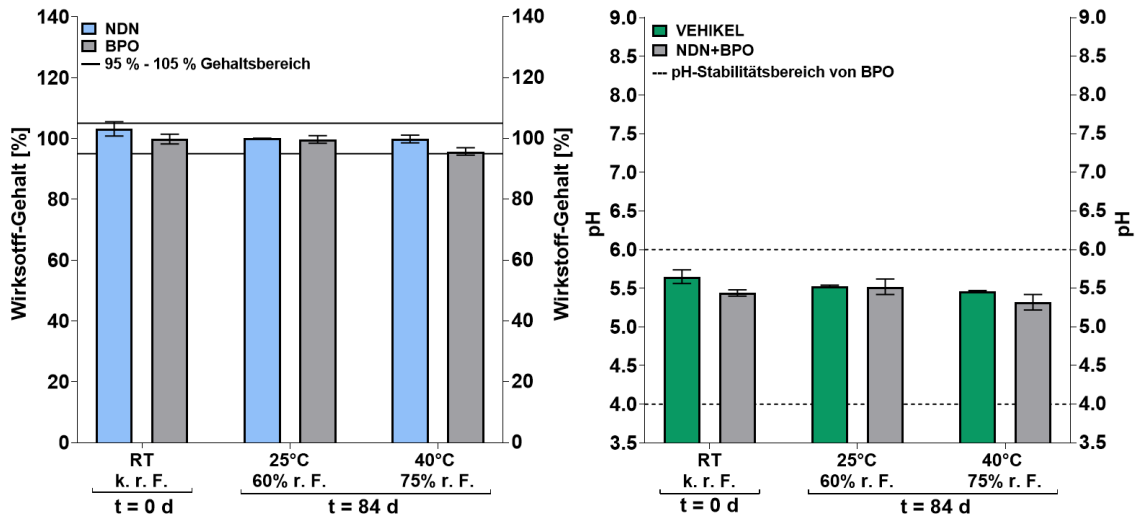


Abb. 42: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp G gelagert in PE-Tube nach t = 84 d

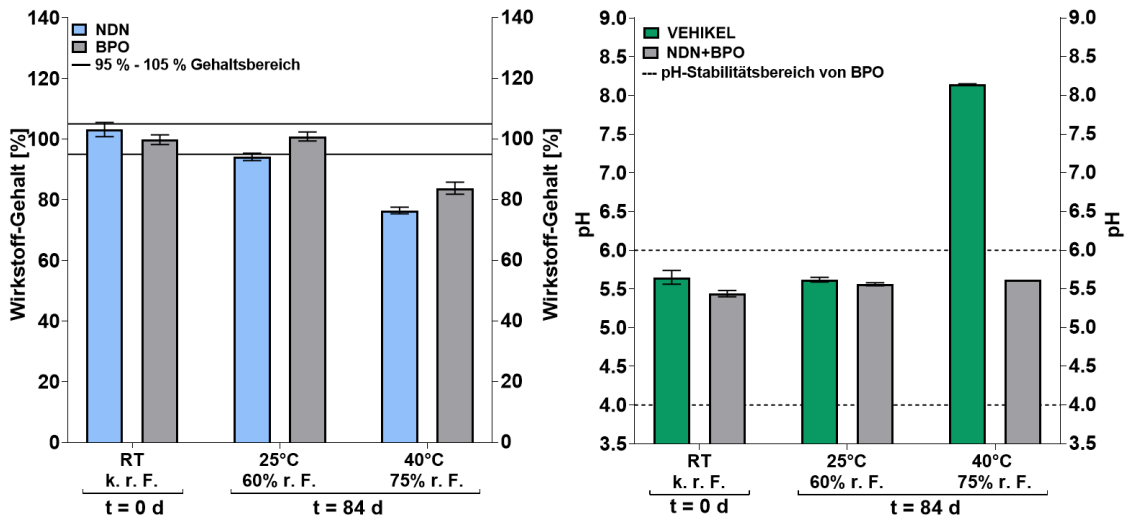


Abb. 43: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp G gelagert in ALU-Tube nach t = 84 d

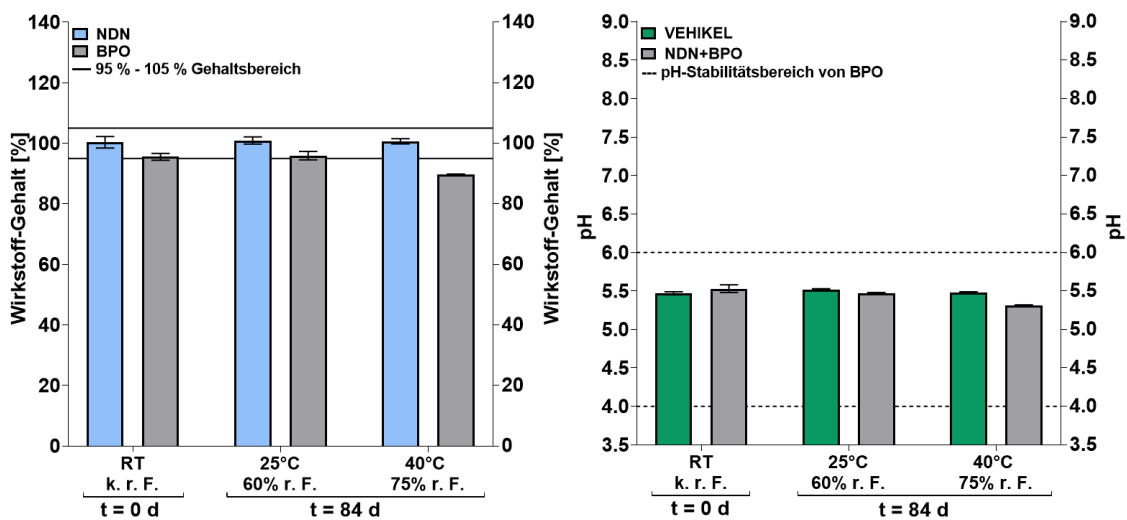


Abb. 44: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp H gelagert in Glasvial nach t = 84 d

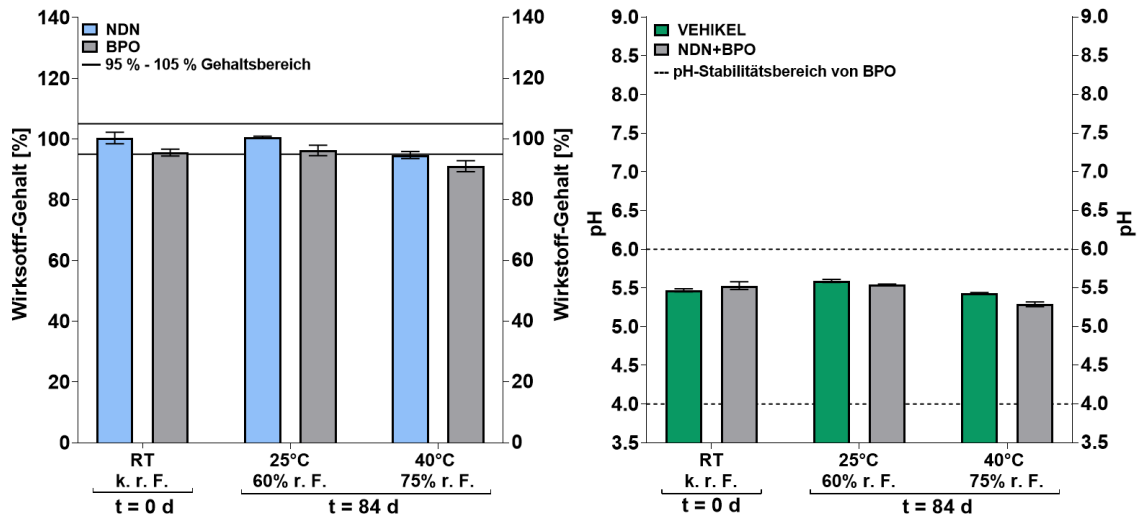


Abb. 45: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp H gelagert in PE-Tube nach t = 84 d

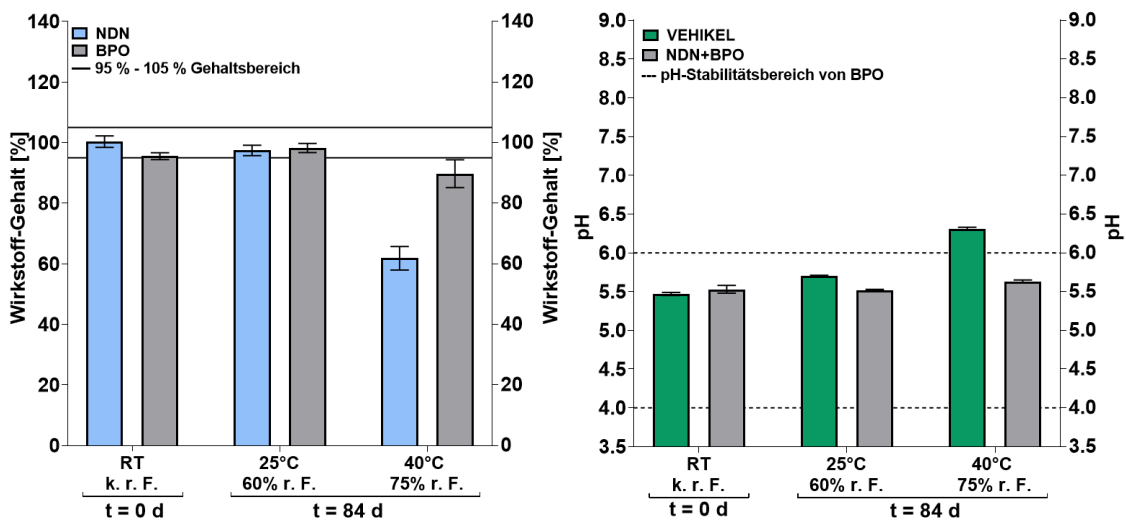


Abb. 46: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp H gelagert in ALU-Tube nach t = 84 d

Die Kombination beider WS zeigt die höchste Stabilität in Prototyp G, gefolgt von den Prototypen H und F. Dies kann so erklärt werden, da BPO in der Lipidphase eine gewisse Löslichkeit besitzt, die mit höherer Lagertemperatur (z. B. 40 °C) weiter ansteigt [35]. Die Löslichkeit beeinflusst ihrerseits die Gesamtreaktivität von BPO in Vehikel-Grundlagen [19]. Prototyp G weist keine Lipidphase auf, sodass dieser Effekt hier keine Rolle spielt. Die Prototypen F und H besitzen einen gleich großen Anteil Squalan als Lipidphase. Des Weiteren enthält der Prototyp F Polysorbat 60, welches als Solubilisator [78] die Löslichkeit von WS in Vehikel-Grundlagen erhöhen und somit die Stabilität von BPO und NDN im Vehikel negativ beeinflussen kann. NDN zeigt überraschenderweise auch unabhängig von BPO eine individuelle Interaktion mit der ALU-Tube als Primärpackmittel. Der NDN-Gehalt ist hier deutlich niedriger als der von BPO in allen untersuchten Proben.

Eine ansonsten von BPO getriggerte Inkompatibilität im Vehikel führt immer zu einer stärkeren BPO- im Vergleich zur NDN-Abnahme. Solch ein bisher nicht beobachtetes Inkompatibilitätsverhalten tritt nicht bei PE und Glas auf und bestätigt die Vermutung der Beteiligung von Aluminiumionen an der Reaktion. Die pH-Wert Zunahme der Placebo-Kontrollgruppe (VEHIKEL) aller Prototypen in ALU bei 40 °C deutet darauf hin, dass die Innenlackierung der Tuben vermutlich nicht intakt gewesen ist. Möglicherweise wurde die Beschädigung beim Verschließen der Tuben (händisch mit Tubenfalz-Zange) verursacht. Weitere Gründe können sein: Der Defekt des Innenlackes ist während der Tubenherstellung oder während des Transports entstanden. Als wesentlich weniger wahrscheinlich, ist eine spezifische Inkompatibilität zwischen Vehikel-Grundlage und intakter ALU-Tube, die bei 40 °C verstärkt zum Vorschein kommt, anzusehen. Die wirkstoffhaltigen Proben zeigen keinen pH-Anstieg. Dies ist dadurch begründet, dass eine BPO-Gehaltsabnahme mit einer pH-Abnahme einhergeht und dadurch der pH-Anstieg kompensiert wird. Der eingesetzte Laktat-Puffer zeigt darüber hinaus eine gute Pufferwirkung und sorgt über die gesamte Untersuchungszeit bei allen untersuchten Proben (ausgenommen Proben in ALU-Tuben) für eine ausreichende pH-Stabilität; eine Bestätigung dafür, dass dieses Formulierungskonzept erwartungsgemäß funktioniert.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass PE-Tuben sich mit allen Prototypen als kompatibel erweisen und daher als Primärpackmittel geeignet sind. Dieser Teil der Stabilitätsuntersuchung zeigt außerdem, dass der Prototyp G in PE-Tuben selbst bei 40 °C Lagertemperatur eine ausreichende Wirkstoffstabilität zeigt (s. Tab. 21). Demgegenüber können die eingesetzten ALU-Tuben für keinen der drei Prototypen F, G und H als geeignet eingestuft werden. Auch wenn dies möglicherweise als Artefakt im Rahmen der vorliegenden Untersuchung zu werten ist, zeigt sich trotzdem, wie anfällig NDN in allen Prototypen auf Aluminiumionen reagiert. Deshalb sollte im Sinne einer Risikovermeidung besser auf innenschutzlackierte Aluminiumtuben als Primärpackmittel verzichtet werden.

Tab. 21: Zusammenfassung der Ergebnisse der Probenstabilität von Prototyp F-H mit 1 % NDN und 5 % BPO in verschiedenen Primärpackmitteln nach einer Lagerung von t = 84 d bei 40 °C / 75 % r. F.

Primärpackmittel		Glasvial	PE-Tube	ALU-Tube
Prototypen	Untersuchungen	Bewertung		
F	Änderung des makroskopischen Aussehens	●	●	●*
	Abnahme des pH-Wertes	●	●	●
	Abnahme des Wirkstoffgehalts	●	●	●
G	Änderung des makroskopischen Aussehens	●	●	●*
	Abnahme des pH-Wertes	●	●	●
	Abnahme des Wirkstoffgehalts	●	●	●
H	Änderung des makroskopischen Aussehens	●	●	●*
	Abnahme des pH-Wertes	●	●	●
	Abnahme des Wirkstoffgehalts	●	●	●

\*Proben zeigen eine Gelbverfärbung, Näheres ist im Anhang aufgeführt (s. 7.1).

#### 4.2.2 Ermittlung der geeigneten Lagerbedingung und Laufzeit

Um die Stabilität der WS in den Vehikel-Grundlagen (Prototypen F-H) vergleichend zu bewerten und eine Laufzeit von mind. 2 Jahren mit Empfehlung für die Lagerbedingung vorherzusagen, wird im Folgenden das makroskopische Erscheinungsbild der Proben zum Zeitpunkt t = 0 d und t = 186 d bei verschiedenen Lagerbedingungen betrachtet (s. Abb. 47).

Alle Prototypen mit WS (NDN+BPO), die bei 5 oder 25 °C gelagert wurden, zeigen keine Farbveränderung. Während hingegen eine Lagerung bei 40 °C, eine Farbänderung von weiß nach gelb verursacht. Die Farbintensität zwischen den Prototypen ist unterschiedlich stark ausgeprägt und nimmt in folgender Reihenfolge zu: G < H << F. Eine derartige Gelbverfärbung ist aus den vorangegangenen Untersuchungen bekannt und weist auf eine nicht ausreichende Stabilität beider WS im Vehikel hin (s. 4.1.2).

In der Gesamtbetrachtung zeigt Prototyp G die geringsten makroskopischen Veränderungen aller untersuchten Prototypen.

	t = 0 d RT		t = 186 d 5 °C / k. r. F.		t = 186 d 25 °C / 60 % r. F.		t = 186 d 40 °C / 75 % r. F.	
	VEHIKEL	NDN+BPO	VEHIKEL	NDN+BPO	VEHIKEL	NDN+BPO	VEHIKEL	NDN+BPO
Prototyp F								
Prototyp G								
Prototyp H								

Abb. 47: Makroskopisches Erscheinungsbild der Prototypen F-H in Glasvial nach t = 168 d unter verschiedenen Lagerbedingungen

Beide WS zeigen eine ausreichende Stabilität in allen Prototypen, wenn diese bei 5 °C oder 25 °C eingelagert werden (s. Abb. 48-50). Ein differenzierteres Bild ergibt sich bei Proben, die bei 40 °C gelagert wurden. Hierbei nimmt die Stabilität in folgender Reihenfolge ab: G > H >> F. Dabei zeigt keine der untersuchten Proben eine kritische pH-Änderung (s. Abb. 48-50).

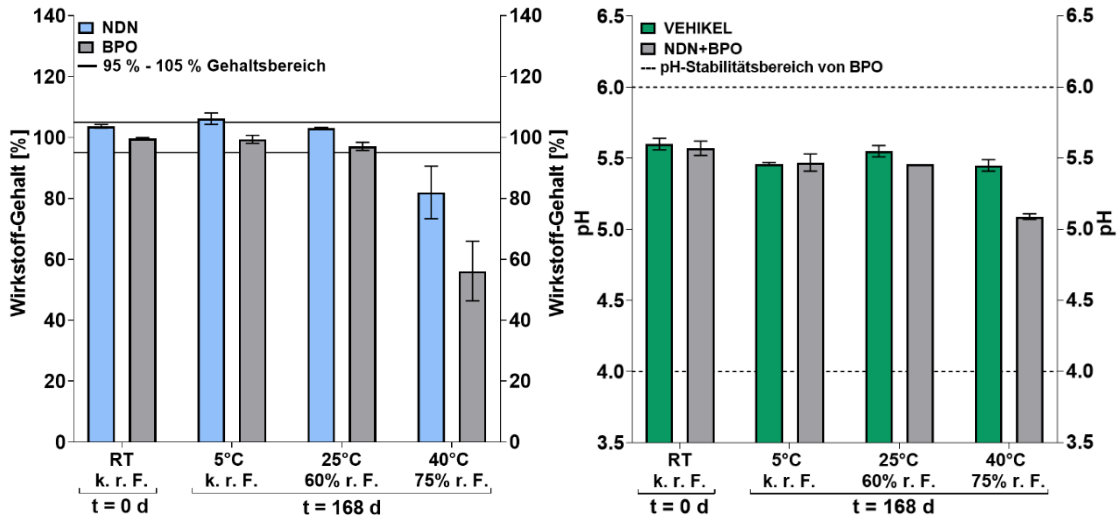


Abb. 48: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp F gelagert in Glasvial nach t = 168 d

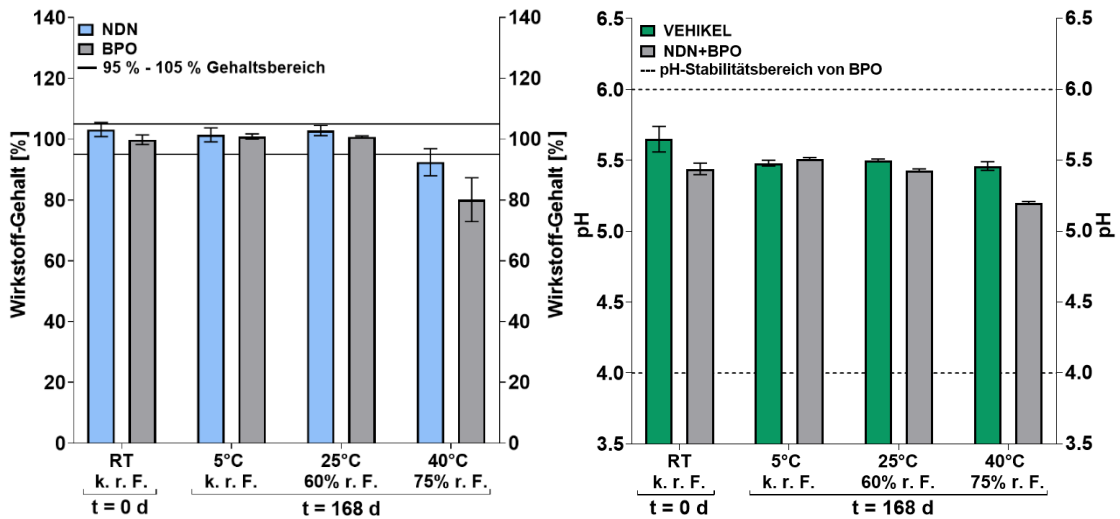


Abb. 49: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp G gelagert in Glasvial nach t = 168 d

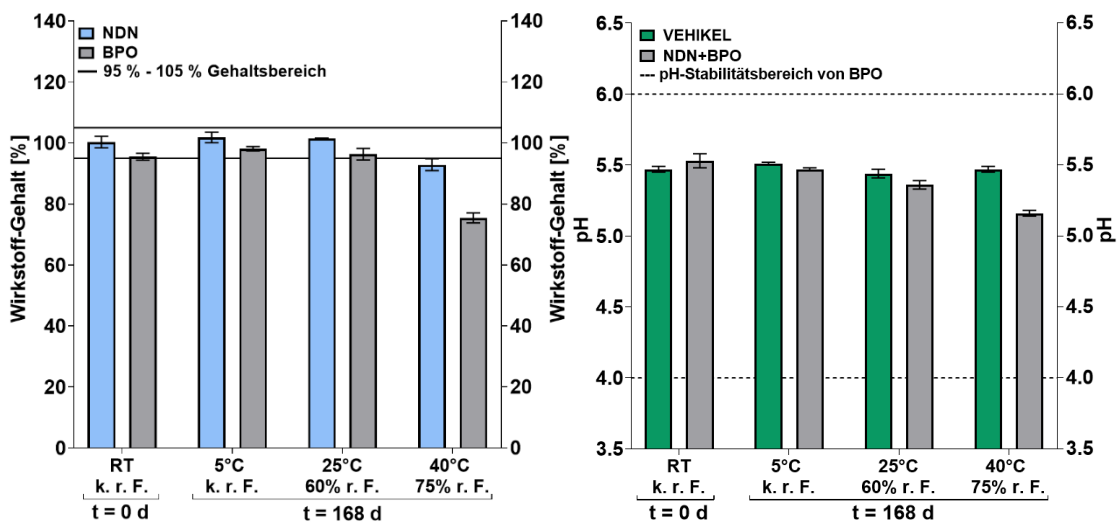


Abb. 50: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp H gelagert in Glasvial nach t = 168 d

Aus den Ergebnissen des zweiten Teils der Stabilitätsuntersuchung wird ebenfalls ersichtlich, dass der anfangs beschriebene Zerfallsmechanismus von BPO in Vehikeln (s. 4.1.1) auch hier seine Gültigkeit hat. Dabei spielt insbesondere die Temperatur eine große Rolle, wenn es um das Triggern und Beschleunigen von Abbaureaktionen des BPO geht.

Entsprechend zeigt sich nach 6-monatiger Lagerung bei 5 °C und 25 °C unabhängig vom Prototyp keine kritische Veränderung der Probenfarbe (s. Abb. 47). Eine Farbveränderung tritt bei Proben auf, die bei 40 °C gelagert wurden. Das bestätigt auch, dass chemischer, aber insbesondere auch thermischer Stress, den BPO-Zerfall triggert (s. 2.3). Dieser setzt sich danach in einem autokatalytischen Zerfall von BPO fort und kann nachfolgend zu einem Anstieg des Abbaus beider WS führen, was zu einer Zunahme von Abbauprodukten im Vehikel führen kann. Dies bestätigt beispielsweise, dass im Chromatogramm neue, zuvor nicht in Erscheinung getretenen Abbauprodukte (exemplarisch gezeigt hier für Prototyp G) mit den Peak Nr. 2 und 3 aufgetreten sind (s. Abb. 51 und 52). Das detektierte Abbauprodukt mit der Peak Nr. 1 (s. Abb. 51 und 52) ist höchstwahrscheinlich die Benzoesäure (s. 2.3), welche sich schon im Rahmen der HPLC-Methoden-Entwicklung im Chromatogramm bemerkbar gemacht hat (s. 3.2.4.1).

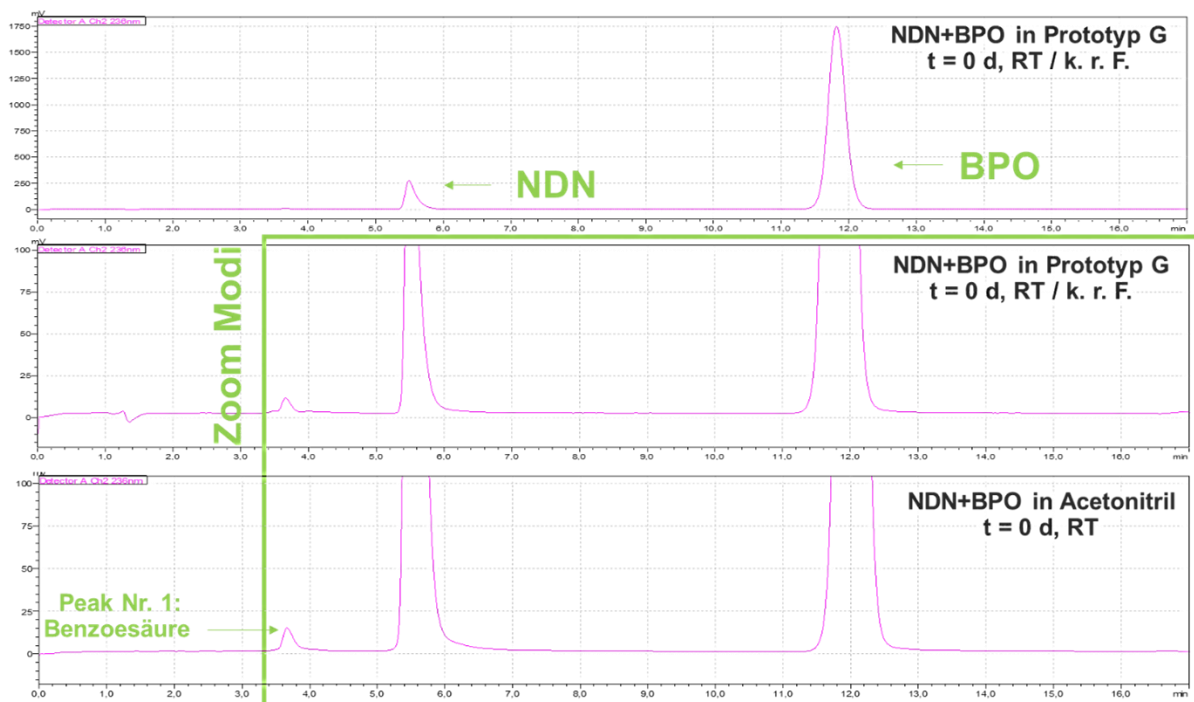


Abb. 51: Referenz-Chromatogramm von NDN und BPO in Prototyp G nach der Herstellung (t = 0 d) sowie beide WS in Acetonitril-Stammlösung

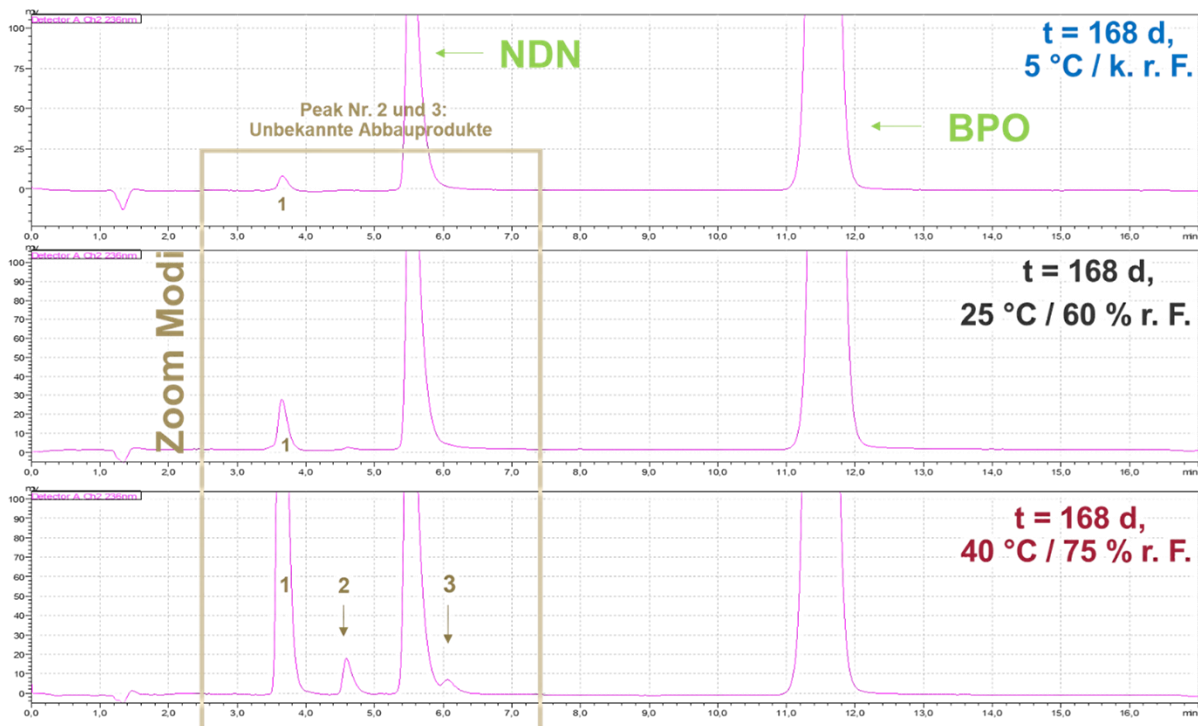


Abb. 52: HPLC-Chromatogramm einer Probe des Prototyps G nach einer Lagerung von  $t = 168$  d im Glasvial

Nun kann mit Hilfe der RGT-Regel das Stabilitätsverhalten beider WS in Vehikeln vorhergesagt werden. Diese Faustregel [35] besagt: Wird die Temperatur einer chemischen Reaktion um  $10\text{ °C}$  erhöht, dann steigt die Reaktionsgeschwindigkeit um das Doppelte bis Vierfache an. Somit kann über eine einfache Extrapolation aus der Bestimmung des Wirkstoffgehalts, die wahrscheinliche Laufzeit abgeschätzt werden. Der zweite Teil der Stabilitätsuntersuchung bestätigt (vgl. Tab. 21 und 22), dass für Prototyp G abgefüllt in PE-Tuben eine Laufzeit von mind. 2 Jahren zu erwarten ist, wenn eine Lagerung im Kühlschrank bei  $2\text{--}8\text{ °C}$  gemäß Ph. Eur. [39] erfolgt.

Zur Berechnungsgrundlage können die Stabilitätsdaten der Gehaltsbestimmung nach der 3-monatigen Lagerung exemplarisch herangezogen werden. Auf dieser Grundlage kann die wahrscheinliche Laufzeit folgendermaßen extrapoliert werden: Wird nun die Lagertemperatur von  $40\text{ °C}$  auf  $10\text{ °C}$  reduziert, ergeben sich drei Reduktionsschritte ( $40\text{ °C} > 30\text{ °C} > 20\text{ °C} > 10\text{ °C}$ ). Somit verlangsamt sich die Reaktionsgeschwindigkeit um Faktor 8 (es gilt:  $2^3 = 8$ ). Nun kann aus 3 Monaten, eine Laufzeit von 24 Monaten extrapoliert werden (es gilt:  $3\text{ Monate} \times 8 = 24\text{ Monate}$ ). Diese Betrachtung gilt, da bei Prototyp G nach 3-monatiger Lagerung bei  $5\text{ °C}$ ,  $25\text{ °C}$  und  $40\text{ °C}$  keine Unterschreitung der 95%igen Gehaltsuntergrenze vorliegt (s. 7.2). Dabei ist anzumerken, dass diese Betrachtung sehr konservativ ist, da von einer Verdopplung und nicht von einer Vervielfachung der Reaktionsgeschwindigkeit ausgegangen wird.

Des Weiteren wird nur bis 10 °C extrapoliert und nicht auf 5 °C. Somit weist diese Betrachtung einen ausreichenden Sicherheitszuschlag auf, der dazu beiträgt, dass eine Aussage mit hoher Sicherheit über die Auswahl von geeignetem Prototyp, Primärpackmittel, Lagerbedingung und Laufzeit getroffen werden kann.

Tab. 22: Zusammenfassung der Ergebnisse der Probenstabilität von Prototyp F-H mit 1 % NDN und 5 % BPO in Glasvials nach einer Lagerung von  $t = 168$  d unter verschiedenen Lagerbedingungen

Lagerbedingung		5 °C / k. r. F.	25 °C / 60 % r. F.	40 °C / 75 % r. F.
Prototypen	Untersuchungen	Bewertung		
F	Änderung des makroskopischen Aussehens	●	●	●*
	Abnahme des pH-Wertes	●	●	●
	Abnahme des Wirkstoffgehalts	●	●	●
G	Änderung des makroskopischen Aussehens	●	●	●
	Abnahme des pH-Wertes	●	●	●
	Abnahme des Wirkstoffgehalts	●	●	●
H	Änderung des makroskopischen Aussehens	●	●	●*
	Abnahme des pH-Wertes	●	●	●
	Abnahme des Wirkstoffgehalts	●	●	●

\*Proben zeigen eine Gelbverfärbung.

Die übrigen Untersuchungen für Prototyp G, die auf mikroskopische und rheologische Stabilität prüfen, lassen sich nach einer Lagerung von  $t = 168$  d wie folgt zusammenfassen: Alle Proben, die bei 5 °C oder 25 °C gelagert wurden, zeigen keine Änderung der Konsistenz, die bei der Applikation wahrnehmbar wäre. Eine leichte Abnahme der Ruheviskosität (zu sehen an der Änderung der Fließgrenze, der Fließkurven und am Fließpunkt der Oszillationskurve, s. Abb. 53), wenn bei 40 °C gelagert wurde. Ebenso zeigt sich bei dieser Lagertemperatur eine geringfügige Zunahme der Thixotropie, wenn man dafür die Hysteresefläche zwischen Auf- und Abkurve zugrunde legt.

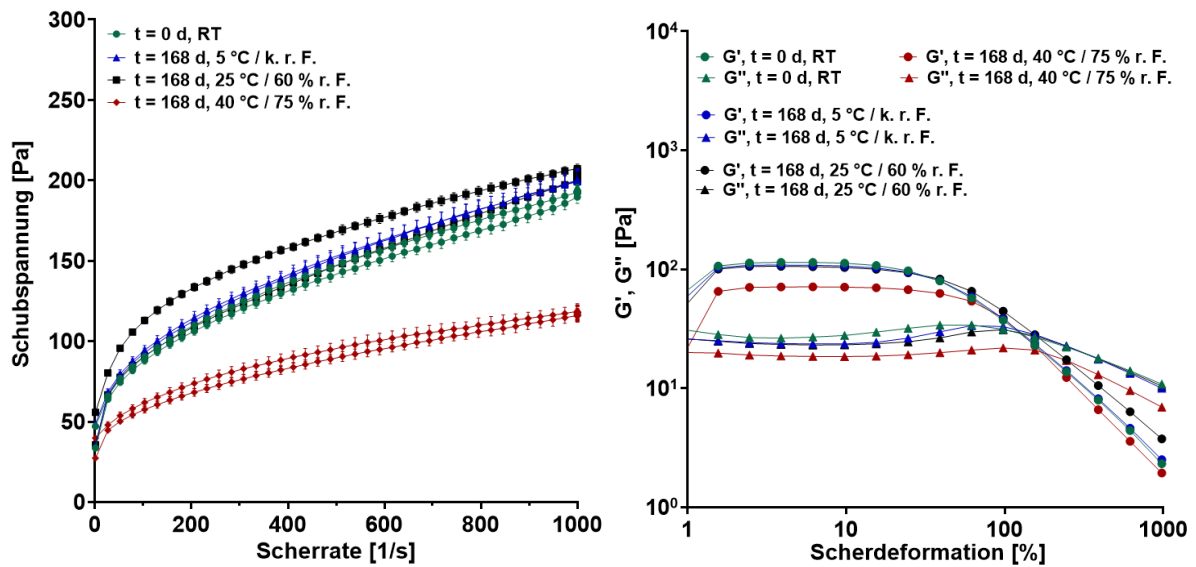


Abb. 53: Fließkurve (links) und Oszillationskurve (rechts) von Prototyp G mit NDN und BPO in Glasvial nach t = 168 d unter verschiedenen Lagerbedingungen

Auf mikroskopischer Ebene ist über die Lagerzeit lediglich eine Zunahme der Partikelagglomeration und ein geringes Partikelwachstum zu beobachten (s. Abb. 54). Diese Veränderung ist als nicht kritisch zu bewerten, da daraus keine Änderungen im Wirkstoffgehalt und in der Wirkstoffhomogenität der Untersuchungsproben resultieren.

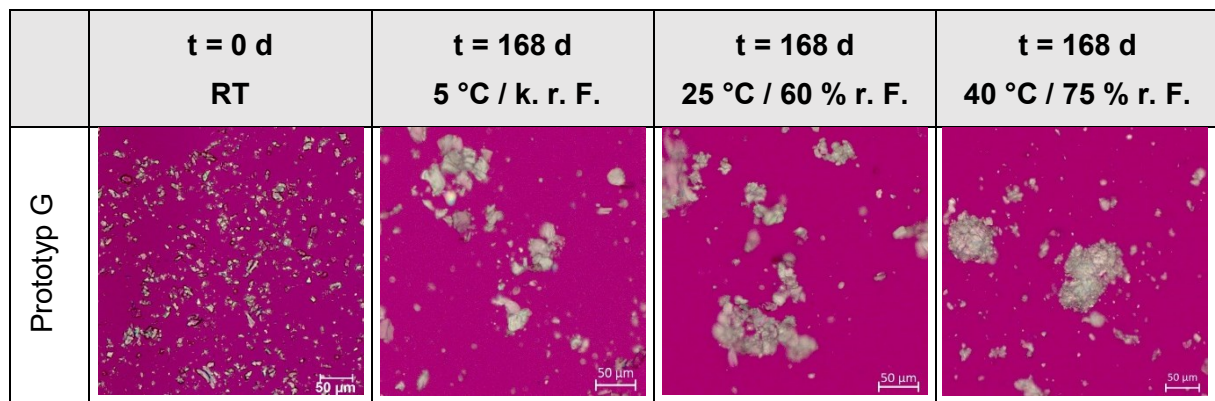


Abb. 54: Übersicht des mikroskopischen Erscheinungsbildes von Prototyp G mit NDN und BPO nach t = 168 d unter verschiedenen Lagerbedingungen

### 4.2.3 Fazit

Die eingangs der Stabilitätsuntersuchung (s. 4.1.3) aufgestellte Hypothese, dass BPO-Zerfallsreaktionen und deren Produkte den NDN- und BPO-Zerfall in Vehikeln triggern, konnte final bestätigt werden. Diese Erkenntnis bot eine Möglichkeit, ein Systemverständnis für das Stabilitätsverhalten beider WS in Vehikeln aufzubauen, das stark von der BPO-Stabilität geprägt ist (s. 4.1.4), welche in dieser Stabilitätsuntersuchung mit sehr gutem Erfolg berücksichtigt wurde. Das darauf beruhende Formulierungskonzept führt zu einer ausreichend lagerstabilen, streichfähigen und auch kosmetisch ansprechenden Zubereitung, die eine Kombination beider WS in einer Zubereitung ermöglicht. Final kann der Prototyp G als Vehikel empfohlen werden. Wenn die Zubereitung in PE-Tuben abgefüllt und bei 2-8 °C gelagert wird, erscheint eine Laufzeit von mind. 2 Jahren als plausibel. Eine detaillierte Übersicht der Ergebnisse für Prototyp G unter Berücksichtigung der kritischen Parameter, sind im Anhang aufgeführt (s. 7.2).

### 4.3 Charakterisierung der finalen Formulierung

Die finale Formulierung besteht aus der Vehikel-Grundlage des Prototyps G mit 1 % NDN und 5 % BPO, da sich diese bei den Stabilitätsuntersuchungen als stabilste Zubereitung herausgestellt hat (s. 4.2.3). In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der pharmazeutisch-technologischen und dermato-biopharmazeutischen Charakterisierung bezugnehmend auf eine Ansatzgröße von 200 g zusammengefasst (s. 3.2.1.3).

Prototyp G ist gemäß Ph. Eur. ein klassisches Hydrogel (s. 2.4.2) und entspricht dem Anforderungsprofil (s. 2.5) geeigneter Formulierungen für Akne erkrankte Haut. Die Vehikel-Grundlage ist in seiner Zusammensetzung und der Funktion der einzelnen Komponenten in Tab. 23 wiedergegeben.

Tab. 23: Zusammensetzung der Vehikel-Grundlage der finalen Formulierung

Hilfsstoffe	Funktionen	Zusammensetzung [%]
Xanthan Gummi (Amaze XT)	Gelbildner [79]	1,0
Mesoporöses Siliciumdioxid	Verdickungsmittel [72], Interaktion mit Sebum	0,5
Pentylenglycol	Feuchthaltemittel [80], Interaktion mit Sebum	5
90%ige Milchsäure-Lösung	Puffersystem [81]	0,56
50%ige Natriumlaktat-Lösung		41,24
Wasser	Grundlage	ad 100

Die beiden WS liegen dispergiert und in gesättigter Lösung in der Grundlage vor, sodass hier von einem Suspensionsgel gesprochen werden kann. Aufgrund der antimikrobiellen Aktivität von BPO, NDN (s. 2.3) und Pentylenglycol (5%ig) [82], kann von einer ausreichend mikrobiologischen Stabilität der Zubereitung ausgegangen werden, sodass der Zusatz von klassischen Konservierungsmitteln nicht erforderlich ist und auf weitergehende mikrobiologische Untersuchungen verzichtet wurde.

Im Rahmen der galenischen Charakterisierung wurden folgende Qualitätsmerkmale (1-6) untersucht, um die Eigenschaften der finalen Formulierung festzulegen:

**1) Mikroskopisches Erscheinungsbild:**

Untersuchung der Partikel -form, -größe und -agglomeration.

**2) Makroskopisches Erscheinungsbild:**

Untersuchung der Proben -gleichmäßigkeit, -farbe und des -glanzes.

**3) pH-Wert:**

Untersuchung des pH-Wertes.

**4) Gehaltsbestimmung:**

Bestimmung des Wirkstoffgehalts und Untersuchung der Wirkstoffhomogenität.

**5) Rotationsrheologie:**

Untersuchung des Fließverhaltens, der Fließgrenze und der Thixotropie.

**6) Oszillationsrheologie:**

Untersuchung des viskoelastischen Verhaltens und des Fließpunktes.

**4.3.1 Bestimmung des mikro- und makroskopischen Erscheinungsbildes**

Eine makroskopische Charakterisierung der Proben (s. 3.2.2) zeigt bei der wirkstoffhaltigen Probe (NDN+BPO) eine glänzende, weiße Masse mit gleichmäßigem Erscheinungsbild (s. Abb. 55). Da beide WS überwiegend suspendiert in den Vehikel-Grundlagen vorliegen, erfolgt eine verstärkte Lichtstreuung [83]. Die Proben erscheinen daher im Gegensatz zur Placebo-Kontrollgruppe intransparent. Beim Placebo ist lediglich eine leichte Trübung der gelierten wässrigen Außenphase zu beobachten. Der finalen Formulierung kann somit ein homogenes Aussehen als Eigenschaft zugesprochen werden.

Die mikroskopische Charakterisierung (s. 3.2.2) zeigt bei den polarisationsmikroskopischen Aufnahmen der Proben folgendes Ergebnis: Die WS sind ausreichend homogen in der Grundlage dispergiert. Es gibt keine unerwünschten Pulvernester oder verstärkte Agglomeration (s. Abb. 55). Das Erscheinungsbild ist maßgeblich von BPO geprägt, da BPO mit einem Gehalt von 5 % den Anteil an NDN (1 %) in der Grundlage klar überwiegt. Die häufigste Partikelgröße liegt bei ca. 15-25 µm. Meist liegen die Wirkstoffkristalle als nicht sphärische Partikel vor, deren Partikelform von Plättchen (flache Partikel, deren Länge und Breite annähernd gleich sind) bis Tafel (lange, dünne und flache Partikel) variiert.

Diese Wirkstoffpartikel liegen nicht nur als isolierte Primärpartikel vor, sondern bilden in der Grundlage Agglomerate, die eine unterschiedliche Gestalt und Größe annehmen können.



Abb. 55: Makroskopisches Erscheinungsbild der Placebo-Kontrollgruppe (links) und der wirkstoffhaltigen Probe (rechts) sowie mikroskopisches Erscheinungsbild einer wirkstoffhaltigen Probe

#### 4.3.2 Bestimmung des pH-Wertes

Bei BPO-haltigen Formulierungen kann der pH-Wert als kritisches Qualitätsmerkmal angesehen werden (s. 4.1.4), welcher nach der Herstellung zwingend geprüft werden muss. Die pH-Untersuchung (s. 3.2.3) zeigt, dass alle Proben (VEHIKEL und NDN+BPO) im pH-Stabilitätsbereich von BPO (pH = 4-6) liegen (s. Abb. 56). Der gewünschte physiologische pH-Bereich von 4,5-5,5 (s. 2.1) konnte in der wirkstoffhaltigen Probe durch den Pufferzusatz realisiert werden. Somit bestätigt sich die Eignung des gewählten Milchsäure/Laktat-Puffersystems. Die nach Einarbeitung der WS in der Vehikel-Grundlage beobachtete minimale Abnahme des pH-Wertes ist auf die Verunreinigung des eingesetzten BPO mit Benzoesäure zurückzuführen (s. 3.2.4.1), da Arzneibuch-konforme Ware bis zu 1,5 % dieser Verunreinigung enthalten darf [16]. Eine zusätzliche pH-Einstellung der Proben erweist sich als nicht erforderlich.

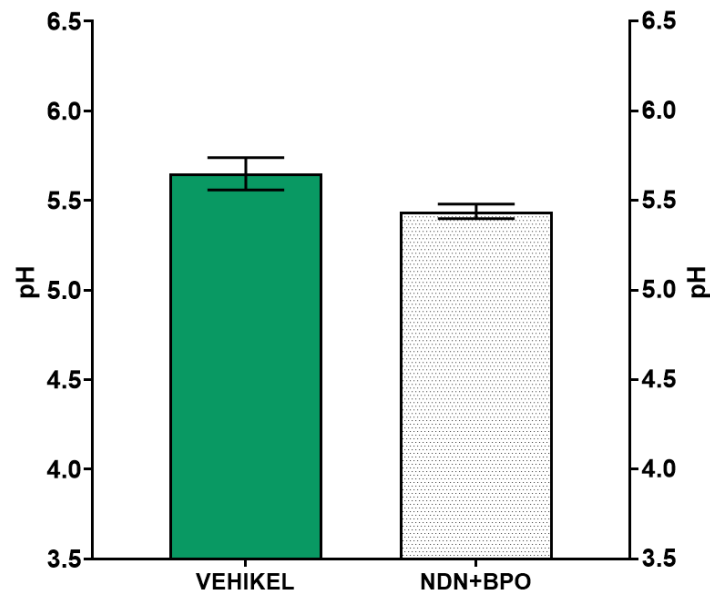


Abb. 56: pH-Wert der Placebo-Kontrollgruppe (VEHIKEL) und der wirkstoffhaltigen Probe (NDN+BPO)

#### 4.3.3 Bestimmung des Wirkstoffgehalts mittels HPLC

Der Wirkstoffgehalt ist ein weiteres kritisches Qualitätsmerkmal, welches Auskunft über die Wirkstoffhomogenität in der Grundlage geben kann und die Eignung der Herstelltechnik (s. 3.2.1.3) und der analytischen Probenaufbereitung (s. 3.2.4.2) prüft. Die Ergebnisse der Untersuchung zeigen deutlich, dass sowohl die Herstelltechnik als auch die analytische Probenaufbereitung als zielführend eingestuft werden können (s. Abb. 57). In der Gesamtbewertung äußert sich dies darin, dass alle gemessenen Wirkstoffgehalte im Bereich von 95-105 % liegen [84, 85]. Der berechnete Gesamtfehler (Standardabweichung) eines Messergebnisses liegt im Bereich von 1-2 %, was als gut bewertet werden kann. Dies bestätigt die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung, die zeigten, dass die WS ausreichend homogen in der Grundlage dispergiert sind und der Herstellprozess, Proben einheitlicher Qualität, bezogen auf den Gehalt ermöglicht.

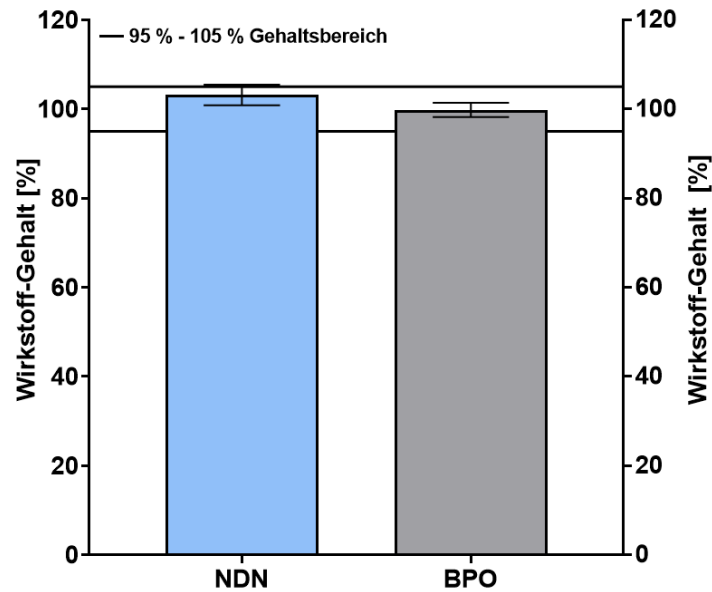


Abb. 57: Wirkstoffgehalt von NDN und BPO in der Vehikel-Grundlage

#### 4.3.4 Untersuchung der rheologischen Eigenschaften mittels Rotations- und Oszillationsmessung

Um die rheologischen Eigenschaften der finalen Formulierung festzulegen, wurde eine rheologische Charakterisierung mittels Rotations- und Oszillationsuntersuchung durchgeführt (s. 3.2.8).

Die Rotationsuntersuchung zeigt folgende Charakteristika: Sowohl die Placebo-Kontrollgruppe (VEHIKEL) als auch die wirkstoffhaltigen Proben (NDN+BPO) zeigen ein scherverdünnendes Fließverhalten, das mit einer Fließgrenze versehen ist; es handelt sich somit um Casson-Körper (s. Abb. 58) [35]. Dies erlaubt zum einen ein punktgenaues Auftragen (ohne Wegfließen), zum anderen ist ein leichtes Verstreichen der Zubereitung auf der Haut möglich. Die wirkstoffhaltige Probe zeigt erwartungsgemäß eine minimal höhere Fließgrenze als die Placebo-Kontrollgruppe, da der suspendierte WS einen Einfluss auf die Strukturbildung hat [86]. Beide Proben zeigen in der Auf- und Abkurve der Rheogramme, eine Hysterese fläche, die als Indikator für eine Thixotropie herangezogen werden kann [86].

Die Oszillationsuntersuchung zeigt ein vergleichbares Ergebnis. Der Fließpunkt der beiden Proben (NDN+BPO und VEHIKEL), erkennbar hier als Schnittpunkt der  $G'$ -Kurve mit der  $G''$ -Kurve [86], wird unter vergleichbarer Scherdeformation erreicht (s. Abb. 58). Die Zubereitungen zeigen ein viskoelastisches Verhalten.

Dabei ist der elastische Anteil der Probe vor Erreichen des Fließpunktes im Vergleich zum viskosen Anteil dominierend ( $G' > G''$ ), im Ruhezustand können die Proben somit als überwiegend gelartig charakterisiert werden. Oberhalb des Fließpunktes liegt der umgekehrte Zustand vor ( $G'' > G'$ ); der fluide Charakter ist dominierend [86].

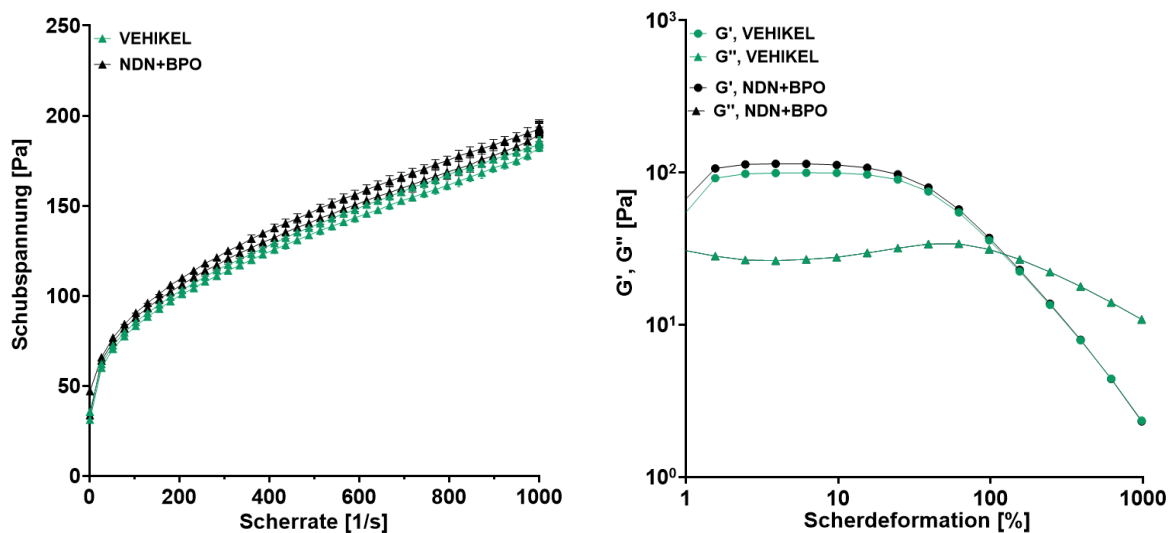


Abb. 58: Fließkurve (links) und Oszillationskurve (rechts) von Placebo-Kontrollgruppe (VEHIKEL) und wirkstoffhaltiger Probe (NDN+BPO)

#### 4.3.5 Untersuchung der dermato-biopharmazeutischen Eigenschaften mittels in-vitro Methode

Die in der finalen Formulierung eingesetzten HS Pentylenglycol und mesoporöses Siliciumdioxid (s. Tab. 23) sollten laut Anforderungsprofil (s. 2.5) neben ihren klassischen Funktionen im Formulierungskonzept, idealerweise mit humanem Sebum Wechselwirkung (Interaktion) zeigen. Dies wird bei der Akne erkrankten Haut als vorteilhaft angesehen, da der Haar-Follikel-Kanal bei Akne häufig mit Sebum und abgestoßenen Korneozyten blockiert ist und ein Eindringen der dermal applizierten Formulierung erschwert wird, was zu einer verminderten Wirkstoffpenetration in das Sebum führen kann.

Um das Interaktionspotenzial der Vehikel-Grundlage des Prototyps G mit Sebum gefüllten Talgdrüsen zu untersuchen, wurde eine dafür eigens entwickelte in-vitro Methode (s. 3.2.9) eingesetzt. Dabei wurde ein Membranfilter aus Polytetrafluorethylen, welches hydrophob ist und eine Porenstruktur aufweist, mit künstlichem Sebum beladen. Dieses dient zur Simulation von Haarfollikelkanälen und der Hautoberfläche. Die wirkstofffreien Prüfproben (Vehikel-Grundlage des Prototyps G und Kontrollproben (Negativ- und Positivkontrolle)) wurden mit ca.

200 mg auf den Filter aufgetragen und nach 24-stündiger Lagerung bei 32 °C wieder entfernt. Die gewählte Lagertemperatur dient zur Simulation der Hautoberflächentemperatur und die dazugehörige Lagerdauer und Probenmenge, einer einmal täglichen Applikation einer ca. Erbsengroßen Probenmenge, die eine übliche topische Anwendung im Gesicht simulieren soll. Je nachdem, wie stark die Interaktion zwischen Sebum und Formulierung ist, wird unterschiedlich viel Sebum aus dem Filter entfernt. Um eine vereinfachte Quantifizierung der entfernten Sebummenge zu ermöglichen, wurde dem Sebum zuvor ein UV-aktiver lipophiler Farbstoffmarker zugesetzt. Das verbleibende Sebum im Filter wurde anschließend extrahiert und mittels HPLC analysiert. Die Bewertung der Wechselwirkung zwischen Formulierung und künstlichem Sebum erfolgte im Vergleich zur Positiv- und Negativkontrolle.

Zur Abklärung eines möglichen Einflusses der Wechselwirkung zwischen Formulierung und Sebum auf das Penetrationsvermögen der WS ins Sebum, erfolgte eine Gehaltsbestimmung der WS im Sebum mittels HPLC (s. 3.2.9.4). Aus diesem Grund wurden diese Untersuchungen ohne Zusatz des Farbstoffmarkers durchgeführt und der Prototyp G mit WS untersucht. Um das Penetrationsvermögen der beiden WS im Prototyp G zu bewerten, wurde dieser mit dem BPO-haltigen Fertigarzneimittel Benzaknen (5%ig) [64] und dem NDN-haltigen Fertigarzneimittel Nadixa (1%ig) [87], verglichen. Dabei wurde in die Fertigarzneimittel zusätzlich 1 % NDN oder 5 % BPO eingearbeitet (s. 3.2.9.5).

Weitere Untersuchungen mit der Zielsetzung, sowohl die Wechselwirkung des Prototyps G mit Sebum zu verstärken als auch die Penetration der WS in das Sebum zu erhöhen, erfolgten durch Zusatz von Emulgatoren mit verschiedenen Konzentrationen (s. 3.2.9.5). Die Bewertung erfolgte hier auf Basis des Vergleiches der Proben ohne Zusatz von Emulgatoren.

Die dermato-biopharmazeutische Charakterisierung der Vehikel-Grundlage des Prototyps G zeigt hinsichtlich der Interaktion mit Sebum folgendes Ergebnis: Es wird annähernd gleich viel künstliches Sebum aus der beladenen Filtermembran entfernt, wie mit der Negativkontrolle (s. Abb. 59) und die Wechselwirkung mit künstlichem Sebum ist deutlich geringer als bei der Positivkontrolle.

Hinsichtlich des Penetrationsvermögens beider WS aus Vehikeln in künstliches Sebum zeigt sich folgendes Bild: BPO penetriert aus einer Hydrogel-Grundlage (BPO in Benzaknen und Prototyp G) in größerem Umfang in künstliches Sebum als NDN (s. Abb. 59). NDN penetriert – unabhängig ob in Kombination mit BPO oder allein – aus Hydrogel-Grundlagen in Sebum in so geringem Umfang, dass die Konzentration unterhalb der Quantifizierungsgrenze von NDN in der entwickelten HPLC-Methode liegt (s. Abb. 59). Wird BPO in Nadixa eingearbeitet, so penetrieren beide WS.

Aus Nadixa penetriert BPO nicht stärker als aus einer Formulierung von NDN in Benzaknen, sowie NDN und BPO im Prototyp G. Weitere Untersuchungen zeigen, dass NDN aus Prototyp G im Vergleich zu Nadixa in geringerem Ausmaß penetriert und BPO aus Prototyp G und Benzaknen nahezu gleichwertiges Penetrationsvermögen zeigt (s. Abb. 60).

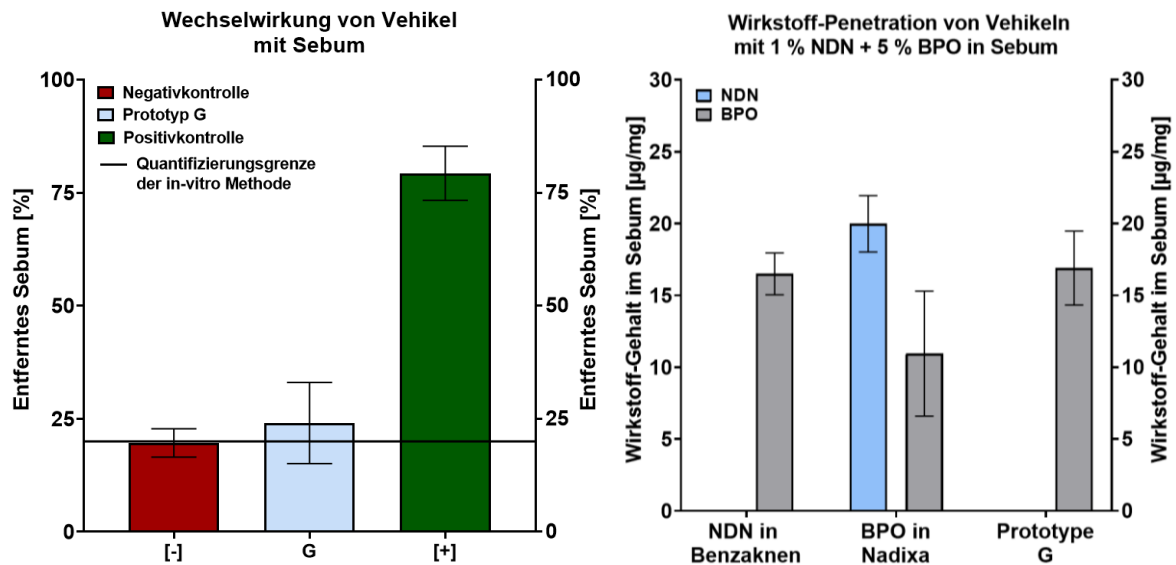


Abb. 59: Einfluss der Wechselwirkung zwischen Vehikeln und Sebum auf die Wirkstoffpenetration in Sebum

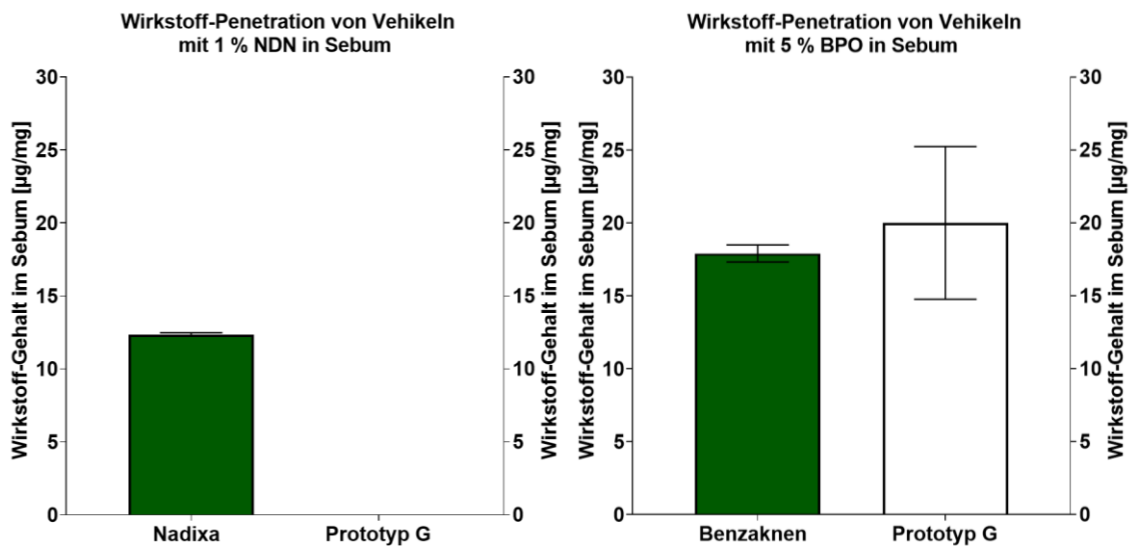


Abb. 60: Wirkstoffpenetration in Sebum aus Prototyp G und aus NDN- und BPO-haltigem Fertigarzneimittel

Untersuchungen, bei denen durch Zusatz von Emulgatoren mit verschiedenen Konzentrationen (Polyoxyethylen-20-cetyl-ether (Cetomacrogol 1000), der auch in Nadixa enthalten ist, als auch von Natriumcocoglutamat (Plantapon ACG 50), welches als mildes

Waschtensid in der Literatur beschrieben wird [11]) zur Vehikel-Grundlage (Prototyp G) das Ziel verfolgt wurde, sowohl die Wechselwirkung der Formulierung mit Sebum zu verstärken, als auch die Penetration der WS in das Sebum zu erhöhen, zeigen folgendes Ergebnis (s. Abb. 61-62): Der Zusatz von Emulgatoren zeigt eine im Vergleich zur Negativprobe erhöhte Sebum-Extraktion. Allerdings beeinflussen die Emulgatoren nicht das Penetrationsvermögen der WS.

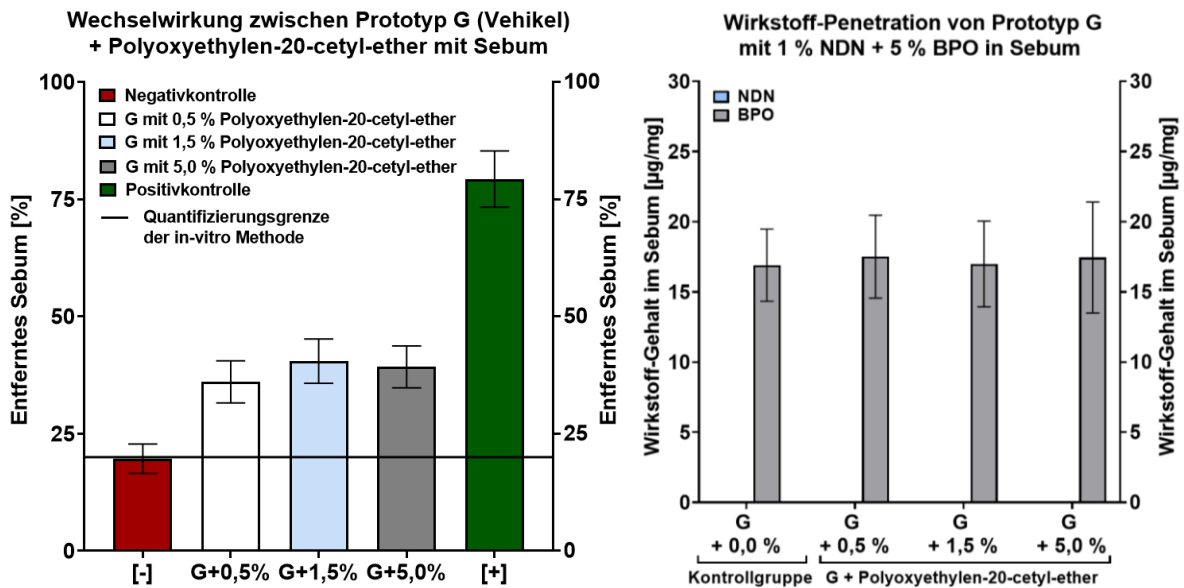


Abb. 61: Einfluss der Wechselwirkung zwischen Prototyp G mit Zusatz von Polyoxyethylen-20-cetyl-ether und Sebum auf die Wirkstoffpenetration in Sebum

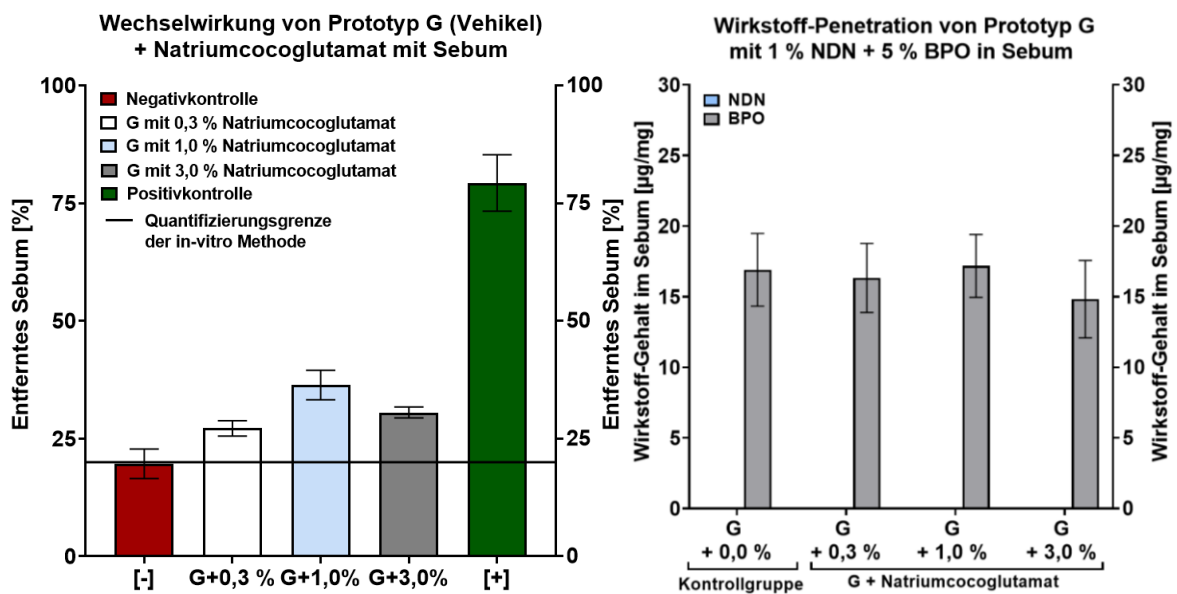


Abb. 62: Einfluss der Wechselwirkung zwischen Prototyp G mit Zusatz von Natriumcocoglutamat und Sebum auf die Wirkstoffpenetration in Sebum

Zusammenfassend zeigt die dermato-biopharmazeutische Charakterisierung deutlich, dass die Vehikel-Grundlage (Prototyp G) nur eine sehr schwache Wechselwirkung mit Sebum zeigt. Leider ist damit auch verbunden, dass die Grundlage die Wirkstoffpenetration in das Sebum nicht wie erhofft erleichtert. Die eingesetzten HS zeigen in der Zubereitung nicht ausreichend die ihnen zugeschriebenen Effekte, wie Sebum -lösend, -erweichend (Pentylenglycol) und -adsorbierend (mesoporöses Siliciumdioxid) (s. 2.5). Gründe hierfür können folgende Faktoren sein: Hilfsstoffkonzentrationen sind nicht ausreichend hoch oder der Effekt tritt nur bei einem spezifische Hilfsstoffverhältnis ein. Die Komplexität zeigt sich beim Zusatz von Emulgatoren (Polyoxyethylen-20-cetyl-ether und Natriumcocoglutamat) in Prototyp G. Dort liegt eine Kombination aus Emulgator, Pentylenglycol und mesoporösem Siliciumdioxid vor, die eine Steigerung der Wechselwirkung zeigt. Die Emulgatoren verstärken den waschaktiven Effekt (s. 2.5) des Vehikels. Dies führt aber nicht zu einer Erhöhung der Wirkstoffpenetration, trotz Erhöhung der Emulgatorkonzentration im Vehikel. D. h. eine messbare Waschaktivität korreliert nicht zwingend mit einer Penetrationsförderung der WS ins Sebum. Somit wird ersichtlich, dass Untersuchungen, die Emulgatoren als potenzielle sebumspezifische Penetrationsbeschleuniger einsetzen wollen, den Fokus mehr auf die Penetrationsuntersuchungen legen, um den Mechanismus der Wechselwirkung zwischen WS, Penetrationsbeschleuniger und Sebum besser verstehen zu können. Eine alleinige Waschaktivität des Emulgators als Eignungskriterium für sebumspezifische Penetrationsbeschleuniger zu nutzen, reicht hier nicht aus. Des Weiteren zeigt NDN aus Hydrogel-Grundlagen (Prototyp G und Benzaknen) eine deutlich verminderte Penetration im Vergleich zu Nadixa. BPO zeigt aus allen untersuchten Grundlagen Penetration, welche auf seine hohe Lipophile zurückzuführen ist. Somit liegt die Vermutung nahe, dass unterschiedliches Penetrationsvermögen der WS auf Unterschiede in der Lipophilie (BPO >> NDN) zurückzuführen ist (s. 2.3). Dabei wird insbesondere das Penetrationsvermögen von NDN stark von der Auswahl des Vehikels mitbestimmt.

Inwieweit dieses geringe Penetrationsvermögen von NDN aus Hydrogel-Grundlagen kritisch zu bewerten ist, ist schwierig abzuschätzen, da lebende Haut ein komplexes System darstellt und eine, wie hier entwickelte, in-vitro Methode nur begrenzt Aussagekraft über das wirkliche Penetrationsvermögen beider WS aus den Prototypen in den von Sebum blockierten Haarfollikel hat. Ist eine genauere Abschätzung erwünscht, kann z. B. mittels differenziellen Abrissverfahren [88] eine in-vivo Untersuchung durchgeführt und Auskunft über die follikuläre Penetration der WS gegeben werden. Auch ist zu berücksichtigen, dass ggf. bei der Aknetherapie, der topisch applizierten Formulierung ein Waschschrift der betroffenen Hautstellen vorangeht, um das Penetrationsvermögen beider WS positiv beeinflussen zu können.

#### 4.4 Maßstabsvergrößerung der finalen Formulierung

Um zu zeigen, dass sowohl eine erfolgreiche Maßstabsvergrößerung des Produktionsansatzes (von 50 g zu 200 g und 2000 g), als auch ein technischer Transfer auf eine größere Prozessanlage der finalen Formulierung (s. 4.3) möglich ist, wurde in diesem Kapitel der gako unguator PRO und die BECOMIX RW 2,5 eingesetzt (s. 3.2.1). Die hergestellten Ansätze wurden anhand folgender Qualitätsmerkmale geprüft und verglichen: Mikro- und makroskopischen Erscheinungsbild, pH-Wert, Wirkstoffgehalt und rheologische Eigenschaften (s. 3.2.2-3.2.4 und 3.2.8).

##### 4.4.1 Bestimmung des mikro- und makroskopischen Erscheinungsbildes

Die makroskopische Untersuchung der dreifach hergestellten Ansätze (Chargen 1-3) zeigt eine ausreichende Reproduzierbarkeit des Erscheinungsbildes für beide Herstelltechniken (s. Abb. 63). Alle untersuchten Proben zeigen erwartungsgemäß eine gleichmäßige, glänzende und weiße Probenmasse.

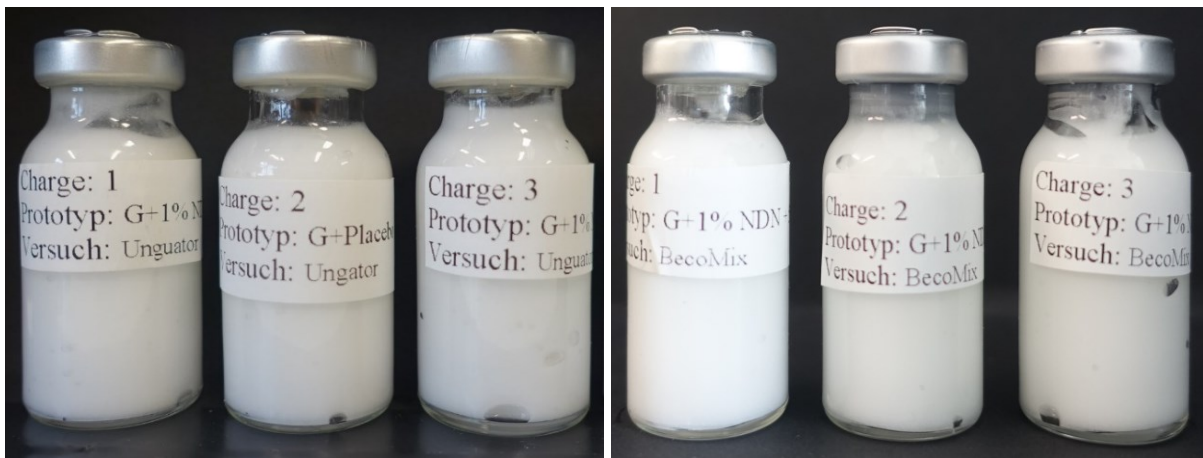


Abb. 63: Makroskopische Aufnahme der wirkstoffhaltigen Proben der finalen Formulierung hergestellt in gako unguator PRO (links) mit 50 g je Charge und BECOMIX RW 2,5 (rechts) mit 2000 g je Charge

Die mikroskopische Charakterisierung zeigt bei den polarisationsmikroskopischen Aufnahmen der Proben (s. Abb. 64) folgendes Ergebnis: NDN und BPO sind ausreichend homogen im Vehikel dispergiert. Es sind keine unerwünschten Pulvernester oder verstärkte Agglomeration in den untersuchten Proben zu sehen. Die Untersuchung bestätigt, dass eine ausreichende Homogenität gegeben und eine Reproduzierbarkeit für beide Herstelltechniken somit möglich ist.

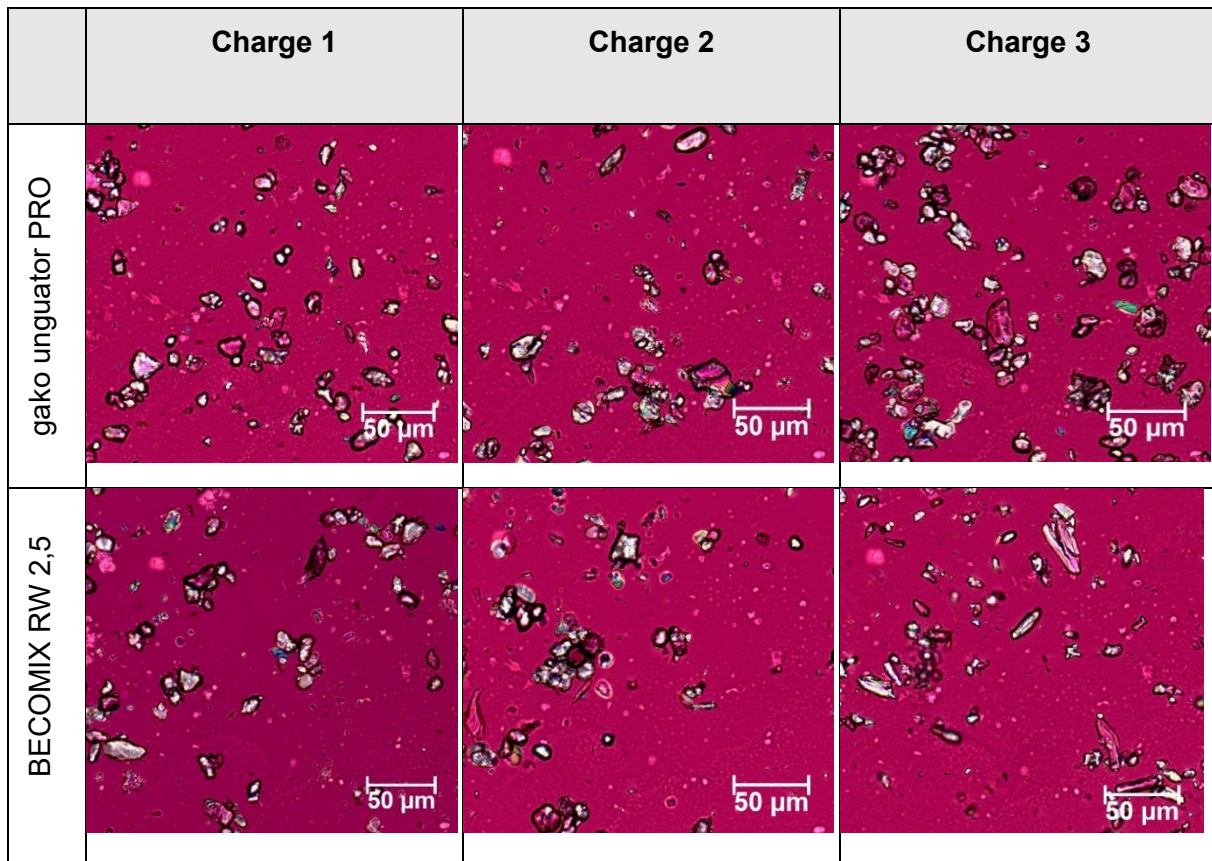


Abb. 64: Mikroskopische Aufnahmen der wirkstoffhaltigen Proben der finalen Formulierung hergestellt in gako unguator PRO mit 50 g je Charge und BECOMIX RW 2,5 mit 2000 g je Charge

In Abb. 65 und 66 ist zu sehen, dass die hergestellten Chargen (50 g und 200 g) im gako unguator PRO annähernd das gleiche mikro- und makroskopische Erscheinungsbild aufweisen wie die 2000 g Charge aus der BECOMIX RW 2,5 Prozessanlage. Dieser Versuch bestätigt, dass es möglich ist, eine Vergrößerung des wirkstoffhaltigen Ansatzes herzustellen, ohne das mikro- und makroskopische Erscheinungsbild der finalen Formulierung zu verändern.



Abb. 65: Makroskopische Aufnahme der wirkstoffhaltigen Proben der finalen Formulierung (Charge 1) hergestellt in gako unguator PRO mit 50 g (links) und 200 g (mitte) und BECOMIX RW 2,5 (rechts) mit 2000 g

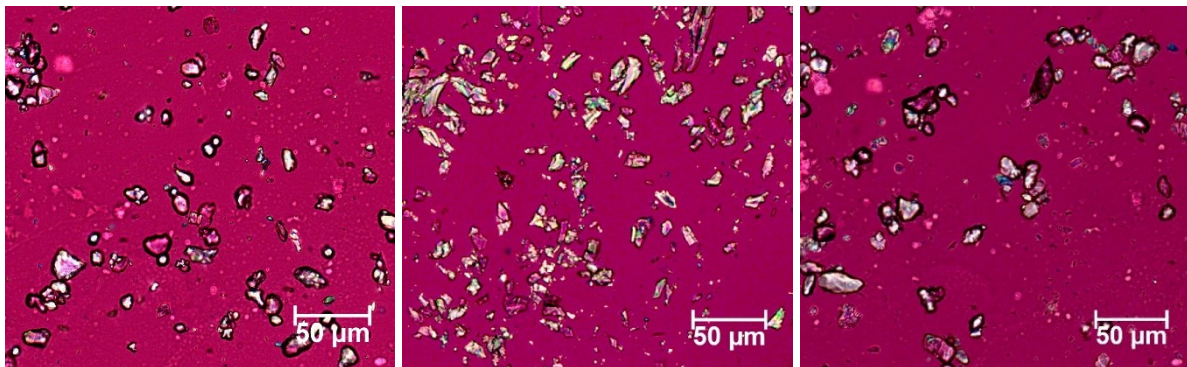


Abb. 66: Mikroskopische Aufnahme der wirkstoffhaltigen Proben der finalen Formulierung (Charge 1) hergestellt in gako unguator PRO mit 50 g (links) und 200 g (mitte) und BECOMIX RW 2,5 (rechts) mit 2000 g

#### 4.4.2 Bestimmung des pH-Wertes

Die pH-Untersuchung (s. Abb. 67) zeigt, dass alle untersuchten Proben im pH-Stabilitätsbereich von BPO (pH 4-6) und im physiologischen pH-Bereich von 4,5-5,5 liegen. Somit zeigen beide Herstelltechniken auch diesbezüglich eine ausreichende Reproduzierbarkeit. Die vorhandenen Unterschiede im pH, welche im maximalen Größenbereich von 0,2 pH-Einheiten liegen, sind als unkritisch zu betrachten und liegen im Bereich der Messgenauigkeit.

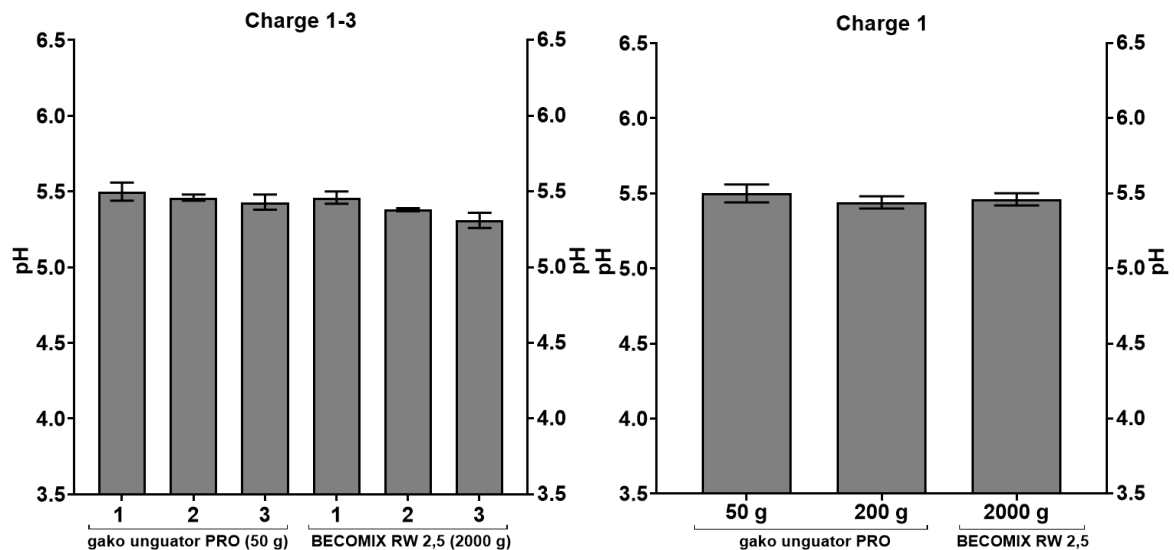


Abb. 67: pH-Wert von wirkstoffhaltigen Proben der finalen Formulierung (Charge 1-3) hergestellt in gako unguator PRO mit 50 g und 200 g und BECOMIX RW 2,5 mit 2000 g

#### 4.4.3 Bestimmung des Wirkstoffgehalts mittels HPLC

Die Gehaltsbestimmung aus den verschiedenen großen Ansätzen zeigt deutlich, dass beide Herstelltechniken als reproduzierbar eingestuft werden können (s. Abb. 68). Eine Ansatzvergrößerung ist ebenfalls möglich. In der Gesamtbewertung äußert sich dies darin, dass alle gemessenen Wirkstoffgehalte im Bereich von 95-105 % liegen [84, 85]. Der berechnete Gesamtfehler (Standardabweichung) eines Messergebnisses liegt im Bereich von 1-3 % und ist somit als gut zu bewerten.

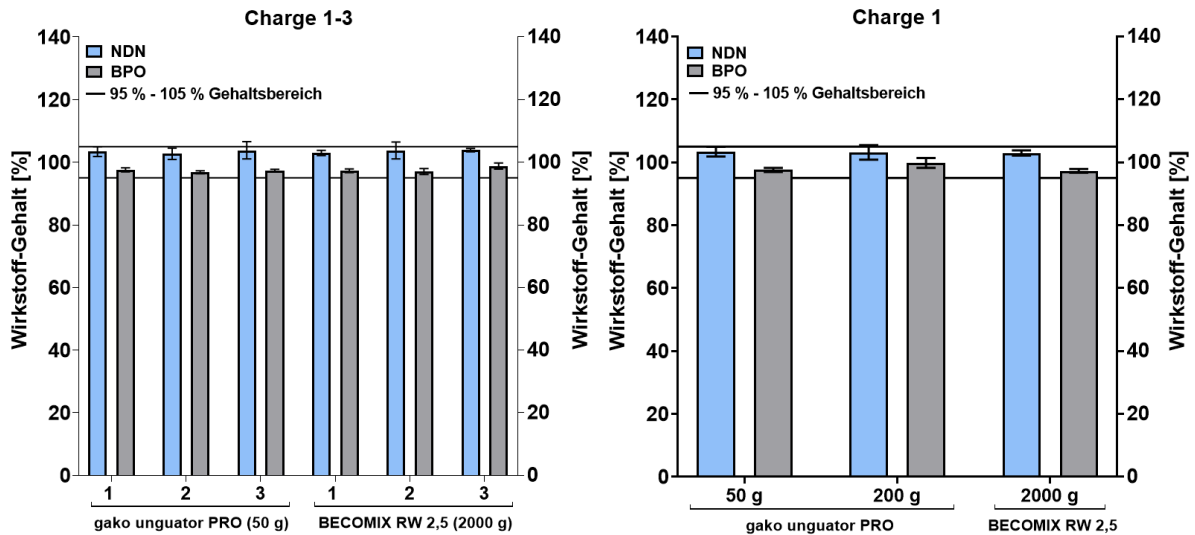


Abb. 68: Wirkstoffgehalt von NDN und BPO in der finalen Formulierung (Charge 1-3) hergestellt in gako unguator PRO mit 50 g und 200 g und BECOMIX RW 2,5 mit 2000 g

#### 4.4.4 Untersuchung der rheologischen Eigenschaften mittels Rotations- und Oszillationsmessung

Die rheologische Untersuchungen zeigen für beide Herstellverfahren jeweils ausreichende Reproduzierbarkeit, wenn Fließ- und Oszillationskurve betrachtet werden (s. Abb. 69-70). In der Gesamtbetrachtung wird dies sichtbar durch das deutliche Überlappen der Kurven von Charge 1-3. Der Versuch der Ansatzvergrößerung zeigt, dass von 50 g Chargengröße zu 200 g im gako unguator PRO nur marginale Unterschiede in beiden Mess-Modi zu sehen sind, d. h. eine solche Ansatzvergrößerung ohne Veränderung der rheologischen Eigenschaften problemlos möglich ist.

Hingegen zeigt sich, dass die Proben in der BECOMIX RW 2,5 Anlage eine niedrigere Fließgrenze und zugleich eine höhere Thixotropie (zu sehen an der Zunahme der Hysteresefläche) aufweisen (s. Abb. 69), was durch die höhere Probenscherung und den damit verbundenen höheren Energieeintrag durch die Anlage begründet werden kann.

Ähnliches ist auch in der Oszillationskurve zu beobachten. Dort tritt der Fließpunkt bei einer niedrigeren Scherdeformation auf, als in den Proben aus dem gako unguator PRO (s. Abb. 70). Die festgestellten Unterschiede haben hinsichtlich der Applikation und den kosmetischen Eigenschaften der finalen Formulierung keine therapeutische Relevanz und können somit aber trotzdem als unkritisch bewertet werden.

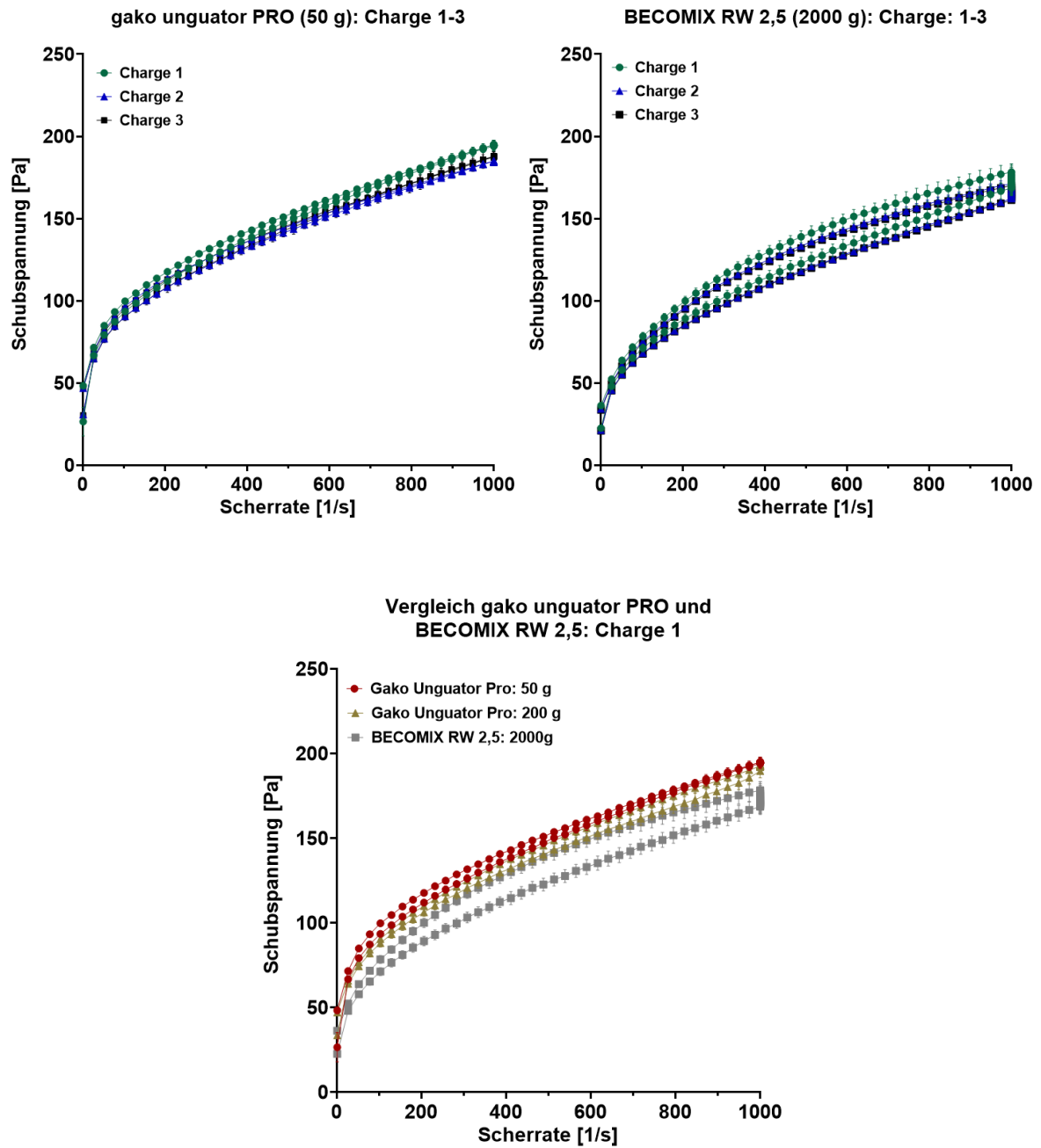


Abb. 69: Fließkurven der finalen Formulierung (Charge 1-3) hergestellt in gako unguator PRO mit 50 g und 200 g und BECOMIX RW 2,5 mit 2000 g

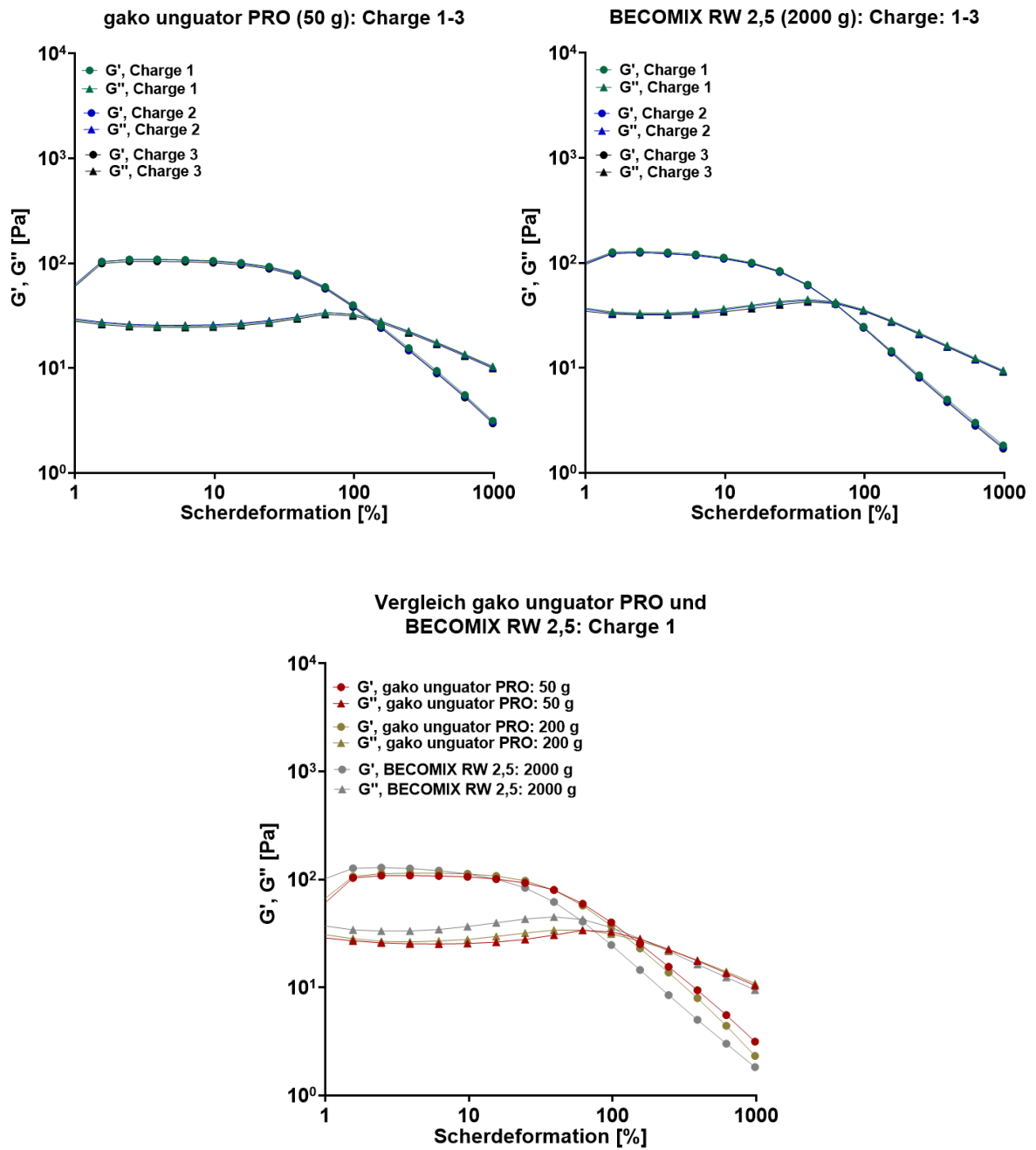


Abb. 70: Oszillationskurve der finalen Formulierung (Charge 1-3) hergestellt in gako unguator PRO mit 50 g und 200 g und BECOMIX RW 2,5 mit 2000 g

## 5 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, eine Formulierung zu entwickeln, welche für die Leitlinien-konforme Behandlung an Akne erkrankter Haut geeignet ist und zu einer ausreichend lagerstabilen, streichfähigen und auch kosmetisch ansprechenden Zubereitung mit der Kombination aus Nadifloxacin (NDN) und Benzoylperoxid (BPO) führt.

Im Rahmen der Stabilitätsuntersuchung mit NDN, BPO und deren Kombinationen konnte bestätigt werden, dass BPO – wie in der Literatur mehrfach beschrieben – ein sehr reaktiver Wirkstoff (WS) ist. Im ersten Teil dieser Untersuchung wurde die chemische Stabilität der WS unter extremen Stressbedingungen untersucht. Dort zeigt BPO unter erhöhter Lagertemperatur (60 °C), dem Einfluss von Oxidationsmittel und einem stark basischem pH-Milieu keine ausreichende Stabilität. Die auftretenden BPO-Instabilitäten sind von NDN unabhängig und treten sowohl in Kombination als auch in Abwesenheit mit NDN auf. NDN zeigt eine außerordentlich gute Stabilität unter erhöhten Stressbedingungen. Lediglich unter dem Einfluss von Oxidationsmittel zeigt NDN bei 60 °C eine gewisse Instabilität. Beide WS in Kombination zeigen keine ausreichende Stabilität unter Stressbedingungen bei 60 °C. Im zweiten Teil der Stabilitätsuntersuchung erfolgte eine Untersuchung der Wirkstoffstabilität unter Berücksichtigung von Vehikel-Grundlagen (Vehikeln). Dort zeigte sich, dass die eingesetzten Hilfsstoffe (HS) und HS-Kombinationen in den zunächst ausgewählten Vehikeln (Prototypen A-E) von den Eigenschaften des BPO dominiert wird. BPO-haltige Proben zeigen einen starken Abfall des pH-Wertes, der Konsistenz und des Wirkstoffgehalts. In Kombination mit NDN tritt zusätzlich eine gelbe Verfärbung der Proben auf, die indikativ für den NDN-Zerfall in Anwesenheit von BPO zu interpretieren ist. Hingegen ist NDN in Abwesenheit von BPO in allen untersuchten Vehikel-Grundlagen stabil.

Aus der Gesamtbetrachtung des ersten und zweiten Teils der Stabilitätsuntersuchung wurde ersichtlich, dass die BPO-Zerfallsreaktionen und deren Produkte, den NDN- und BPO-Zerfall in Vehikel-Grundlagen triggern können, sodass eine Stabilisierung des BPO im Vehikel auch zu einem lagerstabilen Zustand der Wirkstoffkombination führen kann. Diese Annahme veranlasste weitere Untersuchungen, die sich auf Maßnahmen zu Erhöhung der Lagerstabilität von BPO im Vehikel konzentrierten. Dazu gehörte: Identifizierung kritischer HS, Zusatz von HS, die gemäß Literatur die Stabilität von BPO verbessern können, wie Antioxidantien, Puffer-Substanzen und Gelbildner mit einem breiten pH-Toleranzbereich, sowie Untersuchung des Einflusses des Herstellverfahrens auf die BPO-Stabilität.

HS wie Poloxamer und mittelkettige Triglyceride konnten als kritische HS identifiziert werden. Eine Verlängerung der BPO-Lebensdauer und der Schutz vor Wirkstoffabbau beider WS in

Vehikeln durch Antioxidantien (RonaCare AP, GRINDOX 1032 und RonaCare MAP) und einen BPO-Stabilisator (Docusat-Natrium) konnte in den untersuchten Konzentrationen nicht gezeigt werden. Xanthan Gummi (Amaze XT) als Gelbildner zeigte ausreichende Kompatibilität mit BPO und hat eine ausreichende Toleranz gegenüber dem kompatiblen Milchsäure/Laktat-Puffer. Die Herstellung und die damit verbundene Proben temperatur während der Herstellung hat einen Einfluss auf die BPO-Stabilität. Durch ein gezieltes Kühlen während der Herstellung, konnte eine deutliche Stabilisierung von BPO in der Grundlage erreicht werden.

Basierend auf diesen Erkenntnissen war es möglich, ein innovatives Vehikel zu entwickeln, welches in der finalen Stabilitätsuntersuchung eine ausreichende Lagerstabilität der Kombinationsformulierung ermöglicht. Das Vehikel besteht aus einem Hydrogel (Prototyp G) mit komedogenarmen und mit den WS kompatiblen HS. Die Grundlage besteht aus einer Wasserphase (Wasser als Grundlage, Milchsäure/Laktat als Puffersystem und Pentylenglycol als Feuchthaltemittel), einem Xanthan Gummi Gelbildner (Amaze XT) und aus einem mesoporösem Siliciumdioxid (SYLOID 244 FP EU) als Verdickungsmittel. Dabei wurde durch Pufferung eine ausreichende pH-Stabilität im physiologischen Bereich ermöglicht, die essenziell für die Verlangsamung der pH-abhängigen BPO-Zerfallsreaktionen und die wesentlich zur Stabilisierung beider WS in der Formulierung ist. Durch eine temperaturschonende Herstelltechnik konnte eine initiale Zersetzung von BPO bereits während der Herstellung optimal reduziert werden. Die Stabilitätsuntersuchungen belegen, dass 1% NDN und 5 % BPO in Kombination erfolgreich formuliert werden konnte und abgefüllt in Polyethylen-Tuben bei konservativer Abschätzung eine Laufzeit von mind. 2 Jahren zu erwarten ist, wenn eine Lagerung im Kühlschrank bei 2-8 °C gemäß Ph. Eur. erfolgt.

Eine Ansatzvergrößerung von 50 g zu 200 g im gako unguator PRO konnte problemlos realisiert werden und hat zu gleichwertigen Formulierungen geführt. Die Ansatzvergrößerung auf 2000 g im BECOMIX RW 2,5 zeigte, dass sowohl eine Vergrößerung des Ansatzes als auch ein technischer Transfer mit der finalen Formulierung möglich ist.

Das Vehikel erfüllt nahezu alle Punkte des zu Beginn der Arbeit erstellten Anforderungsprofils an geeigneten Formulierungen für Akne erkrankte Haut. Lediglich eine gleichzeitige Verbesserung der folliculären Penetration der WS in mit Sebum gefüllte Poren konnte experimentell nicht belegt werden.

Schlussendlich konnte das Ziel dieser Arbeit erreicht werden. Es ist unter bestimmten Bedingungen möglich, eine Kombinationsformulierung mit beiden WS herzustellen, die ausreichend lagerstabil, streichfähig und auch kosmetisch ansprechend ist.

## 6 Verzeichnisse

### 6.1 Literaturverzeichnis

1. Borelli C, Plewig G, Degitz K (2005) Pathophysiologie der Akne. *Hautarzt* 56(11):1013–1017
2. Plewig G (2010) Wie entsteht Acne vulgaris? *Hautarzt* 61(2):99-106
3. Alexander Nast, Christiane Bayerl, Claudia Borelli, Klaus Degitz, Thomas Dirschka, Ricardo Erdmann, Joachim Fluhr, Uwe Gieler, Roland Hartwig, Eva-Maria Meigel, Siegfried Möller, Falk Ochsendorf, Maurizio Podda, Thomas Rabe, Berthold Rzany, Susanne Schink, Christos Zouboulis, Harald Gollnick (2011) S2k-Leitlinie zur Therapie der Akne:1–136
4. Duc Son Nguyen (2018) „Unreine“ Haut ade. Wie die Galenik zum Erfolg der Hautpflege bei Akne beiträgt. *Deutsche Apotheker Zeitung Online* (35):40
5. Sonali S. Bharate, Sandip B. Bharate and Amrita N. Baja (2010) Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. *J. Excipients and Food Chem.*:3–26
6. Franz Bracher, Peter Heisig, Peter Langguth, Ernst Mutschler, Gerhard Rücker, Gerhard K. E. Scriba, Elisabeth Stahl-Biskup, Reinhard Troschütz (Hrsg) (2012) *Arzneibuch Kommentar. Wissenschaftliche Erläuterung zum Arzneibuch. Gesamtwerk einschließlich 43. Aktualisierungslieferung 2012.* Govi-Verlag, Eschborn
7. Rusu A, Lungu I-A, Moldovan O-L, Tanase C, Hancu G (2021) Structural Characterization of the Millennial Antibacterial (Fluoro)Quinolones-Shaping the Fifth Generation. *Pharmaceutics* 13(8):1–37
8. Fulton, James E., JR. (1989) Comedogenicity and irritancy of commonly used ingredients in skin care products. *J. Soc. Cosmet. Chem.* 40:321–333
9. Kerscher M (2009) *Dermatocosmetik.* Steinkopff, Heidelberg
10. Heiko Schiffter-Weinle (2015) Zersetzungs-reaktionen beherrschen. Das Problem Hydrolyse und der Fall Erythromycin. *Deutsche Apotheker Zeitung Online* (52):30
11. Ellsäcker S (2020) *Körperpflegekunde und Kosmetik. Ein Lehrbuch für die PTA-Ausbildung und die Beratung in der Apothekenpraxis, 3. Aufl.* Springer, Berlin, Heidelberg
12. Brigitte M. Gensthaler, Christina Hohmann-Jeddi, Annette Mende (2012) *Organ Haut: Viel mehr als nur eine Hülle.* *Pharmazeutische Zeitung online* (50):1–2
13. Raab W (2012) *Pflegekosmetik, 5. Aufl.* Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, Stuttgart
14. Christos C. Zouboulis (2003) Moderne Aknetherapie. *Akt Dermatol* 29:49–57

15. Vyas A, Kumar Sonker A, Gidwani B (2014) Carrier-based drug delivery system for treatment of acne. *The Scientific World Journal* 2014:1–14
16. Europäisches Arzneibuch: Ph. Eur. 7.0. Band 2 (2011). Deutscher Apotheker-Verlag, Stuttgart
17. Ancheria Rahul, Kumar Jain Saloni, Kumar Deepak, Soni Shankar Lal (2019) Development and invitro evaluation of nanosuspension gel of benzoyl peroxide. *Asian J Pharm Res Dev* 7(4):49–55
18. Jenny Hartmann-Schreier (2011) Benzoylperoxid. Thieme RÖMPP Online
19. Eric M. Chellquist, William G. Gorman (1992) Benzoyl Peroxide Solubility and Stability in Hydric Solvents. *Pharmaceutical Research* 1992(10):1341–1346
20. Myers TN (2004) Initiators, Free-Radical. In: John Wiley & Sons I (Hrsg) *Encyclopedia of chemical technology*, 5. Aufl, Bd 14. Wiley, New York, S 1–42
21. James E. Fulton JR., A. Farzad-Bakshandeh, Sara Bradley (1974) Studies on the mechanism of action to topical benzoyl peroxide and vitamin A acid in acne vulgaris. *J Cutan Pathol* 1(5):191–200
22. James N. Bollinger, Delma Lewis, Victor M. Mendez (1976) Benzoyl peroxide stability in pharmaceutical gel preparations. *Journal of Pharmaceutical Sciences*:718–722
23. F. Zaman, A.E. Beezer, J.C. Mitchell, Q. Clarkson, J. Elliot, A.F. Davis, R.J. Willson (2001) The stability of benzoyl peroxide by isothermal microcalorimetry. *Int J Pharm* 2001(277):133–137
24. Max Gloor, Joachim Fluhr, Karl Thoma (2000) *Dermatologische Externtherapie. Unter besonderer Berücksichtigung der Magistralrezeptur*. Springer-Verlag, Berlin. Heidelberg
25. Toshio Hongo, Sakari Hikage, Atsushige Sato (2006) Stability of Benzoyl Peroxide in Methyl Alcohol. *Dental Materials Journal* 25(2):298–302
26. W. E. Cass (1947) Products of the Reaction of Benzoyl Peroxide with Certain Ethers. *Journal of the American Chemical Society* 69(3):500–503
27. Paul D. Bartlett, Kenzie Nozaki (1947) The Decomposition of Benzoyl Peroxide in Solvents. II. Ethers, Alcohols, Phenols and Amines. *Journal of the American Chemical Society* 69(10)
28. Vollhardt KPC, Schore NE, Butenschön H (2011) *Organische Chemie*, 5. Aufl. Wiley-VCH, Weinheim
29. Heiko Schiffter-Weinle (2016) Die Oxidation im Griff. So klappt es mit Dithranol in der Rezeptur. *Deutsche Apotheker Zeitung Online* (8):44
30. Pharmazeutisches Laboratorium des DAC/NRF (Hrsg) (2022) *Tabellen für die Rezeptur. Plausibilitätsprüfung in der Apotheke*, 12. Aufl. Govi-Verlag, Eschborn

31. Claire Mallard (2015) Anti-acne compositions comprising pharmaceutical/cosmetic, e.g., at least one naphthoic acid compound, benzoyl peroxide and at least one film-forming agent. Patent No.: US 8,952,066 B2. United States Patent
32. Steinhilber D, Schubert-Zsilavec M, Roth H (2017) Medizinische Chemie. Targets, Arzneistoffe, Chemische Biologie, 2. Aufl. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart
33. Shinde U, Pokharkar S, Modani S (2012) Design and evaluation of microemulsion gel system of nadifloxacin. Indian J Pharm Sci 74(3):237–247
34. Salunke N, Pandita N (2018) Stability Indicating LC-DAD Method for Determination of Nadifloxacin and Characterization of Its Degradation Products by LC–ESI–MS/MS. Chromatographia 81(3):469–478
35. Alfred Fahr (2015) Voigt Pharmazeutische Technologie. Für Studium und Beruf, 12. Aufl. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart
36. Sideridou ID, Achilias DS, Karava O (2006) Reactivity of Benzoyl Peroxide/Amine System as an Initiator for the Free Radical Polymerization of Dental and Orthopaedic Dimethacrylate Monomers: Effect of the Amine and Monomer Chemical Structure. Macromolecules 39(6):2072–2080
37. Margaritova MF, Rusakova KA (1969) Study of reactions of benzoyl peroxide with amines. Polymer Science U.S.S.R. 11(12):3116–3122
38. Rolf Daniels (2019) Dermatika: Die Formulierung macht's. Pharmazeutische Zeitung online (22)
39. Europäisches Arzneibuch: Ph. Eur. 7.0. Band 1 (2011). Deutscher Apotheker-Verlag, Stuttgart
40. Rolf Daniels, Ulrich Knie (2007) Galenik der Dermatika – Grundlagen, Eigenschaften, Freisetzung. Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft 5(5):367–383
41. Rolf Daniels (2002) Gele für die dermale Applikation. Pharmazeutische Zeitung online (43)
42. Rolf Daniels (2009) Dermopharmazie: Die richtige Galenik für kranke Haut. Pharmazeutische Zeitung online (24)
43. Tatjana Pavicic, Wolfgang Pittermann, Hans W. Reinhardt (2013) Dermokosmetika zur Reinigung und Pflege der zur Akne neigenden Haut. Leitlinie der GD Gesellschaft für Dermopharmazie e. V.:1–15
44. Lademann, J., Otberg, N., Richter, H., Jacobi, U., Schaefer, H., Blume-Peytavi, U., Sterry, W. (2003) Follikuläre Penetration. Ein entscheidender Penetrationsweg von topisch applizierten Substanzen. Hautarzt 54(4):321–323
45. Victor M. Meidan, Michael C. Bonner, Bozena B. Michniak (2005) Transfollicular drug delivery - is it a reality? Int J Pharm 306(1-2):1–14

46. Ylva Y. Grams, Joke A. Bouwstra (2002) Penetration and distribution of three lipophilic probes in vitro in human skin focusing on the hair follicle. *Journal of Controlled Release* 83(2):253–262
47. Brigitte Illel (1997) Formulation for Transfollicular Drug Administration: Some Recent Advances. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 14(3):207–219
48. Motwani MR, Rhein LD, Zatz JL (2002) Influence of vehicles on the phase transitions of model sebum. *J Cosmet Sci* 53(1):35–42
49. Rouven Heck (2017) Poröses Silica als Wirkstoffträger in filmbildenden Dermatika mit retardierter Wirkstoffabgabe zur Therapie des chronischen Pruritus. Dissertation
50. Charu Bharti, Upendra Nagaich, Ashok Kumar Pal, Neha Gulati (2015) Mesoporous silica nanoparticles in target drug delivery system: A review. *Int J Pharm Investig* 5(3):124–133
51. Rhein L (2007) C.3 - Surfactant Action on Skin and Hair: Cleansing and Skin Reactivity Mechanisms. In: Johansson I, Somasundaran P (Hrsg) *Handbook for cleaning/decontamination of surfaces*. Elsevier, Amsterdam, S 305–369
52. A.C. Katoulis, E.M. Kakepis, H. Kintziou, M.E. Kakepis, N.G. Stavrianeas (1996) Comedogenicity of cosmetics: a review. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 7(2):115–119
53. Zoe Diana Draelos, Joseph C. DiNardo (2006) A re-evaluation of the comedogenicity concept. *J Am Acad Dermatol* 54(3):507–512
54. Duc Son Nguyen (2018) Haut kühlen – nur womit? *Deutsche Apotheker Zeitung Online* (25):30
55. Rolf Daniels (2002) Neuartige Gelsysteme. *DermaTopics*, Organ der GD — Gesellschaft für Dermopharmazie e.V. 2(2002)
56. Gako Deutschland GmbH: (2020) Gako Unguator EMP. Bedienungsanleitung Gako Unguator EMP:1–48
57. ICH-Guideline (1994) Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1). ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE:1–13
58. Monika Katarzyna Kaca (2007) Entwicklung eines Ablaufschemas zur miniaturisierten, biopharmazeutischen und galenischen Charakterisierung halbfester Arzneiformen am Beispiel der Corticosteroide. Dissertation
59. Alesandro Marangon (2011) Downscaling of Semisolid Characterization: Establishment of a Systematic and Integrated Approach to Accelerate the Development of Topical Products. Dissertation
60. ICH-Guideline (2003) Stability testing of new drug substances and products Q1A(R2). ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE:1–25
61. Leonie Dirscherl (2021) Entwicklung einer in-vitro Methode zur Untersuchung der Wechselwirkung dermalen Zubereitungen mit künstlichem Sebum. Masterarbeit

62. Guang Wei Lu, Satyanarayana Valiveti, Julie Spence, Christine Zhuang, Lora Robosky, Kimberly Wade, Ann Love, Lain-Yen Hu, David Pole, Matt Mollan (2009) Comparison of artificial sebum with human and hamster sebum samples. *Int J Pharm* 367(1-2):37–43
63. Sandrine Orsoni NW (2010) Gel composition for once-daily treatment of common acne comprising a combination of benzoyl peroxide and adapalene and/or adapalene salt. Patent No.: US 7820,186 B2. United States Patent
64. Galderma Laboratorium GmbH (2019) Benzaknen® 5 %/10 %. Fachinformation:1–3
65. Francoise Nielloud, Jean Paul Mestres, Gilberte Marti Mestres (2002) Consideration on the formulation of benzoyl peroxide at ambient temperature: choice of non-polar solvent and preparation of submicron emulsion gels. *Drug Dev Ind Pharm* 28(7):863–870
66. Peter C. Schmidt, Siegfried Lang (Hrsg) (2013) Pharmazeutische Hilfsstoffe. Eigenschaften, Anwendung und Handelsprodukte. Govi-Verlag, Eschborn
67. SEPPIC S.A. (2012) SEPINEO D.E.R.M. Thickener & Stabilizer & Texturing agent in Powder Form for Medical Device applications. SEPINEO™ D.E.R.M. marketing leaflet:1–2
68. Joseph Schwarz, Michael Weisspapier (2006) Stabilization of benzoyl peroxide in solution. Patent No.: US 7,153,888 B2. United States Patent
69. Robert W. Klein, Mary E. Foxx (1983) Stable benzoyl peroxide composition. Patent No.: US 4,387,107. United States Patent
70. Jenny Hartmann-Schreier (2003) Phosphorsäure. Thieme RÖMPP Online
71. Elisabeth Schwab (2019) Essigsäure. Thieme RÖMPP Online
72. Raymond C. Rowe, Paul J. Sheskey, Marian E. Quinn (Hrsg) (2009) Handbook of pharmaceutical excipients, 6. Aufl. APhA (PhP) Pharmaceutical Press, London
73. Kraume M (Hrsg) (2003) Mischen und Rühren. Grundlagen und moderne Verfahren. Wiley-VCH, Weinheim
74. Barth A (2005) Physik. Kurzlehrbuch und Prüfungsfragen mit Kommentaren für Pharmazeuten; mit 30 Tabellen, 8. Aufl. Wissen & Praxis. Dt. Apotheker Verl., Stuttgart
75. Brammann C, Bornemann C, Kannewurf R, Müller-Goymann CC (2020) Solid lipid microparticles for hair follicle targeting of adapalene and benzoyl peroxide - Release through targeted erosion. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 60:101990
76. Züleyha Yazıcı Özgün, Oya Gürbüz (2012) A randomized, double-blind comparison of nadifloxacin 1% cream alone and with benzoyl peroxide 5% lotion in the treatment of mild to moderate facial acne vulgaris. *Marmara Medical Journal* 2013(26):17–20
77. Wilhelm KP, Wilhelm D, Neumeister C, Zsolt I, Schwantes U (2012) Lack of irritative potential of nadifloxacin 1% when combined with other topical anti-acne agents. *Clin Exp Dermatol* 37(2):112–117

78. Kaur G, Mehta SK (2017) Developments of Polysorbate (Tween) based microemulsions: Preclinical drug delivery, toxicity and antimicrobial applications. *Int J Pharm* 529(1-2):134–160
79. Howis J, Nalepa M, Gołofit T, Szychalski M, Laudańska-Maj A, Gadowska-Gajadur A (2023) Pseudo-gel ternary systems of xanthan gum in water-ethanol solutions for industrial applications. *Ceramics International* 49(11):18825–18835
80. Karlheinz Schrader (1993) Use of alkane diols in cosmetics. Patent No.: EP0655904A1. European Patent Office
81. Claudia Brüchert (2015) Pufferung von Rezepturen. *Deutsche Apotheker Zeitung Online* (35):54
82. Melanie Sigg (2021) Influence of Alkanediols as Alternative Preservatives on the Properties of Semisolid Dosage Forms. Dissertation
83. Martin, Swarbrick, Cammarata, Stricker H (Hrsg) (1987) *Physikalische Pharmazie. Pharmazeutisch angewandte physikalisch-chemische Grundlagen*, 3. Aufl. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart
84. Andreas S. Ziegler (2014) Defektur. Risikobasiertes Stufenmodell und apothekengerechte Prüfmethoden, 1. Aufl. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart
85. Bfarm (1996) Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, Bekanntmachung über die Zulassung von Arzneimitteln durch das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, 3. Aufl, BAnz 49 Nr. 44a vom 5.3.1997
86. Thomas G. Mezger (2014) *Angewandte Rheologie. Mit Joe Flow auf der Rheologie-Straße*, 1. Aufl. Anton Paar GmbH, Graz
87. Dr. Pfleger Arzneimittel GmbH (2019) Nadixa®. Fachinformation:1–2
88. Lademann J, Richter H, Schanzer S, Meinke MC, Darvin ME, Schleusener J, Carrer V, Breuckmann P, Patzelt A (2019) Bedeutung des folliculären Penetrationswegs für den Wirkstofftransport mittels Nanocarriern. *Hautarzt* 70(3):185–192

## 6.2 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Anforderungsprofil an geeignete Formulierungen für Akne erkrankte Haut.....	15
Tab. 2: Übersicht der verwendeten Chemikalien und Hilfsstoffe .....	16
Tab. 3: Übersicht der verwendeten Verbrauchsmaterialien .....	19
Tab. 4: Übersicht der verwendeten Geräte .....	21
Tab. 5: Übersicht der verwendeten Softwares .....	23
Tab. 6: Zusammensetzung der Vehikel-Grundlagen von Prototypen A-E .....	24
Tab. 7: Zusammensetzung des Lactat-Puffers .....	26
Tab. 8: Zusammensetzung der Vehikel-Grundlage von Prototyp F.....	27
Tab. 9: Zusammensetzung der Vehikel-Grundlage von Prototyp G .....	27
Tab. 10: Zusammensetzung der Vehikel-Grundlage von Prototyp H .....	28
Tab. 11: Zusammensetzung der mobilen Phase.....	33
Tab. 12: Studiendesign der intrinsischen chemischen Stabilitätsuntersuchung .....	36
Tab. 13: Studiendesign der Stabilitätsuntersuchung mit wichtigen Vehikel-Grundlagen .....	37
Tab. 14: Studiendesign der Stabilitätsuntersuchung für finale Vehikel-Grundlagen .....	40
Tab. 15: Bewertungssystem von kritischen Parametern wie WS-, pH- und makroskopische Stabilität.....	41
Tab. 16: Übersicht der Methode zur Rotationsuntersuchung (Fließkurve) .....	42
Tab. 17: Übersicht der Methode zur Oszillationsuntersuchung (Amplitudentest) .....	42
Tab. 18: Zusammensetzung des künstlichen Sebums gemäß [62] .....	43
Tab. 19: Zusammensetzung der Kontrollgruppe .....	46
Tab. 20: Einsatz bestimmter HS als potenzielle Stabilisatoren zur Verlängerung der BPO-Lebensdauer im Vehikel .....	63
Tab. 21: Zusammenfassung der Ergebnisse der Probenstabilität von Prototyp F-H mit 1 % NDN und 5 % BPO in verschiedenen Primärpackmitteln nach einer Lagerung von t = 84 d bei 40 °C / 75 % r. F.....	78
Tab. 22: Zusammenfassung der Ergebnisse der Probenstabilität von Prototyp F-H mit 1 % NDN und 5 % BPO in Glasvials nach einer Lagerung von t = 168 d unter verschiedenen Lagerbedingungen.....	83
Tab. 23: Zusammensetzung der Vehikel-Grundlage der finalen Formulierung .....	86

### 6.3 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Queschnitt der Haut mit Subcutis, Dermis (Corium) und Epidermis [11].....	3
Abb. 2: Vergleich: Gesunde Haut (links) und Akne erkrankte Haut (rechts) [15].....	5
Abb. 3: Chemische Struktur von BPO.....	8
Abb. 4: Potenzielle BPO-Zerfallsreaktionen unter Stressbedingungen angelehnt an [19, 22, 24].....	9
Abb. 5: Chemische Struktur von NDN .....	10
Abb. 6: Mechanismus der Reaktion zwischen BPO und tertiärem Amin angelehnt an [36]...	11
Abb. 7: Referenz-Chromatogramm von NDN und BPO in ACN .....	32
Abb. 8: Referenz-Chromatogramm von NDN und BPO in ACN gezeigt als Zoom-Modi .....	33
Abb. 9: Referenz-Chromatogramm von Benzoesäure in ACN im Rahmen der Methodenentwicklung .....	33
Abb. 10: Referenz-Chromatogramm von NDN, BPO und Benzoesäure (zu gleichen Anteilen: 1+1+1) in ACN im Rahmen der Methodenentwicklung.....	34
Abb. 11: Schematischer Ablauf der in-vitro Methode zur Untersuchung der Wechselwirkung von Vehikel-Grundlagen mit künstlichem Sebum.....	44
Abb. 12: Wirkstoffstabilität von NDN und NDN in Kombination mit BPO (NDN+BPO) unter Stressbedingungen nach t = 1 d und t = 7 d bei RT .....	49
Abb. 13: Wirkstoffstabilität von NDN und NDN in Kombination mit BPO (NDN+BPO) unter Stressbedingungen nach t = 7 d bei RT und 60 °C .....	50
Abb. 14: Wirkstoffstabilität von BPO und BPO in Kombination mit NDN (BPO+NDN) unter Stressbedingungen nach t = 1 d und t = 7 d bei RT .....	51
Abb. 15: Wirkstoffstabilität von BPO und BPO in Kombination mit NDN (BPO+NDN) unter Stressbedingungen nach t = 7 d bei RT und 60 °C .....	51
Abb. 16: Makroskopisches Erscheinungsbild von Proben der Prototypen A, C, D und E (mit jeweils: Links Placebo-Kontrollgruppe und rechts Probe mit Wirkstoffzusatz von 1 % NDN und 10 % BPO) nach t = 3 d bei 60 °C .....	52
Abb. 17: Makroskopisches Erscheinungsbild von Proben mit 1 % NDN und 10 % BPO im Vehikel des Prototyps E nach t = 0 d bei RT, t = 3 d bei 60 °C und t = 14 d bei 40 °C .....	53
Abb. 18: Makroskopisches Erscheinungsbild von NDN in Vehikeln (von links nach rechts Prototyp: A-E) nach der Herstellung (t = 0 d) bei RT .....	54
Abb. 19: Makroskopisches Erscheinungsbild von NDN in Vehikeln (von links nach rechts Prototyp: A-E) nach t = 28 d bei 40 °C .....	55
Abb. 20: Makroskopisches Erscheinungsbild von BPO in Vehikeln (von links nach rechts Prototyp: A-E) nach der Herstellung (t = 0 d) bei RT .....	55

---

Abb. 21: Makroskopisches Erscheinungsbild von BPO in Vehikeln (von links nach rechts Prototyp: A-E) nach t = 28 d bei 40 °C .....	55
Abb. 22: Makroskopisches Erscheinungsbild von NDN in Kombination mit BPO (NDN+BPO) in Vehikeln (von links nach rechts Prototyp: A-E) nach der Herstellung (t = 0 d) bei RT .....	56
Abb. 23: Makroskopisches Erscheinungsbild von NDN in Kombination mit BPO (NDN+BPO) in Vehikeln (von links nach rechts Prototyp: A-E) nach t = 28 d bei 40 °C.....	56
Abb. 24: Lagerstabilität von NDN und BPO in Vehikeln (von links nach rechts Prototyp: A-E) nach t = 14 d und t = 28 d bei 40 °C .....	57
Abb. 25: Lagerstabilität von NDN in Kombination mit BPO (NDN+BPO) und BPO in Kombination mit NDN (BPO+NDN) in Vehikeln (von links nach rechts Prototyp: A-E) nach t = 14 d und t = 28 d bei 40 °C .....	57
Abb. 26: pH-Stabilität von NDN-, BPO- und NDN+BPO-haltigen Vehikeln (von links nach rechts Prototyp: A-E) nach t = 14 d und t = 28 d bei 40 °C.....	58
Abb. 27: Makroskopisches Erscheinungsbild von wirkstoffhaltigen Formulierungen im Vergleich (Kontrollgruppe und Prototyp E) nach Lagerung von t = 28 d bei 40 °C ..	60
Abb. 28: pH-Abnahme von wirkstoffhaltigen Formulierungen im Vergleich (Kontrollgruppe und Prototyp E) nach Lagerung von t = 14 d und t = 28 d bei 40 °C .....	60
Abb. 29: Lagerstabilität von BPO in Vehikeln mit kritischen HS (oben) und pH-Stabilität von BPO-haltigen Vehikeln mit kritischen HS (unten) nach t = 14 d, t = 28 d und t = 84 d bei 40 °C.....	62
Abb. 30: pH-Stabilität von BPO-haltigen Vehikeln mit verschiedenen Puffern nach t = 14 d, t = 28 d und t = 84 d bei 40 °C .....	64
Abb. 31: Lagerstabilität von BPO in Vehikeln mit verschiedenen Gelbildnern (oben) und pH-Stabilität von BPO-haltigen Vehikeln mit verschiedenen Gelbildnern (unten) nach t = 14 d, t = 28 d und t = 84 d bei 40 °C .....	65
Abb. 32: Makroskopisches Erscheinungsbild von wirkstoffhaltigen Vehikeln (von links nach rechts: NDN, BPO und NDN+BPO) mit BPO-Stabilisator (Docusat-Natrium) und Antioxidantien (RonaCare AP, GRINDOX 1032, RonaCare MAP) nach t = 28 d bei 40 °C .....	66
Abb. 33: Einfluss der BPO-Konzentration auf die Proben temperatur nach der Herstellung mit verschiedenen Herstellverfahren (STD-, OPT-, KÜHL-Methode) in Prototyp A sowie der pH-Stabilität nach t = 14 d und t = 28 d bei 40 °C .....	68
Abb. 34: Einfluss der BPO-Konzentration auf die Proben temperatur nach der Herstellung mit verschiedenen Herstellverfahren (STD-, OPT-, KÜHL-Methode) in Prototyp B sowie der pH-Stabilität nach t = 14 d und t = 28 d bei 40 °C .....	69

---

Abb. 35: Einfluss der BPO-Konzentration auf die Proben­temperatur nach der Herstellung mit verschiedenen Herstellverfahren (STD-, OPT-, KÜHL-Methode) in Prototyp C sowie der pH-Stabilität nach t = 14 d und t = 28 d bei 40 °C .....	69
Abb. 36: Einfluss der BPO-Konzentration auf die Proben­temperatur nach der Herstellung mit verschiedenen Herstellverfahren (STD-, OPT-, KÜHL-Methode) in Prototyp D sowie der pH-Stabilität nach t = 14 d und t = 28 d bei 40 °C .....	70
Abb. 37: Einfluss der BPO-Konzentration auf die Proben­temperatur nach der Herstellung mit verschiedenen Herstellverfahren (STD-, OPT-, KÜHL-Methode) in Prototyp E sowie der pH-Stabilität nach t = 14 d und t = 28 d bei 40 °C .....	70
Abb. 38: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp F gelagert in Glasvial nach t = 84 d .....	73
Abb. 39: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp F gelagert in PE-Tube nach t = 84 d .....	74
Abb. 40: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp F gelagert in ALU-Tube nach t = 84 d .....	74
Abb. 41: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp G gelagert in Glasvial nach t = 84 d .....	74
Abb. 42: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp G gelagert in PE-Tube nach t = 84 d .....	75
Abb. 43: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp G gelagert in ALU-Tube nach t = 84 d .....	75
Abb. 44: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp H gelagert in Glasvial nach t = 84 d .....	75
Abb. 45: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp H gelagert in PE-Tube nach t = 84 d .....	76
Abb. 46: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp H gelagert in ALU-Tube nach t = 84 d .....	76
Abb. 47: Makroskopisches Erscheinungsbild der Prototypen F-H in Glasvial nach t = 168 d unter verschiedenen Lagerbedingungen .....	79
Abb. 48: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp F gelagert in Glasvial nach t = 168 d .....	80
Abb. 49: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp G gelagert in Glasvial nach t = 168 d .....	80
Abb. 50: Wirkstoffgehalt und pH-Wert in Prototyp H gelagert in Glasvial nach t = 168 d .....	80
Abb. 51: Referenz-Chromatogramm von NDN und BPO in Prototyp G nach der Herstellung (t = 0 d) sowie beide WS in Acetonitril-Stammlösung .....	81
Abb. 52: HPLC-Chromatogramm einer Probe des Prototyps G nach einer Lagerung von t = 168 d im Glasvial .....	82
Abb. 53: Fließkurve (links) und Oszillationskurve (rechts) von Prototyp G mit NDN und BPO in Glasvial nach t = 168 d unter verschiedenen Lagerbedingungen .....	84
Abb. 54: Übersicht des mikroskopischen Erscheinungsbildes von Prototyp G mit NDN und BPO nach t = 168 d unter verschiedenen Lagerbedingungen .....	84
Abb. 55: Makroskopisches Erscheinungsbild der Placebo-Kontrollgruppe (links) und der wirkstoffhaltigen Probe (rechts) sowie mikroskopisches Erscheinungsbild einer wirkstoffhaltigen Probe .....	88
Abb. 56: pH-Wert der Placebo-Kontrollgruppe (VEHIKEL) und der wirkstoffhaltigen Probe (NDN+BPO) .....	89
Abb. 57: Wirkstoffgehalt von NDN und BPO in der Vehikel-Grundlage .....	90

---

Abb. 58: Fließkurve (links) und Oszillationskurve (rechts) von Placebo-Kontrollgruppe (VEHIKEL) und wirkstoffhaltiger Probe (NDN+BPO).....	91
Abb. 59: Einfluss der Wechselwirkung zwischen Vehikeln und Sebum auf die Wirkstoffpenetration in Sebum.....	93
Abb. 60: Wirkstoffpenetration in Sebum aus Prototyp G und aus NDN- und BPO-haltigem Fertigarzneimittel .....	93
Abb. 61: Einfluss der Wechselwirkung zwischen Prototyp G mit Zusatz von Polyoxyethylen-20-cetyl-ether und Sebum auf die Wirkstoffpenetration in Sebum.....	94
Abb. 62: Einfluss der Wechselwirkung zwischen Prototyp G mit Zusatz von Natriumcocoglutamat und Sebum auf die Wirkstoffpenetration in Sebum.....	94
Abb. 63: Makroskopische Aufnahme der wirkstoffhaltigen Proben der finalen Formulierung hergestellt in gako unguator PRO (links) mit 50 g je Charge und BECOMIX RW 2,5 (rechts) mit 2000 g je Charge .....	96
Abb. 64: Mikroskopische Aufnahmen der wirkstoffhaltigen Proben der finalen Formulierung hergestellt in gako unguator PRO mit 50 g je Charge und BECOMIX RW 2,5 mit 2000 g je Charge .....	97
Abb. 65: Makroskopische Aufnahme der wirkstoffhaltigen Proben der finalen Formulierung (Charge 1) hergestellt in gako unguator PRO mit 50 g (links) und 200 g (mitte) und BECOMIX RW 2,5 (rechts) mit 2000 g.....	98
Abb. 66: Mikroskopische Aufnahme der wirkstoffhaltigen Proben der finalen Formulierung (Charge 1) hergestellt in gako unguator PRO mit 50 g (links) und 200 g (mitte) und BECOMIX RW 2,5 (rechts) mit 2000 g.....	98
Abb. 67: pH-Wert von wirkstoffhaltigen Proben der finalen Formulierung (Charge 1-3) hergestellt in gako unguator PRO mit 50 g und 200 g und BECOMIX RW 2,5 mit 2000 g .....	99
Abb. 68: Wirkstoffgehalt von NDN und BPO in der finalen Formulierung (Charge 1-3) hergestellt in gako unguator PRO mit 50 g und 200 g und BECOMIX RW 2,5 mit 2000 g .....	100
Abb. 69: Fließkurven der finalen Formulierung (Charge 1-3) hergestellt in gako unguator PRO mit 50 g und 200 g und BECOMIX RW 2,5 mit 2000 g.....	101
Abb. 70: Oszillationskurve der finalen Formulierung (Charge 1-3) hergestellt in gako unguator PRO mit 50 g und 200 g und BECOMIX RW 2,5 mit 2000 g .....	102
Abb. 71: Makroskopisches Erscheinungsbild von Prototypen F-G in verschiedenen Primärpackmitteln nach einer Lagerung von t = 84 d bei 40 °C / 75 % r. F. ....	117
Abb. 72: Makroskopisches Erscheinungsbild von Prototyp G gelagert in Glasvial unter verschiedenen Lagerbedingungen nach einer Lagerung von t = 0 d, 28 d, 84 d und 168 d .....	118

---

Abb. 73: Makroskopisches Erscheinungsbild von Prototyp G gelagert in PE- und ALU-Tube unter verschiedenen Lagerbedingungen nach einer Lagerung von $t = 28$ d und 84 d .....	119
Abb. 74: Wirkstoffstabilität in Prototyp G gelagert in Glasvial im Überblick .....	120
Abb. 75: Wirkstoffstabilität in Prototyp G gelagert in PE-Tube im Überblick.....	120
Abb. 76: Wirkstoffstabilität in Prototyp G gelagert in ALU-Tube im Überblick.....	121
Abb. 77: pH-Stabilität in Prototyp G gelagert in Glasvial im Überblick.....	121
Abb. 78: pH-Stabilität in Prototyp G gelagert in PE-Tube im Überblick .....	122
Abb. 79: pH-Stabilität in Prototyp G gelagert in ALU-Tube im Überblick .....	122

## 7 Anhang

### 7.1 Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchung Teil 1 von Prototypen F-G mit Nadifloxacin und Benzoylperoxid in verschiedenen Primärpackmitteln

Abb. 71 zeigt die Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchung Teil 1 des makroskopischen Erscheinungsbildes der Prototypen F-G mit 1 % Nadifloxacin (NDN) und 5 % Benzoylperoxid (BPO) in verschiedenen Primärpackmitteln nach einer Lagerung unter Stressbedingungen.

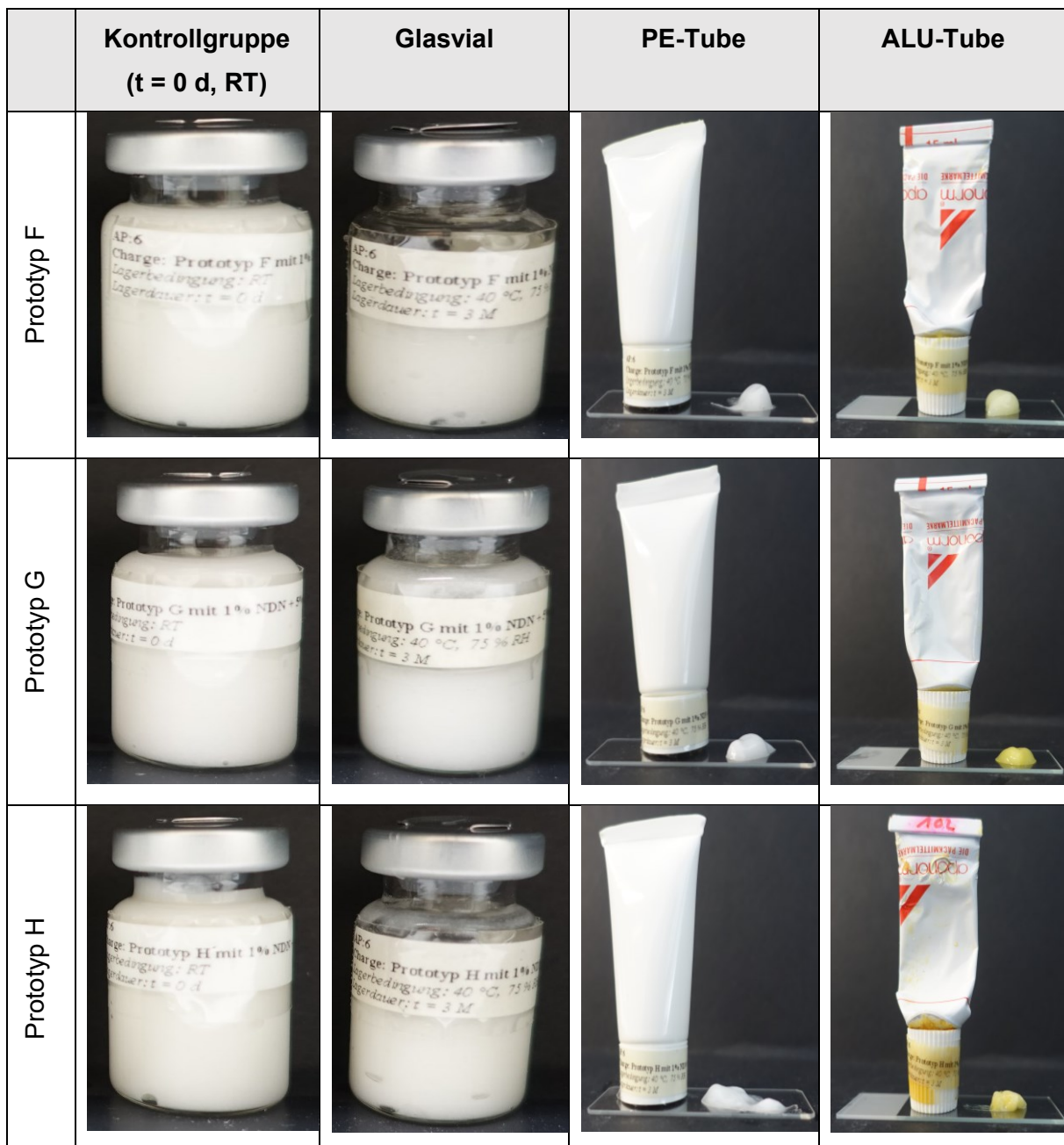


Abb. 71: Makroskopisches Erscheinungsbild von Prototypen F-G in verschiedenen Primärpackmitteln nach einer Lagerung von t = 84 d bei 40 °C / 75 % r. F.

## 7.2 Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchung Teil 1 und 2 von Prototyp G mit Nadifloxacin und Benzoylperoxid

Abb. 72-79 zeigen die Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchung Teil 1 und 2 von Prototyp G mit 1 % NDN und 5 % BPO unter Berücksichtigung der kritischen Parameter (s. 3.2.7).

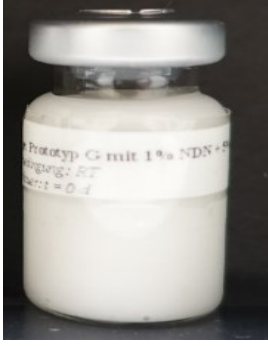
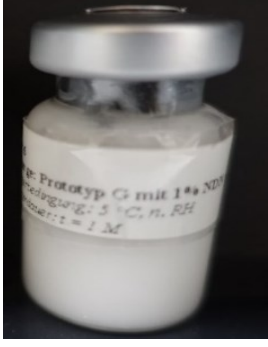
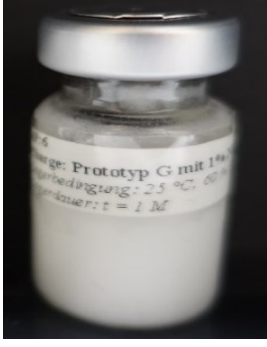
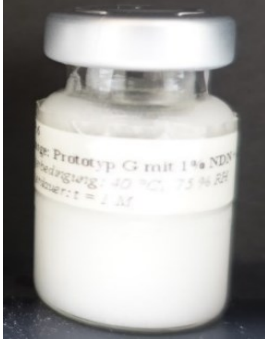
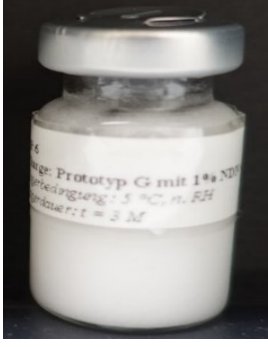
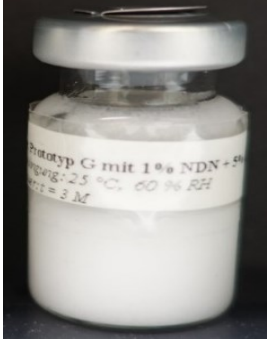
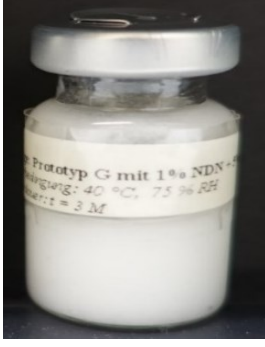
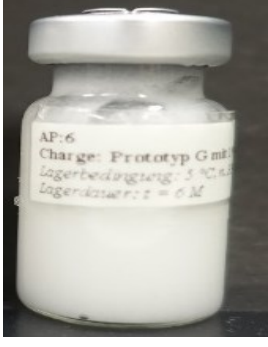
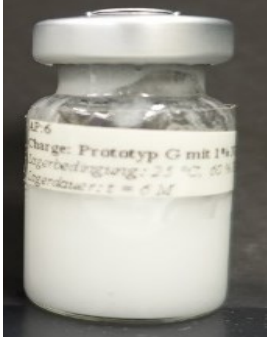
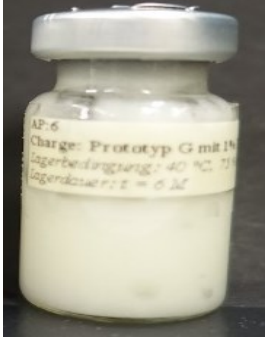
	RT	5 °C / k. r. F.	25 °C / 60 % r. F.	40 °C / 75 % r. F.
t = 0 d				
t = 28 d				
t = 84 d				
t = 168 d				

Abb. 72: Makroskopisches Erscheinungsbild von Prototyp G gelagert in Glasvial unter verschiedenen Lagerbedingungen nach einer Lagerung von t = 0 d, 28 d, 84 d und 168 d

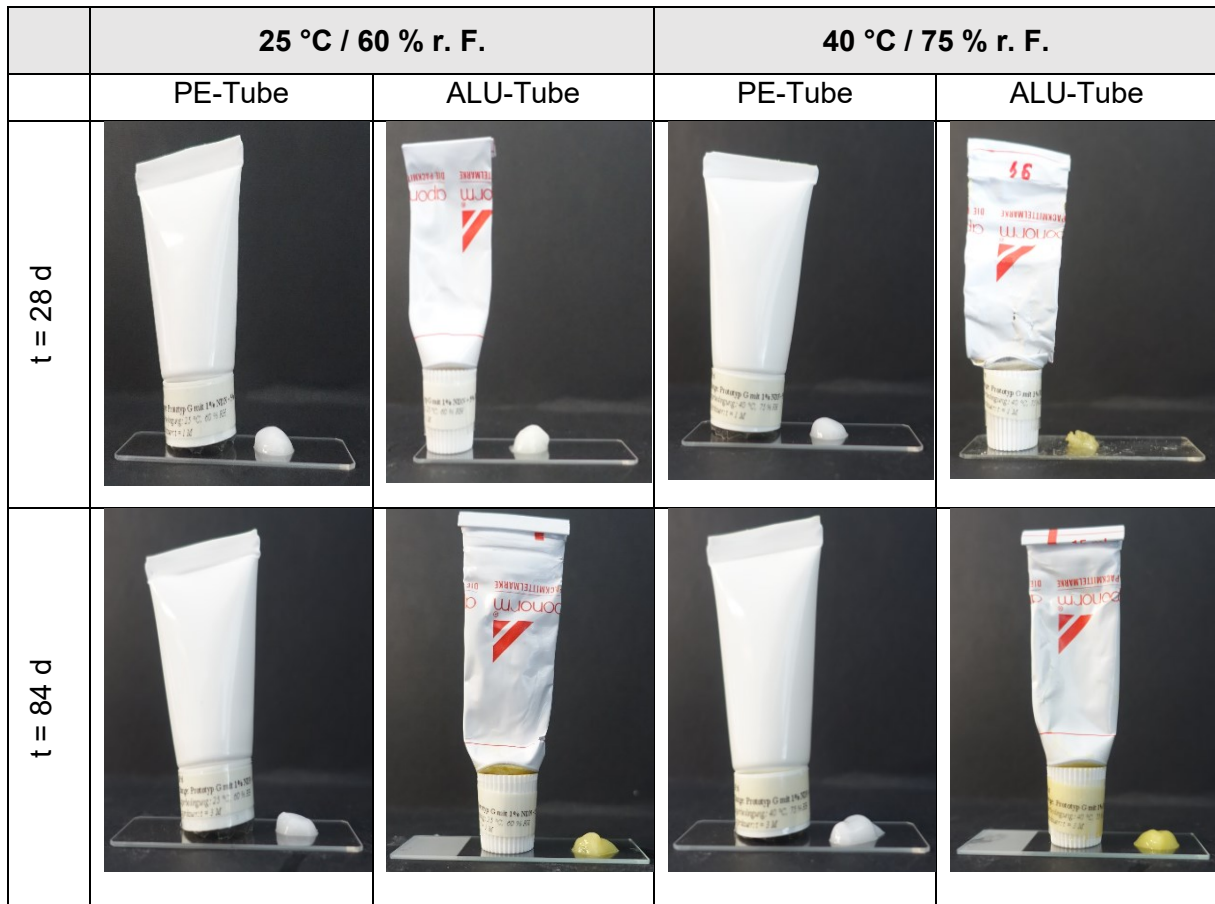


Abb. 73: Makroskopisches Erscheinungsbild von Prototyp G gelagert in PE- und ALU-Tube unter verschiedenen Lagerbedingungen nach einer Lagerung von t = 28 d und 84 d

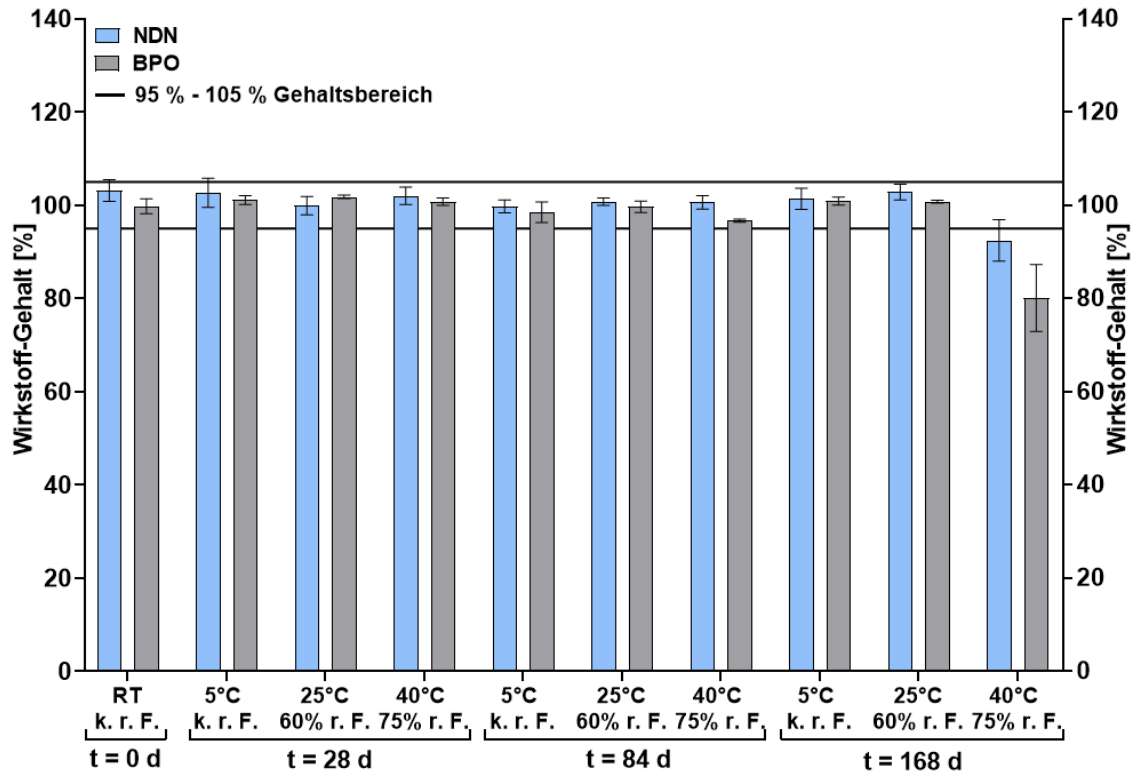


Abb. 74: Wirkstoffstabilität in Prototyp G gelagert in Glasvial im Überblick

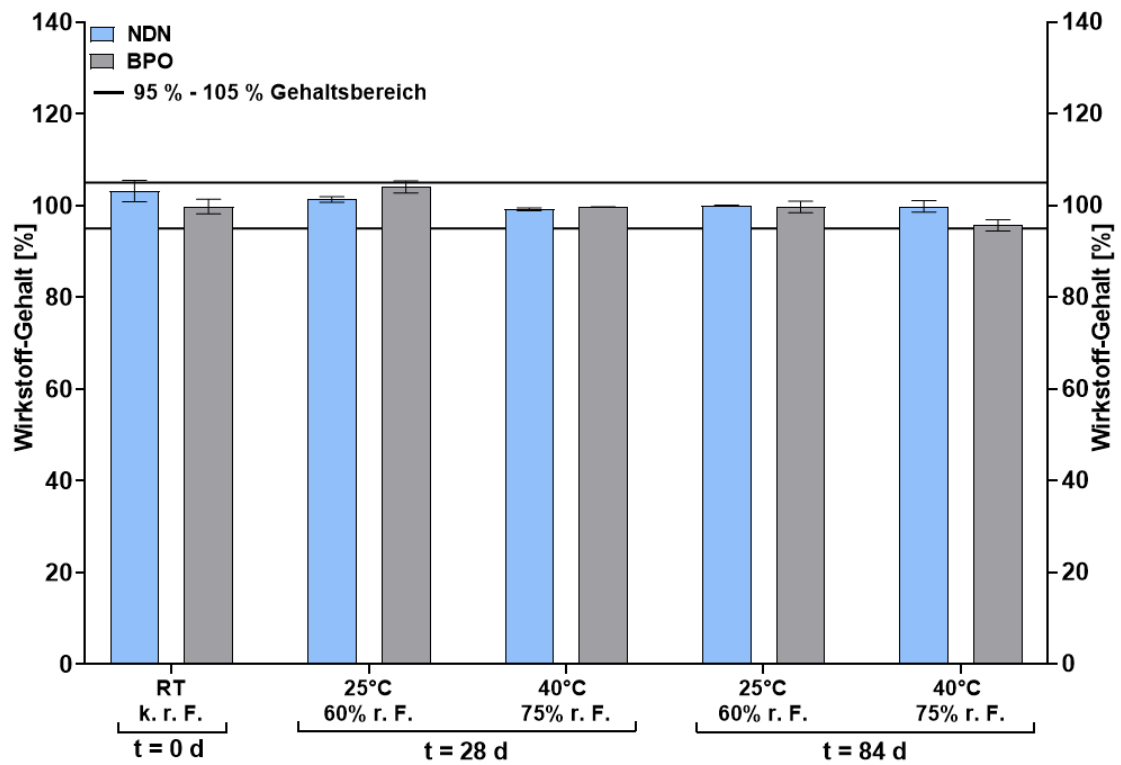


Abb. 75: Wirkstoffstabilität in Prototyp G gelagert in PE-Tube im Überblick

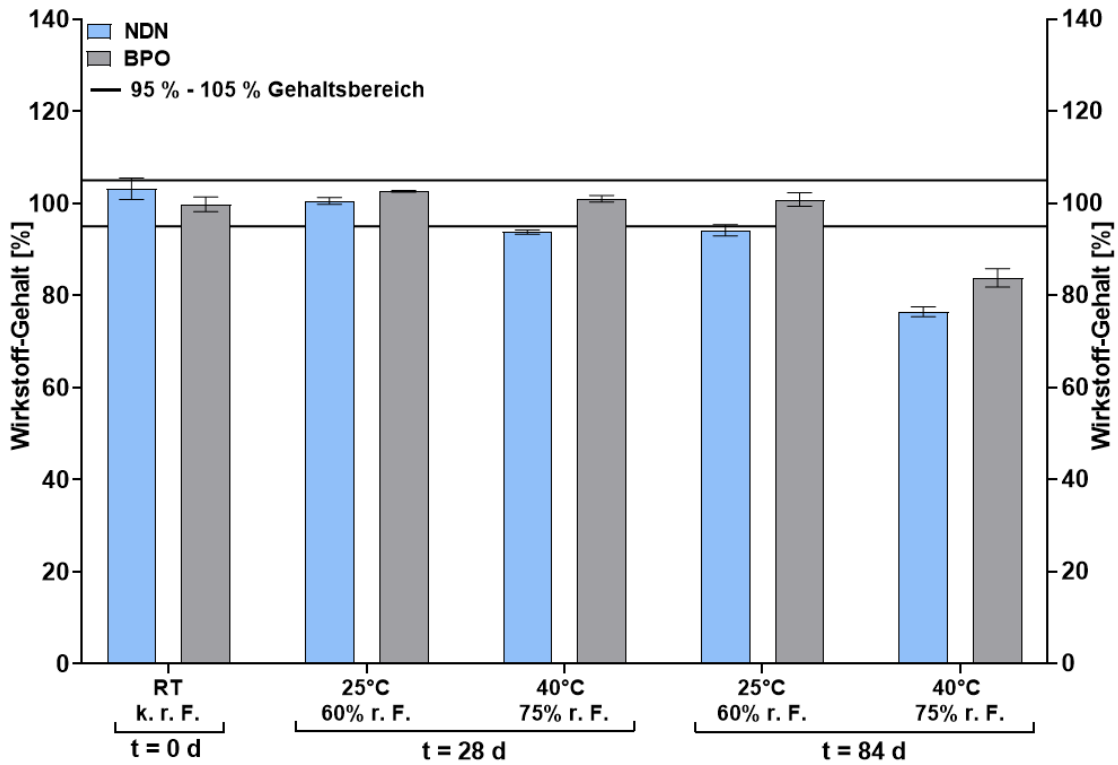


Abb. 76: Wirkstoffstabilität in Prototyp G gelagert in ALU-Tube im Überblick

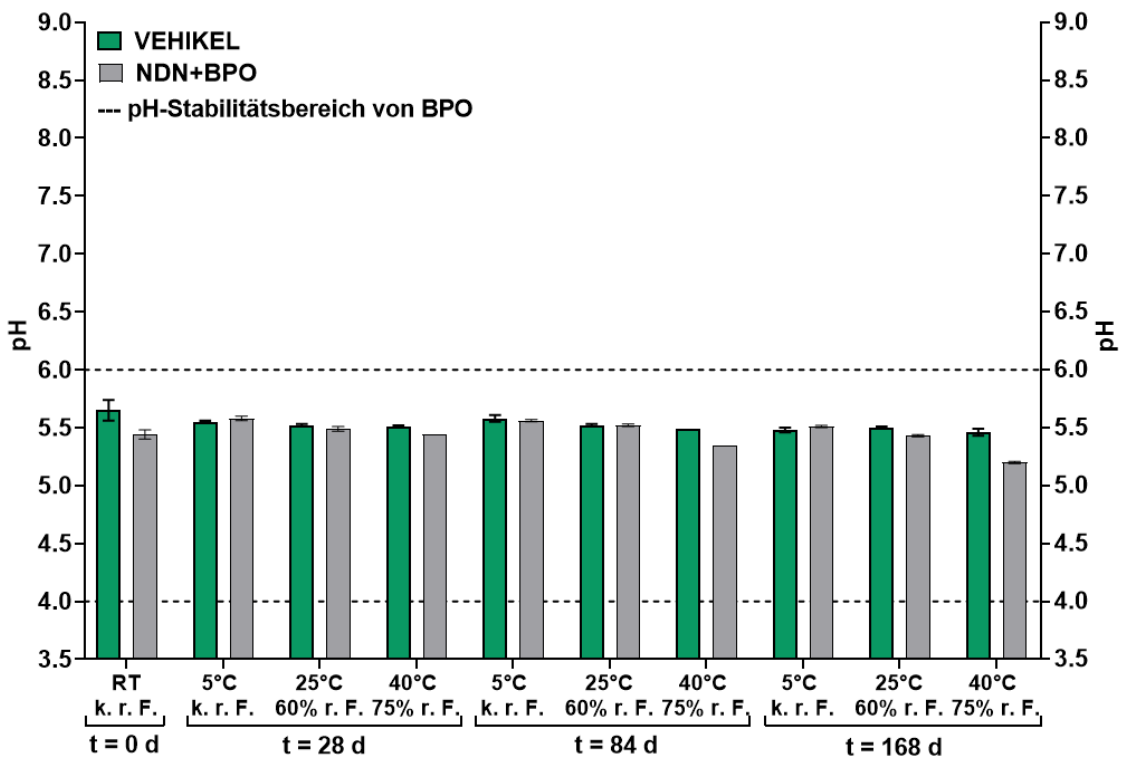


Abb. 77: pH-Stabilität in Prototyp G gelagert in Glasvial im Überblick

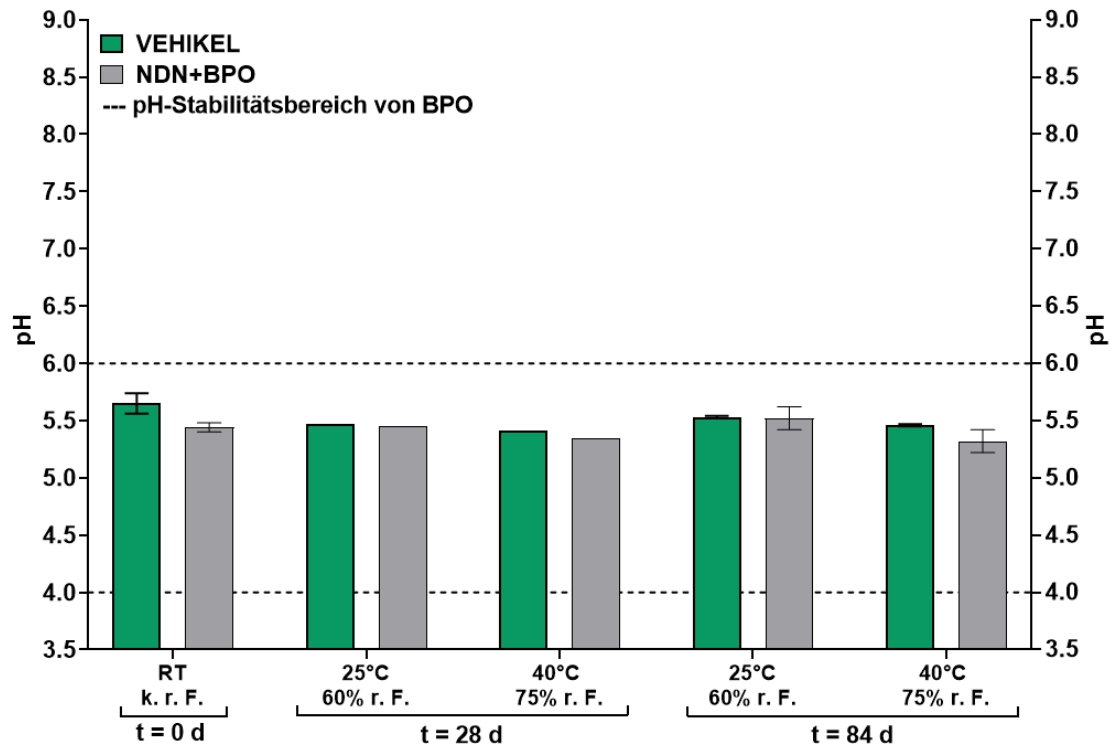


Abb. 78: pH-Stabilität in Prototyp G gelagert in PE-Tube im Überblick

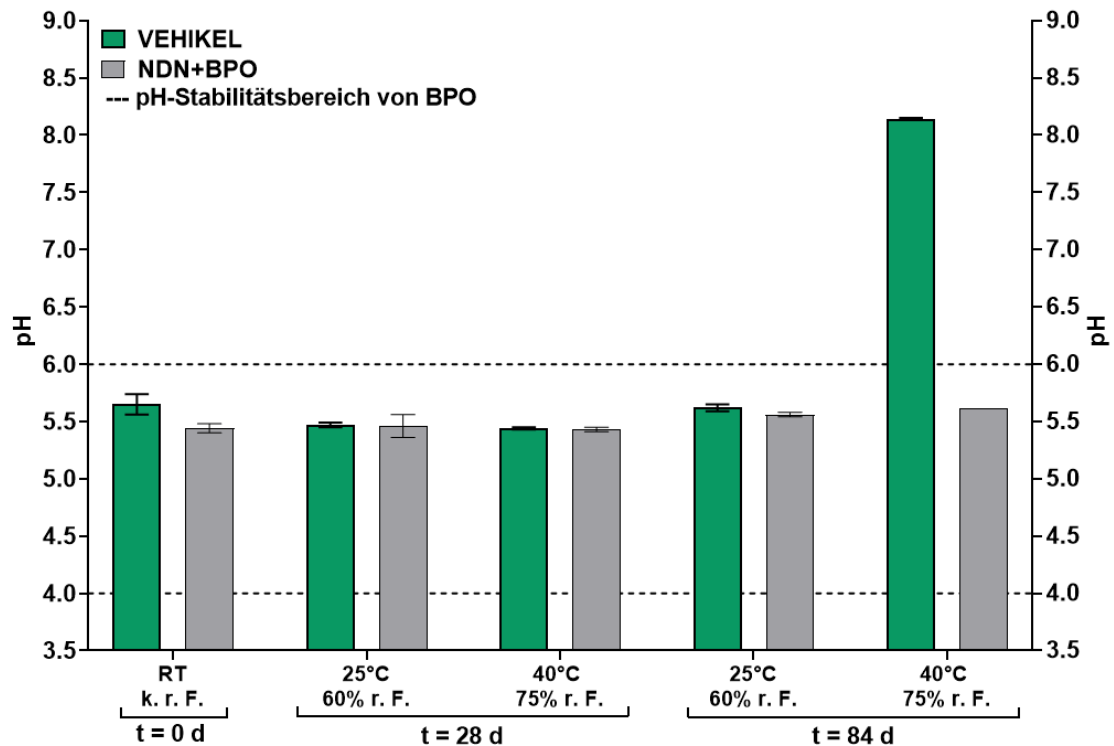


Abb. 79: pH-Stabilität in Prototyp G gelagert in ALU-Tube im Überblick