

# Filmbildende Emulsionen zur Retardierung der dermalen Wirkstoffpermeation

## Dissertation

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

vorgelegt von  
Dominique Jasmin Lunter  
aus Backnang

Tübingen  
2012

Tag der mündlichen Qualifikation:

18.09.12

Dekan:

Prof. Dr. Wolfgang Rosenstiel

1. Berichterstatter:

Prof. Dr. Rolf Daniels

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. Martin Wahl

## Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. Rolf Daniels am Lehrstuhl für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie der Eberhard Karls Universität Tübingen. Ich danke ihm für die Möglichkeit dieses spannende Thema bearbeiten zu dürfen, für seine Diskussionsbereitschaft und Hilfe sowie für die forschersische Freiheit, die mir bei der Bearbeitung des Themas gewährt wurde.

Darüber hinaus danke ich ihm für die fachliche Weiterbildung, die er mir durch die Teilnahme an nationalen und internationalen Kongressen sowie an der „Weiterbildung zum Fachapotheker für Pharmazeutische Technologie“ ermöglicht hat.

Herrn Prof. Dr. Martin A. Wahl danke ich für die Erstellung des Zweitgutachtens, für seine konstruktive Kritik und die Erstellung des Zweitgutachtens.

Ich danke der Experimentellen Medizin des Universitätsklinikums Tübingen für die freundliche und unkomplizierte Bereitstellung der Schweineohren, ohne die essentielle Teile dieser Arbeit nicht möglich gewesen wären.

Den Mitarbeitern der Institute für pharmazeutische Technologie der Universitäten Saarbrücken und Braunschweig danke ich dafür, dass wir ihr Dermatom ausleihen durften.

Der Firma Evonik Industries danke ich für die Bereitstellung von Eudragit NE 30D RS 30D und RL 30D.

Der Werkstatt des pharmazeutischen Instituts der Universität Tübingen danke ich für die vielen kleinen und größeren Gerätschaften, die sie für mich im Laufe meiner Promotion kurzfristig und mit viel Kreativität gebaut haben.

Mein Dank gilt außerdem allen Kollegen und ehemaligen Kollegen für die von Freundschaft und Hilfsbereitschaft geprägte Zusammenarbeit, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat und aufgrund derer ich mich im Arbeitskreis immer sehr wohl gefühlt habe.

Nicht zuletzt möchte ich meinem Freund und meinen Eltern für Ihre stets bedingungslose Unterstützung danken.

## **Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht oder sind zur Veröffentlichung eingereicht:**

### **Artikel in Fachzeitschriften:**

New film forming emulsions containing Eudragit® NE and/or RS 30D for sustained dermal delivery of nonivamide  
Dominique Lunter, Rolf Daniels  
European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 82 (2012) 291-298;  
DOI: 10.1016/j.ejpb.2012.06.010

In-vitro skin permeation and penetration of nonivamide from novel film forming emulsions  
Dominique Lunter, Rolf Daniels  
Skin Pharmacology and Physiology  
Status: eingereicht

### **Kongressbeiträge – Vortrag**

Film forming emulsions for sustained release of nonivamide to the skin  
Dominique Lunter, Rolf Daniels  
Controlled Release Society Germany Local Chapter Meeting 2012; Würzburg

### **Kongressbeiträge – Poster**

Film forming emulsions enabling sustained dermal therapy  
Dominique Lunter, Rolf Daniels  
9<sup>th</sup> Symposium Confocal Raman Imaging 2012; Ulm

Film forming emulsions for sustained dermal release of nonivamide  
Dominique Lunter, Rolf Daniels  
Stratum Corneum 2012; Cardiff

Film forming emulsions enabling sustained release of nonivamide to the skin  
Dominique Lunter, Rolf Daniels  
World meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology 2012; Istanbul

Film forming emulsions permitting sustained release of nonivamide  
Dominique Lunter, Rolf Daniels  
Skin Forum 12<sup>th</sup> annual meeting 2011; Frankfurt

Film forming semisolid formulation for dermal use  
Dominique Lunter, Rolf Daniels  
Jahrestagung der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft 2010; Braunschweig

Characterization of films obtained from emulsions containing Eudragit NE and/or RS dispersions  
Dominique Lunter, Rolf Daniels  
World meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology 2010; Valetta

*“Facts are the air of scientists.  
Without them you can never fly.”*

Linus Carl Pauling

### **Besondere Hinweise:**

Gesetzlich geschützte Warenzeichen werden ohne besondere Kennzeichnung verwendet.



2.2.12	Untersuchung der Arzneistoffabsorption .....	86
2.2.13	Substantivitätsprüfung .....	88
2.2.14	Analytische Methoden .....	90
2.2.15	Statistische Methoden .....	91
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE UND DISKUSSION .....</b>	<b>93</b>
3.1	AUSWAHL GEEIGNETER POLYMERE .....	93
3.1.1	Auswahl geeigneter Retard-Polymer-Dispersionen .....	93
3.1.2	Auswahl eines geeigneten wasserlöslichen Polymers .....	98
3.1.3	Zusammenfassung Polymerauswahl.....	111
3.2	CHARAKTERISIERUNG VON EMULSIONEN MIT UND OHNE EUDRAGITDISPERSIONEN UND NONIVAMID.....	112
3.2.1	Emulsionen ohne Eudragitdispersionen und Nonivamid .....	112
3.2.2	Emulsionen mit PVOH 8-88 und Eudragitdispersionen .....	115
3.2.3	Emulsionen mit PVOH 40-88 und Eudragitdispersionen .....	117
3.2.4	Emulsionen mit PVOH 8-88 und Nonivamid.....	118
3.2.5	Ramanmikroskopische Charakterisierung .....	122
3.2.6	Zusammenfassung Charakterisierung der Emulsionen.....	125
3.3	CHARAKTERISIERUNG DER FILME .....	126
3.3.1	Mechanische Eigenschaften.....	126
3.3.2	Wasserfestigkeit .....	135
3.3.3	Ramanmikroskopische Charakterisierung .....	137
3.3.4	Rasterelektronenmikroskopische Charakterisierung der Filme .....	142
3.3.5	Zusammenfassung Charakterisierung der Filme.....	143
3.4	IN-VITRO FREISETZUNGSUNTERSUCHUNGEN .....	144
3.4.1	Vergleich mit Hydrophiler Nonivamid Creme.....	144
3.4.2	Einfluss der Eudragitzusammensetzung .....	147
3.4.3	Einfluss der Weichmacherzusammensetzung.....	149
3.4.4	Einfluss von Polyvinylalkohol.....	152
3.4.5	Zusammenfassung Freisetzungsuntersuchungen.....	153
3.5	IN-VITRO PERMEATIONSUNTERSUCHUNGEN .....	155
3.5.1	Permeationsuntersuchungen mit infiniten Dosis .....	155
3.5.2	Permeationsuntersuchungen mit finiten Dosis .....	165
3.6	IN-VITRO PENETRATIONSUNTERSUCHUNGEN.....	167
3.7	SUBSTANTIVITÄTSPRÜFUNG .....	170



<b>4</b>	<b>ABSCHLUSSDISKUSSION.....</b>	<b>172</b>
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>186</b>
<b>6</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>190</b>
6.1	KALIBRIERUNGSDATEN .....	190
6.1.1	Coffein.....	190
6.1.2	Diethylbutamidotriazon.....	190
6.1.3	Nonivamid .....	191
6.2	ERGEBNISSE DER WASSERFESTIGKEITSPRÜFUNG .....	193
6.3	STATISTISCHE AUSWERTUNG.....	194
6.3.1	Viskosität.....	194
6.3.2	Grenzflächenspannungen .....	195
6.3.3	nominelle Bruchdehnung .....	197
6.3.4	Adhäsion an Glas und Polycarbonat.....	199
6.3.5	Wasserfestigkeit.....	203
6.3.6	Freisetzungsuntersuchungen.....	204
6.3.7	Permeationsuntersuchungen .....	211
6.4	FIRMENLISTE.....	215
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>216</b>

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.2-1: schematischer Aufbau der Haut (Skin Care Forum, 2001) .....	26
Abbildung 1.2-2: Schematische Darstellung der Substanzaufnahme durch die Haut ...	27
Abbildung 1.2-3: Schematische Darstellung möglicher Penetrationsrouten durch die Haut (Hadgraft 2001) .....	28
Abbildung 1.2-4: Franz Diffusions Zelle .....	35
Abbildung 1.2-5: Schematische Darstellung des Konzentrationsverlaufs im Akzeptorkompartiment während in-vitro Permeationsuntersuchungen mit infiniten oder finiten Arzneistoffmengen im Donorkompartiment .....	36
Abbildung 1.2-6: Instabilitäten von Emulsionen .....	39
Abbildung 1.2-7: Allgemeine Strukturformel der Hypromellose.....	44
Abbildung 1.2-8: Allgemeine Strukturformel von Polyvinylalkohol .....	45
Abbildung 1.2-9: Allgemeine Strukturformel von Polyvinylalkohol .....	46
Abbildung 1.2-10: Formelbild des Polymers Eudragit RS .....	48
Abbildung 1.2-11: Formelbild des Polymers Eudragit NE .....	48
Abbildung 1.2-12: Allgemeine Strukturformel von Ethylcellulose (Hercules Incorporation Aqualon Division, 2002).....	49
Abbildung 1.2-13: Interaktionen zwischen Partikeln und gelösten Polymermolekülen in Abhängigkeit von ihrer relativen Größe; (a) Polymer ist deutlich kleiner als Partikel (b) Polymer und Partikel sind ähnlich groß (c) Polymer ist deutlich größer als Partikel (Hsu und Lin 1996).....	52
Abbildung 1.2-14: Strukturformeln von Capsaicin (1) und Nonivamid (2) .....	54
Abbildung 2.2-1: Schematische Darstellung des Filmziehgeräts; modifiziert nach Grützmann .....	74
Abbildung 3.1-1: Glasübergangstemperaturen der weichgemachten Polymerdispersionen .....	95
Abbildung 3.1-2: Licht- und ramanmikroskopische Aufnahmen der getrockneten Emulsionsfilme mit unterschiedlichen Retardpolymerdispersionen .....	96
Abbildung 3.1-3: Ramanmikroskopische Aufnahmen der getrockneten Emulsionsfilme mit unterschiedlichen Retardpolymerdispersionen .....	97
Abbildung 3.1-4: Viskosität verschiedener wässriger Polymerlösungen bei 30 °C .....	100
Abbildung 3.1-5: Grenzflächenspannung verschiedener wässriger Polymerlösungen zu mittelkettigen Triglyceriden bei 23 °C .....	102

Abbildung 3.1-6: Lichtmikroskopische Aufnahmen von Emulsionen mit verschiedenen Gelbildnern; jeweils 20 T MCT und 80 T wässrige Polymerlösung; Rotor-Stator-Homogenisator: 5 min bei 15.000 UpM; Konzentration der Polymere in der Wasserphase: HPMC & PVOH 40-88: 2,5 % (m/m), PVP und restliche PVOH: 10 % (m/m).....	104
Abbildung 3.1-7: Tröpfchengrößenverteilung von Emulsionen mit verschiedenen wasserlöslichen Polymeren; 80 T wässrige Polymerlösung, 20 T MCT; Rotor-Stator-Homogenisator: 15.000 UpM, 5 min; Konzentration der Polymere in der Wasserphase: HPMC & PVOH 40-88: 2,5 % (m/m), restliche PVOH: 10 % (m/m).....	105
Abbildung 3.1-8: Lichtmikroskopische Aufnahmen von Emulsionen mit verschiedenen Gelbildnern nach 56 tägiger Lagerung bei Raumtemperatur; jeweils 20 T MCT und 80 T wässrige Polymerlösung; Rotor-Stator-Homogenisator: 5 min bei 15.000 UpM; Konzentration der Polymere in der Wasserphase: HPMC & PVOH 40-88: 2,5 % (m/m), PVP und restliche PVOH: 10 % (m/m) .....	106
Abbildung 3.1-9: Tröpfchengrößen gelagerter Emulsionen mit verschiedenen wasserlöslichen Polymeren; 80 T wässrige Polymerlösung, 20 T MCT; Rotor-Stator-Homogenisator: 15.000 UpM, 5 min; Konzentration der Polymere in der Wasserphase: HPMC % PVOH 40-88: 2,5 % (m/m), PVP und restliche PVOH: 10 % (m/m) .....	107
Abbildung 3.1-10: Mischungen von Polymerlösungen und Eudragit NE 30D oder Eudragit RS 30D nach 4monatiger Lagerung.....	108
Abbildung 3.1-11: Ramanmikroskopische Aufnahmen von Mischungen von Polymerlösungen und Eudragitdispersionen .....	109
Abbildung 3.2-1: Lichtmikroskopische Aufnahmen von Emulsionen mit PVOH 8-88 oder PVOH 40-88; jeweils 75 T MCT und 25 T wässrige Polymerlösung; Rotor-Stator-Homogenisator: 5 min; PVOH 8-88-Konzentration in der Wasserphase: 10 % (m/m); PVOH 40-88-Konzentration in der Wasserphase: 5 % (m/m).....	113
Abbildung 3.2-2: Tröpfchengrößenverteilung von Emulsionen (PVOH 8-88 oder PVOH 40-88); jeweils 75 T MCT und 25 T wässrige Polymerlösung; Rotor-Stator-Homogenisator: 5 min; PVOH 8-88-Konzentration in der Wasserphase: 10 % (m/m); PVOH 40-88-Konzentration in der Wasserphase: 5 % (m/m).....	113
Abbildung 3.2-3: Lichtmikroskopische Aufnahmen von Emulsionen; jeweils 75 T MCT und 25 T wässrige Polymerlösung; Rotor-Stator-Homogenisator: 8 min; PVOH-Konzentration in der Wasserphase: 10 % (m/m); Eudragit-Anteil: 65 % (m/m) .....	115
Abbildung 3.2-4: Teilchengrößenverteilung von Eudragit NE 30D, einer Emulsion mit Eudragit NE 30D und einer Emulsion ohne Eudragit-Dispersion.....	116

Abbildung 3.2-5: Teilchengrößenverteilung von Eudragit RS 30D, einer Emulsion mit Eudragit RS 30D und einer Emulsion ohne Eudragit-Dispersion.....	116
Abbildung 3.2-6: Lichtmikroskopische Aufnahmen von Emulsionen mit PVOH 40-88 mit und ohne Eudragitdispersionen; jeweils 75 T MCT und 25 T wässrige Polymerlösung; Rotor-Stator-Homogenisator: 8 min bei 15.000 UpM; PVOH-Konzentration in der Wasserphase: 5 % (m/m); Eudragit-Anteil: 65 % (m/m) .....	117
Abbildung 3.2-7: Strukturformel des Nonivamids.....	118
Abbildung 3.2-8: Vergleich der Grenzflächenspannungen von PVOH 8-88 gegenüber MCT und 5%iger NVA-Lösung.....	119
Abbildung 3.2-9: Lichtmikroskopische Aufnahmen von Emulsionen aus 25 T PVOH 8-88-Lösung und 75 T MCT bzw. NVA-Lösung in MCT hergestellt bei verschiedenen Umdrehungsgeschwindigkeiten; jeweils 30 T MCT und 10 T wässrige Polymerlösung; Rotor-Stator-Homogenisator: 8 min; PVOH-Konzentration in der Wasserphase: 10 % (m/m) .....	120
Abbildung 3.2-10: Tröpfchengrößenverteilung von Emulsionen aus 10 T PVOH 8-88-Lösung und 30 T MCT bzw. NVA-Lösung in MCT hergestellt bei verschiedenen Umdrehungsgeschwindigkeiten; n=3 jeweils 30 T MCT und 10 T wässrige Polymerlösung; Rotor-Stator-Homogenisator: 5 min; PVOH-Konzentration in der Wasserphase: 10 % (m/m) .....	120
Abbildung 3.2-11: Ramanmikroskopische Aufnahmen einer Emulsion mit PVOH 8-88. ....	122
Abbildung 3.2-12: Ramanmikroskopische Aufnahmen von Emulsionen mit PVOH 8-88 und Eudragit NE 30D oder RS 30D. ....	123
Abbildung 3.3-1: Nominelle Bruchdehnung freier Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung; filmbildendes Polymer: Eudragit RS; Polymeremulgator: PVOH 8-88 .....	128
Abbildung 3.3-2: Nominelle Bruchdehnung freier Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Eudragitzusammensetzung; Weichmacher: 7,5 % TEC + 3 % PS 80; Polymeremulgator: PVOH 8-88 .....	129
Abbildung 3.3-3: Adhäsionskraft von freien Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung; filmbildendes Polymer: Eudragit RS Polymeremulgator: PVOH 8-88 .....	132
Abbildung 3.3-4: Adhäsionskraft von freien Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Eudragitzusammensetzung; Weichmacher: 7,5 % TEC + 3 %; Polymeremulgator: PS 80 PVOH 8-88.....	133

Abbildung 3.3-5: Innerhalb von 80 min bei 32 °C freigesetzte Menge DEBT aus Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung .....	135
Abbildung 3.3-6: Ramanmikroskopische Aufnahmen von Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Weichmacher- und Eudragitzzusammensetzung .....	137
Abbildung 3.3-7: Ramanmikroskopische Aufnahmen von Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Weichmacher- und Eudragitzzusammensetzung .....	138
Abbildung 3.3-8: Ramanmikroskopische Aufnahmen von Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Weichmacher- und Eudragitzzusammensetzung. ....	139
Abbildung 3.3-9: Ramanmikroskopische Aufnahmen von Emulsionsfilmen auf hitzeseparierter Epidermis mit unterschiedlicher Weichmacher- und Eudragitzzusammensetzung .....	141
Abbildung 3.3-10: REM-Aufnahmen verschiedener Filme aus Eudragit RS, PVOH 8-88 und verschiedenen Weichmachern/Weichmachermischungen .....	142
Abbildung 3.4-1: Vergleich der in-vitro Freisetzung von NVA aus Hydrophiler Nonivamid Creme und einem Emulsionsfilm (mit PVOH 8-88, Eudragit RS, Triethylcitrat und Polysorbat 80); jeweils 1 % NVA .....	145
Abbildung 3.4-2: Vergleich der in-vitro Freisetzung von NVA aus Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung (mit PVOH 8-88, Eudragit RS weichgemacht mit 7,5 % Triethylcitrat und 3 % Polysorbat 80, Eudragit NE weichgemacht mit 3 % Polysorbat 80) innerhalb der ersten 4 h .....	147
Abbildung 3.4-3: Vergleich der in-vitro Freisetzung von NVA aus filmbildenden Emulsionen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung (mit PVOH 8-88, Eudragit RS weichgemacht mit 7,5 % Triethylcitrat und 3 % Polysorbat 80, Eudragit NE weichgemacht mit 3 % Polysorbat 80) .....	148
Abbildung 3.4-4: Vergleich der in-vitro Freisetzung von NVA aus Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung (mit PVOH 8-88, Eudragit RS) innerhalb der ersten 4 h .....	149
Abbildung 3.4-5: Vergleich der in-vitro Freisetzung von NVA aus Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung (mit PVOH 8-88, Eudragit RS weichgemacht mit Triethylcitrat oder Polysorbat 80 oder einer Kombination der beiden, Eudragit NE ist nicht enthalten) .....	150
Abbildung 3.4-6: Vergleich der in-vitro Freisetzung von NVA aus Emulsionsfilmen mit unterschiedlichen Polymeremulgatoren bzw. -mengen (mit PVOH 4-88 oder PVOH 8-88, Eudragit RS weichgemacht mit 7,5 % Triethylcitrat und 3 % Polysorbat 80, Eudragit NE ist nicht enthalten) .....	152

Abbildung 3.4-7: Vergleich der Freisetzungsraten von Emulsionsfilmen mit verschiedener Zusammensetzung mit der Standardrezeptur .....	153
Abbildung 3.4-8: Vergleich der lag-Zeiten von Emulsionsfilmen mit verschiedener Zusammensetzung mit der Standardrezeptur.....	154
Abbildung 3.5-1: Vergleich der Permeation von NVA aus HNC 1 % und einem Emulsionsfilm mit 1 % NVA; Emulsionsfilm: Eudragitzzusammensetzung: NE/RS 0/100; Weichmacherzusammensetzung: 7,5 % TEC 3 % PS 80.....	156
Abbildung 3.5-2: Vergleich der Permeation von NVA aus HNC 0,1 %, HNC 0,05 % und HNC 0,025 % und einem Emulsionsfilm mit 1 % NVA; Emulsionsfilm: Eudragitzzusammensetzung: NE/RS 0/100; Weichmacherzusammensetzung: 7,5 % TEC 3 % PS 80.....	157
Abbildung 3.5-3: Vergleich der Permeationsrate von HNC 0,1 % mit den Permeationsraten von Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung; Emulsionsfilme enthalten 1 % NVA; Weichmacherzusammensetzung: 7,5 % TEC 3 % PS 80).....	159
Abbildung 3.5-4: Vergleich der Permeationsrate von HNC 0,1 % mit den Permeationsraten von Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung; Emulsionsfilme enthalten 1 % NVA; Eudragitzzusammensetzung: NE/RS 0/100) .....	161
Abbildung 3.5-5: Äquivalenzprüfung der Permeationsraten von NVA aus filmbildenden Emulsionen (1 % NVA) oder HNC (0,025 %, 0,05 % oder 0,1 %) .....	163
Abbildung 3.5-6: Vergleich der Permeation von NVA aus HNC 0,05 % und einem Emulsionsfilm mit 1 % NVA; finite Dosierung (normiert auf 2 mg/cm <sup>2</sup> ); Emulsionsfilm: Eudragitzzusammensetzung: NES 40/60; Weichmacherzusammensetzung: 7,5 %TEC + 3 % PS80).....	165
Abbildung 3.6-1: Aus HNC 0,05 % penetrierte Menge NVA in den verschiedenen Hautschichten in Abhängigkeit zur Inkubationszeit; finite Dosierung (normiert auf 2 mg/cm <sup>2</sup> ) .....	167
Abbildung 3.6-2: Aus einem Emulsionsfilm penetrierte Menge NVA in den verschiedenen Hautschichten in Abhängigkeit zur Inkubationszeit; finite Dosierung (normiert auf 2 mg/cm <sup>2</sup> ); Emulsionsfilm: Eudragitzzusammensetzung: NES 40/60; Weichmacherzusammensetzung: 7,5 %TEC + 3 % PS80) .....	168
Abbildung 3.7-1: Freigesetzte Menge NVA nach 20 min in Wasser bei 32 °C.....	170

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.2-1: Eigenschaften der verwendeten Hypromellose.....	45
Tabelle 2.1-1: Chemikalien und Hilfsstoffe .....	56
Tabelle 2.1-2: weitere Chemikalien und Hilfsstoffe.....	57
Tabelle 2.1-3: Verbrauchsmaterial.....	58
Tabelle 2.1-4: Verwendete Geräte.....	59
Tabelle 2.1-5: Verwendete Geräte (Fortsetzung) .....	60
Tabelle 2.1-6: Verwendete Software .....	61
Tabelle 2.2-1: Verwendete Polymerdispersionen und Weichmacher .....	62
Tabelle 2.2-2: Zusammensetzung von Emulsionen mit HPMC.....	64
Tabelle 2.2-3: Zusammensetzung von Emulsionen mit PVOH 8-88, mit und ohne Eudragit Dispersionen .....	66
Tabelle 2.2-4: Zusammensetzung von Emulsionen mit PVOH 40-88, mit und ohne Eudragit Dispersionen .....	66
Tabelle 2.2-5: Zusammensetzung von Emulsionen mit PVOH 8-88 und NVA.....	67
Tabelle 2.2-6: Zusammensetzung von Emulsionen mit PVOH, aus denen Filme zur Testung der mechanischen Eigenschaften hergestellt wurden.....	68
Tabelle 2.2-7: Emulsionen mit PVOH und Coffein zur Wasserfestigkeitsprüfung der aus ihnen gewonnenen Filme .....	69
Tabelle 2.2-8: Emulsionen mit PVOH und DEBT zur Wasserfestigkeitsprüfung der aus ihnen gewonnenen Filme .....	69
Tabelle 2.2-9: Zusammensetzung von Emulsionen, die zur Freisetzungsuntersuchung verwendet wurden .....	70
Tabelle 2.2-10: Zusammensetzung von Emulsionen, die zur Permeationsuntersuchung verwendet wurden .....	71
Tabelle 2.2-11: Zusammensetzung der Emulsion, die zur Penetrationsuntersuchung verwendet wurde .....	71
Tabelle 2.2-12: Zusammensetzung von Hydrophiler Nonivamid Creme 1 %, 0,1 %, 0,05 %, 0,025 % .....	72
Tabelle 3.1-1: Verwendete Polymerdispersionen und Weichmacher .....	94
Tabelle 3.1-2: Eigenschaften der verwendeten Polymere (Herstellerangaben).....	99
Tabelle 3.5-1: Vergleich der Permeationsraten und Permeationskoeffizienten eines Emulsionsfilms und derer von HNC mit verschiedenen NVA-Konzentrationen .....	157

Tabelle 3.5-2: Vergleich der Permeationsraten und Permeationskoeffizienten von Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung mit HNC 0,1 %...	160
Tabelle 3.5-3: Vergleich der Permeationsraten und Permeationskoeffizienten von Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung mit HNC 0,1 %	162
.....	162
Tabelle 6.1-1: Daten der Kalibrierung für Coffein.....	190
Tabelle 6.1-2: Daten der Kalibrierung für DEBT .....	190
Tabelle 6.1-3: Daten der Kalibrierung für Nonivamid 0,025-1 µg/mL (Peakhöhe).....	191
Tabelle 6.1-4: Daten der Kalibrierung für Nonivamid 0,1-1 µg/mL (Peakhöhe) .....	191
Tabelle 6.1-5: Daten der Kalibrierung für Nonivamid 1-10 µg/mL (Peakhöhe) .....	191
Tabelle 6.1-6: Daten der Kalibrierung für Nonivamid 10-100 µg/mL (Peakfläche) .....	192
Tabelle 6.2-1: freigesetzte Anteile DEBT und Coffein nach 80 min in demin. Wasser	193
Tabelle 6.3-1: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse (Viskosität) .....	194
Tabelle 6.3-2: Student Newman Keuls Test (Viskosität) .....	194
Tabelle 6.3-3: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse (Einfluss verschiedener Polymeremulgatoren auf die Grenzflächenspannung im Wasser-MCT-System).....	195
Tabelle 6.3-4: Student Newman Keuls Test (Einfluss verschiedener Polymeremulgatoren auf die Grenzflächenspannung im Wasser-MCT-System) .....	195
Tabelle 6.3-5: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse (Einfluss von NVA und PVOH 8-88 auf die Grenzflächenspannung im Wasser-MCT-System).....	196
Tabelle 6.3-6: Student Newman Keuls Test (Einfluss von NVA und PVOH 8-88 auf die Grenzflächenspannung im Wasser-MCT-System).....	196
Tabelle 6.3-7: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse der nominellen Bruchdehnung von Filmen mit verschiedenen Weichmachern .....	197
Tabelle 6.3-8: Student Newman Keuls Test der nominellen Bruchdehnung von Filmen mit verschiedenen Weichmachern.....	197
Tabelle 6.3-9: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse der nominellen Bruchdehnung von Filmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung .....	198
Tabelle 6.3-10: Student Newman Keuls Test der Adhäsion an Glas von Filmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung .....	198
Tabelle 6.3-11: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse der Adhäsion an Glas von Filmen mit verschiedenen Weichmachern .....	199
Tabelle 6.3-12: Student Newman Keuls Test der Adhäsion an Glas von Filmen mit verschiedenen Weichmachern.....	199



Tabelle 6.3-13: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse der Adhäsion an Glas von Filmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung.....	200
Tabelle 6.3-14: Student Newman Keuls Test der Adhäsion an Glas von Filmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung .....	200
Tabelle 6.3-15: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse der Adhäsion an PC von Filmen mit verschiedenen Weichmachern .....	201
Tabelle 6.3-16: Student Newman Keuls Test der Adhäsion an PC von Filmen mit verschiedenen Weichmachern .....	201
Tabelle 6.3-17: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse der Adhäsion an PC von Filmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung .....	202
Tabelle 6.3-18: Student Newman Keuls Test der Adhäsion an PC von Filmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung .....	202
Tabelle 6.3-19: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse (Wasserfestigkeit).....	203
Tabelle 6.3-20: Student Newman Keuls Test (Wasserfestigkeit).....	203
Tabelle 6.3-21: Äquivalenzprüfung der Freisetzungsraten in Anlehnung an SUPAC-SS (FDA Guidance for Industry, 2004).....	204
Tabelle 6.3-22: Äquivalenzprüfung der lag-Zeiten in Anlehnung an SUPAC-SS (FDA Guidance for Industry, 2004) .....	204
Tabelle 6.3-23: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung; Freisetzungsraten.....	205
Tabelle 6.3-24: Student Newman Keuls Test; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung; Freisetzungsraten.....	205
Tabelle 6.3-25: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung; lag-Phase .....	206
Tabelle 6.3-26: Student Newman Keuls Test; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung; lag-Phase .....	206
Tabelle 6.3-27: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung; Freisetzungsraten .....	207
Tabelle 6.3-28: Student Newman Keuls Test; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung; Freisetzungsraten .....	207
Tabelle 6.3-29: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung; lag-Phase.....	208
Tabelle 6.3-30: Student Newman Keuls Test; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung; lag-Phase.....	208

Tabelle 6.3-31: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher PVOH-Zusammensetzung; Freisetzungsrates.....	209
Tabelle 6.3-32: Student Newman Keuls Test; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher PVOH-Zusammensetzung; Freisetzungsrates .....	209
Tabelle 6.3-33: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher PVOH-Zusammensetzung; lag-Phase .....	210
Tabelle 6.3-34: Student Newman Keuls Test; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher PVOH-Zusammensetzung; lag-Phase .....	210
Tabelle 6.3-35: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; HNC mit verschiedenem NVA-Gehalt und einem Emulsionsfilm.....	211
Tabelle 6.3-36: Student Newman Keuls Test; HNC mit verschiedenem NVA-Gehalt und einem Emulsionsfilm .....	211
Tabelle 6.3-37: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung und HNC 0,1 %.....	212
Tabelle 6.3-38: Student Newman Keuls Test; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung und HNC 0,1 %.....	212
Tabelle 6.3-39: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung und HNC 0,1 % .....	213
Tabelle 6.3-40: Student Newman Keuls Test; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung und HNC 0,1 % .....	213
Tabelle 6.3-41: Äquivalenzprüfung der Permeationsraten in Anlehnung an SUPAC-SS (FDA Guidance for Industry, 2004) .....	214

## Abkürzungsverzeichnis

bzw.	beziehungsweise
c. a.	circa
cm	Zentimeter
d10	Teilchengröße, unter der 10 % (V/V) der Teilchen liegen
d50	Teilchengröße, unter der 50 % (V/V) der Teilchen liegen
d90	Teilchengröße, unter der 90 % (V/V) der Teilchen liegen
DEBT	Diethylbutamidotriazon
DBS	Dibutylsebacat
d. h.	das heißt
g	Gramm
h	Stunde
HNC	Hydrophile Nonivamid Creme
HPMC	Hypromellose
k. A.	keine Angaben
KI	Konfidenzintervall
l	Liter
lt.	laut
LTS	Lacktrockensubstanz
MCT	Mittelkettige Triglyceride
mg	Milligramm
min	Minuten
mL	Milliliter
m/m	Masse pro Masse
m/V	Masse pro Volumen
mN/m	Millinewton pro Meter
NaCMC	Natriumcarboxymethylcellulose
nm	Nanometer
NVA	Nonivamid
Pas	Pascalsekunde
pH	dekadischer Logarithmus der $H_3O^+$ -Konzentration*-1
PS 80	Polysorbat 80
PVOH	Polyvinylalkohol

PVP	Polyvinylpyrrolidon
s	Sekunden
t	Zeit
Tg	Glasübergangstemperatur
TEC	Triethylcitrat
u. U.	unter Umständen
v. a.	vor allem
vgl.	vergleiche
$V_k$	Verteilungskoeffizient
vs.	versus
V/V	Volumen pro Volumen
z. B.	zum Beispiel

# 1 Einleitung und allgemeine Grundlagen

## 1.1 Einleitung und Zielsetzung

Chronischer Juckreiz ist ein unter Erwerbstätigen häufig vorkommendes Phänomen: 17 % der Befragten einer Studie von Schäfer et al. litten unter Juckreiz, davon 25 bzw. 50 % seit mehr als einem oder mehr als 5 Jahren. Die Prävalenz ist bei Personen mit hellem Hauttyp erhöht und nimmt im Alter zu, Frauen und Männer sind gleichermaßen betroffen. Juckreiz tritt vor allem in Kombination mit Grunderkrankungen der Haut wie z. B. atopischer Dermatitis oder Psoriasis auf und kann zum Teil nur schwer behandelt werden. Für den Einzelnen kann diese Empfindung sehr belastend sein (11 %). Personen die häufig oder ständig von Juckreiz betroffen sind, empfinden ihn auch intensiver. Die Untersuchungen zeigen außerdem, dass Betroffene nur selten einen Arzt konsultieren (47 %), es ist demnach von einer Unterversorgung dieser Personengruppen mit den benötigten Arzneimittel auszugehen (Schäfer, et al. 2009).

Generell können die peripheren Gewebe der Haut, Hornhaut und die Schleimhäute Juckreiz empfinden. In der Haut werden sowohl Epidermis als auch Dermis und subkutane Fettgewebe von sensorischen Fasern innerviert. Dennoch scheinen sich die sensorischen Nerven, die für den Juckreiz verantwortlich sind in einem begrenzten Gebiet zu befinden. So sind an der Juckreiz-, wie auch Schmerzentscheidung in der Haut A $\delta$ - und C-Fasern beteiligt. Immunohistochemische Untersuchungen zeigen, dass deren freie Nervenendigungen in die gesunde Epidermis hineinreichen und bei vielen mit Juckreiz verbundenen Hauterkrankungen wie z. B. atopischer Dermatitis bis in die obere Epidermis verlängert sind. Dies kann ein Grund dafür sein, dass das Gefühl des Juckreizes bei diesen Erkrankungen verstärkt wahrgenommen wird (Ikoma 2010).

Histamin ist seit langem bekannt als eines der wichtigsten Pruritogene. Die Freigabe von Histamin aus Mastzellen in der oberen Dermis führt zu Urticaria, die charakterisiert ist durch Quaddelbildung, Rötung und Juckreiz. Histamin aktiviert dabei mechano-insensitive C-Fasern, die auch durch Capsaicinoide und andere Schmerzmediatoren aktiviert werden können. Histamin-induzierter Juckreiz geht immer mit einer Rötung einher. Da es aber auch Juckreiz ohne Rötung gibt, muss ein weiterer Signalübertragungsweg vorhanden sein. So scheint es eine Subpopulation von Capsaicin-sensitiven Neuronen zu geben, die an dieser Form des Juckreizes beteiligt zu sein scheinen. Eine wichtige Rolle spielt dabei der TRPV1 (transient receptor

potential type 1), der auf zentralen und peripheren Neuronen exprimiert wird. In der Haut kommt TRPV1 auf sensorischen C-Fasern und A $\delta$ -Fasern vor. Verschiedene Stimuli, wie Hitze, geringer pH-Wert, Leukotrien B4 und endogenes Capsaicin können ihn aktivieren. TRP-Rezeptoren sind nichtselektive Kationen-Kanäle, die nach Bindung eines Liganden öffnen. Der Kationeneinstrom führt zur Depolarisation und Weiterleitung von Schmerz oder Juckreiz. Die Therapie des chronischen Juckreizes mit Capsaicinoiden beruht daher auf einer Dauerstimulation des TRPV1, die einerseits zu einer Desensibilisierung des Rezeptors führt, andererseits zu einer Defunktionalisierung der Nervenzellen und somit die Reizweiterleitung stört. Aufgrund der Freisetzung von Substanz P, CGRP und anderer vasodilatativer Neuropeptide wird die chronische Capsaicinoidtherapie in den ersten Tagen von einem brennenden Gefühl, einer neurogenen Inflammation und einem Ödem begleitet. Nach dieser Initialphase werden Juckreiz und Schmerz effektiv unterdrückt (Anand und Bley 2011; Ikoma 2010; Ständer und Luger 2010).

Trotz der guten Wirksamkeit der Capsaicinoide gibt es bis zum heutigen Tag keine capsaicinoidhaltige topische Zubereitung, die zur Therapie des chronischen Juckreizes zugelassen ist. Die zur Schmerzbehandlung zugelassenen capsaicinoidhaltigen Topika, können nur „off-label“ zur Juckreizbehandlung verwendet werden. Eine weitere Option stellt die Hydrophile Capsaicinoid Creme 0,025 %/0,05 %/0,1 % NRF 11.125 (Neues Rezeptur Formularium, 2010) dar, die für jeden Patienten individuell in der Offizin angefertigt werden kann. Es ist dabei von Vorteil, dass die Arzneistoffkonzentration an den Bedarf des Patienten angepasst werden kann. Ein großer Nachteil besteht hingegen darin, dass sie mehrmals täglich aufgetragen werden muss, was mit einer Kontamination der Umgebung des Patienten (Kleidung, Kontaktlinsen etc.) einhergeht. Außerdem kann jede Applikation mit einem brennenden Gefühl verbunden sein und es wird oftmals eine geringe Therapietreue als Grund für eine geringe Wirksamkeit angegeben (Anand und Bley 2011).

Zur Schmerztherapie sind hingegen verschiedene topische halbfeste Formulierungen sowie ein Capsaicinoidhaltiges Pflaster (Qutenza<sup>®</sup> 179 mg kutanes Pflaster) zugelassen. Das Pflaster besitzt einen sehr hohen Capsaicinoidgehalt (8%) und muss unter ärztlicher Aufsicht für kurze Zeit (30-60min) appliziert werden. In dieser Zeit wird entsprechend eines „burst-release“ eine hohe Menge Capsaicin an die Haut abgegeben, die sich im Stratum corneum anreichert und von dort an die tiefer liegenden

Hautschichten innerhalb eines Zeitraums von 90 Tagen weitergegeben wird (Anand und Bley 2011).

Der Vorteil eines Pflasters besteht darin, dass es nur einmal aufgeklebt werden muss und eine Kontamination der Umgebung vermindert, sowie die Wirkungsdauer verlängert wird. Nachteilig ist hingegen zu bewerten, dass die Applikation des Pflasters aufgrund der hohen initialen Dosis sehr schmerzhaft ist. Das Pflaster kann daher nur unter Aufsicht eines Arztes und nach vorheriger Behandlung der Applikationsstelle mit einem Lokalanästhetikum angewendet werden. Einen weiteren Nachteil stellt die geringe Fläche dar, die mit einem Pflaster therapiert werden kann.

Um die Vorteile beider Systeme zu vereinen und gleichzeitig die Nachteile zu minimieren sollen in der vorliegenden Arbeit filmbildende Emulsionen mit retardierter Wirkstofffreigabe entwickelt und evaluiert werden. Diese filmbildenden Emulsionen stellen ein halbfestes System dar, das leicht auch auf größere Hautbereiche aufgetragen werden kann. Sie bilden auf der Haut anschließend einen zusammenhängenden Film aus, der zum einen für den Verbleib der Arzneiform auf der Haut und zum anderen für eine verzögerte Freigabe des Arzneistoffs sorgt. Dadurch wird das Applikationsintervall verlängert, die Kontamination der Umgebung verringert und infolge dessen können Therapietreue und Wirksamkeit erhöht werden.

Die filmbildenden Emulsionen, die in dieser Arbeit untersucht werden, stellen Öl-in-Wasser-Emulsionen dar, die in der dispergierten Phase den öllöslichen Wirkstoff Nonivamid enthalten. Zur Stabilisierung der Emulsionen werden wasserlösliche Polymeremulgatoren eingesetzt. Neben der Stabilisierung der Emulsionströpfchen durch die Bildung eines Grenzflächenfilms besitzen diese den zusätzlichen Vorteil, dass sie den Emulsionen eine höhere Viskosität verleihen, wodurch diese zusätzlich vor Koaleszens geschützt und leichter zu applizieren sind (Kutz, et al. 2011). Um eine gewisse Substantivität und eine retardierte Freigabe des Wirkstoffs zu erzielen, werden den Emulsionen zusätzlich zu den wasserlöslichen Polymeren auch unlösliche, so genannte Retardpolymere zugesetzt. Dabei muss besonders darauf geachtet werden, dass es in dem komplexen Vielstoffgemisch nicht zu Inkompatibilitäten zwischen den vielfältigen Rezepturbestandteilen kommt.

Bei der Evaluation der erhaltenen Systeme sind zum einen die Eigenschaften der Emulsionen, allen voran deren Stabilität, als auch die Eigenschaften der aus ihnen hergestellten Emulsionsfilme, wie z. B. Dehnbarkeit und Adhäsion zu optimieren, da sie die Substantivität der Emulsionsfilme während der Anwendung durch den Patienten

maßgeblich beeinflussen. Ein weiterer Schwerpunkt muss bei der Sicherstellung der retardierten Freigabe des Wirkstoffs gesetzt werden. Hier ist besonderes Augenmerk darauf zu richten, welche Möglichkeiten zur Verfügung stehen, die Freigabe und Permeation des Arzneistoffs zu beeinflussen. Zuletzt muss sichergestellt werden, dass der Arzneistoff in genügender Menge an seinem eigentlichen Wirkort, der Epidermis vorliegt.

Um den Erfolg der Maßnahmen bewerten zu können, werden die Eigenschaften der filmbildenden Emulsionen mit denen der Hydrophilen Capsaicinoid Creme NRF 11.125 (Neues Rezeptur Formularium, 2010) verglichen.



## 1.2 Allgemeine Grundlagen

### 1.2.1 Die Haut als Applikationsort für Arzneistoffe

Die Haut ist das größte menschliche Organ. Neben ihrer Hauptaufgabe, dem Schutz des menschlichen Körpers vor schädlichen Umwelteinflüssen, nimmt sie auch eine wichtige Funktion in der Regelung der Körpertemperatur, sowie bei der Wahrnehmung von Sinnesreizen ein. Maßgeblich verantwortlich für die Barrierefunktion der Haut ist das Stratum corneum (Proksch, et al. 2008), welches aus nicht lebenden, verhornten Zellen besteht (Corneozyten), die eingebettet sind in eine Lipidmatrix bestehend aus Ceramiden, Cholesterol, Cholesterolestern und freien Fettsäuren (Forslind, et al. 1997). Die klassische Vorstellung vom Aufbau des Stratum corneums, das „Ziegelstein-Mörtel-Prinzip“ (Elias 1983) musste in neuerer Zeit erweitert werden um z. B. die hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber mechanischem Stress erklären zu können. So ist inzwischen bekannt, dass die Corneozyten über hakenähnliche Strukturen (sog. hooks) verfügen mit denen sie sich ineinander verhaken und dass die Corneozyten durch Corneodesmosomen verbunden sind, welche einer lateralen Verschiebung der Zellen zueinander entgegenstehen (Forslind, et al. 1997; Neubert 2010; Proksch, et al. 2008). An das Stratum corneum schließen sich Stratum lucidum, Stratum granulosum, Stratum spinosum und Stratum basale an. Die Zellen der Basalschicht sind für das Nachbilden der Hautzellen verantwortlich. Wodurch sich die menschliche Haut im Laufe von 45-75 Tagen vollständig erneuert. Die Basalmembran bildet die Verbindung zwischen Epidermis und Dermis. Letztere setzt sich aus Kollagen, eingebettet in einer amorphen Grundsubstanz aus Mucopolysacchariden sowie Fettzellen, Zellen des Immunsystems (Mastzellen, Makrophagen), Blutgefäßen, Nerven und Lymphgefäßen zusammen. Ebenso sind Schweißdrüsen, Talgdrüsen und Haarfollikel in ihr verankert. Die Subcutis schließlich besteht hauptsächlich aus Fett- und Bindegewebe und beinhaltet außerdem größere Blutgefäße und Nerven.

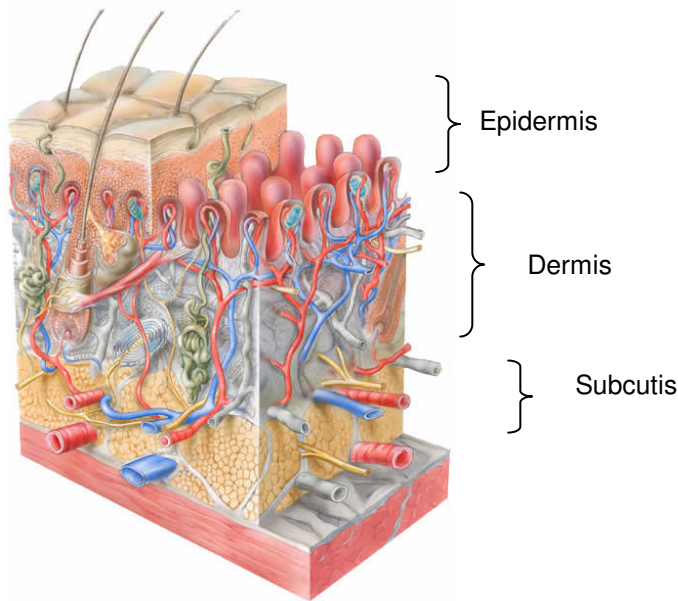


Abbildung 1.2-1: schematischer Aufbau der Haut (Skin Care Forum, 2001)

Der menschlichen Haut sehr ähnlich ist die Haut des Schweins. Sie ähneln sich bezüglich Behaarung und Textur. Der Quotient von Hautfläche zu Körpergewicht entspricht sehr gut den Gegebenheiten beim Menschen, was für die meisten kleineren Labortiere nicht gegeben ist. Dadurch sind an Schweinehaut gewonnene Ergebnisse bezüglich der Arzneistoffaufnahme sehr gut auf den Menschen übertragbar. Die Verwendung von Schweinehaut als Surrogat für Humanhaut in perkutanen Absorptionsstudien ist daher auch ausführlich untersucht und validiert worden. Für die meisten untersuchten Arzneistoffe ist die Absorption durch Schweinehaut der durch Humanhaut sehr ähnlich. Die Permeationsraten liegen hier im Bereich von 50-150 % bezogen auf die Permeationsraten durch Humanhaut. Schweinehaut eignet sich somit besonders gut als Surrogat für Humanhaut vor allem wenn man bedenkt, dass die Permeationsraten durch Nagelhaut sich von den Permeationsraten durch Humanhaut zum Teil um mehrere Zehnerpotenzen unterscheiden (Monteiro-Riviere, et al. 2008). Allerdings ergeben sich auch innerhalb einer Tierart Unterschiede in Abhängigkeit von Alter, Zustand und Vorgeschichte des Spendertiers. Die in Permeations- und Penetrationsuntersuchungen an Haut gewonnenen Ergebnisse unterliegen somit zwangsläufig einer höheren Variabilität als z. B. Freisetzungsuntersuchungen, die mit Hilfe synthetischer Membranen durchgeführt werden. In dieser Arbeit wird ausschließlich unverletzte Haut von den Ohren des Schweins der deutschen Landrasse verwendet.

### 1.2.1.1 Transdermaler Arzneistofftransport

Bei der perkutanen Stoffaufnahme wird zwischen den Begriffen Penetration, Permeation und Absorption unterschieden. Unter Penetration wird das Eindringen der Substanz in die Haut verstanden. Wie tief die Substanz penetriert hängt von ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften ab. Penetriert ein Stoff so tief in die Haut, dass er die in tieferen Hautschichten befindlichen Blut- oder Lymphgefäße erreicht und systemisch aufgenommen werden kann, so wird von Absorption gesprochen. In in-vitro Untersuchungen an exzidierte Haut wird von Permeation gesprochen, sobald der Arzneistoff den gesamten Querschnitt der Haut durchquert hat und im Rezeptormedium nachweisbar wird.

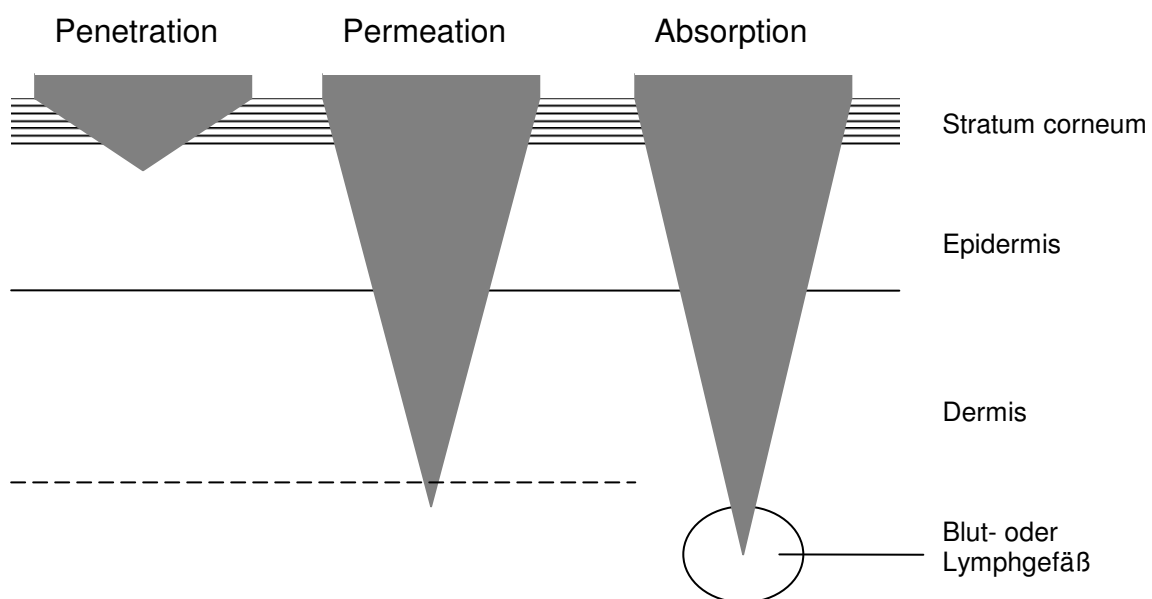


Abbildung 1.2-2: Schematische Darstellung der Substanzaufnahme durch die Haut

Durch den Aufbau der Haut stehen Arzneistoffen prinzipiell vier Wege der Absorption zur Verfügung. Der transepidermale Weg, der sich weiter unterteilen lässt in den interzellulären Weg über die Lipidschicht zwischen den Corneozyten und den transzellulären Weg, also durch die Corneozyten, sowie transglanduläre oder transfollikuläre Wege über Talgdrüsen oder Haarfollikel.

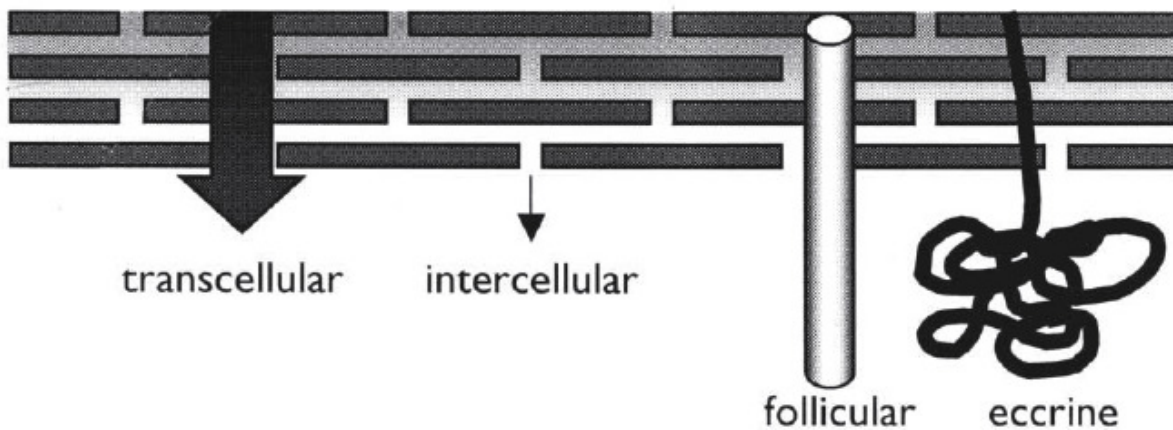


Abbildung 1.2-3: Schematische Darstellung möglicher Penetrationsrouten durch die Haut (Hadgraft 2001)

Der Interzelluläre Weg wird vor allem von lipophilen Arzneistoffen bevorzugt, während hydrophile Arzneistoffe bevorzugt die transzelluläre Route einschlagen (Freudiger, et al. 2008). Egal welchen der beiden transepidermalen Wege Arzneistoffe einschlagen, die Penetration geht sehr langsam vonstatten. Gründe hierfür sind die Gewundenheit der interzellulären Route, sowie der niedrige Diffusionskoeffizient in den Lipidschichten des Stratum corneum und die wiederholte Verteilung zwischen Lipid und Protein im Falle des transzellulären Wegs (Hadgraft 2001). Gerade aufgrund der Tatsache, dass der Arzneistoff abwechselnd durch hydrophile und lipophile Schichten diffundieren muss, erscheint der transzelluläre Weg äußerst unwahrscheinlich. Es ist allerdings für hydrophile Stoffe denkbar, dass diese über die Corneodesmosomen, welche die Zellen des Stratum corneum miteinander verbinden in die Haut penetrieren (Neubert und Wepf 2007). Eine Penetration über die Haarfollikel konnte inzwischen sowohl für hydrophile und makromolekulare Stoffe, als auch für partikuläre Systeme gezeigt werden (Knorr, et al. 2009). Durch ekkrine Drüsen können Arzneistoffe nicht nur in den Körper aufgenommen sondern auch intravenös verabreichte Stoffe ausgeschieden werden (Dancik, et al. 2008).

### 1.2.1.2 Einflussfaktoren auf die dermale Absorption von Arzneistoffen

Pharmakologisch aktive Substanzen werden in der Regel nicht alleine auf die Haut aufgetragen sondern liegen in einem Vehikel gelöst oder suspendiert vor. Daher ist leicht zu verstehen, dass nicht nur die physikochemischen Eigenschaften des zu absorbierenden Stoffs sondern auch die des Vehikels die Arzneistoffaufnahme beeinflussen. Zusätzlich kann das Vehikel und/oder der Arzneistoff die Barrierefunktion

der Haut beeinflussen, was wiederum eine veränderte Penetration und/oder Permeation nach sich zieht.

Betrachtet man als erstes den Arzneistoff selbst, so zeigt sich, dass in aller Regel eine erhöhte Arzneistoffkonzentration im Vehikel zu einer erhöhten Permeationsrate führt. Dies lässt sich durch die Erhöhung der thermodynamischen Aktivität erklären. Diese steigt mit der Konzentration bis zur Sättigungslöslichkeit an. Eine Erhöhung der Arzneistoffkonzentration über die Sättigungslöslichkeit hinaus führt daher nur dann zu einer weiteren Erhöhung der Permeationsrate wenn Übersättigung auftritt (Hadgraft 2001). Dies lässt sich anhand Gleichung 1.2-1 herleiten (Bach und Lippold 1998).

$$J = \frac{D_B C_{sB}}{d_B} \frac{c_V}{c_{sV}} \quad \text{Gleichung 1.2-1}$$

J = Permeationsrate

$D_B$  = Diffusionskoeffizient des Arzneistoffs im Stratum corneum

$c_{sB}$  = Sättigungslöslichkeit des Arzneistoffs im Stratum corneum

$d_B$  = Dicke des Stratum corneum

$c_V$  = Konzentration des gelösten Arzneistoffs im Vehikel

$c_{sV}$  = Sättigungskonzentration des Arzneistoffs im Vehikel

Ist die Arzneistoffkonzentration im Vehikel gleich der Sättigungskonzentration so wird der Term  $c_V/c_{sV} = 1$  und die Permeationsrate erreicht ihr theoretisches Maximum.

Ebenso kann an Gleichung 1.2-1 erklärt werden, dass z. B. durch Erhöhung der Löslichkeit des Arzneistoffs im Vehikel bei gleich bleibender Konzentration die Permeationsrate sinken muss.

Cremes und Salben werden üblicherweise als dünne Filme auf die Haut aufgetragen. Unter diesen Bedingungen kann es während des Applikationszeitraumes zu einer Verarmung an Arzneistoff in der Formulierung kommen. Diese Verarmung geht mit einer verminderten thermodynamischen Aktivität einher und führt so zu einer kontinuierlichen Verringerung der Permeationsrate. Auch unterliegt die Formulierung Veränderungen auf der Haut z. B. durch Verdunstung von Wasser oder mechanische Belastungen. Die Verdunstung von Wasser führt zur Bildung eines lipophileren Vehikels, in dem die thermodynamische Aktivität des Arzneistoffs und das veränderte Phasenvolumenverhältnis die Permeationsrate verändern (Schaefer, et al. 2008).

Die Geschwindigkeit der Permeation eines Arzneistoffs kann einerseits limitiert werden durch seine Diffusion und Freigabe aus dem Vehikel und andererseits durch die

Diffusion durch die Haut selbst. Die größte Barriere stellt dabei das Stratum corneum mit seinen dicht gepackten verhornten Zellen und der sie umgebenden Lipidschicht dar, die durch ihren besonderen Aufbau die Diffusion der meisten Stoffe erschwert. Ebenso, wie durch eine geschickte Zusammensetzung der Formulierung Einfluss auf die Permeationsgeschwindigkeit genommen werden kann, wenn das Vehikel den limitierenden Faktor darstellt, kann auch durch geeignete Zusätze zur Formulierung Einfluss auf die Permeationsgeschwindigkeit durch die Haut genommen werden. Da zumeist die Durchquerung des Stratum corneum den langsamsten Schritt der Permeation darstellt, zielt der Einsatz solcher Stoffe darauf die Diffusion des Arzneistoffs durch das Stratum corneum zu beschleunigen. Die darunter liegenden Hautschichten bleiben meist unbeeinflusst. Dementsprechend werden solche Stoffe als Penetrationsverbesserer oder -beschleuniger bezeichnet. Eine beschleunigte Penetration zieht in der Regel aber auch eine gesteigerte Permeation und höhere Permeationsraten nach sich.

Penetrationsverbesserung oder -beschleunigung kann auf verschiedenen Wegen erreicht werden. Stoffe, die die rigide Struktur der Lipide des Stratum corneums aufzubrechen vermögen, erhöhen den Diffusionskoeffizient des Arzneistoffs in der Barriere und erleichtern den Übertritt aus dem Vehikel in die Haut. Hydrophile Moleküle werden dabei über Wasserstoffbrückenbindungen an die polaren Kopfgruppen der SC-Lipide gebunden und/oder sie erhöhen die Menge des vorhandenen Bulkwassers in den Doppelschichten. Lipophile Stoffe hingegen führen eine Fluidisierung der SC-Lipide herbei (Hadgraft 2001; Schaefer, et al. 2008).

Der einfachste Penetrationsverbesserer ist Wasser. Dies kann in der Therapie ausgenutzt werden indem man Okklusionsbedingungen herbeiführt. Diese führen zu einer verstärkten Hydratation der Haut und in Folge dessen auch zur Penetrationsverbesserung (Frömder und Lippold 1993).

Stoffe wie z. B. Fettalkohole (Octyldodecanol) und Fettsäuren (Ölsäure) ebenso wie Tenside (Natriumlaurylsulfat oder Sucroseester) oder Terpene (Menthol, Carvon, Limonen) können die Fluidität der Lipide im Stratum corneum erhöhen und so die Permeationsrate erhöhen. Die entstehenden Defekte im strukturellen Aufbau der Lipide sind verantwortlich für die Bildung von freien beweglichen Bereichen (so genannten kinks), in denen kleine Moleküle permeieren können. Sowohl die Permeation durch die Lipide, als auch die Permeation durch die hydratisierten Kopfgruppen wird beschleunigt (Schaefer, et al. 2008; Suhonen, et al. 1999; Valenta und Auner 2004).

Von manchen Arzneistoffen (z. B. Corticoiden) ist zudem bekannt, dass sie ein Reservoir in der Haut aufbauen. Das bedeutet, dass sich im Stratum corneum oder in den lebenden Hautschichten Arzneistoff aufkonzentriert. Diese Reservoirbildung in den oberen Hautschichten hat eine verzögerte Weitergabe des Arzneistoffs an darunter liegende Gewebe und damit u. U. auch einen verzögerten Wirkungseintritt zur Folge. Die Fähigkeit eines Arzneistoffs ein Reservoir in der Haut auszubilden, hängt von seinem Diffusionskoeffizienten im Stratum corneum, der Arzneistoffmenge im Stratum corneum und dem Abtransport aus den lebenden Schichten der Epidermis ab. Bei langsamer Diffusion und kurzer Applikationszeit wird nicht genügend Arzneistoff im Stratum corneum vorhanden sein um ein Reservoir zu bilden. Da die Arzneistoffmenge im Stratum corneum abhängig vom Verteilungskoeffizienten zwischen Formulierung und Stratum corneum ist, gilt für wässrige Formulierungen, dass lipophile Arzneistoffe stärker zur Ausbildung eines Reservoirs in der Haut tendieren als hydrophile. Auch eine verstärkte Hydratation der Haut, z. B. durch ein okkludierendes Vehikel kann zur Reservoirbildung beitragen (Bronaugh 2008; Roberts, et al. 2005).

Es ist daher von großer Wichtigkeit, den Effekt des Vehikels auf die Penetration und Permeation des Arzneistoffs zu untersuchen. Da durch die Wahl des Vehikels großer Einfluss auf die Diffusionsgeschwindigkeit und die absorbierte Arzneistoffmenge genommen werden kann. Sind die Einflussgrößen bekannt, so kann durch geeignete Zusammensetzung des Vehikels die gewünschte Arzneistoffabsorption und damit auch die gewünschte Wirkung erzielt werden.

### 1.2.1.3 Pharmakokinetik topisch applizierter Substanzen

Im Allgemeinen wird davon ausgegangen, dass die Überwindung des Stratum corneums den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der perkutanen Penetration darstellt. Nimmt man an, dass der Transport durch das Stratum corneum vorwiegend der Diffusion durch eine homogene Matrix entspricht, kann näherungsweise von der Gültigkeit des 1. Fick'schen Diffusionsgesetzes ausgegangen werden (Potts und Guy 1992). Zur Beschreibung der Permeation eines Arzneistoffs im steady state werden üblicherweise die Parameter  $J_{ss}$  (Flux=Permeationsrate im steady state),  $k_p$  (Permeationskoeffizient im SC) und  $t_{lag}$  (Zeit bis zur Überwindung des SC) herangezogen. Es ergibt sich, abgeleitet aus dem Fick'schen Gesetz Gleichung 1.2-2 (Dancik, et al. 2008):

$$J_{ss} = \frac{Q}{A(t - t_{lag})} = \frac{D_{sc} \Delta c_{sc}}{h_{sc}} \quad \text{Gleichung 1.2-2}$$

- $J_{ss}$  = Flux = Permeationsrate im steady-state
- $Q$  = Permeierte Menge
- $A$  = Diffusionsfläche
- $t$  = Zeit
- $t_{lag}$  = Zeit bis zum Durchqueren des Stratum corneum
- $D_{sc}$  = Diffusionskoeffizient im Stratum corneum
- $\Delta c_{sc}$  = Konzentrationsgradient im Stratum corneum
- $h_{sc}$  = Dicke des Stratum corneum

Geht man von perfekten sink-Bedingungen aus und setzt die Arzneistoffkonzentration über den Verteilungskoeffizienten mit der Konzentration im Stratum corneum in Beziehung, so erhält man Gleichung 1.2-3 (Dancik, et al. 2008):

$$J_{ss} = \frac{K_{sc} D_{sc} c_v}{h_{sc}} = k_p c_v \quad \text{Gleichung 1.2-3}$$

- $K_{sc}$  = Verteilungskoeffizient
- $c_v$  = Arzneistoffkonzentration im Vehikel
- $k_p$  = Permeabilitätskoeffizient im steady-state



Danach ist die Permeationsrate direkt proportional zum Verteilungskoeffizienten der Substanz und dem Diffusionskoeffizienten im Stratum corneum und umgekehrt proportional zur Dicke der Membran.

Stellt allerdings die diffusionskontrollierte Freigabe aus halbfesten Zubereitungen den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt dar, so lässt sich folgender Zusammenhang aufstellen (Roberts und Anissimov 2005):

$$Q(t) = 2M_0 \left( \frac{t}{\pi t_{dv}} \right)^{1/2} = 2C_{v0} V_v \left( \frac{t D_v}{\pi h_v^2} \right)^{1/2} \quad \text{Gleichung 1.2-4}$$

$Q(t)$  = permeierte Menge Arzneistoff zum Zeitpunkt  $t$

$M_0$  = im Vehikel vorhandene Arzneistoffmenge zum Zeitpunkt 0

$t$  = Zeit

$t_{dv}$  = Diffusionszeit des Arzneistoffs im Vehikel

$C_{v0}$  = initiale Arzneistoffkonzentration im Vehikel

$V_v$  = Volumen des Vehikels

$D_v$  = Diffusionskoeffizient des Arzneistoffs im Vehikel

$h_v$  = effektive Höhe des Vehikels

Dieser Zusammenhang gilt zu vergleichsweise kurzen Permeationszeiten, d. h. bei Freigabe von maximal 30 % des Arzneistoffs. Die permeierte Arzneistoffmenge ist dabei abhängig von der im Donorkompartiment aufgegebenen Arzneistoffmenge, sowie vom Volumen der Zubereitung und der Diffusionsgeschwindigkeit des Arzneistoffs im Vehikel und ist proportional zur Quadratwurzel der Zeit. Da hier die Diffusion des Arzneistoffs durch die Zubereitung den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt darstellt, bleibt die Diffusionsgeschwindigkeit in der Membran unberücksichtigt.

Higuchi (1961) beschreibt die diffusionskontrollierte Freigabe suspendierter Arzneistoffe aus halbfesten Zubereitungen folgendermaßen:

$$Q = (2A - C_s) \sqrt{\frac{DtC_s}{2A - C_s}} = \sqrt{Dt(2A - C_s)C_s} \quad \text{Gleichung 1.2-5}$$

Q = Absorbierte Arzneistoffmenge pro Fläche zum Zeitpunkt t

A = Arzneistoffkonzentration

C<sub>s</sub> = Sättigungslöslichkeit des Arzneistoffs in der äußeren Phase

D = Diffusionskoeffizient in der äußeren Phase

Diese Beziehung ist aus dem 1. Fick'schen Diffusionsgesetz abgeleitet und bezieht das Voranschreiten der Diffusionsstrecke als Funktion der Zeit ein. Zu ihrer Gültigkeit müssen verschiedene Voraussetzungen erfüllt sein:

- 1) die suspendierten Partikel sind deutlich kleiner als die Schichtdicke der applizierten Formulierung
- 2) die Arzneistoffkonzentration ist deutlich höher als die Sättigungskonzentration in der Außenphase
- 3) die Oberfläche auf welche die Zubereitung aufgetragen wird ist nicht mischbar mit selbiger und bietet perfekte sink-Bedingungen (Konzentration zu jedem Zeitpunkt < 10 % Sättigungskonzentration) für den freigegebenen Arzneistoff.

Dann kann die Permeationsrate limitiert werden durch:

- a) den Abtransport des Arzneistoffs nach der Membranpassage
- b) die Passage durch die Membran
- c) die Freigabe aus der Zubereitung selbst

Sofern die Bedingungen a) oder b) zutreffen, bestimmt allein die thermodynamische Aktivität die Permeationsrate, während im letzteren Fall davon auszugehen ist, dass die Oberfläche, auf welche die Zubereitung aufgebracht wurde perfekte sink-Bedingungen für den Arzneistoff bereitstellt (Higuchi 1961; Higuchi 1962).

Die Higuchi-Beziehung wird inzwischen nicht nur zur Beschreibung der Freigabe von Arzneistoffen aus Suspensionssalben sondern vor allem für Polymermatrizes verwendet (Crowley, et al. 2004; Ford, et al. 1985; Paul 2011).

#### 1.2.1.4 In-vitro Untersuchung der Arzneistoffaufnahme über die Haut

In frühen Entwicklungsstadien halbfester Zubereitungen ist oftmals die Testung einer Vielzahl verschiedener Zubereitungen notwendig, um die Machbarkeit und Beeinflussbarkeit der gewünschten Permeationskinetik zu untersuchen. Da dies einer Untersuchung der Arzneistoffaufnahme am Patienten entgegensteht, wurden in-vitro Untersuchungsmethoden an exzidierte Haut entwickelt. Eines der meistverwendeten Systeme stellt die Franz Diffusions Zelle dar. Sie wurde 1975 von Thomas Franz entwickelt und besteht im Wesentlichen aus einem Donor- und einem Rezeptorkompartiment, zwischen welche die exzidierte Haut eingebracht wird. Das Donorkompartiment wird mit dem Vehikel befüllt, das Rezeptorkompartiment mit einer geeigneten, meist wässrigen Flüssigkeit, die eine hohe Löslichkeit für den Arzneistoff zeigt. Aus dem Rezeptorkompartiment können über einen Probenzugsarm zu selbst gewählten Zeitpunkten Proben entnommen und somit die permeierte Menge des Arzneistoffs bestimmt werden (Franz 1975).

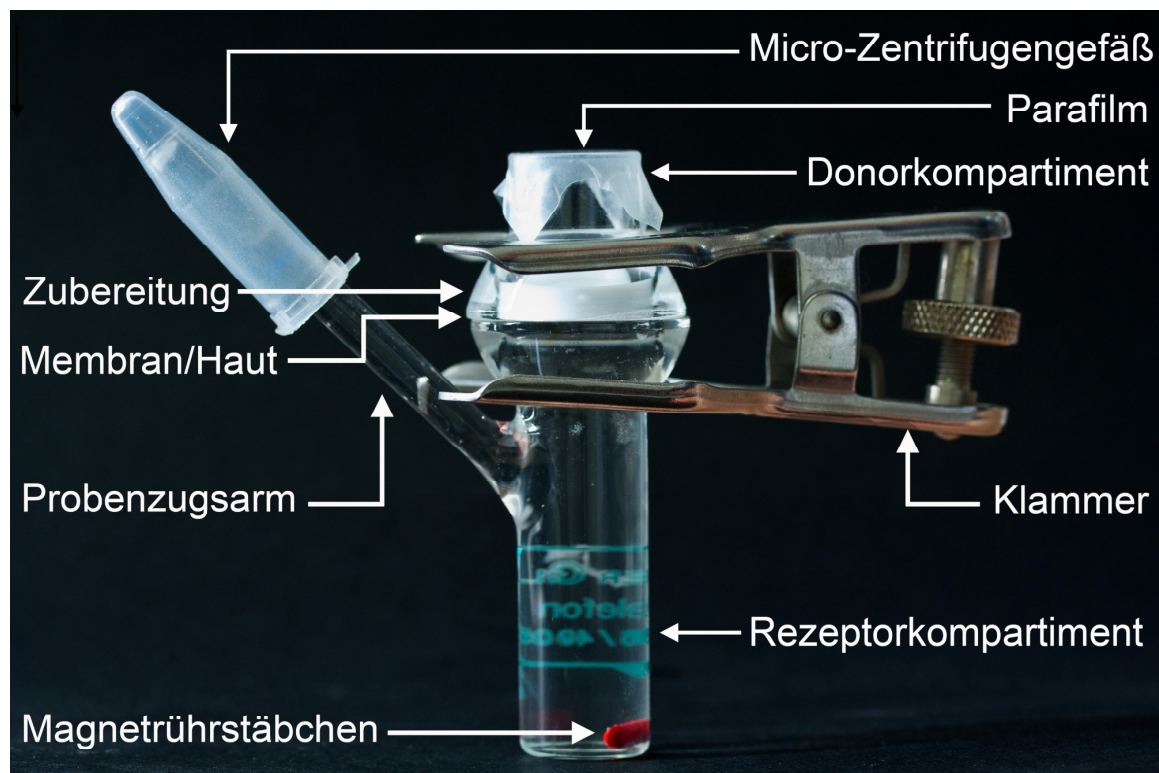


Abbildung 1.2-4: Franz Diffusions Zelle

Üblicherweise wird hierbei zwischen Untersuchungen mit infiniten und finiten Dosierung unterschieden. Bei Untersuchungen mit infiniten Dosierung wird die aufgetragene Menge Vehikel so gewählt, dass das Vehikel während des gesamten

Versuchszeitraums nicht an Arzneistoff verarmt. Die Arzneistoffkonzentration im Akzeptor wird so gering gehalten, dass stets sink-Bedingungen herrschen (Konzentration zu jedem Zeitpunkt  $<10\%$  Sättigungskonzentration). Durch die nicht endliche Arzneistoffmenge wird gewährleistet, dass über einen relativ großen Zeitraum eine gleich bleibende Permeationsgeschwindigkeit herrscht, d. h. dass ein steady-state erreicht wird. Dies erleichtert die Berechnung der Permeationsgeschwindigkeit und dadurch auch die Vergleichbarkeit verschiedener Formulierungen. Untersuchungen bei infiniten Dosierung werden daher zum Vergleich der Permeationsraten verschiedener Zubereitungen herangezogen (Franz, et al. 1993). Die applizierte Menge übersteigt allerdings die in-vivo verabreichte Menge oft bei Weitem. Um sich an die Gegebenheiten in-vivo anzunähern, werden Untersuchungen mit finiter Dosierung vorgenommen. Hier wird eine Menge der Zubereitung aufgetragen, die der durch den Patienten applizierten Menge nahe kommt, also etwa  $1-5\text{ mg/cm}^2$  (FDA Guidance for Industry, 2004). Auch ein Abwaschen der Zubereitung durch den Patienten kann simuliert werden.

In Abbildung 1.2-5 ist schematisch dargestellt, wie sich die Arzneistoffkonzentration im Akzeptorkompartiment im Verlauf der Permeationsuntersuchung verändert, wenn im Donorkompartiment eine infinite oder eine finite Arzneistoffmenge vorgelegt wurde.

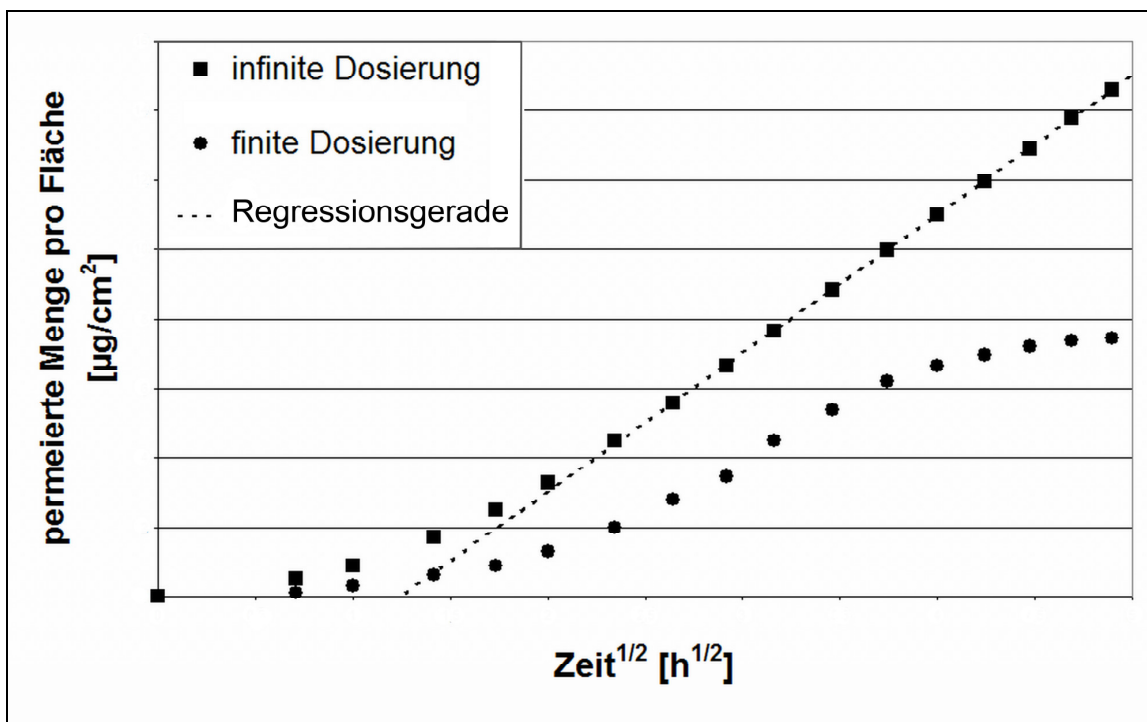


Abbildung 1.2-5: Schematische Darstellung des Konzentrationsverlaufs im Akzeptorkompartiment während in-vitro Permeationsuntersuchungen mit infiniten oder finiten Arzneistoffmengen im Donorkompartiment

Bei infiniter Dosierung erhält man nach einer gewissen Latenzzeit einen Kurvenverlauf mit maximaler Steigung, der bis zum Ende der Untersuchung beibehalten wird. Die Steigung und die Latenzzeit, die sich aus dem Schnittpunkt der Regressionsgeraden im linearen Abschnitt der Permeationskurve mit der x-Achse berechnet, können zur Charakterisierung und zum Vergleich der Permeation herangezogen werden.

Bei finiter Dosierung ist zwar auch ein Bereich mit maximaler Steigung zu erkennen, die Steigung nimmt allerdings im weiteren Verlauf der Permeationsuntersuchung immer weiter ab, da die Arzneistoffkonzentration im Vehikel im Verlauf der Untersuchung stetig sinkt. Die erreichbare Steigung und die Zeit, nach der die Permeationsgeschwindigkeit wieder abnimmt, hängt von der im Donorkompartiment aufgegebenen Arzneistoffmenge ab (Kasting 2001). Wird die Permeationskurve mit der einer Standardformulierung verglichen, so kann abgeschätzt werden, ob die Zubereitung unter Anwendungsbedingungen die gewünschte Wirkung erzielen kann (Bronaugh, et al. 2005).

Permeiert ein Arzneistoff nicht ausreichend durch die Haut, um im Akzeptorkompartiment detektiert werden zu können oder soll die Verteilung des Arzneistoffs in der Haut visualisiert werden, so werden in-vitro Penetrationsuntersuchungen durchgeführt. Auch hier können Franz-Diffusionszellen verwendet werden, es gibt allerdings auch andere Systeme, wie z. B. das Saarbrückener Penetrationsmodell (Wagner, et al. 2003) Allen gemein ist die Tatsache, dass eine bestimmte Menge der Zubereitung auf die Haut aufgetragen und eine festgelegte Zeit inkubiert wird. Nach Beendigung der Inkubation wird die Haut entnommen und segmentiert. Dabei finden zwei Methoden der Segmentierung Anwendung:

Es kann ein so genanntes Tape-stripping durchgeführt werden, bei dem das Stratum corneum mit einem einseitig haftenden Klebeband Schicht für Schicht abgenommen wird. Oder es werden Gefrierschnitte mit exakter Dicke hergestellt, den entsprechenden Hautschichten zugeordnet und gesammelt (Hahn, et al. 2010).

Die Gehaltsbestimmung erfolgt dann üblicherweise durch Herauslösen des Arzneistoffs mit Hilfe eines geeigneten Lösemittels und nachfolgender Quantifizierung mit Hilfe geeigneter Methoden z. B. HPLC mit anschließender photometrischer Detektion.

## 1.2.2 Emulsionen

Emulsionen bestehen aus zwei nicht miteinander mischbaren Flüssigkeiten, wobei eine Phase in der anderen fein verteilt vorliegt (IUPAC International Union of Pure and Applied Chemistry, 1972). Üblicherweise unterscheiden sich die beiden Phasen stark hinsichtlich ihrer Polarität. Es existiert eine eher hydrophile Phase (W), im einfachsten Fall Wasser und eine eher lipophile Phase (O), die z. B. aus Triglyceriden, Kohlenwasserstoffen, Siliconölen oder anderen Lipiden bestehen kann. Je nachdem welche Phase die Innere und welche die Äußere darstellt unterscheidet man Öl in Wasser-Emulsionen (O/W-Emulsionen) und Wasser in Öl-Emulsionen (W/O-Emulsionen). Auch multiple Emulsionen (W/O/W oder O/W/O) sind möglich. Durch die unterschiedliche Polarität der Phasen und den dispersen Charakter entsteht eine hohe Grenzflächenenergie in diesen Systemen (Gleichung 1.2-6). Somit sind Emulsionen thermodynamisch instabil. Die Tropfen der inneren Phase sind bestrebt sich zu vereinigen und dadurch die Grenzflächenenergie zu verringern. Das Tropfenwachstum durch Zusammenfließen mehrerer Tropfen wird als Koaleszens bezeichnet und endet schließlich in vollständiger Phasentrennung.

$$\Delta E = \gamma \cdot \Delta A$$

Gleichung 1.2-6

$\Delta E$  = Grenzflächenenergie [J]

$\gamma$  = Grenzflächenspannung [N/m]

$\Delta A$  = Fläche [m<sup>2</sup>]

Koaleszens ist allerdings nicht die einzige Instabilität, die während der Lagerung von Emulsionen auftreten kann. Es kann des Weiteren zu einer so genannten Flockung kommen, wobei sich mehrere Tropfen zu losen Agglomeraten zusammenfinden, die Individualität der Tropfen aber erhalten bleibt. Ebenso kann die innere Phase abhängig von ihrer relativen Dichte aufrahmen oder sedimentieren. Auch dabei wird die Distanz zwischen den individuellen Tropfen verringert. Beide Instabilitäten erhöhen so die Wahrscheinlichkeit einer Koaleszens, da die Tropfen nun enger gepackt sind und die Wahrscheinlichkeit eines Zusammentreffens erhöht ist. Daneben können auch chemische Veränderungen wie z. B. die Oxidation ungesättigter Fettsäuren und mikrobieller Verderb auftreten. (Kutz, et al. 2011)

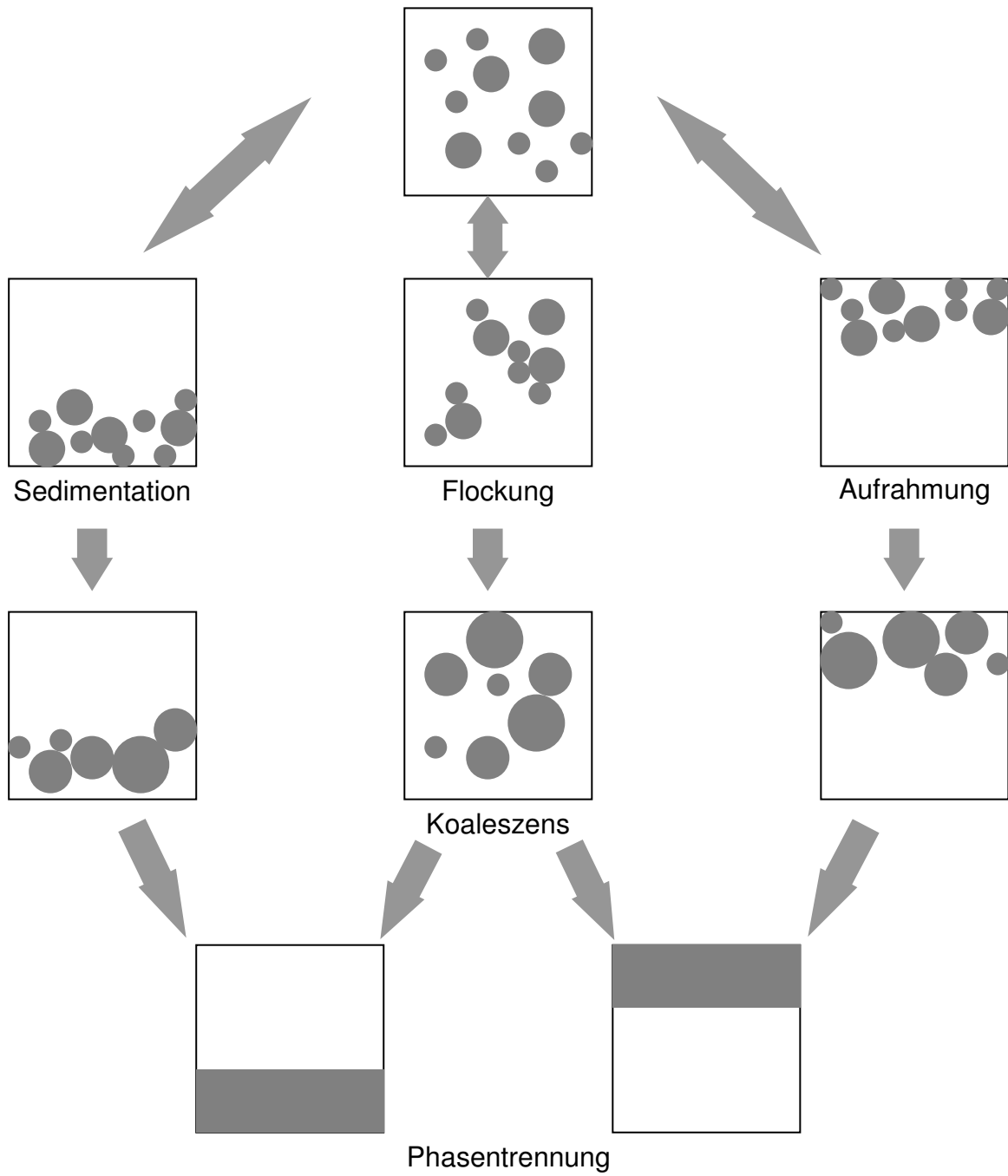


Abbildung 1.2-6: Instabilitäten von Emulsionen

### 1.2.2.1 Stabilisierung von Emulsionen

Da es sich bei Emulsionen um thermodynamisch instabile Systeme mit einer Neigung zur Phasentrennung handelt, müssen sie stabilisiert werden, um sie lagerfähig zu machen. Hierbei bieten sich Emulgatoren an. Sie senken die Grenzflächenspannung und infolge dessen die Grenzflächenenergie und verringern somit die treibende Kraft hinter der Koaleszens.

Emulgatoren werden unterschieden in klassische, echte, Feststoffemulgatoren und Quasiemulgatoren. Echte Emulgatoren reichern sich an der Grenzfläche an, senken die Grenzflächenspannung und stabilisieren Emulsionen gegen Koaleszens. Zu ihnen zählen sowohl die klassischen Emulgatoren, als auch die Polymeremulgatoren (Kutz, et al. 2011). Klassische Emulgatoren sind niedermolekulare Stoffe von amphiphilem Aufbau, wie z. B. Polysorbate oder Polyoxyethylen-Fettsäureester. Sie ordnen sich an der Grenzfläche so an, dass ihre hydrophilen Molekülteile in die Wasserphase und die lipophilen Molekülteile in die Ölphase hineinragen und bilden somit einen Grenzflächenfilm um die dispergierten Tropfen aus. Je nachdem, ob der hydrophile oder der lipophile Molekülteil überwiegt, bilden sich O/W- oder W/O-Emulsionen. Das Verhältnis zwischen hydrophilem und lipophilem Molekülteil wird über den so genannten HLB-Wert (hydrophilic-lipophilic-Balance) wiedergegeben.

$$HLB = 20 \cdot \left( 1 - \frac{M_r(\text{lipophil})}{M_r(\text{gesamt})} \right) \quad \text{Gleichung 1.2-7}$$

HLB = Hydrophilic Lipophilic Balance

$M_r$  = Molmasse

Neben niedermolekularen Stoffen wie Polysorbaten, Polyoxyethylen-Fettalkoholethern und -Fettsäureestern können auch makromolekulare Stoffe zur Stabilisierung von Emulsionen eingesetzt werden. Man unterscheidet dabei zwischen so genannten Quasiemulgatoren, deren stabilisierende Wirkung allein auf eine Erhöhung der Viskosität der Außenphase zurück geht und echten makromolekularen Emulgatoren, die sich an der Grenzfläche zwischen Öl und Wasser anreichern, die Grenzflächenspannung senken und einen stabilen Grenzflächenfilm ausbilden. Polymeremulgatoren weisen ebenso wie klassische Tenside hydrophile und lipophile Bereiche auf. Diese müssen dabei allerdings nicht zwingend räumlich voneinander getrennt vorliegen (Kutz, et al. 2011). Die Moleküle lagern sich an der Grenzfläche so



an, dass lipophile Molekülteile in die Ölphase und hydrophile Molekülteile in die Wasserphase hineinragen. Diese Anordnung wird mit Hilfe des „train-loop-tail“ Prinzips beschrieben (Mezdour, et al. 2008). Molekülteile, die an der Grenzfläche entlang verlaufen werden als „trains“ bezeichnet, während in die jeweilige Phase hineinragende Molekülmittelteile als „loops“ und die Enden als „tails“ bezeichnet werden. Ob dabei die „trains“ oder die „loops“ und „tails“ vorherrschen hängt auch von der Konzentration der Polymere an der Grenzfläche ab (Nilsson und Bergenstahl 2006). Bei niedrigen Konzentrationen überwiegen die „trains“. Nimmt die Konzentration an der Grenzfläche zu, so werden auf Grund der begrenzten Größe der Grenzfläche mehr „loops“ gebildet, der Grenzflächenfilm wird dicker. So werden die Emulsionstropfen sterisch stabilisiert und ein Zusammenfließen verhindert, da es beim Zusammentreffen zweier Tropfen zu einer gegenseitigen Durchdringung der an der Grenzschicht adsorbierten Polymermoleküle kommt und sich die Tropfen einander nicht ausreichend annähern können (Kutz, et al. 2011).

Polymeremulgatoren sind oftmals auch Hydrogelbildner. So wirkt sich neben der Ausbildung des Grenzflächenfilms auch die Erhöhung der Viskosität positiv auf die Koaleszenzstabilität der mit ihnen hergestellten Emulsionen aus.

Häufig in Emulsionen verwendete Hydrogelbildner sind Celluloseether, wie Hypromellose (Daniels und Barta 1994), Polyvinylalkohole (Sakai, et al. 2005), Polyvinylpyrrolidone und Polyvinylacetate (Kutz, et al. 2011).

Zuletzt seien noch die Feststoffemulgatoren genannt. Hierbei handelt es sich um oft nanopartikuläre Feststoffteilchen, die sich an der Phasengrenze anreichern und in geeigneter Konzentration eine dicht gepackte Feststoffschicht um die Emulsionstropfen herum ausbilden. Im Gegensatz zu den echten Emulgatoren beeinflussen Feststoffemulgatoren die Grenzflächenspannung nicht. Die Stabilisierung der Emulsionstropfen beruht allein auf der Ausbildung einer mechanischen Barriere an deren Grenzfläche. Die resultierenden Systeme werden als Pickering-Emulsionen bezeichnet. Ihre Phasenlage ist abhängig vom Benetzungswinkel der Partikel. Benetzungswinkel von  $<90^\circ$  resultieren in O/W-Emulsionen wohingegen Benetzungswinkel  $>90^\circ$  die Bildung von W/O-Emulsionen begünstigen (Binks 2002).

Eine häufige Instabilität von Emulsionen stellt das Aufrahmen oder die Sedimentation der dispergierten Phase dar. Sie kommt vor allem durch den Dichteunterschied zwischen innerer und äußerer Phase zustande und ist im Gegensatz zur Koaleszenz

ein reversibler Prozess, der die Qualität der Emulsion unbeeinflusst lässt. Die dispergierten Tropfen neigen allerdings in der dicht gepackten Rahmschicht (oder Sedimentationsschicht) besonders stark zur Koaleszens. Emulgatoren stabilisieren dispergierte Tropfen zwar gegen Koaleszens, können sie aber nicht vollständig verhindern. Es gilt daher auch das Aufrahmen (bzw. die Sedimentation) zu verhindern. Möglichkeiten zur Verhinderung bzw. Verlangsamung des Aufrahmens/der Sedimentation zeigt das Stoke'sche Gesetz auf. Es beschreibt den Zusammenhang zwischen Dichte, Viskosität, Partikelgröße und Aufrahm- bzw. Sedimentationsgeschwindigkeit.

Gleichung 1.2-8

$$v = \frac{2r^2 g(\rho_I - \rho_A)}{9\eta}$$

$v$  = Aufrahm- oder Sedimentationsgeschwindigkeit

$r$  = Tropfenradius

$g$  = Erdbeschleunigung

$\rho_I$  = Dichte der Innenphase

$\rho_A$  = Dichte der Außenphase

$\eta$  = dynamische Viskosität der Außenphase

Es lässt sich ableiten, dass die Aufrahm- bzw. Sedimentationsgeschwindigkeit umso größer ist,

- je größer der Tropfen
- je höher der Dichteunterschied zwischen den Phasen und
- je geringer die Viskosität der Außenphase ist.

Dies kann bei der Herstellung von Emulsionen ausgenutzt werden, durch:

- Erzeugung kleiner Partikel

Die Verringerung der Partikelgröße zeigt zwar den größten Einfluss auf die Aufrahmgeschwindigkeit, ist allerdings kritisch zu betrachten. Jede Verkleinerung der Tropfen führt zu einer starken Vergrößerung der Grenzfläche und in Folge dessen zu einer erhöhten Grenzflächenenergie, die wiederum eine Koaleszens begünstigt.

- Angleich der Dichten beider Phasen

Z. B. durch Zusatz von Ethanol zur Wasserphase (Wollenweber 1999).

Ein vollständiger Dichteangleich beider Phasen wird nicht möglich sein, es kann nur versucht werden den Dichteunterschied möglichst gering zu halten.

- Erhöhung der Viskosität der Außenphase

Z. B. durch Zusatz eines Hydrogelbildners, der optimalerweise auch als Polymeremulgator genutzt werden kann.

Die Erhöhung der Viskosität kann den Homogenisierungsprozess positiv beeinflussen, da z. B. bei Rotor-Stator-Systemen die Verweilzeit im Scherspalt erhöht wird und somit ein hoher Energieeintrag gewährleistet wird. Die Viskosität sollte aber nicht zu hoch sein, da sonst keine effektive Emulgierung mehr möglich ist. Bei der Erhöhung der Viskosität der Außenphase muss zudem darauf geachtet werden, dass die Streichfähigkeit der Zubereitung erhalten bleibt, um dem Patienten eine angenehme Applikation zu ermöglichen.

### 1.2.3 Viskositätserhöhende Zusätze in Emulsionen

Viskositätserhöhende Zusätze können Emulsionen zugesetzt werden, um die Aufrahme- bzw. Sedimentationsgeschwindigkeit der dispergierten Phase zu verringern. Des Weiteren können sie den üblicherweise relativ flüssigen Emulsionen einen streichfähigen Charakter verleihen, der eine einfachere Applikation durch den Patienten möglich macht. Hierbei muss zwischen Hilfsstoffen unterschieden werden, die alleine die Viskosität erhöhen (Quasiemulgatoren) und viskositätserhöhenden Zusätzen, die sich zudem an der Grenzfläche zwischen Öl und Wasser anreichern (Polymeremulgatoren) und daher auch zur Emulgierung und Emulsionsstabilisierung herangezogen werden können. Als Quasiemulgatoren können z. B. Polyethylenglykole mit hohem Polymerisationsgrad verwendet werden. In der Gruppe der Hydrogelbildner, die zusätzlich auch Polymeremulgatoren darstellen, finden sich z. B. Celluloseether, Polyvinylalkohole und Polyvinylpyrrolidone. Im Folgenden soll auf die in dieser Arbeit verwendeten Substanzen (Hypromellose, Polyvinylalkohol und Polyvinylpyrrolidon) näher eingegangen werden.

#### 1.2.3.1 Hypromellose

Hypromellose (Abbildung 1.2-7) ist ein wasserlöslicher, nichtionischer Celluloseether, der semisynthetisch aus Cellulose hergestellt wird.

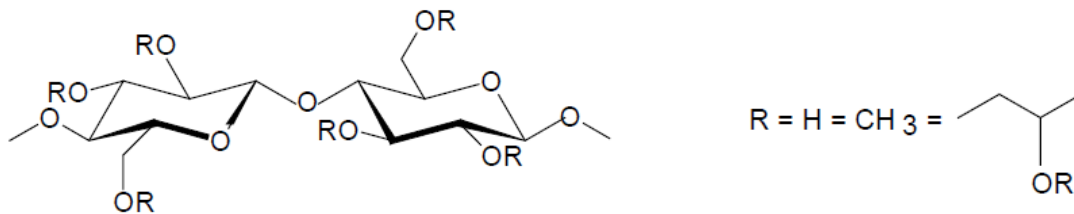


Abbildung 1.2-7: Allgemeine Strukturformel der Hypromellose

Dabei wird Cellulose mit einem durchschnittlichen Polymerisationsgrad von 500-10000 zu Alkalicellulose umgesetzt und anschließend mit Methylenchlorid und Propylenoxid umgesetzt. Der bei der alkalischen Hydrolyse auftretende Kettenabbau wird genutzt um die Viskosität des Endprodukts einzustellen, während die Veretherung so gesteuert werden kann, dass unterschiedliche Substitutionsgrade und -muster entstehen. So können Hypromellosen mit unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften erhalten werden. Hypromellosen werden charakterisiert über die Viskosität einer 2%igen wässrigen Lösung, den durchschnittlichen Substitutionsgrad (DS) und den durchschnittlichen molaren Substitutionsgrad (MS). Der durchschnittliche

Substitutionsgrad gibt die durchschnittliche Zahl der methylierten Hydroxylgruppen pro Anhydroglucoseeinheit an. Da es bei der Hydroxypropylierung zum Aufbau von mehrfach substituierten Seitenketten kommen kann, wird der Hydroxypropylgehalt durch den durchschnittlichen molaren Substitutionsgrad angegeben. Dieser gibt das molare Verhältnis von Hydroxypropylsubstituenten pro Anhydroglucoseeinheit an.

In dieser Arbeit wurde Hypromellose vom Substitutionstyp 2208 verwendet. Sie erfüllt die folgenden Kriterien:

Tabelle 1.2-1: Eigenschaften der verwendeten Hypromellose

Viskosität einer 2%igen Lösung	100 mPas
Methylgehalt % (m/m)	19-24
Hydroxypropylgehalt % (m/m)	4-12
durchschnittlicher Substitutionsgrad	1,12-1,58
durchschnittlicher molarer Substitutionsgrad	0,13-0,36

### 1.2.3.2 Polyvinylalkohol

Polyvinylalkohol wird durch Teil- oder Vollhydrolyse aus Polyvinylacetat in Gegenwart katalytischer Mengen von Alkalien oder Mineralsäuren hergestellt. Polyvinylalkohole besitzen mittlere Molmassen zwischen 20.000 und 150.000 g/mol. Die unterschiedlichen Molmassen bedingen unterschiedliche physikalische Eigenschaften, wie z. B. die Löslichkeit in Wasser und die Viskosität ihrer Lösungen (Europäisches Arzneibuch Ausgabe 7.1, 2011). Polyvinylalkohole finden Anwendung in der Klebstoffindustrie, bei der Einbettung histologischer Präparate (Carl Roth GmbH & Co. KG, 2009) und in der pharmazeutischen Technologie bei der Herstellung von Gelen (Kutz, et al. 2011), Emulsionen (Oh, et al. 2011; Sakai, et al. 2005) und therapeutischen Pflastern (Gal und Nussinovitch 2009; Melero, et al. 2008).

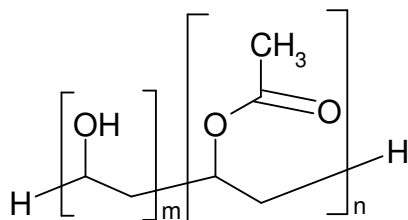


Abbildung 1.2-8: Allgemeine Strukturformel von Polyvinylalkohol

In dieser Arbeit wurden Polyvinylalkohole verschiedener Kettenlängen und unterschiedlicher Hydrolysegrade im Hinblick auf ihre Eignung zur Stabilisierung von Emulsionen und Retardpolymerdispersionen untersucht.

### 1.2.3.3 Polyvinylpyrrolidon

Polyvinylpyrrolidon (PVP) ist ein wasserlösliches Polymer, das durch radikalische Polymerisation aus N-Vinylpyrrolidon gewonnen wird. Polyvinylpyrrolidon ist mit Molekulargewichten von 2.000 bis 1.500.000 g/mol erhältlich. Die unterschiedlichen Molmassen des Polymers bedingen verschiedene Viskositäten der Lösungen. Die Viskosität einer wässrigen Lösung von PVP wird auch zur Unterscheidung der Polymere herangezogen und in Form des so genannten K-Wertes ausgedrückt. Lösliche Polyvinylpyrrolidone finden Anwendung als Bindemittel bei der Granulation und Tablettierung, als Filmüberzug von Tabletten, sowie zur Stabilisierung von Suspensionen, in wirkstoffhaltigen Pflastern und bioadhäsiven Gelen. So wird PVP z. B. zur Stabilisation von Nitroglycerin in transdermalen therapeutischen Systemen genutzt (BASF AG, 2007). Valenta und Auner konnten außerdem zeigen, dass es die Klebeeigenschaften von Polymethylmethacrylatpflastern verbessert (Valenta und Auner 2004).

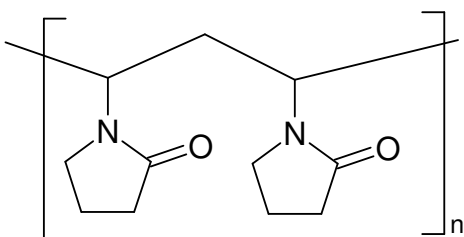


Abbildung 1.2-9: Allgemeine Strukturformel von Polyvinylalkohol

In der vorliegenden Arbeit wurde ausschließlich Polyvinylpyrrolidon mit einem K-Wert von 81,0-96,3 der Firma BASF verwendet (Kollidon 90 F). Es zeichnet sich durch eine sehr hohe Viskosität seiner Lösungen aus, so dass ein geringer Zusatz ausreicht um flüssigen Emulsionen einen streichfähigen Charakter zu verleihen.

## **1.2.4 Anwendung von Retardpolymeren zur Beeinflussung der Wirkstofffreigabe**

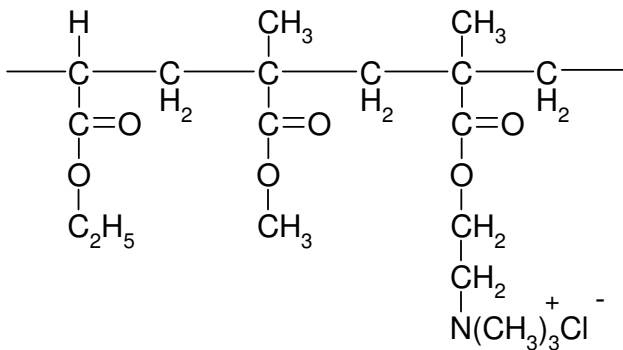
Ammoniummethacrylat-Copolymere, Ethacrylat-Methacrylat-Copolymere und Ethylcellulosen werden im pharmazeutischen Sprachgebrauch oftmals als Retardpolymere bezeichnet. Sie werden zur Herstellung von retardiert freisetzenden oralen Darreichungsformen, wie z. B. Tabletten und Pellets verwendet. Dabei werden die Arzneiformen entweder mit einer dünnen Schicht der Polymere überzogen oder es werden durch Granulierung/Tablettierung oder Extrusion Matrixformulierungen hergestellt (Amighi und Moes 1996; Christian 2005, Crowley, et al. 2004). Die Polymere sind nicht wasserlöslich und sorgen dafür, dass die Diffusion des Arzneistoffs aus der Arzneiform verlangsamt wird. Seltener werden solche Polymere auch zur Herstellung von wirkstoffhaltigen Pflastern herangezogen (Gao, et al. 2009; Mutalik, et al. 2006 Lieb, et al. 2002). Mutalik et. al. stellten Glipizid-haltige Pflaster aus Mischungen von Ethylcellulose und Polyvinylpyrrolidon oder Ammoniummethacrylat Copolymer Typ A & B (Eudragit RS und RL) her. Sie konnten zeigen, dass diese Pflaster die Wirkstoffabgabe an die Haut über 25 h aufrechterhalten und in Mäusen wirksame Plasmaspiegel erreicht werden. Lieb et. al. (2002) konnten die Permeation von 5-Aminolevulinsäure durch isolierte Epidermis über 25 h nachweisen.

Im Folgenden sollen die in dieser Arbeit verwendeten Polymerdispersionen näher vorgestellt werden.

### **1.2.4.1 Ammoniummethacrylat Copolymer Typ B (Ph. Eur.)**

Ammoniummethacrylat Copolymer Typ B ist auch unter dem Handelsnamen Eudragit RS bekannt. Es ist aus Ethacrylat, Methylmethacrylat und Trimethylammoniummethylmethacrylat im Verhältnis 1:2:0,1 aufgebaut (vgl. Abbildung 1.2-10). Das Polymer ist durch die als Chloridsalz vorliegenden Trimethylammoniumgruppen in Wasser quellbar aber nicht löslich und eignet sich daher zur Herstellung retardierender Filmüberzüge oder Matrixtabletten und -granulate (Christian 2005; Degussa 2006; Grützmann 2005). Eudragit RS zeigt eine Glasübergangstemperatur von 69 °C. Um flexible Filme zu erhalten, müssen daher 10-20 % Weichmacher zugesetzt werden (Degussa 2006). Eudragit RS 30D ist eine wässrige Dispersion von Eudragit RS, die durch direkte Emulgierung von Eudragit RS in Wasser bei 80 °C hergestellt wird (Lehmann und Dreher 1986). Die Dispersion ist mit

0,25 % Sorbinsäure konserviert und enthält 0,1 % NaOH zur Einstellung des pH-Wertes auf pH 5-6 (Evonik Industries, 2007).

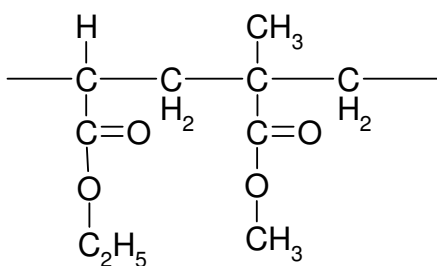


Ethacrylat    Methymethacrylat    Trimethylammonioethylmethacrylat  
 1            :                    2                    :                    0,1

Abbildung 1.2-10: Formelbild des Polymers Eudragit RS

#### 1.2.4.2 Ethacrylat Methymethacrylat Copolymer

Dieses Copolymer ist auch unter dem Handelsnamen Eudragit NE bekannt, die 30%ige wässrige Dispersion ist im europäischen Arzneibuch unter der Bezeichnung Polyacrylat Dispersion 30 % monographiert und enthält 1,5 % Nonoxynol 100. Das Polymer ist aus Ethacrylat und Methymethacrylat im Verhältnis 2:1 aufgebaut (vgl. Abbildung 1.2-11). Eudragit NE bildet ohne Weichmacherzusatz weiche, flexible Filme aus, die in Wasser unlöslich aber quellbar sind. Eudragit NE eignet sich damit besonders zur Herstellung von Matrixtabletten und verzögert freisetzenden Filmüberzügen (Evonik Industries, 2007).



Ethacrylat            Methymethacrylat  
 2                    :                    1

Abbildung 1.2-11: Formelbild des Polymers Eudragit NE



### 1.2.4.3 Ethylcellulose

Ethylcellulose (EC) ist ein nichtionischer Celluloseether, der semisynthetisch aus Cellulose gewonnen wird. Das Europäische Arzneibuch fordert einen Ethoxylgehalt von 44,0 % bis 51,0 % in der Trockensubstanz. Ethylcellulose ist mit einer mittleren Molekülmasse von 150.000 bis 300.000 g/mol erhältlich.

Wie die ihr zugrunde liegende Cellulose besteht EC aus unverzweigten Ketten, in denen D-Glucoseeinheiten  $\beta$ -1,4-glycosidisch miteinander verknüpft sind. Wie aus Abbildung 1.2-12 ersichtlich trägt jede Zuckereinheit der Cellulose drei freie Hydroxylgruppen, die zur Herstellung von EC mit Ethylgruppen substituiert werden. Für pharmazeutisch verwendete EC-Qualitäten ergibt sich ein Substitutionsgrad von ca. 2,5.

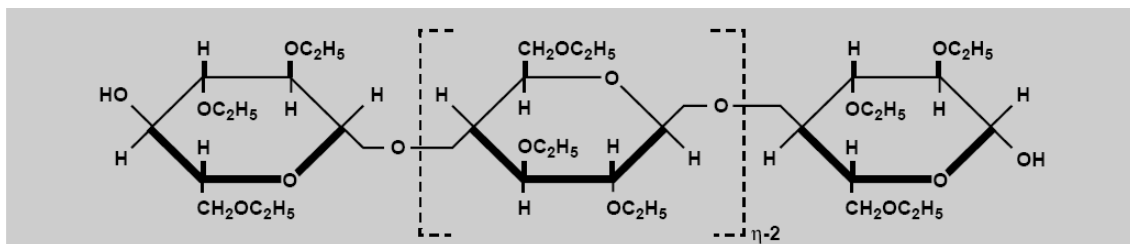


Abbildung 1.2-12: Allgemeine Strukturformel von Ethylcellulose (Hercules Incorporation Aqualon Division, 2002)

Ethylcellulose ist in Wasser unlöslich. Wässrige Dispersionen der Ethylcellulose sind unter den Bezeichnungen Aquacoat ECD 30 (FMC BioPolymer, USA-Philadelphia) und Surelease (Colorcon, D-Idstein) im Handel. Sie enthalten jeweils 30 % (m/m) Ethylcellulose. Während Aquacoat Natriumlaurylsulfat und Cetylalkohol als Emulgatoren enthält, enthält Surelease Ammoniumoleat, welches sich während des Emulgierungsprozesses bildet. Außerdem sind den Surelease-Dispersionen bereits Weichmacher (Ölsäure oder Mischungen von Ölsäure mit Dibutylsebacat oder Mittelkettigen Triglyceriden) zugesetzt.

### 1.2.5 Wechselwirkungen zwischen Partikeln und gelösten Polymeren

Werden gelöste Polymere und ungelöste Partikel in einer Zubereitung vereint, so können diese abhängig von ihrer relativen Größe zueinander, ihrer Struktur und etwaig vorhandener Ladungen auf unterschiedliche Weise miteinander interagieren. Die Interaktion kann, abhängig von Polymerkonzentration, -art, -kettenlänge und -ladung sowohl zur Flockung, als auch zur Stabilisierung der Suspension durch Verhinderung der Flockung führen. Eine Flockung kann prinzipiell durch gegenseitige Verdrängung von gelöstem Polymer und Partikeln oder durch Bindung des gelösten Polymers an die Partikel induziert werden. Tragen die suspendierten Partikel an ihrer Oberfläche eine Ladung und wird der Suspension ein Polymer zugefügt, das eine gleichnamige Ladung trägt, so kann es aufgrund der elektrostatischen Abstoßung von Polymer und Partikeln zu einer Flockung kommen. Dies konnte z. B. für Sulphadimidin-Suspensionen gezeigt werden, denen Natrium-Carboxymethylcellulose zugefügt wurde. Sowohl die suspendierten Partikel, als auch das gelöste Polymer tragen in diesem Fall negative Ladungen, was zur Flockung durch Verdrängung führt (Kellaway und Najib 1981).

Auch für ungeladene Partikel und Polymere, welche nicht an diese Partikel adsorbieren konnte eine Verdrängungsflockung („depletion“) nachgewiesen werden. Der Mechanismus wurde erstmals von Asakura und Oosawa (1958) beschrieben. Betrachtet man ein System aus ungelösten Partikeln und gelöstem, nicht adsorbierendem Polymer, so bildet sich um die Partikel herum eine so genannte Verdrängungszone („depletion zone“), in der die Konzentration des gelösten Polymers deutlich geringer ist als in der Bulklösung. Wenn Partikel mit ihren Verdrängungszonen sich weit genug annähern und sich die Verdrängungszonen berühren oder sogar überlappen, werden die gelösten Stoffe aus dem Zwischenraum verdrängt. Ihre Konzentration außerhalb des Spalts nimmt zu und es entsteht ein osmotischer Druck-Gradient zwischen Spalt und Bulklösung, der dazu führt, dass die Partikel sich weiter annähern und eine Flockung eintritt. Die Dicke der Verdrängungszone ist dabei abhängig von der Größe des nicht adsorbierenden Polymers. Je größer das Polymer (inklusive seiner Solvathülle), desto größer die Verdrängungszone und desto weiter reichen die Anziehungskräfte zwischen den Partikeln (Beattie, et al. 2006; Radford und Dickinson 2004). Die Flockung ist außerdem abhängig von der Konzentration des gelösten Stoffes. Während erst nach überschreiten einer kritischen Konzentration eine Verdrängungsflockung auftritt, kann es bei hohen Konzentrationen wiederum zu einer Stabilisierung des Systems kommen, da etwas Polymer im Spalt verbleibt und so einen

zusätzlichen osmotischen Druck generiert, der den externen osmotischen Druck der Bulklösung ausgleicht (Feigin und Napper 1980; Radford und Dickinson 2004). Insgesamt sind die Bindungen zwischen den Partikeln allerdings gering, weshalb die Flockung durch Verdünnung rückgängig gemacht werden kann (Beattie, et al. 2006). Eine Verdrängungsflockung konnte z. B. für Polymethylmethacrylat-Latex-Systeme gezeigt werden, denen Hydroxyethylcellulose (HEC) zugesetzt wurde. Hier kam es ab einer kritischen Konzentration von 0,1 % (m/m) zur Verdrängungsflockung (Beattie, et al. 2006). Ebenso führt HEC zur Flockung in Systemen von Polyoxyethylen- oder Polyoxyethylen-Polyoxypropylen-überzogenen Polystyrenpartikeln und Ammoniumpolymethacrylat-überzogenen Aluminium(III)oxid-Partikeln. Die Flockung geht in diesen konzentrierten Systemen (20 % (m/m) Feststoffanteil der Dispersionen) mit einer Erhöhung der Viskosität einher, die auf die Bildung eines dreidimensionalen Netzwerks zurückzuführen ist (Kiratzis, et al. 1999).

Adsorbieren gelöste Moleküle an Partikel, so kann es zur Flockung durch so genanntes „bridging“ kommen. Ob und in welchem Ausmaß eine Flockung durch „bridging“ auftritt ist abhängig von den Größenunterschieden zwischen Polymer und Partikel (Abbildung 1.2-13). Sind die Polymermoleküle viel kleiner, als die Partikel, so adsorbieren mehrere Polymermoleküle auf der Oberfläche eines Partikels. Sind Polymere und Partikel ähnlich groß, kann ein Polymermolekül mit mehreren Partikeln interagieren und so eine Brücke (engl. „bridge“) zwischen ihnen bilden. Ist das Polymer viel größer als die Partikel, so kann eine Vielzahl von Partikeln gebunden werden. Dies resultiert zumeist in einer Flockung der Systeme, welche makroskopisch als Bildung mehr oder weniger großer Agglomerate mit inhomogener Verteilung wahrgenommen werden kann.

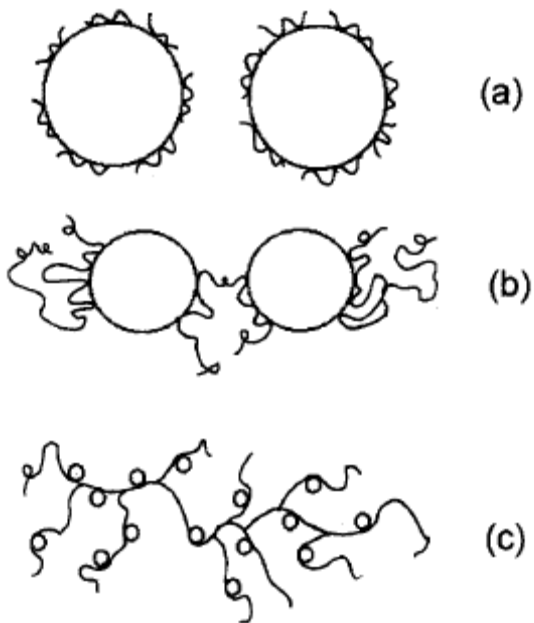


Abbildung 1.2-13: Interaktionen zwischen Partikeln und gelösten Polymermolekülen in Abhängigkeit von ihrer relativen Größe; (a) Polymer ist deutlich kleiner als Partikel (b) Polymer und Partikel sind ähnlich groß (c) Polymer ist deutlich größer als Partikel (Hsu und Lin 1996)

Die Adsorption von Polymeren an Partikel erfolgt sehr schnell. Mit voranschreitendem Interaktionszeitraum können sich die Polymerketten mit den gebundenen Partikeln stärker verknäueln, was die Bildung eines dichteren Agglomerats zur Folge hat. Die Polymerkonzentration, die zur Flockung von Suspensionen nötig ist, ist üblicherweise sehr gering ( $10^{-5}$ - $10^{-6}$  mol/l), die stärkste Flockung wird bei halber Oberflächenbesetzung beobachtet, da hier die Bildung interpartikulärer Brücken am stärksten ausgeprägt ist (Gaudreault, et al. 2009). Bei höheren Konzentrationen ist die Partikeloberfläche vollständig mit solvatisierten Polymermolekülen abgesättigt und es kommt zu einer sterischen Stabilisierung der Suspension (Kellaway und Najib 1981; Rawlins und Kayes 1983). So wird z. B. PVP in Konzentrationen  $>10^{-5}$  mol/l als Stabilisator in Suspensionen genutzt (Kellaway und Najib 1981). Polymere, die in Lösung gestreckt vorliegen, nehmen eine Sonderstellung ein. Durch ihre gestreckte Struktur können sie auch in hohen Konzentrationen an mehrere Partikel binden und so eine Flockung herbeiführen. Dieser Effekt ist z. B. von ungeladener Carboxymethylcellulose bekannt (Kellaway und Najib 1981).

Auch in Emulsionssystemen können gelöste Polymere eine Flockung herbeiführen. So ist z. B. von Hypromellose stabilisierten Emulsionen bekannt, dass sie als teilgeflockte Systeme vorliegen. Das bedeutet, dass sich eine kleine Anzahl Tröpfchen bevorzugt zusammenlagert. Dies geschieht durch die Wechselwirkung von an der Grenzfläche adsorbierten HPMC-Molekülen mehrerer Tröpfchen mit HPMC-Molekülen in der

Außenphase, durch die eine Bindung an mehrere Tröpfchen gleichzeitig vermittelt wird (Möllgaard 2006). Dies kann, muss allerdings nicht zwangsläufig negative Einflüsse auf die Lagerstabilität der Emulsionen nach sich ziehen.

Werden also Emulsionen durch Polymeremulgatoren stabilisiert und diesen Emulsionen zusätzlich Polymerdispersionen zugesetzt, so muss das Augenmerk verstärkt auf die physikalische Stabilität der entsprechenden Systeme gerichtet werden um eine verringerte Lagerstabilität durch Flockung der Formulierungsbestandteile zu verhindern.

## 1.2.6 Nonivamid

Nonivamid, auch als synthetisches Capsaicin bezeichnet ist ein Strukturanalogon von Capsaicin, mit ähnlichen pharmakologischen Eigenschaften (Chen, et al. 1992, Reyes-Escogido, et al. 2011).

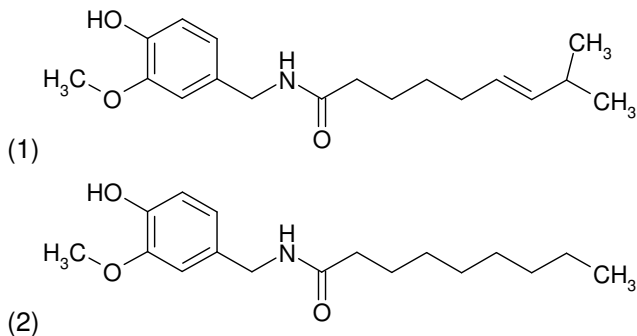


Abbildung 1.2-14: Strukturformeln von Capsaicin (1) und Nonivamid (2)

Es bindet wie Capsaicin an den Transient Receptor Potential Vanilloid Type 1 (TRPV1), einen ligandengesteuerten nicht selektiven Kationenkanal, der auf primären afferenten Neuronen (C- und A $\delta$ -Fasern) exprimiert wird (Caterina und Julius 2001). Die dermale Applikation von Nonivamid resultiert akut in einer Aktivierung kutaner nozizeptiver Fasern, die zur Ausschüttung von Substanz P, CGRP und anderer vasodilatativer Neuropeptide führt, wodurch ein Ödem entsteht (Serra, et al. 1998). Des Weiteren führt die Aktivierung des TRPV1 zur Depolarisation der Nervenfasern und einer Weiterleitung des Reizes über das Rückenmark an das Gehirn. So führen Capsaicinoide zur Wahrnehmung eines brennenden, stechenden oder juckenden Gefühls (Anand und Bley 2011). Die wiederholte Applikation führt zu einer Defunktionalisierung der betreffenden nozizeptiven Neurone, da durch den vermehrten Calciumeinstrom nach Aktivierung des TRPV1 Calciumabhängige Proteasen aktiviert und die Depolymerisation von Mikrotubuli induziert wird. Außerdem wird durch die intrazelluläre hohe Calciumkonzentration die Funktion der Mitochondrien eingeschränkt und die Zellen können die Membranintegrität nicht aufrechterhalten. Die resultierende Desensibilisierung gegenüber Hitze und die lang anhaltende Analgesie sowie die Juckreizstillung können therapeutisch genutzt werden (Anand und Bley 2011).

Das Neue Rezeptur Formularium beschreibt eine Capsaicinoid-haltige Rezeptur zur Behandlung des chronischen Juckreizes (Hydrophile Capsaicinoid-Creme 0,025 %/0,05 %/0,1 % (NRF 11.125) Neues Rezeptur Formularium, 2010). Die Formulierung muss 2-4 Mal täglich aufgetragen werden. Um die Anwendungsintervalle zu verlängern und die Therapie für den Patienten einfacher zu gestalten, soll in der

vorliegenden Arbeit eine Zubereitung entwickelt werden, die eine retardierte Wirkstoffabgabe an die Haut ermöglicht. Dabei wird die Hydrophile Capsaicinoid Creme als Vergleichsstandard herangezogen. In dieser Arbeit wird statt des Capsaicinoid-Substanzgemischs das chemisch definierte und zudem stabilere Nonivamid verwendet, da sein Permeationsverhalten mit dem von Capsaicin vergleichbar ist (Fang, et al. 1996), es im Gegensatz zu den Capsaicinoiden eine definierte Einzelsubstanz darstellt und daher analytisch leichter zugänglich ist.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Verwendete Materialien und Geräte

#### 2.1.1 Chemikalien, Hilfsstoffe und sonstige Materialien

Tabelle 2.1-1: Chemikalien und Hilfsstoffe

Artikel	Hersteller/Lieferant
Aquacoat ECD30	FMC BioPolymer
Coffein	Ceasar & Loretz GmbH
Dibutylsebacat	Morflex Inc.
Diethylbutmidotriazone (Uvasorb HEB)	3V Sigma S. p. A.
Dinatriummonohydrogenphosphat	Ceasar & Loretz GmbH
Ethanol HPLC Gradient Grade	VWR International GmbH
Eudragit NE 30D	Evonik Industries
Eudragit RL 30D	Evonik Industries
Eudragit RS 30D	Evonik Industries
Hypromellose Metolose 2208 100 mPas	ShinEtsu Chemical Co. Ltd.
Isopropanol HPLC Gradient Grade	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Methanol HPLC Gradient Grade	VWR International GmbH
Mittelkettige Triglyceride (Miglyol 812)	Sasol Germany GmbH
Natriumdihydrogenphosphat	Ceasar & Loretz GmbH
NEG 50 <sup>TM</sup> , Richard-Allan Scientific	US-Kalamazoo



Tabelle 2.1-2: weitere Chemikalien und Hilfsstoffe

Artikel	Hersteller/Lieferant
Nonivamid	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Ölsäure	Merck KGaA
Phosphorsäure 85 %	Ceasar & Loretz GmbH
Polysorbat 80 (Crillet 4 HP)	Croda Inc.
Ölsäure	Merck KGaA
Polyethylenglycol (Pluriol 200, 400 & 600)	BASF SE
Polyvinylpyrrolidon (Kollidon 90F)	BASF SE
Polyvinylalkohol Mr:67.000 (Mowiol 8-88)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Polyvinylalkohol Mr:31.000 (Mowiol 4-88)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Polyvinylalkohol Mr:205.000 (Mowiol 40-88)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Polyvinylalkohol Mr:65.000 (PVOH 10-99)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH
Surelease 19040	Colorcon Ltd.
Surelease 19050	Colorcon Ltd.

Tabelle 2.1-3: Verbrauchsmaterial

Artikel	Hersteller/Lieferant
Alufolie	Handelsüblich
Celluloseacetat Filtermembranen 0,2 µm	Sartorius Stedim Biotech GmbH
Deckgläser	VWR International GmbH
Dermatomklingen GB228R	Aesculap AG & Co. KG
Einmalspritzen 1 mL, 10 mL & 20 mL	B-Braun Melsungen AG
Eppendorf ep TIPS 2-200 µl & 50-1000 µl	Eppendorf AG
Glasobjektträger	VWR International GmbH
Immersol 518	Carl Zeiss Jena GmbH
Kanülen 0,9x40 mm, 0,9x70 mm & 0,8x120 mm	B-Braun Melsungen AG
Laborfett glisseal HV	Borer Chemie AG
Nuclepore Polycarbonat Filter 0,03 µm	Whatman International Ltd.
Parafilm® „M“	American National Can
Papiertücher	Wepa Papierfabrik GmbH & Co. KG
Schliggazetupfer unsteril, Gr. 5	Fuhrmann GmbH
Standardaluminiumtiegel 40 µl	Mettler Toledo GmbH
Sterile Skalpellklingen #22	Aesculap AG & Co. KG
Tesa® Verlegeband 05696-00010	Beiersdorf AG

## 2.1.2 Geräte

Tabelle 2.1-4: Verwendete Geräte

Artikel	Hersteller/Lieferant
Auto Sampler SIL-20A	Shimadzu Europa GmbH
Column-Oven CTO-20A	Shimadzu Europa GmbH
Communication Bus Module CBM-20A	Shimadzu Europa GmbH
Dermatom GA 630	Aesculap AG & Co. KG
DSC 820	Mettler-Toledo GmbH
Einhängethermostat alpha	Lauda GmbH & Co. KG
Imager.Z1	Carl Zeiss Jena GmbH
Liquid Chromatograph LC-20AT	Shimadzu Europa GmbH
Magnetrührer MR 3001 K	Heidolph Instruments GmbH
Mastersizer 2000	Malvern Instruments GmbH
Materialprüfer DO-FB0.5TS	Zwick GmbH & Co. KG
Mikroplattenleser Synergy HT	BioTek Germany
Mehrstellenrührer Poly 15	Thermo Fisher Scientific GmbH
modifizierte Franz Zellen	Gauer Glas
Profilanalysentensiometer	Sinterface Technologies GbR
Research Pipette 200 µl	Eppendorf AG
Rührwerk RZR 2102 control	Heidolph Instruments GmbH
Auto Sampler SIL-20A	Shimadzu Europa GmbH

Tabelle 2.1-5: Verwendete Geräte (Fortsetzung)

Artikel	Hersteller/Lieferant
Skalpellhalter	Aesculap AG & Co. KG
Ultra Turrax T5	IKA-Werke GmbH & Co. KG
UV/VIS Detector SPD-20A	Shimadzu Europa GmbH
Waage Excellence Plus	Mettler-Toledo GmbH
Waage Extend	Mettler-Toledo GmbH

### 2.1.3 Software

Tabelle 2.1-6: Verwendete Software

Artikel	Lieferant/Hersteller
Adobe Acrobat 8 Standard	Adobe Systems GmbH
Adobe Photoshop CS2	Adobe Systems GmbH
Axiovision 4.6.3	Carl Zeiss Jena GmbH
Mastersizer 2000	Malvern Instruments GmbH
Microsoft Excel 2003	Microsoft Corporation
Microsoft Word 2003	Microsoft Corporation
STARe	Mettler-Toledo GmbH
Windows Vista Business	Microsoft Corporation
WiTec Control 1.94 & WiTec Project 2.02	WiTec GmbH

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Weichmachen von Polymerdispersionen

Zu 50 g der Polymerdispersion wird unter Rühren bei 350 UpM (Rührwerk RZR 2102 control, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, D-Schwabach) die gewünschte Menge Weichmacher langsam mit einer Pipette zugegeben. Die Mischung wird weitere 30 min gerührt um eine möglichst vollständige Verteilung des Weichmachers im Polymer zu gewährleisten. Tabelle 2.2-1 ist zu entnehmen welcher Weichmacher für die jeweilige Dispersion verwendet wurde. Polysorbat 80 wurde eingesetzt um die Mischbarkeit von Eudragit NE und Eudragit RS zu garantieren. Es besitzt allerdings ähnlich gute weichmachende Eigenschaften wie Triethylcitrat (Grützmann und Wagner 2005) und wird daher hier auch als Weichmacher geführt.

Tabelle 2.2-1: Verwendete Polymerdispersionen und Weichmacher

Polymerdispersion	Weichmacher
Aquacoat ECD30	Dibutylsebacat oder Ölsäure
Eudragit NE 30D	± Polysorbat 80
Eudragit RL 30D	Triethylcitrat
Eudragit RS 30D	Triethylcitrat ± Polysorbat 80
Surelease 19040	Dibutylsebacat
Surelease 19050	Dibutylsebacat

## **2.2.2 Herstellung von Emulsionen**

### **2.2.2.1 Emulsionen mit Polymeremulgatoren**

Es werden die wasserlöslichen Polymere HPMC (Metolose 100 cps, USP 2208), PVP (Kollidon 90F), PVOH 10-99, PVOH 4-88, PVOH 8-88 und PVOH 40-88 (Mowiol) verwendet. HPMC und PVOH 40-88 werden in 2,5%iger (m/m) Konzentration, die anderen Polymere in 10%iger (m/m) Konzentration verwendet. HPMC und PVP werden jeweils in kaltes demineralisiertes Wasser eingearbeitet (Rührwerk RZR 2102 control; Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, D-Schwabach). Zur Herstellung der Polyvinylalkohollösungen wird demineralisiertes Wasser auf ca. 80 °C erhitzt und unter Rühren das Polymer zugegeben. Die Temperatur wird gehalten bis sich das Polymer unter Rühren vollständig gelöst hat. Anschließend wird auf Raumtemperatur abgekühlt und verdunstetes Wasser ersetzt.

In jeweils 80 g der Polymerlösungen werden innerhalb von 5 min portionsweise 20 g mittelkettige Triglyceride (Miglyol 812) mit Hilfe des Rotor-Stator-Homogenisators (Ultra Turrax T5; IKA-Werke GmbH & Co. KG, D-Staufen) bei 15.000 UpM eingearbeitet.

### **2.2.2.2 Emulsionen mit Hypromellose (HPMC) und Polymerdispersionen**

97,5 g der weichgemachten Polymerdispersionen werden mit 2,5 g HPMC (Metolose 100 cps, USP 2208) versetzt und für 15 h bei 500 UpM (Rührwerk RZR 2102 control, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, D-Schwabach) gerührt. Gleichzeitig werden 90 g gereinigtes Wasser mit 2,5 g HPMC versetzt und für 15 h bei 500 UpM (Rührwerk RZR 2102 control, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, D-Schwabach) gerührt um ein 2,5%iges HPMC-Gel herzustellen. 19,5 g des HPMC-Gels werden mit 58,5 g HPMC-haltiger Dispersion versetzt und mit 20 g Mittelkettigen Triglyceriden (MCT; Miglyol 812) mit dem Rotor-Stator-Homogenisator (Ultra Turrax T5, IKA-Werke GmbH & Co. KG, D-Staufen) 5 min bei 5.000 UpM zu einer Emulsion verarbeitet. Die Zusammensetzung der Emulsionen gibt Tabelle 2.2-2 wider.

Tabelle 2.2-2: Zusammensetzung von Emulsionen mit HPMC [g]

Dispersion	Weichmacher	HPMC	Wasser	Polymer LTS	Weichmacher	MCT
Aquacoat ECD30	DBS oder Ölsäure	2,0	58,0	10,0	10,0	20,0
Eudragit NE 30D	-	2,0	58,0	20,0	0,0	20,0
Eudragit RS 30D	TEC	2,0	58,0	17,7	4,3	20,0
Surelease 19040	DBS	2,0	58,0	10,0	10,0	20,0
Surelease 19050	DBS	2,0	58,0	10,0	10,0	20,0



## **2.2.3 Herstellung von Emulsionen mit Polyvinylalkohol (PVOH)**

### **2.2.3.1 Emulsionen mit Polyvinylalkohol (PVOH 8-88) ohne Eudragitdispersionen oder Nonivamid**

90 g gereinigtes Wasser werden auf ca. 80 °C erhitzt. 10 g PVOH (Mowiol 8-88) werden unter Rühren (Magnetrührer MR 3001 K, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, D-Schwabach) zugegeben und die Mischung bei 250 UpM gerührt bis sich der PVOH vollständig gelöst hat. Die Lösung wird bis zum Erkalten gerührt. 10 g dieser 10%igen Lösung und 30 g mittelkettige Triglyceride (MCT, Miglyol 812) werden mit dem Rotor-Stator-Homogenisator (Ultra Turrax T5, IKA-Werke GmbH & Co. KG, D-Staufen) bei 12.000, 9.500 oder 8.000 UpM in eine Emulsion überführt, indem die PVOH-Lösung vorgelegt und der MCT in Anteilen von 1-3 mL zugegeben wird.

### **2.2.3.2 Emulsionen mit Polyvinylalkohol (PVOH 40-88) ohne Eudragitdispersionen oder Nonivamid**

95 g gereinigtes Wasser werden auf ca. 80 °C erhitzt. 5 g PVOH (Mowiol 40-88) werden unter Rühren (Magnetrührer MR 3001 K, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, D-Schwabach) zugegeben und die Mischung bei 250 UpM gerührt bis sich der PVOH vollständig gelöst hat. Die Lösung wird bis zum Erkalten gerührt. 10 g dieser 10%igen Lösung und 30 g mittelkettigen Triglyceriden (MCT, Miglyol 812) werden mit dem Rotor-Stator-Homogenisator (Ultra Turrax T5, IKA-Werke GmbH & Co. KG, D-Staufen) bei 15.000 UpM in eine Emulsion überführt, indem die PVOH-Lösung vorgelegt und der MCT in Anteilen von 1-3 mL zugegeben wird.

### **2.2.3.3 Emulsionen mit Polyvinylalkohol (PVOH 8-88) und Eudragitdispersionen**

90 g gereinigtes Wasser werden auf ca. 80 °C erhitzt. 10 g PVOH (Mowiol 8-88) werden unter Rühren (Magnetrührer MR 3001 K, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, D-Schwabach) zugegeben und die Mischung bei 250 UpM gerührt bis sich der PVOH vollständig gelöst hat. Die Lösung wird bis zum Erkalten gerührt. 10 g dieser 10%igen Lösung und 30 g mittelkettige Triglyceride (MCT, Miglyol 812) werden mit dem Rotor-Stator-Homogenisator (Ultra Turrax T5, IKA-Werke GmbH & Co. KG, D-Staufen) bei 12.000, 9.500 oder 8.000 UpM in eine Emulsion überführt, indem die PVOH-Lösung vorgelegt und der MCT in Anteilen von 1-3 mL zugegeben wird.

In einer Metallschale werden 10 g PVOH mit 20 g gereinigtem Wasser versetzt und auf ca. 80 °C erhitzt. Es wird gelegentlich mit einem Pistill gemischt, bis sich der PVOH

gelöst hat. Anschließend wird die Mischung auf einen Wassergehalt von 50 % eingedickt. In 6,1 g der 50%igen PVOH-Mischung werden 21,4 g Dispersion in Anteilen eingearbeitet. Das entstandene Eudragit-PVOH-Gel wird in 11 g der Emulsion in Anteilen eingearbeitet.

Tabelle 2.2-3: Zusammensetzung von Emulsionen mit PVOH 8-88, mit und ohne Eudragit Dispersionen [g]

	PVOH	Wasser	RS	NE	TEC	PS 80	MCT
Emulsion ohne Dispersion	2,5	22,5	0,0	0,0	0,0	0,0	75,0
Emulsion mit Eudragit RS 30D	8,0	50,5	15,9	0,0	4,0	1,6	20,0
Emulsion mit Eudragit NE 30D	8,0	53,2	0,0	17,0	0,0	1,6	20,0

#### 2.2.3.4 Emulsionen mit Polyvinylalkohol (PVOH 40-88) und Eudragitdispersionen

95 g gereinigtes Wasser werden auf ca. 80 °C erhitzt. 5 g PVOH (Mowiol 40-88) werden unter Rühren (Magnetrührer MR 3001 K, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, D-Schwabach) zugegeben und die Mischung bei 250 UpM gerührt bis sich der PVOH vollständig gelöst hat. Die Lösung wird bis zum Erkalten gerührt. 10 g dieser 10%igen Lösung und 30 g mittelkettigen Triglyceriden (MCT, Miglyol 812) werden mit dem Rotor-Stator-Homogenisator (Ultra Turrax T5, IKA-Werke GmbH & Co. KG, D-Staufen) bei 15.000 UpM in eine Emulsion überführt, indem die PVOH-Lösung vorgelegt und der MCT in Anteilen von 1-3 mL zugegeben wird.

In einer Metallschale werden 2,5 g PVOH mit 20 g gereinigtem Wasser versetzt und auf ca. 80 °C erhitzt. Es wird gelegentlich mit einem Pistill gemischt, bis sich der PVOH gelöst hat. Anschließend wird die Mischung auf einen Wassergehalt von 12,5 % eingedickt. In 6,1 g der 12,5%igen PVOH-Mischung werden 21,4 g Dispersion in Anteilen eingearbeitet. Das entstandene Eudragit-PVOH-Gel wird in 11 g der Emulsion in Anteilen eingearbeitet.

Tabelle 2.2-4: Zusammensetzung von Emulsionen mit PVOH 40-88, mit und ohne Eudragit Dispersionen [g]

	PVOH	Wasser	RS	NE	TEC	PS 80	MCT
Emulsion ohne Dispersion	0,6	24,4	0,0	0,0	0,0	0,0	75,0
Emulsion mit Eudragit RS 30D	2,0	52,4	15,9	0,0	4,0	1,6	20,0
Emulsion mit Eudragit NE 30D	2,0	55,1	0,0	17,0	0,0	1,6	20,0

### 2.2.3.5 Emulsionen mit Polyvinylalkohol (PVOH 8-88) und Nonivamid

90 g gereinigtes Wasser werden auf ca. 80 °C erhitzt. 10 g PVOH (Mowiol 8-88) werden unter Rühren (Magnetrührer MR 3001 K, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, D-Schwabach) zugegeben und die Mischung bei 250 UpM gerührt bis sich der PVOH vollständig gelöst hat. Die Lösung wird bis zum Erkalten gerührt. 28,5 g mittelkettige Triglyceride (MCT, Miglyol 812) werden auf ca. 70 °C erhitzt. 1,5 g Nonivamid werden unter Rühren zugegeben und die Mischung bei 250 UpM gerührt bis sich das NVA vollständig gelöst hat (Magnetrührer MR 3001 K, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, D-Schwabach). Die Lösung wird bis zum Erkalten gerührt. 10 g der 10%igen PVOH-Lösung und 30 g der NVA-Lösung in MCT werden mit dem Rotor-Stator-Homogenisator (Ultra Turrax T5, IKA-Werke GmbH & Co. KG, D-Staufen) bei 12.000, 9.500 oder 8.000 UpM in eine Emulsion überführt, indem die PVOH-Lösung vorgelegt und die NVA-Lösung in MCT in Anteilen von 1-3 mL zugegeben wird.

Tabelle 2.2-5: Zusammensetzung von Emulsionen mit PVOH 8-88 und NVA [g]

	PVOH	Wasser	RS	NE	TEC	PS 80	MCT	NVA
Emulsion mit NVA	0,6	24,4	0,0	0,0	0,0	0,0	75,0	3,8

### 2.2.3.6 Emulsionen mit Polyvinylalkohol (PVOH) zur Prüfung der mechanischen Eigenschaften der aus ihnen gewonnenen Filme

90 g gereinigtes Wasser werden auf ca. 80 °C erhitzt. 10 g PVOH (Mowiol 8-88) werden unter Rühren (Magnetrührer MR 3001 K, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, D-Schwabach) zugegeben und die Mischung bei 250 UpM gerührt bis sich der PVOH vollständig gelöst hat. Die Lösung wird bis zum Erkalten gerührt. 10 g dieser 10%igen Lösung und 30 g mittelkettigen Triglyceriden (MCT, Miglyol 812) werden mit dem Rotor-Stator-Homogenisator (Ultra Turrax T5, IKA-Werke GmbH & Co. KG, D-Staufen) bei 8.000 UpM in eine Emulsion überführt, indem die PVOH-Lösung vorgelegt und der MCT in Anteilen von 1-3 mL zugegeben wird.

In einer Metallschale werden 10 g PVOH mit 20 g gereinigtem Wasser versetzt und auf ca. 80 °C erhitzt. Es wird gelegentlich mit einem Pistill gemischt, bis sich der PVOH gelöst hat. Anschließend wird die Mischung auf einen Wassergehalt von 50 % eingedickt. In 6,1 g der 50%igen PVOH-Mischung werden 21,4 g Dispersion in Anteilen eingearbeitet. Das entstandene Eudragit-PVOH-Gel wird in 11 g der Emulsion in Anteilen eingearbeitet.

Tabelle 2.2-6: Zusammensetzung von Emulsionen mit PVOH, aus denen Filme zur Testung der mechanischen Eigenschaften hergestellt wurden [g]

Benennung	PVOH	Wasser	RS	NE	TEC	PS 80	MCT
NE/RS 0/100	8,0	50,5	15,9	0,0	4,0	1,6	20,0
NE/RS 25/75	8,0	51,2	11,9	4,3	3,0	1,6	20,0
NE/RS 40/60	8,0	51,6	9,5	6,8	2,4	1,6	20,0
NE/RS 50/50	8,0	51,9	7,9	8,5	2,0	1,6	20,0
NE/RS 60/40	8,0	52,1	6,4	10,2	1,6	1,6	20,0
NE/RS 75/25	8,0	52,6	4,0	12,8	1,0	1,6	20,0
NE/RS 0/100	8,0	53,2	0,0	17,0	0,0	1,6	20,0

### 2.2.3.7 Emulsionen zur Herstellung von Filmen zur Wasserfestigkeitsprüfung

Emulsionen zur Herstellung von Filmen zur Wasserfestigkeitsprüfung werden analog zu 2.2.3.6 hergestellt. Vor der Homogenisierung werden entweder 1,5 % Coffein in der Wasserphase (Wasser und Eudragit-Dispersion) oder 5 % Diethylbutamidotriazon (DEBT) in der Ölphase (MCT, Miglyol 812) gelöst.

Tabelle 2.2-7: Emulsionen mit PVOH und Coffein zur Wasserfestigkeitsprüfung der aus ihnen gewonnenen Filme [g]

Benennung	PVOH	Wasser	RS	NE	TEC	PS 80	MCT	Coffein
NE/RS 0/100	8,0	49,4	15,9	0,0	4,0	1,6	20,0	1,1
NE/RS 25/75	8,0	50,1	11,9	4,3	3,0	1,6	20,0	1,1
NE/RS 40/60	8,0	50,5	9,5	6,8	2,4	1,6	20,0	1,1
NE/RS 50/50	8,0	50,7	7,9	8,5	2,0	1,6	20,0	1,1
NE/RS 60/40	8,0	51,0	6,4	10,2	1,6	1,6	20,0	1,2
NE/RS 75/25	8,0	51,4	4,0	12,8	1,0	1,6	20,0	1,2
NE/RS 0/100	8,0	52,1	0,0	17,0	0,0	1,6	20,0	1,2

Tabelle 2.2-8: Emulsionen mit PVOH und DEBT zur Wasserfestigkeitsprüfung der aus ihnen gewonnenen Filme [g]

Benennung	PVOH	Wasser	RS	NE	TEC	PS 80	MCT	DEBT
NE/RS 0/100	8,0	50,5	15,9	0,0	4,0	1,6	19,0	1,0
NE/RS 25/75	8,0	51,2	11,9	4,3	3,0	1,6	19,0	1,0
NE/RS 40/60	8,0	51,6	9,5	6,8	2,4	1,6	19,0	1,0
NE/RS 50/50	8,0	51,9	7,9	8,5	2,0	1,6	19,0	1,0
NE/RS 60/40	8,0	52,1	6,4	10,2	1,6	1,6	19,0	1,0
NE/RS 75/25	8,0	52,6	4,0	12,8	1,0	1,6	19,0	1,0
NE/RS 0/100	8,0	53,2	0,0	17,0	0,0	1,6	19,0	1,0

### 2.2.3.8 Emulsionen mit PVOH zur Untersuchung der Nonivamid-Freisetzung, Permeation und Penetration

90 g gereinigtes Wasser werden auf ca. 80 °C erhitzt. 10 g PVOH (Mowiol 8-88) werden unter Rühren (Magnetrührer MR 3001 K, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, D-Schwabach) zugegeben und die Mischung bei 250 UpM gerührt bis sich der PVOH vollständig gelöst hat. Die Lösung wird bis zum Erkalten gerührt. 28,5 g mittelkettige Triglyceride (MCT, Miglyol 812) werden auf ca. 70 °C erhitzt. 1,5 g Nonivamid werden unter Rühren zugegeben und die Mischung bei 250 UpM gerührt bis sich das NVA vollständig gelöst hat (Magnetrührer MR 3001 K, Heidolph Instruments GmbH & Co.

KG, D-Schwabach). Die Lösung wird bis zum Erkalten gerührt. 10 g der 10%igen PVOH-Lösung und 30 g der NVA-Lösung in MCT werden mit dem Rotor-Stator-Homogenisator (Ultra Turrax T5, IKA-Werke GmbH & Co. KG, D-Staufen) bei 12.000, 9.500 oder 8.000 UpM in eine Emulsion überführt, indem die PVOH-Lösung vorgelegt und die NVA-Lösung in MCT in Anteilen von 1-3 mL zugegeben wird.

In einer Metallschale werden 10 g PVOH mit 20 g gereinigtem Wasser versetzt und auf ca. 80 °C erhitzt. Es wird gelegentlich mit einem Pistill gemischt, bis sich der PVOH gelöst hat. Anschließend wird die Mischung auf einen Wassergehalt von 50 % eingedickt. In 6,1 g der 50%igen PVOH-Mischung werden 21,4 g Dispersion in Anteilen eingearbeitet. Das entstandene Eudragit-PVOH-Gel wird in 11 g der Emulsion in Anteilen eingearbeitet. Die Zusammensetzung der Emulsionen zur Untersuchung von Freisetzung, Permeation und Penetration sind in den Tabellen 2.2-9, 2.2-10 und 2.2-11 wiedergegeben.

Tabelle 2.2-9: Zusammensetzung von Emulsionen, die zur Freisetzungsuntersuchung verwendet wurden [g]

Benennung	PVOH 8-88	PVOH 4-88	Wasser	RS	NE	TEC	PS 80	MCT	NVA
NE/RS 0/100									
10 % PVOH 8-88	8,0	0	50,5	15,9	0,0	4,0	1,6	19,0	1,0
7,5 % TEC 3 % PS									
NE/RS 40/60	8,0	0	51,6	9,5	6,8	2,4	1,6	19,0	1,0
10 % PVOH 4-88	0	8,0	50,5	15,9	0,0	4,0	1,6	19,0	1,0
5 % PVOH 8-88	4,0	0	50,5	15,9	0,0	4,0	1,6	19,0	1,0
4,5 % TEC 3 % PS	8,0	0	50,5	17,5	0,0	2,4	1,6	19,0	1,0
7,5 % TEC	8,0	0	50,5	17,5	0,0	4,0	0,0	19,0	1,0
10,5 % TEC	8,0	0	50,5	15,9	0,0	5,6	0,0	19,0	1,0
8 % PS	8,0	0	50,5	17,2	0,0	0,0	4,2	19,0	1,0

Tabelle 2.2-10: Zusammensetzung von Emulsionen, die zur Permeationsuntersuchung verwendet wurden [g]

Benennung	PVOH 8-88	PVOH 4-88	Wasser	RS	NE	TEC	PS 80	MCT	NVA
NE/RS 0/100 7,5 % TEC 3 % PS	8,0	0	50,5	15,9	0,0	4,0	1,6	19,0	1,0
NE/RS 40/60 7,5 % TEC	8,0	0	51,6	9,5	6,8	2,4	1,6	19,0	1,0
8 % PS	8,0	0	50,5	17,5	0,0	4,0	0,0	19,0	1,0
	8,0	0	50,5	17,2	0,0	0,0	4,2	19,0	1,0

Tabelle 2.2-11: Zusammensetzung der Emulsion, die zur Penetrationsuntersuchung verwendet wurde [g]

Benennung	PVOH 8-88	PVOH 4-88	Wasser	RS	NE	TEC	PS 80	MCT	NVA
NE/RS 40/60	8,0	0	51,6	9,5	6,8	2,4	1,6	19,0	1,0

### 2.2.3.9 Herstellung von Hydrophiler Nonivamid Creme 1 %, 0,1 %, 0,05 %, 0,025 %

Hydrophile Nonivamid Creme 1 %, 0,1 %, 0,05 %, 0,025 % wird analog zu „Hydrophile Capsaicin Creme 0,1 %/0,05 %/0,025 % NRF 11.125“ hergestellt.

Durch lösen der entsprechenden Menge Nonivamid (NVA) in Ethanol 90 % (V/V) werden 5 g einer ethanolische Nonivamid-Lösung hergestellt.

Die ethanolische NVA-Lösung wird nicht wie in der Monografie „Hydrophile Capsaicin Creme NRF 11.125“ beschrieben erst mit Propylenglycol und Wasser gemischt und dann die Mischung in Basiscreme eingearbeitet, das dies zum Ausfallen des NVAs führen würde. Stattdessen werden in 25 g Basiscreme DAC eine Mischung aus 5 g Propylenglycol und 18,75 g gereinigtem Wasser eingearbeitet. Anschließend werden die 5 g ethanolische NVA-Lösung eingearbeitet.

Tabelle 2.2-12: Zusammensetzung von Hydrophiler Nonivamid Creme 1 %, 0,1 %, 0,05 %, 0,025 % [g]

	HNC 1 %	HNC 0,1 %	HNC 0,05 %	HNC 0,025 %
Wasser	50,0	50,0	50,0	50,0
Glycerolmono- stearat	2,0	2,0	2,0	2,0
Cetylalkohol	3,0	3,0	3,0	3,0
Vaselin, weiß	12,8	12,8	12,8	12,8
MCT	3,8	3,8	3,8	3,8
PEG-20- glycerolmonostearat	3,6	3,6	3,6	3,6
Propylenglycol	15,0	15,0	15,0	15,0
Ethanol 90 % (V/V)	9,0	9,9	9,95	9,975
Nonivamid	1,0	0,1	0,05	0,025



## **2.2.4 Herstellung von Emulsionsfilmen**

### **2.2.4.1 Trocknung von Emulsionen auf dem Wasserbad**

100 µL Emulsion (entsprechend 1 mg/cm<sup>2</sup>) werden mit einer 1 mL Spritze (B-Braun AG, D-Melsungen) mit Kanüle (0,9x40mm B-Braun AG, D-Melsungen) auf einen Glasobjektträger (VWR International GmbH; D-Darmstadt) aufgebracht und mit einem gesättigten Fingerling gleichmäßig verteilt. Der Objektträger wird in einem eigens angefertigten Drahtnetz in ein Becherglas eingehängt, in welchem sich auf 32 °C temperiertes Wasser befindet. Der Objektträger wird für 15 min auf der Wasseroberfläche belassen.

### **2.2.4.2 Herstellung von Emulsionsfilmen auf hitzeseparierter Epidermis**

Auf einen Glasobjektträger wird ein mit isotoner Natriumchloridlösung getränktes Stück Papiertuch gelegt. Darauf wird ein Stück hitzeseparierte Epidermis (2.2.11.3) platziert. Mit einer 1 mL Spritze (B-Braun AG, D-Melsungen) mit Kanüle (0,9x40mm B-Braun AG, D-Melsungen) wird die filmbildende Emulsion auf die HSE aufgebracht und mit Hilfe eines gesättigten Fingerlings homogen verteilt. Der Objektträger (VWR International GmbH; D-Darmstadt) wird in einem eigens angefertigten Drahtnetz in ein Becherglas eingehängt, in welchem sich auf 32 °C temperiertes Wasser befindet. Der Objektträger wird für 15 min auf der Wasseroberfläche belassen.

### **2.2.4.3 Herstellung freier Filme aus Emulsionen**

Zur Herstellung freier Filme wird das von Grützmann (2005) entwickelte Filmziehgerät verwendet. Es besteht im Wesentlichen aus einem Reservoir mit definierter Öffnung (0,4 mm) und einer teflonbeschichteten Glasplatte, welche von unten beheizt werden kann. Das Reservoir wird mit Emulsion befüllt und mit konstanter Geschwindigkeit über die auf 30 °C erwärmte Glasplatte bewegt. Dabei läuft die Emulsion in definierter Schichtdicke durch die Öffnung aus (resultierende Filmdicke: ca. 140 µm). Abbildung 2.2-1 zeigt eine schematische Darstellung des Filmziehgeräts. Die mit Emulsion beschichteten Platten werden auf dem Gerät belassen bis der Großteil des Wassers verdunstet ist – sichtbar durch die Bildung eines relativ klaren Films aus den zuvor weißen Emulsionen – und anschließend in den Trockenschrank verbracht, wo sie 24 h bei 40 °C getrocknet werden. Diese so genannte Temperung ist ein übliches Verfahren (Obara und McGinity 1994, Glaessl, et al. 2010; Grützmann und Wagner 2005) um eine möglichst vollständige Filmbildung aus Polymerdispersionen zu erhalten. Sie wird hier

außerdem angewandt, um Unterschiede in den Filmen, die durch unterschiedliche Liegezeiten auf dem Filmziehgerät entstanden sein könnten, zu beseitigen.

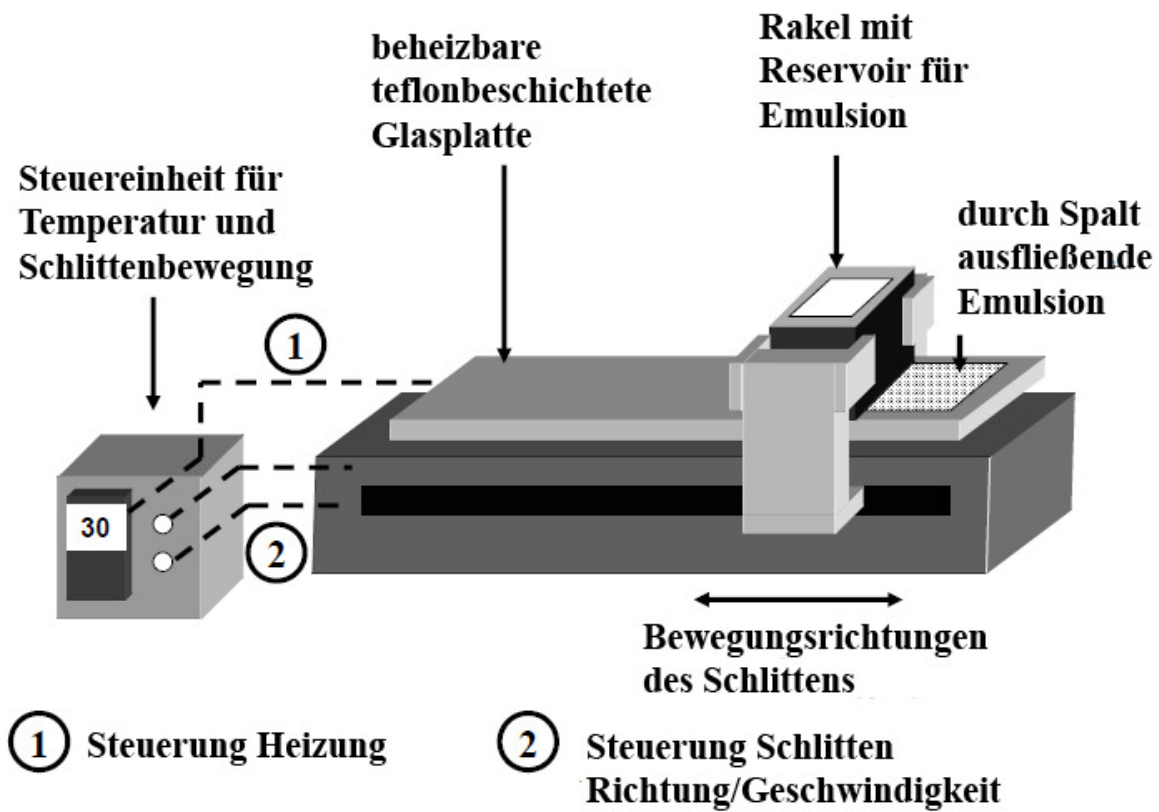


Abbildung 2.2-1: Schematische Darstellung des Filmziehgeräts; modifiziert nach Grützmann

## 2.2.5 Charakterisierung der verwendeten Hilfsstoffe

### 2.2.5.1 Bestimmung der Glasübergangstemperatur

Die (weichgemachten) Polymerdispersionen (vgl.: 2.2.1) werden auf teflonbeschichteten Glasplatten bei ca. 40 °C getrocknet (Heraeus, Thermo Fisher Scientific Inc., D-Langensfeld). Die entstandenen Filme werden zerkleinert und jeweils 20 mg in Standardaluminiumtiegel eingewogen. Der Tiegeldeckel wird gelocht und die Tiegel kaltverschweißt. Die Bestimmung der Glasübergangstemperatur erfolgt an der DSC 820 (Mettler-Toledo GmbH, D-Giessen) analog zu DIN 53765 und DIN EN ISO 11357-1 (Deutsches Institut für Normung, 1994; Deutsches Institut für Normung, 1997). Die Filmprobe und die Referenzsubstanz (ca. 20 mg Aluminiumoxid) werden etwa 50 K über die erwartete Glasübergangstemperatur aufgeheizt, ca. 50 K unter die erwartete Glasübergangstemperatur abgekühlt und erneut 50 K über die erwartete Glasübergangstemperatur aufgeheizt. Die Glasübergangstemperatur wird aus der zweiten Aufheizkurve nach Gleichung 2.2-1 bestimmt.

$$T_g = 0,5 \cdot (T_{onset} + T_{endset})$$

Gleichung 2.2-1

### 2.2.5.2 Verträglichkeit wasserlöslicher Polymere mit Eudragitdispersionen

Eudragit RS 30D wird mit 7,5 % TEC weichgemacht. Eudragit NE 30D wird ohne Vorbehandlung verwendet. 2,5 % HPMC oder 10 % PVP werden in der Eudragit-Dispersion gelöst. Zu 65 Teilen dieser Mischung werden 15 Teile einer Lösung von 2,5 % HPMC oder 10 % PVP gegeben und homogen vermischt. 15 mL der Mischungen werden in Plastik Tubes (VWR International GmbH; D-Darmstadt) abgefüllt und über 4 Monate bei Raumtemperatur gelagert.

In einer Metallschale werden 10 g PVOH mit 20 g gereinigtem Wasser versetzt und auf ca. 80 °C erhitzt. Es wird gelegentlich mit einem Pistill gemischt, bis sich der PVOH gelöst hat. Anschließend wird die Mischung auf einen Wassergehalt von 75 % eingedickt. In 10 g der PVOH-Lösung werden 25 g Dispersion in Anteilen eingearbeitet. 15 mL der Mischungen werden in Plastik Tubes (VWR International GmbH; D-Darmstadt) abgefüllt und über 4 Monate bei Raumtemperatur gelagert.

Nach der Lagerzeit wird das Aussehen der Mischungen visuell, mikroskopisch und ramanmikroskopisch beurteilt.

### 2.2.5.3 Bestimmung der Dichte

Die Dichte wird mit Hilfe des Biegeschwinger-Dichtemessgerätes (DMA 4500 Density Meter, Anton Paar GmbH, D-Ostfildern) bestimmt. Es erfolgt eine Dreifachbestimmung.

### 2.2.5.4 Bestimmung der Viskosität wässriger Polymerlösungen

Die Bestimmung der Viskosität erfolgt am Kapillarviskosimeter nach Ubbelohde. Abweichend von der Monografie 2.2.9 des Europäischen Arzneibuchs (Europäisches Arzneibuch Ausgabe 7.1, 2011) wird bei 30 °C gearbeitet. Die Wahl der Kapillare richtet sich nach der Durchlaufzeit, die mindestens 200 s betragen muss. Es wird eine Dreifachbestimmung durchgeführt. Die Durchlaufzeiten von 2 aufeinander folgenden Messungen dürfen sich dabei nicht um mehr als 2 % unterscheiden. Aus der Durchlaufzeit kann mit Hilfe der Kapillarkonstante und der Dichte die dynamische Viskosität nach Gleichung 2.2-2 berechnet werden.

$$\eta = \rho \cdot t \cdot k$$

Gleichung 2.2-2:

$\eta$  = dynamische Viskosität [mPas]

$\rho$  = Dichte [g/mL]

$k$  = Kapillarkonstante [mm<sup>2</sup>/s<sup>2</sup>]

$t$  = Durchlaufzeit [s]

Es werden Kapillaren mit den Kapillarkonstanten 0,3154 mm<sup>2</sup>/s<sup>2</sup> oder 0,02726 mm<sup>2</sup>/s<sup>2</sup> verwendet.

### 2.2.5.5 Bestimmung der Grenzflächenspannung

Die Messungen werden am Profilanalysentensiometer (Sinterface Technologies GbR, D-Berlin) durchgeführt. Die Messzelle wird auf 23 °C temperiert. Es wird ein senkrecht an einer Kapillare hängender Tropfen erzeugt. Über einen Zeitraum von 900 s werden im Abstand von einer Sekunde von einer integrierten CCD-Kamera Bilder des Tropfens aufgenommen und an den Computer weitergeleitet. Das Volumen des Tropfens wird während der Messung konstant gehalten (20-25 mm<sup>3</sup>).

An die Messung schließt sich ein fitting an (Softwaremodul Fitting Version 5.06).

Eine genaue Beschreibung der Methode findet sich bei Maurath (Maurath 2007).

Zur grafischen Darstellung des Verlaufs werden die ermittelten Werte der Grenzflächenspannungen gegen die Zeit aufgetragen. Des Weiteren werden die

ermittelten Grenzflächenspannungen gegen  $1/\sqrt{t}$  aufgetragen. Durch die Berechnung des y-Achsenabschnitts einer Regressionsgerade, die durch die zwischen 600 und 900 s aufgenommenen Werte der Grenzflächenspannung führt (entspricht dem linearen Abschnitt in der Auftragung  $\sigma$  gegen  $t$ ), wird der Gleichgewichtswert der Grenzflächenspannung erhalten. Diese Methode führt zu Ergebnissen, die zu geringfügig kleineren Werten verschoben sind. Wird allerdings darauf geachtet, dass nur der Bereich zur Bestimmung der Grenzflächenspannung herangezogen wird, in dem sie sich kaum noch ändert, so können für Vergleichsmessungen hinreichend genaue Ergebnisse erhalten werden (Makievski, et al. 1997). Ausreißer werden von Darstellung und Auswertung ausgeschlossen. Es wird eine Dreifach-Bestimmung durchgeführt.

## **2.2.6 Charakterisierung der Emulsionen**

### **2.2.6.1 Tröpfchengrößenbestimmung mit Hilfe der Laserbeugung**

Die Bestimmung der Tröpfchengrößenverteilung erfolgt mit dem Mastersizer 2000 und der Dispergiereinheit Hydro 2000 (Malvern Instruments GmbH, D-Herrenberg). Hierzu werden jeder Emulsion drei Aliquote von ca. 1 mL entnommen und mit ca. 50 mL demineralisiertem Wasser verdünnt. Von dieser Vorverdünnung wird eine ausreichende Menge in die mit Wasser befüllte Dispergiereinheit gegeben (die Laserverdunkelung soll laut Hersteller zwischen 10 und 20 % liegen (Malvern 2000)) und mit dem integrierten Rührer bei 17.500 UpM gerührt. Nach 30 s wird die erste von drei im Abstand von 30 s erfolgenden Messungen gestartet. Die Auswertung erfolgt nach der Mie-Theorie, wobei ein Absorptionsindex von 0 und ein Refraktionsindex von 1,4493 angenommen wird (Malvern 1997). Aus diesen Messungen werden die d10, d50 und d90-Werte bestimmt. D. h. die Tröpfchengröße, unter der 10 %, 50 % bzw. 90 % (V/V) der Tröpfchen liegen. Es wird der Mittelwert aus den 3 Messungen gebildet. Bei der Bewertung der Ergebnisse ist zu beachten, dass Tröpfchengrößen unter 0,5 µm nicht exakt bestimmt werden können.

## 2.2.7 Charakterisierung der Filme

### 2.2.7.1 Bestimmung der nominellen Bruchdehnung der freien Filme

Die nach 1.1.1 hergestellten Filme werden mit einem Skalpell in rechteckige Stücke (1,5x10 cm) geschnitten. Die Filmstücke werden spannungsfrei zwischen die Backen (8195.05) des Materialprüfers (DO-FB0.5TS, Zwick GmbH & Co. KG, D-Ulm) eingespannt, wobei darauf zu achten ist, dass die Filmstücke lotrecht eingespannt werden. Die Backen werden sodann mit konstanter Geschwindigkeit (10 mm/min) auseinander gefahren. Dabei werden Kraft und Weg aufgezeichnet. Die nominelle Bruchdehnung berechnet sich nach Gleichung 2.2-3 (Deutsches Institut für Normung, 1996). Filme, die nicht mittig brechen werden nicht in die Auswertung aufgenommen. Es wird eine Fünffach-Bestimmung durchgeführt.

$$D_{nom} [\%] = \frac{l_0}{l_{max} - l_0} * 100 \quad \text{Gleichung 2.2-3}$$

$D_{nom}$  = nominelle Bruchdehnung [%]

$l_0$  = Einspannlänge vor Prüfungsbeginn [cm]

$l_{max}$  = Einspannlänge bei Bruch [cm]

### 2.2.7.2 Bestimmung der Adhäsion freier Filme an Glas und Polycarbonat

Die Adhäsionstestung erfolgt analog zu einer von Repka und McGinity entwickelten Methode (Repka und McGinity 2001). Dazu wird der Materialprüfer (DO-FB0.5TS, Zwick GmbH & Co. KG, D-Ulm) mit zwei planen Testwerkzeugen (Eigenanfertigung, Werkstatt des Pharmazeutischen Instituts der Universität Tübingen) ausgestattet. Am unteren, feststehenden Testwerkzeug wird eine Glas- oder Polycarbonatplatte mit doppelseitigem Klebeband (Tesa Verlegeband 05696-00010) befestigt. Am oberen, beweglichen Testwerkzeug werden kreisförmige Filmstücke mit einem Durchmesser von 3,5 cm ebenfalls mit doppelseitigem Klebeband (Tesa Verlegeband 05696-00010) befestigt. Um die druckinduzierte Eigenadhäsion der Filme zu messen, wird das obere, mit dem Filmstück bestückte Prüfwerkzeug auf die Glas- oder Polycarbonatplatte herabgesenkt und für 180 s mit einer Kraft von 10 N darauf gepresst. Anschließend wird das Prüfwerkzeug samt Film mit einer Geschwindigkeit von 1 mm/min angehoben und in die Ausgangsposition zurückgefahren. Kraft und Weg werden aufgezeichnet. Im Anschluss wird das Filmstück mit Isopropanol benetzt, das Verfahren wiederholt und

dabei die Adhäsion der befeuchteten Filme an Glas bzw. Polycarbonat bestimmt. Die Adhäsionskraft berechnet sich aus der Differenz von Adhäsion der befeuchteten Filme und Eigenadhäsion. Es wird eine Fünffach-Bestimmung durchgeführt.

### **2.2.7.3 Wasserfestigkeit**

Aus den nach 2.2.3.7 hergestellten Emulsionen werden Filme hergestellt (1.1.1) und mit einem Skalpell in rechteckige Stücke von 5x5 cm geschnitten. Die Filme, die entweder Coffein oder DEBT enthalten, werden in 100 mL gereinigtes Wasser gelegt und für 80 min bei 50 UpM gerührt (Westphal 2010). Anschließend werden die Filme entnommen und die Konzentration von Coffein oder DEBT im Wasser UV-Spektrometrisch bei 273 bzw. 310 nm untersucht (Mikroplattenleser Synergy HT, BioTek Germany, D-Bad Friedrichshall). Es wird eine Dreifach-Bestimmung durchgeführt.



## **2.2.8 Mikroskopische Methoden**

### **2.2.8.1 Lichtmikroskopische Charakterisierung der Emulsionen**

Die mikroskopische Untersuchung der Emulsionen erfolgt mit dem Axio Imager Z.1 (Carl Zeiss Jena GmbH, D-Jena). Dazu wird ein Tropfen der Emulsion auf einem Objektträger mit etwas Wasser verdünnt. Bei 40- oder 63facher Vergrößerung (EC Plan-NEOFLUAR 40x/0,75 oder Plan-APOCHROMAT 63x/1,4 Oil und PI 10x/25) werden mindestens drei Bildausschnitte betrachtet und Bilder derselben mit Hilfe der integrierten Kamera (AxioCam MRm) aufgenommen, um die Plausibilität der mit Hilfe der Laserdiffraktometrie erhaltenen Ergebnisse der Tröpfchengrößenbestimmung zu überprüfen. Dabei ist zu beachten, dass es sich bei der mikroskopischen Betrachtung um eine Anzahlverteilung und bei der Tröpfchengrößenbestimmung mittels Laserdiffraktometrie um eine Volumenverteilung handelt, in die der Radius der Tröpfchen in der dritten Potenz eingeht. Somit werden größere Tröpfchen stärker gewichtet. Die Ergebnisse beider Methoden sind nicht direkt vergleichbar, zur Überprüfung der Plausibilität der Laserdiffraktometrie-Ergebnisse ist die mikroskopische Betrachtung der Emulsionen aber völlig ausreichend.

### **2.2.8.2 Konfokale ramanmikroskopische Charakterisierung von Polymermischungen, Emulsionen und Filmen**

Wird ein Stoff mit monochromatischem Licht bestrahlt, so wird der Großteil der Photonen elastisch gestreut, d. h. Licht der gleichen Wellenlänge wird zurückgeworfen. Ein sehr kleiner Teil der Photonen wird allerdings unelastisch gestreut, d. h. dass die Energie der gestreuten Photonen verschieden ist von der der eingestrahlten Photonen. Dieser Effekt beruht darauf, dass das Photon mit dem Stoff in Interaktion tritt und ihn zu Schwingungen anregt. Dabei ist die Energie-Verschiebung der Raman gestreuten Photonen charakteristisch für die untersuchte Substanz. Es entsteht ein Substanzspezifisches Streuungsmuster (Spektrum), welches zur Identifizierung von Substanzen sowie zur Untersuchung der Verteilung von Substanzen in Substanzmischungen herangezogen werden kann.

Um die Verteilung und Lokalisation der einzelnen Bestandteile in Polymermischungen, Emulsionen und getrockneten Emulsionsfilmen genauer untersuchen zu können, werden ramanmikroskopische Aufnahmen angefertigt. Es wird das konfokale Raman-Mikroskop alpha 500 mit einer Anregungswellenlänge von 523 nm, dem Spektrometer UHTS 300 und der CCD-Kamera DV401-BV verwendet (WiTec GmbH, D-Ulm). Es wird

ein Bereich von 15x15 µm (8100 Pixel) mit Hilfe eines Ölimmersionsobjektivs (100x/NA: 1,25) untersucht und mit Hilfe der Software WiTecProject 2.02 ein Falschfarbenbild erstellt. Hierbei enthält jedes Pixel ein komplettes Raman-Spektrum, das ein Mischspektrum der an diesem Punkt vorliegenden Substanzen darstellt. Sind die Spektren der reinen Substanzen bekannt, so kann mit ihrer Hilfe die Lokalisation der einzelnen Substanzen im betrachteten Bereich berechnet werden. Wird nun jeder Substanz eine Farbe zugeordnet, so kann die Verteilung der Substanzen optisch in einem Falschfarbenbild dargestellt werden.

### **2.2.8.3 Rasterelektronenmikroskopische Charakterisierung der Filme**

Filmstücke werden mit doppelseitig klebendem Kohleband auf Aluminium-Probenträgern fixiert und vorsichtig abgeblasen um anhaftenden Staub zu entfernen. Die Präparate werden viermal für je 60 s bei 2,1 kV und 20 mA gesputtert (Sputtercoater E 5100, Bio-Rad GmbH, D-München). Zwischen den einzelnen Sputtergängen werden die Proben für 3-5 min gekühlt. Die gesputterten Präparate werden bei einer Beschleunigungsspannung von 5 kV am Rasterelektronenmikroskop (Rasterelektronenmikroskop DMS940, Carl Zeiss Jena GmbH, D-Jena) untersucht.

### **2.2.9 Sättigungslöslichkeit von Nonivamid**

Die Sättigungslöslichkeit von Nonivamid wird in Phosphatpuffer pH 7,4 sowie Phosphatpuffer pH 7,4 mit Zusatz von 10 % PEG 200, 400 oder 600 und Phosphatpuffer pH 7,4 mit 20 % PEG 600 untersucht. Dazu wird ein Überschuss NVA in 20 mL Messkolben eingewogen, mit dem jeweiligen Medium auf 20 mL aufgefüllt und die Mischung 48 h bei Raumtemperatur geschüttelt (KL2, Edmund Bühler Laborgerätebau Glastechnik Umwelttechnik; D-Tübingen). Anschließend werden 15 mL in Zentrifugenröhrchen gefüllt und bei 5.300 UpM 30 min zentrifugiert. Der Überstand wird mit einer Spritze aufgezogen und über einen Celluloseacetatfilter (0,2 µm Porengröße) filtriert. Die ersten 10 mL werden verworfen, danach wird 1 mL in ein HPLC-Vial gefüllt und der NVA-Gehalt bestimmt (2.2.14.2).

## **2.2.10 Freisetzungsuntersuchungen**

### **2.2.10.1 Standardmethode zur Freisetzung von Emulsionsfilmen**

Vor den Freisetzungsuntersuchungen muss aus den Emulsionen ein Film hergestellt werden. Dazu werden die Donorkompartimente am Schliff eingefettet (Laborfett glisseal HV, Borer Chemie AG, CH-Zuchwil), Filtermembranen (Nuclepore Track Etched Membranes, Polycarbonat, 0,03 µm Porengröße, 25 mm Durchmesser, Whatman International Ltd., D-Dassel) an ihrer Unterseite befestigt (die Filtermembranen bleiben am Schliff fett kleben) und 0,1 mL filmbildende Emulsion mit einer Spritze (Tuberkulin-Spritze 1 mL, B-Braun AG, D-Melsungen) in das Donorkompartiment eingefüllt und gleichmäßig auf der Filtermembran verteilt. Anschließend werden die befüllten Donorkompartimente 12 h bei 32 °C gelagert. Das Freisetzungsmedium (Phosphatpuffer pH 7,4 mit 20 % PEG 600) wird entgast, auf 32 °C temperiert und in die Rezeptorkompartimente der Franz-Zellen eingefüllt. Jede Franz-Zelle wird mit einem Magnetührstäbchen versehen. Die Donorkompartimente werden aufgesetzt und mit einer Klammer befestigt. Die Rezeptorkompartimente werden mit temperiertem Freisetzungsmedium auf 12 mL aufgefüllt und in ein auf 32 °C temperiertes Wasserbad verbracht (Einhängethermostat Lauda alpha und Wasserbad Lauda 020T, Thermo Fisher Scientific Inc., D-Langenselbold). Das Akzeptormedium wird mit 500 UpM gerührt (Mehrstellenmagnetrührer, Thermo Fisher Scientific Inc., D-Langenselbold). Bei Festlegung von Probenzugszeiten und Probenvolumina ist darauf zu achten, dass die Untersuchung beendet wird sobald (bzw. bevor) 30 % des Nonivamids freigesetzt sind und die Probenvolumina so gewählt werden, dass zu jedem Zeitpunkt sink-Bedingungen vorliegen, da sonst die Bedingungen zur Gültigkeit der Higuchi-Beziehung nicht erfüllt sind. Daher werden die Freisetzungsuntersuchungen bei Emulsionen, die eine geringe Gesamtmenge Nonivamid freisetzen über 24 h mit einem Probenvolumen von 0,2 mL und bei Emulsionen, die eine hohe Gesamtmenge Nonivamid freisetzen über 21 h und mit einem Probenvolumen von 1 mL durchgeführt. Während des Beobachtungszeitraums von 12-24 h bzw. 12-21 h werden jeweils 5 Proben entnommen und der Nonivamidgehalt bestimmt (2.2.14.2, Freisetzungsmethode).

### **2.2.10.2 Freisetzung von Hydrophiler Nonivamidcreme 1 %**

Zu Vergleichszwecken wird die Freisetzung von Nonivamid aus der schnell freisetzenden Hydrophilen Nonivamid Creme 1 % untersucht. Dazu werden die Donorkompartimente am Schliff eingefettet (Laborfett glisseal HV, Borer Chemie AG,

CH-Zuchwil), Filtermembranen (Nuclepore Track Etched Membranes, Polycarbonat, 0,03 µm Porengröße, 25 mm Durchmesser, Whatman International Ltd., D-Dassel) an ihrer Unterseite befestigt (die Filtermembranen bleiben am Schliff fett kleben) und 0,1 mL hydrophile Nonivamid Creme mit einer Spritze (Tuberkulin-Spritze 1 mL, B-Braun AG, D-Melsungen) in das Donorkompartiment eingefüllt und gleichmäßig auf der Filtermembran verteilt. Das Freisetzungsmedium (Phosphatpuffer pH 7,4 mit 20 % PEG 600) wird entgast, auf 32 °C temperiert und in die Rezeptorkompartimente der Franz-Zellen eingefüllt. Jede Franz-Zelle wird mit einem Magnetührstäbchen versehen. Die Donorkompartimente werden aufgesetzt und mit einer Klammer befestigt. Die Rezeptorkompartimente werden mit temperiertem Freisetzungsmedium auf 12 mL aufgefüllt und in ein auf 32 °C temperiertes Wasserbad verbracht (Einhängethermostat Lauda alpha und Wasserbad Lauda 020T, Thermo Fisher Scientific Inc., D-Langensfeld). Die Donorkompartimente werden mit Parafilm (American National Can™) verschlossen um die Verdunstung von Wasser zu reduzieren. Das Akzeptormedium wird mit 500 UpM gerührt (Mehrstellenmagnetrührer, Thermo Fisher Scientific Inc., D-Langensfeld). Es werden nach 3, 5, 6, 8, 12 und 24 h Proben von 1 mL entnommen und der Nonivamidgehalt bestimmt (2.2.14.2; Freisetzungsmethode).

## **2.2.11 Hautpräparationen**

Die für die Untersuchungen an Schweinehaut verwendeten Schweineohren werden von der Abteilung für experimentelle Medizin des Universitätsklinikums Tübingen zur Verfügung gestellt. Das Todesdatum, sowie die Ohrmarkennummer des Schweins und etwaige Besonderheiten werden dokumentiert. Die Ohren werden bis zur Weiterverwendung bei 4-8 °C gelagert.

### **2.2.11.1 Präparation von Vollhaut**

Die Schweineohren werden in isotoner Kochsalzlösung gewaschen um anhaftenden Schmutz und Blut zu entfernen. Anschließend werden sie mit Papiertüchern (Wepa Apothekenbedarf GmbH & Co KG, D-Hillscheid) abgetrocknet. Mit einem Skalpell wird die Haut von der Rückseite des Ohrs herunterpräpariert und bis zur Weiterverwendung auf einem mit Ringerlösung getränkten Stück Papiertuch gelagert. Vor dem Einfrieren der Hautstücke werden diese trockengetupft (Schlinggazetupfer unsteril, Gr. 5 Fuhrmann GmbH, D-Much) und in Alufolie verpackt. Schließlich werden sie bis zur weiteren Verwendung bei -30 °C gelagert.

### **2.2.11.2 Präparation von Spalthaut**

Die entsprechend 2.2.11.1 präparierte Schweinehaut wird bei Raumtemperatur innerhalb von 30 min aufgetaut, in Streifen von ca. 3 cm Breite geschnitten und mit handelsüblichen Stecknadeln auf einem Styroporblock befestigt. Mit dem Dermatom GA 630 (Aesculap AG & Co. KG, D-Tuttlingen) wird Haut von 1 mm Dicke in Wuchsrichtung der Haare abpräpariert. Die Hautstreifen werden auf einem mit Ringerlösung getränkten Stück Papiertuch zwischengelagert, bis die benötigte Menge Haut präpariert ist. Dann werden aus den Hautstreifen Stanzen von 2,5 cm Durchmesser genommen (Henkellocheisen 25 mm, Precitool Werkzeughandel GmbH & Co. KG, D-Neuenstein) und diese wiederum auf einem mit Ringerlösung getränkten Stück Papiertuch zwischengelagert bis alle Stanzen angefertigt sind.

### **2.2.11.3 Präparation von hitzeseparierter Epidermis**

Aus frischer Vollhaut (2.2.11.1) werden Stanzen von 25 mm Durchmesser genommen (Turnus Werkzeugfabrik GmbH; D-Remscheid). Die Stanzen werden 90 s in 60 °C heißes Wasser gegeben. Die Stanzen werden trockengetupft (Schlinggazetupfer unsteril, Gr. 5 Fuhrmann GmbH, D-Much) und es wird mit Hilfe von zwei Pinzetten die

Epidermis abgezogen. Die Epidermis wird bis zur Verwendung in mit Ringerlösung gefüllten Petrischalen gelagert.

## 2.2.12 Untersuchung der Arzneistoffabsorption

### 2.2.12.1 Permeationsuntersuchungen – infinite Dosierung

Gefrorene Vollhaut (2.2.11.1) wird 30 min bei Raumtemperatur aufgetaut. Es wird Spalthaut mit einer Dicke von 1 mm hergestellt (2.2.11.2) und daraus Hautstanzen entnommen (Turnus Werkzeugfabrik GmbH; D-Remscheid). Die Hautstanzen werden trockengetupft (Schlinggazetupfer) und auf die mit entgastem, auf 32 °C vortemperiertem Freisetzungsmittel befüllten und gefetteten (Laborfett glisseal HV, Borer Chemie AG, CH-Zuchwil) Franz Zellen (Gauer Glas, D-Püttlingen) verbracht. Die gefetteten Donorkompartimente werden aufgesetzt und mit einer Klammer befestigt. Die mit Spalthaut (1 mm) versehenen Franz Zellen werden in das auf 32 °C temperierte Wasserbad verbracht (Einhängethermostat Lauda alpha und Wasserbad Lauda 020T, Thermo Fisher Scientific Inc., D-Langensfeld) und 30 min äquilibriert. Sodann werden 0,1 mL Zubereitung aufgebracht (Tuberkulin-Spritze 1 mL, B-Braun AG, D-Melsungen) und gleichmäßig auf der Haut verteilt. Handelt es sich bei der Zubereitung um Hydrophile Nonivamid Creme 1 %, so werden die Donorkompartimente mit Parafilm (American National Can™) verschlossen, um die Verdunstung von Wasser zu reduzieren. Das Medium wird mit 500 UpM gerührt (Mehrstellenmagnetrührer, Thermo Fisher Scientific Inc., D-Langensfeld). Es werden im Zeitraum von 20 bis 48 h zu mindestens 5 Zeitpunkten Proben von 0,5 mL entnommen und der Nonivamidgehalt bestimmt (2.2.14.2; Permeationsmethode). Die permeierte Menge wird gegen die Wurzel der Zeit aufgetragen. Durch lineare Regression kann die Permeationsrate als Steigung der resultierenden Geraden berechnet werden. Zur Berechnung des Permeationskoeffizienten ( $K_p$ ) werden Permeationsrate und NVA-Ausgangskonzentration im Donor ins Verhältnis gesetzt (Gleichung 2.2-4).

$$K_p = \frac{J}{c_0} \quad \text{Gleichung 2.2-4}$$

$K_p$  = Permeationskoeffizient

$J$  = Permeationsrate

$c_0$  = Ausgangskonzentration im Donor

### **2.2.12.2 Permeationsuntersuchungen – finite Dosierung**

Gefrorene Vollhaut wird 30 min bei Raumtemperatur aufgetaut. Es wird Spalthaut mit einer Dicke von 1 mm hergestellt (2.2.11.2) und daraus Hautstanzen entnommen (Turnus Werkzeugfabrik GmbH; D-Remscheid). Die Hautstanzen werden trockengetupft (Schlinggazetupfer) und auf die mit entgastem, auf 32 °C vortemperiertem Freisetzungsmedium befüllten und gefetteten (Laborfett glisseal HV, Borer Chemie AG, CH-Zuchwil) Franz Zellen (Gauer Glas, D-Püttlingen) verbracht. Die gefetteten Donorkompartimente werden aufgesetzt und mit einer Klammer befestigt. Die mit Spalthaut (1 mm) versehenen Franz Zellen werden in das auf 32 °C temperierte Wasserbad verbracht (Einhängethermostat Lauda alpha und Wasserbad Lauda 020T, Thermo Fisher Scientific Inc., D-Langenselbold) und 30 min äquilibriert. Anschließend werden die Franz Zellen aus dem Wasserbad entnommen. Mit einer zylindrischen Applikationshilfe werden etwa 4 mg Formulierung (entspricht etwa 2 mg/cm<sup>2</sup>) auf die Haut aufgetragen. Dazu werden etwa 8 mg Formulierung auf die Applikationshilfe mit einem Wattestäbchen aufgebracht und genau gewogen (Excellence Plus, Mettler-Toledo GmbH, D-Giessen). Die Formulierung wird mit wenig Druck und einer Drehbewegung zwecks gleichmäßiger Verteilung auf die Haut aufgebracht und die Applikationshilfe erneut gewogen. Die aufgetragene Masse der Zubereitung ergibt sich aus der Massendifferenz vor und nach der Applikation. Die Franz Zellen werden wieder in das Wasserbad verbracht. Das Medium wird mit 500 UpM gerührt (Mehrstellenmagnetrührer, Thermo Fisher Scientific Inc., D-Langenselbold). Es werden im Zeitraum von 20 bis 48 h zu mindestens 5 Zeitpunkten Proben von 0,5 mL entnommen und der Nonivamidgehalt bestimmt (2.2.14.2; Permeationsmethode).

### **2.2.12.3 Penetrationsuntersuchungen**

Es wird eine von Heck (Heck 2012) entwickelte Methode verwendet. Zunächst wird Spalthaut analog zum Vorgehen bei in-vitro Permeationsuntersuchungen mit finiter Dosis mit der gewünschten Zubereitung inkubiert (2.2.12.2). Nach festgelegten Zeitintervallen werden die Hautstücke aus den Franz-Zellen entnommen, trockengetupft (Schlinggazetupfer unsteril, Gr. 5; Fuhrmann GmbH, D-Much) und die Penetrationsfläche ausgestanzt (Turnus Werkzeugfabrik GmbH; D-Remscheid). Die Hautstanzen werden mit 150 µL isotoner Kochsalzlösung befeuchtet. Nach 20 s wird die Lösung und mit ihr die Zubereitung abgewischt (Schlinggazetupfer unsteril, Gr. 5; Fuhrmann GmbH, D-Much). Die Hautstanzen werden in eigens angefertigte Aluminiumbehälter (Eigenanfertigung, Werkstatt des Pharmazeutischen Instituts der

Universität Tübingen) verbracht und in flüssigem Stickstoff eingefroren. Die Hautstanzen werden in Einbettungsmedium (NEG 50<sup>TM</sup>, Richard-Allan Scientific, US-Kalamazoo) eingebettet und auf dem Objekteller des Kryostats (HM 560 Cryo-Star; Thermo Fisher Scientific Inc., D-Langensfeld) fixiert. Dieser wird dann auf dem Objekthalter des Kryostaten so justiert, dass die Haut parallel zum Messer ausgerichtet ist. Die Objekttemperatur wird auf -30 °C und die Temperatur des Messers auf -32 °C eingestellt. Die Haut wird mit einer Schnittdicke von 16 µm segmentiert und die Schnitte in Zentrifugenröhrchen gesammelt. Die ersten vierzehn Schnitte werden dem Stratum corneum zugeordnet und im ersten Zentrifugenröhrchen (VWR International GmbH; D-Darmstadt) gesammelt, die darauf folgenden vierzehn Schnitte werden der Epidermis zugeordnet und separat gesammelt und die letzten sechsundvierzig Schnitte werden der Dermis zugeordnet und in einem dritten Zentrifugenröhrchen gesammelt. Es werden jeweils 2 mL Methanol (VWR International GmbH; D-Darmstadt) zugegeben und die Verschlüsse der Zentrifugenröhrchen mit Parafilm umwickelt. Sie werden 15 h bei Raumtemperatur mit dem Verschluss nach unten aufrecht gelagert. Anschließend wird die methanolische Lösung entnommen und in Micro-Zentrifugenröhrchen (Micro-Centrifuge Tubes 2 mL, VWR International GmbH; D-Darmstadt) überführt. Diese werden 30 min bei -80 °C gelagert um Proteine auszufällen und anschließend bei 4 °C 90 sec mit 13.500 UpM zentrifugiert (Centrifuge 5430 R; Eppendorf AG, D-Hamburg). 1 mL des Überstands wird in HPLC-Vials (Vial scr. 1,5 mL cl. gl.; VWR International GmbH; D-Darmstadt) überführt und der NVA-Gehalt bestimmt (2.2.14.2; Permeationsmethode).

### **2.2.13 Substantivitätsprüfung**

Gefrorene porcine Vollhaut (2.2.11.1) wird bei Raumtemperatur aufgetaut. Es werden Stanzen von 2,5 cm Durchmesser entnommen (Turnus Werkzeugfabrik GmbH; D-Remscheid). Diese werden auf mit isotoner Kochsalzlösung getränkten Papiertüchern in einer Glasschale auf dem Wasserbad 30 min auf 32 °C temperiert (Einhängethermostat Lauda alpha und Wasserbad Lauda 020T Thermo Fisher Scientific Inc., D-Langensfeld). Mit einem gesättigten Fingerling werden ca. 10 mg der Formulierung aufgebracht und die Hautstücke für 15 min bei 32 °C inkubiert, um eine Filmbildung herbeizuführen. In einer Freisetzungsapparatur (Apparatur 2, Europäisches Arzneibuch 7.0: 2.9.3; Sotax AT7 Sotax AG, CH-Alschwil) wird demineralisiertes Wasser auf 32 °C temperiert. Die Hautstücke werden in die Gefäße der Freisetzungsapparatur verbracht und 20 min dort belassen. Das Wasser wird dabei weiterhin auf 32 °C temperiert und



mit 50 UpM bewegt. Nach der Inkubationszeit werden die Hautstücke entnommen. 50 mL des Wassers werden mit einer Spritze aufgenommen und durch einen Celluloseacetatfilter (Porengröße 0,2 µm) filtriert. 45 mL werden verworfen. Anschließend wird 1 mL in ein HPLC-Vial überführt und der NVA-Gehalt mit Hilfe der HPLC ermittelt (2.2.14.2, Permeationsmethode).

## **2.2.14 Analytische Methoden**

### **2.2.14.1 UV-Spektrometrische Bestimmung von Coffein und DEBT**

Die UV-Spektrometrische Gehaltsbestimmung von Coffein und DEBT aus den Wasserfestigkeitsversuchen erfolgt am Plattenreader (BioTek Germany, D-Bad Friedrichshall) bei 273 nm für Coffein und bei 300 nm für DEBT. Es erfolgt jeweils eine Dreifachbestimmung.

### **2.2.14.2 Bestimmung des Nonivamidgehalts via HPLC-UV-Analytik**

Die Nonivamidgehaltsbestimmung erfolgt nach einer von Rottke entwickelten Methode (Rottke, 2010, persönliche Mitteilung) mit Hilfe des "LC-20A prominence" HPLC Systems (Shimadzu, D-Duisburg). Es werden HPLC-Säulen vom Typ "Nucleosil 100-5C 8 CC 125/4"(Macherey-Nagel, D-Düren) in Kombination mit HPLC-Vorsäulen vom Typ "Nucleosil 100-5 C8CC 8/3" (Macherey-Nagel, D-Düren) verwendet. Die Temperatur des Säulen-Ofens wird auf 50 °C eingestellt.

Bei den Freisetzungsuntersuchungen und der Bestimmung der Sättigungslöslichkeit wird als Eluent eine Mischung aus 59,5 % (V/V) Methanol and 40,5 % (V/V) Phosphorsäure pH 3,0 verwendet. Die Durchflussrate beträgt 1,125 mL/min. Das Probenvolumen beträgt 20 µL. Die UV-Absorption wird bei 230 nm gemessen. Nonivamid wird nach ca. 3,7 min eluiert.

Bei den Permeationsuntersuchungen wird als Eluent eine Mischung aus 50 % (V/V) Methanol and 50 % (V/V) Phosphorsäure pH 3,0 verwendet. Die Durchflussrate beträgt 1,15 mL/min. Das Probenvolumen beträgt 200 µL. Die UV-Absorption wird bei 230 nm gemessen. Nonivamid wird nach ca. 9,7 min eluiert.

## 2.2.15 Statistische Methoden

### 2.2.15.1 Äquivalenzentscheidung bei Freisetzungsuntersuchungen und Permeationsuntersuchungen

Zur Prüfung verschiedener Zubereitung auf Äquivalenz ihres Freisetzungs- oder Permeationsverhaltens wird eine Methode aus der so genannten SUPAC-SS, einer Richtlinie der amerikanischen Zulassungsbehörde zur Prüfung nicht steriler halbfester Produkte abgewandelt (FDA Guidance for Industry, 2004). In jeder Untersuchung werden die Referenzzubereitung und eine (oder mehrere) Testformulierung untersucht ( $n=5$ ). Zur Äquivalenzprüfung müssen die Freisetzungsraten bzw. Permeationsraten aller Zubereitungen berechnet werden. Es werden die Quotienten aus den Freisetzungs- bzw. Permeationsraten von Testformulierung und Referenzformulierung gebildet. Die Formulierung mit Eudragit RS, 10 % (m/m) PVOH 8-88, 7,5 % TEC und 3 % PS 80 dient als Referenzformulierung (genaue Zusammensetzung siehe Tabelle 2.2-9; Rezeptur: NE/RS 0/100). Es ergeben sich 25 Quotienten. Es werden der Median und das Konfidenzintervall des Medians dieser Quotienten berechnet.

Das Konfidenzintervall des Medians berechnet sich nach Gleichung 2.2-5 und Gleichung 2.2-6:

$$x(h) < \tilde{x} < x(n-h+1)$$

Gleichung 2.2-5:

$$\tilde{x} = \text{Median}$$

$$h = \frac{(n-1 - z \cdot \sqrt{n})}{2}$$

Gleichung 2.2-6:

$n$  = Anzahl der Quotienten

$z$  = 1,64 für 90 % Konfidenzintervall

Liegt das Konfidenzintervall innerhalb der Grenzen 0,75 und 1,33, so wird Äquivalenz der Formulierungen angenommen. Liegt das Konfidenzintervall außerhalb dieser Grenzen, so wird davon ausgegangen, dass die Formulierungen nicht äquivalent sind.

Bei Freisetzungsuntersuchungen werden außerdem die Achsenabschnitte auf Äquivalenz untersucht. Bei Permeationsuntersuchungen wird hierauf verzichtet, da der Achsenabschnitt hier nicht nur von der Formulierung, sondern auch von der Haut bestimmt wird.

### **2.2.15.2 Prüfung auf signifikante Unterschiede**

Alle Daten werden aus Wiederholungsmessungen gewonnen. In den Diagrammen sind Mittelwert und Standardabweichung angegeben. Die Daten werden mit Hilfe der einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA), gefolgt von einem Posttest nach Newman Keuls auf statistische Signifikanz geprüft. P-Werte kleiner 0,05 werden als signifikant gewertet. In den Diagrammen werden Werte, die sich signifikant unterscheiden mit einem \* gekennzeichnet. Die Daten von ANOVA und Student Newman Keuls Test befinden sich im Anhang.

## **3 Ergebnisse und Diskussion**

### **3.1 Auswahl geeigneter Polymere**

Das Ziel dieser Arbeit ist es eine streichfähige O/W-Emulsion herzustellen, welche auf der Haut einen Film bildet, in dem die dispergierten Öltröpfchen erhalten bleiben und aus dem der Arzneistoff über längere Zeit freigegeben wird. Zur Stabilisierung der Emulsionen, um ihnen einen streichfähigen Charakter zu verleihen und ein Aufrahmen zu verhindern, werden ihnen Polymeremulgatoren zugesetzt. Diese wirken zum einen als Emulgatoren, d. h. sie senken die Grenzflächenspannung und stabilisieren Emulsionen. Zum anderen erhöhen sie die Viskosität der Außenphase und vermindern somit die Aufrahmtendenz der dispergierten Öltröpfchen. Um eine Filmbildung auf der Haut zu ermöglichen werden wasserunlösliche Retardpolymere benötigt. Sie geben dem Film nicht nur die benötigte Substantivität, welche die Voraussetzung dafür ist, dass der Arzneistoff über einen Zeitraum von 12 – 24 Stunden auf der Haut zur Verfügung gestellt wird. Außerdem schließen sie die wirkstoffhaltigen Öltröpfchen im Film ein und sorgen somit dafür, dass der Wirkstoff aus den Öltröpfchen nur langsam freigegeben wird, da er erst durch den Film diffundieren muss bevor er das Stratum corneum erreicht.

#### **3.1.1 Auswahl geeigneter Retard-Polymer-Dispersionen**

Die Retardpolymere sollen in Form einer wässrigen Dispersion eingesetzt werden, um auf den Einsatz organischer Lösemittel verzichten zu können. Dabei stehen verschiedene Ethylcellulose-, sowie Methylmethacrylatdispersionen zur Verfügung. Um eine möglichst vollständige Filmbildung auf der Haut zu gewährleisten, muss die Glasübergangstemperatur ( $T_g$ ) der Polymere durch den Zusatz geeigneter Weichmacher auf maximal 20 °C, also 10 °C unter die Hautoberflächentemperatur von 32 °C gesenkt werden. Tabelle 3.1-1 zeigt eine Übersicht der verwendeten Dispersionen und Weichmacher, sowie die  $T_g$  der Polymere ohne Weichmacherzusatz.

Tabelle 3.1-1: Verwendete Polymerdispersionen und Weichmacher

Polymerdispersion	Polymer	Tg	Weichmacher
Aquacoat ECD30	Ethylcellulose	81 °C	Dibutylsebacat (DBS) oder Ölsäure
Eudragit NE 30D	Ethacrylat:Methylmethacrylat 2:1	-1 °C	-
Eudragit RL 30D	Ethacrylat:Methylmethacrylat: Trimethylamminoethylmethacrylat 1:2:0,2	82 °C	Triethylcitrat (TEC)
Eudragit RS 30D	Ethacrylat:Methylmethacrylat: Trimethylamminoethylmethacrylat 1:2:0,2	69 °C	Triethylcitrat (TEC)
Surelease 19040	Ethylcellulose	49 °C	Dibutylsebacat (DBS)
Surelease 19050	Ethylcellulose	51 °C	Dibutylsebacat (DBS)

Die Glasübergangstemperaturen ( $T_g$ ) der weichgemachten Polymere sind in Abbildung 3.1-1 dargestellt.

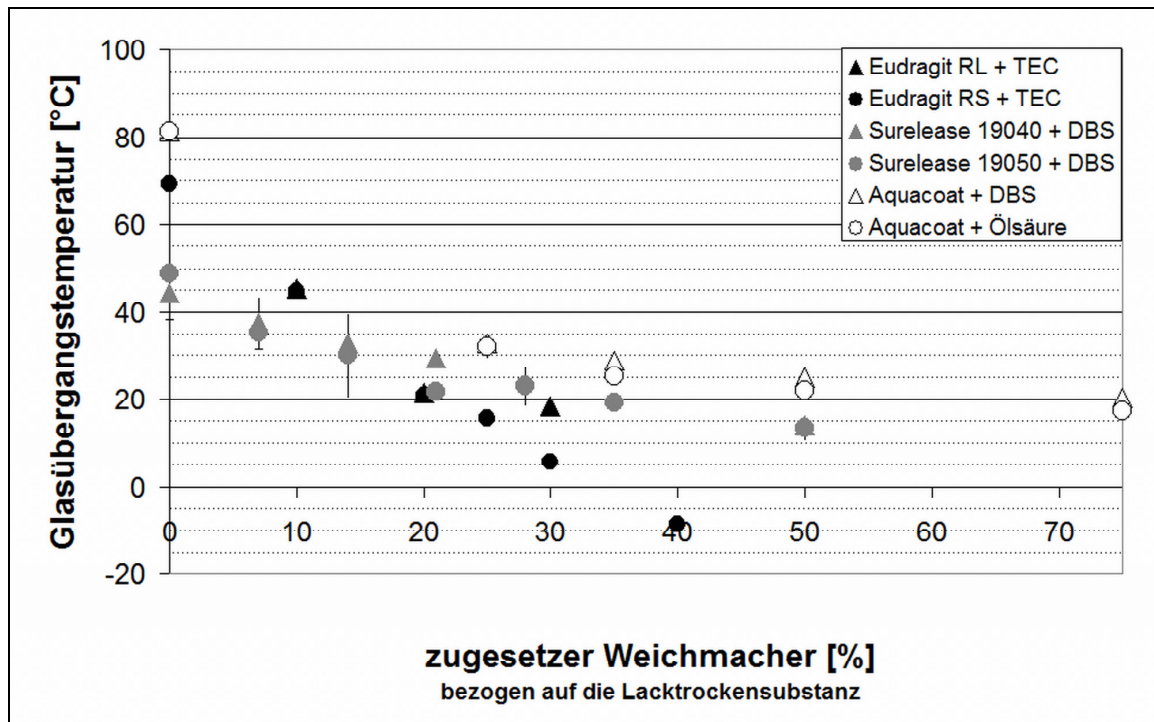


Abbildung 3.1-1: Glasübergangstemperaturen der weichgemachten Polymerdispersionen;  $n=3$ ; Fehlerbalken: Standardabweichung

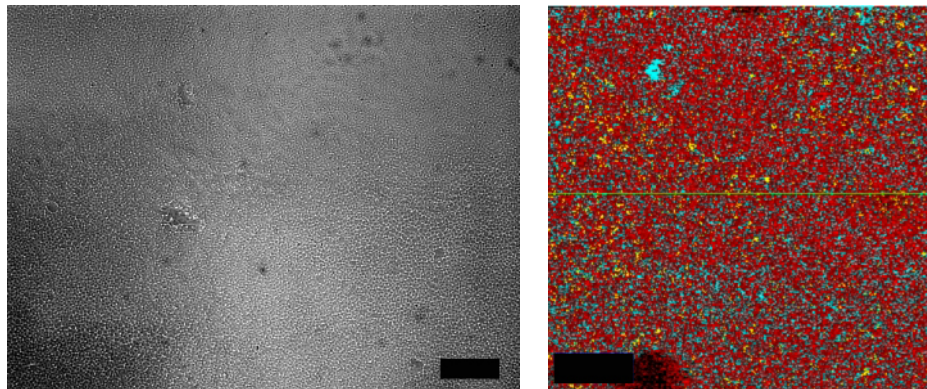
Wie Abbildung 3.1-1 zeigt ist es bei allen Dispersionen möglich, die  $T_g$  auf ca. 20 °C herabzusetzen. Bei Eudragit RL sind 30 % (m/m LTS) TEC nötig, bei Eudragit RS genügen bereits 20 - 25 % (m/m LTS) TEC. Bei den Ethylcellulose-Dispersionen senken nur extrem hohe Weichmacherkonzentrationen (50 - 75 % (m/m LTS)) die Glasübergangstemperatur auf die gewünschten 20 °C. Eudragit NE 30D zeigt bereits eine  $T_g$  von unter 20 °C, daher ist kein Weichmacherzusatz notwendig.

Eudragit RS 30D und die Ethylcellulosedispersionen sind auch nach dem Weichmachen dünnflüssig und weiß. Eudragit RL 30D verliert allerdings durch den Zusatz von 30 % TEC ((m/m) LTS) seinen flüssigen Charakter, es bildet sich ein hochviskoses Gel, welches für die Verwendung in einer Emulsion nicht geeignet ist.

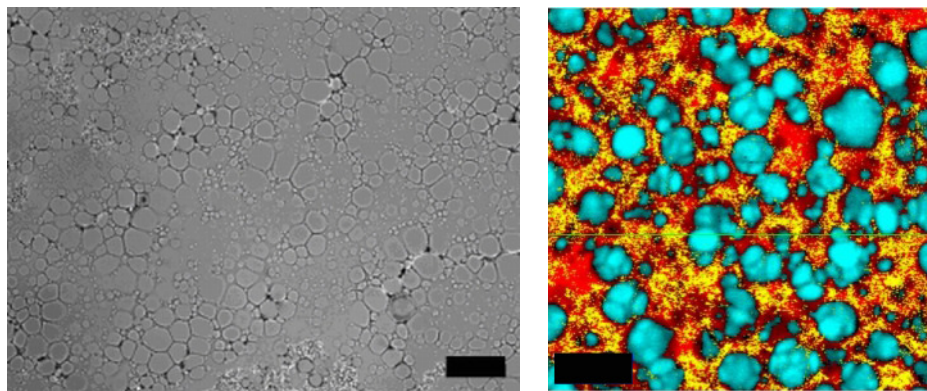
Eudragit NE 30D benötigt keinen, Eudragit RS 30D benötigt nur einen geringen Weichmacherzusatz um die gewünschte  $T_g$  zu erreichen. Somit sind beide Polymerdispersionen gut geeignet für die Verwendung in filmbildenden Emulsionen. Dass bei den Ethylcellulosedispersionen eine Weichmacherzugabe von 50-75 % ((m/m) LTS) nötig ist, wird als nachteilig bewertet, ist aber kein Ausschlusskriterium.

Abbildung 3.1-2 und Abbildung 3.1-3 zeigen licht- und ramanmikroskopische Aufnahmen von auf dem Wasserbad getrockneten Emulsionsfilmen mit unterschiedlichen Polymerdispersionen.

Aquacoat  
EC30D  
30 % Ölsäure



Eudragit NE 30D



Eudragit RS 30D  
25 % TEC

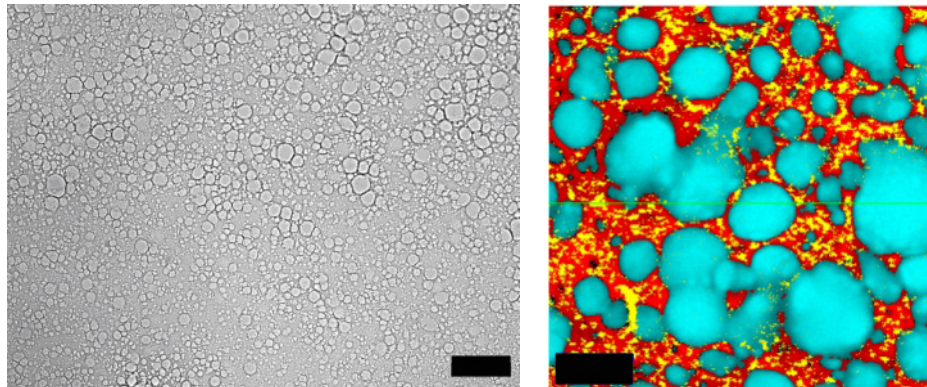
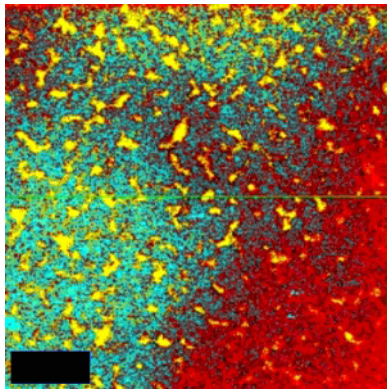
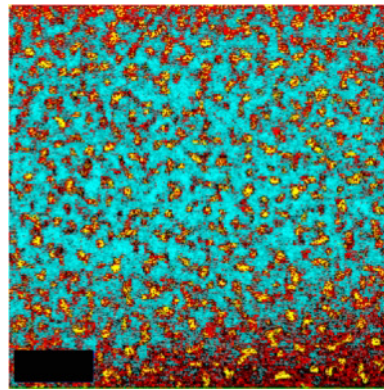


Abbildung 3.1-2: Licht- und ramanmikroskopische Aufnahmen der getrockneten Emulsionsfilme mit unterschiedlichen Retardpolymerdispersionen; Maßstabsbalken Lichtmikroskopische Bilder: 50  $\mu\text{m}$ ; Raman-Aufnahmen: 10  $\mu\text{m}$ ; Farbcode der Falschfarbenbilder: ■ HPMC ■ MCT ■ Retardpolymer





Surelease 19040  
50 % DBS



Surelease 19050  
50 % DBS

Abbildung 3.1-3: Ramanmikroskopische Aufnahmen der getrockneten Emulsionsfilme mit unterschiedlichen Retardpolymerdispersionen; Maßstabsbalken Lichtmikroskopische Bilder: 50  $\mu\text{m}$ ; Raman-Aufnahmen: 10  $\mu\text{m}$ ; Farbcode der Falschfarbenbilder: ■ HPMC ■ MCT ■ Retardpolymer

In den Filmen, die Eudragit NE oder RS enthalten, sind die Öltröpfchen klar zu erkennen. Diese sind von einem zusammenhängenden Film aus dem jeweiligen Eudragit und der zur Emulsionsstabilisierung eingesetzten Hypromellose (HPMC) umschlossen und dadurch immobilisiert. Die Filme erscheinen bei Betrachtung mit dem bloßen Auge trübe. Getrocknete Emulsionen mit Ethylcellulose hingegen bilden glasklare Filme. Die Ramanaufnahmen zeigen, dass in getrockneten Emulsionen mit Aquacoat eine gleichmäßige Mischung von Ethylcellulose, HPMC und MCT vorliegt. In den getrockneten Emulsionen mit den beiden Surelease-Typen sind kleine Bereiche mit hoher HPMC-Konzentration in einer gleichmäßigen Mischung aus Ethylcellulose und MCT zu sehen. MCT wird demnach in den Ethylcellulosefilm aufgenommen. Dieses Verhalten ist nicht verwunderlich, da MCT auch als Weichmacher für Ethylcellulose Verwendung findet (Charles F. Vesey 2005).

Somit erscheinen die beiden Eudragitdispersionen für die Herstellung filmbildender Emulsionen geeignet und werden in der weiteren Entwicklung verwendet. Die Ethylcellulosedispersionen sind nicht geeignet, da MCT in den Ethylcellulosefilm aufgenommen wird.

### 3.1.2 Auswahl eines geeigneten wasserlöslichen Polymers

Die Auswahl eines geeigneten wasserlöslichen Polymers richtet sich zum einen nach dessen Eignung für die Stabilisierung von Emulsionen. Zum anderen muss darauf geachtet werden, dass die Lagerstabilität der Polymerdispersionen nicht negativ beeinflusst wird.

Als Polymeremulgator eignet sich z. B. Hypromellose (HPMC) (Daniels und Barta 1994; Schulz und Daniels 2000; Wollenweber, et al. 2000). In vorangegangenen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass sich besonders HPMC vom Substitutionstyp 2208 zur Emulsionsstabilisierung eignet (Wollenweber, et al. 2000). HPMC dieses Typs wird daher auf ihre Eignung zur Verwendung in filmbildenden Emulsionen untersucht. Als weitere wasserlösliche Polymere, die u. U. auch zur Emulsionstabilisierung beitragen könnten, bieten sich Polyvinylpyrrolidon (PVP; Kollidon 90 F) und Polyvinylalkohol (PVOH; Mowiol 4-88, 8-88, 40-88, 10-99) an. Um beurteilen zu können welches der Polymere sich am Besten zur Emulsionsstabilisierung eignet, werden die Viskositäten ihrer Lösungen, die Grenzflächenspannung gegen MCT sowie die Tröpfchengrößen der mit ihnen hergestellten Emulsionen und deren Lagerstabilität untersucht. Außerdem wird der Einfluss der löslichen Polymere auf die Lagerstabilität der Polymerdispersionen untersucht.

In den genannten Untersuchungen wird HPMC in 2,5%iger (m/m) Konzentration eingesetzt, da für diese Konzentration bereits umfangreiche Untersuchungen zur Emulsionstabilisierung vorhanden sind. Die HPMC-Lösung sowie die mit ihr hergestellten Emulsionen dienen daher auch als Referenzzubereitungen, mit denen die Zubereitungen der weiteren untersuchten Polymere verglichen werden. PVP und PVOH werden in Konzentrationen verwendet, in denen ihre Lösungen bzw. die mit ihnen hergestellten Emulsionen makroskopisch eine ähnliche Konsistenz aufweisen wie Lösungen bzw. Emulsionen mit HPMC. Daher ergibt sich für PVP, PVOH 4-88, PVOH 8-88 und PVOH 10-99 eine Konzentration von 10 % (m/m) und für PVOH 40-88 eine Konzentration von 2,5 % (m/m).

Tabelle 3.1-2 gibt eine Zusammenfassung der untersuchten Polymeremulgatoren und ihrer Eigenschaften entsprechend der Herstellerangaben wider.

Tabelle 3.1-2: Eigenschaften der verwendeten Polymere (Herstellerangaben)

Polymer	Wasserlöslichkeit (20 °C)	Molmasse [g/mol]	Viskosität [mPas]	Spezifikation
HPMC 2208	ja	51.500	100 mPas (2%ige Lösung)	Substitutionstyp USP 2208
PVP	ja	1.000.000- 1.500.000	60 mPas (5%ige Lösung)	K-Wert 81,0-96,3
PVOH 4-88	ja	31.000	4 mPas (4%ige Lösung)	Hydrolysegrad 88 %
PVOH 8-88	nein	67.000	8 mPas (4%ige Lösung)	Hydrolysegrad 88 %
PVOH 40-88	nein	205.000	40 mPas (4%ige Lösung)	Hydrolysegrad 88 %
PVOH 10-99	nein	60.000	10 mPas (4%ige Lösung)	Hydrolysegrad 99 %

### 3.1.2.1 Viskosität

Die Konsistenz der Polymerlösungen wird zunächst makroskopisch an die einer 2,5%igen HPMC-Lösung angeglichen. Zur genaueren Charakterisierung wird ihre Viskosität mit Hilfe des Kapillarviskosimeters nach Ubbelohde untersucht (2.2.5.4). Die Viskositäten der Polymerlösungen sind in Abbildung 3.1-4 dargestellt.

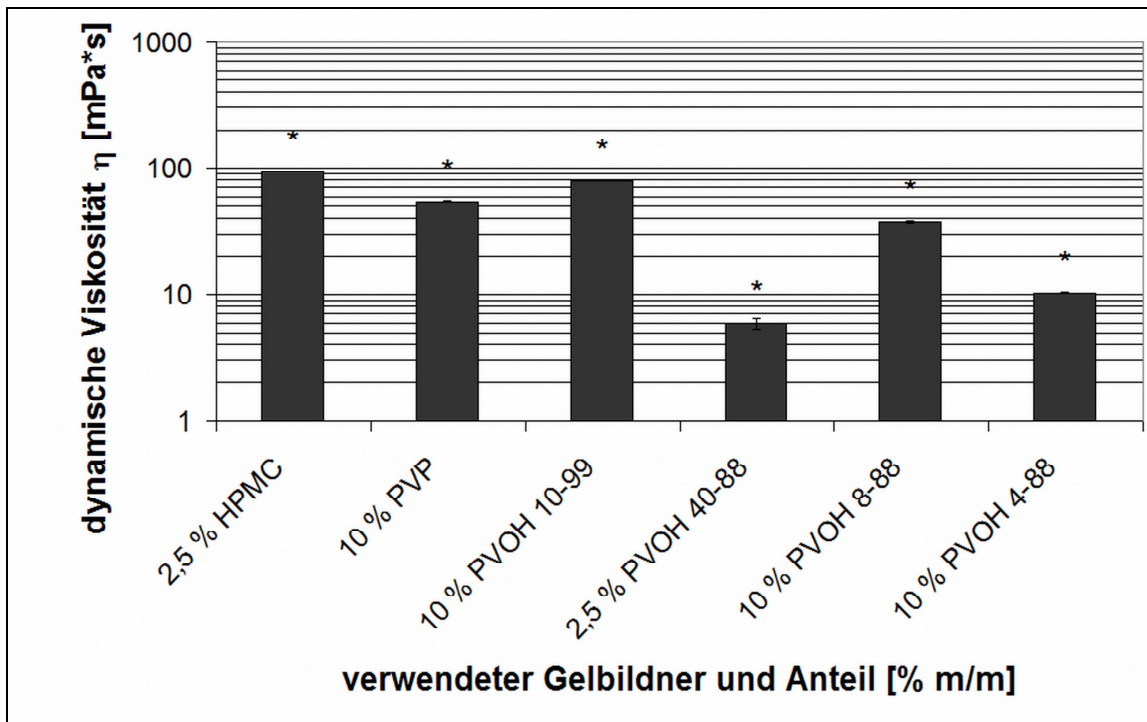


Abbildung 3.1-4: Viskosität verschiedener wässriger Polymerlösungen bei 30 °C; n=3; Fehlerbalken: Standardabweichung

Die höchste Viskosität zeigt die 2,5%ige (m/m) HPMC-Lösung, gefolgt von der 10%igen (m/m) PVOH 10-99-Lösung und der 10 %igen (m/m) PVP-Lösung. Die Lösungen der PVOH X-88-Typen zeigen geringere Viskositäten, wobei die Viskosität von 10%iger (m/m) PVOH 8-88-Lösung deutlich über der von 10%iger (m/m) PVOH 4-88-Lösung liegt. Von PVOH 40-88 werden nur 2,5 % (m/m) eingesetzt, die Viskosität dieser Lösung ist die geringste.

Die Viskosität der HPMC-Lösung liegt mit 93 mPa\*s im erwarteten Bereich. Wollenweber konnte die Viskosität einer 2,5%igen HPMC-Lösung bei 20 °C mit 200 mPa\*s bestimmen (Wollenweber 1999). Die Erhöhung der Messtemperatur um 10 °C führt konsequenterweise zu einer Verringerung der Viskosität.

Laut Herstellerangaben rangieren die Viskositäten von PVP (Kollidon 90F) in 10%iger (m/m) Lösung bei 25 °C zwischen 250 und 600 mPa\*s, abhängig von der Kettenlänge

der Polymere. Der hier bestimmte Wert von 54 mPa\*s erscheint somit etwas niedrig, er entspricht der Viskosität einer 5%igen (m/m) PVP-Lösung bei 25 °C (BASF AG, 2007). Bei den Polyvinylalkoholen gibt die erste Zahl der Spezifikation die Viskosität einer 4%igen (m/m) Lösung an. Die Viskosität der PVOH-Typen sollte bei gleicher Konzentration also in der Reihenfolge PVOH 40-88 > PVOH 10-99 > PVOH 8-88 > PVOH 4-88 sinken. PVOH 10-99, PVOH 8-88 und PVOH 4-88 werden in 10%iger (m/m) Lösung eingesetzt und sind somit direkt vergleichbar. Ihre Viskositäten liegen weitaus höher als die in der Spezifikation angegebenen, da die verwendeten Konzentrationen höher sind. Die 10%ige (m/m) PVOH 10-99 Lösung reicht mit ihrer Viskosität von 78 mPa\*s fast an die Viskosität der 2,5%igen (m/m) HPMC-Lösung heran und übersteigt die Viskosität der 10%igen (m/m) PVP-Lösung deutlich. Die Reihenfolge der Viskositäten entspricht den Erwartungen. Die Viskosität steigt mit zunehmender Kettenlänge des Polyvinylalkohols. Da PVOH 40-88 im Gegensatz zu den anderen Polyvinylalkoholen in 2,5%iger (m/m) Konzentration statt in 10%iger (m/m) Konzentration eingesetzt wird, zeigt es mit 6 mPa\*s die geringste Viskosität.

### 3.1.2.2 Grenzflächenspannung

Die thermodynamische Stabilität von Emulsionen kann durch Verringerung der Grenzflächenspannung erhöht werden (Wollenweber 1999), da die Grenzflächenenergie reduziert wird.

HPMC vermag ab einer Konzentration von  $10^{-6}$  mol/l die Grenzflächenspannung gegenüber mittelkettigen Triglyceriden deutlich zu vermindern (Wollenweber, et al. 2000). Da bisher nicht bekannt ist, ob PVP und die verschiedenen Poylvinylalkohole ähnlich grenzflächenaktiv sind wie HPMC, werden die Grenzflächenspannungen wässriger Polymerlösungen zu MCT bestimmt. Es wird davon ausgegangen, dass Polymere, die eine ähnlich gute Absenkung der Grenzflächenspannung herbeiführen auch zur Emulsionsstabilisierung verwendet werden können.

Die Ergebnisse der Grenzflächenspannungsmessung (2.2.5.5) gibt Abbildung 3.1-5 wider.

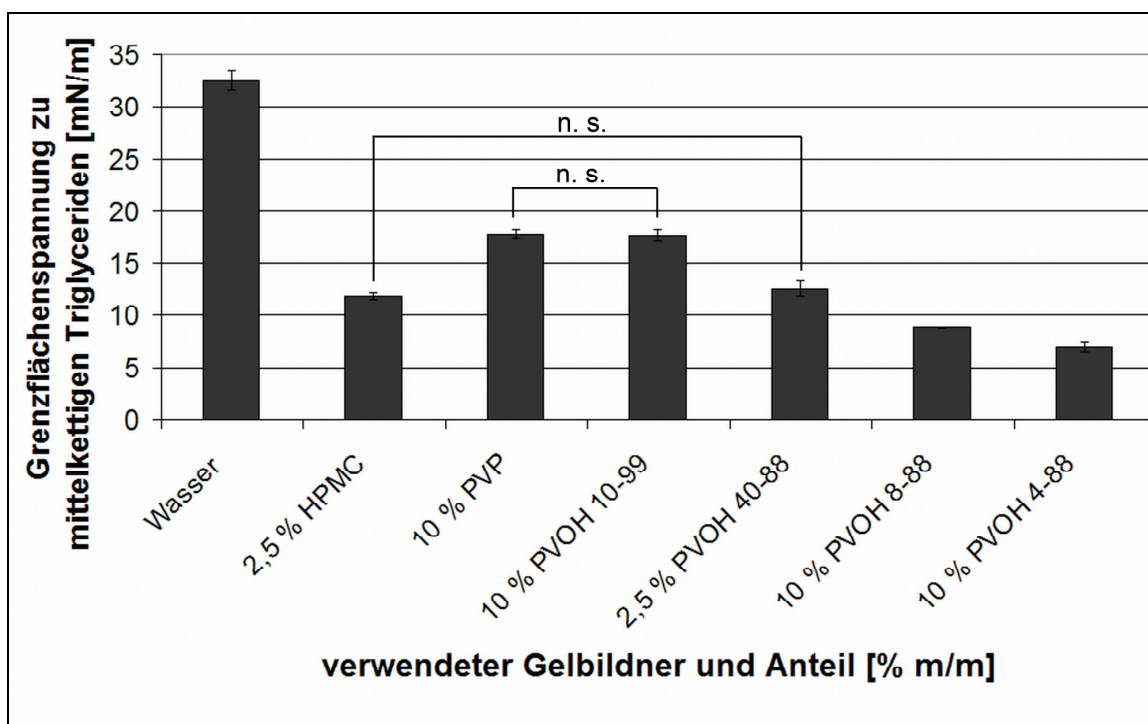


Abbildung 3.1-5: Grenzflächenspannung verschiedener wässriger Polymerlösungen zu mittelkettigen Triglyceriden bei 23 °C; n=3; Fehlerbalken: Standardabweichung

HPMC-Lösung zeigt zu MCT eine Grenzflächenspannung von 12 mN/m. Sowohl PVP-Lösung, als auch PVOH 10-99-Lösung zeigen mit 18 mN/m eine höhere Grenzflächenspannung. Die Lösungen von PVOH-Typen mit geringerem Hydrolysegrad zeigen allesamt geringere Grenzflächenspannungen. PVOH 40-88-Lösung zeigt mit 13 mN/m eine Grenzflächenspannung, die im Bereich derer der HPMC-Lösung liegt.

Die kürzerkettigen PVOH-Typen 8-88 und 4-88 können die Grenzflächenspannung sogar auf 9 bzw. 7 mN/m senken. Somit erscheinen alle PVOH-Typen mit einem Hydrolysegrad von 88 % als geeignet für die Emulsionsherstellung. PVOH 10-99 und PVP sind weniger grenzflächenaktiv, allerdings verringern auch sie die Grenzflächenspannung im Vergleich zum reinen MCT-Wasser-System (32 mN/m) deutlich. Von PVP ist außerdem bekannt, dass es die Klebeeigenschaften von Polymethylmethacrylatpflastern verbessert (Valenta und Auner 2004), was sich im weiteren Entwicklungsprozess als vorteilhaft erweisen könnte.

### 3.1.2.3 Tröpfchengrößen

Zur Auswahl eines geeigneten Polymeremulgators werden Emulsionen mit den verschiedenen Polymeren hergestellt (2.2.2.1) und die Tröpfchengrößenverteilungen nach der Herstellung sowie nach Lagerung mit Hilfe der Laserdiffraktometrie bestimmt (2.2.6.1) und lichtmikroskopische Aufnahmen (2.2.8.1) angefertigt.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 3.1-6 und Abbildung 3.1-7 zusammengefasst.

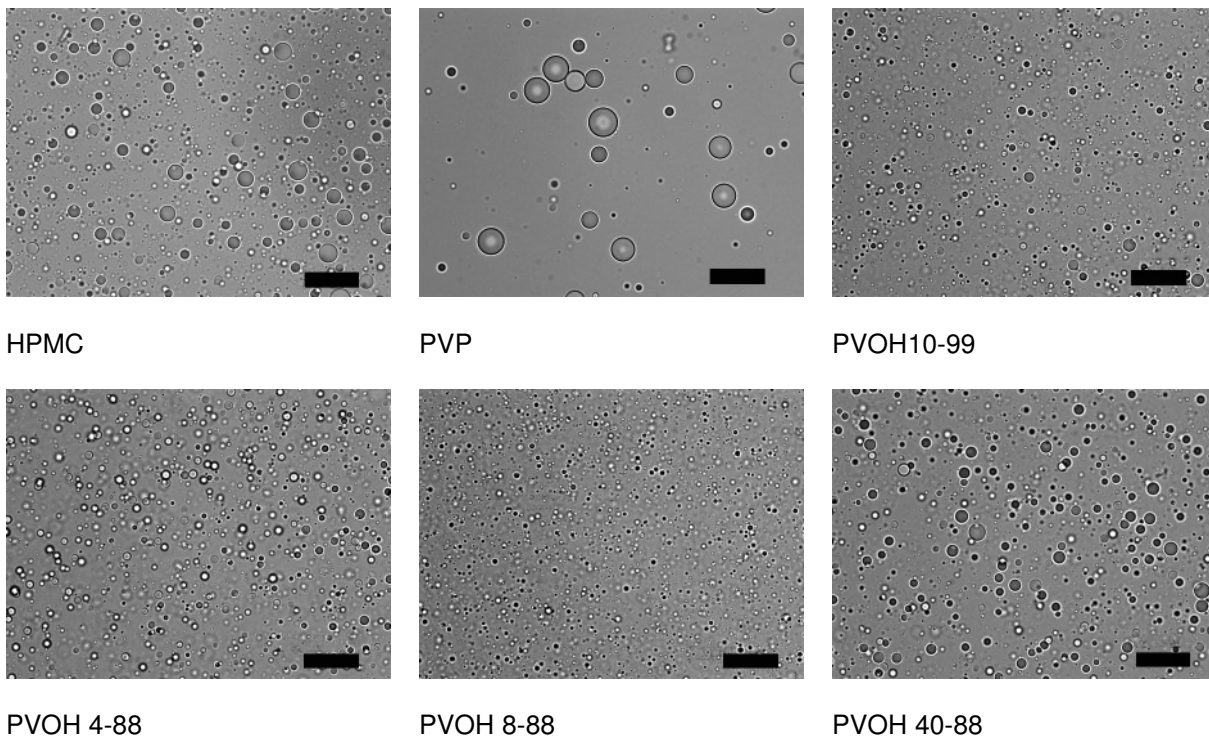


Abbildung 3.1-6: Lichtmikroskopische Aufnahmen von Emulsionen mit verschiedenen Gelbildnern; jeweils 20 T MCT und 80 T wässrige Polymerlösung; Rotor-Stator-Homogenisator: 5 min bei 15.000 UpM; Konzentration der Polymere in der Wasserphase: HPMC & PVOH 40-88: 2,5 % (m/m), PVP und restliche PVOH: 10 % (m/m); Maßstabsbalken: 20 µm



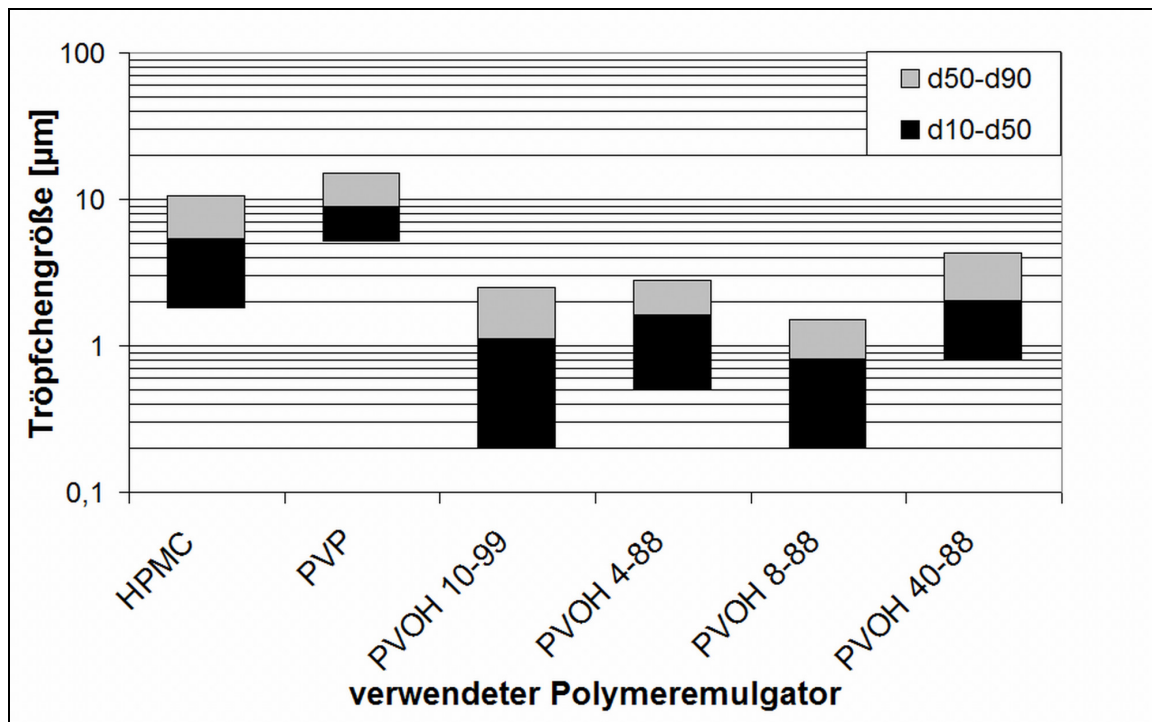


Abbildung 3.1-7: Tröpfchengrößenverteilung von Emulsionen mit verschiedenen wasserlöslichen Polymeren; 80 T wässrige Polymerlösung, 20 T MCT; Rotor-Stator-Homogenisator: 15.000 UpM, 5 min; Konzentration der Polymere in der Wasserphase: HPMC & PVOH 40-88: 2,5 % (m/m), restliche PVOH: 10 % (m/m)

Die mikroskopischen Aufnahmen zeigen deutlich, dass die Teilchengrößen in der Reihenfolge PVP > HPMC > PVOH 40-88 > PVOH 4-88 > PVOH 10-99 > PVOH 8-88 abnehmen. Die Bestimmungen der Tröpfchengrößenverteilung bestätigen dieses Ergebnis (Abbildung 3.1-7). Der d50 liegt für PVP-stabilisierte Emulsionen bei 9 µm, wohingegen er bei HPMC-stabilisierten Emulsionen bei 6 µm und PVOH-stabilisierten Emulsionen unter 2 µm liegt. Die Tröpfchengröße der Emulsionen mit PVOH-Typen nimmt in der Reihenfolge PVOH 40-88 > PVOH 4-88 > PVOH 10-99 > PVOH 8-88 ab. Aufgrund der großen Öltröpfchen ist PVP schlechter geeignet zur Herstellung von Emulsionen, während HPMC und PVOH gut zur Emulsionsherstellung geeignet sind. Dass Emulsionen mit PVOH 4-88 größere Tröpfchen enthalten als Emulsionen mit PVOH 8-88 erscheint auf den ersten Blick merkwürdig. Nachdem die Grenzflächenspannung durch PVOH 4-88 stärker abgesenkt wird als durch PVOH 8-88 hätte man erwartet, dass die Tröpfchen der Emulsion mit PVOH 4-88 kleiner sein sollten. Allerdings ist die Viskosität der PVOH 8-88-Lösung höher als die der PVOH 4-88-Lösung. D. h. der Energieeintrag während des Homogenisierens ist deutlich höher, wodurch kleinere Tröpfchengrößen erhalten werden. Die Tröpfchengrößen der mit PVOH 10-99 stabilisierten Emulsionen liegen zwischen denen der mit PVOH 4-88

oder PVOH 8-88 stabilisierten Emulsionen obwohl eine PVOH 10-99-Lösung eine höhere Grenzflächenspannung gegenüber MCT zeigt. Allerdings besitzt die PVOH 10-99-Lösung eine sehr hohe Viskosität, wodurch es wiederum zu einem höheren Energieeintrag bei der Herstellung und damit zu kleineren Tröpfchen kommt.

Von PVOH 40-88 werden nur 2,5 % (m/m) eingesetzt. Die Ergebnisse sind somit nicht direkt mit denen der anderen PVOH-Typen vergleichbar. Aber auch hier liegen die Tröpfchengrößen im angestrebten, niedrigen Bereich.

### 3.1.2.4 Lagerstabilität

Zur Prüfung der Lagerstabilität werden die in 3.1.2.3 untersuchten Emulsionen in Zentrifugenröhrchen abgefüllt und bei Raumtemperatur eingelagert. Nach 7, 28 und 56 Tagen werden jeweils lichtmikroskopische Aufnahmen angefertigt (2.2.8.1) und die Tröpfchengrößenverteilungen (2.2.8.2) bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3.1-8 und Abbildung 3.1-9 dargestellt.

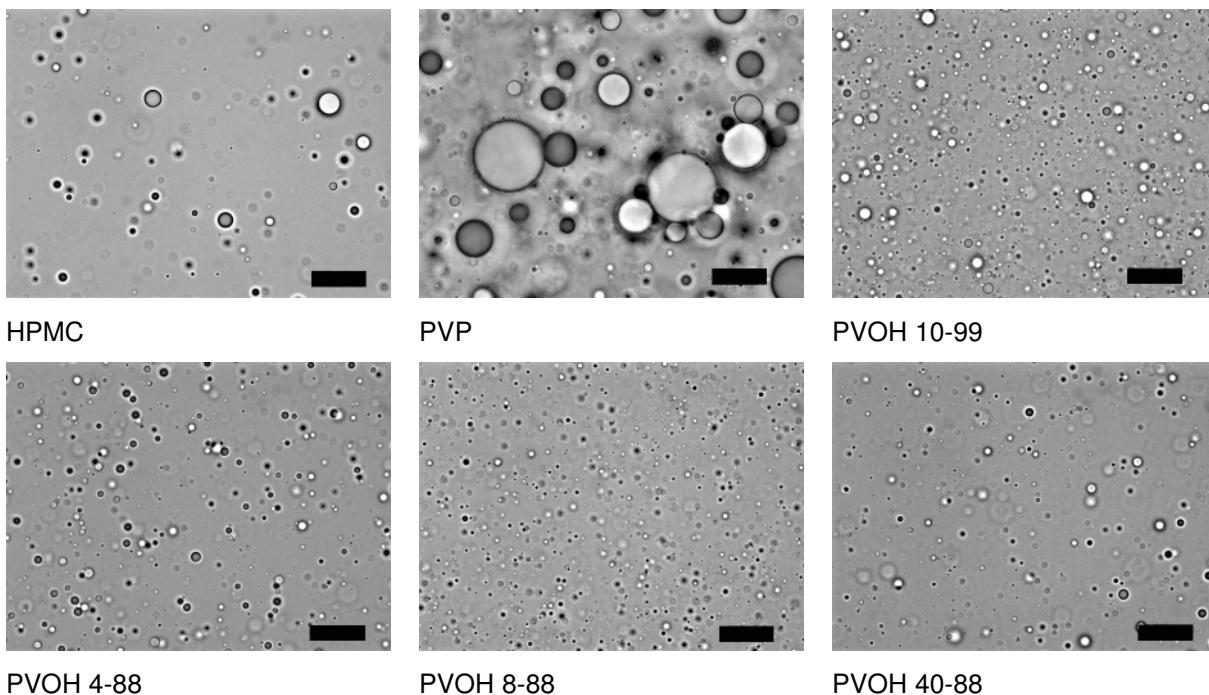


Abbildung 3.1-8: Lichtmikroskopische Aufnahmen von Emulsionen mit verschiedenen Gelbildnern nach 56 tägiger Lagerung bei Raumtemperatur; jeweils 20 T MCT und 80 T wässrige Polymerlösung; Rotor-Stator-Homogenisator: 5 min bei 15.000 UpM; Konzentration der Polymere in der Wasserphase: HPMC & PVOH 40-88: 2,5 % (m/m), PVP und restliche PVOH: 10 % (m/m); Maßstabsbalken: 20 µm

Die lichtmikroskopischen Aufnahmen zeigen, dass die Tröpfchengrößen von Emulsionen mit HPMC und PVOH X-88 gleich bleiben. Die Tröpfchen der Emulsion mit PVOH 10-99 sind leicht größer. Makroskopisch ist zu erkennen, dass die mit PVP

stabilisierte Emulsion fast vollständig gebrochen ist. Lichtmikroskopische Aufnahmen zeigen, dass die wenigen noch vorhandenen Tröpfchen sehr groß sind. Tröpfchengrößenbestimmungen mit Hilfe der Laserdiffraktometrie zeigen dasselbe Bild.

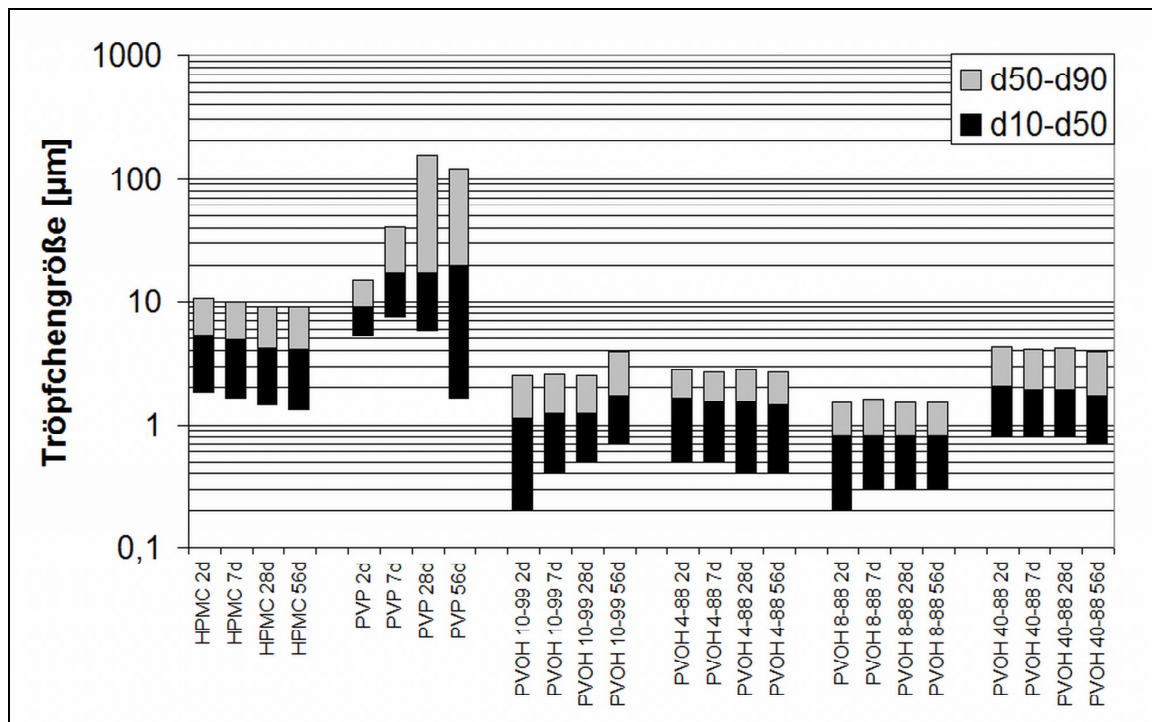


Abbildung 3.1-9: Tröpfchengrößen gelagerter Emulsionen mit verschiedenen wasserlöslichen Polymeren; 80 T wässrige Polymerlösung, 20 T MCT; Rotor-Stator-Homogenisator: 15.000 UpM, 5 min; Konzentration der Polymere in der Wasserphase: HPMC % PVOH 40-88: 2,5 % (m/m), PVP und restliche PVOH: 10 % (m/m)

Die Tröpfchengrößen von Emulsionen mit HPMC und PVOH X-88 verändern sich über den Lagerzeitraum von 56 d nicht. Der d90 der Emulsion mit PVOH 10-99 steigt nach 56 d von 2,5 µm auf 3,9 µm an. Der Anstieg ist als gering zu bewerten, kann aber einen Hinweis auf eine verringerte Lagerstabilität geben. Der d90 der Emulsion mit PVP nimmt schon nach 7 d von 15 µm auf 41 µm zu und liegt nach 56 d bei 120 µm. Emulsionen mit HPMC und PVOH X-88 sind somit über 8 Wochen lagerstabil, während Emulsionen mit PVOH 10-99 oder PVP nicht lagerstabil sind.

### 3.1.2.5 Kompatibilität

Es werden Mischungen von Polymerlösungen und Eudragitdispersionen hergestellt, 4 Monate bei Raumtemperatur in Zentrifugenröhrchen gelagert und makroskopisch, sowie ramanmikroskopisch (2.2.8.2) untersucht. Abbildung 3.1-10 zeigt eine Fotografie der Mischungen nach 4 Monaten, Abbildung 3.1-11 zeigt die ramanmikroskopischen Bilder.



Eudragit NE	Eudragit NE	Eudragit NE	Eudragit RS	Eudragit RS	Eudragit RS
HPMC	PVP	PVOH	HPMC	PVP	PVOH

Abbildung 3.1-10: Mischungen von Polymerlösungen und Eudragit NE 30D oder Eudragit RS 30D nach 4monatiger Lagerung

Nach der Lagerzeit zeigt die Mischung von Eudragit NE 30D und der HPMC-Lösung eine deutliche Sedimentation der Dispersionspartikel unter Bildung eines klaren Überstands. Auch die Mischung von Eudragit NE 30D mit PVP zeigt einen deutlich erkennbaren Überstand. Die Mischungen von Eudragit NE 30D mit PVOH zeigen keine solchen Erscheinungen. Die Mischung von Eudragit RS 30D und HPMC zeigt, verteilt über die gesamte Zubereitung Stellen, an denen sich klare HPMC-Lösung aus der Mischung abgeschieden hat. Die anderen Mischungen mit Eudragit RS 30D zeigen makroskopisch keine Separationserscheinungen.

Die Ramanaufnahmen in Abbildung 3.1-11 belegen, dass Mischungen von Eudragit NE 30D mit HPMC, PVP oder PVOH 10-99 und die Mischung von Eudragit RS 30D mit HPMC inkompatibel sind. PVOH X-88 ist mit beiden Eudragiten kompatibel.

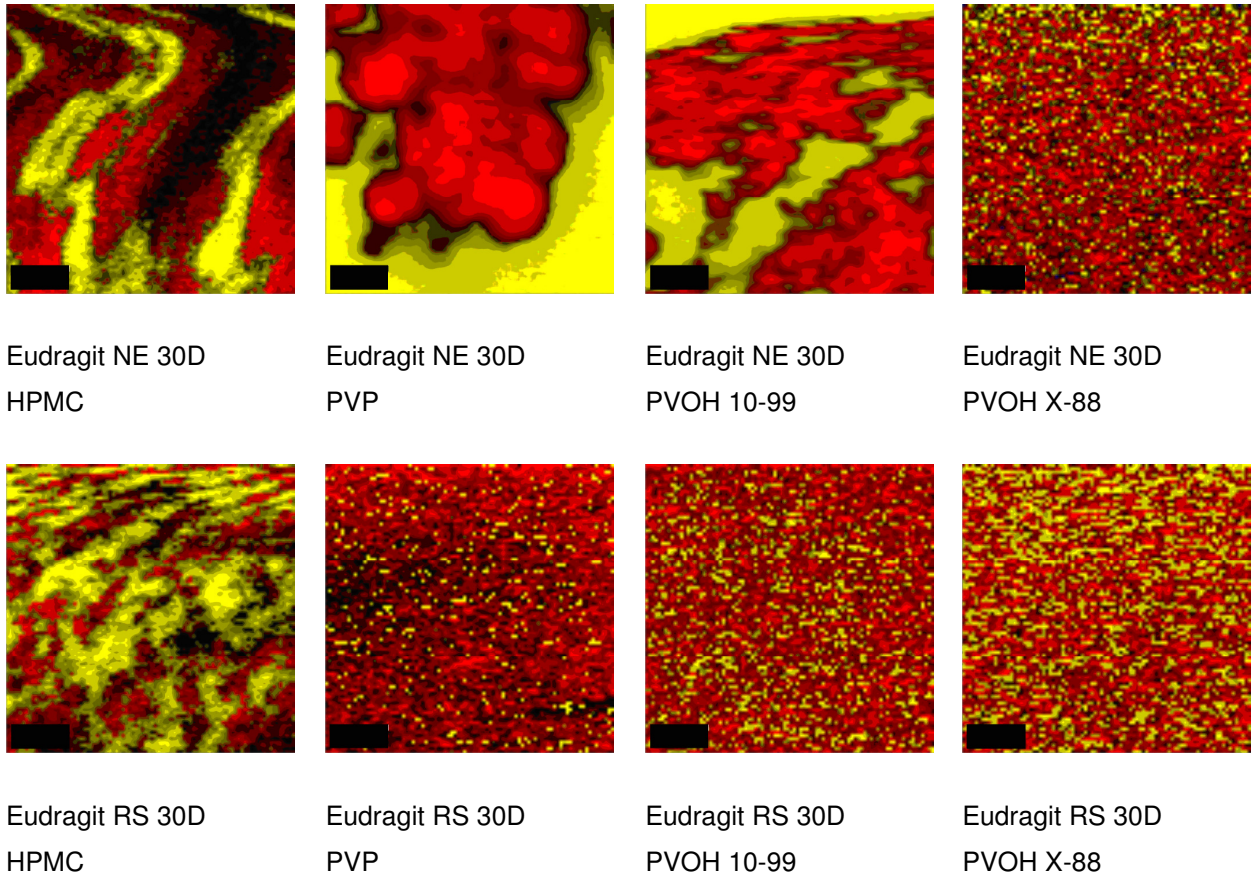


Abbildung 3.1-11: Ramanmikroskopische Aufnahmen von Mischungen von Polymerlösungen und Eudragitdispersionen; Maßstabsbalken: 3 µm; Farbcode der Falschfarbenbilder: ■ wasserlösliches Polymer ■ Eudragit

Prinzipiell kann es durch zwei Effekte zur Flockung kommen. Entweder die Polymere verdrängen sich gegenseitig (durch elektrostatische Abstoßung oder „depletion“), oder die Ketten des löslichen Polymers adsorbieren gleichzeitig an mehrere Partikel und führen ein so genanntes „bridging“ herbei.

Von HPMC stabilisierten Emulsionen ist bekannt, dass sie als teilgeflockte Systeme vorliegen (Möllgaard 2006). Die HPMC ist dabei für ein „bridging“ verantwortlich, das auch in den Dispersionssystemen aufgetreten sein kann. Die genaue Ursache der Flockung beider Eudragite mit HPMC bleibt aber in Rahmen dieser Arbeit ungeklärt.

PVP hingegen liegt in Lösung geknäuelt (Kellaway und Najib 1981) vor. Eine Flockung durch „bridging“ ist daher weniger wahrscheinlich als eine Flockung durch „depletion“. Allerdings bleibt auch in diesem Fall der Mechanismus der Flockung unbekannt.

Dass es mit PVOH 10-99 zu einer Flockung kommt und bei PVOH X-88 nicht, ist erstaunlich. Es gibt bisher kaum Untersuchungen zur Suspensionsstabilisierung oder Flockung mit PVOH. Rawlins und Kayes (1983) konnten allerdings zeigen, dass es mit PVOH niedriger Molmasse (5.100 g/mol, 13.700 g/mol, 22.400g/ mol) bereits in geringen Konzentrationen (<100 ppm) zur Flockung durch „bridging“ kommt, während bei Verwendung von PVOH mit Molmassen von 36.000 bzw. 76.000 g/mol schon ab einer Konzentration von 100 bzw. 400 ppm keine Flockung von Diloxanidfuroat-Suspensionen eintritt. Als Erklärung hierfür wird angegeben, dass PVOH aufgrund seiner großen Kettenlänge bereits in geringen Konzentrationen die Oberfläche der Partikel optimal besetzt. Dadurch sind 1. keine freien Stellen auf der Oberfläche mehr vorhanden über die Partikel-Partikel Wechselwirkungen aufgebaut werden könnten und es kommt 2. durch die ins Medium herausragenden Polymerketten zu einer sterischen Stabilisierung der Partikel. Allerdings machen sie keine Angaben zum Hydrolysegrad des untersuchten PVOH. Geht man davon aus, dass diese Untersuchungen mit teilhydrolysiertem PVOH durchgeführt wurden, so könnte das abweichende Verhalten von PVOH 10-99 so erklärt werden, dass die Alkoholgruppen des PVOH 10-99 mit den PEG-Ketten des im Eudragit NE 30D enthaltenen Nonoxynols Wasserstoffbrückenbindungen eingehen und es dadurch zur Flockung durch „bridging“ kommt. In Eudragit RS 30D ist kein Nonoxynol vorhanden, daher kommt es nicht zur Flockung. PVOH X-88 enthält zu 22 % Acetatgruppen, die diese Wechselwirkung nicht eingehen können, weshalb mit diesen PVOH-Typen keine Flockung auftritt.

### 3.1.3 Zusammenfassung Polymerauswahl

Um eine retardierte Wirkstofffreisetzung auf der Haut zu ermöglichen, werden den Emulsionen Dispersionen von Retardpolymeren zugesetzt. Von den untersuchten Retardpolymerdispersionen (Aquacoat EC30D, Eudragit NE 30D, RL 30D und RS 30D, Surelease 19040 und 19050) eignen sich nur die Dispersionen von Eudragit NE und RS zur Verwendung in filmbildenden Emulsionen. Die Ethylcellulosedispersionen Aquacoat EC30D und Surelease nehmen die als Ölphase verwendeten MCT als Weichmacher komplett in den Film auf, wodurch im Film keine Öltröpfchen mehr vorliegen. Eudragit RL 30D bildet bei Zusatz von 30 % TEC ((m/m) LTS) eine hochviskose Struktur von gelartiger Konsistenz und ist daher zur Verarbeitung in Emulsionen ungeeignet.

Zur Herstellung der Emulsionen werden Polymeremulgatoren eingesetzt. Deren Vorteil ist es, dass sie zusätzlich die Viskosität erhöhen und den Emulsionen so einen streichfähigen Charakter verleihen, wodurch dem Aufrahmen und der Koaleszens entgegengewirkt und die Applikation erleichtert wird. HPMC ist bereits als Polymeremulgator bekannt und ausführlich untersucht worden. Mit ihr ist die Herstellung feindisperser Emulsionen möglich. PVP eignet sich nicht zur Verwendung als Polymeremulgator, da die mit PVP hergestellten Emulsionen sehr große Tröpfchen aufweisen und innerhalb kurzer Zeit koaleszieren. PVOH eignet sich sehr gut zur Emulsionsherstellung. Die erzielten Tröpfchengrößen liegen unter denen der HPMC-stabilisierten Emulsionen. Die mit HPMC oder PVOH X-88 gebildeten Emulsionen sind bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 56 Tagen stabil.

Wenn lösliche Polymere Suspensionen zugemischt werden, kommt es oft zur Flockung der Partikel. Im speziellen Fall der filmbildenden Emulsionen könnte dies einerseits die Lagerstabilität negativ beeinflussen, andererseits könnte die inhomogene Verteilung der Emulsionsbestandteile die Filmbildung, sowie die Wirkstofffreisetzung negativ beeinflussen. Daher ist eine Flockung der filmbildenden Emulsionen unbedingt zu vermeiden. Die Ergebnisse zeigen, dass nur PVOH mit einem Hydrolysegrad von 88 % mit den beiden Eudragitdispersionen kompatibel ist. HPMC, PVP und PVOH 10-99 hingegen nicht.

PVOH 40-88, PVOH 8-88 und PVOH 4-88 sind somit prinzipiell geeignet, um in filmbildenden Emulsionen verwendet zu werden. Mit PVOH 8-88 oder PVOH 40-88 kann die gewünschte Streichfähigkeit schon mit geringem PVOH-Anteil erreicht werden und sie werden daher in den weiteren Untersuchungen verwendet.

## **3.2 Charakterisierung von Emulsionen mit und ohne Eudragitdispersionen und Nonivamid**

Eudragitdispersionen dürfen keinen hohen Scherkräften ausgesetzt werden, wie sie z. B. im Scherspalt eines Rotor-Stator-Homogenisators herrschen. Zur Herstellung der filmbildenden Emulsionen muss daher schrittweise vorgegangen werden. Es wird zunächst eine Emulsion mit hohem Innenphasenanteil hergestellt. Sie besteht aus 25 Teilen 10 %iger (m/m) PVOH-Lösung und 75 Teilen MCT. Parallel dazu wird eine Mischung von PVOH-Lösung und Eudragit-Dispersion hergestellt und diese anschließend zur Emulsion hinzugegeben (2.2.3.3 und 2.2.3.4). Damit nehmen die Eudragitdispersionen keinen Einfluss auf die Emulsionsbildung. Es sollten somit keine Unterschiede in den Tröpfchengrößenverteilungen der Emulsionen mit Eudragit RS 30D und Eudragit NE 30D auftreten.

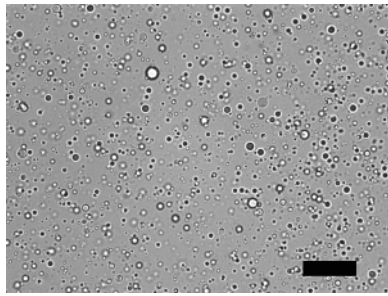
Nonivamidhaltige Emulsionen werden analog hergestellt (0), allerdings mit dem Unterschied dass das NVA vor dem Emulgierprozess in 5%iger (m/m) Konzentration in MCT gelöst wird. Es entstehen Emulsionen, die insgesamt 1 % (m/m) NVA enthalten.

### **3.2.1 Emulsionen ohne Eudragitdispersionen und Nonivamid**

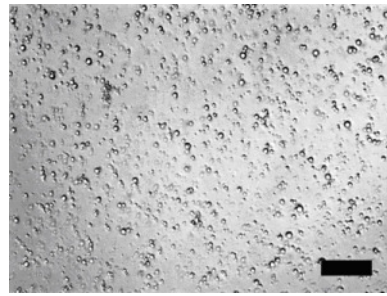
Zunächst wird der Einfluss des PVOH-Typs auf die Tröpfchengröße der Emulsionen untersucht. Es werden Emulsionen bestehend aus 25 T PVOH-Lösung als wässriger Außenphase und 75 T MCT als Innenphase hergestellt (2.2.3.1 und 2.2.3.2) und lichtmikroskopisch untersucht (2.2.8.1), sowie die Tröpfchengrößen bestimmt (2.2.6.1). Die PVOH 8-88-Konzentration beträgt 10 % (m/m) der Wasserphase, während die PVOH 40-88-Konzentration von den in vorhergegangenen Untersuchungen verwendeten 2,5 % (m/m) auf 5 % (m/m) erhöht werden muss, da mit 2,5 % (m/m) keine stabilen Emulsionen mit diesem hohem Innenphasenanteil hergestellt werden können.

Abbildung 3.2-1 und Abbildung 3.2-2 zeigen die Tröpfchengrößen der entsprechenden Emulsionen mit PVOH 8-88 oder PVOH 40-88 als Polymeremulgatoren.

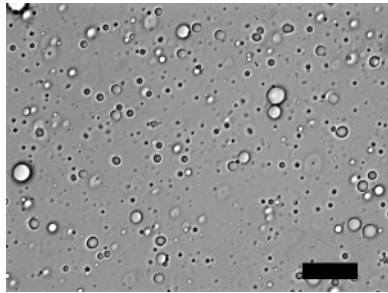




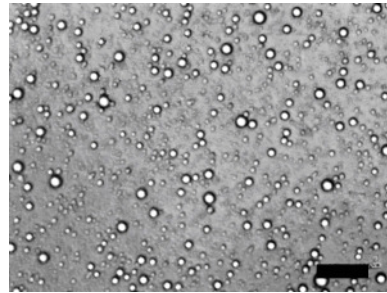
Emulsion mit PVOH 8-88 12.000 UpM



Emulsion mit PVOH 8-88 15.000 UpM



Emulsion mit PVOH 40-88 12.000 UpM



Emulsion mit PVOH 40-88 15.000 UpM

Abbildung 3.2-1: Lichtmikroskopische Aufnahmen von Emulsionen mit PVOH 8-88 oder PVOH 40-88; jeweils 75 T MCT und 25 T wässrige Polymerlösung; Rotor-Stator-Homogenisator: 5 min; PVOH 8-88-Konzentration in der Wasserphase: 10 % (m/m); PVOH 40-88-Konzentration in der Wasserphase: 5 % (m/m); Maßstabsbalken: 20  $\mu\text{m}$

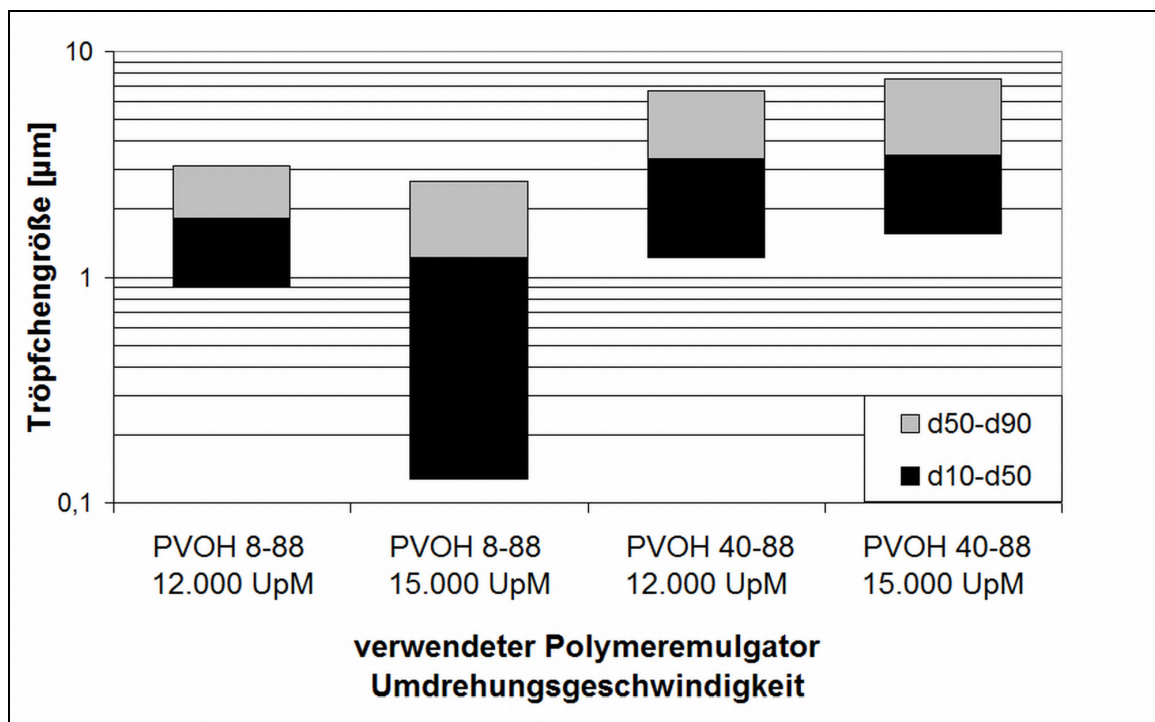


Abbildung 3.2-2: Tröpfchengrößenverteilung von Emulsionen (PVOH 8-88 oder PVOH 40-88); jeweils 75 T MCT und 25 T wässrige Polymerlösung; Rotor-Stator-Homogenisator: 5 min; PVOH 8-88-Konzentration in der Wasserphase: 10 % (m/m); PVOH 40-88-Konzentration in der Wasserphase: 5 % (m/m); n=3

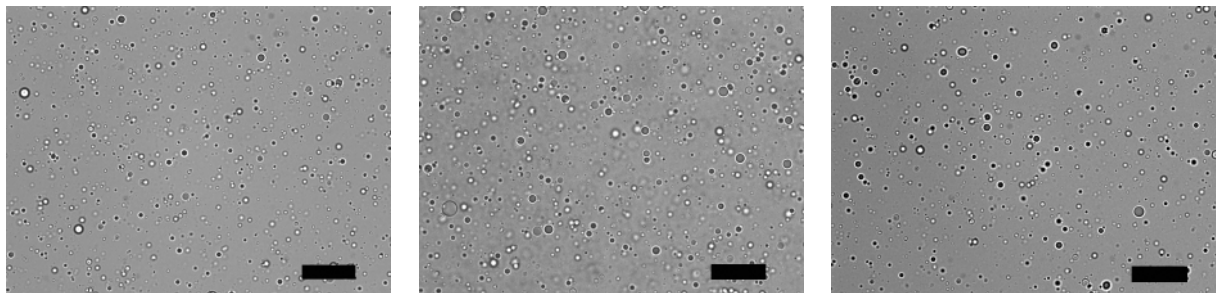
Werden Emulsionen mit PVOH 8-88 bei 15.000 UpM hergestellt, so entstehen sehr viele sehr kleine Tropfchen, wodurch der d10 stark erniedrigt wird und es zu einer bimodalen Verteilung kommt. Eine Verringerung der Umdrehungsgeschwindigkeit auf 12.000 UpM führt zwar zu etwas größeren Tröpfchen, ergibt aber die gewünschte monomodale Tröpfchenverteilung. Die Tröpfchengröße von Emulsionen mit PVOH 40-88 liegt mit einem d50 von 2 µm über derer der Emulsionen mit PVOH 8-88 und wird von der Umdrehungsgeschwindigkeit kaum beeinflusst.

Die Tröpfchen aller untersuchten Emulsionen sind mit einem d50 von <5 µm ausreichend klein. Es können also prinzipiell beide Polymeremulgatoren verwendet werden. Bei Verwendung von PVOH 8-88 sollte eine Umdrehungsgeschwindigkeit von 12.000 UpM gewählt werden.

### 3.2.2 Emulsionen mit PVOH 8-88 und Eudragitdispersionen

Den Emulsionen werden die beiden Eudragitdispersionen getrennt voneinander zugesetzt (2.2.3.3) und deren Einfluss auf die Tröpfchengröße lichtmikroskopisch (2.2.8.1) und mit Hilfe der Laserdiffraktometrie (2.2.6.1) untersucht. Eudragit NE 30D enthält den Emulgator Nonoxynol, welcher zur Herstellung der Dispersion notwendig ist, sich aber auch von den Dispersionspartikeln an die Phasengrenzfläche zwischen MCT und PVOH-Lösung umverteilen kann. Eudragit RS 30D ist mit 0,25 % Sorbinsäure konserviert, welche ebenfalls grenzflächenaktiv ist. Die Dispersionen werden allerdings erst nach der Emulsionsherstellung zugesetzt, weswegen sie keinen Einfluss auf die Emulgierung haben sollten.

Abbildung 3.2-3 zeigt lichtmikroskopische Aufnahmen der Emulsionen mit und ohne Eudragitdispersionen.



Emulsion mit PVOH 8-88  
12.000 UpM  
ohne Eudragit-Dispersion

Emulsion mit PVOH 8-88  
12.000 UpM  
mit Eudragit NE 30D

Emulsion mit PVOH 8-88  
12.000 UpM  
mit Eudragit RS 30D

Abbildung 3.2-3: Lichtmikroskopische Aufnahmen von Emulsionen; jeweils 75 T MCT und 25 T wässrige Polymerlösung; Rotor-Stator-Homogenisator: 8 min; PVOH-Konzentration in der Wasserphase: 10 % (m/m); Eudragit-Anteil: 65 % (m/m); Maßstabsbalken: 20  $\mu$ m

Die Tröpfchen aller der Emulsionen mit Eudragitdispersionen besitzen eine ähnliche Größe wie die der Emulsion ohne Eudragitdispersionen. Die Tröpfchen liegen nicht geflockt vor und es sind keine Ausfällungen vorhanden. Somit sind lichtmikroskopisch keine Unterschiede zwischen Emulsionen mit und ohne Eudragitdispersionen zu erkennen.

Abbildung 3.2-4 und Abbildung 3.2-5 zeigt den Vergleich der Histogramme der Teilchengrößenverteilungen von Eudragitdispersionen, Emulsionen ohne Dispersion und Emulsionen mit Dispersion.

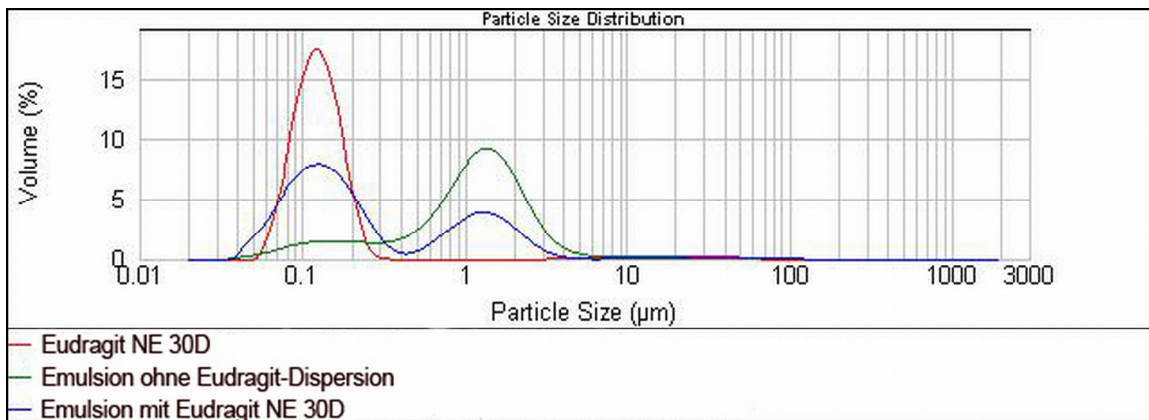


Abbildung 3.2-4: Teilchengrößenverteilung von Eudragit NE 30D, einer Emulsion mit Eudragit NE 30D und einer Emulsion ohne Eudragit-Dispersion; Mittelwert aus 3 Messungen

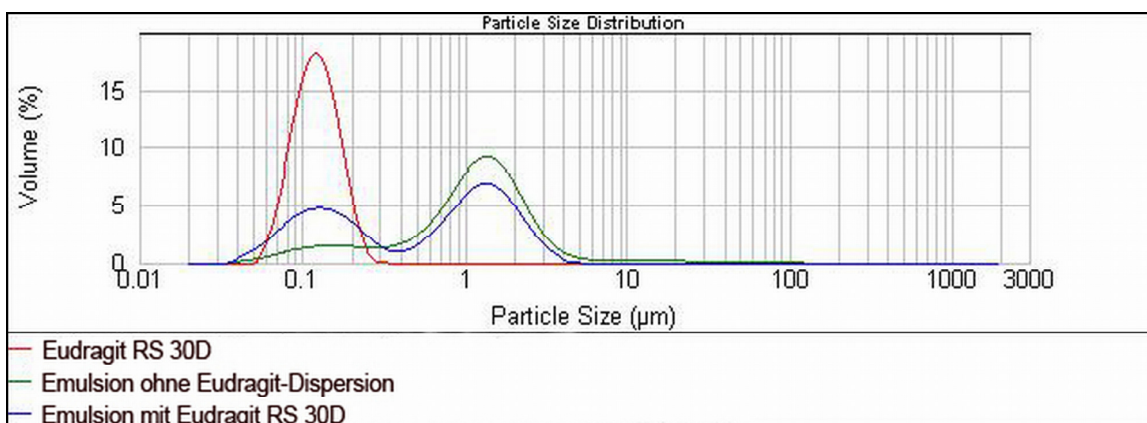
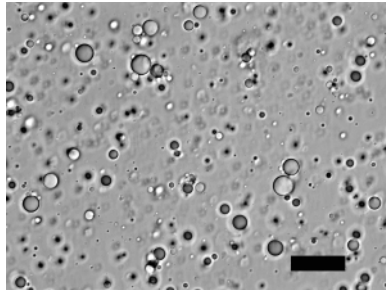


Abbildung 3.2-5: Teilchengrößenverteilung von Eudragit RS 30D, einer Emulsion mit Eudragit RS 30D und einer Emulsion ohne Eudragit-Dispersion; Mittelwert aus 3 Messungen

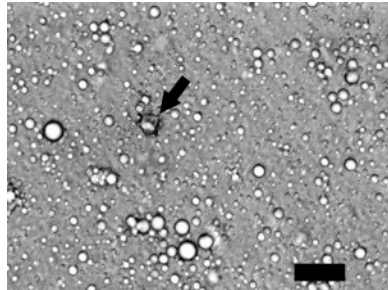
Die reinen Dispersionen zeigen ein Maximum der Partikelgrößen von ca. 120  $\mu\text{m}$ , während die reinen Emulsionen einen Maximalwert bei ca. 2  $\mu\text{m}$  aufweisen. Die Histogramme der Emulsionen mit Dispersion weisen zwei Peaks auf, einer bei ca. 120 nm, der auf die Eudragitpartikel zurückzuführen ist und ein zweiter bei etwa 2  $\mu\text{m}$ , der auf die Öltröpfchen in der Emulsion zurückgeht. Das Hinzufügen von Eudragitdispersionen zu PVOH 8-88-stabilisierten Emulsionen zeigt also keinen Effekt auf die Tröpfchengröße der Emulsionen.

### 3.2.3 Emulsionen mit PVOH 40-88 und Eudragitdispersionen

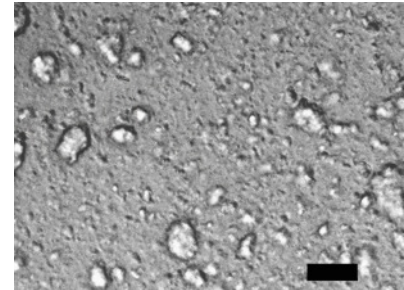
Emulsionen mit PVOH 40-88 werden beide Eudragitdispersionen getrennt voneinander zugefügt (2.2.3.4). Am Tag der Herstellung und nach 7 Tagen werden zur Beurteilung der Tröpfchengrößen lichtmikroskopische Aufnahmen angefertigt (Abbildung 3.1-10).



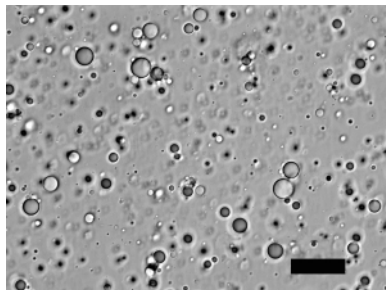
Emulsion mit PVOH 40-88



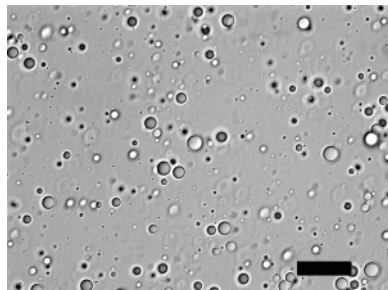
Emulsion mit PVOH 40-88 und Eudragit NE 30D Herstellungstag



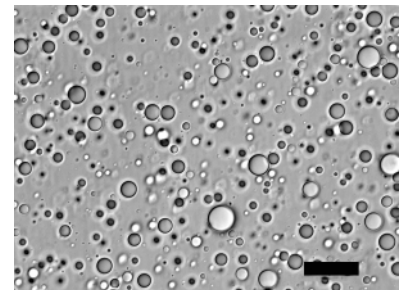
Emulsion mit PVOH 40-88 und Eudragit NE 30D nach 7 Tagen



Emulsion mit PVOH 40-88



Emulsion mit PVOH 40-88 und Eudragit RS 30D Herstellungstag



Emulsion mit PVOH 40-88 und Eudragit RS 30D nach 7 Tagen

Abbildung 3.2-6: Lichtmikroskopische Aufnahmen von Emulsionen mit PVOH 40-88 mit und ohne Eudragitdispersionen; jeweils 75 T MCT und 25 T wässrige Polymerlösung; Rotor-Stator-Homogenisator: 8 min bei 15.000 UpM; PVOH-Konzentration in der Wasserphase: 5 % (m/m); Eudragit-Anteil: 65 % (m/m); Maßstabsbalken: 20 µm

Die Emulsion mit PVOH 40-88 und Eudragit NE 30D zeigt bereits am Tag der Herstellung wenige Agglomerate von <math><10\ \mu\text{m}</math>. Nach 7 Tagen besteht die Emulsion ausschließlich aus Agglomeraten von bis zu 20 µm. Die Emulsion mit PVOH 40-88 und Eudragit RS 30D zeigt während des Beobachtungszeitraums keine solchen Agglomerate, die Tröpfchen erscheinen im mikroskopischen Bild nach 7 Tagen Lagerung etwas größer als direkt nach der Herstellung.

Dass sich in Emulsionen mit PVOH 40-88 und Eudragit NE 30D Agglomerate bilden ist erstaunlich, da sowohl die Emulsion aus PVOH 40-88 mit MCT, als auch die Mischung von PVOH 40-88 mit Eudragit NE 30D stabil sind. Es kommt offensichtlich erst bei Anwesenheit aller Komponenten zur Flockung. Als Grund hierfür ist eine Wechselwirkung über das in Eudragit NE 30D enthaltene Nonoxynol 100 denkbar, das

über Wasserstoffbrückenbindungen mit dem PVOH an der Grenzfläche der Tröpfchen wechselwirken könnte. Mit der Folge, dass sehr feste Agglomerate aus Öltröpfchen, PVOH und Eudragit NE-Partikeln gebildet werden.

Dass die Tröpfchengrößen einer Emulsion mit PVOH 40-88 und Eudragit RS 30D innerhalb von 7 Tagen zunehmen, könnte auf eine Verdrängung des PVOH 40-88 aus der Grenzfläche der Tröpfchen durch die in Eudragit RS 30D enthaltene Sorbinsäure zurück zu führen sein, durch die die Koaleszenzstabilität verringert und die Tröpfchengröße erhöht wird.

PVOH 40-88 kann demnach nicht als Polymeremulgator in den filmbildenden Emulsionen verwendet werden.

### 3.2.4 Emulsionen mit PVOH 8-88 und Nonivamid

Betrachtet man die Strukturformel des Nonivamids (Abbildung 3.2-7), so scheint eine Affinität zur Grenzfläche durchaus möglich. Dabei könnte der Nonansäurerest den lipophilen Teil und der Vanillylamid-Teil den hydrophilen Part einer amphiphilen Struktur bilden.

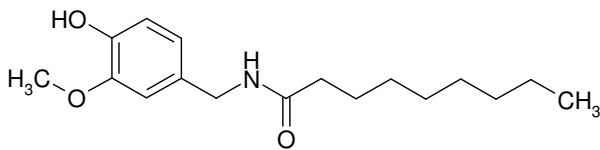


Abbildung 3.2-7: Strukturformel des Nonivamids

Nonivamid befindet sich in der Ölphase der Emulsionen und ist somit bereits bei deren Herstellung vorhanden und kann die Tröpfchengröße beeinflussen. Um eine Beteiligung des Nonivamids an der Besetzung der Grenzfläche abzuklären werden Grenzflächenspannungsmessungen zwischen einer 5%igen (m/m) NVA-Lösung in MCT und Wasser bzw. 10%iger PVOH 8-88-Lösung durchgeführt und mit der Grenzflächenspannung zwischen MCT und Wasser bzw. 10%iger (m/m) PVOH 8-88-Lösung verglichen (Abbildung 3.2-8).

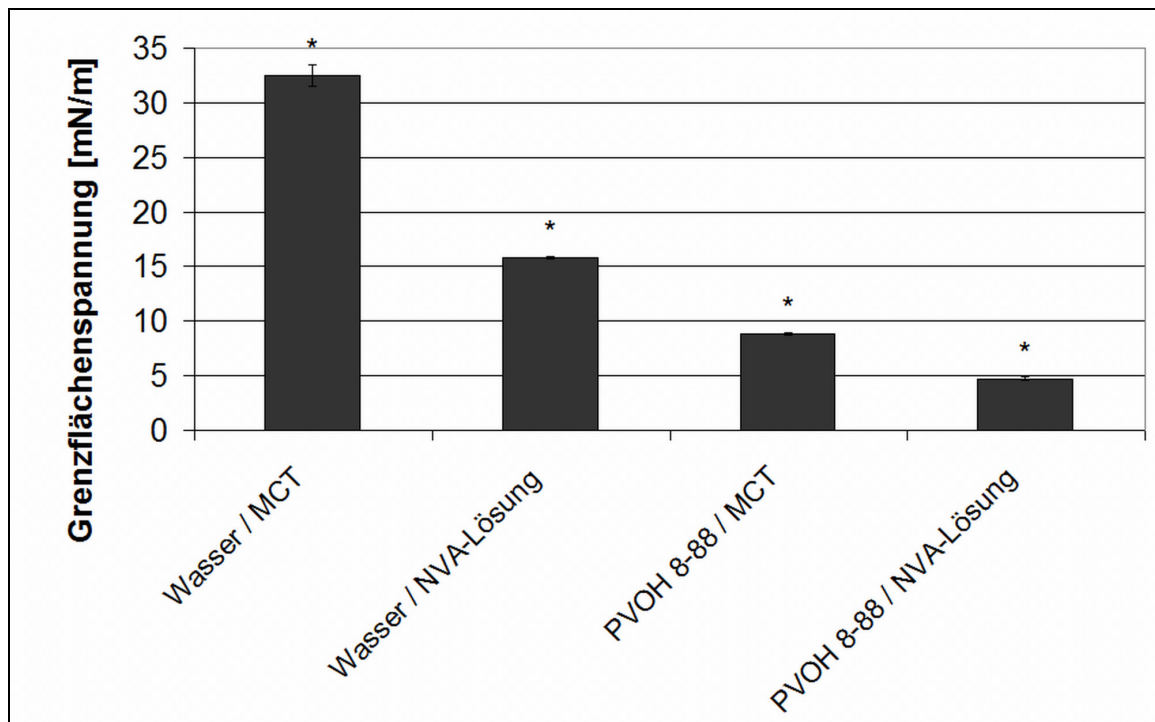
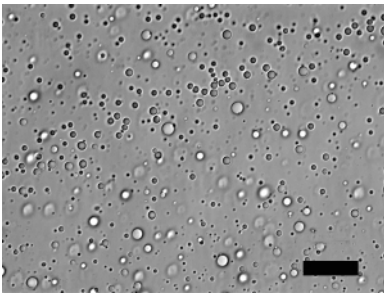


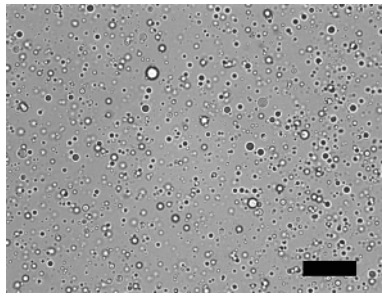
Abbildung 3.2-8: Vergleich der Grenzflächenspannungen von PVOH 8-88 gegenüber MCT und 5%iger NVA-Lösung; n=3; Fehlerbalken: Standardabweichung

Es zeigt sich, dass NVA die Grenzflächenspannung im Wasser-MCT-System um 16 mN/m auf 16 mN/m absenkt. Die Grenzflächenspannung zwischen 10%iger (m/m) PVOH 8-88-Lösung und MCT wird durch NVA um 4 mN/m auf 5 mN/m verringert. NVA ist also grenzflächenaktiv, besetzt mit PVOH 8-88 gemeinsam die Grenzfläche im Wasser-MCT-System und kann demnach bei der Emulsionsherstellung Einfluss auf die Tröpfchengröße nehmen.

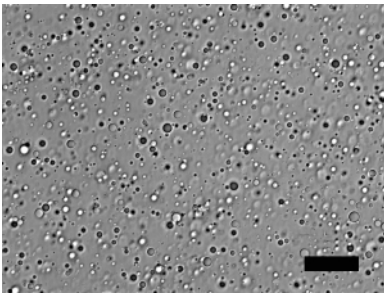
Um diesen Einfluss zu untersuchen werden Emulsionen bestehend aus 25 T 10%iger (m/m) PVOH 8-88-Lösung als wässriger Außenphase und 75 T 5%iger (m/m) NVA-Lösung in MCT als Innenphase hergestellt. Die Emulsionen werden lichtmikroskopisch (2.2.8.1) sowie mit Hilfe der Laserdiffraktometrie (2.2.6.1) untersucht und mit Emulsionen ohne NVA verglichen. Die Abbildungen 3.2.1-8 und 3.2.1-9 zeigen die Ergebnisse dieser Untersuchungen.



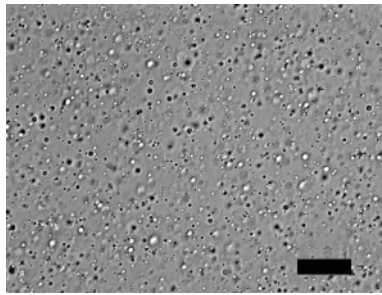
Emulsion mit PVOH 8-88  
8.000 UpM ohne NVA



Emulsion mit PVOH 8-88  
12.000 UpM ohne NVA



Emulsion mit PVOH 8-88  
8.000 UpM mit NVA



Emulsion mit PVOH 8-88  
12.000 UpM mit NVA

Abbildung 3.2-9: Lichtmikroskopische Aufnahmen von Emulsionen aus 25 T PVOH 8-88-Lösung und 75 T MCT bzw. NVA-Lösung in MCT hergestellt bei verschiedenen Umdrehungsgeschwindigkeiten; jeweils 30 T MCT und 10 T wässrige Polymerlösung; Rotor-Stator-Homogenisator: 8 min; PVOH-Konzentration in der Wasserphase: 10 % (m/m); Maßstabsbalken: 20 µm

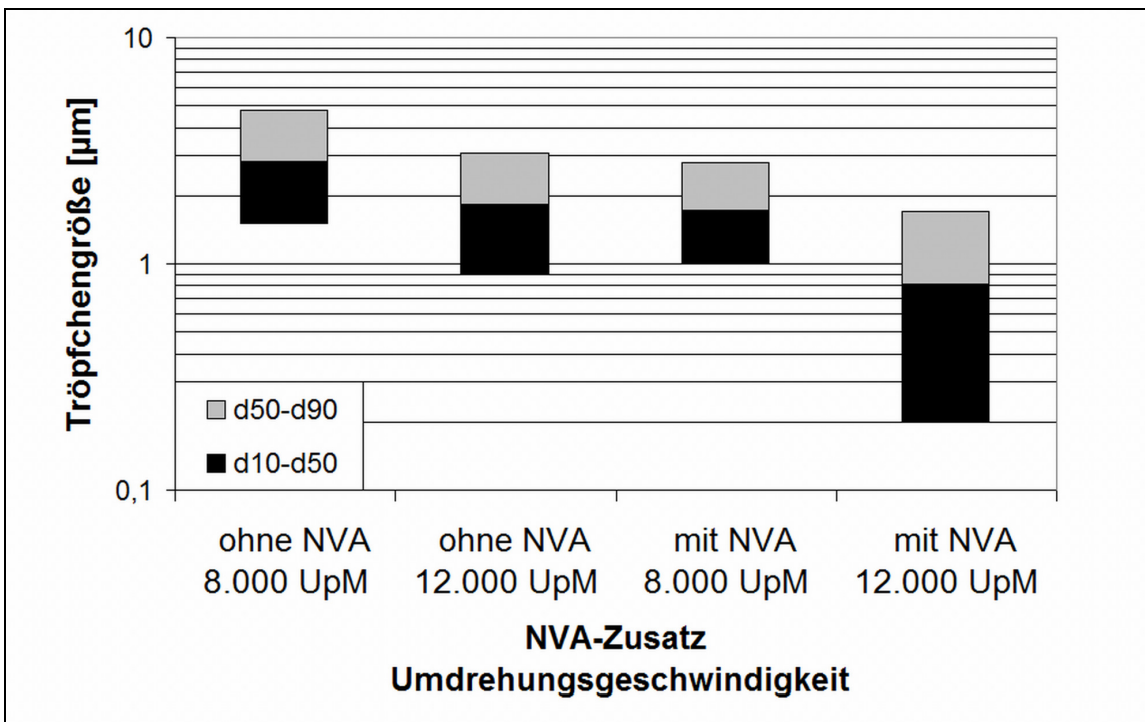


Abbildung 3.2-10: Tröpfchengrößenverteilung von Emulsionen aus 10 T PVOH 8-88-Lösung und 30 T MCT bzw. NVA-Lösung in MCT hergestellt bei verschiedenen Umdrehungsgeschwindigkeiten; n=3 jeweils 30 T MCT und 10 T wässrige Polymerlösung; Rotor-Stator-Homogenisator: 5 min; PVOH-Konzentration in der Wasserphase: 10 % (m/m)



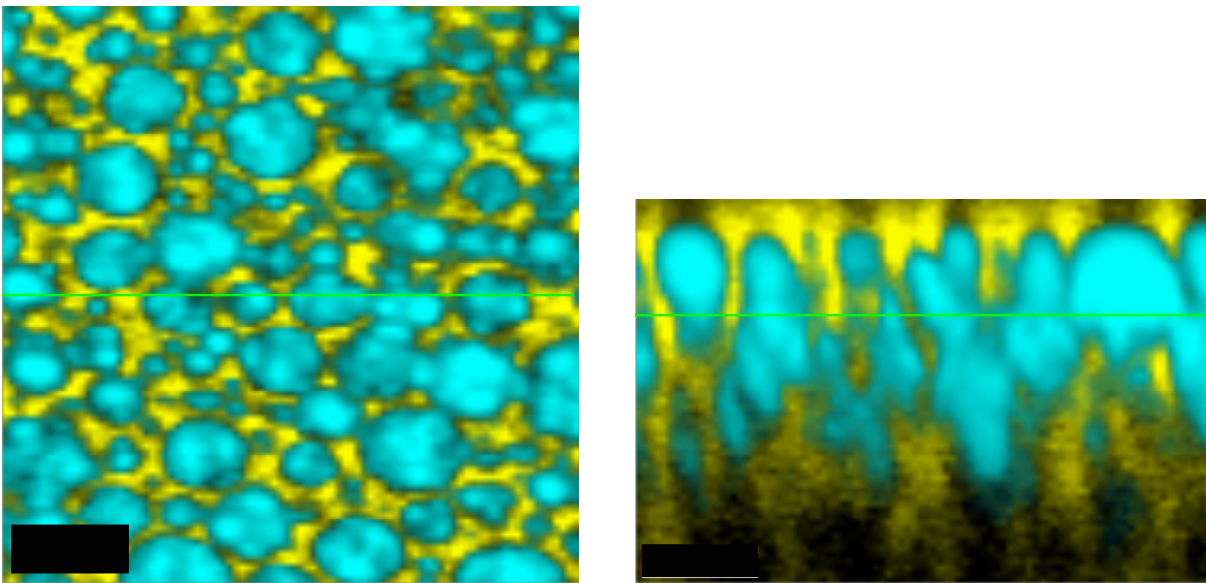
Sowohl die lichtmikroskopischen Bilder, als auch die Ergebnisse der Laserdiffraktometrie zeigen, dass die Tröpfchen der Emulsionen mit NVA bei gleicher Homogenisierungsgeschwindigkeit kleiner sind als die der Emulsionen ohne NVA. Tröpfchengrößen von Emulsionen mit NVA, die bei 8.000 UpM hergestellt werden sind vergleichbar mit den Tröpfchengrößen von Emulsionen ohne NVA, die bei 12.000 UpM hergestellt werden. Die Herstellung von Emulsionen mit NVA bei einer Homogenisierungsgeschwindigkeit von 12.000 UpM, ergibt Tröpfchen, die zum Großteil kleiner als 1  $\mu\text{m}$  sind.

Sollen bei Emulsionen mit und ohne NVA die gleichen Tröpfchengrößen erhalten werden, so müssen Emulsionen ohne NVA bei 12.000 UpM und Emulsionen mit NVA bei 8.000 UpM homogenisiert werden.

### 3.2.5 Ramanmikroskopische Charakterisierung

Zur weiteren Charakterisierung der Emulsionen werden ramanmikroskopische Aufnahmen erstellt (2.2.8.2). Die Aufnahmen sollen zeigen, wie sich die Rezepturbestandteile in der fertigen Emulsion verteilen und ob es u. U. in dem komplexen Vielstoffgemisch, das die Emulsionen darstellen doch zu Unverträglichkeiten kommt.

Zunächst wird eine Emulsion ohne Eudragit-Dispersion untersucht (Abbildung 3.2-11).

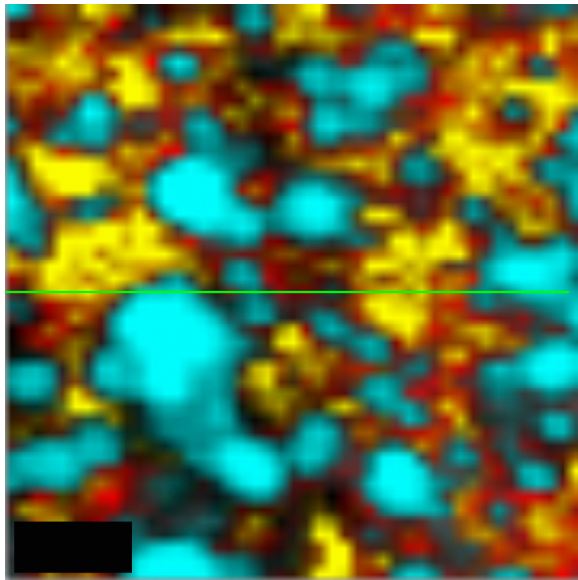


Emulsion ohne Eudragit-Dispersion (Zusammensetzung siehe Tabelle 2.2-3)  
horizontaler Scan vertikaler Scan

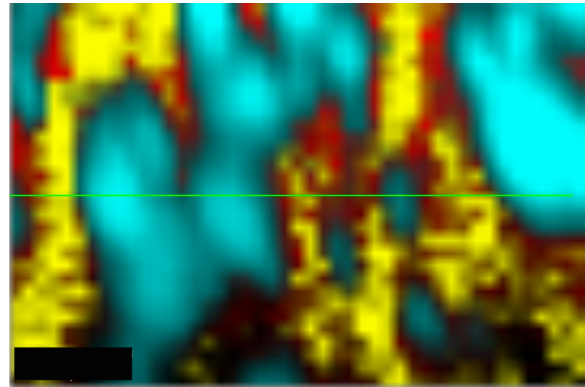
Abbildung 3.2-11: Ramanmikroskopische Aufnahmen einer Emulsion mit PVOH 8-88; Maßstabsbalken: 3  $\mu\text{m}$ ; Farbcode der Falschfarbenbilder: ■ PVOH 8-88-Lösung ■ MCT — markiert die Stelle im vertikalen Scan, an der der horizontale Scan aufgenommen wurde und andersherum.

Abbildung 3.2-11 zeigt einen horizontalen, sowie einen vertikalen Schnitt durch die Emulsion. Die Aufnahmen zeigen Öltröpfchen, die von einer PVOH-Lösung umgeben sind. Die Öltröpfchen liegen eng beieinander, da die untersuchte Emulsion mit ein Phasenvolumenverhältnis von 0,75 aufweist.

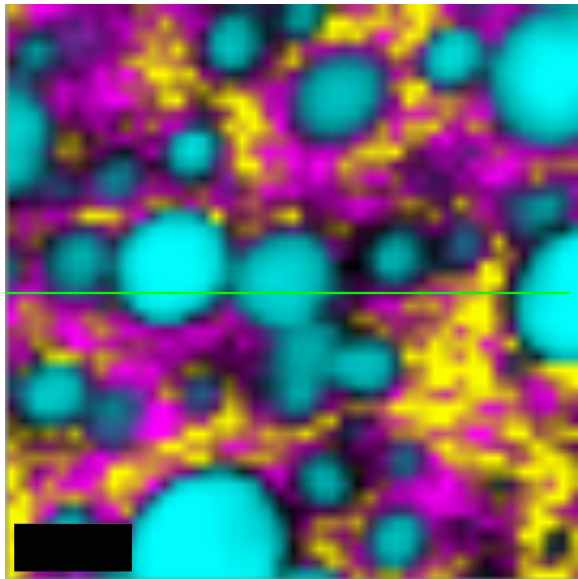
Dieser Emulsion werden entweder Eudragit NE 30D oder Eudragit RS 30D zugegeben und erneut Raman-Aufnahmen angefertigt (Abbildung 3.2-12).



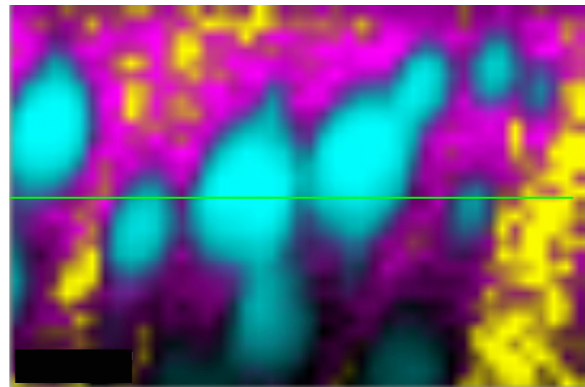
Emulsion mit Eudragit RS 30D  
horizontaler Scan



(Zusammensetzung siehe Tabelle 2.2-3)  
vertikaler Scan



Emulsion mit Eudragit NE 30D  
horizontaler Scan



(Zusammensetzung siehe Tabelle 2.2-3)  
vertikaler Scan

Abbildung 3.2-12: Ramanmikroskopische Aufnahmen von Emulsionen mit PVOH 8-88 und Eudragit NE 30D oder RS 30D; Maßstabsbalken: 3 µm; Farbcode der Falschfarbenbilder: ■ PVOH 8-88-Lösung ■ MCT ■ Eudragit RS 30D ■ Eudragit NE 30D — markiert die Stelle im vertikalen Scan, an der der horizontale Scan aufgenommen wurde und andersherum.

Die ramanmikroskopischen Aufnahmen zeigen, dass die in den Emulsionen vorhandenen Öltröpfen als klar von den restlichen Bestandteilen abgegrenzte Ellipsoide vorliegen. Eudragit-Dispersion und PVOH 8-88-Lösung sind um die Tropfen herum in

der Wasserphase der Emulsion angeordnet. Es ist keine Separation der Polymere voneinander zu erkennen. Im Ramanbild ergibt sich dadurch eine Mischfarbe.

### 3.2.6 Zusammenfassung Charakterisierung der Emulsionen

Die Untersuchung von Emulsionen mit PVOH 8-88 oder PVOH 40-88 mit einem Phasenvolumenverhältnis von 0,75 zeigen, dass Emulsionen mit PVOH 8-88 eine geringere Tropfengröße aufweisen als Emulsionen mit PVOH 40-88. Der Zusatz von Eudragitdispersionen zu Emulsionen mit PVOH 8-88 beeinflusst die Tropfengrößen der Emulsionen nicht. Ebenso zeigen die ramanmikroskopischen Untersuchungen keine Inkompatibilitätserscheinungen zwischen den Polymeren in der filmbildenden Emulsion. PVOH 8-88 ist daher geeignet zur Stabilisierung Eudragithaltiger Emulsionen.

Bei Emulsionen mit PVOH 40-88 und Eudragit NE 30D bilden sich bereits nach der Herstellung erste Agglomerate, die nach 7 Tagen überall in der Zubereitung zu finden sind. Der Zusatz von Eudragit RS 30D zu Emulsionen mit PVOH 40-88 führt zur Vergrößerung der Tröpfchen der Emulsion. PVOH 40-88 ist somit nicht zur Stabilisierung Eudragit-haltiger Emulsionen geeignet.

Emulsionen ohne NVA zeigen einen  $d_{50}$  von  $1,8 \mu\text{m}$  sofern die Emulsionen bei 12.000 UpM mit Hilfe des Rotor-Stator-Homogenisators hergestellt werden. Emulsionen mit 5 % (m/m) NVA zeigen eine solche Tropfengröße bei deutlich geringerem Energieeintrag (8.000 UpM). Dieser Effekt ist durch die grenzflächenaktiven Eigenschaften des NVA bedingt, die dazu führen, dass die Grenzflächenspannung von MCT zu PVOH 8-88-Lösung von  $9 \text{ mN/m}$  auf  $5 \text{ mN/m}$  abgesenkt wird.

### **3.3 Charakterisierung der Filme**

#### **3.3.1 Mechanische Eigenschaften**

Die untersuchten Emulsionen sollen bei der späteren Applikation durch den Patienten auf der Haut einen zusammenhängenden Film bilden und die Öltropfen sollen in diesem Film eingeschlossen werden. Aus ihnen soll der enthaltene Wirkstoff über einen längeren Zeitraum abgegeben werden, als dies bei der Anwendung einer Creme der Fall wäre. Die Haut als Applikationsort für filmbildende Emulsionen stellt dabei besondere Anforderungen an den späteren Film, insbesondere wenn größere Hautpartien behandelt werden sollen. Zeigen die Filme keine ausreichende Elastizität, passen sich also der normalen Bewegung des Körpers nicht an, so kann ein Spannungsgefühl entstehen, welches als unangenehm empfunden werden kann. Des Weiteren kann eine zu geringe Elastizität des Films zum Reißen und damit zu einer verfrühten Freisetzung größerer Mengen des Wirkstoffs führen, was bei dem hier verwendeten Nonivamid zu brennenden Empfindungen führen kann und daher vermieden werden muss. Neben einer ausreichenden Dehnbarkeit müssen die Filme eine genügend starke Haftung an der Haut zeigen, damit sie auch über die gesamte Applikationsdauer hinweg vollflächigen Kontakt zur Haut zeigen. Lösen sich Teile des Films ab, so werden die darunter liegenden Hautstellen nicht mehr zuverlässig mit Arzneistoff versorgt und die Wirkung setzt aus. Ein Nachdosieren der Formulierung wäre notwendig. Damit wäre aber der Vorteil der filmbildenden Emulsionen gegenüber Cremes zunichte gemacht.

Zur Untersuchung der mechanischen Eigenschaften werden daher freie Filme aus den filmbildenden Emulsionen hergestellt und deren Dehnbarkeit sowie Adhäsion an Glas und Polycarbonat untersucht.

### 3.3.1.1 Dehnung

Die Dehnbarkeit menschlicher Haut wurde bereits 1978 erstmals von Langer untersucht. Er stellte fest, dass die Haut über dem Schulterblatt um 33-56 % gedehnt wird, wenn man den Arm hebt (Langer 1978). Sumino et. al. (2009) fanden heraus, dass sich die Haut postmenopausaler Frauen um 28 % dehnen lässt. Somit sollten Filme, die auf der Haut angewendet werden sollen, mindestens 30 % Dehnbarkeit aufweisen. Da bekannt ist, dass sich Filme aus Eudragit NE deutlich besser dehnen lassen als Filme aus Eudragit RS erscheint es sinnvoll Mischungen aus Eudragit NE und RS zu verwenden um die benötigte Dehnbarkeit zu erreichen (Krögel und Bodmeier 1999; Sungthongjeen, et al. 2008). Wenn allerdings beide Eudragitdispersionen ohne Vorbehandlung miteinander vermischt werden, kommt es zur Flockung. Um eine homogene Mischung herstellen zu können, muss der pH-Wert angeglichen und den Eudragitdispersionen Polysorbat 80 (PS 80) zugesetzt werden (Lehmann und Dreher 1986). Dann kann Eudragit RS 30D vorgelegt und Eudragit NE 30D langsam unter Rühren zugegeben werden. Die Emulsionen mit Eudragit-Mischungen enthalten also zusätzlich zu TEC, welches als Weichmacher für Eudragit RS eingesetzt wird, auch PS 80. Daher wird zunächst der Einfluss von TEC und PS 80 alleine sowie der Einfluss der TEC-PS 80-Mischung auf die Dehnbarkeit untersucht. Es soll überprüft werden, ob sich Unterschiede ergeben, die bei der weiteren Entwicklung berücksichtigt werden müssen.

Abbildung 3.3-1 fasst die Ergebnisse der Dehnungsmessung von Emulsionsfilmen mit verschiedener Weichmacherzusammensetzung zusammen.

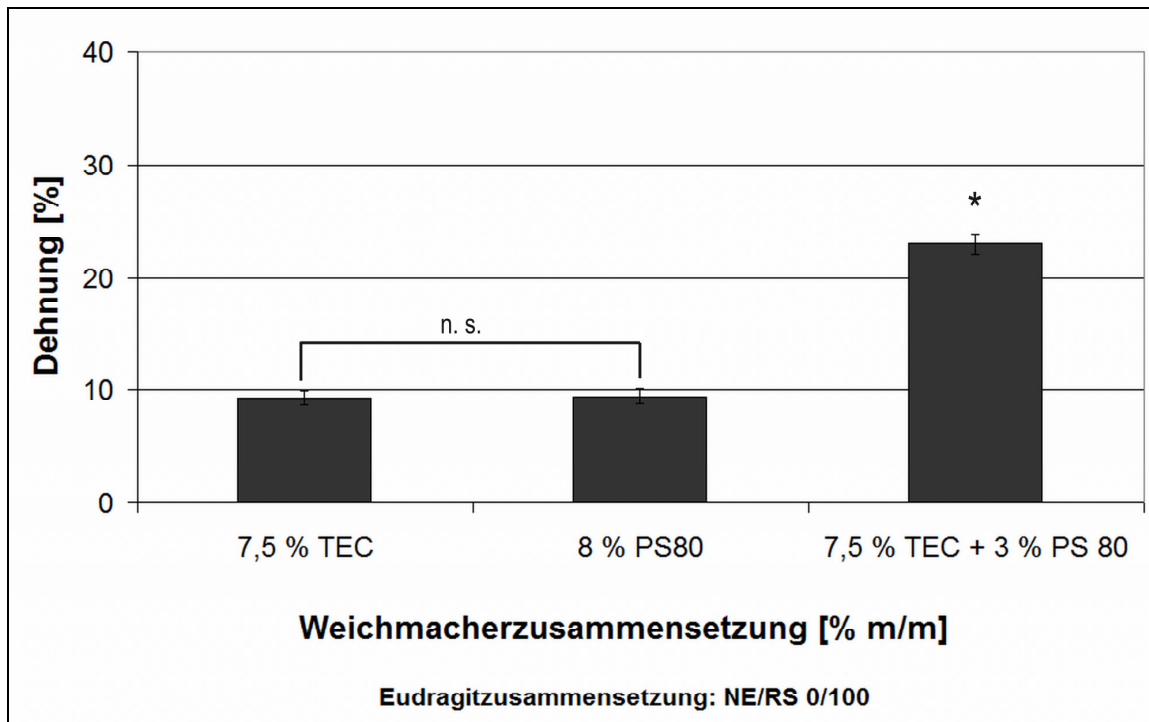


Abbildung 3.3-1: Nominelle Bruchdehnung freier Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung; filmbildendes Polymer: Eudragit RS; Polymeremulgator: PVOH 8-88; n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

Die Dehnbarkeit von Filmen mit TEC oder PS 80 liegt bei einem sehr geringen Wert von jeweils 9 %.

Der Zusatz von 3 % PS 80 zu mit 7,5 % TEC weichgemachtem Eudragit RS 30D, führt zu einer Erhöhung der Dehnbarkeit auf 23 %.

Die Art des verwendeten Weichmachers (TEC oder PS 80) wirkt sich offensichtlich nicht auf die Dehnbarkeit der Filme aus, die Gesamtweichmachermenge allerdings schon. Dies ist nicht überraschend und konnte bereits von verschiedenen Gruppen gezeigt werden. Der Grund hierfür liegt in einer erhöhten Beweglichkeit der Polymersegmente (Sinko und Amidon 1989, Gutiérrez-Rocca und McGinity 1994). Die Art des Weichmachers kann dabei einen Einfluss haben, ist im vorliegenden Fall jedoch nicht von Bedeutung, da TEC und PS 80 einen vergleichbaren Einfluss auf  $T_g$  und Dehnbarkeit zeigen.



Im Folgenden wird der Einfluss der Eudragitzzusammensetzung auf die Dehnungseigenschaften der Emulsionsfilme untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3.3-2 dargestellt.

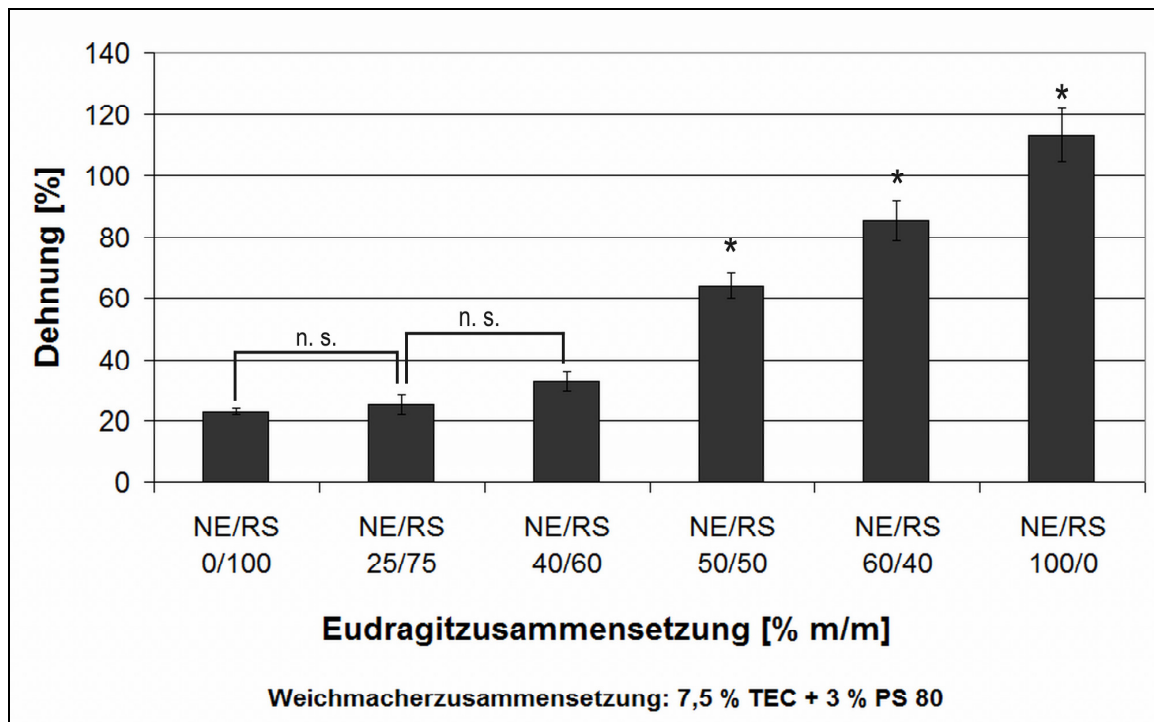


Abbildung 3.3-2: Nominelle Bruchdehnung freier Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung; Weichmacher: 7,5 % TEC + 3 % PS 80; Polymeremulgator: PVOH 8-88; n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

Emulsionsfilme, die als filmbildendes Polymer nur Eudragit RS enthalten weisen die geringste Dehnbarkeit (23 %) auf. Emulsionsfilme, die als filmbildendes Polymer nur Eudragit NE enthalten zeigen eine Dehnbarkeit von 113 %. Die Dehnbarkeit der Filme, welche sowohl Eudragit RS als auch Eudragit NE enthalten, nimmt mit steigendem Eudragit NE-Anteil kontinuierlich, aber nicht linear zu.

Dass Filme aus Eudragit NE deutlich dehnbarer sind als weichgemachte Eudragit RS-Filme (20 % TEC (m/m LTS)), konnte bereits von Krögel und Bodmeier gezeigt werden (Krögel und Bodmeier 1999). Dort lag die Dehnbarkeit von Eudragit NE bei 153 %, wohingegen sich Eudragit RS mit 20 % TEC (m/m LTS) weichgemacht nur um 65 % dehnen ließ. Auch die hier untersuchten Emulsionsfilme mit Eudragit NE sind deutlich dehnbarer als Emulsionsfilme mit Eudragit RS (113 % vs. 23 %), erreichen aber nicht die Elastizität von Filmen, die aus den Polymerlösungen gewonnen werden. Dies liegt darin begründet, dass die in den Emulsionsfilmen enthaltenen Öltröpfchen als Fehlstellen im Film aufgefasst werden können und somit die mechanische Stabilität der Filme negativ beeinflussen. Des Weiteren enthalten die Filme PVOH, welches die

Zugfestigkeit in Polymermischungen erhöhen kann, allerdings auf Kosten der Dehnbarkeit (Sriupayo, et al. 2005). Eudragit RS scheint hiervon stärker beeinflusst zu werden als Eudragit NE. Während die Dehnbarkeit der Emulsionsfilme mit Eudragit RS auf etwa ein Drittel sinkt (obwohl der Weichmacheranteil sogar um 5 % (m/m bezogen auf LTS) höher liegt), sinkt die Dehnbarkeit von Emulsionsfilmen mit Eudragit NE nur um ein Viertel gegenüber den Filmen aus reinem Eudragit NE.

Eudragit NE wird häufig in Polymermischungen eingesetzt, um die Flexibilität von Filmüberzügen zu verbessern (Cuppok, et al. 2011; El-Malah und Nazzal 2008). Somit ist es nicht überraschend, dass es auch die Dehnbarkeit von Emulsionsfilmen in Mischung mit Eudragit RS erhöht. Die Verbesserung der Dehnbarkeit ist bei einem Eudragit NE-Anteil von 25 T (m/m) noch nicht sonderlich stark ausgeprägt (Erhöhung um lediglich 2 %) sondern tritt erst ab ca. 40 T (m/m) Eudragit NE deutlich in Erscheinung. Hier wird die Dehnung immerhin um 10 % auf 33 % angehoben. Damit liegt sie im gewünschten Bereich von >30 %, in dem davon ausgegangen wird, dass kein unangenehmes Spannungsgefühl nach Applikation auf die Haut zu erwarten ist. Bezüglich der Dehnungseigenschaften ist also ein Eudragit NE-Anteil von mindestens 40 T (m/m) in den Emulsionsfilmen erstrebenswert.

### 3.3.1.2 Adhäsion

Neben einer ausreichenden Dehnbarkeit müssen die Emulsionsfilme auch eine genügende Adhäsion an der Haut zeigen, damit der Arzneistoff über einen längeren Zeitraum am Applikationsort zur Verfügung stehen kann. Das Ablösen des Films würde zu einer Unterversorgung der entsprechenden Hautstellen mit Arzneistoff führen und ein Nachcremen erforderlich machen, welches der Compliance abträglich wäre.

Die Adhäsionsmessungen wurden an zwei verschiedenen Materialien durchgeführt: Glas und Polycarbonat (PC). Glas ist ein relativ polares Medium, während Polycarbonat sehr lipophil ist.

Glas dient als Surrogat für Haut, da es wie das in der Haut enthaltene Keratin ein polares Medium darstellt. Es wird erwartet, dass Filme, die gut an Glas haften auch gut an der Haut haften.

Polycarbonat als unpolares Material wird als Gegenprobe verwendet.

Es gibt verschiedenste Methoden zur Messung der Adhäsion. Oft wird der „rolling ball test“ verwendet. Er liefert allerdings eher Aussagen über die Klebrigkeit (tackiness) von Filmen. Ein weiterer üblicher Test ist der so genannte „peel-off test“. Hier wird ein Streifen des Films auf dem Probenmaterial befestigt und dann im Winkel von 90° abgezogen. Hierbei wird der Film aber auch ein gewisses Stück gedehnt, was das Ergebnis verfälschen kann, wenn brüchige Filme reißen. Daher wird im vorliegenden Fall eine von Repka und McGinity entwickelte Methode abgewandelt (Repka und McGinity 2001). Sie basiert darauf, dass ein befeuchtetes Filmstück mit definierter Kraft auf ein Probenmaterial gepresst und die Kraft beim Entfernen des Films gemessen wird. Hierbei wird die Adhäsion der gesamten Fläche gemessen. Die Filme werden nicht gedehnt. Dennoch kommt es vor, dass Filme beim Abziehen reißen und Filmbruchstücke am Probenmaterial kleben bleiben. Die Ergebnisse solcher Messungen sind in den Diagrammen gestichelt dargestellt.

Abbildung 3.3-3 zeigt die Ergebnisse der Adhäsionsmessungen an Glas und Polycarbonat von Filmen mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung.

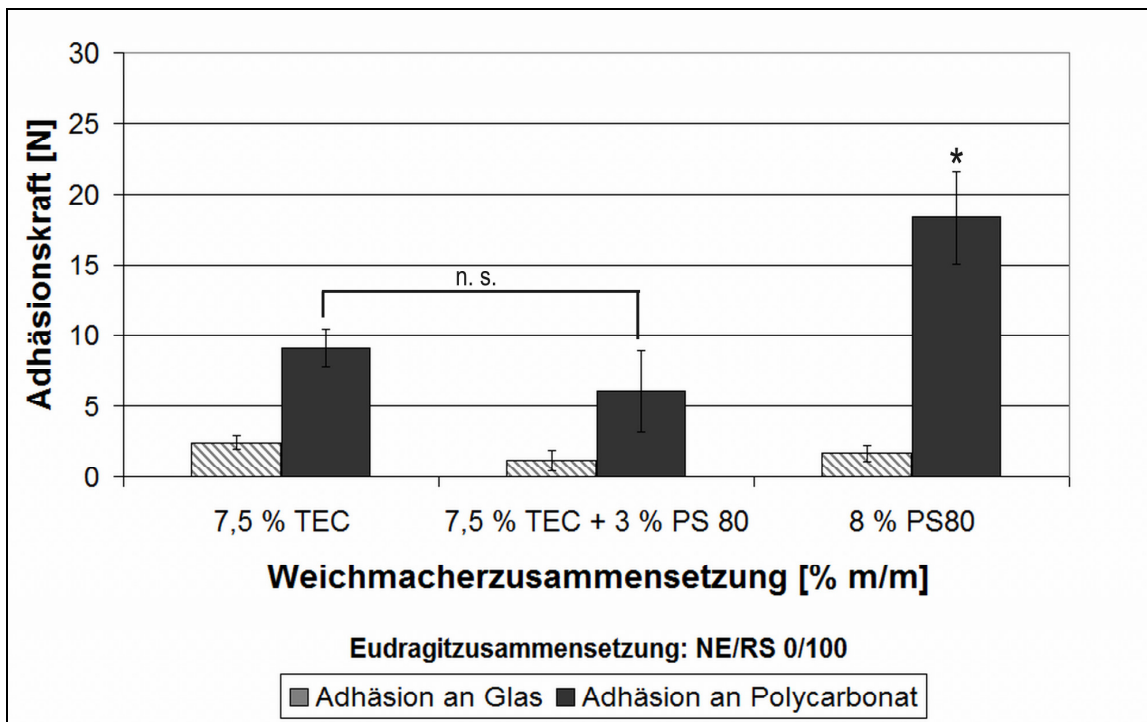


Abbildung 3.3-3: Adhäsionskraft von freien Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung; filmbildendes Polymer: Eudragit RS Polymeremulgator: PVOH 8-88; n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

Abbildung 3.3-3 zeigt, dass die Adhäsion der Filme an Glas nicht bestimmt werden kann.

Von den untersuchten Filmen haften die, die nur PS 80 als Weichmacher enthalten am stärksten an PC. Filme mit der Weichmacherkombination aus 7,5 % TEC und 3 % PS 80 haften am schlechtesten. Die Adhäsionskraft der Filme, die nur TEC als Weichmacher enthalten liegt dazwischen. Allerdings unterscheidet sich die Adhäsion von Filmen mit 7,5 % TEC und Filmen mit 7,5 % TEC und 3 % PS 80 nicht signifikant. Dieses Ergebnis ist erstaunlich. Man hätte erwartet, dass die untersuchten Emulsionsfilme mit einer Mischung der beiden Weichmacher eine Adhäsionskraft zeigen, die zwischen derer der Filme mit nur einem Weichmacher liegt. In den Emulsionsfilmen mit einer Mischung aus TEC und PS 80 determiniert stattdessen das TEC die Adhäsionseigenschaften.

Abbildung 3.3-4 vergleicht die Adhäsionskräfte von Filmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung.

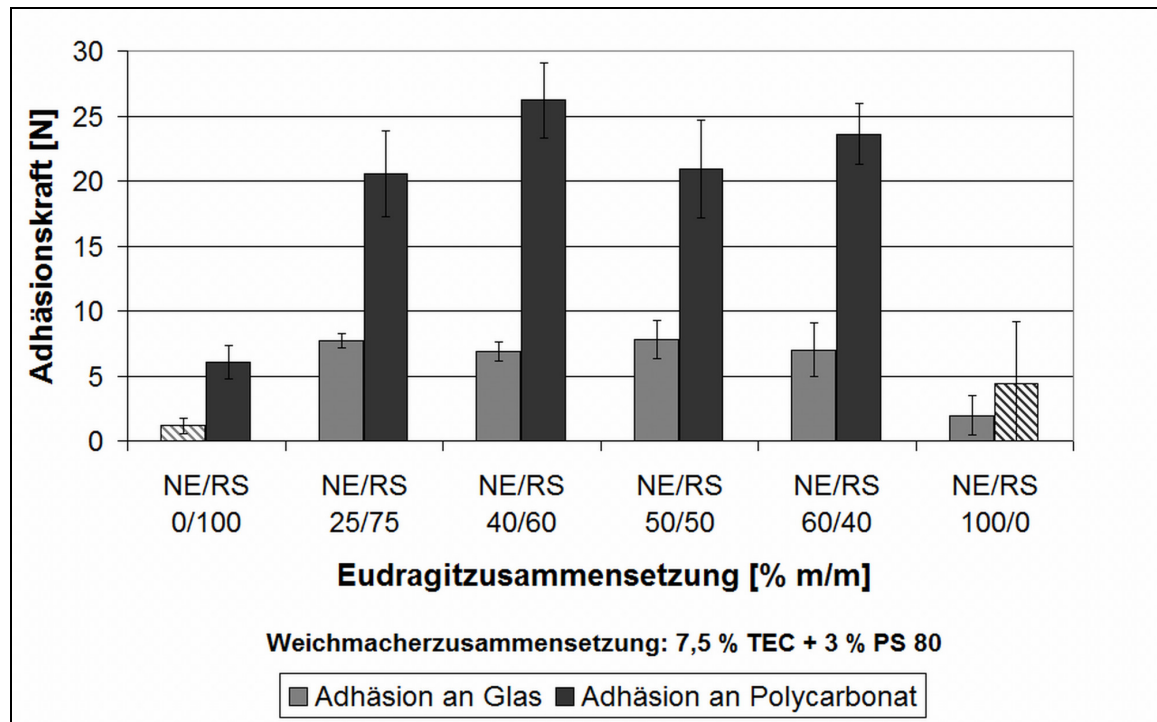


Abbildung 3.3-4: Adhäsionskraft von freien Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung; Weichmacher: 7,5 % TEC + 3 %; Polymeremulgator: PS 80 PVOH 8-88; n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

Es ist deutlich zu erkennen, dass die Adhäsion von Emulsionsfilmen an PC höher ist als die Adhäsion an Glas.

Die Adhäsion von Filmen, die als Retardpolymer nur Eudragit RS enthalten, kann an Glas nicht bestimmt werden. Ebenso kann die Adhäsion an PC nicht bestimmt werden wenn Filme nur Eudragit NE und kein Eudragit RS enthalten.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Adhäsionskraft von Filmen, mit Eudragit-Mischungen unabhängig vom Mischungsverhältnis der Polymere ist, sowohl was die Adhäsion an Glas, als auch was die Adhäsion an PC betrifft. Emulsionsfilme, die Eudragit NE und kein Eudragit RS enthalten haften schlecht an Glas. Während Filme, die Eudragit RS und kein Eudragit NE enthalten schlechter an Polycarbonat haften als die restlichen Filme.

Die Adhäsion der Filme an Polycarbonat ist im Vergleich zur Adhäsion an Glas generell höher, da beide Retardpolymere zum größten Teil aus unpolaren Monomeren aufgebaut sind. Diese unpolaren Monomere können stärkere Wechselwirkungen zu PC aufbauen als zu Glas.

Die Tatsache, dass die Filme mit Eudragit RS (ohne Eudragit NE) bei der Adhäsionsprüfung an Glas zerstört werden, lässt sich darauf zurückführen, dass die Adhäsionskräfte größer sind als die Kohäsion im Film. Die Kräfte, die den Film zusammenhalten genügen also nicht, um die Kräfte zu kompensieren, die den Film an Glas haften lassen. Dies muss in Zusammenhang mit den Ergebnissen der Dehnungsmessungen gesehen werden. Hier zeigte sich, dass Filme mit Eudragit RS sehr schlecht dehnbar sind (23 %). Die Filme werden bei der Adhäsionsprüfung zwar nicht wie beim peel-off-Test in ihrer vollen Länge gedehnt allerdings entstehen beim Abziehen von Klebmassen vom Haftgrund immer dünne Fäden der Klebmasse zwischen Untergrund und Film, da kleine Bereiche des Films noch am Untergrund haften, während der Großteil des Films sich bereits gelöst hat. Die Bildung dieser Fäden und, dass sich die noch haftenden Bereiche im Verlauf des Abziehens vollständig vom Untergrund lösen setzt eine gewisse Dehnbarkeit und starke Kohäsionskräfte voraus. Fehlen diese Eigenschaften, so reißen die Fäden ab und verbleiben am Untergrund und der Film bricht (Zosel 1989). Dies ist bei Filmen mit Eudragit RS aufgrund ihrer geringen Dehnbarkeit zu beobachten.

Filme mit Eudragit NE sind sehr gut dehnbar, reißen aber dennoch bei der Adhäsionsmessung an PC. Die Adhäsionskräfte an PC sind allerdings auch um einiges höher als bei der Adhäsion an Glas. Demnach ist es offensichtlich auch hier so, dass die Kohäsionskräfte zu gering sind, um die Adhäsionskräfte zu überwinden.

Man hätte erwartet, dass bei Filmen mit Eudragit-Mischungen die Adhäsionskraft an Glas mit zunehmendem Eudragit NE-Anteil ab- und an PC zunimmt. Die Messung zeigt allerdings, dass die Adhäsionskraft unabhängig vom Mischungsverhältnis ist. Als Erklärung hierfür kann angeführt werden, dass es beim Trocknen der Filme zur Separation der verschiedenen Polymere kommt (vgl. 3.3.3). U. U. sedimentiert eine bestimmte Polymermischung oder ein Polymer bevorzugt und es bildet sich an der Unterseite der Filme immer dieselbe Struktur bzw. Polymermischung. Wodurch die Adhäsionskräfte nivelliert werden.

Da alle Filme, die Mischungen der beiden Eudragite enthalten die gleiche Adhäsion aufweisen, die zudem höher ist, als die der Filme, die nur eines der beiden Eudragite enthalten, sollte eine filmbildende Emulsion möglichst beide Eudragite enthalten. Ihre Zusammensetzung ist dabei, was die Adhäsionseigenschaften betrifft, zweitrangig.

### 3.3.2 Wasserfestigkeit

Die Voraussetzung für eine retardierte Wirkstofffreisetzung auf der Haut des Patienten ist eine ausreichende Substantivität der Emulsionsfilme. Um einen ersten Eindruck von ihr zu erhalten, wird ein Wasserfestigkeitstest durchgeführt wie er auch bei der Entwicklung wasserfester Sonnencremes verwendet wird (Westphal 2010). Als Modellarzneistoff wird ein öllöslicher Sonnenschutzfaktor (Diethylhexylbutamidotriazon (DEBT)) verwendet. Außerdem werden Filme untersucht, die Coffein als wasserlöslichen Wirkstoff in der wässrigen Außenphase der Emulsion enthalten, wodurch das Coffein rasch freigegeben werden sollte. Die Ergebnisse der Prüfung sind in Abbildung 3.3-5 zusammengefasst.

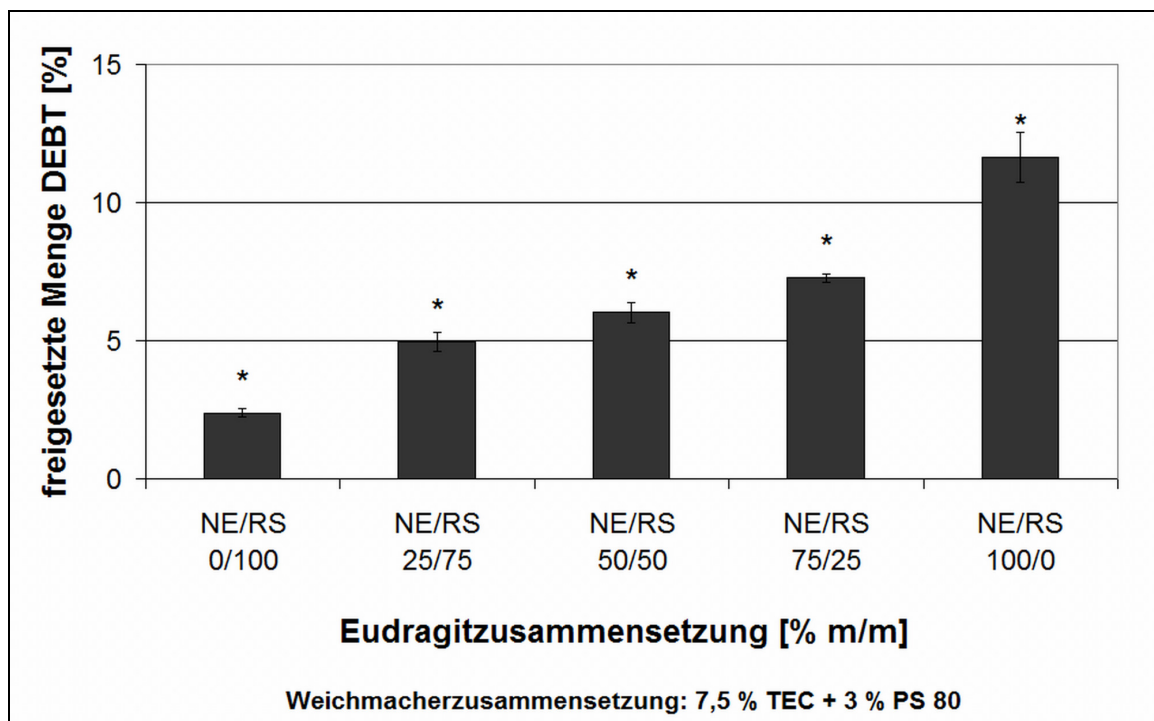


Abbildung 3.3-5: Innerhalb von 80 min bei 32 °C freigesetzte Menge DEBT aus Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Eudragitzusammensetzung; n=3; Fehlerbalken: Standardabweichung

Coffein wird aus allen Filmen innerhalb von 80 min vollständig freigesetzt (vgl. Anhang 6.2). In derselben Zeit werden maximal 12 % DEBT freigegeben (Filme mit Eudragit NE). Filme mit Eudragit RS zeigen die geringste Freisetzung von 2 %. Die freigegebene Menge steigt mit zunehmendem Eudragit NE-Anteil.

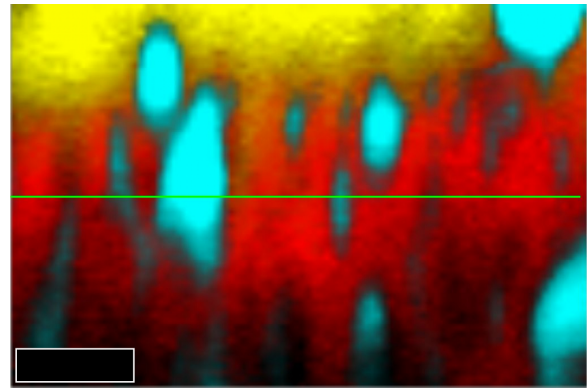
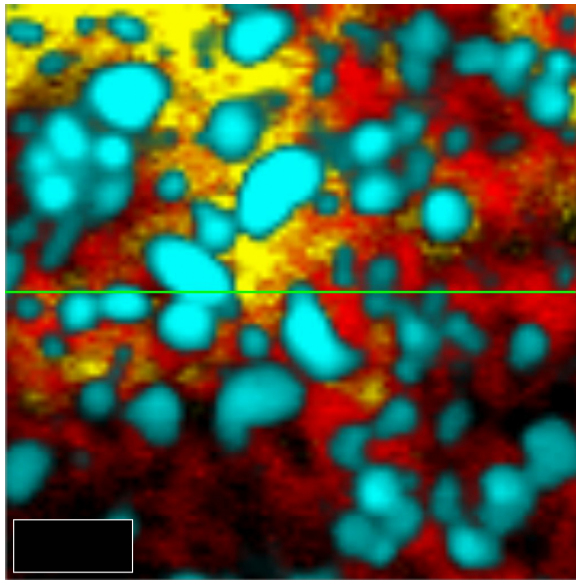
Coffein befindet sich in der Außenphase der Emulsionsfilme und geht somit schnell in das Inkubationsmedium über. DEBT befindet sich hingegen auch nach Trocknung der Filme in den Öltröpfchen. Diese sind von den Retardpolymeren umschlossen, welche ein Auflösen des Films verhindern und die Freigabe des Wirkstoffs aus dem Öl

verzögern. Daher wird innerhalb der gleichen Zeit eine geringere Menge DEBT aus den Emulsionsfilmen freigegeben. Zieht man den Verteilungskoeffizienten von DEBT in Betracht ( $\log P_{ow}$ : 4 lt. Hersteller), so können ca. 20 % (m/m) des DEBT in das Inkubationsmedium übergehen. Alle Filme vermindern somit die Freigabe von DEBT. Mischungen mit einem hohen Eudragit RS-Anteil sind dabei als vorteilhaft zu bewerten, da aus ihnen weniger DEBT freigesetzt wird, als aus Filmen mit hohem Eudragit NE-Anteil. Sie zeigen eine höhere Substantivität und erfüllen damit die Voraussetzungen für eine verlängerte Wirkstofffreigabe.









Eudragitzzusammensetzung: NE/RS 0/100;  
horizontaler Scan

Weichmacherzusammensetzung: 8 % PS 80  
vertikaler Scan

Abbildung 3.3-8: Ramanmikroskopische Aufnahmen von Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Weichmacher- und Eudragitzzusammensetzung; Maßstabsbalken: 3  $\mu\text{m}$ ; Farbcode der Falschfarbenbilder: ■ PVOH 8-88 ■ MCT ■ Eudragit RS — markiert die Stelle im vertikalen Scan, an der der horizontale Scan aufgenommen wurde und andersherum.

Bei allen getrockneten Emulsionsfilmen sind die Öltröpfchen als abgegrenzte Bereiche zu erkennen. Um sie herum befinden sich Eudragit und PVOH 8-88.

Die Öltröpfchen sind nicht immer als einzelne Tröpfchen zu erkennen sondern es sind auch einige der Tropfen während des Trocknens koalesziert und es haben sich teilweise unregelmäßig geformte Öl-gefüllte Bereiche gebildet. Wird ausschließlich TEC als Weichmacher eingesetzt, so bilden sich größere Öltropfen als bei Verwendung von PS 80 alleine oder in Mischung mit TEC.

Die Polymere, die vor der Trocknung noch homogen vermischt waren, liegen nach der Trocknung teilweise getrennt voneinander vor. Es sind Bereiche zu erkennen, in denen die Konzentration eines Polymers höher ist, als in anderen Teilen des Emulsionsfilms (erkennbar an einer intensiveren Färbung des Bereichs in der dem jeweiligen Polymer zugewiesenen Farbe). In allen Filmen sieht es so aus, als würde sich PVOH vermehrt im oberen Teil der Filme befinden. Der Effekt ist im Film mit 8 % (m/m) PS 80 besonders stark ausgeprägt (Abbildung 3.3-8). Im Emulsionsfilm mit PVOH, Eudragit RS und NE kommt es zu einer besonders starken Entmischung der drei Polymere (Abbildung 3.3-7). Neben den Bereichen intensiver Türkis-Färbung, welche die Öltröpfchen darstellen, sind im Ramanbild abgegrenzte Bereiche mit starker Magenta-Färbung, sowie Bereiche mit starker Gelb-Färbung in einer roten Matrix zu

erkennen. Diese visualisieren Bereiche, in denen Eudragit NE bzw. PVOH getrennt von Eudragit RS vorliegen.

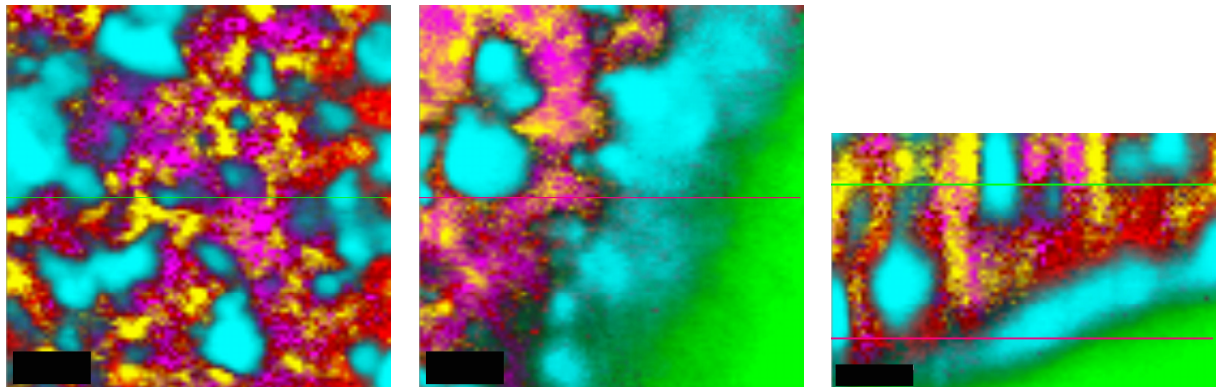
Die Tatsache, dass im Film mit PS 80 die Öltröpfchen nicht so stark koaleszieren wie im Film mit TEC weist darauf hin, dass PS 80 in der Lage ist, die Öltröpfchen während des Trocknens zu stabilisieren und damit eine Koaleszenz zu verhindern. Dazu muss es sich auch an der Grenzfläche Öl/Wasser befinden. Dies setzt voraus, dass sich das PS 80 aus der Grenzfläche zwischen Dispersionspartikeln und Wasser an die Grenzfläche zwischen Öl und Wasser umverteilt hat.

In Emulsionsfilmen mit PVOH, Eudragit RS und NE kommt es zu einer besonders starken Entmischung der drei Polymere, da Eudragit RS und NE per se nicht miteinander kompatibel sind (Lehmann und Dreher 1986). Sie können zwar in den Emulsionen durch Angleichung des pH-Werts und Zusatz von PS 80 in einer homogenen Mischung gehalten werden, allerdings wird bei der Trocknung durch den Wasserverlust die Konzentration der Polymere so stark erhöht, dass sich die Inkompatibilität verstärkt bemerkbar macht. Eudragit RS und NE verfilmen dadurch in getrennten Bereichen. Dabei wird PVOH verdrängt und bildet wiederum eigene Bereiche aus.

Vertikale Scans der Emulsionsfilme zeigen, dass sich PVOH vermehrt an der Oberfläche der Filme befindet. Dies steht im Einklang mit Ergebnissen von Talen und Hover (1959), die herausfanden, dass sich Polyvinylalkohol beim Trocknen von Mischungen von PVOH und Polyvinylacetatlatex an die Oberfläche abscheidet. Es kann allerdings nicht vollständig ausgeschlossen werden, dass es sich um ein Artefakt der Ramanmikroskopie handelt. Bei vertikalen Scans nimmt die Intensität des Signals generell mit zunehmender Tiefe ab. Dabei kann das Signal eines Stoffs stärker abnehmen als das eines anderen, wodurch Unterschiede in der Verteilung suggeriert werden, die nicht bestehen.

### 3.3.3.2 Emulsionsfilme auf Haut

Ergänzend zu den Untersuchungen auf Glas werden auch Emulsionsfilme auf hitzeseparierter Epidermis (HSE) hergestellt (2.2.4.2). Daran soll untersucht werden, ob sich ein Unterschied im Aufbau der Filme im Gegensatz zur Trocknung auf Glas ergibt. Ob sich z. B. eines der Polymere bevorzugt an der Grenzfläche zum Stratum corneum oder in Hautfalten anlagert. Abbildung 3.3-9 zeigt die entsprechenden Ramanmikroskopischen Falschfarbenbilder.



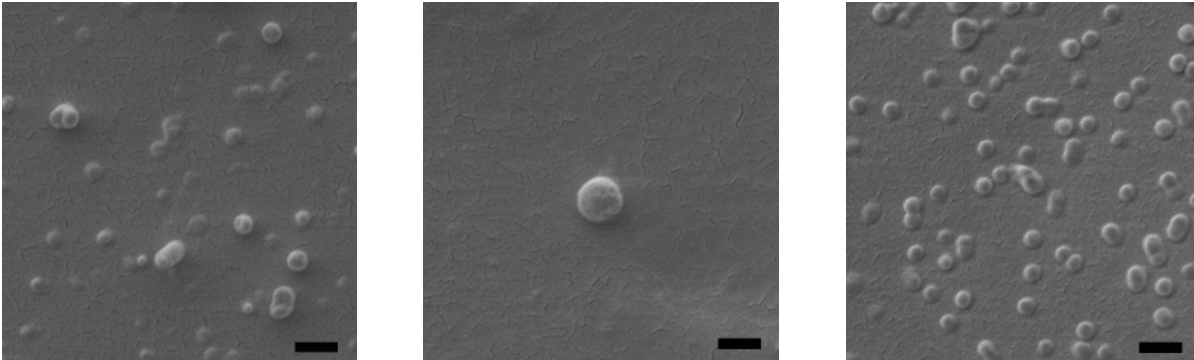
Eudragitzzusammensetzung: NE/RS 40/60; Weichmacherzusammensetzung: 7,5 % TEC + 3 % PS 80  
horizontaler Scan                      horizontaler Scan                      vertikaler Scan

Abbildung 3.3-9: Ramanmikroskopische Aufnahmen von Emulsionsfilmen auf hitzeseparierter Epidermis mit unterschiedlicher Weichmacher- und Eudragitzzusammensetzung; Maßstabsbalken: 3 µm; Farbcode der Falschfarbenbilder: ■ PVOH 8-88 ■ MCT ■ Eudragit RS ■ Eudragit NE ■ Epidermis. — & — markiert die Stelle im vertikalen Scan, an der der horizontale Scan aufgenommen wurde und andersherum.

Bei allen auf HSE gebildeten Emulsionsfilmen zeigt sich folgendes Bild: die Öltröpfchen sind als klar begrenzte Bereiche erkennbar, aber teilweise koalesziert. Die Polymere trennen sich bei der Trocknung offensichtlich voneinander, besonders im Emulsionsfilm mit PVOH, Eudragit RS und NE. Keines der Polymere befindet sich bevorzugt an der Grenzfläche zur HSE. Es können keine besonderen Interaktionen mit der HSE detektiert werden. Daher werden hier nur die Scans des Films gezeigt, der eine Mischung beider Eudragite enthält. Sie zeigen die teilweise koaleszierten Öltröpfchen, sowie die drei Polymere, die sich während der Trocknung offensichtlich voneinander getrennt haben. Des Weiteren ist besonders im vertikalen Scan zwischen Film und Epidermis eine dünne Lipidschicht zu erkennen. Hier handelt es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit um Lipide des Stratum corneums, die ein ähnliches Raman-Spektrum besitzen wie MCT und damit entsprechend zugeordnet werden. Der Aufbau der auf HSE gebildeten Filme ist mit dem der auf Glas hergestellten vergleichbar.

### 3.3.4 Rasterelektronenmikroskopische Charakterisierung der Filme

Mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie wird die Oberfläche der Filme untersucht. Die Filme bestehen aus weichgemachtem Eudragit RS und PVOH 8-88. Als Weichmacher wird TEC oder PS 80 oder eine Mischung beider Substanzen verwendet. Das Mischungsverhältnis und die Herstellungsweise entsprechen derer der filmbildenden Emulsionen allerdings enthalten die Filme keine ölige Innenphase, da das Öl im Vakuum verdunsten und die Qualität der Aufnahmen stark negativ beeinflussen würde. Abbildung 3.3-10 zeigt die entsprechenden Aufnahmen.



Film aus Eudragit RS und PVOH 8-88, weichgemacht mit 8 % PS 80

Film aus Eudragit RS und PVOH 8-88, weichgemacht mit 7,5 % TEC und 3 % PS 80

Film aus Eudragit RS und PVOH 8-88, weichgemacht mit 7,5 % TEC

Abbildung 3.3-10: REM-Aufnahmen verschiedener Filme aus Eudragit RS, PVOH 8-88 und verschiedenen Weichmachern/Weichmachermischungen; Maßstabsbalken: 1  $\mu\text{m}$

Die REM-Aufnahmen zeigen, dass bei Filmen, die entweder TEC oder PS 80 enthalten viele kleine ( $<0,5 \mu\text{m}$ ) tröpfchenartige Gebilde auf der Oberfläche der Filme zu sehen sind. Auf der Oberfläche des Films mit der Weichmachermischung sind nur sehr wenige, etwas größere ( $1 \mu\text{m}$ ) Tröpfchen zu sehen. Fokussiert man das Mikroskop auf ein einzelnes Tröpfchen, so verdunstet es unter der eingetragenen Energie. Dies legt nahe, dass es sich bei den Tröpfchen um den Weichmacher handelt, der aus der Polymermischung ausgetreten ist und sich auf der Oberfläche der Filme sammelt. Die Mischung von TEC und PS 80 in den filmbildenden Emulsionen führt offensichtlich dazu, dass die Weichmacher bei der Trocknung größtenteils im Film verbleiben, mit dem Ergebnis, dass mehr Weichmacher im Film gebunden bleibt und weniger Tröpfchen auf der Oberfläche vorhanden sind.

### 3.3.5 Zusammenfassung Charakterisierung der Filme

Die Charakterisierung freier Emulsionsfilme lässt sich wie folgt zusammenfassen. Die Dehnbarkeit der Emulsionsfilme ist abhängig vom Eudragit NE-Anteil. Filme mit einem Eudragit NE-Anteil  $< 40\%$  lassen sich besser dehnen als Filme ohne Eudragit NE. Filme, die die Weichmachermischung aus TEC und PS 80 enthalten zeigen im Vergleich zu Filmen, die nur einen der beiden Weichmacher enthalten, deutlich verbesserte Dehnungseigenschaften.

Emulsionsfilme haften besser an Polycarbonat als an Glas. Die Adhäsion an Glas und Polycarbonat von Filmen mit einer Mischung beider Retardpolymere ist unabhängig von deren Mischungsverhältnis. Interessanterweise haften Filme, die als Weichmacher nur PS 80 enthalten besser an Polycarbonat als Filme, die nur TEC oder die Mischung von TEC und PS 80 enthalten.

Die Wasserfestigkeit der Filme nimmt mit steigender Eudragit NE-Konzentration ab. ramanmikroskopische Aufnahmen zeigen, dass der disperse Charakter der Emulsionen auch im Film erhalten bleibt. Im Film sind klar begrenzte Öl-gefüllte Bereiche zu erkennen, die von der Mischung der Polymere umgeben sind. In Filmen mit PS 80 sind kleinere Öltröpfchen zu erkennen als in Filmen, die als Weichmacher nur TEC enthalten. Dies deutet darauf hin, dass sich PS 80 auch an der Grenzfläche der Öltröpfchen aufhält und deren Koaleszens während des Trocknens vermindert. Die in der Emulsion homogen verteilten Polymere entmischen sich bei der Trocknung. Dieser Effekt ist besonders stark bei Filmen zu beobachten, die beide Retardpolymere enthalten, da diese Polymere per se nicht miteinander kompatibel sind. Besondere Wechselwirkungen mit der Haut sind mit Hilfe der Ramanmikroskopie nicht visualisierbar.

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen kleine kugelförmige Strukturen auf der Oberfläche von Filmen, die nur einen der beiden Weichmacher enthalten. Dies deutet auf eine Interaktion der Weichmacher miteinander hin, die dazu führt, dass nach der Trocknung mehr Weichmacher im Film verbleibt.

### **3.4 In-vitro Freisetzungsuntersuchungen**

Eine der wenigen Optionen zur topischen Therapie des chronischen Juckreizes mit Capsaicinoiden ist momentan die „Hydrophile Capsaicinoid Creme 0,025 %/0,05 %/0,1 % NRF 11.125“ (Neues Rezeptur Formularium, 2010). Sie muss 4-mal täglich aufgetragen werden, was die Therapietreue verringern kann (Anand und Bley 2011). Wird diese Applikationsfrequenz unterschritten, so kann die Wirkung teilweise bis vollständig ausbleiben. Die filmbildenden Emulsionen sollen die Applikationsfrequenz auf 1-2 Applikationen täglich reduzieren, um die Therapie für den Patienten zu vereinfachen und den Therapieerfolg zu sichern.

Zur Untersuchung der Wirkstofffreisetzung aus Hydrophiler Creme und Emulsionsfilmen wird Nonivamid (NVA) verwendet. NVA ist ein analytisch leichter zugängliches Analogon von Capsaicin, das die gleiche pharmakologische Wirkung besitzt (Reyes-Escogido, et al. 2011). Es wird zunächst die Freisetzung von NVA aus den Emulsionsfilmen mit der Freisetzung aus Hydrophiler Nonivamid Creme verglichen. Daraufhin wird die Zusammensetzung der Emulsionsfilme systematisch variiert um Einflussgrößen auf das Freisetzungsverhalten isolieren zu können. Dabei wird ein Emulsionsfilm als Standardzubereitung ausgewählt, mit dessen Freisetzungsverhalten das aller anderen Filme verglichen wird. Seine genaue Zusammensetzung ist in Tabelle 2.2.9 (Bezeichnung: NE/RS 0/100) wiedergegeben.

#### **3.4.1 Vergleich mit Hydrophiler Nonivamid Creme**

Zunächst wird die Nonivamid-Freisetzung aus den Emulsionsfilmen mit der Freisetzung aus Hydrophiler Nonivamid Creme (HNC) verglichen. Für diesen Vergleich werden HNC 1 % und ein Emulsionsfilm mit 1 % NVA verwendet. Diese hohe Wirkstoffkonzentration wird gewählt, da die Emulsionsfilme den Wirkstoff über einen Zeitraum von 12 – 24 h abgeben sollen. Um dies gewährleisten zu können, muss im Film genügend Arzneistoff zur Verfügung stehen. Auch in der HNC wird 1 % NVA verwendet, um die direkte Vergleichbarkeit zwischen Emulsionsfilm und HNC zu ermöglichen.

Abbildung 3.4-1 zeigt die Freisetzung von NVA aus HNC und einem Emulsionsfilm über einen Zeitraum von 24 h.



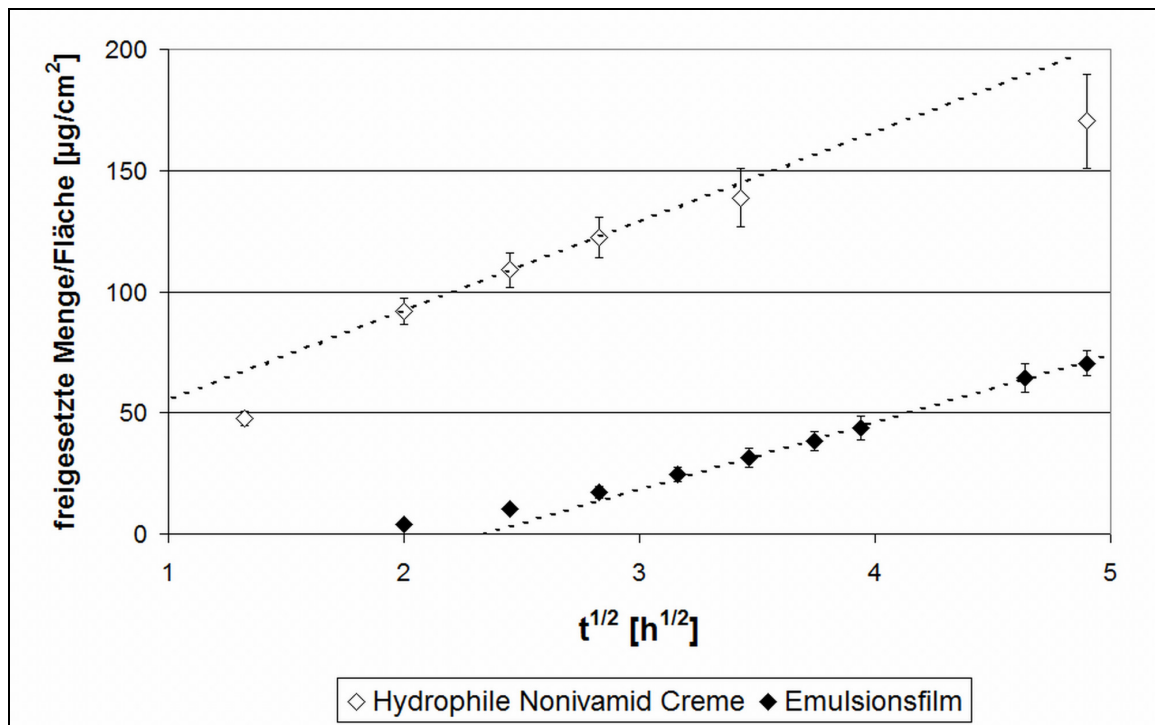


Abbildung 3.4-1: Vergleich der in-vitro Freisetzung von NVA aus Hydrophiler Nonivamid Creme und einem Emulsionsfilm (mit PVOH 8-88, Eudragit RS, Triethylcitrat und Polysorbat 80); jeweils 1 % NVA; n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

Die Freisetzung von NVA aus HNC zeigt weder bei einer Auftragung gegen die Zeit noch bei Auftragung gegen die Wurzel der Zeit einen linearen Verlauf. Innerhalb der ersten 5 h wird NVA am schnellsten freigesetzt. Zwischen Stunde 5 und Stunde 8 befindet sich ein annähernd linearer Abschnitt der Freisetzung. Die Freisetzungsrates ist hier bereits geringer als zu Beginn und sinkt im weiteren Verlauf noch weiter ab. Aus dem Emulsionsfilm wird NVA erst nach etwa 4 h in merklichen Mengen freigesetzt. Nach 10 h stellt sich eine konstante Freisetzungsrates ein, die bis zum Ende der Freisetzungsuntersuchung nach 24 h gleich bleibt. Die maximal freigesetzte Menge nach 24 h ist beim Emulsionsfilm um die Hälfte niedriger, als bei HNC.

Die Freisetzung von NVA aus dem Emulsionsfilm ist also vor allem im Anfangsbereich langsamer als bei HNC. Sie bleibt dann aber über einen großen Bereich stabil. Im Gegensatz zu HNC muss der Emulsionsfilm erst Freisetzungsmittel aufnehmen, wodurch er quillt. NVA kann dann durch das aufgenommene Wasser in das Akzeptorkompartiment diffundieren. Dadurch dauert es beim Emulsionsfilm länger bis detektierbare Mengen NVA freigesetzt sind. Sobald die Quellung abgeschlossen ist, kann sich ein Fließgleichgewicht einstellen und eine konstante Freisetzungsrates aufbauen.

Um Möglichkeiten zur Beeinflussung der Freisetzungskinetik zu identifizieren, werden Filme mit unterschiedlicher Eudragit- Weichmacherzusammensetzung, sowie verschiedenen Polyvinylalkoholen und Polyvinylalkoholkonzentrationen untersucht.

### 3.4.2 Einfluss der Eudragitzzusammensetzung

Emulsionsfilme mit mindestens 40 T Eudragit NE zeigen die gewünschten Dehnungseigenschaften, während Emulsionsfilme mit einem Eudragit NE-Anteil von < 50 T eine höhere Wasserfestigkeit aufweisen. Eine hohe Wasserfestigkeit spricht für eine hohe Substantivität und ist daher wichtiger, als vorteilhafte Dehnungseigenschaften. Aus diesem Grund werden Filme aus Emulsionen mit einem Eudragit NE 30D-Anteil zwischen 0 und 40 T untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3.4-2 und Abbildung 3.4-3 dargestellt.

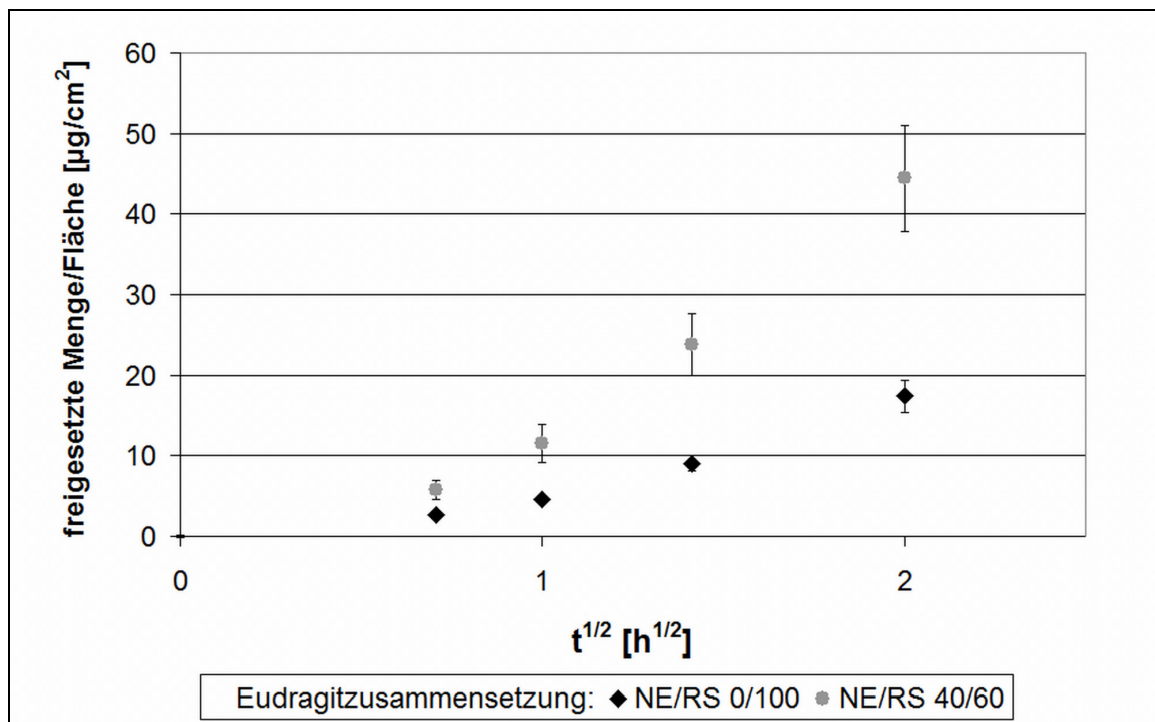


Abbildung 3.4-2: Vergleich der in-vitro Freisetzung von NVA aus Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung (mit PVOH 8-88, Eudragit RS weichgemacht mit 7,5 % Triethylcitrat und 3 % Polysorbat 80, Eudragit NE weichgemacht mit 3 % Polysorbat 80) innerhalb der ersten 4 h; n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

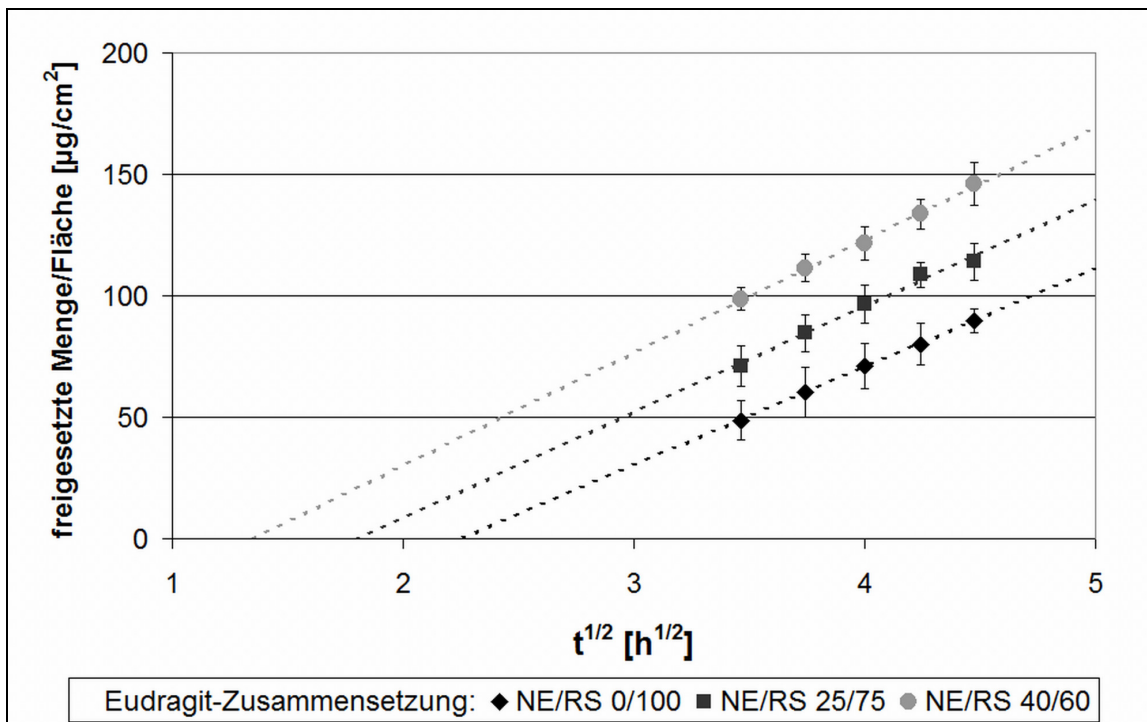


Abbildung 3.4-3: Vergleich der in-vitro Freisetzung von NVA aus filmbildenden Emulsionen mit unterschiedlicher Eudragitzusammensetzung (mit PVOH 8-88, Eudragit RS weichgemacht mit 7,5 % Triethylcitrat und 3 % Polysorbat 80, Eudragit NE weichgemacht mit 3 % Polysorbat 80); n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

In Abbildung 3.4-2 ist deutlich zu erkennen, dass die Freisetzungsrates des Emulsionsfilms mit Eudragit NE und RS innerhalb der ersten 4 h schneller ansteigt, als die des Films, der nur Eudragit RS enthält. Abbildung 3.4-3 zeigt, dass alle Emulsionsfilme zwischen 12 und 24 h eine konstante Freisetzungsrates aufbauen. Die Freisetzungsrates der drei Zubereitungen sind äquivalent (vgl.: 6.3.6). Die freigesetzte Menge ist abhängig vom Eudragit NE-Anteil und nimmt in der Reihenfolge NE/RS 0/100 < 25/75 < 40/60 zu. Dies ist durch die vermehrte Freisetzung von NVA aus dem Emulsionsfilm mit Eudragit NE und RS innerhalb der ersten 4 h begründet.

### 3.4.3 Einfluss der Weichmacherzusammensetzung

Aus der Literatur ist bekannt, dass Weichmacher die Freigabe von Arzneistoffen auf Polymerfilmen beeinflussen können. Grützmann (2005) konnte zeigen, dass TEC und PS 80 innerhalb von 30 min aus Eudragit RS-Filmen herausgelöst werden. Dabei können sie Mikro- und Makroporen hinterlassen und dadurch die Freisetzungsrates beeinflussen (Bindschaedler, et al. 1987; Grützmann 2005). Von PS 80 ist außerdem bekannt, dass es die Freigabe von Wirkstoffen aus Polymerfilmen beschleunigen kann (Melero, et al. 2008). TEC hingegen beschleunigt die Wirkstofffreigabe nicht (Kim, et al. 2006).

Um zu klären, wie sich TEC und PS 80 auf die Freisetzung von NVA aus Emulsionsfilmen auswirken, wird der Einfluss von Art und Menge des Weichmachers auf die Freisetzung untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3.4-4 und Abbildung 3.4-5 dargestellt.

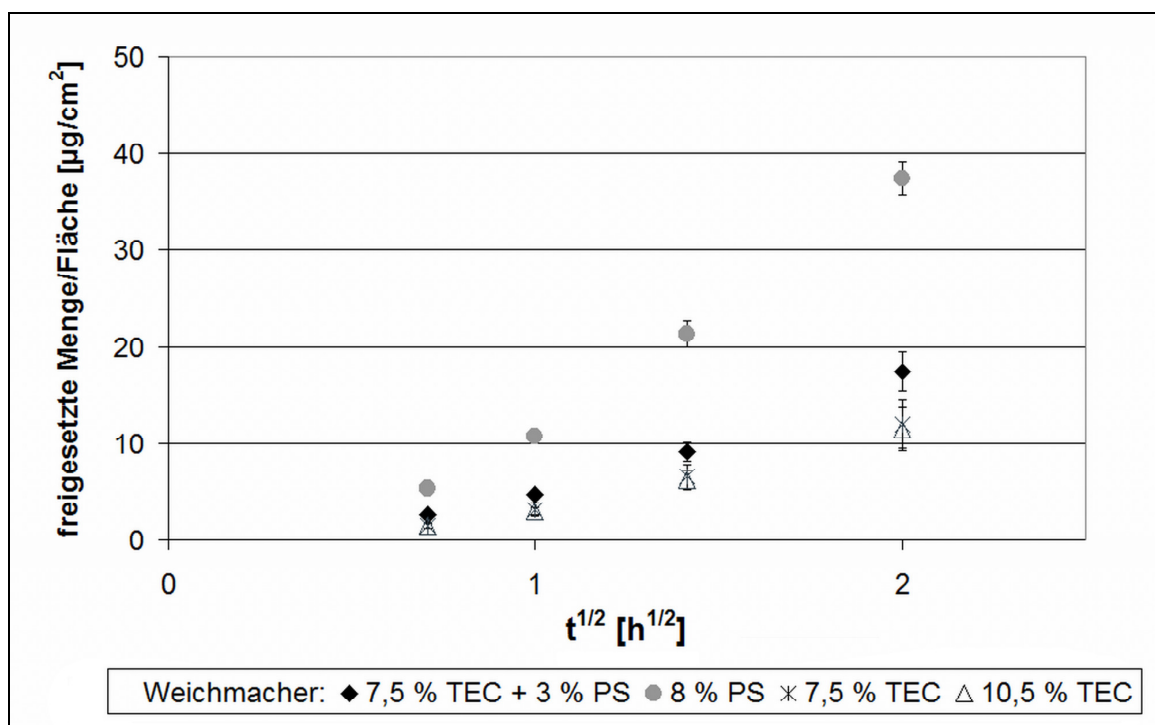


Abbildung 3.4-4: Vergleich der in-vitro Freisetzung von NVA aus Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung (mit PVOH 8-88, Eudragit RS) innerhalb der ersten 4 h; n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

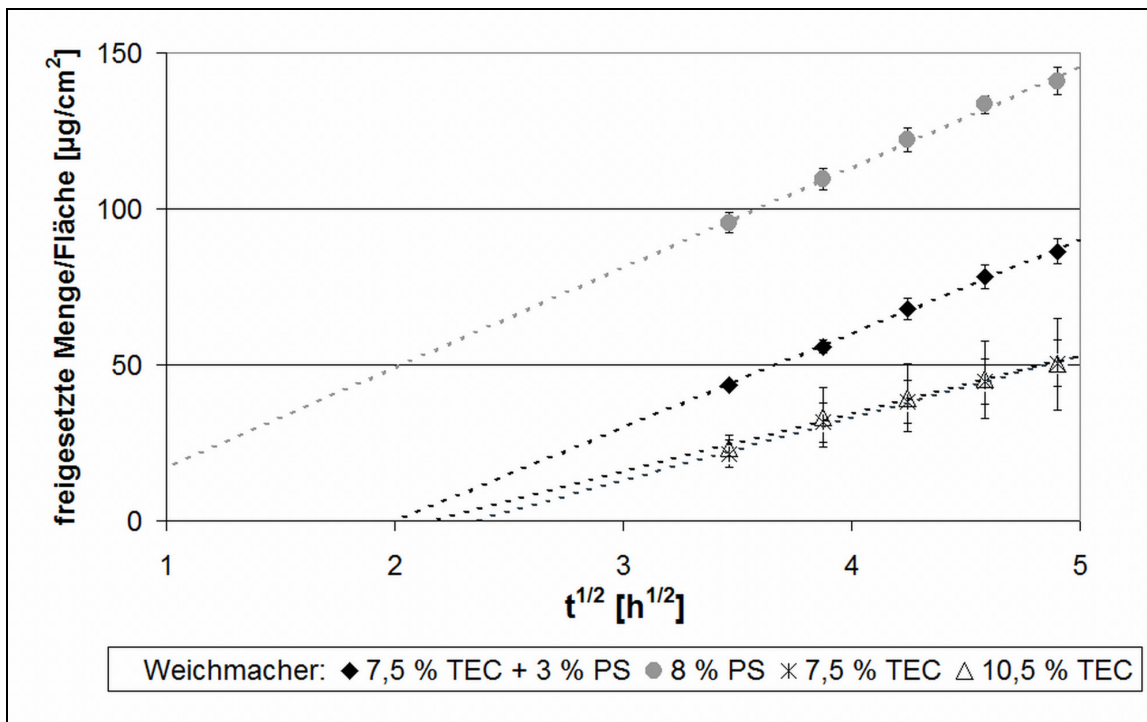


Abbildung 3.4-5: Vergleich der in-vitro Freisetzung von NVA aus Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung (mit PVOH 8-88, Eudragit RS weichgemacht mit Triethylcitrat oder Polysorbat 80 oder einer Kombination der beiden, Eudragit NE ist nicht enthalten); n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

Die Freisetzung von NVA aus dem Emulsionsfilm, bei dem das Eudragit RS mit Polysorbat 80 weichgemacht wurde, erfolgt schneller als bei den Zubereitungen, die nur Triethylcitrat als Weichmacher enthalten. Die Freisetzungsgeschwindigkeit ist signifikant höher und die berechnete lag-Phase ist signifikant kürzer.

Die Freisetzungsgeschwindigkeit ist bei Filmen, die als Weichmacher nur TEC enthalten, unabhängig von der TEC-Menge. Die berechnete lag-Phase scheint zwar abhängig vom TEC-Gehalt zu sein, Abbildung 3.4-4 zeigt aber deutlich, dass die Freisetzung von NVA innerhalb der ersten 4 h nicht unterschiedlich ist.

Emulsionsfilme, die beide Weichmacher enthalten, setzen NVA signifikant schneller frei als solche, die als Weichmacher nur TEC enthalten. Die Freisetzungsrates ist äquivalent zu der von Filmen mit Polysorbat. Die lag-Phase ist signifikant höher als bei Filmen mit Polysorbat.

Lag-Phase und Freisetzungsrates sind somit abhängig vom eingesetzten Weichmacher, wobei in Filmen mit einer Weichmachermischung das Polysorbat 80 die Freisetzungsgeschwindigkeit determiniert und die lag-Phase sich auf einen Wert einstellt, der zwischen den lag-Phasen der Filme liegt, die jeweils nur einen Weichmacher enthalten.

Die Weichmacher haben demnach einen signifikanten Einfluss auf die Freisetzung von NVA aus Emulsionsfilmen. Als Begründung hierfür kommen mehrere Möglichkeiten in Betracht:

1. Es ist bekannt, dass TEC und PS 80 innerhalb von 30 min vollständig aus Eudragit RS-Filmen herausgelöst und durch Wasser ersetzt werden. Sie können dabei Poren hinterlassen, deren Struktur die Freisetzung beeinflussen kann (Grützmann und Wagner 2005).
2. Im FreisetzungsmEDIUM können die Weichmacher als Co-Solventien für NVA dienen und so einen Übertritt von NVA aus dem Film in das FreisetzungsmEDIUM erleichtern.
3. Es kann in TEC oder PS 80 gelöster Arzneistoff gleichzeitig mit den Weichmachern aus dem Film gelöst werden. Sofern in PS 80 mehr NVA gelöst vorliegt als in TEC, könnte damit die vermehrte Freisetzung von NVA aus Filmen mit PS 80 zu Beginn der Freisetzungsuntersuchungen erklärt werden.

### 3.4.4 Einfluss von Polyvinylalkohol

Um den Einfluss des Polyvinylalkohols auf die NVA-Freisetzung zu klären, werden Emulsionsfilme mit Polyvinylalkoholen verschiedener Molmassen (PVOH 4-88 31.000 und PVOH 8-88 67.000 g/mol) sowie Emulsionsfilme mit unterschiedlichen Anteilen (5 % und 10 % (m/m Wasserphase)) von PVOH 8-88 in der Formulierung untersucht.

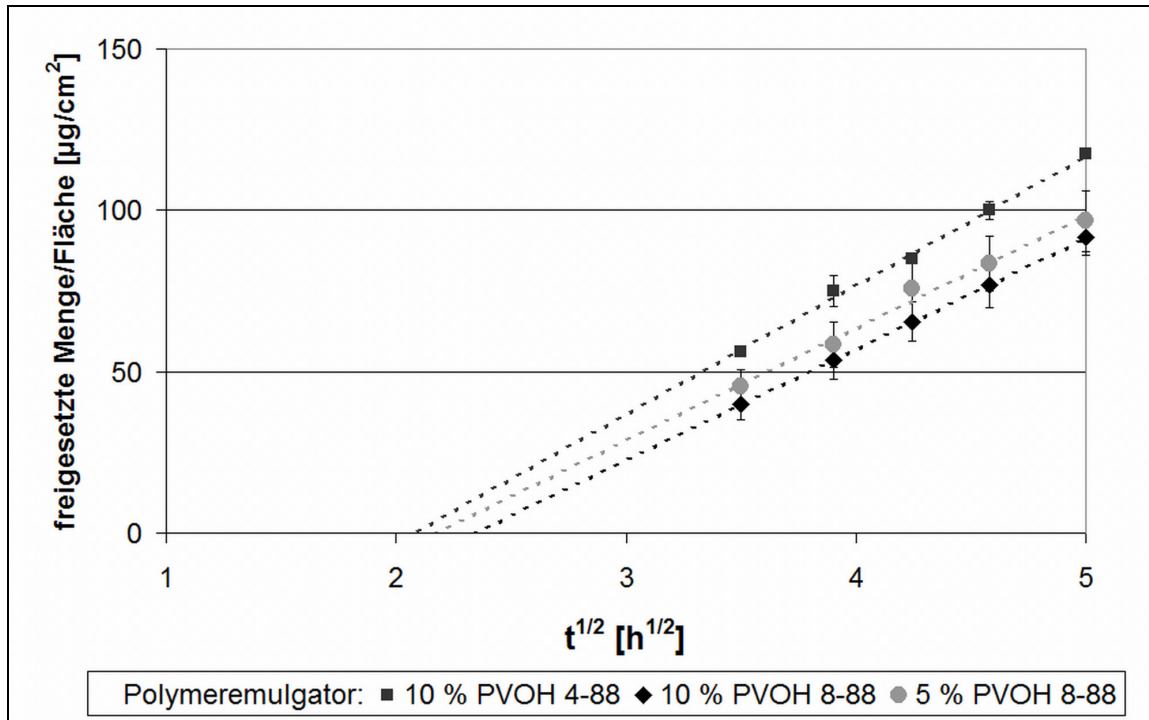


Abbildung 3.4-6: Vergleich der in-vitro Freisetzung von NVA aus Emulsionsfilmen mit unterschiedlichen Polymeremulgatoren bzw. -mengen (mit PVOH 4-88 oder PVOH 8-88, Eudragit RS weichgemacht mit 7,5 % Triethylcitrat und 3 % Polysorbat 80, Eudragit NE ist nicht enthalten); n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

Die Freisetzungsraten von Formulierungen mit verschiedenen Polyvinylalkoholmengen sind statistisch äquivalent. Durch den Einsatz eines kurzkettigen PVOH wird NVA zwar etwas schneller freigesetzt, der Unterschied ist allerdings statistisch nicht signifikant. Dahingegen unterscheiden sich die berechneten lag-Phasen signifikant. Sowohl die Verwendung eines Polyvinylalkohols geringerer Kettenlänge, als auch die Reduktion der PVOH-Menge im Film verringern die lag-Phase. Wobei die Verwendung des kurzkettigen Polyvinylalkohols einen stärkeren Einfluss hat, als die PVOH-Menge. Insgesamt ist der Effekt aber gering.



### 3.4.5 Zusammenfassung Freisetzungsuntersuchungen

Der Vergleich der Freisetzung von NVA aus HNC und einem Emulsionsfilm zeigt, dass die Freisetzung von NVA aus dem Emulsionsfilm zwar erst später beginnt, als aus HNC, dass die Freisetzung dann aber über einen längeren Zeitraum mit konstanter Geschwindigkeit erfolgt.

Der Einfluss der Variation verschiedener Formulierungsparameter auf die Freisetzung sind in Abbildung 3.4-7 und Abbildung 3.4-8 zusammengefasst. Abbildung 3.4-7 vergleicht die Freisetzungsraten der untersuchten Formulierungen jeweils mit der Standardrezeptur<sup>1</sup> (genaue Zusammensetzung siehe Tabelle 2.2-9 Rezeptur: NE/RS 0/100). Äquivalenz der Freisetzungsrates einer Zubereitung mit der Standardzubereitung gilt als gegeben wenn das Konfidenzintervall des Medians der Quotienten der Freisetzungsrates von Referenz- und Testzubereitung innerhalb der Grenzen 0,75 und 1,33 liegt (FDA Guidance for Industry, 2004).

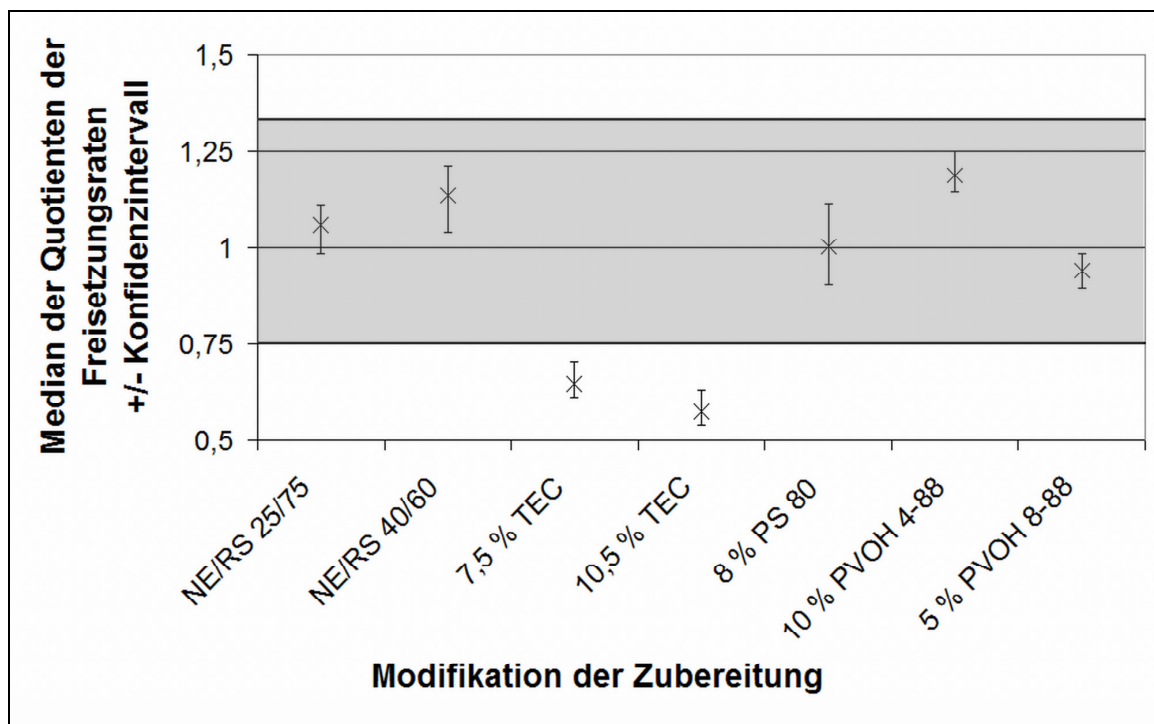


Abbildung 3.4-7: Vergleich der Freisetzungsraten von Emulsionsfilmen mit verschiedener Zusammensetzung mit der Standardrezeptur

Es ist deutlich zu erkennen, dass eine Modifikation im Bereich der Polymerzusammensetzung keinen Einfluss auf die Freisetzungsrates hat. Eine Veränderung der Weichmacherszusammensetzung hingegen schon. Wird nur TEC als

<sup>1</sup> 1 % NVA; 10 % PVOH 8-88; NE/RS 0/100; 7,5 % TEC + 3 % PS 80

Weichmacher eingesetzt, so ist die Freisetzungsgeschwindigkeit deutlich erniedrigt. Auch eine erhöhte TEC-Menge in der Zubereitung kann dies nicht ausgleichen. Wird PS 80 alleine verwendet, so unterscheidet sich die Freisetzungsrate nicht von der der Standardzubereitung, welche die Weichmachermischung enthält. In der Mischung ist also PS 80 ausschlaggebend für die Freisetzungsgeschwindigkeit.

Abbildung 3.4-8 zeigt den Vergleich der berechneten lag-Phasen der modifizierten Zubereitungen im Vergleich mit der Standardzubereitung.

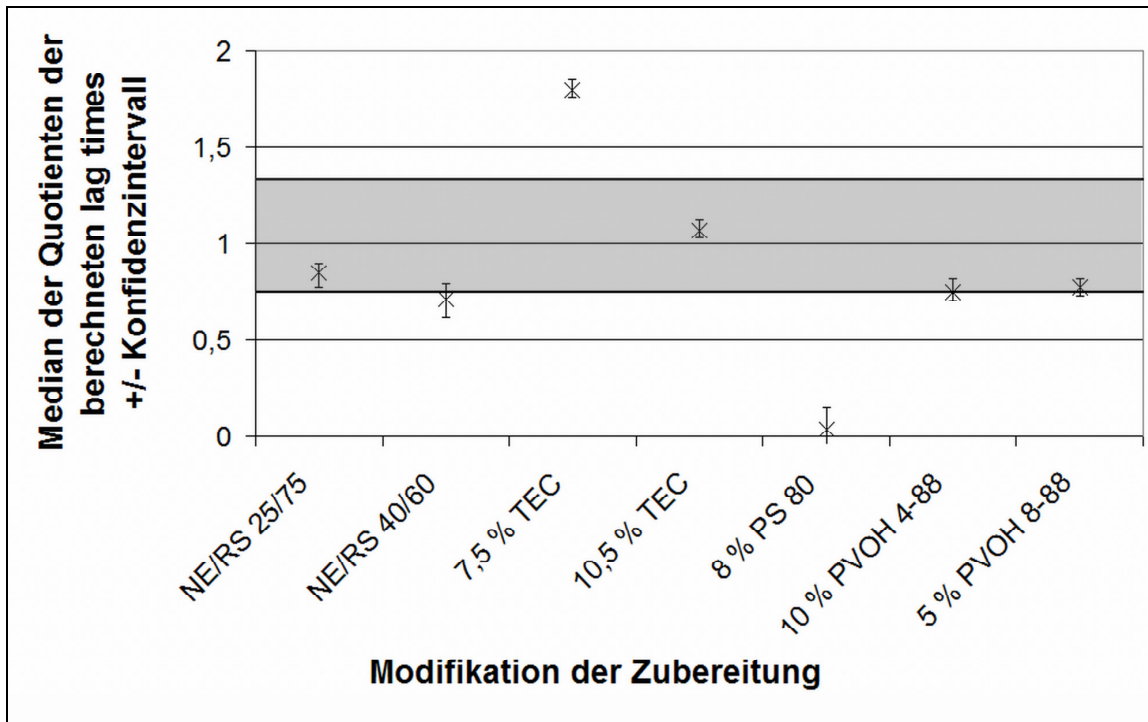


Abbildung 3.4-8: Vergleich der lag-Zeiten von Emulsionsfilmen mit verschiedener Zusammensetzung mit der Standardrezeptur

Auf die lag-Phase haben sowohl die Eudragitzzusammensetzung als auch Weichmacher und Polyvinylalkohol einen Einfluss. Eine Erhöhung des Eudragit NE-Anteils führt zu einer Verringerung der lag-Phase, allerdings ist dieser Effekt erst ab einem Eudragit-Anteil von 40 T signifikant. Sowohl der Austausch von PVOH 8-88 durch das kürzerkettige PVOH 4-88 als auch die Verringerung der Gesamtmenge PVOH 8-88 von 10 % auf 5 % (m/m Wasserphase) führt zu einer leichten Verringerung der lag-Phase. Die Verwendung von PS 80 führt zu einer signifikanten Verringerung der lag-Phase.

### **3.5 In-vitro Permeationsuntersuchungen**

Permeationsuntersuchungen mit infiniten Dosis dienen dazu die Permeationsrate einer oder mehrerer Wirkstoffe aus einer Zubereitung heraus über die Haut oder isolierte Hautschichten zu bestimmen. Dazu wird eine solche Menge Zubereitung aufgetragen, dass das Arzneistoffreservoir im Donorkompartiment über den gesamten Beobachtungszeitraum nicht erschöpft werden kann und sich die Arzneistoffkonzentration im Donor somit nicht auf die Permeationsrate auswirken kann. In-vitro Permeationsuntersuchungen mit infiniten Dosierung sind allerdings zumeist weit entfernt von den tatsächlichen Anwendungsbedingungen: Die aufgetragene Arzneistoffmenge, sowie die Menge der halbfesten Zubereitung übersteigen die in-vivo applizierte Menge oft um ein Vielfaches. Des Weiteren werden diese Untersuchungen üblicherweise unter Okklusionsbedingungen durchgeführt um ein verdunsten flüchtiger Bestandteile und damit eine Veränderung der Permeationsrate zu verhindern (Bronaugh 2008; Roberts, et al. 2005). Da die Arzneistoffmenge und die Zusammensetzung der Formulierung sich nicht ändern und somit die Permeationsrate konstant bleibt, kann diese in der Formulierungsentwicklung herangezogen werden, um verschiedene Formulierungen miteinander zu vergleichen.

Bei Untersuchungen mit finiten Dosis hingegen wird eine geringe Menge der Zubereitung aufgetragen, die der Menge entspricht, die in-vivo verwendet werden würde. Außerdem wird nicht unter Okklusion gearbeitet, wodurch sich die Zusammensetzung und der Aufbau der Zubereitung auf der Haut verändern und die Permeationsrate beeinflussen können. Die Ergebnisse, die mit solchen Untersuchungen erhalten werden, können daher von den Ergebnissen der Untersuchungen mit infiniten Dosis abweichen, zeigen aber mehr Übereinstimmungen mit den in-vivo Bedingungen.

#### **3.5.1 Permeationsuntersuchungen mit infiniten Dosis**

Permeationsuntersuchungen mit infiniten Dosis werden durchgeführt, um einerseits die Permeation von NVA aus Emulsionsfilmen mit der aus Hydrophiler Nonivamid Creme zu vergleichen. Andererseits wird die Zusammensetzung der Emulsionsfilme systematisch variiert, um Einflussgrößen auf die Permeation zu isolieren.

### 3.5.1.1 Vergleich mit Hydrophiler Nonivamid Creme

Die Permeation von NVA aus Emulsionsfilmen wird mit der Permeation aus Hydrophiler Nonivamid Creme (HNC) verglichen. Der Vergleich erfolgt sowohl mit HNC 1 %, die dieselbe NVA-Konzentration enthält wie die filmbildenden Emulsionen, als auch mit HNC 0,1 %, 0,05 % und 0,025 %, die NVA in Konzentrationen enthalten wie sie zur Therapie des chronischen Juckreizes verwendet werden. Der Vergleich mit HNC 1 % dient zur Visualisierung einer Verlangsamung der Permeationsrate durch den Emulsionsfilm. Der Vergleich mit HNC 0,1 %, 0,05 % und 0,025 % dient dazu herauszufinden, ob die Permeationsrate und somit die aus den Emulsionsfilmen an die Haut abgegebene Wirkstoffmenge in einem für die Therapie sinnvollen Bereich liegt, da eine zu schnelle Permeation u. U. zu einem Brennen auf der Haut führen würde, während eine zu langsame Permeation zur Unwirksamkeit führen könnte.

Die permeierte Menge NVA wird gegen die Wurzel der Zeit aufgetragen, durch lineare Regression die Permeationsraten ermittelt und aus diesen wiederum die Permeationskoeffizienten errechnet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3.5-1, Abbildung 3.5-2 und Tabelle 3.5-1 wiedergegeben.

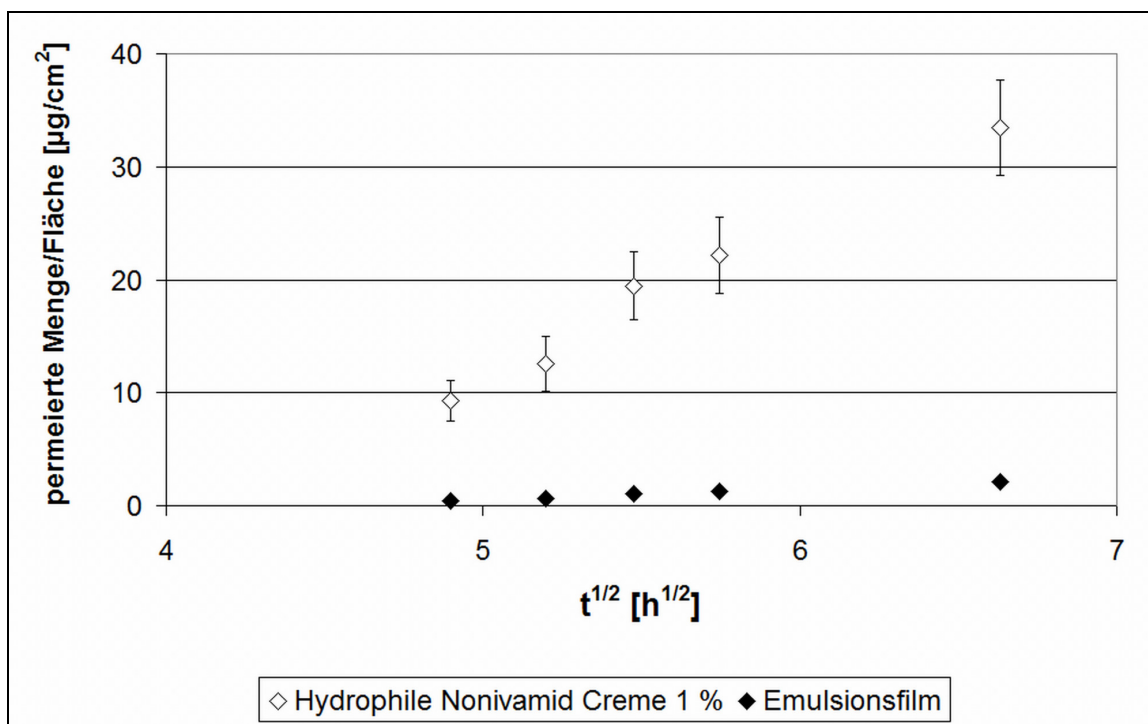


Abbildung 3.5-1: Vergleich der Permeation von NVA aus HNC 1 % und einem Emulsionsfilm mit 1 % NVA; Emulsionsfilm: Eudragitzzusammensetzung: NE/RS 0/100; Weichmacherzusammensetzung: 7,5 % TEC 3 % PS 80; n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

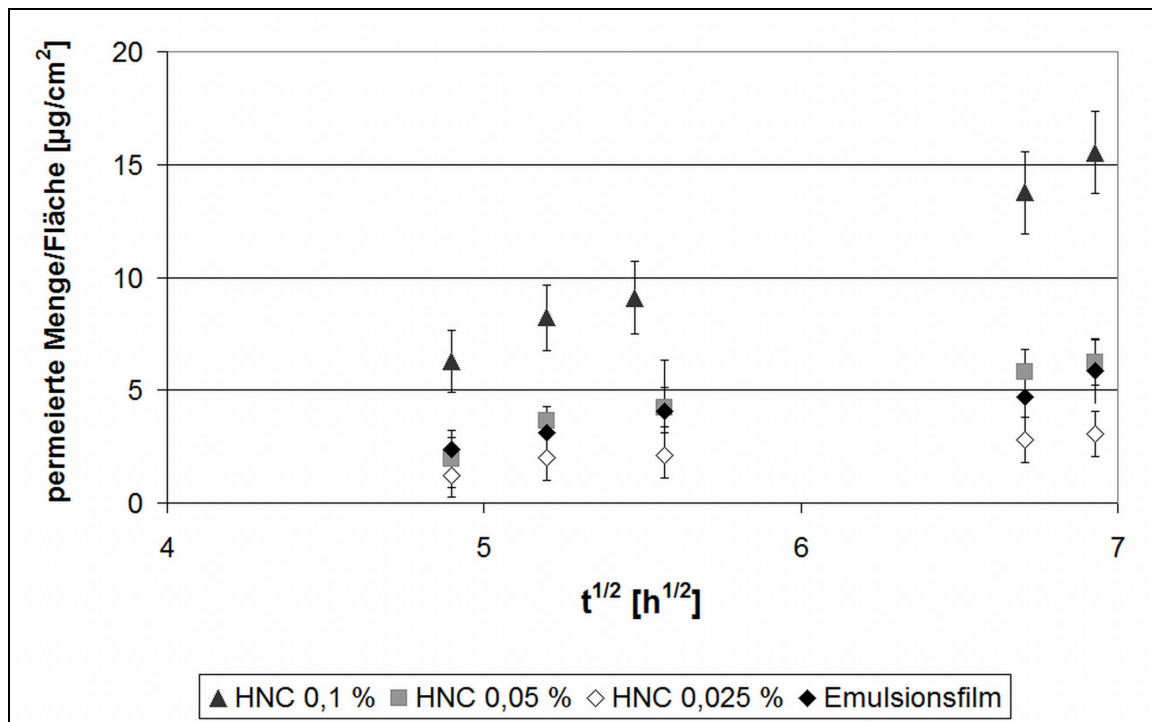


Abbildung 3.5-2: Vergleich der Permeation von NVA aus HNC 0,1 %, HNC 0,05 % und HNC 0,025 % und einem Emulsionsfilm mit 1 % NVA; Emulsionsfilm: Eudragitzzusammensetzung: NE/RS 0/100; Weichmacherzusammensetzung: 7,5 % TEC 3 % PS 80; n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

Tabelle 3.5-1: Vergleich der Permeationsraten und Permeationskoeffizienten eines Emulsionsfilms und derer von HNC mit verschiedenen NVA-Konzentrationen

Formulierung	Permeationsrate [µg/cm <sup>2</sup> h <sup>1/2</sup> ]	Permeationskoeffizient [mL/cm <sup>2</sup> h <sup>1/2</sup> ]
HNC 1 % NVA	18,2 ± 1,4	18,2 ± 1,4
HNC 0,1 % NVA	4,2 ± 0,3	42,3 ± 2,8
HNC 0,05 % NVA	1,8 ± 0,6	35,8 ± 11,8
HNC 0,025 % NVA	0,9 ± 0,2	38,0 ± 7,1
Emulsionsfilm 1 % NVA	1,5 ± 0,5	1,5 ± 0,5

Die Permeationsrate von NVA aus der hydrophilen Nonivamid Creme nimmt mit steigendem NVA-Gehalt zwischen 0,025 und 0,1 % linear zu ( $r^2=0,9984$ ), der Permeationskoeffizient bleibt konstant. Der Permeationskoeffizient der HNC 1 % weicht hiervon ab, er fällt mit  $18,2 \text{ mL/cm}^2\text{h}^{1/2}$  deutlich geringer aus. Die Permeationsrate und damit auch der Permeationskoeffizient des Emulsionsfilms liegen deutlich unter denen von HNC 1 %. Permeationsrate und Permeationskoeffizient werden durch den Emulsionsfilm auf etwa ein Zehntel reduziert. Gleichzeitig liegen die Permeationsraten

des Emulsionsfilms und die von HNC 0,1 %, HNC 0,05 %, HNC 0,025 % in einem ähnlichen Bereich.

Dass die Permeationsrate aus HNC im Konzentrationsbereich zwischen 0,025 und 0,1 % linear mit der NVA-Konzentration ansteigt, der Permeationskoeffizient aber konstant bleibt, macht deutlich, dass die Beschleunigung der Permeation allein auf die Erhöhung der Wirkstoffkonzentration zurückzuführen ist. Für HNC 1 % wäre eine Permeationsrate von ca.  $40 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}^{1/2}$  und ein Permeationskoeffizient von ca.  $40 \text{ mL}/\text{cm}^2\text{h}^{1/2}$  zu erwarten gewesen. Da aber bei einer Konzentration von 1 % NVA dessen Löslichkeit in der hydrophilen Creme überschritten wird und nur gelöster Arzneistoff Einfluss auf die Permeationsrate nehmen kann, werden eine geringere Permeationsrate und ein geringerer Permeationskoeffizient erhalten.

Der im Vergleich zu den Hydrophilen Nonivamid Cremes deutlich geringere Permeationskoeffizient des Emulsionsfilms veranschaulicht, dass die Diffusion durch die Polymermatrix, welche sich im Film um die NVA-Lösung herum befindet die Geschwindigkeit der Permeation bestimmt.

Die Tatsache, dass NVA aus HNC 0,05 % und dem Emulsionsfilm mit gleicher Geschwindigkeit permeiert, zeigt, dass die Permeationsrate des Emulsionsfilms in einem für die Therapie sinnvollen Bereich liegt.

Wie auch in den vorangegangenen Freisetzungsforschungen wird im Folgenden der Einfluss der Eudragit- und Weichmacherzusammensetzung auf das Permeationsverhalten von NVA aus den Emulsionsfilmen systematisch untersucht.

### 3.5.1.2 Einfluss der Eudragitzzusammensetzung

Emulsionsfilme mit 40 T Eudragit NE zeigen vorteilhafte Dehnungs- und Adhäsionseigenschaften und sind daher Zubereitungen ohne Eudragit NE im Hinblick auf ihre mechanischen Eigenschaften überlegen. In den in-vitro Freisetzungsforschungen konnte nachgewiesen werden, dass ein steigender Anteil von Eudragit NE im Film zu einer verstärkten Freisetzung von NVA führt. Abbildung 3.5-3 und Tabelle 3.5-2 zeigen wie sich eine unterschiedliche Eudragitzusammensetzung auf die Permeationsrate und den Permeationskoeffizienten von NVA auswirkt.

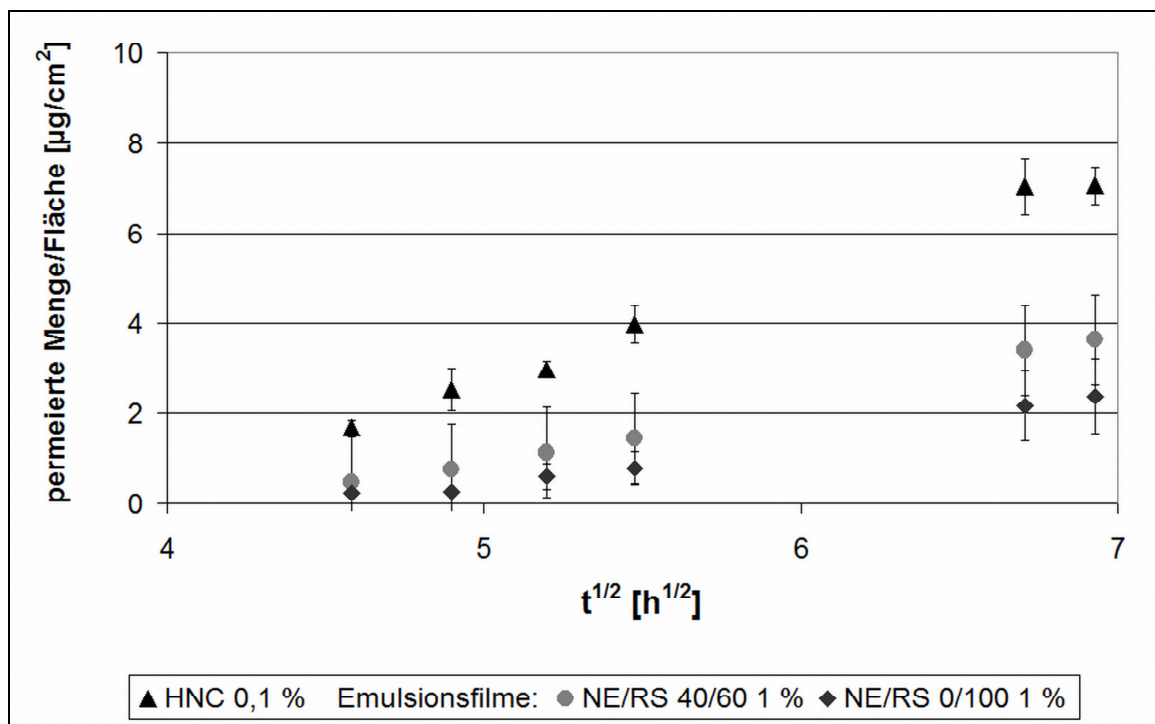


Abbildung 3.5-3: Vergleich der Permeationsrate von HNC 0,1 % mit den Permeationsraten von Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung; Emulsionsfilme enthalten 1 % NVA; Weichmacherzusammensetzung: 7,5 % TEC 3 % PS 80); n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

Tabelle 3.5-2: Vergleich der Permeationsraten und Permeationskoeffizienten von Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung mit HNC 0,1 %

Formulierung	Permeationsrate [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}^{1/2}$ ]	Permeationskoeffizient [ $\text{mL}/\text{cm}^2\text{h}^{1/2}$ ]
HNC 0,1 % NVA	$2,5 \pm 0,2$	$24,9 \pm 2,0$
Emulsionsfilm 1 % NVA NE/RS 0/100	$1,2 \pm 0,7$	$1,2 \pm 0,7$
Emulsionsfilm 1 % NVA NE/RS 40/60	$1,5 \pm 0,2$	$1,5 \pm 0,2$

Wie bereits im vorherigen Kapitel gezeigt wurde, liegt die permeierte Arzneistoffmenge aus Emulsionsfilmen stets unter der von HNC 0,1 %. Die Permeationsraten der Emulsionsfilme unterscheiden sich nicht signifikant voneinander, wenngleich die Permeationsrate, sowie der Permeationskoeffizient des Films mit beiden Retardpolymeren geringfügig über der des Films liegt, der nur Eudragit RS enthält ( $1,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}^{1/2}$  vs  $1,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}^{1/2}$  und  $1,2 \text{mL}/\text{cm}^2\text{h}^{1/2}$  vs  $1,5 \text{mL}/\text{cm}^2\text{h}^{1/2}$ ). Auch die nach 48 h permeierte NVA-Menge liegt im Fall des Films mit der Eudragitmischung mit  $3,7 \pm 0,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  etwas höher als die permeierte Menge aus dem Film, der nur Eudragit RS enthält ( $2,4 \pm 0,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), der Unterschied ist auch hier nicht signifikant.

Anhand des Kurvenverlaufs kann darauf geschlossen werden, dass NVA vor allem innerhalb der ersten Stunden der Permeation schneller aus HNC freigesetzt wird, als aus den Emulsionsfilmen, dadurch liegt die permeierte Menge immer höher als die der Emulsionsfilme. Dies steht im Einklang mit der Vorstellung, dass die Freigabe aus Emulsionsfilmen durch die Polymermatrix kontrolliert wird. NVA muss also erst durch den Film diffundieren, um die Haut zu erreichen. Daher benötigen die Emulsionsfilme zunächst etwas mehr Zeit, um eine konstante Permeationsrate aufzubauen. Die permeierte Menge aus dem Emulsionsfilm mit 40 T Eudragit NE liegt zwar stets über der permeierten Menge aus der Zubereitung ohne Eudragit NE, allerdings ist der Unterschied nicht signifikant und die Permeationsrate wird somit von der Art des eingesetzten Retardpolymers nicht beeinflusst. Beide filmbildenden Emulsionen sind daher prinzipiell geeignet zur Retardierung der dermalen Permeation von NVA.



### 3.5.1.3 Einfluss der Weichmacherzusammensetzung

Der Einfluss von Polysorbaten auf die Permeation von Wirkstoffen durch die Haut wird kontrovers diskutiert. Während Cappel und Kreuter (1991) zeigen konnten, dass Polysorbat 80 die Permeation lipophiler Substanzen verlangsamt, konnten Melero et al. (2008) eine Beschleunigung nachweisen.

Die vorangegangenen Freisetzungsuntersuchungen zeigten einen deutlichen Einfluss von PS 80 auf die Freisetzungsgeschwindigkeit von NVA aus Emulsionsfilmen. Daher wird auch sein Einfluss auf die Permeation von NVA aus Emulsionsfilmen untersucht und mit dem von TEC verglichen (Abbildung 3.5-4 und Tabelle 3.5-3).

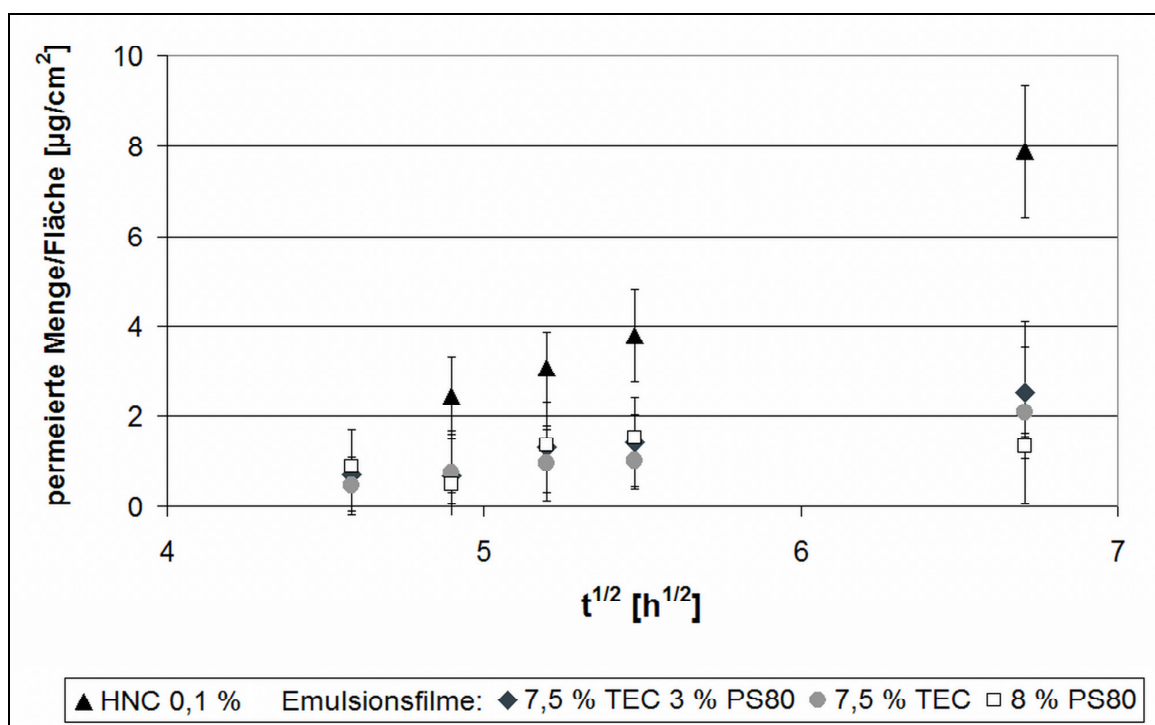


Abbildung 3.5-4: Vergleich der Permeationsrate von HNC 0,1 % mit den Permeationsraten von Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung; Emulsionsfilme enthalten 1 % NVA; Eudragitzzusammensetzung: NE/RS 0/100); n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

Tabelle 3.5-3: Vergleich der Permeationsraten und Permeationskoeffizienten von Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung mit HNC 0,1 %

Formulierung	Permeationsrate [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}^{1/2}$ ]	Permeationskoeffizient [ $\text{mL}/\text{cm}^2\text{h}^{1/2}$ ]
HNC 0,1 % NVA	$3,1 \pm 0,4$	$30,6 \pm 4,0$
Emulsionsfilm 1 % NVA 7,5 % TEC + 3 % PS80	$1,6 \pm 0,3$	$1,6 \pm 0,3$
Emulsionsfilm 1 % NVA 7,5 % TEC	$1,0 \pm 0,6$	$1,0 \pm 0,6$
Emulsionsfilm 1 % NVA 8 % PS80	$0,5 \pm 0,5$	$0,5 \pm 0,5$

Die Permeationsrate der Emulsionsfilme mit 1 % NVA ist auch hier wieder geringer als die von HNC 0,1 %. Die Permeationsgeschwindigkeit nimmt in der Reihe der Zubereitung mit 7,5 % TEC+3 % PS 80 > 7,5 % TEC > 8 % PS 80 ab. Die Permeation aus letzterer Zubereitung ist sehr stark schwankend. Zwischen Stunde 30 und 45 permeiert aus ihr praktisch kein NVA mehr. Dies äußert sich auch in der berechneten Permeationsrate und dem Permeationskoeffizienten, sie sind mit  $0,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}^{1/2}$  bzw.  $0,5 \text{mL}/\text{cm}^2\text{h}^{1/2}$  sehr klein, die Standardabweichungen von  $\pm 0,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}^{1/2}$  bzw.  $\pm 0,5 \text{mL}/\text{cm}^2\text{h}^{1/2}$  im Vergleich dazu sehr groß. Eine zuverlässige Aussage über Permeationsrate und Permeationskoeffizient kann daher nicht getroffen werden. Die Zubereitung mit 8 % PS 80 ist somit ungeeignet zur retardierten Abgabe von NVA an die Haut. Permeationsraten und Permeationskoeffizienten der Zubereitung mit TEC sind etwas geringer als die der Zubereitung, die die Mischung aus TEC und PS 80 enthält. Der Unterschied ist statistisch nicht signifikant. Beide Formulierungen sind als geeignet zu betrachten, da die Permeation während des gesamten Beobachtungszeitraums mit konstanter Geschwindigkeit erfolgt.

### 3.5.1.4 Zusammenfassung der Untersuchungen mit infiniten Dosis

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse der Permeationsuntersuchungen ist in Abbildung 3.5-5 dargestellt. Sie vergleicht die Permeationsraten der untersuchten Formulierungen jeweils mit der Standardrezeptur<sup>2</sup> (genaue Zusammensetzung siehe Tabelle 2.2-10 Rezeptur: NE/RS 0/100). Äquivalenz der Permeationsrate einer Zubereitung mit der Standardzubereitung gilt als gegeben wenn das Konfidenzintervall des Medians der Quotienten der Permeationsrate von Referenz- und Testzubereitung innerhalb der Grenzen 0,75 und 1,33 liegt (FDA Guidance for Industry, 2004).

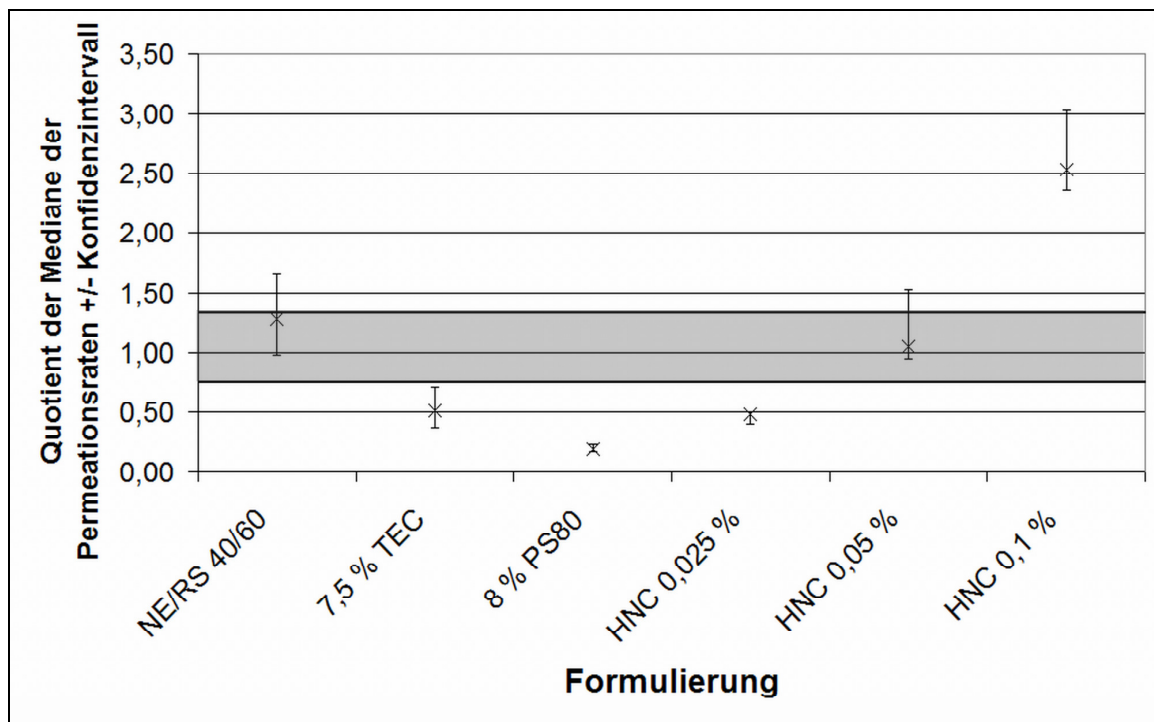


Abbildung 3.5-5: Äquivalenzprüfung der Permeationsraten von NVA aus filmbildenden Emulsionen (1 % NVA) oder HNC (0,025 %, 0,05 % oder 0,1 %); n=5; Fehlerbalken: Konfidenzintervall des Medians

Abbildung 3.5-5 zeigt, dass die Permeationsraten von Emulsionsfilm und HNC 0,05 % im gleichen Bereich liegen und die Eudragitzzusammensetzung keinen signifikanten Einfluss auf die Permeationsgeschwindigkeit zeigt. Eine Abhängigkeit der Permeationsrate von der Weichmacherzusammensetzung ist hingegen deutlich zu erkennen. Die Verwendung von PS 80 allein führt zu einer stark schwankenden Permeation von NVA. Der Einsatz von TEC allein verlangsamt die Permeationsrate. Die Verwendung der Kombination von TEC und PS 80 (Referenzzubereitung und

<sup>2</sup> 1 % NVA; 10 % PVOH 8-88; NE/RS 0/100; 7,5 % TEC + 3 % PS 80

Zubereitung mit 40 T Eudragit NE) führt zu Permeationsraten, die mit derer von HNC 0,05 % vergleichbar sind.

Damit ergibt sich auf der Basis der bisherigen Untersuchungen (Adhäsion, Dehnung, Wasserfestigkeit, Freisetzung und Permeation mit infiniten Dosis) dass die Formulierung mit einer Mischung der beiden Retardpolymere und der Weichmachermischung die vorteilhaftesten Eigenschaften besitzt. Mit ihr werden daher die nachfolgenden Permeationsuntersuchungen mit finiter Dosis sowie die Penetrationsuntersuchungen und die Substantivitätsprüfung durchgeführt.

### 3.5.2 Permeationsuntersuchungen mit finiter Dosis

Zur Untersuchung der Permeation von NVA unter finiter Dosierung werden HNC 0,05 % und der Emulsionsfilm mit 40 T Eudragit NE, 60 T Eudragit RS und einer Weichmachermischung aus TEC und PS 80 herangezogen. Hierbei wird, ähnlich wie bei der Untersuchung von Sonnencremes eine Menge von 2 mg Zubereitung pro cm<sup>2</sup> Haut unter nicht okklusiven Bedingungen aufgebracht.

Das Permeationsverhalten von NVA aus HNC 0,05 % und dem Emulsionsfilm unter finiter Dosierung ist in Abbildung 3.5-6 dargestellt.

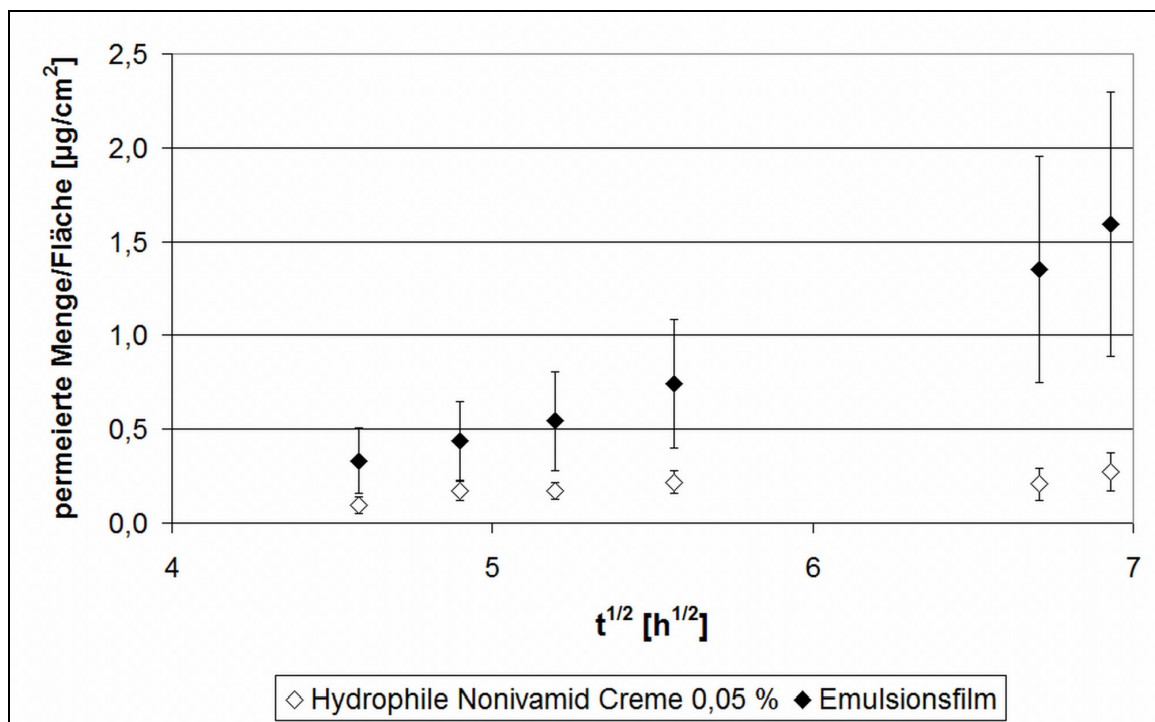


Abbildung 3.5-6: Vergleich der Permeation von NVA aus HNC 0,05 % und einem Emulsionsfilm mit 1 % NVA; finite Dosierung (normiert auf 2 mg/cm<sup>2</sup>); Emulsionsfilm: Eudragitzzusammensetzung: NES 40/60; Weichmachermischung: 7,5 % TEC + 3 % PS80); n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Untersuchungen mit infiniten Dosierung liegt bei finiter Dosierung die aus dem Emulsionsfilm permeierte Menge NVA zu allen Zeitpunkten über der permeierten Menge aus HNC 0,05 %. Die permeierte Menge NVA nimmt im Fall des Emulsionsfilms über den gesamten Untersuchungszeitraum zu, während bei der HNC nur zwischen Stunde 24 und 27 eine ähnliche Zunahme zu erkennen ist. Nach 45 h sind aus HNC 0,05 % 27,3 ± 10,4 % des enthaltenen NVA ins Permeationsmedium übergegangen, während es beim Emulsionsfilm nur 8,0 ± 3,5 %

sind. Die Variabilität der Permeation von NVA aus dem Emulsionsfilm ist unter finiter Dosierung deutlich höher, als unter infiniter Dosierung.

Das unterschiedliche Verhalten von HNC 0,05 % bei finiter und infiniter Untersuchung kann durch die geringe zur Verfügung stehende Menge NVA erklärt werden. Dadurch, dass sehr viel weniger NVA vorhanden ist, als bei infiniter Dosierung, kann die Permeationsrate nicht den zuvor beobachteten Maximalwert annehmen. Es ist davon auszugehen, dass sich aufgrund des hohen Verteilungskoeffizienten ( $\log P_{O/W}$ : 3,74 (Kasting 2001)) viel NVA im Stratum corneum befindet, das innerhalb der Beobachtungszeitraums nur unvollständig an die darunter liegenden Hautschichten abgegeben wird.

Aus dem Emulsionsfilm sind nach 48 h erst  $8,0 \pm 3,5$  % des enthaltenen NVA ins Rezeptormedium übergegangen, während es bei HNC 0,05 % bereits  $27,3 \pm 10,4$  % sind. Es ist somit im Emulsionsfilm noch ausreichend NVA vorhanden, um den Konzentrationsgradienten und damit einen konstanten Flux aufrecht zu erhalten.

Die hohe Variabilität der Permeation von NVA aus dem Emulsionsfilm unter finiter Dosierung ist dadurch bedingt, dass die sehr geringe Menge der Zubereitung mit der verwendeten Applikationshilfe nicht absolut homogen auf der Haut verteilt werden kann. Es sind somit unterschiedlich große Bereiche der Haut mit dem Emulsionsfilm bedeckt, was zu einem Unterschied in den Permeationsraten führt. Dies ist für die Anwendung durch den Patienten nicht von Bedeutung, da üblicherweise größere Bereiche therapiert werden und die Formulierung mit der Hand besser verteilen werden kann, als das in vitro Untersuchungen möglich ist.

### 3.6 In-vitro Penetrationsuntersuchungen

In-vitro Penetrationsuntersuchungen dienen dazu, den zeitlichen Verlauf der Verteilung von Arzneistoffen in der Haut nach dermalen Applikation darzustellen. Zu diesem Zweck werden im Anschluss an Permeationsuntersuchungen mit finiter Dosis Penetrationsuntersuchungen durchgeführt (2.2.12.3). Auch dabei wird eine finite Dosierung der Zubereitung unter nicht okklusiven Bedingungen auf die Haut aufgebracht. Nach festgelegten Zeitintervallen wird die Haut segmentiert und der NVA-Gehalt in den verschiedenen Schichten bestimmt. Dabei wird die Penetration von NVA aus einem Emulsionsfilm der Penetration aus HNC 0,05 % gegenübergestellt.

Abbildung 3.6-1 und Abbildung 3.6-2 zeigen die Ergebnisse der Penetrationsuntersuchungen.

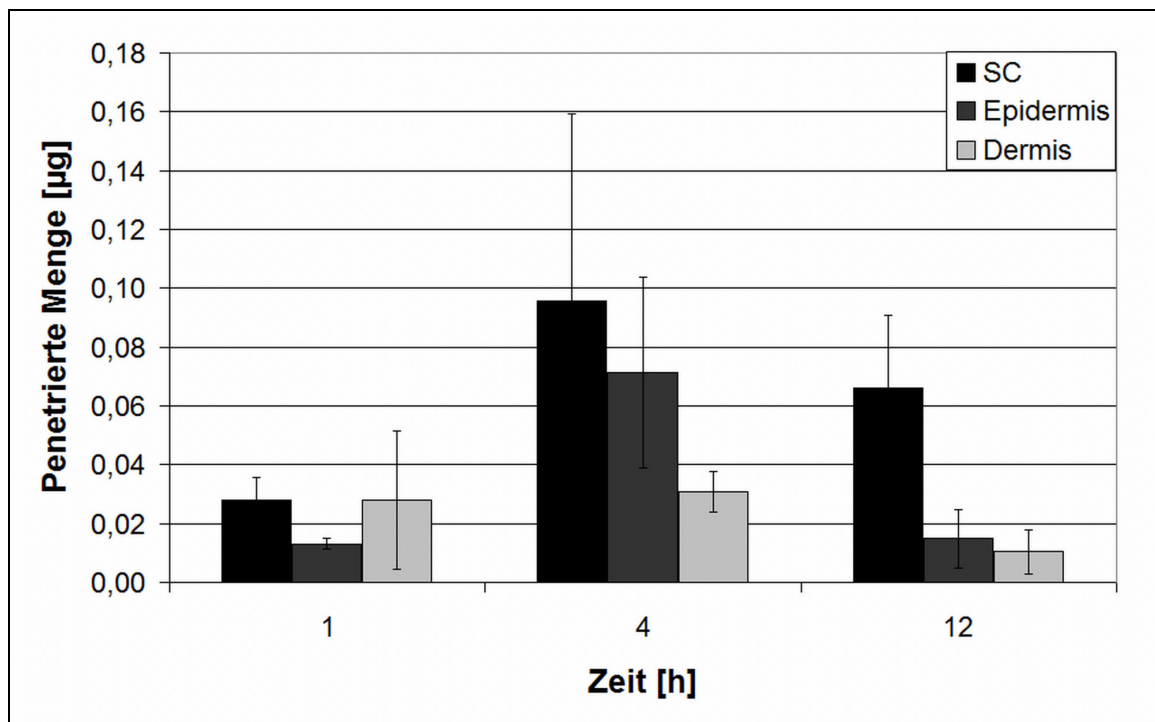


Abbildung 3.6-1: Aus HNC 0,05 % penetrierte Menge NVA in den verschiedenen Hautschichten in Abhängigkeit zur Inkubationszeit; finite Dosierung (normiert auf 2 mg/cm<sup>2</sup>); n=3; Fehlerbalken: Standardabweichung

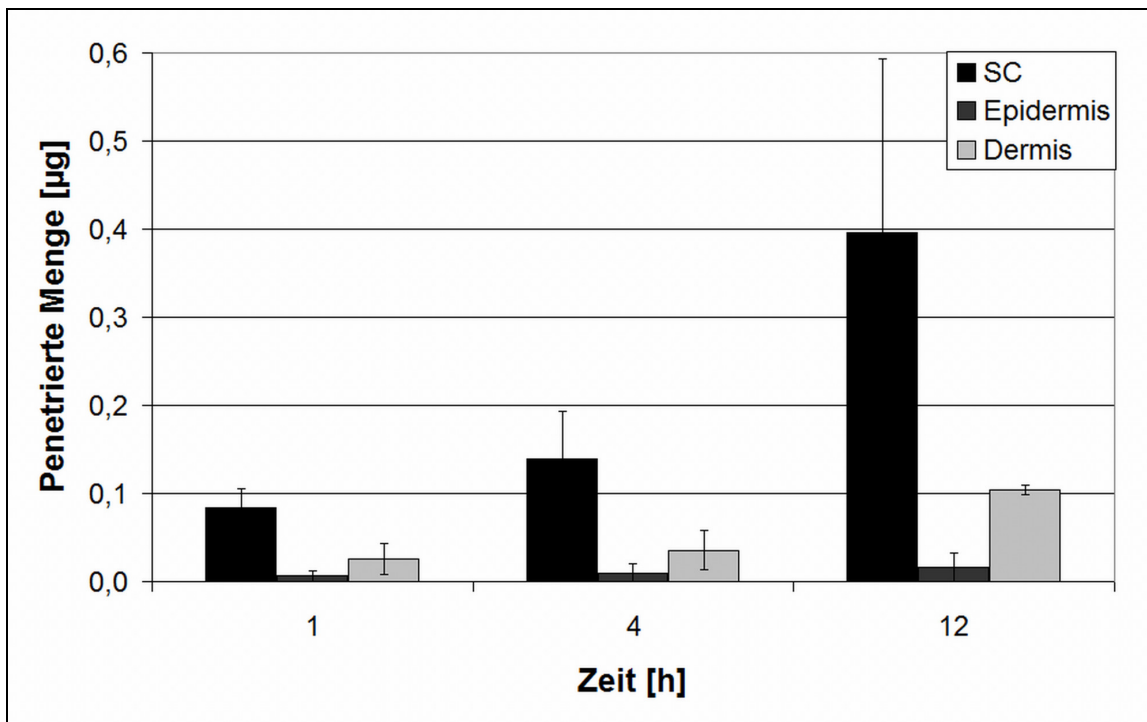


Abbildung 3.6-2: Aus einem Emulsionsfilm penetrierte Menge NVA in den verschiedenen Hautschichten in Abhängigkeit zur Inkubationszeit; finite Dosierung (normiert auf  $2 \text{ mg/cm}^2$ ); Emulsionsfilm: Eudragitzzusammensetzung: NES 40/60; Weichmacherzusammensetzung: 7,5 % TEC + 3 % PS80);  $n=3$ ; Fehlerbalken: Standardabweichung

Die Penetrationsuntersuchungen zeigen, dass die NVA-Konzentration bei beiden Formulierungen im Stratum corneum unabhängig von der Inkubationszeit höher ist, als in Epidermis und Dermis.

Im Falle der HNC 0,05 % ist innerhalb einer Stunde kaum NVA in die Haut penetriert. Nach 4 Stunden wird die höchste NVA-Menge detektiert, die nach 12 Stunden bestimmte Menge liegt etwas darunter. Dabei zeigt sich, dass im Stratum corneum noch eine beträchtliche Menge NVA vorhanden ist, in der Epidermis die NVA-Konzentration aber etwa auf die Konzentration nach einer Stunde abgefallen ist.

Die Ergebnisse der Untersuchung des Emulsionsfilms zeigen ein deutlich anderes Bild. Auch hier ist zwar nach 1 h erst wenig NVA in die Haut penetriert, die Gesamtmenge des im Stratum corneum vorliegenden NVA ist allerdings bereits 25fach höher ist, als im Falle der HNC 0,05 % ( $0,8 \pm 0,02 \mu\text{g}$  vs.  $0,03 \pm 0,01 \mu\text{g}$ ). Über den Beobachtungszeitraum von 12 h nimmt die NVA-Konzentration in der Haut stetig zu.

Da NVA ein sehr lipophiles Molekül ist ( $\log P_{OW}$ : 3,74 (Kasting 2001)), ist seine Konzentration im lipidreichen Stratum corneum höher, als in den lipidärmeren darunter liegenden Hautschichten. Die Einstellung eines Maximums nach 4 Stunden deckt sich mit einem Dosierungsintervall von 4 bis 6 Stunden, welches sich aus der 4-Mal



täglichen Applikation ergibt, die in der Monografie beschrieben wird (Neues Rezeptur Formularium, 2010).

Die Penetrationsuntersuchungen des Emulsionsfilms zeigen eine deutlich längere Abgabe des NVA an die Haut. Die NVA-Menge im Stratum corneum steigt zwischen 4 und 12 h nochmals stark an, was bedeutet, dass auch nach 12 h noch genügend NVA im Stratum corneum vorhanden ist, welches an die tiefer liegenden Hautschichten abgegeben werden kann.

### 3.7 Substantivitätsprüfung

Die Fähigkeit einer Zubereitung den in ihr enthaltenen Arzneistoff über einen längeren Zeitraum am Applikationsort zur Verfügung zu stellen, ist eine wichtige Voraussetzung für die retardierte Abgabe dieses Arzneistoffs an den Wirkort. Die retardierte Arzneistoffabgabe der Emulsionsfilme an die Haut wurde bereits in den vorangegangenen Kapiteln nachgewiesen. Im Anschluss daran wird die Substantivität der Emulsionsfilme untersucht. Dazu werden filmbildende Emulsionen in finiter Dosierung auf die Haut aufgebracht und 15 min bei 32 °C inkubiert, um eine vollständige Filmbildung zu gewährleisten, die Penetration in die Haut aber möglichst gering zu halten. Anschließend werden die mit den Emulsionsfilmen bedeckten Hautstücke, ähnlich wie bei der Untersuchung der Wasserfestigkeit freier Emulsionsfilme, 20 min in Wasser gebadet und anschließend die NVA-Konzentration im Wasser ermittelt (2.2.13 und 2.2.14.2). Mit HNC 0,05 % wird analog vorgegangen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3.7-1 dargestellt.

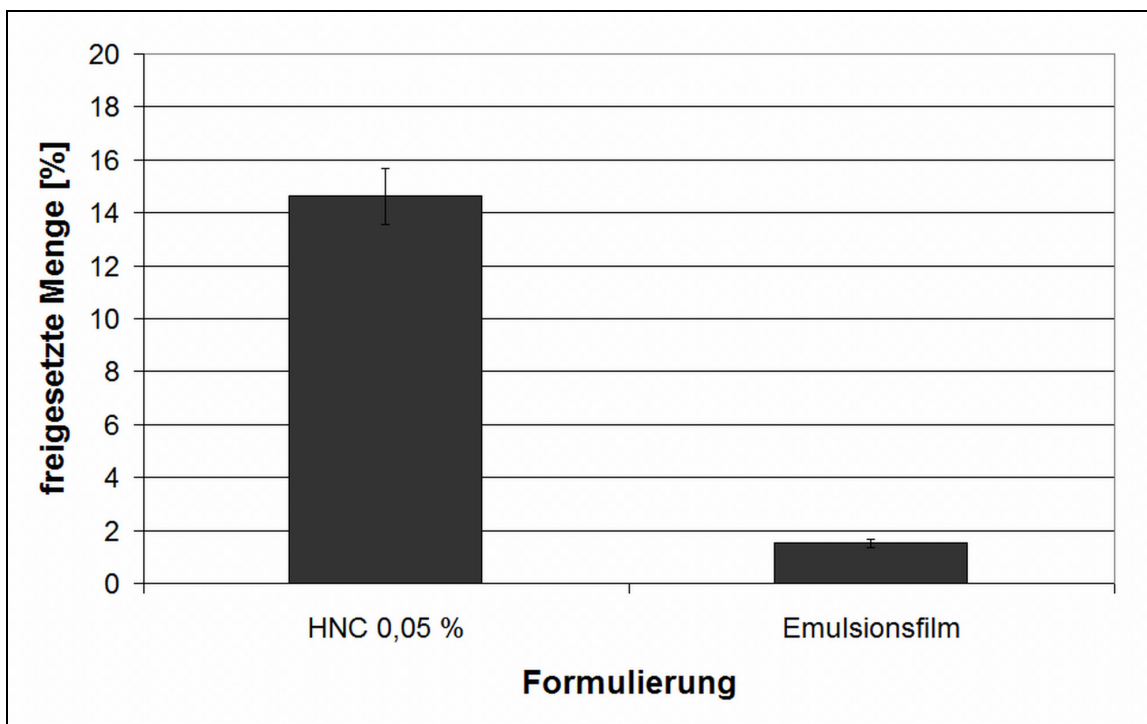


Abbildung 3.7-1: Freigesetzte Menge NVA nach 20 min in Wasser bei 32 °C; n=6; Fehlerbalken: Standardabweichung

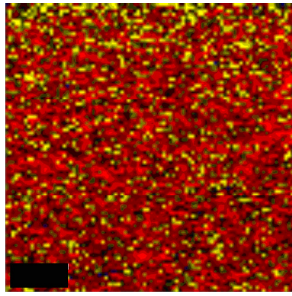
Es ist deutlich zu erkennen, dass aus dem Emulsionsfilm nur 1,5 ± 0,15 % der enthaltenen NVA-Menge freigegeben werden, während es im Falle der HNC 0,05 % 14,9 ± 1,1 % sind. Das entspricht einer Verringerung der freigegebenen Menge NVA um das 10fache. Die Emulsionsfilme können also, ein Abwaschen des Arzneistoffs von der

Haut wirksam verhindern. Somit sind sie in der Lage, den Arzneistoff über einen längeren Zeitraum am Applikationsort zur Verfügung zu stellen. Die gewünschte Substantivität, welche die Voraussetzung für eine lang anhaltende Arzneistoffversorgung der Haut darstellt, ist demnach gegeben.

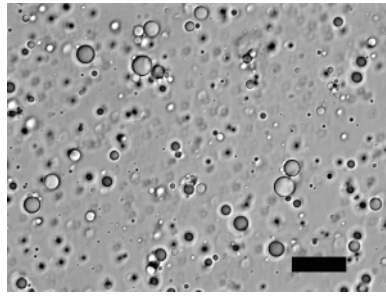
## 4 Abschlussdiskussion

In der vorliegenden Arbeit werden filmbildende Emulsionssysteme vorgestellt, welche eine retardierte Wirkstoffabgabe an die Haut ermöglichen. Die Notwendigkeit zur Entwicklung solcher Systeme ergibt sich aus der Tatsache, dass kurze Anwendungsintervalle besonders bei chronischen Leiden die Therapietreue verringern. Bei mangelnder Compliance kann die Wirksamkeit der Therapie verringert werden oder gar aussetzen. Systeme, die die Anzahl der Anwendungen pro Tag reduzieren, können daher einen Beitrag zum Behandlungserfolg leisten (Anand und Bley 2011; Griffith 1990; Kastrissios und Blaschke 1997; Yildiz, et al. 2004).

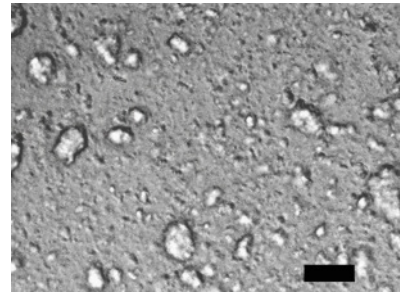
Bei filmbildenden Emulsionen handelt es sich um hoch komplexe Systeme, denen außer den typischen Formulierungsbestandteilen Öl, Wasser und Emulgator zusätzlich Dispersionen unlöslicher Polymere zugesetzt werden, welche wiederum selbst zu ihrer Stabilisierung Zusätze, wie Emulgatoren und Konservierungsmittel beinhalten können und denen zur Sicherstellung ihrer Funktionalität weitere Stoffe, wie z. B. Weichmacher zugegeben werden müssen. Die Entwicklung stabiler Systeme aus diesen vielfältigen Bestandteilen stellt somit eine besondere Herausforderung dar. Neben der reinen Funktionalität muss verstärkt auf die Kompatibilität und Stabilität der Systeme geachtet werden. Dabei kann es vorkommen, dass Stoffe, die in binären Mischungen miteinander kompatibel sind, in ternären Mischungen ihre Verträglichkeit einbüßen. So sind z. B. Emulsionssysteme aus Wasser, MCT und PVOH 40-88 und Mischungen von PVOH 40-88 mit Eudragit NE 30D stabil, während der Zusatz von Eudragit NE 30D zu PVOH 40-88-stabilisierten Emulsionen zur Flockung des Systems führt (Abbildung 5-1).



Mischung von  
PVOH 40-88 und  
Eudragit NE 30D



PVOH 40-88-stabilisierte  
Emulsion



PVOH 40-88-stabilisierte  
Emulsion mit Eudragit NE 30D  
nach 7 Tagen Lagerung

Abbildung 5-1: Ramanmikroskopische Aufnahme einer Mischung von PVOH 40-88 und Eudragit NE 30D, lichtmikroskopische Aufnahmen von Emulsionen mit PVOH 4-88 ohne und mit Eudragit NE 30D; Maßstabsbalken Lichtmikroskopische Aufnahmen: 20  $\mu\text{m}$ ; Ramanaufnahme: 3  $\mu\text{m}$ ; Farbcode des Falschfarbenbilds: ■ PVOH ■ Eudragit

In solchen Fällen ist es nicht immer möglich, die Gründe, die zur Inkompatibilität führen zu isolieren, da sie bei einer Reduktion der Reaktionspartner nicht persistieren und somit eine Betrachtung der Einflüsse der Einzelkomponenten nicht möglich ist. Ebenso sind Wechselwirkungen, welche auf molekularer Ebene stattfinden gerade in komplexen und konzentrierten Systemen oftmals nicht direkt mess- oder visualisierbar. In dieser Arbeit konnte die Ramanmikroskopie als vielseitige und effektive Methode zur zeitnahen Visualisierung von Inkompatibilitätserscheinungen in Vielstoffgemischen genutzt werden, welche makroskopisch und lichtmikroskopisch zum Teil erst nach mehreren Monaten sichtbar werden. Dabei ist es als großer Vorteil anzusehen, dass für die ramanmikroskopische Untersuchung keine Probenpräparation notwendig ist und die Proben während der Untersuchung nicht verändert werden. Verschiedenste flüssige, halbfeste und feste Systeme können somit in ihrem nativen Zustand untersucht werden. So konnten in der vorliegenden Arbeit z. B. die Flockung von Systemen aus gelösten und ungelösten Polymeren untersucht und die Verteilung der Formulierungsbestandteile in Emulsionsfilmen charakterisiert werden.

Während der erste Teil dieser Arbeit darin besteht, eine filmbildende Emulsionszubereitung aus den Bestandteilen Öl, Wasser, Polymeremulgator und Polymerdispersion herzustellen, deren Stabilität sicherzustellen und ihre Eigenschaften, sowie die Eigenschaften der aus ihr gewonnenen Filme zu charakterisieren, besteht der

zweite Teil der Arbeit aus der Charakterisierung und Optimierung von Arzneistofffreisetzung und -permeation.

Zur Untersuchung der Funktionalität von Dermatika stehen zahlreiche Methoden zur Verfügung, die zum Teil auch in dieser Arbeit Anwendung finden. Die verschiedenen Methoden können dabei Aussagen über unterschiedliche Aspekte der Funktionsweise der untersuchten Formulierung liefern. Bei der Auswahl der Methode muss daher sorgfältig darauf geachtet werden, welche Art von Ergebnissen erhalten werden können und welche Faktoren die Ergebnisse beeinflussen, da durch einen ungünstig gewählten Versuchsaufbau die Ergebnisse verzerrt werden können (Bias) (Klang, et al. 2012; Thakker und Chern 2003; Zatz 1995; Zatz und Segers 1998).

Der Entwicklung eines geeigneten Versuchsaufbaus muss deshalb im Vorfeld besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden, damit die Untersuchungen tatsächlich auf die Formulierung fokussiert sind und kein Bias durch den Versuchsaufbau entsteht. Dies trifft besonders im Fall von in-vitro Freisetzungsforschungen zu, bei denen die verwendeten Membranen und Freisetzungsmitteln direkten Einfluss auf die Ergebnisse nehmen können. Damit die Auswirkungen der Variation der Formulierungsparameter auf die Freisetzung gezielt untersucht werden können, muss daher ausgeschlossen werden, dass Membran und Freisetzungsmitteln die Freisetzungseigenschaften beeinflussen oder gar determinieren.

Das Freisetzungsmitteln muss dabei so gewählt werden, dass es zum einen sink-Bedingungen sicherstellt, also eine genügende Löslichkeit für den Arzneistoff aufweist, und damit seiner Freisetzung aus der Formulierung in das Medium nicht im Wege steht. Zum anderen darf das Freisetzungsmitteln keinen Einfluss auf die Funktion der Formulierung selbst nehmen, d. h. sie nicht verdünnen oder lösen.

Die verwendeten Membranen werden ausschließlich zu dem Zweck verwendet, die Formulierung zu tragen und vom Freisetzungsmitteln zu trennen. Sie dürfen keine Diffusionsbarriere für den Arzneistoff darstellen, sondern müssen eine genügende Benetzbarkeit und Permeabilität aufweisen um den Kontakt zwischen Formulierung und Freisetzungsmitteln herzustellen. Gleichmaßen ist sicherzustellen, dass die Permeabilität für das Freisetzungsmitteln nicht zu hoch ist, da es sonst verstärkt in die Zubereitung diffundieren, diese verdünnen und so die Freisetzung beeinflussen kann. Außerdem liegt auf der Hand, dass ein solches System für jede Formulierung angepasst und qualifiziert werden muss und Ergebnisse aus Untersuchungen mit unterschiedlichem Versuchsaufbau nicht miteinander verglichen werden können (FDA Guidance for Industry, 2004; Thakker und Chern 2003; Zatz 1995; Zatz und Segers

1998). Sollen nun aber wie im vorliegenden Fall zwei ganz unterschiedliche Formulierungssysteme miteinander verglichen werden, so ist es umso wichtiger sicherzustellen, dass der Versuchsaufbau für beide Formulierungen tauglich ist. In der vorliegenden Arbeit wird daher ein System aus Polycarbonatmembranen mit einer Porengröße von 0,03  $\mu\text{m}$  und einer Mischung von Phosphatpuffer pH 7,4 und Polyethylenglycol 600 gewählt. Dieses Freisetzungsmedium zeigt einerseits eine ausreichend hohe Löslichkeit für den Modellarzneistoff Nonivamid und löst andererseits die Emulsionsfilme nicht an, wie es z. B. Ethanol tun würde.

Die Polycarbonatmembranen stellen einen ausreichenden Kontakt von Formulierung und Freisetzungsmedium sicher, verhindern aber ein übermäßiges Eindringen des Freisetzungsmediums in die Formulierung. Die geringe Porengröße wirkt sich dabei insofern vorteilhaft auf die Ergebnisse der Untersuchungen aus, dass sie die Streuung der Versuchsergebnisse minimiert. So führt z. B. die Verwendung von Polytetrafluorethylen-Filtern mit einer Porengröße von 5  $\mu\text{m}$  zu gleichen Ergebnissen bezüglich der Freisetzungsraten, die Streuung der Werte ist allerdings weitaus höher, was sich nachteilig auf die Detektierbarkeit von Unterschieden zwischen Formulierungen auswirkt (Abbildung 5-2).

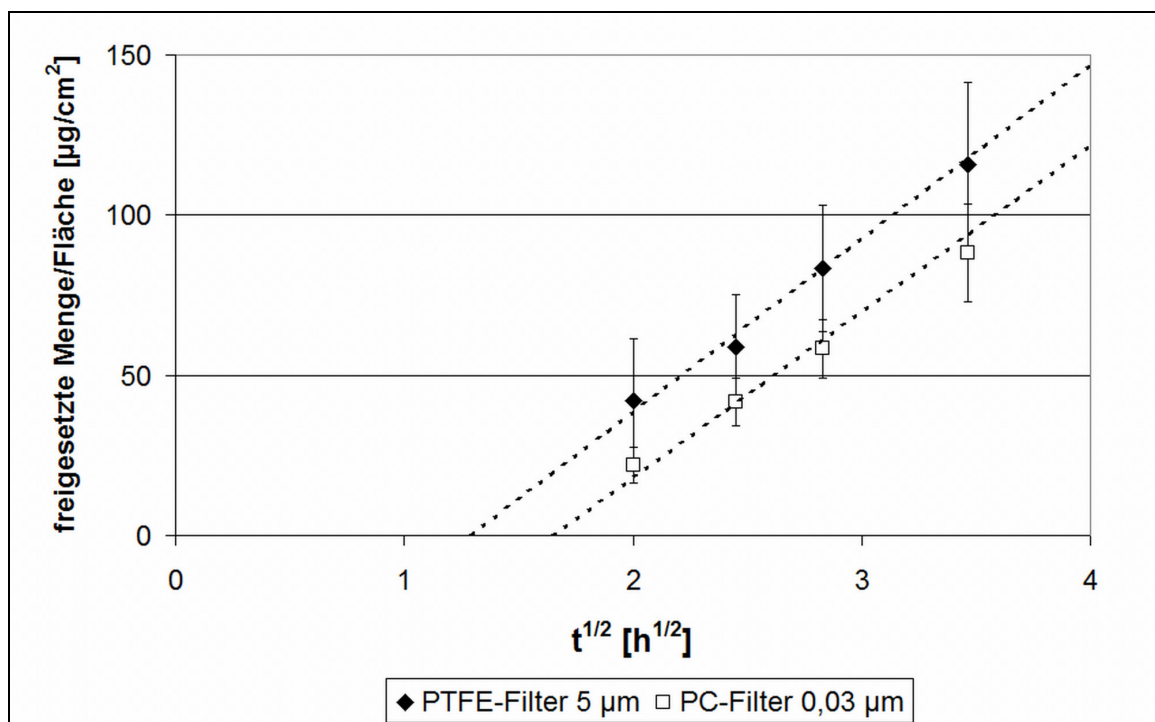


Abbildung 5-2: Vergleich der in-vitro Freisetzung von NVA aus Emulsionsfilmen mit unterschiedlichen Membranen; n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung; PTFE = Polytetrafluorethylen; PC = Polycarbonat

Mit dem gewählten Versuchsaufbau ist des Weiteren ein Vergleich der Nonivamidfreisetzung aus den beiden unterschiedlichen Formulierungstypen Hydrophiler Nonivamid Creme und den Emulsionsfilmen möglich. Somit erfüllt dieser Versuchsaufbau alle Voraussetzungen, um für die betrachteten Zubereitungen zuverlässige Ergebnisse liefern zu können.

Der Versuchsaufbau ist allerdings nicht nur bei in-vitro Freisetzungsforschungen, sondern auch bei in-vitro Permeations- und Penetrationsuntersuchungen ausschlaggebend. Anders, als in in-vitro Freisetzungsforschungen übt hier die Membran, also die Haut, einen deutlichen Einfluss auf die Permeationseigenschaften des Arzneistoffs aus. Eine sinnvolle Auswahl der Spezies, deren Haut verwendet werden soll, ist hier also entscheidend. Die Verwendung von Humanhaut ist zwar erstrebenswert, kann allerdings aufgrund der eingeschränkten Verfügbarkeit nicht immer erfolgen. Die Haut von Nagern eignet sich kaum als Ersatz für Humanhaut, da sie dünner und stärker behaart ist, als die des Menschen und sich daher die Permeationsraten zum Teil um mehrere Zehnerpotenzen unterscheiden. Stattdessen bietet sich porcine Haut als Surrogat an, da sie der des Menschen hinsichtlich Dicke und Behaarung ähnelt, leichter verfügbar ist und für sie die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf Humanhaut bereits ausführlich untersucht und nachgewiesen ist (Monteiro-Riviere, et al. 2008; Sekkat, et al. 2002). Zur Untersuchung der Permeation und Penetration von Nonivamid wurde daher in dieser Arbeit ausschließlich postaurikuläre Porcinehaut verwendet.

Ebenso, wie in in-vitro Freisetzungsforschungen darf auch in in-vitro Permeationsuntersuchungen das Permeationsmedium keinen Einfluss auf die Permeation nehmen. Es muss also auch hier sink-Bedingungen zur Verfügung stellen und darf die Membran nicht beeinflussen, wie dies z. B. für Ethanol diskutiert wird. Hier werden verschiedene Effekte, wie z. B. das Herauslösen von Lipiden aus der Haut, die Erhöhung der Löslichkeit des Arzneistoffs in der Haut oder, bei Ethanolkonzentrationen über 60 %, eine Dehydratation der Haut genannt (Klang, et al. 2012; Suhonen, et al. 1999). Auch wenn der Einfluss von Ethanol auf die Barrierefunktion der Haut nicht abschließend geklärt ist, wird deshalb in dieser Arbeit auf seinen Einsatz verzichtet und weiterhin mit der bereits in den in-vitro Freisetzungsforschungen verwendeten Mischung aus Phosphatpuffer pH 7,4 und PEG 600 gearbeitet.

Ist der Versuchsaufbau geeignet gewählt, so können anhand von in-vitro Untersuchungen der Arzneistofffreisetzung und -permeation wichtige Informationen



über die Funktionalität der untersuchten Zubereitung erhalten werden. Bei der Auswahl, wie der Interpretation der Daten müssen allerdings die Limitationen des jeweiligen Systems beachtet werden.

So dienen in-vitro Freisetzungsuntersuchungen allein dazu, die Freigabe des Arzneistoffs aus der Formulierung zu untersuchen. Formulierungsparameter können systematisch variiert werden, um herauszufinden, ob und wie sich Veränderungen der Zusammensetzung auf die Arzneistofffreisetzung auswirken.

In-vitro Permeationsuntersuchungen mit infiniten Dosierung dienen zur Charakterisierung der Arzneistoffpermeation und zum Vergleich verschiedener Formulierungen. Allerdings liegt die aufgetragene Menge der Formulierung weit über der in-vivo applizierten, so dass sie die in-vivo Situation nicht genau abbilden. Hierzu sind in-vitro Permeationsuntersuchungen mit finiter Dosierung besser geeignet.

In-vitro Penetrationsuntersuchungen wiederum können Aufschluss über den zeitlichen Verlauf der Arzneistoffverteilung in der Haut geben.

Obwohl alle diese Methoden zur Charakterisierung der Arzneistofffreigabe von Dermatika verwendet werden können, sind sie dennoch nicht austauschbar und Effekte können nicht ohne weiteres von einem System auf ein anderes (z. B. von Freisetzungsauf Permeationsuntersuchungen) übertragen werden.

So werden in-vitro Freisetzungsuntersuchungen zwar oftmals verwendet um Formulierungen im Vorfeld von in-vitro Permeationsuntersuchungen zu optimieren und die vielversprechendsten Kandidaten für die nachfolgenden Untersuchungen auszuwählen. Dabei ist allerdings zu beachten, dass Effekte, die in in-vitro Freisetzungsuntersuchungen zu sehen sind, in in-vitro Permeationsuntersuchungen weniger stark ausgeprägt sein können bzw. dass Effekte, die in in-vitro Freisetzungsuntersuchungen vergleichsweise schwach in Erscheinung treten, in in-vitro Permeationsuntersuchungen nicht detektierbar sein können. Es ist also sinnvoll auf der Basis von in-vitro Freisetzungsuntersuchungen nur solche Variationen der Formulierung für in-vitro Permeationsuntersuchungen auszuwählen, die einen deutlichen Einfluss auf die Freisetzung zeigen.

Es zeigen z. B. im Falle der Emulsionsfilme nicht nur die verwendeten Polymere, lösliche ebenso wie unlösliche, einen Einfluss auf das Freisetzungsverhalten sondern auch die verwendeten Weichmacher. Die Einflüsse der jeweiligen Bestandteile sind jedoch unterschiedlich stark ausgeprägt. Dies wird bei der Auswahl von Formulierungen für nachfolgende in-vitro Permeationsuntersuchungen beachtet und Formulierungen mit unterschiedlicher Zusammensetzung im Bereich der löslichen Polymere werden nicht in

die in-vitro Permeationsuntersuchungen aufgenommen, da ihr Einfluss auf die Freisetzung am geringsten ist und keine speziellen Interaktionen mit der Haut zu erwarten sind.

Es muss allerdings nicht immer so sein, dass Effekte, die in Freisetzunguntersuchungen detektiert werden auch in Permeationsuntersuchungen sichtbar sind. So können z. B. bei in-vitro Freisetzunguntersuchungen Stoffe aus der Formulierung herausgelöst werden und im Freisetzungsmedium die Löslichkeit des Arzneistoffs beeinflussen oder den Aufbau der im Donor verbleibenden Formulierung so beeinflussen, dass dies eine veränderte Freisetzung nach sich zieht. In in-vitro Permeationsuntersuchungen verbleiben diese Stoffe unter Umständen in der Formulierung, da ihr Übertritt in das Permeationsmedium durch die Haut stärker beeinträchtigt wird als durch eine künstliche Membran. Dies lässt sich z. B. anhand der in-vitro Freisetzung- und Permeationsuntersuchungen von Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung erkennen (Abbildung 5-3 und Abbildung 5-4).

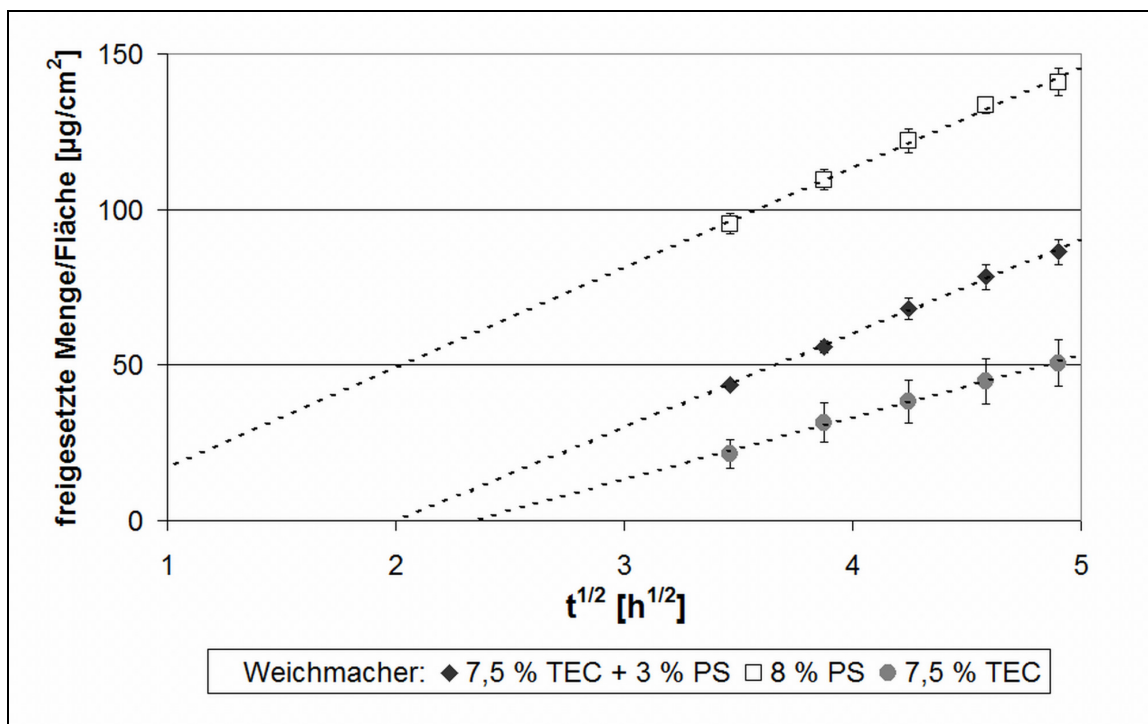


Abbildung 5-3: Vergleich der in-vitro Freisetzung von NVA aus Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung (mit PVOH 8-88, Eudragit RS); n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

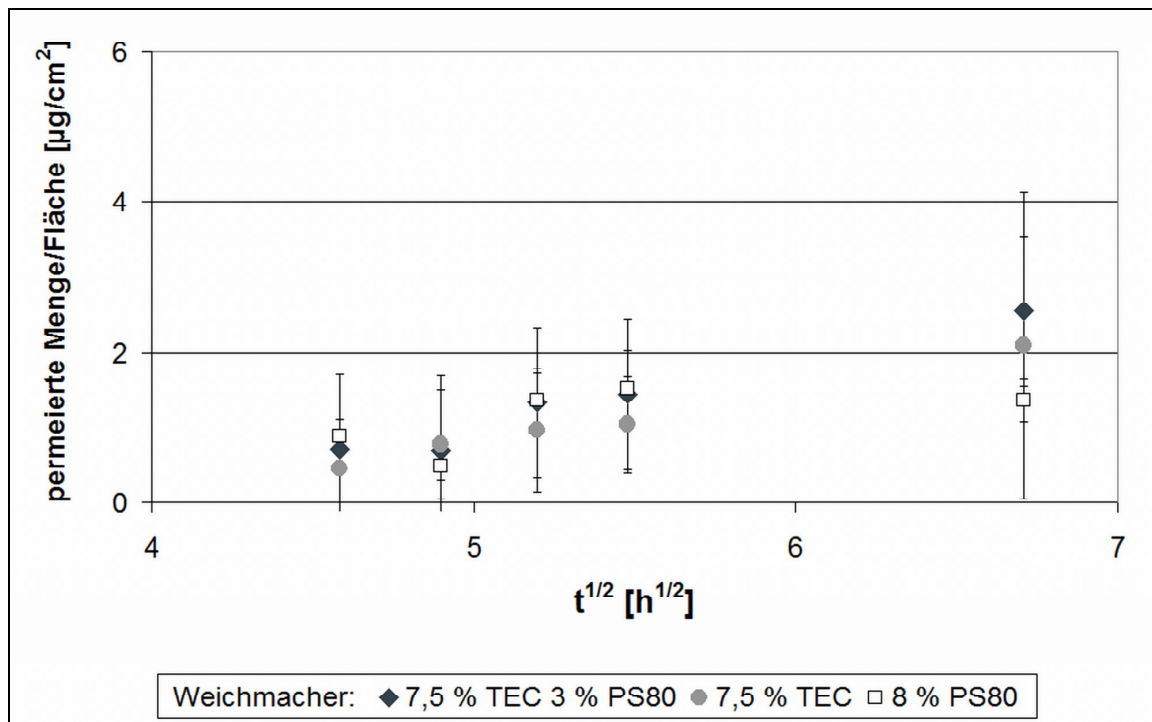


Abbildung 5-4: Vergleich der Permeationsraten von Emulsionsfilmen mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung; Eudragitzzusammensetzung: NE/RS 0/100); n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

Während die Formulierung, welche als Weichmacher nur PS 80 enthält, eine höhere Gesamtmenge NVA schneller freisetzt, als die Zubereitung, die nur TEC als Weichmacher enthält, liegt die Permeationsrate des Emulsionsfilms mit PS 80 deutlich unter der des Films mit TEC. Eine Korrelation der Ergebnisse von Freisetzungs- und Permeationsergebnissen ist in diesem Fall nicht möglich. Dies zeigt, dass in-vitro Freisetzungsuntersuchungen zwar ein nützliches Werkzeug in der Entwicklung von Dermatika darstellen, dass sie jedoch in-vitro Permeationsuntersuchungen nicht ersetzen können.

Während in-vitro Freisetzungsuntersuchungen oft verwendet werden um Einflussfaktoren der Freisetzung zu isolieren und Formulierungskandidaten für Permeationsuntersuchungen herauszufiltern, werden in-vitro Permeationsuntersuchungen mit infiniter Dosierung verwendet um Einflussfaktoren der Permeation zu untersuchen (Franz, et al. 1993) und Kandidaten für Untersuchungen mit finiter Dosierung oder in-vivo Untersuchungen zu isolieren. Hierbei ist zu beachten, dass in Untersuchungen mit infiniter Dosierung aufgrund der großen aufgebrauchten Menge die Auswirkungen von Formulierungsparametern zum Teil überbewertet werden und in Untersuchungen mit finiter Dosierung oder in-vivo nicht relevant sind (Klang, et

al. 2012). Generell gilt hierbei zwar, dass die Permeationsgeschwindigkeit mit sinkender Applikationsmenge abnimmt, der Faktor, um welchen die Permeationsrate abnimmt kann allerdings von Formulierung zu Formulierung variieren. Dies veranschaulichen die Untersuchungen an Hydrophiler Nonivamid Creme 0,05 % und dem optimierten Emulsionsfilm. Sie werden sowohl unter infiniter, als auch unter finiter Dosierung untersucht. Dabei wird in Untersuchungen mit finiter Dosierung nur etwa 6 % der Masse der Zubereitung aufgetragen, die in Untersuchungen mit infiniter Dosierung aufgetragen wird. Die Ergebnisse der jeweiligen Zubereitung bei Untersuchungen mit infiniter und finiter Dosierung sind in Abbildung 5-5 und Abbildung 5-6 dargestellt.

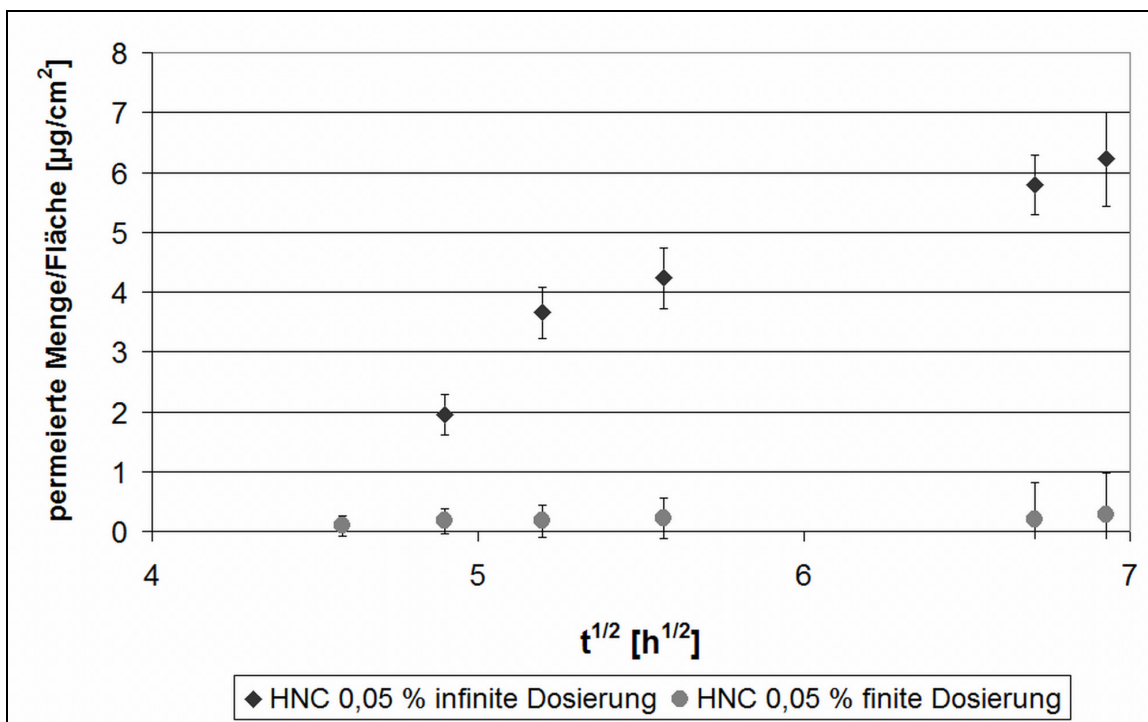


Abbildung 5-5: Permeation von NVA aus HNC 0,05 % bei infiniter und finiter Dosierung; n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

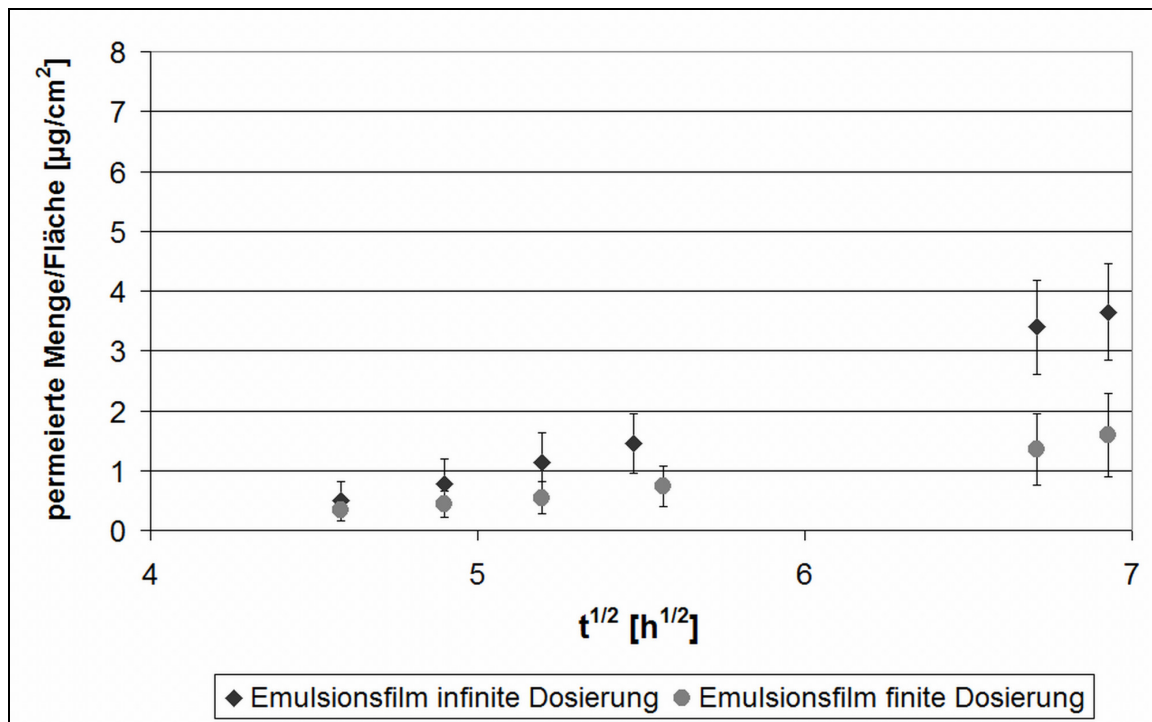


Abbildung 5-6: Permeation von NVA aus einem Emulsionsfilm bei infiniter und finiter Dosierung; n=5; Fehlerbalken: Standardabweichung

Die Ergebnisse der Untersuchungen von HNC 0,05 % und dem optimierten Emulsionsfilm sind durchaus unterschiedlich. Im Falle der HNC 0,05 % nimmt der Permeationskoeffizient auf etwa ein Siebtel ab, die maximal permeierte Menge Nonivamid wird von  $6,2 \pm 1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  auf  $0,3 \pm 0,1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  reduziert. Der Permeationskoeffizient von Nonivamid aus den Emulsionsfilmen nimmt aufgrund der finiten Dosierung hingegen nur um zwei Drittel ab, die insgesamt permeierte Menge des Arzneistoffs beträgt nach 48 Stunden statt  $3,7 \pm 0,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  nur  $1,6 \pm 0,7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Zur Erklärung der unterschiedlichen Ausprägung des Effekts von finiter und infiniter Dosierung bei HNC 0,05 % und Emulsionsfilmen sei angeführt, dass Untersuchungen mit infiniter Dosierung und HNC 0,05 % unter Okklusionsbedingungen durchgeführt werden, während Untersuchungen mit finiter Dosierung nicht unter Okklusion stattfinden. Im Falle der Emulsionsfilme wird weder bei infiniter Dosierung noch bei finiter Dosierung unter Okklusion gearbeitet, da dies die Filmbildung beeinträchtigen würde. Somit ist der verstärkte Einfluss der reduzierten Auftragsmenge bei Untersuchungen von HNC 0,05 % sicherlich zum Teil auf die Veränderung der Zubereitung auf der Haut zurückzuführen, die in den Untersuchungen mit finiter Dosierung aufgrund der nicht okkludierenden Bedingungen auftritt.

Systematische Untersuchungen zum Einfluss der Applikationsmenge auf die Permeationsrate wurden von Klang et al. (2012) durchgeführt. Sie konnten zeigen, dass durch die Verringerung der Auftragsmenge um eine Zehnerpotenz auch die Permeationsrate von Fludrocortisonacetat aus Nanoemulsionen um eine Zehnerpotenz verringert wird. Nach diesen Ergebnissen wäre durch die Verringerung der Auftragsmenge von HNC 0,05 % und dem optimierten Emulsionsfilm auf 6 % auch eine Abnahme des Permeationskoeffizienten auf 6 % des infinite-Dosierungs-Werts zu erwarten gewesen. Dies konnte in den Untersuchungen dieser Arbeit nicht gezeigt werden. Die unterschiedlichen Ergebnisse von Untersuchungen an HNC 0,05 % und Emulsionsfilmen im Vergleich zu den von Klang et al. untersuchten Nanoemulsionen veranschaulichen, dass Ergebnisse von Permeationsuntersuchungen nicht ohne weiteres von einer Formulierung auf eine andere übertragbar sind. Die Auftragsmenge hat demnach bei unterschiedlichen Formulierungen auch einen unterschiedlichen Einfluss auf die Permeationsrate. Es gibt somit keinen allgemeingültigen Faktor, welcher die Vorhersage der Permeationsrate unter finiten Bedingungen aufgrund von Untersuchungen mit infiniten Dosierung möglich macht. Dieser Faktor muss für jede Formulierung gesondert bestimmt werden.

Dieser Grundsatz gilt auch für die Untersuchung des Einflusses von Hilfsstoffen auf die Arzneistoffpermeation und kann am Beispiel von Polysorbat 80 (PS 80) erläutert werden. Während z. B. Cappel und Kreuter (1991) zeigten, dass steigende PS 80-Konzentrationen die Permeationskoeffizienten von [<sup>14</sup>C]-Octanol durch murine Haut reduzieren, zeigten Melero et al. (2008) hingegen einen positiven Einfluss von PS 80 auf die Permeationsraten von Nortriptylin-HCl aus Polyvinylalkoholpflastern über isolierte humane Epidermis. In der vorliegenden Arbeit jedoch konnte wiederum eine Verlangsamung der Arzneistoffpermeation durch PS 80 nachgewiesen werden.

Zur Interpretation dieser Ergebnisse müssen verschiedene Aspekte berücksichtigt werden. Zum einen die Löslichkeit des Arzneistoffs in der Formulierung, zum anderen die Diffusionsgeschwindigkeit des Arzneistoffs in der Haut sowie Effekte des vermeintlichen Permeationsverbessers auf Löslichkeit und Diffusionsgeschwindigkeit des Arzneistoff in der Haut. Den Zusammenhang zwischen Löslichkeit des Arzneistoffs in Vehikel und Membran, seiner Diffusionsgeschwindigkeit in Vehikel und Membran und der Permeationsrate stellt Gleichung 5-1 her (Bach und Lippold 1998).

$$J = \frac{D_B C_{sB} c_V}{d_B c_{sV}}$$

Gleichung 5-1

J = Permeationsrate

$D_B$  = Diffusionskoeffizient des Arzneistoffs im Stratum corneum

$c_{sB}$  = Sättigungslöslichkeit des Arzneistoffs im Stratum corneum

$d_B$  = Dicke des Stratum corneum

$c_V$  = Konzentration des gelösten Arzneistoffs im Vehikel

$c_{sV}$  = Sättigungskonzentration des Arzneistoffs im Vehikel

Anhand dieses Zusammenhangs kann abgeleitet werden, dass die Permeationsrate mit zunehmender Löslichkeit des Arzneistoffs im Vehikel abnehmen muss, während sie mit zunehmender Löslichkeit und zunehmender Diffusionsgeschwindigkeit im Stratum corneum zunehmen muss.

Das von Cappel und Kreuter verwendete [ $^{14}\text{C}$ ]-Octanol wurde in wässriger Kochsalzlösung aufgebracht. Es ist anzunehmen dass seine Löslichkeit mit zunehmender PS 80-Konzentration anstieg, weswegen die treibende Kraft hinter der Permeation reduziert wurde und es zu einer Verringerung der Permeationsraten kam. Dahingegen untersuchten Melero et al. die Permeation von Nortriptylin-HCl aus Polyvinylalkoholpflastern, die PS 80 enthielten. Sie postulieren eine Lösung der Lipide des Stratum corneum durch das PS 80 und eine damit einhergehende Beschleunigung der Permeation. Andere Gruppen konnten für die Arzneistoffe Lorazepam und Diazepam zeigen, dass die höchste Permeationsgeschwindigkeit in gesättigten Lösungen der Arzneistoffe mit 1 % PS 80 erzielt werden konnte. Sie argumentieren, dass bei einer geringen PS 80-Konzentration der permeationsbeschleunigende Effekt durch das Herauslösen der Lipide überwiegt, während bei höheren PS 80-Konzentrationen die Erhöhung der Löslichkeit im Vehikel zur Verringerung der Permeationsgeschwindigkeit führt (Nokhodchi, et al. 2003; Shokri, et al. 2001).

Auch in der vorliegenden Arbeit führt die alleinige Verwendung von PS 80 in Emulsionsfilmen zu einer Verlangsamung der Arzneistoffpermeation (Abbildung 5-4). Permeationsrate und Permeationskoeffizient sind bei vergleichsweise hoher Standardabweichung gering. Auch hier könnte der Effekt auf eine erhöhte Löslichkeit von Nonivamid in Emulsionsfilmen mit PS 80 zurückzuführen sein.

Für ein und denselben Hilfsstoff können also an unterschiedlichen Systemen unterschiedliche Ergebnisse gewonnen werden. Es ist daher von immenser Wichtigkeit, Einflüsse von möglichen permeationsbeeinflussenden Stoffen unter Verwendung der

jeweils vorliegenden Zubereitung zu untersuchen, da anhand andersartiger Zubereitungen erarbeitete Daten unter Umständen divergieren können.

Dermal applizierte Substanzen können sowohl zur lokalen, als auch zur systemischen Therapie dienen. Lokale Zielstrukturen können sich wiederum in der Haut selbst oder aber in darunter liegenden Gewebe befinden. Soll der angewendete Arzneistoff in der Haut seine Funktion entfalten, so ist es sinnvoll die Lokalisation der jeweiligen Zielstruktur in der Haut zu kennen. Dann können mit Hilfe von in-vitro Penetrationsuntersuchungen die Wirkstoffspiegel im Zielgewebe bestimmt werden. Es kann somit abgeschätzt werden, ob mit der untersuchten Formulierung die gewünschte Wirkung erzielt werden kann (Hahn, et al. 2010). Die Zielstrukturen des in dieser Arbeit verwendeten Nonivamids stellen die freien Nervenendigungen von A $\delta$ - und C-Fasern dar, die beim Gesunden vor allem in der Dermis und der unteren Epidermis zu finden sind, bei vielen mit Juckreiz assoziierten Erkrankungen allerdings bis in die obere Epidermis hineinreichen (Ikoma 2010). Es ist also von Interesse die Wirkstoffkonzentration in der Epidermis zu optimieren. Die Wirkstoffspiegel, die notwendig sind, um dem einzelnen Patienten eine Linderung zu verschaffen sind dabei sehr unterschiedlich und wurden bisher nicht bestimmt. Es ist aber bekannt, dass mit der Hydrophilen Capsaicinoid Creme 0,025 %/0,05 %/0,1 % NRF 11.125 ein Behandlungserfolg in der Therapie des chronischen Juckreizes erzielt werden kann. Die mit dieser Zubereitung erzielten Wirkstoffkonzentrationen können daher als Zielparameter für neuartige Formulierungen herangezogen werden. In der vorliegenden Arbeit werden daher die NVA-Konzentrationen in den unterschiedlichen Hautschichten bestimmt, die mit HNC 0,05 % oder mit einem Emulsionsfilm erreicht werden. Im Falle der HNC 0,05 % stellt sich nach 4 h die maximale NVA-Konzentration ein, nach 12 h hat die Konzentration in allen Hautschichten bereits wieder abgenommen. Die Einstellung eines Maximums nach 4 Stunden war aufgrund von Anwendungsbeobachtungen mit Hydrophiler Capsaicinoid Creme NRF 11.125 zu erwarten gewesen. Hydrophile Capsaicinoid Creme NRF 11.125 muss 4-mal täglich aufgetragen werden um den gewünschten schmerz- oder juckreizstillenden Effekt zu erzielen, was auf eine Wirkdauer von 4 bis 6 Stunden hindeutet. Die nozizeptiven Neurone, welche die Zielorgane der Capsaicinoide darstellen, befinden sich in der Epidermis. Wenn also der NVA-Gehalt in der Epidermis nach 4 bis 6 Stunden abnimmt, so führt das zu einer Wirkungsminderung, die eine erneute Applikation der Creme notwendig macht.



Die Ergebnisse der Penetrationsuntersuchungen mit dem optimierten Emulsionsfilm zeigen, dass die mit dieser Formulierung erzielte NVA-Konzentration in der Epidermis in einem ähnlichen Bereich liegt, wie die mit HNC 0,05 % erreichte. Die Emulsionsfilme erhalten im Gegensatz zu HNC 0,05 % die benötigte NVA-Konzentration über einen Zeitraum von 12 Stunden aufrecht. Diese beiden Ergebnisse sind klare Indizien dafür, dass eine Therapie mit filmbildenden Emulsionen erfolgreich sein kann. Der große Vorteil der filmbildenden Emulsionen besteht dabei darin, dass aufgrund der verlängerten Abgabe des Arzneistoffs an die Haut das Applikationsintervall reduziert, die Therapietreue verbessert und der Therapieerfolg gesichert werden kann.

Die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse machen deutlich, dass stabile Emulsionssysteme formulierbar sind, welche auf der Haut einen Film ausbilden, in dem der disperse Charakter der Emulsionen erhalten bleibt und aus denen ein in die Ölphase eingebrachter Arzneistoff über einen längeren Zeitraum abgegeben werden kann. Die Emulsionsfilme besitzen die benötigte Substantivität, um den Arzneistoff über den gewünschten Zeitraum am Applikationsort zur Verfügung zu stellen und mit ihnen können wirksame Arzneistoffkonzentrationen über einen Zeitraum von 12 Stunden realisiert werden. Diese Arbeit kann daher als Grundlage für in-vivo Untersuchungen zur Bestimmung der Arzneistoffabsorption und zur Evaluation der Wirksamkeit von Emulsionsfilmen an Patienten mit chronischem Juckreiz dienen. Zudem ergeben sich vielfältige Einsatzmöglichkeiten der filmbildenden Emulsionen, da mit ihnen für eine Vielzahl von lipidlöslichen Arzneistoffen ein individuell anpassbares Formulierungskonzept zu Verfügung steht, welches eine retardierte dermale Therapie unterschiedlicher Erkrankungen ermöglichen kann.

## 5 Zusammenfassung

Es wurden filmbildende Emulsionen entwickelt, welche eine retardierte dermale Wirkstoffabgabe ermöglichen. Hierzu wurden zunächst wasserlösliche und Dispersionen nicht wasserlöslicher Polymere auf ihre Eignung zur Verwendung in den Emulsionen untersucht. Mit den vielversprechendsten Kandidaten wurden Emulsionen und Emulsionsfilme hergestellt und in Abhängigkeit von der Zusammensetzung charakterisiert. Der Einfluss von Formulierungsvariablen auf in-vitro Freisetzung und in-vitro Permeation des Modellarzneistoffs Nonivamid (NVA) wurde systematisch untersucht. Die Zubereitung mit den vorteilhaftesten Eigenschaften wurde anschließend in in-vitro Permeationsuntersuchungen mit finiter Dosierung, sowie in in-vitro Penetrationsuntersuchungen mit einer konventionellen halbfesten Zubereitung, der Hydrophilen Nonivamid Creme (HNC) verglichen.

Von den untersuchten Retardpolymerdispersionen (Aquacoat EC30D, Eudragit NE, RL und RS 30D, Surelease 19040 und 19050) eignen sich nur die Dispersionen von Eudragit NE und RS zur Verwendung in filmbildenden Emulsionen. Die Ethylcellulosedispersionen Aquacoat EC30D und Surelease nehmen die Ölphase der Emulsionen verwendeten MCT als Weichmacher komplett in den Film mit auf, wodurch im Film keine Öltröpfchen mehr vorliegen. Eudragit RL 30D bildet bei Zusatz von 30 % TEC ((m/m) LTS) eine hochviskose Struktur von gelartiger Konsistenz und ist daher zur Verarbeitung in Emulsionen ungeeignet.

Als wasserlösliche Polymere wurden Hypromellose (HPMC), verschiedene Polyvinylalkohole (PVOH) und Polyvinylpyrrolidon (PVP) untersucht. Mit HPMC ist die Herstellung feindisperser Emulsionen möglich. PVOH eignet sich ebenso gut zur Emulsionsherstellung. Die erzielten Tröpfchengrößen lagen unter denen der HPMC-stabilisierten Emulsionen. Die mit HPMC oder PVOH X-88 gebildeten Emulsionen waren bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 56 Tagen stabil. PVP eignet sich nicht zur Verwendung als Polymeremulgator, da die mit PVP hergestellten Emulsionen sehr große Tröpfchen aufwiesen und innerhalb kurzer Zeit koaleszierten.

Kompatibilitätsprüfungen mit wasserlöslichen Polymeren und Retardpolymerdispersionen zeigten, dass nur PVOH mit einem Hydrolysegrad von 88 % mit den beiden Eudragitdispersionen kompatibel ist. HPMC, PVP und PVOH 10-99 hingegen nicht.

Mit PVOH X-88-Typen wurden anschließend Emulsionen hergestellt und die Kompatibilität mit den Eudragitdispersionen sowie der Einfluss des Nonivamids auf die

Emulsionseigenschaften untersucht. Emulsionen mit PVOH 8-88 zeigten eine geringere Tropfengröße als Emulsionen mit PVOH 40-88. Der Zusatz von Eudragitdispersionen zu Emulsionen mit PVOH 8-88 hatte keinen Einfluss auf die Tropfengrößen der Emulsionen. Ebenso geben ramanmikroskopische Untersuchungen keine Hinweise auf Inkompatibilitätserscheinungen zwischen den Polymeren in der filmbildenden Emulsion mit PVOH 8-88. Bei Emulsionen mit PVOH 40-88 und Eudragit NE 30D bildeten sich bereits nach der Herstellung erste Agglomerate, die nach 7 Tagen überall in der Zubereitung zu finden waren.

Aus den filmbildenden Emulsionen wurden freie Filme hergestellt und hinsichtlich ihrer mechanischen Eigenschaften und ihrer Wasserfestigkeit untersucht. Dehnungsmessungen zeigten eine klare Abhängigkeit der Dehnbarkeit vom Eudragit NE-Anteil. Filme mit einem Eudragit NE-Anteil  $< 40$  T ließen sich besser dehnen als Filme ohne Eudragit NE. Filme, die die Weichmachermischung aus TEC und PS 80 enthielten, zeigten im Vergleich zu Filmen, die nur einen der beiden Weichmacher enthielten, deutlich verbesserte Dehnungseigenschaften.

Adhäsionsmessungen zeigten, dass die untersuchten Filme besser an Polycarbonat haften als an Glas. Die Adhäsion an Glas und Polycarbonat von Filmen mit einer Mischung beider Retardpolymere ist unabhängig von deren Mischungsverhältnis. Interessanterweise hafteten Filme, die als Weichmacher nur PS 80 enthielten besser an Polycarbonat als Filme, die nur TEC oder die Mischung von TEC und PS 80 enthielten. Die Wasserfestigkeit der Filme nahm mit steigender Eudragit NE-Konzentration ab.

Ramanmikroskopische Aufnahmen belegen, dass der disperse Charakter der Emulsionen auch im Film erhalten bleibt. Allerdings entmischten sich die in den Emulsionen homogen verteilten Polymere während der Trocknung der Filme. Dieser Effekt war besonders stark bei Filmen zu beobachten, die beide Retardpolymere enthielten, da diese Polymere per se nicht miteinander kompatibel sind. Besondere Wechselwirkungen mit der Haut konnten mit Hilfe der Ramanmikroskopie nicht visualisiert werden.

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigten kleine kugelförmige Strukturen auf der Oberfläche von Filmen, die nur einen der beiden Weichmacher enthielten. Auf Filmen mit der Weichmachermischung waren sehr wenige Tröpfchen zu beobachten. Dies deutet auf eine Interaktion der Weichmacher miteinander hin, die dazu führt, dass in Filmen mit der Weichmachermischung nach der Trocknung mehr Weichmacher im Film verbleibt.

In in-vitro Freisetzungsuntersuchungen wurde die Freisetzung von NVA aus Emulsionsfilmen mit der NVA-Freisetzung aus Hydrophiler Nonivamid Creme verglichen. Außerdem wurde die Zusammensetzung der Emulsionsfilme systematisch variiert um Einflussgrößen zu identifizieren. Beim Vergleich der NVA-Freisetzung aus Emulsionsfilmen und HNC zeigte sich, dass die Freisetzung von NVA aus dem Emulsionsfilm zwar erst später beginnt als aus HNC, dass die Freisetzung dann aber über einen längeren Zeitraum mit konstanter Geschwindigkeit erfolgt.

Die Variation der Zusammensetzung der Emulsionsfilme zeigte, dass eine Modifikation im Bereich der Polymerzusammensetzung keinen Einfluss auf die Freisetzungsrates hat. Eine Veränderung der Weichmacherzusammensetzung hingegen schon. Wurde nur TEC als Weichmacher eingesetzt, so war die Freisetzungsgeschwindigkeit deutlich erniedrigt. Auch eine erhöhte TEC-Menge in der Zubereitung konnte dies nicht ausgleichen. Wurde PS 80 alleine verwendet, so unterschied sich die Freisetzungsrates nicht von der der Standardzubereitung, welche die Weichmachermischung enthielt. In der Mischung ist also PS 80 ausschlaggebend für die Freisetzungsgeschwindigkeit.

Auf die lag-Phase haben sowohl die Eudragitzzusammensetzung als auch Weichmacher und Polyvinylalkohol einen Einfluss. Eine Erhöhung des Eudragit NE-Anteils führte zu einer Verringerung der lag-Phase, allerdings ist dieser Effekt erst ab einem Eudragit-Anteil von 40 T signifikant. Sowohl der Austausch von PVOH 8-88 durch das kürzerkettige PVOH 4-88 als auch die Verringerung der Gesamtmenge PVOH 8-88 von 10 % auf 5 % (m/m) führte zu einer leichten Verringerung der lag-Phase. Den größten Einfluss auf die lag-Phase hatten allerdings die Weichmacher. Die Verwendung von PS 80 führte zu einer signifikanten Verringerung der lag-Phase, während bei alleiniger Verwendung von TEC die lag-Phase verlängert war.

In-vitro Permeationsuntersuchungen wurden durchgeführt, um die NVA-Permeation aus Emulsionsfilmen mit der aus HNC zu vergleichen und um den Einfluss von Weichmacher- und Eudragitzzusammensetzung auf die Permeation zu untersuchen. Es zeigte sich, dass Permeationsrate und Permeationskoeffizient der optimierten Emulsionsfilme und HNC 0,05 % im gleichen Bereich lagen. Die Eudragitzzusammensetzung zeigte keinen signifikanten Einfluss auf die Permeationsgeschwindigkeit. Eine Abhängigkeit der Permeationsrate von der Weichmacherzusammensetzung konnte hingegen nachgewiesen werden. Die Verwendung von PS 80 allein führte zu einer stark schwankenden Permeation von NVA. Auch der Einsatz von TEC allein führte zu einer verringerten Permeation, allerdings war der Effekt in diesem Fall weniger stark ausgeprägt.

Mit dem optimierten Emulsionsfilm, der sowohl die Weichmacher- als auch die Eudragitmischung enthielt und HNC 0,05 % wurde in-vitro Permeationsuntersuchungen mit finiter Dosierung durchgeführt. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Untersuchungen mit infiniten Dosierung lag bei finiter Dosierung die aus der filmbildenden Emulsion permeierte Menge NVA zu allen Zeitpunkten über der permeierten Menge aus HNC 0,05 %. Die permeierte Menge NVA nahm beim Emulsionsfilm über den gesamten Untersuchungszeitraum zu, während bei der HNC nur zwischen Stunde 24 und 27 eine ähnliche Zunahme zu erkennen war. Aus dem Emulsionsfilm waren nach 48 h erst  $8,0 \pm 3,5$  % des enthaltenen NVA ins Rezeptormedium übergegangen, während es bei HNC 0,05 % bereits  $27,3 \pm 10,4$  % waren. Es war somit im Emulsionsfilm noch ausreichend NVA vorhanden, um einen Konzentrationsgradienten und damit einen konstanten Flux aufrecht zu erhalten.

Ein Vergleich der Penetration von NVA aus dem Emulsionsfilm und HNC 0,05 % zeigte, dass aus HNC 0,05 % nach einer Stunde nur wenig NVA in die Haut penetriert war. Nach 4 h wurde die höchste penetrierte Menge nachgewiesen, während die NVA-Konzentration in der Haut nach 12 h wieder abgenommen hatte. Der Emulsionsfilm hingegen gab NVA über den Zeitraum von 12 h an die Haut ab, die NVA-Menge im Stratum corneum nahm stetig zu.

Die Substantivitätsprüfung zeigte, dass der optimierte Emulsionsfilm die freigegebenen Menge NVA im Vergleich zu HNC 0,05 % um das 10fache verringerte. Die Emulsionsfilme können also ein Abwaschen des Arzneistoffs von der Haut wirksam verhindern.

## 6 Anhang

### 6.1 Kalibrierungsdaten

#### 6.1.1 Coffein

Tabelle 6.1-1: Daten der Kalibrierung für Coffein

Konzentrationsbereich	7-30 µg/ml
verwendet für	Wasserfestigkeitsprüfung
Steigung	0,0270 mL/µg
Achsenabschnitt	0,0594
Korrelationskoeffizient	0,99566
Bestimmtheitsmaß	0,99134
Bestimmungsgrenze	2,94 µg/mL
Nachweisgrenze	0,90 µg/mL

#### 6.1.2 Diethylbutamidotriazon

Tabelle 6.1-2: Daten der Kalibrierung für DEBT

Konzentrationsbereich	0,8-3,2 µg/mL
verwendet für	Wasserfestigkeitsprüfung
Steigung	0,0675 mL/µg
Achsenabschnitt	0,0349
Korrelationskoeffizient	0,99851
Bestimmtheitsmaß	0,99702
Bestimmungsgrenze	0,19 µg/mL
Nachweisgrenze	0,06 µg/mL

### 6.1.3 Nonivamid

Tabelle 6.1-3: Daten der Kalibrierung für Nonivamid 0,025-1 µg/mL (Peakhöhe)

Konzentrationsbereich	0,025-1	µg/mL
Einspritzvolumen	200	µl
Methode	s. 2.2.14.2	Permeationsmethode
verwendet für	Penetration HNC 0,05 % und Emulsionsfilm Substantivität HNC 0,05 %	
Steigung	1240,61	HE/µg/mL
Achsenabschnitt	-1,17	HE
Korrelationskoeffizient	0,99843	
Bestimmtheitsmaß	0,99686	
Bestimmungsgrenze	0,078	µg/mL
Nachweisgrenze	0	µg/mL

Tabelle 6.1-4: Daten der Kalibrierung für Nonivamid 0,1-1 µg/mL (Peakhöhe)

Konzentrationsbereich	0,1-1	µg/mL
Einspritzvolumen	200	µl
Methode	s. 2.2.14.2	Permeationsmethode
verwendet für	Permeation finite dose HNC 0,05 % und Emulsionsfilm; Permeation infinite dose HNC 0,1 %, HNC 0,05 %, HNC 0,025 % und Emulsionsfilme; Substantivität Emulsionsfilm	
Steigung	8694,64	HE/µg/mL
Achsenabschnitt	150,28	HE
Korrelationskoeffizient	0,99943	
Bestimmtheitsmaß	0,99887	
Bestimmungsgrenze	0,055	µg/mL
Nachweisgrenze	0	µg/mL

Tabelle 6.1-5: Daten der Kalibrierung für Nonivamid 1-10 µg/mL (Peakhöhe)

Konzentrationsbereich	1-10	µg/mL
Einspritzvolumen	200	µl
Methode	s. 2.2.14.2	Permeationsmethode
verwendet für	Permeation infinite dose HNC 1 %, HNC 0,1 %, HNC 0,05 %, HNC 0,025 % und Emulsionsfilme	
Steigung	8619,77	HE/µg/mL
Achsenabschnitt	158,65	HE
Korrelationskoeffizient	0,99990	
Bestimmtheitsmaß	0,99981	
Bestimmungsgrenze	0,225	µg/mL
Nachweisgrenze	0	µg/mL

Tabelle 6.1-6: Daten der Kalibrierung für Nonivamid 10-100 µg/mL (Peakfläche)

Konzentrationsbereich	10-100	µg/mL
Einspritzvolumen	20	µl
Methode verwendet für	s. 2.2.14.2	Freisetzungsmethode Freisetzungsuntersuchungen
Steigung	23893,45	Sättigungslöslichkeiten FE/µg/mL
Achsenabschnitt	3973,07	FE
Korrelationskoeffizient	0,99995	
Bestimmtheitsmaß	0,99991	
Bestimmungsgrenze	3,5	µg/mL
Nachweisgrenze	0	µg/mL



## 6.2 Ergebnisse der Wasserfestigkeitsprüfung

Tabelle 6.2-1: freigesetzte Anteile DEBT und Coffein nach 80 min in demin. Wasser

	NE/RS 0/100	NE/RS 25/75	NE/RS 50/50	NE/RS 75/25	NE/RS 100/0
freigesetztes DEBT [%]	2,39	4,97	6,02	7,27	11,63
Standardabweichung	0,13	0,34	0,37	0,16	0,90
freigesetztes Coffein [%]	84,54	94,13	91,79	97,93	95,05
Standardabweichung	3,16	6,13	0,70	3,96	2,07

## 6.3 Statistische Auswertung

### 6.3.1 Viskosität

Tabelle 6.3-1: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse (Viskosität)

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
HPMC	3	278,8	93,0	0,00		
PVP	3	164,6	54,9	0,13		
PVOH10-99	3	235,5	78,5	0,02		
PVOH40-88	3	17,8	5,9	0,32		
PVOH8-88	3	112,1	37,4	0,67		
PVOH4-88	3	31,0	10,3	0,00		
ANOVA						
Streuungs- ursache	Quadrat- summen (SS)	Freiheits- grade (df)	Mittlere Quadratsu- mme (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschied zw. Gruppen	18860	5	3772	19973	4E-23	3,1
Innerhalb Gruppen	2,2	12	0,2			
Gesamt	18862	17				

Tabelle 6.3-2: Student Newman Keuls Test (Viskosität)

	HPMC	PVOH 10-99	PVP	PVOH 8-88	PVOH 4-88	PVOH 40-88
Mittelwerte geordnet	92,9	78,5	54,9	37,4	10,3	5,9
Differenzen mit kleinstem Wert	87,0	72,5	48,9	31,4	4,4	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	82,6	68,2	44,6	27,1		
Differenzen mit 3.kleinstem Wert	55,6	41,1	17,5			
Differenzen mit 4.kleinstem Wert	38,1	23,6				
Differenzen mit 5.kleinstem Wert	14,4					
Anzahl Ergebnisse	18					
Gruppen	6					
Wiederholungen	3					
Freiheitsgrade	12					
tabellierter Wert	4,75	4,51	4,20	3,77	3,081	
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat des Versuchsfehlers (innerhalb der Gruppen)	0,19					
D (kleinster)	1,19	1,13	1,05	0,95	0,77	
Unterschied?	ja	ja	ja	ja	ja	
D (2.kleinster)	1,13	1,05	0,95	0,77		
Unterschied?	ja	ja	ja	ja		
D (3.kleinster)	1,05	0,95	0,77			
Unterschied?	ja	ja	ja			
D (4.kleinster)	0,95	0,77				
Unterschied?	ja	ja				
D (5.kleinster)	0,77					
Unterschied?	ja					

### 6.3.2 Grenzflächenspannungen

Tabelle 6.3-3: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse (Einfluss verschiedener Polymeremulgatoren auf die Grenzflächenspannung im Wasser-MCT-System)

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
Wasser-MCT	4	130,1	32,5	0,61		
HPMC-MCT	4	47,6	11,9	0,08		
PVP-MCT	4	71,2	17,8	0,10		
PVOH 10-99-MCT	4	70,9	17,7	0,20		
PVOH 40-88-MCT	4	50,3	12,6	0,38		
PVOH 8-88-MCT	4	35,4	8,8	0,01		
PVOH 4-88-MCT	4	27,7	6,9	0,14		
ANOVA						
Streuungsursache	Quadratsummen (SS)	Freiheitsgrade (df)	Mittlere Quadratsumme (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	1758	6	293,0	1344	5E-26	2,6
Innerhalb der Gruppen	4,6	21	0,22			
Gesamt	1763	27				

Tabelle 6.3-4: Student Newman Keuls Test (Einfluss verschiedener Polymeremulgatoren auf die Grenzflächenspannung im Wasser-MCT-System)

	H <sub>2</sub> O-MCT	PVP-MCT	PVOH 10-99-MCT	PVOH 40-88-MCT	HPMC-MCT	PVOH 8-88-MCT	PVOH 4-88-MCT
Mittelwerte geordnet	32,5	17,8	17,7	12,6	11,9	8,8	6,9
Differenzen mit kleinstem Wert	25,6	10,9	10,8	5,7	5,0	1,9	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	23,7	9,0	8,9	3,7	3,1		
Differenzen mit 3.kleinstem Wert	20,6	5,9	5,8	0,7			
Differenzen mit 4.kleinstem Wert	20,0	5,2	5,2				
Differenzen mit 5.kleinstem Wert	14,8	0,1					
Differenzen mit 6.kleinstem Wert	14,7						
Anzahl Ergebnisse	21						
Gruppen	7						
Wiederholungen	3						
Freiheitsgrade	14						
Wert aus Tabelle	4,83	4,64	4,41	4,11	3,7	3,033	
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat d Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)	0,22						
D (kleinster)	1,30	1,25	1,18	1,11	1,00	0,82	
Unterschied?	ja	ja	ja	ja	ja	ja	
D (2.kleinster)	1,25	1,18	1,11	1,00	0,82		
Unterschied?	ja	ja	ja	ja	ja		
D (3.kleinster)	1,18	1,11	1,00	0,82			
Unterschied?	ja	ja	ja	nein			
D (4.kleinster)	1,11	1,00	0,82				
Unterschied?	ja	ja	ja				
D (5.kleinster)	1,00	0,82					
Unterschied?	ja	nein					
D (6.kleinster)	0,22						
Unterschied?	ja						

Tabelle 6.3-5: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse (Einfluss von NVA und PVOH 8-88 auf die Grenzflächenspannung im Wasser-MCT-System)

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
PVOH 8-88-MCT	3	26,5	8,8	0,01		
PVOH 8-88-MCT+NVA	3	14,2	4,7	0,04		
Wasser-MCT	3	97,6	32,5	0,92		
Wasser-NVA-Lösung	3	47,4	15,8	0,02		
ANOVA						
Streuungsursache	Quadratsummen (SS)	Freiheitsgrade (df)	Mittlere Quadratsumme (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	1350	3	450	1822	1E-11	4,1
Innerhalb der Gruppen	2,0	8	0,25			
Gesamt	1352	11				

Tabelle 6.3-6: Student Newman Keuls Test (Einfluss von NVA und PVOH 8-88 auf die Grenzflächenspannung im Wasser-MCT-System)

	Wasser-MCT	Wasser-NVA-Lösung	PVOH 8-88-MCT	PVOH 8-88-MCT+NVA
Mittelwerte geordnet	32,5	15,8	8,8	4,7
Differenzen mit kleinstem Wert	27,8	11,1	4,1	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	23,7	7,0		
Differenzen mit 3.kleinstem Wert	16,7			
Anzahl Ergebnisse	20			
Gruppen	4			
Wiederholungen	5			
Freiheitsgrade	16			
Wert aus Tabelle	4,05	3,65	2,998	
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat d Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)	0,25			
D (kleinster)	0,90	0,81	0,67	
Unterschied?	ja	ja	ja	
D (2.kleinster)	0,81	0,67		
Unterschied?	ja	ja		
D (3.kleinster)	0,67			
Unterschied?	ja			

### 6.3.3 nominelle Bruchdehnung

Tabelle 6.3-7: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse der nominellen Bruchdehnung von Filmen mit verschiedenen Weichmachern

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
7,5 % TEC	5	46,2	9,2	0,5		
8 % PS 80	5	47,1	9,4	0,5		
7,5 % TEC + 3 % PS 80	5	114,8	23,0	0,8		
ANOVA						
Streuungsursache	Quadratsummen (SS)	Freiheitsgrade (df)	Mittlere Quadratsumme (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	620,1	2	310,0	519,9	2E-12	3,9
Innerhalb der Gruppen	7,2	12	0,6			
Gesamt	627,2	14				

Tabelle 6.3-8: Student Newman Keuls Test der nominellen Bruchdehnung von Filmen mit verschiedenen Weichmachern

	7,5 % TEC + 3 % PS 80	8 % PS 80	7,5 % TEC
Mittelwerte geordnet	23,0	9,4	9,2
Differenzen mit kleinstem Wert	13,7	0,2	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	13,5		
Anzahl Ergebnisse	15		
Gruppen	3		
Wiederholungen	5		
Freiheitsgrade	12		
Wert aus Tabelle	3,77	3,081	
$S^2(in)$ mittleres Quadrat d	0,60		
Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)			
D (kleinster)	1,30	1,06	
Unterschied?	ja	nein	
D (2.kleinster)	1,06		
Unterschied?	ja		

Tabelle 6.3-9: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse der nominellen Bruchdehnung von Filmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
NE/RS 0/100	5	114,8	23,0	0,8		
NE/RS 25/75	5	126,7	25,3	11,5		
NE/RS 40/60	5	162,3	32,5	10,9		
NE/RS 50/50	5	259,2	64,8	20,0		
NE/RS 60/40	5	341,1	85,3	57,1		
NE/RS 100/0	5	567,3	113,5	92,8		
ANOVA						
Streuungsursache	Quadratsummen (SS)	Freiheitsgrade (df)	Mittlere Quadratsumme (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	33176	5	6635	210	9E-18	2,7
Innerhalb der Gruppen	696	22	32			
Gesamt	33871	27				

Tabelle 6.3-10: Student Newman Keuls Test der Adhäsion an Glas von Filmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung

	NE/RS 100/0	NE/RS 60/40	NE/RS 50/50	NE/RS 40/60	NE/RS 25/75	NE/RS 0/100
Mittelwerte geordnet	113,5	85,3	64,8	32,5	25,3	23,0
Differenzen mit kleinstem Wert	90,5	62,3	41,9	9,5	2,4	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	88,1	59,9	39,5	7,1		
Differenzen mit 3.kleinstem Wert	81,0	52,8	32,3			
Differenzen mit 4.kleinstem Wert	48,6	20,5				
Differenzen mit 5.kleinstem Wert	28,2					
Anzahl Ergebnisse	30					
Gruppen	6					
Wiederholungen	5					
Freiheitsgrade	24					
Wert aus Tabelle	4,37	4,17	3,9	3,53	2,919	
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat d Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)	31,6					
D (kleinster)	11,0	10,5	9,8	8,9	7,3	
Unterschied?	ja	ja	ja	ja	nein	
D (2.kleinster)	10,5	9,8	8,9	7,3		
Unterschied?	ja	ja	ja	nein		
D (3.kleinster)	9,8	8,9	7,3			
Unterschied?	ja	ja	ja			
D (4.kleinster)	8,9	7,3				
Unterschied?	ja	ja				
D (5.kleinster)	7,3					
Unterschied?	ja					

### 6.3.4 Adhäsion an Glas und Polycarbonat

Tabelle 6.3-11: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse der Adhäsion an Glas von Filmen mit verschiedenen Weichmachern

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
7,5 % TEC	4	8,9	2,2	0,1		
8 % PS 80	4	6,0	1,5	0,2		
7,5 % TEC + 3 % PS 80	4	4,7	1,2	0,5		
ANOVA						
Streuungsursache	Quadratsummen (SS)	Freiheitsgrade (df)	Mittlere Quadratsumme (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschied zwischen den Gruppen	2,3	2	1,1	4,4	0,045	4,3
Innerhalb der Gruppen	2,3	9	0,3			
Gesamt	4,6	11				

Tabelle 6.3-12: Student Newman Keuls Test der Adhäsion an Glas von Filmen mit verschiedenen Weichmachern

Weichmacher	7,5 % TEC	8 % PS 80	7,5 % TEC + 3 % PS 80
Mittelwerte geordnet	2,4	1,7	1,1
Differenzen mit kleinstem Wert	1,3	0,5	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	0,7		
Anzahl Ergebnisse	15		
Gruppen	3		
Wiederholungen	5		
Freiheitsgrade	12		
Wert aus Tabelle	3,77	3,081	
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat d Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)	0,27		
D (kleinster)	0,85	0,70	
Unterschied?	ja	nein	
D (2.kleinster)	0,70		
Unterschied?	ja		

Tabelle 6.3-13: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse der Adhäsion an Glas von Filmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
NE/RS 25/75	5	38,5	7,7	2,2		
NE/RS 40/60	5	39,1	7,8	7,6		
NE/RS 50/50	5	39,0	7,8	2,3		
NE/RS 60/40	5	35,0	7,0	3,6		
NE/RS 100/0	5	5,2	1,0	2,2		
ANOVA						
Streuungs- ursache	Quadrat- summen (SS)	Freiheits- grade (df)	Mittlere Quadratsumme (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F- Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	173	4	43	12,1	4E-05	2,9
Innerhalb der Gruppen	72	20	3,4			
Gesamt	245	24				

Tabelle 6.3-14: Student Newman Keuls Test der Adhäsion an Glas von Filmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung

	NE/RS 40/60	NE/RS 50/50	NE/RS 25/75	NE/RS 60/40	NE/RS 100/0
Mittelwerte geordnet	10,0	8,1	7,8	6,4	1,9
Differenzen mit kleinstem Wert	8,1	6,2	5,9	4,5	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	3,6	1,7	1,4		
Differenzen mit 3.kleinstem Wert	2,2	0,3			
Differenzen mit 4.kleinstem Wert	2,0				
Anzahl Ergebnisse	25				
Gruppen	5				
Wiederholungen	5				
Freiheitsgrade	20				
Wert aus Tabelle	4,23	3,96	3,58	2,95	
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat d Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)	3,58				
D (kleinster)	3,58	3,35	3,03	2,50	
Unterschied?	ja	ja	ja	ja	
D (2.kleinster)	3,35	3,03	2,50		
Unterschied?	ja	nein	nein		
D (3.kleinster)	3,03	2,50			
Unterschied?	nein	nein			
D (4.kleinster)	2,50				
Unterschied?	nein				



Tabelle 6.3-15: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse der Adhäsion an PC von Filmen mit verschiedenen Weichmachern

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
7,5 % TEC	5	45,6	9,1	1,6		
8 % PS 80	5	91,9	18,4	10,7		
7,5 % TEC 3 % PS 80	5	30,5	6,1	8,3		
ANOVA						
Streuung-sursache	Quadrat-summen (SS)	Freiheits-grade (df)	Mittlere Quadratsum-me (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	409	2	205	29,8	2E-05	3,9
Innerhalb der Gruppen	82	12	6,9			
Gesamt	492	14				

Tabelle 6.3-16: Student Newman Keuls Test der Adhäsion an PC von Filmen mit verschiedenen Weichmachern

Weichmacher	8 % PS 80	7,5 % TEC	7,5 % TEC + 3 % PS 80
Mittelwerte geordnet	18,4	9,1	6,1
Differenzen mit kleinstem Wert	12,3	3,0	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	9,3		
Anzahl Ergebnisse	15		
Gruppen	3		
Wiederholungen	5		
Freiheitsgrade	12		
Wert aus Tabelle	3,77	3,081	
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat d Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)	6,88		
D (kleinster)	4,42	3,61	
Unterschied?	ja	nein	
D (2.kleinster)	3,61		
Unterschied?	ja		

Tabelle 6.3-17: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse der Adhäsion an PC von Filmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
NE/RS 0/100	5	30,5	6,1	8,3		
NE/RS 25/75	5	102,7	20,5	14,1		
NE/RS 40/60	5	121,4	24,3	22,6		
NE/RS 50/50	5	104,4	20,9	22,8		
NE/RS 60/40	5	120,2	24,0	6,4		
ANOVA						
Streuungsursache	Quadratsummen (SS)	Freiheitsgrade (df)	Mittlere Quadratsumme (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	1128	4	282	19,0	1E-06	2,9
Innerhalb der Gruppen	297	20	14,8			
Gesamt	1425	24				

Tabelle 6.3-18: Student Newman Keuls Test der Adhäsion an PC von Filmen mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung

	NE/RS 40/60	NE/RS 60/40	NE/RS 50/50	NE/RS 25/75	NE/RS 0/100
Mittelwerte geordnet	26,2	23,6	22,3	20,6	5,6
Differenzen mit kleinstem Wert	20,6	18,1	16,7	15,1	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	5,6	3,0	1,6		
Differenzen mit 3.kleinstem Wert	3,9	1,3			
Differenzen mit 4.kleinstem Wert	2,6				
Anzahl Ergebnisse	25				
Gruppen	5				
Wiederholungen	5				
Freiheitsgrade	20				
Wert aus Tabelle	4,23	3,96	3,58	2,95	
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat d	14,85				
Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)					
D (kleinster)	7,30	6,82	6,17	5,08	
Unterschied?	ja	ja	ja	ja	
D (2.kleinster)	6,82	6,17	5,08		
Unterschied?	nein	nein	nein		
D (3.kleinster)	6,17	5,08			
Unterschied?	nein	nein			
D (4.kleinster)	5,08				
Unterschied?	nein				

### 6.3.5 Wasserfestigkeit

Tabelle 6.3-19: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse (Wasserfestigkeit)

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
NE/RS 0/100	3	7,2	2,4	0,02		
NE/RS 25/75	3	14,9	5,0	0,12		
NE/RS 50/50	3	18,1	6,0	0,14		
NE/RS 75/25	3	21,8	7,3	0,03		
NE/RS 100/0	3	34,9	11,6	0,81		
ANOVA						
Streuungsursache	Quadratsummen (SS)	Freiheitsgrade (df)	Mittlere Quadratsumme (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	139	4	34,7	157	6E-09	3,5
Innerhalb der Gruppen	2,2	10	0,2			
Gesamt	141	14				

Tabelle 6.3-20: Student Newman Keuls Test (Wasserfestigkeit)

	NE/RS 100/0	NE/RS 75/25	NE/RS 50/50	NE/RS 25/75	NE/RS 0/100
Mittelwerte geordnet	11,6	7,3	6,0	5,0	2,4
Differenzen mit kleinstem Wert	9,2	4,9	3,6	2,6	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	6,7	2,3	1,0		
Differenzen mit 3.kleinstem Wert	5,6	1,2			
Differenzen mit 4.kleinstem Wert	4,4				
Anzahl Ergebnisse Gruppen	15				
Wiederholungen	5				
Freiheitsgrade	3				
Wert aus Tabelle	10				
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat d Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)	4,65	4,33	3,88	3,151	
D (kleinster) Unterschied?	0,22				
D (2.kleinster) Unterschied?	1,26	1,18	1,05	0,86	
D (3.kleinster) Unterschied?	ja	ja	ja	ja	
D (4.kleinster) Unterschied?	1,18	1,05	0,86		
D (5.kleinster) Unterschied?	ja	ja	ja		
D (6.kleinster) Unterschied?	1,05	0,86			
D (7.kleinster) Unterschied?	ja	ja			
D (8.kleinster) Unterschied?	0,86				
D (9.kleinster) Unterschied?	ja				

### 6.3.6 Freisetzungsuntersuchungen

Tabelle 6.3-21: Äquivalenzprüfung der Freisetzungsraten in Anlehnung an SUPAC-SS (FDA Guidance for Industry, 2004)

Formulierung	Konfidenzintervall unten	Median der Quotienten	Konfidenzintervall oben	Äquivalenzgrenze unten	Äquivalenzgrenze oben
NE/RS 25/75	0,07	1,06	0,05	0,75	1,33
NE/RS 40/60	0,09	1,13	0,08	0,75	1,33
7,5 % TEC	0,04	0,65	0,06	0,75	1,33
10,5 % TEC	0,04	0,57	0,06	0,75	1,33
8 % PS 80	0,10	1,00	0,11	0,75	1,33
10 % PVOH 4-88	0,04	1,19	0,06	0,75	1,33
5 % PVOH 8-88	0,05	0,94	0,04	0,75	1,33

Tabelle 6.3-22: Äquivalenzprüfung der lag-Zeiten in Anlehnung an SUPAC-SS (FDA Guidance for Industry, 2004)

Formulierung	Konfidenzintervall unten	Median der Quotienten	Konfidenzintervall oben	Äquivalenzgrenze unten	Äquivalenzgrenze oben
NE/RS 25/75	0,24	0,84	0,12	0,75	1,33
NE/RS 40/60	0,18	0,71	0,06	0,75	1,33
7,5 % TEC	0,35	1,79	0,18	0,75	1,33
10,5 % TEC	0,05	1,07	0,04	0,75	1,33
8 % PS 80	0,02	0,04	0,02	0,75	1,33
10 % PVOH 4-88	0,04	0,75	0,10	0,75	1,33
5 % PVOH 8-88	0,05	0,77	0,04	0,75	1,33

Tabelle 6.3-23: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung; Freisetzungsrate

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
NE/RS 0/100	5	204,2	40,8	30,1		
NE/RS 25/75	5	214,9	43,0	9,0		
NE/RS 40/60	5	232,3	46,5	18,1		
ANOVA						
Streuungsursache	Quadratsummen (SS)	Freiheitsgrade (df)	Mittlere Quadratsumme (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	80	2	40,0	2,1	0,17	3,9
Innerhalb der Gruppen	229	12	19,1			
Gesamt	309	14				

Tabelle 6.3-24: Student Newman Keuls Test; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung; Freisetzungsrate

	NE/RS 40/60	NE/RS 25/75	NE/RS 0/100
Mittelwerte geordnet	46,5	43,0	40,8
Differenzen mit kleinstem Wert	5,60	2,1	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	3,5		
Anzahl Ergebnisse	15		
Gruppen	3		
Wiederholungen	5		
Freiheitsgrade	12		
Wert aus Tabelle	3,77	3,081	
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat d Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)	19,08		
D (kleinster)	7,37	6,02	
Unterschied?	nein	nein	
D (2.kleinster)	6,02		
Unterschied?	nein		

Tabelle 6.3-25: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung; lag-Phase

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
NE/RS 0/100	5	27,7	5,5	4,2		
NE/RS 25/75	5	15,1	3,0	1,1		
NE/RS 40/60	5	9,1	1,8	0,3		
ANOVA						
Streuungsursache	Quadratsummen (SS)	Freiheitsgrade (df)	Mittlere Quadratsumme (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	35,8	2	17,9	9,6	0,003	3,9
Innerhalb der Gruppen	22,4	12	1,9			
Gesamt	58,2	14				

Tabelle 6.3-26: Student Newman Keuls Test; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung; lag-Phase

	NE/RS 0/100	NE/RS 25/75	NE/RS 40/60
Mittelwerte geordnet	5,5	3,0	1,8
Differenzen mit kleinstem Wert	3,7	1,2	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	2,5		
Anzahl Ergebnisse	15		
Gruppen	3		
Wiederholungen	5		
Freiheitsgrade	12		
Wert aus Tabelle	3,77	3,081	
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat d Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)	1,86		
D (kleinster)	2,30	1,88	
Unterschied?	ja	nein	
D (2.kleinster)	1,88		
Unterschied?	ja		

Tabelle 6.3-27: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung; Freisetzungsrate

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
7,5 % TEC + 3 % PS 80	5	157,7	31,5	0,9		
7,5 % TEC	5	79,6	15,9	3,1		
8 % PS 80	5	161,0	32,2	6,2		
10,5 % TEC	5	69,1	13,8	52,8		
ANOVA						
Streuungsursache	Quadratsummen (SS)	Freiheitsgrade (df)	Mittlere Quadratsumme (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	1456	3	485	30,8	7E-07	3,2
Innerhalb der Gruppen	252	16	15,7			
Gesamt	1708	19				

Tabelle 6.3-28: Student Newman Keuls Test; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung; Freisetzungsrate

	7,5 % TEC + 3 PS 80	8 % PS 80	7,5 % TEC	10,5 % TEC
Mittelwerte geordnet	32,2	31,5	15,9	13,8
Differenzen mit kleinstem Wert	18,4	17,7	2,1	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	1,3	15,6		
Differenzen mit 3.kleinstem Wert	0,7			
Anzahl Ergebnisse	20			
Gruppen	4			
Wiederholungen	5			
Freiheitsgrade	16			
Wert aus Tabelle	4,05	3,65	2,998	
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat d Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)	15,74			
D (kleinster)	7,18	6,48	5,32	
Unterschied?	ja	ja	nein	
D (2.kleinster)	6,48	5,32		
Unterschied?	ja	ja		
D (3.kleinster)	5,32			
Unterschied?	nein			

Tabelle 6.3-29: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung; lag-Phase

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
7,5 % TEC + 3 % PS 80	5	20,3	4,1	3,6		
7,5 % TEC	5	13,8	2,8	0,5		
8 % PS 80	5	1,4	0,3	0,1		
10,5 % TEC	5	10,7	2,1	3,4		
ANOVA						
Streuungsursache	Quadratsummen (SS)	Freiheitsgrade (df)	Mittlere Quadratsumme (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	37,0	3	12,3	6,4	0,005	3,2
Innerhalb der Gruppen	30,7	16	1,9			
Gesamt	67,7	19				

Tabelle 6.3-30: Student Newman Keuls Test; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung; lag-Phase

	7,5 % TEC + 3% PS 80	7,5 % TEC	10,5 % TEC	8 % PS 80
Mittelwerte geordnet	4,1	2,8	2,1	0,3
Differenzen mit kleinstem Wert	3,8	2,5	1,9	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	1,9	0,6		
Differenzen mit 3.kleinstem Wert	1,3			
Anzahl Ergebnisse	20			
Gruppen	4			
Wiederholungen	5			
Freiheitsgrade	16			
Wert aus Tabelle	4,05	3,65	2,998	
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat d	1,92			
Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)				
D (kleinster)	2,51	2,26	1,86	
Unterschied?	ja	ja	nein	
D (2.kleinster)	2,26	1,86		
Unterschied?	nein	nein		
D (3.kleinster)	1,86			
Unterschied?	nein			



Tabelle 6.3-31: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher PVOH-Zusammensetzung; Freisetzungsrate

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
10% PVOH 4-88	5	209,1	41,8	18,2		
5 % PVOH 8-88	5	162,3	32,5	7,3		
10 % PVOH 8-88	5	172,4	34,5	5,1		
ANOVA						
Streuungsursache	Quadratsummen (SS)	Freiheitsgrade (df)	Mittlere Quadratsumme (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	242	2	121	11,9	0,001	3,9
Innerhalb der Gruppen	123	12	10,2			
Gesamt	365	14				

Tabelle 6.3-32: Student Newman Keuls Test; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher PVOH-Zusammensetzung; Freisetzungsrate

	10% PVOH 4-88	10 % PVOH 8-88	5 % PVOH 8-88
Mittelwerte geordnet	41,8	34,5	32,5
Differenzen mit kleinstem Wert	9,4	2,0	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	7,32		
Anzahl Ergebnisse	15		
Gruppen	3		
Wiederholungen	5		
Freiheitsgrade	12		
Wert aus Tabelle	3,77	3,081	
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat d Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)	10,21		
D (kleinster)	5,39	4,40	
Unterschied?	ja	nein	
D (2.kleinster)	4,40		
Unterschied?	ja		

Tabelle 6.3-33: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher PVOH-Zusammensetzung; lag-Phase

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
10% PVOH 4-88	5	21,0	4,2	0,2		
5 % PVOH 8-88	5	20,9	4,2	0,1		
10 % PVOH 8-88	5	27,7	5,5	0,3		
ANOVA						
Streuungsursache	Quadratsummen (SS)	Freiheitsgrade (df)	Mittlere Quadratsumme (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	6,0	2	3,0	13,3	0,001	3,9
Innerhalb der Gruppen	2,7	12	0,2			
Gesamt	8,7	14				

Tabelle 6.3-34: Student Newman Keuls Test; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher PVOH-Zusammensetzung; lag-Phase

	10 % PVOH 8-88	10% PVOH 4-88	5 % PVOH 8-88
Mittelwerte geordnet	5,5	4,2	4,2
Differenzen mit kleinstem Wert	1,34	0,0	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	1,34		
Anzahl Ergebnisse	15		
Gruppen	3		
Wiederholungen	5		
Freiheitsgrade	12		
Wert aus Tabelle	3,77	3,081	
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat d	0,27		
Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)			
D (kleinster)	0,80	0,67	
Unterschied?	ja	nein	
D (2.kleinster)	0,67		
Unterschied?	ja		

### 6.3.7 Permeationsuntersuchungen

Tabelle 6.3-35: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; HNC mit verschiedenem NVA-Gehalt und einem Emulsionsfilm

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
HNC 0,1 %	5	21,2	4,2	0,1		
HNC 0,05 %	5	8,9	1,8	0,3		
HNC 0,025 %	5	3,8	0,8	0,01		
Emulsions-film	5	7,5	1,5	0,2		
ANOVA						
Streuung-sursache	Quadrat-summen (SS)	Freiheits-grade (df)	Mittlere Quadrat-summe (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	34,1	3	11,4	69,4	2E-09	3,2
Innerhalb der Gruppen	2,6	16	0,2			
Gesamt	36,7	19				

Tabelle 6.3-36: Student Newman Keuls Test; HNC mit verschiedenem NVA-Gehalt und einem Emulsionsfilm

Zubereitung	HNC 0,1 %	HNC 0,05 %	Emulsionsfilm	HNC 0,025 %
Mittelwerte geordnet	4,2	1,8	1,5	0,8
Differenzen mit kleinstem Wert	3,5	1,0	0,7	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	2,7	0,3		
Differenzen mit 3.kleinstem Wert	2,4			
Differenzen mit 4.kleinstem Wert				
Anzahl Ergebnisse	25			
Gruppen	5			
Wiederholungen	5			
Freiheitsgrade	20			
Wert aus Tabelle	4,23	3,96	3,58	2,95
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat d Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)	0,16			
D (kleinster)	0,77	0,72	0,65	0,53
Unterschied?	ja	ja	ja	nein
D (2.kleinster)	0,72	0,65	0,53	
Unterschied?	ja	nein	nein	
D (3.kleinster)	0,65	0,53		
Unterschied?	ja	nein		
D (4.kleinster)	0,53			
Unterschied?	nein			

Tabelle 6.3-37: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung und HNC 0,1 %

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
0,1% HNC	5	12,5	2,5	0,04		
NE/RS 0/100	5	6,5	1,3	0,45		
NE/RS 40/60	5	7,31	1,5	0,04		
ANOVA						
Streuungs- ursache	Quadrat- summen (SS)	Freiheits- grade (df)	Mittlere Quadrat- summe (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F- Wert
Unterschied e zwischen den Gruppen	4,2	2	2,1	11,8	0,002	3,9
Innerhalb der Gruppen	2,2	12	0,2			
Gesamt	6,4	14				

Tabelle 6.3-38: Student Newman Keuls Test; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Eudragitzzusammensetzung und HNC 0,1 %

Zubereitung	HNC 0,1 %	NE/RS 40/60	NE/RS 0/100
Mittelwerte geordnet	2,5	1,5	1,3
Differenzen mit kleinstem Wert	1,2	0,2	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	1,0		
Differenzen mit 3.kleinstem Wert			
Differenzen mit 4.kleinstem Wert			
Anzahl Ergebnisse	25		
Gruppen	5		
Wiederholungen	5		
Freiheitsgrade	20		
Wert aus Tabelle	4,23	3,96	3,58
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat d Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)	0,18		
D (kleinster)	0,80	0,75	0,68
Unterschied?	ja	nein	nein
D (2.kleinster)	0,75	0,68	
Unterschied?	ja	nein	
D (3.kleinster)	0,68		
Unterschied?	nein		

Tabelle 6.3-39: Zusammenfassung der einfaktoriellen Varianzanalyse; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung und HNC 0,1 %

ZUSAMMENFASSUNG						
Gruppen	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz		
HNC 0,1%	5	15,3	3,1	0,2		
7,5 % TEC	5	4,8	1,0	0,3		
8 % PS80	5	2,6	0,5	0,3		
7,5 % TEC + 3 % PS80	5	8,1	1,6	0,1		
ANOVA						
Streuungs- ursache	Quadrat- summen (SS)	Freiheits- grade (df)	Mittlere Quadrat- summe (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F- Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	18,5	3	6,2	28,4	1E-06	3,2
Innerhalb der Gruppen	3,5	16	0,2			
Gesamt	21,9	19				

Tabelle 6.3-40: Student Newman Keuls Test; Emulsionsfilme mit unterschiedlicher Weichmacherzusammensetzung und HNC 0,1 %

Zubereitung	0,1% HNC	7,5 % TEC + 3 % PS80	7,5 % TEC	8 % PS80
Mittelwerte geordnet	3,1	1,6	1,0	0,5
Differenzen mit kleinstem Wert	2,5	1,1	0,5	
Differenzen mit 2.kleinstem Wert	2,1	0,7		
Differenzen mit 3.kleinstem Wert	1,4			
Differenzen mit 4.kleinstem Wert				
Anzahl Ergebnisse	25			
Gruppen	5			
Wiederholungen	5			
Freiheitsgrade	20			
Wert aus Tabelle	4,23	3,96	3,58	2,95
S <sup>2</sup> (in) mittleres Quadrat d Versuchsfehlers (innerhalb d Gruppen)	0,22			
D (kleinster)	0,88	0,83	0,75	0,61
Unterschied?	ja	ja	nein	nein
D (2.kleinster)	0,83	0,75	0,61	
Unterschied?	ja	nein	nein	
D (3.kleinster)	0,75	0,61		
Unterschied?	ja	nein		
D (4.kleinster)	0,61			
Unterschied?	nein			

Tabelle 6.3-41: Äquivalenzprüfung der Permeationsraten in Anlehnung an SUPAC-SS (FDA Guidance for Industry, 2004)

	NE/RS 40/60	7,5 % TEC	8 % PS80	HNC 0,025 %	HNC 0,05 %	HNC 0,1 %
MW	1,27	0,51	0,19	0,48	1,05	2,53
KI oben	1,66	0,71	0,23	0,50	1,52	3,04
KI unten	0,98	0,37	0,17	0,40	0,95	2,36
KI oben	0,39	0,20	0,05	0,02	0,47	0,51
KI unten	0,30	0,13	0,02	0,08	0,10	0,17

## 6.4 Firmenliste

Aesculap AG & Co. KG, D-Tuttlingen  
American National CanTM  
Anton Paar GmbH, D-Ostfildern  
Bio-Rad GmbH, D-München  
BioTek Germany, D-Bad Friedrichshall  
Borer Chemie AG, CH-Zuchwil  
B-Braun AG, D-Melsungen  
Carl Zeiss Jena GmbH, D-Jena  
Eppendorf AG, D-Hamburg  
Edmund Bühler Laborgerätebau Glastechnik Umwelttechnik; D-Tübingen  
Fuhrmann GmbH, D-Much  
Gauer Glas, D-Püttlingen  
Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, D-Schwabach  
IKA-Werke GmbH & Co. KG, D-Staufen  
Lauda GmbH & Co. KG, D-Lauda-Königshofen  
Macherey-Nagel, D-Düren  
Malvern Instruments GmbH, D-Herrenberg  
Mettler-Toledo GmbH, D-Giessen  
Precitool Werkzeughandel GmbH & Co. KG, D-Neuenstein  
Thermo Fisher Scientific Inc., D-Langenselbold  
Sartorius Stedim Biotech SA, F-Aubagne  
Shimadzu, D-Duisburg  
Sinterface Technologies GbR, D-Berlin  
Sotax AG, CH-Alschwil  
Thermo Fisher Scientific GmbH, D-Schwerte  
Turnus Werkzeugfabrik GmbH; D-Remscheid  
VWR International GmbH; D-Darmstadt  
Wepa Apothekenbedarf GmbH & Co KG, D-Hillscheid  
Whatman International Ltd., D-Dassel  
WiTec GmbH, D-Ulm  
Zwick GmbH & Co. KG, D-Ulm

## 7 Literaturverzeichnis

**Amighi, K. und Moes, A. (1996)**

Influence of plasticizer concentration and storage conditions on the drug release rate from Eudragit RS30D film-coated sustained-release Theophylline pellets  
*European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 1, 29-35

**Anand, P. und Bley, K. (2011)**

Topical capsaicin for pain management: therapeutic potential and mechanisms of action of the new high-concentration capsaicin 8% patch  
*British Journal of Anaesthesia*, 4, 490-502

**Asakura, S. und Oosawa, F. (1958)**

Interaction between particles suspended in solutions of macromolecules  
*Journal of Polymer Science*, 126, 183-192

**Bach, M. und Lippold, B. C. (1998)**

Percutaneous penetration enhancement and its quantification  
*European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 1-13

**BASF AG (2007)**

Soluble Kollidon (r) grades, Technical information, MEMP 030730e-04

**Beattie, J., et al. (2006)**

Electroacoustic detection of the onset of depletion flocculation of latex dispersions by hydroxyethyl cellulose  
*Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 83-86

**Bindschaedler, C., et al. (1987)**

Osmotic water transport through cellulose acetate membranes produced from a latex system  
*Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6, 455-460

**Binks, B. P. (2002)**

Particles as surfactants - similarities and differences  
*Colloid and Interface Science*, 21-41

**Bronaugh, R. L. (2008)**

Interpretation of in vitro skin absorption studies of lipophilic chemicals  
In: Roberts, M. S. and Walters, K. A. *Dermal Absorption and Toxicity Assessment*, 135-140  
*Informa Healthcare, New York*

**Bronaugh, R. L., et al. (2005)**

Determination of percutaneous absorption by in vitro techniques  
In: Bronaugh, R. L. and Maibach, H. I. *Percutaneous Absorption; Drugs - Cosmetics - Mechanisms - Methodology*, 165-169  
*Informa Healthcare, New York*



**Cappel, M. J. und Kreuter, J. (1991)**

Effect of nonionic surfactants on transdermal drug delivery: I. Polysorbates  
*International Journal of Pharmaceutics*, 2, 143-153

**Carl Roth GmbH & Co. KG (2009)**

Gebrauchsanweisung Mowiol 4-88

<http://www.carlroth.com/media/de-de/usage/0713.pdf>

**Caterina, M. J. und Julius, D. (2001)**

THE VANILLOID RECEPTOR: A Molecular Gateway to the Pain Pathway  
*Annual Review of Neuroscience*, 1, 487-517

**Charles F. Vesey, T. F., Ali R. Rajabi-Siahboomi (2005)**

Evaluation of alternative plasticizers for surelease, an aqueous ethylcellulose dispersion for modified release film-coating

*Controlled Release Society Annual Meeting, Miami, Florida, USA*

**Chen, I. J., et al. (1992)**

Hypotensive and antinociceptive effects of ether-linked and relatively non-pungent analogues of N-nonanoyl vanillylamide

*European Journal of Medicinal Chemistry*, 3, 187-192

**Christian, S. (2005)**

Entwicklung eines Matrixretardgranulates zum Einsatz in multipartikulären Arzneiformen unter Anwendung der Trockengranulierung, *Dissertation, Tübingen*

**Crowley, M. M., et al. (2004)**

Physicochemical properties and mechanism of drug release from ethyl cellulose matrix tablets prepared by direct compression and hot-melt extrusion

*International Journal of Pharmaceutics*, 2, 509-522

**Cuppok, Y., et al. (2011)**

Drug release mechanisms from Kollicoat SR:Eudragit NE coated pellets

*International Journal of Pharmaceutics*, 1-2, 30-37

**Dancik, Y., et al. (2008)**

Beyond Stratum corneum

In: Roberts, M. S. and Walters, K. A. *Dermal Absorption and Toxicity Assessment*, 209-250

*Informa Healthcare, New York*

**Dancik, Y., et al. (2008)**

Physiologically based pharmacokinetics and pharmacodynamics of skin

In: Roberts, M. S. and Walters, K. A. *Dermal Absorption and Toxicity Assessment*, 179-250

*Informa Healthcare, New York*

**Daniels, R. und Barta, A. (1994)**

Pharmacoepical cellulose ethers as oil-in-water emulsifiers

I. Interfacial properties

*European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 3, 128-133

**Degussa (2006)**

Guidelines for formulation development and process technology for sustained-release coatings

**Deutsches Institut für Normung (1994)**

DIN 53765 Prüfung von Kunststoffen und Elastomeren, Thermische Analyse, Dynamische Differenzkalorimetrie (DDK)  
*Beuth Verlag GmbH, Berlin*

**Deutsches Institut für Normung (1996)**

DIN EN ISO 527-1 Bestimmung der Zugeigenschaften  
*Beuth Verlag, Berlin*

**Deutsches Institut für Normung (1997)**

DIN EN ISO 11357-1: Kunststoffe, Dynamische Differenz-Thermoanalyse (DSC), Teil 1: Allgemeine Grundlagen  
*Beuth Verlag GmbH, Berlin*

**EI-Malah, Y. und Nazzal, S. (2008)**

Novel use of Eudragit® NE 30D/Eudragit® L 30D-55 blends as functional coating materials in time-delayed drug release applications  
*International Journal of Pharmaceutics, 1-2, 219-227*

**Elias, P. M. (1983)**

Epidermal Lipids, Barrier Function, and Desquamation  
*Journal of Investigative Dermatology, 1, 44-49*

**Europäisches Arzneibuch Ausgabe 7.1 (2011)**

*Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart*

**Evonik Industries (2007)**

Specifications and test methods for Eudragit RL 30 D and Eudragit RS 30 D

**Fang, J.-Y., et al. (1996)**

Percutaneous absorption of capsaicin, nonivamide and sodium nonivamide acetate from gel and ointment bases: In vitro formulation evaluations in pigs and in vivo bioengineering methods in humans  
*International Journal of Pharmaceutics, 1, 121-135*

**FDA Guidance for Industry (2004)**

SUPAC-SS: nonsterile semisolid dosage forms; scale up and post approval changes: chemistry, manufacturing and controls; in-vitro release testing and in vivo bioequivalence

**Feigin, R. I. und Napper, D. H. (1980)**

Depletion stabilization and depletion flocculation  
*Journal of colloid and interface science, 2, 525-541*

**Ford, J. L., et al. (1985)**

Formulation of sustained release promethazine hydrochloride tablets using hydroxypropyl-methylcellulose matrices  
*International Journal of Pharmaceutics, 2-3, 327-338*

**Forslind, B., et al. (1997)**

A novel approach to the understanding of human skin barrier function  
*Journal of Dermatological Science*, 2, 115-125

**Franz, T. J. (1975)**

Percutaneous absorption. On the relevance of in vitro data  
*The Journal of Investigative Dermatology*, 3, 190-195

**Franz, T. J., et al. (1993)**

Percutaneous Penetration of N-Nitrosodiethanolamine through Human Skin (in Vitro):  
Comparison of Finite and Infinite Dose Applications from Cosmetic Vehicles  
*Fundamental and Applied Toxicology*, 2, 213-221

**Freudiger, C. W., et al. (2008)**

Label-Free Biomedical Imaging with High Sensitivity by Stimulated Raman Scattering  
Microscopy  
*Science*, 1857-1860

**Frömder, A. und Lippold, B. C. (1993)**

Water vapour transmission and occlusivity in vivo of lipophilic excipients used in  
ointments  
*International Journal of Cosmetic Science*, 3, 113-124

**Gal, A. und Nussinovitch, A. (2009)**

Plasticizers in the manufacture of novel skin-bioadhesive patches  
*International Journal of Pharmaceutics*, 1-2, 103-109

**Gao, Y., et al. (2009)**

Double-layer weekly sustained release transdermal patch containing gestodene and  
ethinylestradiol  
*International Journal of Pharmaceutics*, 1-2, 128-134

**Gaudreault, R., et al. (2009)**

Flocculation kinetics of precipitated calcium carbonate  
*Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 1-3, 56-65

**Glaessl, B., et al. (2010)**

Deeper insight into the drug release mechanisms in Eudragit RL-based delivery  
systems  
*International Journal of Pharmaceutics*, 1-2, 139-146

**Griffith, S. (1990)**

A review of the factors associated with patient compliance and the taking of prescribed  
medicines  
*British Journal of General Practice*, 114-116

**Grützmann, R. (2005)**

Zum Mechanismus der Anionenwirkung auf die Permeabilität kationischer  
Polymethacrylatüberzüge, *Dissertation, Tübingen*

**Grützmann, R. und Wagner, K. G. (2005)**

Quantification of the leaching of triethyl citrate/polysorbate 80 mixtures from Eudragit RS films by differential scanning calorimetry  
*European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 1, 159-162

**Hadgraft, J. (2001)**

Skin, the final frontier  
*International Journal of Pharmaceutics*, 1-2, 1-18

**Hahn, T., et al. (2010)**

Measuring skin absorption in vitro  
*SOFW Journal*, 27-40

**Heck, R. (2012)**

Darstellung von Nonivamid und [<sup>2</sup>H<sub>3</sub>] Nonivamid sowie Untersuchung ihrer Penetration aus halbfesten Arzneiformen in die Haut, *Diplomarbeit, Tübingen*

**Hercules Incorporation Aqualon Division (2002)**

Aqualon Ethylcellulose (EC) Physical and Chemical Properties  
*USA-Wilmington*

**Higuchi, T. (1961)**

Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension  
*Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10, 874-875

**Higuchi, W. I. (1962)**

Analysis of data on the medicament release from ointments  
*Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8, 802-804

**Hsu, J. P. und Lin, D. P. (1996)**

Flocculation by very high molecular weight polymers  
*Colloid & Polymer Science*, 2, 172-177

**Ikoma, A. (2010)**

Neuroanatomy of itch  
In: Misery, L. and Ständer, S. Pruritus, 3-6  
*Springer-Verlag, New York*

**IUPAC International Union of Pure and Applied Chemistry (1972)**

Manual of symbols and terminology for physicochemical quantities and units. Appendix II. Definitions, terminology and symbols in colloid and surface chemistry  
*Applied Chemistry*, 31, 577-638

**Kasting, G. B. (2001)**

Kinetics of finite dose absorption through skin 1. Vanillylnonanamide  
*Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2, 202-212

**Kastrissios, H. und Blaschke, T. F. (1997)**

Medication compliance as a feature in drug development  
*Annual Reviews of Pharmacology and Toxicology*, 451-475

**Kellaway, I. W. und Najib, N. M. (1981)**

Hydrophilic polymers as stabilisers and flocculants of sulphadimidine suspensions  
*International Journal of Pharmaceutics*, 1, 59-66

**Kim, J., et al. (2006)**

Release characteristics of quinupramine from the ethylene-vinyl acetate matrix  
*International Journal of Pharmaceutics*, 1-2, 134-139

**Kiratzis, N., et al. (1999)**

Depletion flocculation of particulate systems induced by hydroxyethylcellulose  
*Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 461-471

**Klang, V., et al. (2012)**

Effect of  $\gamma$ -cyclodextrin on the skin permeation of a steroidal drug from nanoemulsions:  
Impact of experimental setup  
*International Journal of Pharmaceutics*, 535-542

**Knorr, F., et al. (2009)**

Follicular transport route – Research progress and future perspectives  
*European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2, 173-180

**Kröger, I. und Bodmeier, R. (1999)**

Floating or pulsatile drug delivery systems based on coated effervescent cores  
*International Journal of Pharmaceutics*, 2, 175-184

**Kutz, G., et al. (2011)**

Emulgatoren  
In: Emulsionen; Entwicklung, Herstellung, Prüfung, 31-36  
*Editio Cantor Verlag, Aulendorf*

**Kutz, G., et al. (2011)**

Hilfstoffe der Wasserphase  
In: Emulsionen; Entwicklung, Herstellung, Prüfung, 41-51  
*Editio Cantor Verlag, Aulendorf*

**Kutz, G., et al. (2011)**

Lagerstabilität von Emulsionen  
In: Emulsionen; Entwicklung, Herstellung, Prüfung, 22-26  
*Editio Cantor Verlag, Aulendorf*

**Langer, K. (1978)**

On the anatomy and physiology of the skin III. The elasticity of the cutis  
*British Journal of Plastic Surgery*, 185-199

**Lehmann, K. und Dreher, D. (1986)**

Mischbarkeit wässriger Poly(meth)acrylat-Dispersionen für Arzneimittelüberzüge  
*Pharm Ind*, 10, 1182-1183

**Lieb, S., et al. (2002)**

Self-adhesive thin films for topical delivery of 5-aminolevulinic acid  
*European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 99-106

**Makievski, A. V., et al. (1997)**

Determination of equilibrium surface tension values by extrapolation via long time approximations

*Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 1-3, 269-273

**Malvern (2000)**

Operators guide, 2.0

Worcs

**Malvern (1997)**

Sample dispersion and refractive index guide, 3.1

Malvern Instruments GmbH, Worcs

**Maurath, S. (2007)**

Charakterisierung und Optimierung der Grenzflächenstabilisierung von Wasser-in-Öl-Emulsionen mit Ethylcellulose als Polymeremulgator, *Dissertation, Tübingen*

**Melero, A., et al. (2008)**

Nortriptyline hydrochloride skin absorption: Development of a transdermal patch

*European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2, 588-596

**Mezdour, S., et al. (2008)**

Oil/water surface rheological properties of hydroxypropyl cellulose (HPC) alone and mixed with lecithin: Contribution to emulsion stability

*Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 1-2, 76-83

**Möllgaard, S. L. (2006)**

Sprühgetrocknete Lichtschutzformulierungen auf Basis tensidfreier O/W-Emulsionen, *Dissertation, Braunschweig*

**Monteiro-Riviere, N. A., et al. (2008)**

Animal skin morphology and dermal absorption

In: Roberts, M. S. and Walters, K. A. *Dermal Absorption and Toxicity Assessment*, 17-36

Informa Healthcare, New York

**Mutalik, S., et al. (2006)**

Glipizide matrix transdermal systems for diabetes mellitus: Preparation, in vitro and preclinical studies

*Life Sciences*, 16, 1568-1577

**Neubert, R. H. H. (2010)**

New insights into the structure of human stratum corneum

*Jahrestagung der deutschen pharmazeutischen Gesellschaft, Braunschweig*

**Neubert, R. H. H. und Wepf, R. (2007)**

Struktur und Morphologie einer Barriere

*Pharazeutische Zeitung*, 14-21

**Neues Rezeptur Formularium (2010)**

Hydrophile Capsaicinoid Creme 0,025 % / 0,05 % / 0,1 % (NRF 11.125)

Govi Verlag, D-Eschborn

**Nilsson, L. und Bergenståhl, B. (2006)**

Adsorption of Hydrophobically Modified Starch at Oil/Water Interfaces during Emulsification

*Langmuir*, 21, 8770-8776

**Nokhodchi, A., et al. (2003)**

The enhancement effect of surfactants on the penetration of lorazepam through rat skin

*International Journal of Pharmaceutics*, 2, 359-369

**Obara, S. und McGinity, J. W. (1994)**

Properties of Free Films Prepared from Aqueous Polymers by a Spraying Technique

*Pharmaceutical Research*, 11, 1562-1567

**Oh, D. H., et al. (2011)**

Effect of process parameters on nanoemulsion droplet size and distribution in SPG membrane emulsification

*International Journal of Pharmaceutics*, 1-2, 191-197

**Paul, D. R. (2011)**

Elaborations on the Higuchi model for drug delivery

*International Journal of Pharmaceutics*, 1, 13-17

**Potts, R. O. und Guy, R. H. (1992)**

Predicting Skin Permeability

*Pharmaceutical Research*, 5, 663-669

**Proksch, E., et al. (2008)**

The skin: an indispensable barrier

*Experimental Dermatology*, 12, 1063-1072

**Radford, S. und Dickinson, E. (2004)**

Depletion flocculation of caseinate-stabilised emulsions: what is the optimum size of the non-adsorbed protein nano-particles?

*Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 71-81

**Rawlins, D. A. und Kayes, J. B. (1983)**

Pharmaceutical suspension studies III. The redispersibility of suspensions

*International Journal of Pharmaceutics*, 2, 171-181

**Repka, M. und McGinity, J. (2001)**

Bioadhesive properties of hydroxypropylcellulose topical films produced by hot melt extrusion

*Journal of Controlled Release*, 341-351

**Reyes-Escogido, M. d. L., et al. (2011)**

Chemical and Pharmacological Aspects of Capsaicin

*Molecules*, 1253-1270

**Roberts, M. S. und Anissimov, Y. G. (2005)**

Mathematical models in percutaneous absorption

In: Bronaugh, R. L. and Maibach, H. I. Percutaneous Absorption; Drugs - Cosmetics - Mechanisms - Methodology, 1-44

*Informa Healthcare, New York*

**Roberts, M. S., et al. (2005)**

The skin reservoir for topically applied solutes

In: Bronaugh, R. L. and Maibach, H. I. Percutaneous Absorption; Drugs - Cosmetics - Mechanisms - Methodology, 213-234

*Informa Healthcare, New York*

**Sakai, Y., et al. (2005)**

Stability of latanoprost in an ophthalmic lipid emulsion using polyvinyl alcohol

*International Journal of Pharmaceutics, 1-2, 176-179*

**Schaefer, U. F., et al. (2008)**

Formulation Issues

In: Roberts, M. S. and Walters, K. A. Dermal Absorption and Toxicity Assessment, 117-134

*Informa Healthcare, New York*

**Schäfer, I., et al. (2009)**

Epidemiologie und Versorgungsmerkmale des Pruritus bei Erwerbstätigen

[http://www.heigel.com/files/files/pdf/Poster\\_IS\\_Pruripop\\_ADF\\_Heigel.pdf](http://www.heigel.com/files/files/pdf/Poster_IS_Pruripop_ADF_Heigel.pdf)

**Schulz, M. B. und Daniels, R. (2000)**

Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) as emulsifier for submicron emulsions: influence of molecular weight and substitution type on the droplet size after high-pressure homogenization

*European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 231-236*

**Sekkat, N., et al. (2002)**

Biophysical Study of Porcine Ear Skin In Vitro and Its Comparison to Human Skin In Vivo

*Journal of Pharmaceutical Sciences, 11, 2376-2381*

**Serra, J., et al. (1998)**

Flare and Hyperalgesia After Intradermal Capsaicin Injection in Human Skin

*Journal of Neurophysiology, 6, 2801-2810*

**Shokri, J., et al. (2001)**

The effect of surfactants on the skin penetration of diazepam

*International Journal of Pharmaceutics, 1-2, 99-107*

**Sinko, C. M. und Amidon, G. L. (1989)**

Plasticizer-induced changes in the mechanical rate of response of film coatings: an approach to quantitating plasticizer effectiveness

*International Journal of Pharmaceutics, 2-3, 247-256*



**Skin Care Forum (2001)**

Schematic diagram of the human skin  
*Scf-online, Issue 27*

**Sriupayo, J., et al. (2005)**

Preparation and characterization of  $\alpha$ -chitin whisker-reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposite films with or without heat treatment  
*Polymer, 15, 5637-5644*

**Ständer, S. und Luger, T. A. (2010)**

Neuroreceptors and neuromediators  
In: Misery, L. and Ständer, S. Prutitus, 7-16  
*Springer-Verlag, New York*

**Suhonen, T. M., et al. (1999)**

Chemical enhancement of percutaneous absorption in relation to stratum corneum structural alterations  
*Journal of Controlled Release, 2, 149-161*

**Sumino, H., et al. (2009)**

Effects of raloxifene and hormone replacement therapy on forearm skin elasticity in postmenopausal women  
*Maturitas, 1, 53-57*

**Sunghongjeen, S., et al. (2008)**

Design and evaluation of floating multi-layer coated tablets based on gas formation  
*European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 1, 255-263*

**Talen, H. W. und Hover, P. F. (1959)**

On film formation by emulsion paints and some properties of these films  
*Deutsche Farben-Zeitschrift, 92*

**Thakker, K. D. und Chern, W. H. (2003)**

Development and validation of in vitro release tests for semisolid dosage forms - case study  
*Dissolution Technologies, 10-15*

**Valenta, C. und Auner, B. G. (2004)**

The use of polymers for dermal and transdermal delivery  
*European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2, 279-289*

**Wagner, H., et al. (2003)**

pH profiles in human skin: influence of two in vitro test systems for drug delivery testing  
*European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 1, 57-65*

**Westphal, T. (2010)**

Wasserfeste Sonnenschutzformulierungen und Mascara, *Dissertation, Hamburg*

**Wollenweber, C. (1999)**

Einfluss von Ethanol auf Methylhydroxypropylcellulose stabilisierte Öl-in-Wasser Emulsionen, *Dissertation, Tübingen*

**Wollenweber, C., et al. (2000)**

Adsorption of hydroxypropyl methylcellulose at the liquid/liquid interface and the effect on emulsion stability

*Colloids and Surfaces*, 91-101

**Yildiz, A., et al. (2004)**

Rates of study completion with single versus split daily dosing of antidepressants: a meta-analysis

*Journal of Affective Disorders*, 2, 157-162

**Zatz, J. L. (1995)**

Drug release from semisolids: Effect of membrane permeability on sensitivity to product parameters

*Pharmaceutical research*, 5, 787-789

**Zatz, J. L. und Segers, J. D. (1998)**

Techniques for measuring in vitro release from semisolids

*Dissolution Technologies*, 3-17

**Zosel, A. (1989)**

Adhesive Failure and Deformation Behaviour of Polymers

*The Journal of Adhesion*, 1, 135 - 149