



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Cyclodextrin-stabilisierte Submikronemulsionen als
Arzneistoffträgersystem für Progesteron auf der Haut

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Verfasserin / Verfasser:	Anna-Maria Zimmermann
Matrikel-Nummer:	0401760
Studienrichtung /Studienzweig (lt. Studienblatt):	A 449 Pharmazie
Betreuerin / Betreuer:	Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Claudia Valenta

Wien, am 21. Juli 2009

DANKSAGUNG

Sehr herzlich möchte ich mich bei Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Claudia Valenta für die hervorragende Betreuung dieser Arbeit und das freundschaftliche Arbeitsverhältnis bedanken.

Mein ganz besonderer Dank gilt Mag. pharm. Victoria Klang, die mich in allen Phasen meiner Diplomarbeit unterstützt hat. Sie stand mir, wann immer ich Rat bedurfte, hilfreich zur Seite. Diese Hilfe war von unschätzbarem Wert.

Auch Mag. pharm. Sandra Leskova möchte ich für ihr großes Verständnis sowie für ihre Unterstützung während der Erstellung meiner Diplomarbeit meinen Dank aussprechen.

Weiters möchte ich mich herzlich bei DI Wolfgang Dungal bedanken, der immer bereit stand, mich in vielen Fragen sowie mit konstruktiver Kritik zu unterstützen und so zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Letztlich gilt mein besonderer Dank meinen Eltern sowie meiner gesamten Familie, die mir durch ihre immerwährende persönliche wie finanzielle Unterstützung ein sorgenfreies Studium sowie den Abschluss desselben ermöglicht haben.

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG	1
2. ALLGEMEINES.....	3
2.1. Die Haut.....	3
2.1.1. Aufbau der Haut	3
2.1.2. Die Haut als Transportorgan für Arzneistoffe	5
2.1.3. Permeationsförderung	6
2.2. Submikronemulsionen.....	8
2.2.1. Definition und Eigenschaften	8
2.2.2. Anwendung von Submikronemulsionen	9
2.3. Verwendete Komponenten	10
2.3.1. Öl.....	10
2.3.1.1. Purcellinöl.....	10
2.3.2. Tenside.....	13
2.3.2.1. Einführung	13
2.3.2.2. Lecithin	15
2.3.2.3. Saccharosefettsäureester („Zuckertenside“).....	17
2.3.3. Cyclodextrine.....	18
2.3.3.1. Eigenschaften, Struktur und Gewinnung	18
2.3.3.2. Historisches und regulatorischer Status	20
2.3.3.3. Anwendung von Cyclodextrinen	21
2.3.3.3.1. Gängige Anwendungen.....	21
2.3.3.3.2. Verwendung von Cyclodextrinen zur Stabilisierung von Emulsionen	23
2.3.4. Modellarzneistoff	23
2.3.4.1. Progesteron.....	23
2.3.4.1.1. Definition und Eigenschaften.....	23
2.3.4.1.2. Pharmakologische Wirkung.....	24
2.3.4.1.3. Anwendung von Progesteron	25
2.3.5. Lösungsvermittler	25
2.3.5.1. Propylenglykol	25
2.3.6. Ladungsträger	26

2.3.6.1. Phytosphingosin	26
2.3.7. Konservierungsmittel	28
2.3.7.1. Kaliumsorbat.....	28
2.3.8. Antioxidans	29
2.3.8.1. Alpha-Tocopherol	29
3. METHODEN UND VERWENDETE MATERIALIEN.....	31
3.1. Herstellung der Submikronemulsionen.....	31
3.1.1. Herstellung der Mischungen	31
3.1.1.1. Praktische Vorgehensweise	31
3.1.2. Vorhomogenisierung	35
3.1.2.1. Der Ultra-Turrax.....	35
3.1.2.2. Praktische Vorgehensweise	36
3.1.3. Hochdruckhomogenisierung	36
3.1.3.1 Der Hochdruckhomogenisator	36
3.1.3.2. Praktische Vorgehensweise	37
3.2. Charakterisierung der Submikronemulsionen.....	38
3.2.1. Bestimmung von Teilchengröße und Polydispersitätsindex	38
3.2.1.1. Allgemeines	38
3.2.1.2. Photonenkorrelationsspektroskopie.....	38
3.2.1.3. Praktische Vorgehensweise	40
3.2.2. Zetapotential und Leitfähigkeit.....	40
3.2.2.1. Allgemeines	40
3.2.2.2. Laser-Doppler-Anemometrie	42
3.2.2.3. Einfluss des Zetapotentials auf die physikalische Stabilität	43
3.2.2.4. Praktische Vorgehensweise	43
3.2.3. pH-Wert	44
3.2.3.1. pH-Wert und Stabilität	44
3.2.3.2. Praktische Vorgehensweise	44
3.2.4. Gehaltsbestimmung des Arzneistoffs und chemische Stabilität	45
3.2.4.1. Allgemeines	45
3.2.4.2. Praktische Vorgehensweise	45
3.3. Permeationsstudien	46
3.3.1. Freisetzungsmodell – Die Diffusionszelle nach Franz	46
3.3.2. Praktische Vorgehensweise	47

3.3.3. Analytik	48
3.4. HPLC-Analytik	48
3.4.1. Methode zur Bestimmung von Progesteron	48
3.4.2. Erstellung einer Eichgeraden – Praktische Vorgehensweise	50
3.4.3. Praktische Vorgehensweise	52
4. ERGEBNISSE	53
4.1. Ergebnisse der physikalischen Stabilitätsprüfung	53
4.1.1. Vergleich der Submikronemulsionen in Bezug auf Teilchengröße und Polydispersitätsindex.....	53
4.1.2. Vergleich der Submikronemulsionen in Bezug auf Zetapotential und Leitfähigkeit	56
4.1.3. Vergleich der Submikronemulsionen in Bezug auf pH-Wert.....	58
4.2. Ergebnisse der chemischen Stabilitätsprüfung	59
4.3. Ergebnisse der Permeationsstudien	62
5. DISKUSSION	64
6. ZUSAMMENFASSUNG	68
7. LITERATURVERZEICHNIS	70
8. ANHANG	74
8.1. Tabellen zur physikalischen Stabilitätsprüfung	74
8.1.1. Tabellen zur Teilchengrößenbestimmung	74
8.1.2. Tabellen zur Zetapotentialbestimmung.....	78
8.1.3. Tabellen zur pH-Messung	82
8.2. Tabellen zur chemischen Stabilitätsprüfung	86
8.3. Tabellen zu den Permeationsstudien	89
9. LEBENS LAUF	92

1. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Die menschliche Haut dient als Barriere gegen äußere Einflüsse und somit dem Schutz unseres Organismus. Der Zustand und die Funktion dieses Organs sind daher von größter Wichtigkeit. Erkrankungen der Haut werden seit langem lokal durch die topische Applikation von Arzneistoffen behandelt (1).

Es besteht aber auch die Möglichkeit, die Hautbarriere gezielt zu durchbrechen, um auf diesem Weg Arzneistoffe dem Blutkreislauf zuzuführen. Die transdermale Applikation von Arzneistoffen zielt auf eine systemische Wirkung ab und ist insbesondere dann von Vorteil, wenn beispielsweise der First-Pass-Effekt in der Leber oder der Gastrointestinaltrakt umgangen werden sollen (2).

Die Hauptbarriere der Haut, das Stratum corneum, stellt im Hinblick auf die Verabreichung von Arzneistoffen auf der Haut eine Limitierung und Herausforderung dar (3). Neben den klassischen topischen Arzneiformen wie Salben oder Cremes gibt es daher zahlreiche moderne Arzneistoffträgersysteme, wie Mikroemulsionen, Liposomen und Submikron- oder Nanoemulsionen (1). Sie ermöglichen die Verabreichung von schwerlöslichen Arzneistoffen, deren Löslichkeit und Bioverfügbarkeit damit erhöht werden kann.

In diesem Zusammenhang sind Submikronemulsionen aufgrund ihrer Eigenschaften von besonderem Interesse. Es handelt sich dabei um O/W¹-Emulsionen, deren Partikelgröße unter einem Mikrometer liegt. Sie werden umgangssprachlich oft als Nanoemulsionen bezeichnet. Diese Systeme weisen zahlreiche Vorteile auf. Sie enthalten vergleichsweise geringe Mengen an Tensid und sind daher ausgesprochen hautverträglich (4, 5). Weiters erzielen sie hohe Hautdiffusionsraten für lipophile Arzneistoffe, deren Verabreichung auf der Haut andernfalls problematisch ist (6). Jedoch verfügen diese Formulierungen über eine eingeschränkte physikalisch-chemische Langzeitstabilität, womit ihre praktische Verwendbarkeit limitiert ist.

Ein Ziel dieser Arbeit war es daher, Submikronemulsionen mit verbesserter Langzeitstabilität zu entwickeln. Diese Formulierungen sollten dennoch gut

¹ Öl in Wasser

hautverträglich sein und keine chemischen Tenside enthalten. Daher wurden die natürlichen Cyclodextrine Alpha und Beta als zusätzliche Stabilisatoren ausgewählt. Laut Literatur können diese Kohlenhydratverbindungen Komplexe mit Fettsäureresten der Ölphase bilden (7). Diese neu entstandenen Molekülkomplexe weisen grenzflächenaktive Eigenschaften auf. Sie stabilisieren die Öltröpfchen, indem sie sich an die Öl-Wasser-Grenzfläche anlagern. Es sollte mit der vorliegenden Arbeit getestet werden, ob dieses Modell in komplexen Mehrkomponentensystemen praktisch umsetzbar ist.

Des Weiteren wurde Progesteron als lipophiler Modellarzneistoff eingearbeitet. Die Hautdiffusion dieses Steroidhormons sollte in vitro untersucht und optimiert werden. In der Literatur finden sich Hinweise darauf, dass Saccharosefettsäureester die Penetration von Substanzen durch die Haut erhöhen können (8). Um eine Verbesserung der Hautdiffusion von Progesteron zu erzielen, wurde der Zuckerester Saccharosestearat als möglicher Permeationsverbesserer eingearbeitet. Neben der Penetrationsförderung wird den Zuckerestern auch ein positiver Einfluss auf die Stabilität sowie auf die Partikelgröße der Emulsionen zugeschrieben (9). Saccharosestearat sollte in seiner Funktion als natürliches hautfreundliches Tensid demnach ebenso der zusätzlichen Stabilisierung der Formulierungen dienen.

Der Fachliteratur zufolge erzielen Formulierungen mit positiv geladenen Partikeloberflächen bessere Permeationsraten als entsprechende negativ geladene Zubereitungen (10, 11, 12). Die Tröpfchenoberfläche der Submikronemulsionen der vorliegenden Arbeit wurde daher mit Hilfe des kationischen Phytosphingosins modifiziert. Da es ein Anliegen war, Submikronemulsionen mit besonderer Hautfreundlichkeit zu entwickeln, wurde diese kationische Base mit positiven Eigenschaften für die Haut als Ladungsträger gewählt (13). Es war somit ein weiteres Ziel dieser Arbeit, den Einfluss von Phytosphingosin auf die Stabilität sowie insbesondere die Hautpenetration von Progesteron zu untersuchen.

2. ALLGEMEINES

2.1. Die Haut

2.1.1. Aufbau der Haut

Die Haut stellt mit einer Oberfläche von ungefähr 2 m² das größte Organ des Menschen dar. Sie ermöglicht einen Kontakt zwischen dem Organismus und seiner Umwelt, erfüllt aber gleichzeitig eine wichtige Barriere- und Schutzfunktion. Zu den Aufgaben der Haut zählen unter anderem der Schutz gegen schädliche Einwirkungen mechanischer und chemischer Art, die Verhinderung eines übermäßigen Wasserverlustes sowie die Wärmeregulierung und der Tastsinn (14, 15).

Die menschliche Haut ist eine heterogene Membran, die sich aus drei Schichten zusammensetzt: die Epidermis (Oberhaut), die Dermis (Lederhaut, Corium) und die Subkutis (Unterhaut). Verschiedene Hautanhangsgebilde wie Haare, Nägel, Schweiß- und Talgdrüsen sind in die Haut eingebettet (1, 2).

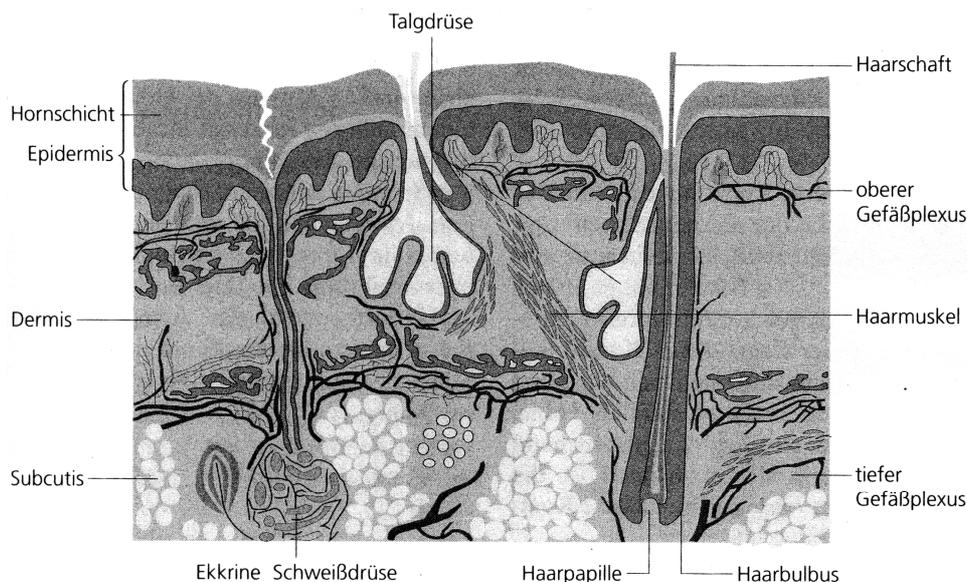


Abb. 1 Aufbau der menschlichen Haut (15).

Die innerste Hautschicht, die Subkutis, ist ein Bindegewebe, das von Fettgewebe durchzogen ist.

Die Dermis besteht vorwiegend aus kollagenen und elastischen Fasern. Sie bilden ein Bindegewebe, in das Blut- und Lymphgefäße, Talg- und Schweißdrüsen, Nervenbahnen und die glatte Muskulatur eingelagert sind.

Die Epidermis setzt sich aus verhorntem Plattenepithel zusammen und ist wiederum in mehrere Schichten gegliedert. Histologisch unterscheidet man Stratum corneum (Hornschicht), Stratum lucidum (Glanzschicht), Stratum granulosum (Körnerschicht), Stratum spinosum (Stachelzellschicht) und Stratum basale (Basalzellschicht) (2, 3, 4).

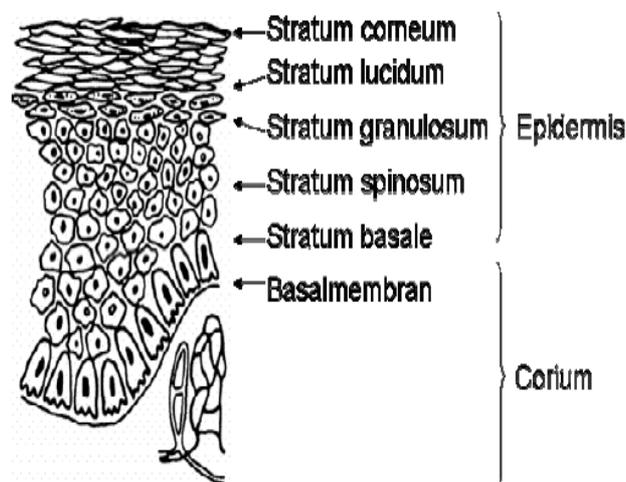


Abb. 2 Aufbau der Epidermis (16).

Der äußersten Schicht der Epidermis, dem Stratum corneum, kommt als eigentliche Hauptbarriere die Aufgabe der Schutzfunktion und der Absorptionskontrolle zu. Trotz seiner geringen Dicke von nur etwa 20 μm hat das Stratum corneum als Penetrationsbarriere höchste Effektivität (14). In seiner Struktur kann man es mit einem sogenannten „Ziegelstein-Mörtel“-Modell („brick and mortar“) vergleichen: Keratinozyten sind von einer Lipidmatrix umgeben. Diese Lipidschicht besteht aus Ceramiden und etwa gleichen Anteilen an freien Fettsäuren und Cholesterin. Zusammen mit Wasser bildet sie eine Doppelschicht aus, die die Barrierefunktion gegen das Eindringen von Fremdstoffen erfüllt (15).

2.1.2. Die Haut als Transportorgan für Arzneistoffe

Für den Transport von Stoffen durch die Haut stehen prinzipiell zwei Wege zur Verfügung: durch das Stratum corneum oder über Hautanhangsgebilde (1). Die Aufnahme über Hautanhangsgebilde – transfollikulär oder transglandulär – spielt keine große Rolle, da die Fläche, die Haarfollikel sowie Schweiß- und Talgdrüsen einnehmen, an der Gesamtoberfläche der Haut nur einen sehr geringen Anteil hat. Die Penetration erfolgt also bevorzugt über das Stratum corneum. Dabei lassen sich der transzelluläre und der interzelluläre Weg unterscheiden (2).

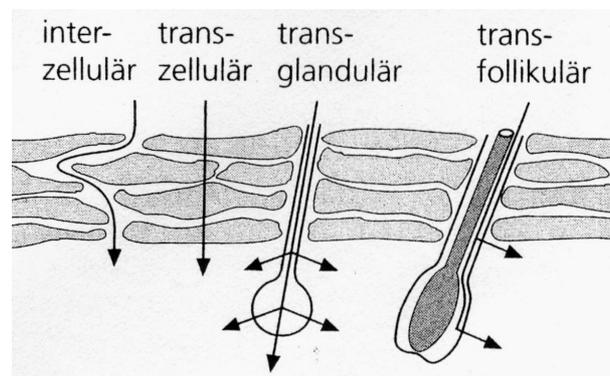


Abb. 3 Penetrationswege von Arzneistoffen durch das Stratum corneum (15).

Lipophile Wirkstoffe passieren die Hornschicht für gewöhnlich über die lipidreichen Interzellularräume. Der transzellulären Route kommt generell eine geringere Bedeutung zu. Der Permeationsweg für hydrophile Substanzen ist noch nicht zur Gänze geklärt. Vermutet wird allerdings, dass auch für polare Stoffe der interzelluläre Weg bevorzugt wird (15, 17, 18).

Arzneistoffe gelangen vorwiegend durch passive Diffusion entlang eines Konzentrationsgradienten in und durch die Haut (2). Das Erste Fick'sche Diffusionsgesetz beschreibt den Stoffdurchtritt durch Membranen, so auch durch das Stratum corneum (19).

$$J = \frac{dM}{A \cdot dt} = -D \cdot \frac{dC}{dx}$$

Abb. 4 Erstes Fick'sches Diffusionsgesetz (16).

Der Flux J [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$] wird auch Massenstrom genannt. Er gibt Auskunft über die Masse M [μg], die in einer bestimmten Zeiteinheit t [s] eine definierte Fläche A [cm^2] durchwandert. Der Flux ist direkt proportional zu der Konzentrationsdifferenz dC [mol/m^3] entlang der Diffusionsstrecke x [m]. Der Diffusionskoeffizient D [m^2/s] ist als stoffspezifische Konstante von den Eigenschaften der diffundierenden Substanz abhängig (16).

Das Ausmaß der Arzneistoffpenetration hängt von der Beschaffenheit und vom Zustand der Haut ab. Auch die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Arzneizubereitung sowie des Arzneistoffs beeinflussen dessen Aufnahme aus der Formulierung in die Hornschicht wesentlich. Eine große Rolle spielen der bereits erwähnte Konzentrationsgradient, die Löslichkeit des Arzneistoffs in der Formulierung, die Molekülgröße, die Dissoziierbarkeit und das Verteilungsverhalten in der Zubereitung sowie zwischen Haut und Zubereitung (2, 17).

Eine ausreichende Lipophilie und eine gewisse Wasserlöslichkeit des Arzneistoffs stellen vorteilhafte Bedingungen für dessen Transport durch das Stratum corneum dar. Die Permeation von stark hydrophilen Stoffen, aber auch von reinen Fetten und fetten Ölen ist sehr gering (17).

2.1.3. Permeationsförderung

So wichtig die Barriereaufgabe des Stratum corneum zum Schutz der Haut ist, so stellt sie doch eine Limitierung der transdermalen Applikation von Arzneistoffen dar (3). Bloß eine überschaubare Anzahl an Wirkstoffen verfügt über die oben angeführten Eigenschaften, die für einen idealen Transport durch die Hornschicht notwendig sind. Demnach können die meisten Substanzen die Haut nur in geringem Maße durchdringen (15).

Mögliche Ansatzpunkte, um die Hautpermeation zu fördern, sind die Optimierung des Arzneistoffs beziehungsweise seines Vehikels oder die Modifikation des Stratum corneum. Der Widerstand des Stratum corneum gegenüber dem Eindringen von Substanzen kann auf physikalischem oder chemischem Weg herabgesetzt werden (2, 6, 9).

Zu den physikalischen Methoden zählen unter anderem die Iontophorese, bei der ionische Wirkstoffe mittels elektrischer Spannung durch die Haut transportiert werden, und die Elektroporation. Bei dieser Methode werden durch kurze elektrische Impulse Poren in der Lipidschicht der Haut gebildet und diese so durchlässiger gemacht (20).

Die Arzneistoffdiffusion kann daneben durch Permeationsbeschleuniger, auch Permeationsenhancer genannt, beeinflusst werden. Dabei handelt es sich um Verbindungen verschiedener Substanzklassen, die durch ihre chemischen Eigenschaften zu einer Veränderung der Penetrationsbarriere führen. Durch Einlagerung der Permeationsvermittler in die Lipiddoppelschicht des Stratum corneum kommt es zu einer Änderung in der Lipidstruktur. Des Weiteren spielen hierbei die Interaktion mit interzellulären Proteinen oder eine bessere Verteilung des Arzneistoffs im Stratum corneum eine Rolle (2, 15, 18, 20).

Zu den chemischen Permeationsmodulatoren zählen unter anderem Sulfoxide, Fettsäuren und deren Ester, Amide, Tenside sowie Alkohole und Glykole wie Ethanol oder Propylenglykol (15, 18).

Eine neuere Substanzklasse sind die sogenannten „Zuckertenside“, zu denen unter anderem die Alkylpolyglykoside² sowie die Saccharosefettsäureester zählen (21). Darüber hinaus wird die Beeinflussung des Wirkstofftransports durch eine Komplexbildung mit Cyclodextrinen diskutiert (20). Ein weiterer aktueller Ansatzpunkt ist die Modifizierung der Partikeloberflächen von Liposomen oder Nanoemulsionen. Positiv geladene Formulierungen sollen laut Literatur eine bessere Wechselwirkung mit der Haut aufweisen und zu höheren Permeationsraten von Arzneistoffen führen (10, 11). Zur Modifikation der Ladung werden kationische Substanzen wie beispielsweise Stearylamin (11) oder Phytosphingosin (10) verwendet.

Permeationsverbesserer müssen weiters bestimmte Eigenschaften aufweisen: Sie dürfen pharmakologisch nicht wirksam sein, die Haut nicht irritieren und keine Allergien auslösen. Darüber hinaus muss nach Absetzen die Haut in ihrer Barrierefunktion rasch und vollständig regenerierbar sein (2).

² APG

Eine große Rolle in der dermalen Arzneistoffapplikation kommt außerdem dem Vehikel beziehungsweise der Formulierung zu, in die der Arzneistoff eingearbeitet ist.

2.2. Submikronemulsionen

2.2.1. Definition und Eigenschaften

Unter dem Begriff Submikronemulsion versteht man eine O/W-Emulsion mit einem Tropfendurchmesser unter einem Mikrometer, für gewöhnlich im Bereich von 100 bis 500 nm. Häufig wird der Begriff Nanoemulsion synonym verwendet, obgleich Nanoemulsionen im engeren Sinne eine Tropfengröße unter 100 nm aufweisen (4, 5).

Submikronemulsionen gehören zum großen Gebiet der kolloidalen Mehrphasensysteme (22). Sie bestehen wie Makroemulsionen auch aus zwei oder mehr nicht miteinander mischbaren Flüssigkeiten. Die innere Phase wird dispergierte Phase genannt. Die äußere Phase wird auch als Dispersionsmittel oder kontinentale Phase bezeichnet (17).

Zur Herstellung von Submikronemulsionen muss Energie eingebracht werden. Dies ist ein grundlegender Unterschied zu Mikroemulsionen, die sich spontan bilden. Es werden hohe Scherkräfte benötigt. Die gängigsten Methoden zur Herstellung von Submikronemulsionen sind die Hochdruckhomogenisation sowie die Phaseninversionsmethode (22).

Zur Herstellung der Submikronemulsionen sind eine Öl- und eine Wasserphase nötig. Für gewöhnlich beträgt der Ölgehalt 10 bis 20%. Zur Stabilisierung müssen 0,5 bis 2% Lecithin als Emulgator enthalten sein (5).

Die bei der Herstellung entstehenden Submikronemulsionströpfchen enthalten einen flüssigen Lipidkern. Die Lipidphase wird nach außen zur Wasserphase mit einer Monoschicht der Phospholipide des Lecithins abgegrenzt. Hier liegt der große strukturelle Unterschied zwischen Submikronemulsionen und Liposomen. Der

flüssige hydrophile Kern der Liposomen wird von einer Phospholipiddoppelmembran umschlossen (23).

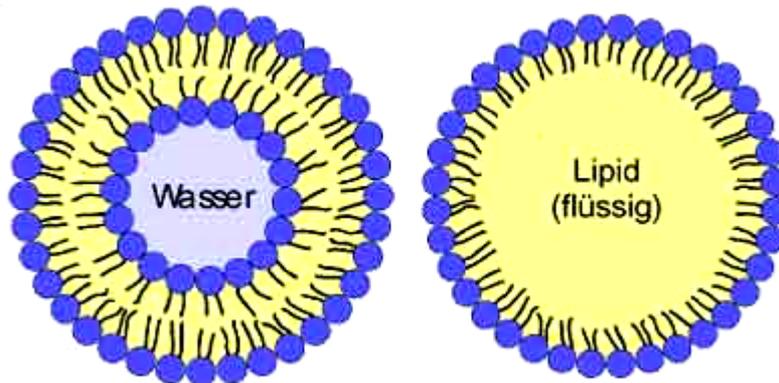


Abb. 5 Modell zum strukturellen Vergleich von einem Liposom [links] und einem Submikronemulsionströpfchen [rechts] (24).

Eigentliche Nanoemulsionen erscheinen aufgrund ihrer sehr geringen Tropfengröße transparent. Mit steigender Tropfengröße erscheinen die Formulierungen zunehmend opak (25). Submikronemulsionen mit einer Teilchengröße ab ungefähr 150 nm zeigen ein milchig-trübes Aussehen. Dies trifft auch für die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Formulierungen zu.

Submikronemulsionen sind im Gegensatz zu Mikroemulsionen thermodynamisch instabil. Daher kann es zu Tröpfchenaggregation, Koaleszenz und schließlich zur Phasentrennung kommen (6). Ein Hauptproblem stellt die so genannte Ostwald-Reifung dar. Es gibt verschiedene Ansätze diesem Phänomen entgegen zu wirken, beispielsweise durch zusätzliche Tenside und sorgfältige Auswahl der Komponenten (22).

Ein großer Vorteil der Submikronemulsionen ist ihr Potential zur Erhöhung der Löslichkeit und damit Bioverfügbarkeit von Wirkstoffen. Der Zusatz von Arzneistoffen in Submikronemulsionen bewirkt allerdings eine Limitierung der physikalisch-chemischen Stabilität der Formulierung (6).

2.2.2. Anwendung von Submikronemulsionen

In den letzten Jahrzehnten haben Submikronemulsionen als Arzneistoffträgersysteme in verschiedenen Bereichen an Bedeutung gewonnen.

Aufgrund ihrer geringen Tropfengröße findet sich ihre ursprüngliche Anwendung im Gebiet der parenteralen Ernährung und Arzneistoffverabreichung. Neben der okularen und oralen Anwendung werden sie immer häufiger auch zur topischen Verabreichung eingesetzt (6).

Im Bereich der dermalen und transdermalen Arzneistoffapplikation dienen Submikronemulsionen in erster Linie als Vehikel für lipophile Arzneistoffe (26). Über den Mechanismus, der der Permeationsförderung durch Submikronemulsionen zugrunde liegt, gibt es unterschiedliche Fachmeinungen. Eine Theorie besagt, dass das Emulsionssystem aufgrund seiner geringen Tropfengröße eine große Oberfläche aufweist, die winzigen Emulsionströpfchen rasch durch die Haut permeieren und so die Penetration von inkorporierten Wirkstoffen fördern (26). Einer anderen Fachmeinung nach ist das Eindringen des Trägersystems in tiefere Schichten der Haut nicht zu erwarten. Es kommt demnach zu einer Anreicherung der Vehikel im Stratum corneum, wodurch ein Lokalisierungseffekt ausgeübt wird (24).

Darüber hinaus wird Submikronemulsionen eine positive Eigenwirkung auf die Haut zugeschrieben. Durch den Einbau besonders geeigneter Lipide kann die Barrierefunktion der Haut günstig beeinflusst werden (23).

2.3. Verwendete Komponenten

2.3.1. Öl

2.3.1.1. Purcellinöl

Das Purcellinöl ist ein künstlich hergestelltes Fettsäureestergemisch, das dem Bürzeldrüsenfett von Wasservögeln nachempfunden ist (19). Purcellinöl besteht vorwiegend aus alkylverzweigten Fettsäuren und deren Estern. Es besitzt ein sehr hohes Spreitungsvermögen und einen niedrigen Erstarrungspunkt. Das Öl bildet einen dünnen, hydrophoben Schutzfilm auf der Haut, wodurch die Haut geschmeidig wird und vor Austrocknung geschützt ist (21).

Der Vorteil von künstlichen Produkten wie dem Purcellinöl besteht darin, dass sie nicht ranzig werden. Daher sind PCL-Produkte häufig verwendete Komponenten in Kosmetika (27). Das Purcellinöl stellt unter der Produktbezeichnung PCL Liquid³ den Hauptbestandteil der Lipidphase der im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Formulierungen dar.

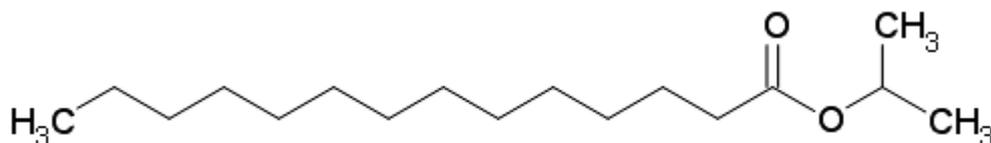
Die Bestandteile des synthetisch hergestellten Öles sind Cetearyloctanoat und Isopropylmyristat (21).

Isopropylmyristat

Isopropylmyristat ist ein flüssiges Wachs mit sehr gutem Spreitungsvermögen. Es wird zur Verbesserung der Hautpenetration verwendet. Darüber hinaus findet es als Lösungsmittel und als physiologisch unbedenklicher Hilfsstoff in Salben eine Anwendung (28).

Summenformel: C₁₇H₃₄O₂

Strukturformel:



Molekulargewicht: 271 g/mol

Erstarrungspunkt: 5 °C

Siedepunkt: 300 °C

Log P⁴: 7,4

Löslichkeit: Isopropylmyristat ist praktisch unlöslich in Wasser und Glycerin. Es ist jedoch in drei Teilen Ethanol löslich und mit Ether, Chloroform, Petrolether, flüssigem Paraffin oder fetten Ölen mischbar (19).

³ Fa. W. Pauli GmbH & Co. KG, Wien, Österreich

⁴ ACD/Labs Version 10.01

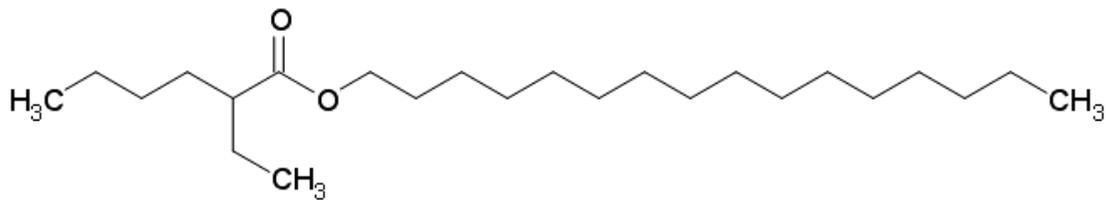
Cetearyloctanoat

Bei Cetearyloctanoat oder Ethylhexansäurecetylstearylester handelt es sich wiederum um ein Fettsäureestergemisch. Dabei ist die 2-Ethylhexansäure einerseits mit 1-Hexadecanol (Cetylalkohol), andererseits mit 1-Octadecanol (Stearylalkohol) verestert (19).

Ethylhexansäurecetylester

Summenformel: $C_{24}H_{48}O_2$

Strukturformel:



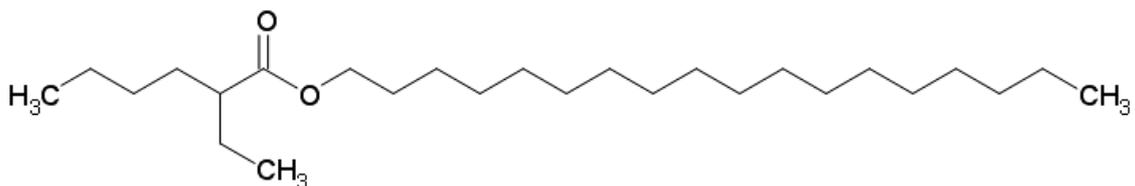
Molekulargewicht: 368 g/mol

Log P: ca. 11

Ethylhexansäurestearylester

Summenformel: $C_{26}H_{52}O_2$

Strukturformel:



Molekulargewicht: 396 g/mol

Log P: 12,2

2.3.2. Tenside

2.3.2.1. Einführung

Tenside sind amphiphile Moleküle, die sowohl lipophile als auch hydrophile Teilstrukturen enthalten. Daher haben sie eine Affinität zu unpolaren wie auch zu polaren Lösungsmitteln. Sie lagern sich an Grenzflächen zwischen hydrophilen und lipophilen Phasen an und reduzieren so die Oberflächen- und Grenzflächenspannung (2, 17, 19).

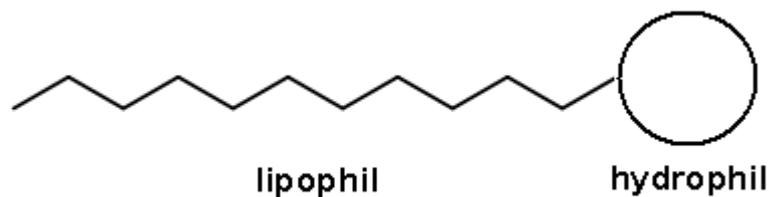


Abb. 6 Schematischer Aufbau eines Tensidmoleküls.

Tenside sind vielfältig einsetzbar: Sie können als W/O⁵- oder O/W-Emulgatoren, Benetzungsmittel, Lösungsvermittler, Waschmittel, Entschäumer oder Schaumstabilisatoren fungieren (2, 17).

Die Emulgatorwirkung kommt durch die Anlagerung der Tenside aneinander und an der Oberfläche von Flüssigkeiten zustande. Wie in Abbildung 7 zu sehen ist, orientiert sich das Tensid dabei mit dem hydrophilen Molekülteil zum Wasser und mit dem hydrophoben Teil aus der Oberfläche hinaus. Die Oberflächenspannung wird mit weiterer Emulgatorzugabe niedriger, bis sie ab einer bestimmten Konzentration nicht mehr zu verringern ist. Dabei kommt es zu einer kugelförmigen Aggregation der Tensidmoleküle in der Lösung. Diese Tensidassoziate, deren hydrophiler Teil nach außen zum Wasser und deren lipophiler Teil in das Kugelinnere zeigt, werden Mizellen genannt. Die Konzentration, oberhalb der diese Mizellen gebildet werden können, nennt man kritische Mizellbildungskonzentration⁶ (29).

⁵ Wasser in Öl

⁶ CMC

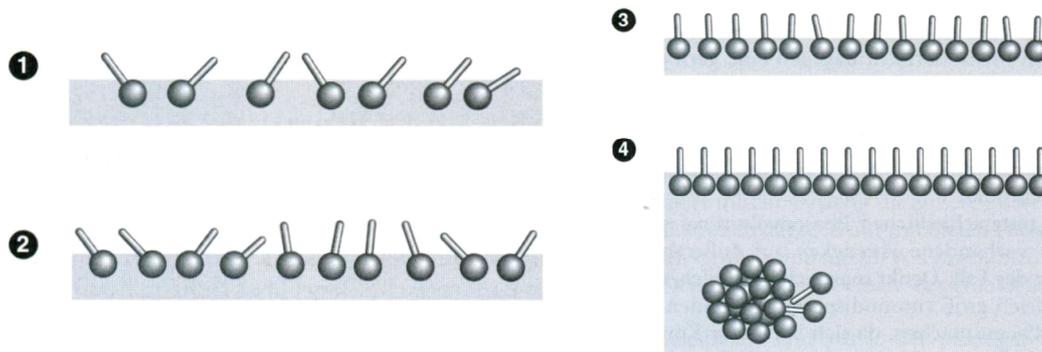


Abb. 7 Anreicherung von Tensidmolekülen an der Oberfläche [1-3] und Mizellbildung [4] (29).

Die Anordnung der Tensidmoleküle an der eben beschriebenen Wasser-Luft-Grenzfläche lässt sich mit der Orientierung der Emulgatormoleküle an Öl-Wasser-Grenzflächen vergleichen (2). Der Emulgator ermöglicht durch Ausbildung eines Films um die dispergierten Tröpfchen die Bildung einer Emulsion (29).

Die Einteilung der Emulgatoren erfolgt nach der Art und Anzahl der hydrophilen und lipophilen Gruppen im Molekül. Die Tenside lassen sich in die nichtionogenen und ionogenen Tenside unterteilen. Bei den ionogenen Tensiden unterscheidet man den anionischen, kationischen und amphoteren Typ (19).



Abb. 8 Schematischer Aufbau der Emulgatortypen (29).

Parameter, die Tenside näher definieren, sind das HLB⁷-System und die Bancroft'sche Regel. Die Bancroft'sche Regel besagt, dass in einer Emulsion die Phase zur äußeren Phase wird, in der sich der Emulgator besser löst (2). Das HLB-System klassifiziert nichtionische Tenside. Dabei wird einem Tensid aufgrund der Größe und Stärke seiner hydrophilen und lipophilen Gruppen ein Wert zugeteilt. Es kann damit eine Aussage darüber getroffen werden, für welchen Verwendungszweck

⁷ Hydrophilic-Lipophilic-Balance

das Tensid geeignet ist, das heißt ob es beispielsweise als O/W- oder W/O-Emulgator eingesetzt werden kann (17, 19, 27).

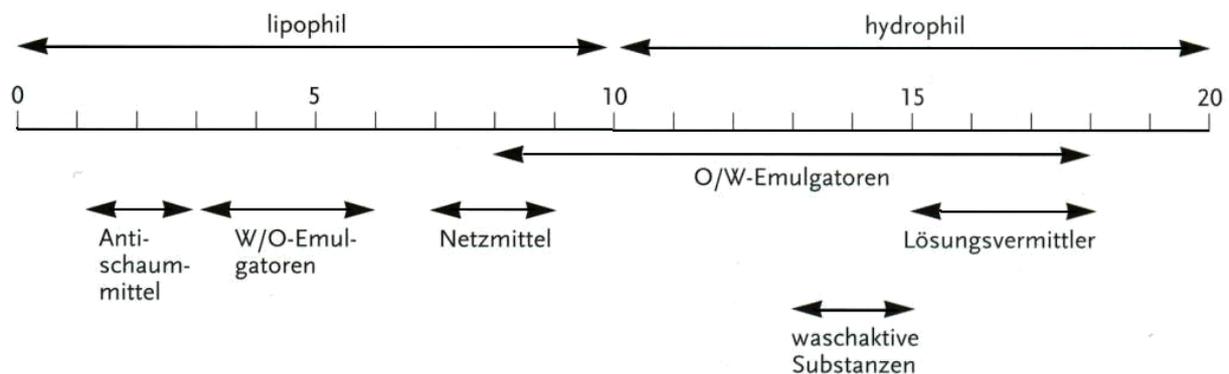


Abb. 9 HLB-System (17).

2.3.2.2. Lecithin

Lecithine sind Naturstoffe und gehören zur Gruppe der Glycerophospholipide, auch Phosphoglyceride genannt. Es handelt sich dabei um fett- bis wachsähnliche Substanzen, die man Lipoide nennt (19).

Phosphoglyceride sind Ester der Phosphatidsäure. Ist die Phosphatgruppe mit Cholin verestert, so spricht man von Phosphatidylcholin. Als natürliche Bausteine in tierischen und pflanzlichen Membranen finden Lecithine weite Verbreitung (19). Sie stärken die Barrierefunktion der Haut und kontrollieren den natürlichen transepidermalen Wasserverlust (13).

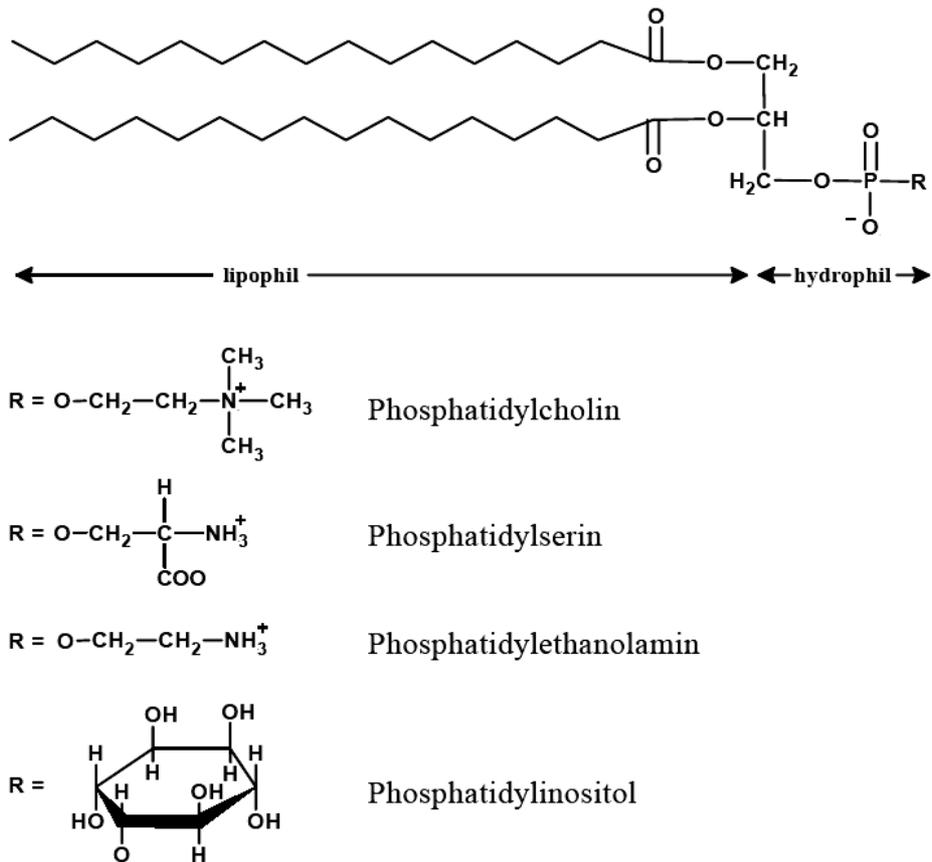


Abb. 10 Struktur der Phosphoglyceride (13).

Zur Herstellung der Submikronemulsionen wurde das phospholipidhaltige Emulgatorgemisch Lipoid E 80⁸ verwendet. Lipoid E 80 enthält neben Phosphatidylcholin Co-Emulgatoren wie Phosphatidylethanolamin, Lysophosphatidylcholin und Lysophosphatidylethanolamin. Solche Mischemulgatorsysteme besetzen die Grenzfläche optimal und sorgen so für eine hohe physikalische Stabilität der Submikronemulsionen (13). Es sind amphiphile Emulgatoren, das heißt es können je nach Menge der Wasser- oder Lipidphase W/O- oder O/W-Emulsionen gebildet werden (19). Darüber hinaus zeichnet sich das Gemisch durch eine sehr gute Hautverträglichkeit aus (13).

Tabelle 1 zeigt die Bestandteile sowie ihren prozentuellen Anteil am Emulgatorgemisch Lipoid E 80.

⁸ Fa. Lipoid GmbH, Ludwigshafen, Deutschland

Tab. 1 Zusammensetzung von Lipoid E 80.

Lipoid E 80	Prozentueller Anteil
Phosphatidylcholin	80-85%
Phosphatidylethanolamin	7-9,5%
Lysophosphatidylcholin	max. 3%
Lysophosphatidylethanolamin	max. 0,5%

2.3.2.3. Saccharosefettsäureester („Zuckertenside“)

Saccharosefettsäureester⁹ sind nichtionogene Tenside aus der Gruppe der „Zuckertenside“ (19). Tenside auf Zuckerbasis sind von großem Interesse, da sie in ihrer Herstellung sehr preisgünstig sind (17).

Chemisch gesehen handelt es sich um Gemische aus Mono- und Diestern von Saccharose mit Fettsäuren (19). Die Herstellung erfolgt durch Umesterung des entsprechenden Fettsäuremethylesters mit Saccharose. Als Fettsäuren kommen Stearinsäure, Ölsäure, Palmitinsäure, Myristinsäure oder Laurinsäure in Frage (17).

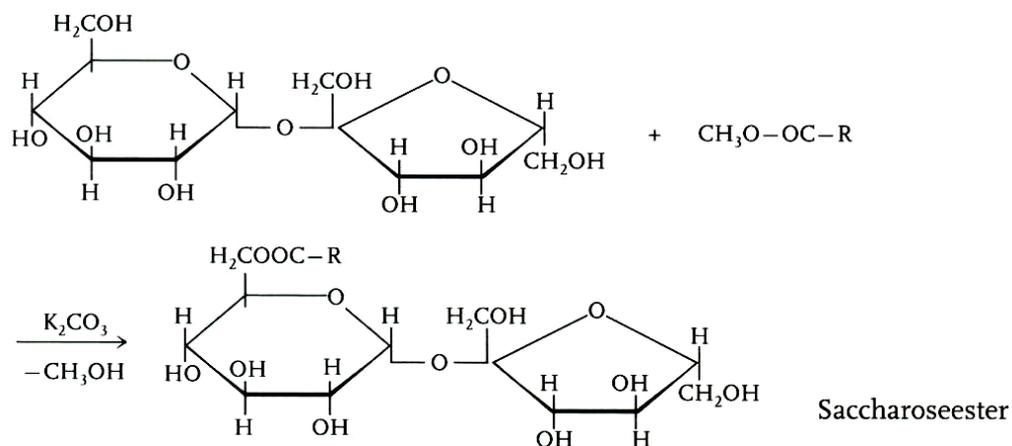


Abb. 11 Umesterung eines Fettsäuremethylesters mit Saccharose (17).

Zur Herstellung der vorliegenden Formulierungen wurde nach Vorversuchen das Saccharoseestergemisch S-970¹⁰ gewählt. Dieses Substanzgemisch enthält in erster Linie Stearatester und weist aufgrund seiner spezifischen Zusammensetzung einen HLB von 9 auf.

⁹ Sucroseester

¹⁰ Ryoto Sugar Ester, Fa. Mitsubishi Kagaku-Foods Corporation, Tokyo, Japan

Tab. 2 Zusammensetzung von S-970.

S-970	Prozentueller Anteil
Sucrosemonostearat	31-33%
Sucrostedistearat	20-22%
Sucrosemonopalmitat	11-13%
Sucrosetristearat	9-10%
andere Sucrosealkylate	18-25%

Als Co-Emulgatoren werden Zuckerestern in der wissenschaftlichen Literatur einige nützliche Wirkungen zugeschrieben. Zum einen können sie die Partikelgröße reduzieren und die Stabilität von Emulsionen verbessern (9), zum anderen wurde über eine permeationsfördernde Wirkung einiger Zuckerester berichtet (8). Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher unter anderem, die potentielle permeationsfördernde Wirkung von Saccharosestearat zu untersuchen. Zudem sollte gezeigt werden, ob Formulierungen mit Zuckerester auch über eine bessere Langzeitstabilität verfügen.

2.3.3. Cyclodextrine

2.3.3.1. Eigenschaften, Struktur und Gewinnung

Cyclodextrine sind ringförmige Oligosaccharide, die durch enzymatischen Abbau von Stärke hergestellt werden. Die Erzeugung erfolgt durch spezielle bakterielle Enzyme, sogenannte Cyclodextrin-Glycosyltransferasen, die beispielsweise in *Bacillus macerans* zu finden sind (30).

Die drei in größtem Umfang natürlich vorkommenden Cyclodextrine heißen Alpha-, Beta- und Gamma-Cyclodextrin. Sie bestehen aus sechs, sieben beziehungsweise acht Glucose-Bausteinen, die über α -1,4-glykosidische Bindungen verknüpft sind (30).

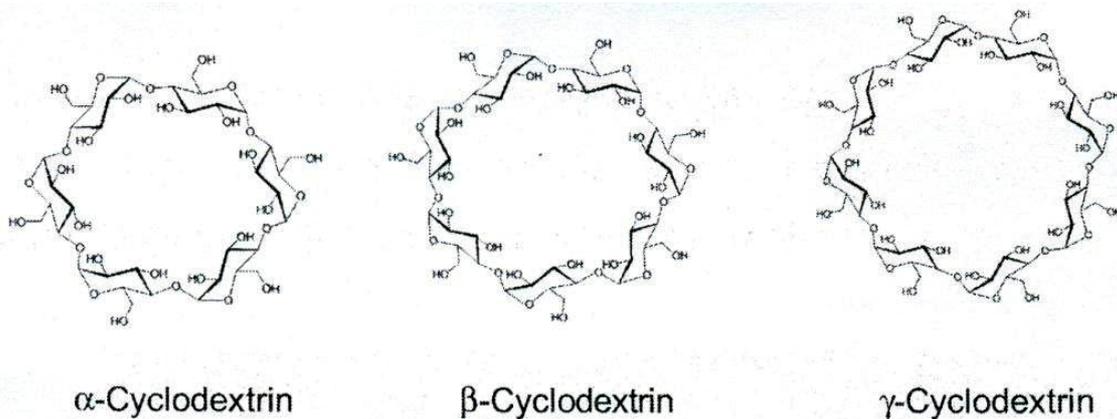


Abb. 12 Struktur der natürlichen Cyclodextrine Alpha, Beta und Gamma (30).

Die drei natürlichen Cyclodextrine weisen unterschiedliche physikalisch-chemische Eigenschaften auf, die in Tabelle 3 aufgelistet sind.

Tab. 3 Wichtige Kennzahlen der natürlichen Cyclodextrine (2, 30).

Eigenschaften	Alpha-Cyclodextrin	Beta-Cyclodextrin	Gamma-Cyclodextrin
Molekulargewicht	972	1135	1297
Innendurchmesser	0,57 nm	0,78 nm	0,95 nm
Außendurchmesser	1,37 nm	1,53 nm	1,69 nm
Ringhöhe	0,78 nm	0,78 nm	0,78 nm
Hohlraumvolumen	174 ml/mol	262 ml/mol	472 ml/mol
Löslichkeit in Wasser	14,5 g/100 ml	1,85 g/100 ml	23,2 g/100 ml
Schmelzbereich	250-260 °C	255-265 °C	240-245 °C

Da die vergleichsweise mangelhafte Wasserlöslichkeit der natürlichen Cyclodextrine, insbesondere des Beta-Cyclodextrins, ihre Anwendung in vielen Bereichen einschränkt, wurden zahlreiche Derivate mit veränderten physikalisch-chemischen Eigenschaften synthetisiert (31). Als häufig verwendete Beispiele sind hierbei hydroxyalkylierte Verbindungen wie Hydroxypropyl-Beta-Cyclodextrin, methylierte Verbindungen wie Methyl-Beta-Cyclodextrin und Sulfobutylether-Beta-Cyclodextrin zu nennen (32).

Die Form der Cyclodextrine entspricht einem abgeschnittenen Hohlkegel. Daher werden sie oft als „molekulare Zuckertüten“ bezeichnet. Das Äußere dieses hohlen Konus ist aufgrund von Hydroxylgruppen hydrophil, während der innere Hohlraum des Konus lipophile Eigenschaften aufweist. Diese lipophile Kavität bedingt die besondere Eigenschaft der Moleküle, nicht-kovalente Einschlussverbindungen mit geeigneten lipophilen Gastmolekülen zu bilden. Die Kräfte, die zwischen dem Wirt- und dem Gastmolekül wirken, sind vorrangig Van-der-Waals-Kräfte und hydrophobe Wechselwirkungen. Auch die Ausbildung von Wasserstoffbrücken spielt eine bedeutende Rolle (33).

In der Kavität der freien, das heißt unbesetzten, Cyclodextrine befinden sich Wassermoleküle. Durch die Komplexbildung eines lipophilen Gastmoleküls werden die Wassermoleküle aus dem Hohlraum verdrängt, wodurch die Entropie zunimmt. Die treibende Kraft für die Komplexbildung ist neben dieser Entropiezunahme eine Abnahme der Ringspannung. Dies führt zu einem energetisch stabileren Zustand des Wirt-Gast-Komplexes (30, 33).

2.3.3.2. Historisches und regulatorischer Status

Bereits 1891 gelang dem französischen Wissenschaftler Villiers die Isolierung von Cyclodextrinen aus Stärke. Die Aufklärung der cyclischen Struktur des Alpha- und Beta-Cyclodextrins geht auf den österreichischen Mikrobiologen Franz Schardinger im Jahr 1903 zurück. Das Gamma-Cyclodextrin wurde erst Mitte der Dreißigerjahre entdeckt (30, 31, 33).

Die industrielle Nutzung der Cyclodextrine war über viele Jahre hin fraglich. Zum einen war die Herstellung sehr teuer und nur in kleinem Maßstab durchführbar, zum anderen gab es lange Zeit Unsicherheiten bezüglich der Toxizität der Cyclodextrine (31, 33).

Studien haben gezeigt, dass Cyclodextrine aufgrund ihrer Hydrophilie und ihres hohen Molekulargewichtes nicht durch lipophile Membranen wie die Haut oder die Schleimhaut des Gastrointestinaltrakts permeieren können. Daher wird die Anwendung von Cyclodextrinen in Formulierungen für die orale oder dermale

Anwendung als sicher angesehen. In der parenteralen Verabreichung finden in erster Linie Cyclodextrinderivate eine Anwendung (31, 33).

Der regulatorische Status der verschiedenen Cyclodextrine befindet sich in ständiger Weiterentwicklung (31). Für bestimmte Anwendungen erhielten Beta- und Gamma-Cyclodextrin bereits GRAS¹¹-Status als Hilfsstoff (30). Zudem sind Alpha- und Beta-Cyclodextrin bereits im Europäischen Arzneibuch¹² zu finden (31).

Seit Beginn der großtechnischen Herstellung von Cyclodextrinen ab Mitte der Siebzigerjahre stoßen diese vielseitig einsetzbaren Hilfsstoffe auch in den verschiedensten Industriebereichen auf reges Interesse (33).

2.3.3.3. Anwendung von Cyclodextrinen

2.3.3.3.1. Gängige Anwendungen

Aufgrund ihrer besonderen Eigenschaften und der sich daraus ergebenden Anwendungsmöglichkeiten werden Cyclodextrine in unterschiedlichen Bereichen eingesetzt (30).

Durch die Komplexierung mit Cyclodextrinen werden die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Gastmoleküle verändert. Dies kann auf verschiedenste Weise von Nutzen sein. Insbesondere kann so die Wasserlöslichkeit von lipophilen Stoffen erhöht werden, da Cyclodextrine selbst ausreichend gut in Wasser löslich sind und ihre Gastmoleküle solubilisieren. Weiters wirken sie als Stabilisatoren für empfindliche Substanzen, da sie ihre Gastmoleküle unter anderem vor Licht, Temperatur, Oxidation oder Hydrolyse schützen. Zudem können Cyclodextrine flüchtige Substanzen binden und auf diese Weise unangenehmen Geruch oder Geschmack vermindern oder aber erwünschte Aromen über einen längeren Zeitraum freisetzen (30).

Nahrungsmittelindustrie

In diesem Bereich werden Cyclodextrine als Stabilisatoren von Fischölen und Vitaminen sowie zur Fixierung von Aromastoffen in Nahrungsmitteln eingesetzt.

¹¹ generally recognized as safe

¹² Pharmacopoea Europaea 6.4

Unerwünschte Bitterstoffe sowie Cholesterin können mit Hilfe von Cyclodextrinen aus Lebensmitteln entfernt werden (30).

Kosmetik

Im Bereich der Kosmetik finden Cyclodextrine vielfältige Verwendung. Sie wirken als Stabilisatoren für Substanzen in Haarfärbemitteln oder für Dihydroxyaceton in Selbstbräunungsmitteln. Darüber hinaus schließen Cyclodextrine Geschmacksstoffe in Zahnpasten oder Duftstoffe in Hautlotionen, Badezusätzen und Seifen ein (34).

Haushalt

Ein weit verbreitetes Beispiel für die Anwendung der Cyclodextrine im Haushalt sind Textilerfrischer und Waschmittel. Hier dienen Cyclodextrine dazu, Duftstoffe in Kleidung zu fixieren und über längere Zeit abzugeben, wodurch ein anhaltendes Gefühl der Frische vermittelt werden soll. Weiters wurden Textilien entwickelt, an deren Fasern Cyclodextrine fixiert sind. Diese dienen zum einen zur Abgabe von komplexierten Duftstoffen und zum anderen zur Aufnahme unangenehmer Gerüche in Folge des Schwitzens (30).

Pharmazie

Im Bereich der Pharmazie haben Cyclodextrine einige bewährte Hauptanwendungen. Sie dienen zur Stabilisation und zum Schutz von empfindlichen Arzneistoffen wie Prostaglandinen, Nitroglycerin oder Benzaldehyd. Zudem werden Cyclodextrine zur Maskierung des unangenehmen Geruchs von Knoblauchpräparaten eingesetzt. Eine weitere wichtige Anwendung ist die Solubilisation von Arzneistoffen. Durch die Komplexbildung wird deren Löslichkeit und Verteilung im Vehikel verbessert und dadurch eine höhere Bioverfügbarkeit erzielt (20, 35).

Im Bereich der dermalen und transdermalen Arzneistoffapplikation ist in Bezug auf Cyclodextrine noch wenig gesichertes Wissen etabliert. Zum einen haben Cyclodextrine einen Einfluss auf die Hautpermeation von Arzneistoffen, die sie je nach chemischen Eigenschaften der Arzneistoffe erhöhen, senken oder verzögern können (36). Zum anderen existiert ein Modell, das die Verwendung von

Cyclodextrinen als Stabilisatoren beziehungsweise als Emulgatoren in Mehrkomponentensystemen beschreibt (7).

2.3.3.3.2. Verwendung von Cyclodextrinen zur Stabilisierung von Emulsionen

Cyclodextrine können lipophile Gastmoleküle komplexieren, so auch Fettsäureketten oder Glyceride verschiedener Öle. Abhängig von der Kettenlänge der Fettsäuren können diese vollständig oder teilweise von Cyclodextrinen umschlossen werden. Dabei wird ein neuer, grenzflächenaktiver Molekülkomplex gebildet (7).

In Emulsionen lagern sich diese Molekülkomplexe aufgrund ihrer amphiphilen Struktur an der Öl-Wasser-Grenzfläche der Tröpfchen an. Die von den hydrophilen Cyclodextrinen umschlossenen Fettsäurereste orientieren sich zur Wasserphase, die unkomplexierten Fettsäureketten ragen in die Ölphase (37). Die Emulgatoren Lecithin und Saccharosestearat in den Formulierungen der vorliegenden Arbeit erhalten so Unterstützung durch diese neu gebildeten Grenzflächenstabilisatoren.

In der vorliegenden Arbeit wurden die natürlichen Cyclodextrine Alpha¹³ und Beta¹⁴ ausgewählt, um die Langzeitstabilität der hergestellten Submikronemulsionen zu optimieren.

2.3.4. Modellarzneistoff

2.3.4.1. Progesteron

2.3.4.1.1. Definition und Eigenschaften

Progesteron ist das physiologische Gelbkörperhormon. Es zählt als Hauptvertreter der Gestagene zu den Sexualhormonen und damit zur großen Gruppe der Steroidhormone (19, 38).

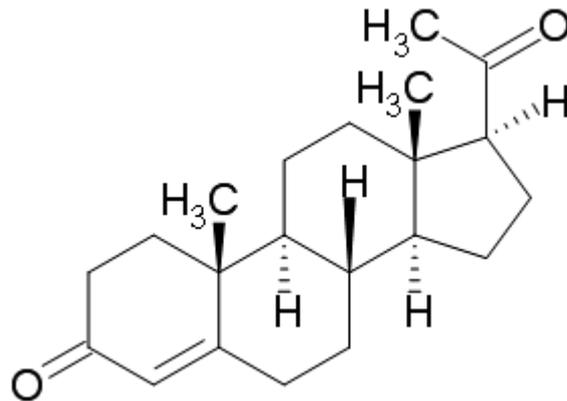
Progesteron wird vorwiegend im Corpus luteum, dem Gelbkörper des Ovars, daneben aber auch in der Plazenta und in der Nebenniere aus Pregnenolon gebildet. Die Metabolisierung und der Abbau erfolgen zum größten Teil über die Leber (38).

¹³ Cavamax W6, Fa. ISP, Köln, Deutschland

¹⁴ Kleptose Beta Cyclodextrin, Fa. Roquette Freres, Lestrem, Frankreich

Summenformel: $C_{21}H_{30}O_2$

Strukturformel:



Molekulargewicht: 315 g/mol

Schmelzpunkt: je nach polymorpher Struktur zwischen 100 und 131 °C

Log P: 4,0

Löslichkeit: Bei Progesteron handelt es sich um farblose bis schwach gelbe Kristalle beziehungsweise um kristallines Pulver. Es ist praktisch unlöslich in Wasser und schwer löslich in Ether, Aceton und fetten Ölen. In wasserfreiem Ethanol und Chloroform ist Progesteron dagegen leicht löslich (19).

Progesteron verfügt über eine hohe Lipophilie sowie eine beachtliche Molekülgröße. Diese Eigenschaften erschweren die Verarbeitung in Formulierungen und die transdermale Verabreichung.

2.3.4.1.2. Pharmakologische Wirkung

Wie alle Sexualhormone wirkt Progesteron über seinen spezifischen Steroidhormonrezeptor, den Progesteronrezeptor. Durch die Bindung des Progesterons an diesen intrazellulären Hormonrezeptor kommt es zu einer Komplexbildung zwischen Ligand, Rezeptor und DNA. In weiterer Folge wird durch eine Signaltransduktionskaskade die Genexpression verändert und führt zu den spezifischen Wirkungen dieses Hormons (38).

Progesteron ist neben Estradiol für die Steuerung des weiblichen Zyklus verantwortlich. Es beeinflusst den Auf- und Abbau der Gebärmutter Schleimhaut und schafft die Voraussetzung für die Einnistung eines befruchteten Eies. Weiters hat Progesteron schwangerschaftserhaltende Wirkung (19, 38).

2.3.4.1.3. Anwendung von Progesteron

Die Hauptanwendungsgebiete von Progesteron liegen in der hormonellen Kontrazeption und der postmenopausalen Hormonersatztherapie. Darüber hinaus wird es bei Menstruationsstörungen, wie dysfunktionellen Blutungen oder prämenstruellen Beschwerden, eingesetzt. Die übliche Applikation erfolgt oral, vaginal oder rektal. Man findet auch Hinweise, dass Progesteron dermal gegen Falten und Altershaut sowie transdermal bei menopausalen Beschwerden angewendet werden kann (39).

In der vorliegenden Arbeit wird Progesteron¹⁵ als lipophiler Modellarzneistoff für die Inkorporierung in Submikronemulsionen verwendet.

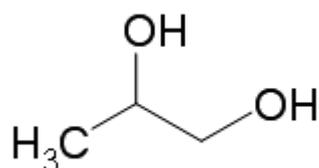
2.3.5. Lösungsvermittler

2.3.5.1. Propylenglykol

Propylenglykol ist eine farblose, klare und viskose Flüssigkeit mit süßlich-scharfem Geschmack (17). Es ist vielseitig verwendbar, beispielsweise fungiert es als Feuchthaltemittel, als Weichmacher in Filmüberzügen sowie als Lösungsvermittler. Bei einer Konzentration von 15 bis 20% zeigt sich eine pH-unabhängige konservierende Wirkung. Propylenglykol verbessert die Penetration von Wirkstoffen durch die Haut und wird daher auch als Permeationenhancer eingesetzt (19, 27).

Summenformel: C₃H₈O₂

Strukturformel:



¹⁵ Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland

Molekulargewicht: 76 g/mol

Siedepunkt: 188,2 °C

Log P: -1,3

Löslichkeit: Propylenglykol ist löslich in Ether, unlöslich dagegen in Kohlenwasserstoffen, fetten Ölen und Silikonölen. Es lässt sich mit Wasser, Ethanol, Aceton, Chloroform und ätherischen Ölen mischen (28).

In den im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Formulierungen soll Propylenglykol¹⁶ vorrangig die Löslichkeit des lipophilen Modellarzneistoffs Progesteron erhöhen. Es dient also in erster Linie als Solubilisator.

2.3.6. Ladungsträger

2.3.6.1. Phytosphingosin

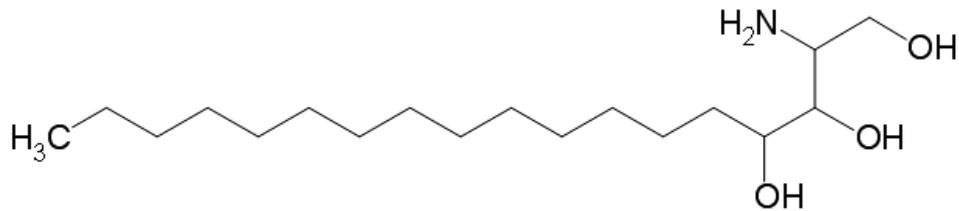
Ceramide bauen gemeinsam mit Cholesterin und freien Fettsäuren die Lipidmatrix des Stratum corneum auf. Bisher wurden neun verschiedene Ceramide identifiziert, die für die Barrierefunktion der Haut essentiell sind. Diese neun Ceramide unterscheiden sich in ihrer strukturellen Zusammensetzung. Eine Sphingoidbase ist mit einer Fettsäure verknüpft, wobei die Fettsäure in Typ und Kettenlänge variieren kann. Bei den Sphingoidbasen unterscheidet man Sphingosin, 6-Hydroxysphingosin und Phytosphingosin (40).

Phytosphingosin ist ein langkettiger Aminoalkohol, der sowohl als Bestandteil bestimmter Ceramide als auch in freier Form in großer Menge im Stratum corneum vorhanden ist. Die Aminogruppe der freien Base liegt im physiologischen pH-Bereich der Haut in protonierter Form vor (13).

Summenformel: C₁₈H₃₉NO₃

¹⁶ Fa. W. Pauli GmbH & Co. KG, Wien, Österreich

Strukturformel:



Molekulargewicht: 317 g/mol

Schmelzbereich: 102-107 °C

Log P: 5,2

Löslichkeit: Bei Phytosphingosin handelt es sich um ein weißes, kristallines, fast geruchloses Pulver, das kaum in Wasser löslich ist (41).

Ein Mangel an Ceramiden, insbesondere jener Verbindungen, die Phytosphingosin als Base enthalten, führt zur Schädigung der Barrierefunktion und zum Austrocknen der Haut. Phytosphingosin ist daher für die Schutzfunktion der Haut sehr wichtig. Es wirkt zudem als Vermittler von zellulären Signalen und bewirkt so die Differenzierung der Epidermiszellen. Phytosphingosin wirkt des Weiteren immunmodulierend, antimikrobiell und antiinflammatorisch (13, 41, 42).

Aufgrund seiner positiven Eigenschaften kann Phytosphingosin vielseitig angewendet werden. Die topische Anwendung bei Akne, entzündeter, geröteter oder sonnengeschädigter Haut ist sehr vielversprechend (41).

Die Epithelzellen der Haut tragen an ihrer Oberfläche aufgrund ihrer Aminosäurezusammensetzung eine negative Ladung. In einigen Studien wurde gezeigt, dass positiv geladene Submikronemulsionen die Hautpermeation erhöhen können. Dies ist durch eine bessere Interaktion der Tröpfchen mit der Haut bedingt (10, 11, 12). Da es ein Ziel der vorliegenden Arbeit war, möglichst hautfreundliche Formulierungen herzustellen, wurde Phytosphingosin¹⁷ mit seinen herausragenden Eigenschaften als Ladungsträger der Submikronemulsionen gewählt.

¹⁷ Fa. Evonik Goldschmidt GmbH (vorm. Degussa), Essen, Deutschland

2.3.7. Konservierungsmittel

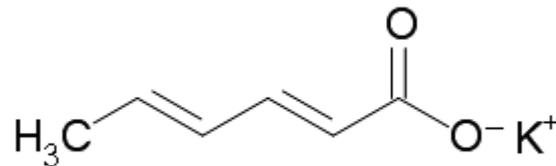
2.3.7.1. Kaliumsorbat

Kaliumsorbat ist das Kaliumsalz der Sorbinsäure. Es handelt sich dabei um ein weißes Pulver mit charakteristischem Geruch. Kaliumsorbat wird wie Sorbinsäure als Konservierungsmittel eingesetzt. Da nur die undissoziierte Form des Salzes wirksam ist, liegt das Wirkungsoptimum im sauren pH-Bereich unter 6,5 (21, 28).

In den Früchten der Eberesche, den Vogelbeeren, kommt Sorbinsäure als Inhaltsstoff vor (19). Aufgrund seiner geringen Toxizität kann es auch in Lebensmitteln eingesetzt werden (21). Um die Wasserlöslichkeit zu erhöhen und damit die Handhabung zu erleichtern werden häufig verschiedene Salze der Sorbinsäure verwendet (19).

Summenformel: $C_6H_7KO_2$

Strukturformel:



Molekulargewicht: 150 g/mol

Schmelzpunkt: 270 °C

Log P: 1,4

Löslichkeit: Kaliumsorbat ist gut löslich in Wasser und Propylenglykol, aber praktisch unlöslich in fetten Ölen (28).

Kaliumsorbat¹⁸ fungiert in den im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Formulierungen als Konservierungsmittel.

¹⁸ Kreis-Apotheke "Zum schwarzen Adler", Korneuburg, Österreich

2.3.8. Antioxidans

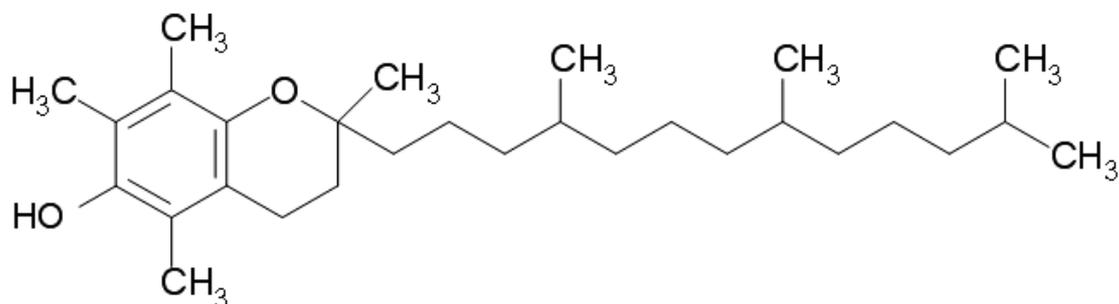
2.3.8.1. Alpha-Tocopherol

Alpha-Tocopherol gehört zur Gruppe der E-Vitamine. Es handelt sich dabei um Verbindungen, die aus einem Chromanring und einer Isoprenoidseitenkette bestehen. Die acht natürlich vorkommenden Vitamin E-Derivate unterscheiden sich in der Anzahl und Stellung der Methylgruppen an diesem Chromanring (19, 21).

Die wichtigste Verbindung neben Beta-, Gamma- und Delta-Tocopherol ist das Alpha-Tocopherol. Alpha-Tocopherol ist ein Bestandteil von Getreidekeimölen und anderen fetten Ölen sowie von Milch, Eidotter, Salat und Spinat. Im menschlichen Körper kommt es vor allem in der Muskulatur, der Plazenta, der Muttermilch und in der Hypophyse vor (19, 21).

Summenformel: $C_{29}H_{50}O_2$

Strukturformel:



Molekulargewicht: 431 g/mol

Erstarrungspunkt: 0 °C

Löslichkeit: Bei Alpha-Tocopherol handelt es sich um ein klares, blassgelbes, geruchloses Öl. Es ist leicht löslich in organischen Lösungsmitteln wie Ethanol und Methanol, aber praktisch unlöslich in Wasser (19).

Die biologische Wirkung von Alpha-Tocopherol ist noch nicht zur Gänze geklärt. Als gesichert gilt allerdings der Schutz von Fettsäuren in Lipidmembranen vor Oxidation.

Es kann daher als natürliches Antioxidans für Fette, Öle und ölige Zubereitungen eingesetzt werden (19, 28). Antioxidantien können bereits in geringer Konzentration Oxidationsprozesse und Autooxidation verhindern oder unterbrechen (28). Darüber hinaus wird Alpha-Tocopherol bei dermalen Anwendung eine zellerneuernde und bindegewebsfestigende Wirkung zugeschrieben. Zudem wird es häufig angewendet, um den Feuchtigkeitsgehalt der Haut zu verbessern (21).

Alpha-Tocopherol¹⁹ wird in den vorliegenden Formulierungen als Oxidationsschutz der Fettphase eingesetzt.

¹⁹ Fa. Dr. Temt, Wien, Österreich

3. METHODEN UND VERWENDETE MATERIALIEN

3.1. Herstellung der Submikronemulsionen

3.1.1. Herstellung der Mischungen

3.1.1.1. Praktische Vorgehensweise

Nach umfangreichen Vorversuchen wurde eine allgemeine Rezeptur zur Herstellung der Submikronemulsionen erstellt.

Tab. 4 Allgemeine Rezeptur der Submikronemulsionen inklusive variabler Zusätze.

Phasen	Komponenten	%	g
Ölphase	PCL liquid	20	6
	Lipoid E 80	4	1,2
	Alpha-Tocopherol	1	0,3
	Propylenglykol	3	0,9
	Progesteron	1	0,3
<i>optional</i>	<i>Phytosphingosin</i>	<i>0,1</i>	<i>0,03</i>
Wasserphase			
<i>optional</i>	<i>Zuckerester S-970</i>	<i>1</i>	<i>0,3</i>
	Beta-Cyclodextrin oder Alpha-Cyclodextrin	0,5	0,15
	Kaliumsorbat	0,01	0,03
	Aqua dest.	ad 100	ad 30

Die allgemeine Rezeptur wurde jeweils entweder durch den Zuckerester S-970, durch Phytosphingosin oder durch beide Substanzen erweitert. Daraus ergaben sich für jedes Cyclodextrin vier verschiedene Rezepturen, wobei in einem Herstellungsvorgang jeweils drei Mischungen einer Rezeptur (n=3) erzeugt wurden.

Die Zusammensetzungen der Submikronemulsionen und die in der weiteren Folge verwendeten Bezeichnungen sind in Tabelle 5 und 6 dargestellt.

Tab. 5 Zusammensetzung der Submikronemulsionen mit Alpha-Cyclodextrin sowie deren Nomenklierung.

Zubereitungen mit Alpha-Cyclodextrin	Bezeichnung
Allgemeine Rezeptur mit Alpha-Cyclodextrin	A-Prog
Allgemeine Rezeptur mit Alpha-Cyclodextrin und Saccharosestearat ²⁰	A-S-Prog
Allgemeine Rezeptur mit Alpha-Cyclodextrin und Phytosphingosin	A-PS-Prog
Allgemeine Rezeptur mit Alpha-Cyclodextrin, Saccharosestearat und Phytosphingosin	A-S-PS-Prog

Tab. 6 Zusammensetzung der Submikronemulsionen mit Beta-Cyclodextrin sowie deren Nomenklierung.

Zubereitungen mit Beta-Cyclodextrin	Bezeichnung
Allgemeine Rezeptur mit Beta-Cyclodextrin	B-Prog
Allgemeine Rezeptur mit Beta-Cyclodextrin und Saccharosestearat	B-S-Prog
Allgemeine Rezeptur mit Beta-Cyclodextrin und Phytosphingosin	B-PS-Prog
Allgemeine Rezeptur mit Beta-Cyclodextrin, Saccharosestearat und Phytosphingosin	B-S-PS-Prog

Herstellung

Die Arbeitsvorschrift lautete folgendermaßen:

Die Herstellung der Ölphase erfolgt getrennt von der Wasserphase. Das Lipoid E 80 wird auf einer Analysenwaage²¹ in ein Becherglas eingewogen. Nach Zugabe von PCL liquid sowie eines Magnetrührstäbchens wird das Becherglas mit Parafilm und Aluminiumfolie gut verschlossen. Dies soll zum einen eine Verunreinigung der Mischung verhindern, zum anderen einem möglichen Siedeverzug entgegen wirken.

²⁰ Ryoto Sugar Ester S-970

²¹ Sartorius MC 210P

Die Mischung wird auf einer beheizten Magnetrührplatte²² bei 800 Umdrehungen pro Minute (rpm²³) und einer Temperatur zwischen 50-60 °C gerührt. Da die Temperatur einen Einfluss auf die Eigenschaften des Endprodukts haben kann, wird sie möglichst konstant gehalten. Lipoid E 80 benötigt rund 90 Minuten, um sich zu lösen.

Nun kann optional Phytosphingosin zugewogen werden. Erst wenn sich diese schwerlösliche Base vollständig in der Ölphase gelöst hat, kann mit den weiteren Arbeitsschritten fortgefahren werden. Der Lösevorgang kann bis zu zwei Stunden in Anspruch nehmen.

Anschließend wird Propylenglykol hinzugefügt und kurz eingerührt. Progesteron wird auf einem Kartenblatt genau eingewogen und der Mischung beigemischt. Erst wenn der Arzneistoff nach rund 90 Minuten vollständig gelöst ist, wird Alpha-Tocopherol hinzugefügt. Da Alpha-Tocopherol nicht sehr hitzebeständig ist, wird bei Raumtemperatur weitere 5-10 Minuten lang gerührt.



Abb. 13 Ölphase.

Die zugehörige Wasserphase wird parallel zur Ölphase vorbereitet.

Hierfür wird frisch hergestelltes destilliertes Wasser²⁴ durch einen Keimfilter mit einer Porenweite von 0,22 µm filtriert und in ein Becherglas eingewogen. Der Zuckerester S-970 wird auf einem Kartenblatt abgewogen und zum Wasser hinzugefügt. Nach Zugabe eines Magnetrührstäbchens wird die Mischung auf einer Magnetrührplatte bei Raumtemperatur homogenisiert.

²² Magnetrührer Heidolph, Typ MR3001K

²³ rounds per minute

²⁴ IKA-DEST M2000

Sobald der Zuckerester im Wasser kolloidal-schleimig gelöst ist, wird das Cyclodextrin am Kartenblatt eingewogen und der Wasserphase zugegeben. Bei Formulierungen, die keinen Zuckerester enthalten, erfolgt die Zugabe des Cyclodextrins unmittelbar zum destillierten Wasser. Liegt das Cyclodextrin vollständig gelöst in der Wasserphase vor, so wird Kaliumsorbat am Kartenblatt abgewogen und zugefügt.

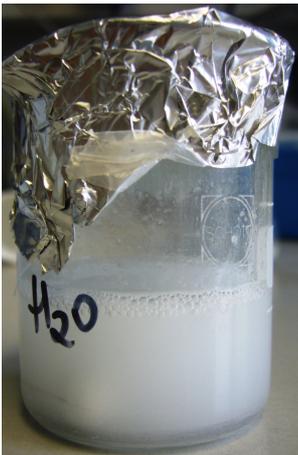


Abb. 14 Wasserphase mit S-970.



Abb. 15 Wasserphase ohne S-970.

Die beiden noch getrennt vorliegenden Phasen werden nun 20 Minuten lang gerührt. Die Wasserphase wird anschließend durch Erwärmen auf annähernd gleiche Temperatur mit der Ölphase gebracht. Schließlich erfolgt unter Rühren die Zugabe der Wasserphase zur Ölphase. Die so entstandene Makroemulsion wird unter weiterem Rühren 20 Minuten lang auf eine Temperatur von rund 50 °C erwärmt.



Abb. 16 Makroemulsion.

3.1.2. Vorhomogenisierung

3.1.2.1. Der Ultra-Turrax

Der Ultra-Turrax ist ein Hochleistungsdispergiergerät, das zur Homogenisierung und Dispergierung von mehrphasigen Stoffsystemen verwendet wird. Es funktioniert nach dem Rotor-Stator-Prinzip (2, 19).

Der äußere Teil des Rührkopfes besitzt schlitzförmige Öffnungen und stellt den Stator des Ultra-Turrax dar. Der innere, rotierende Teil saugt die zu homogenisierende Mischung in eine Wirbelkammer an. Dort wirken hochfrequente Scher-, Schlag- und Prallkräfte auf das Mischgut ein. Der Rotor drückt das Produkt laufend durch die Schlitze im Stator und saugt es wieder an. Durch diesen Vorgang kann eine effiziente Zerkleinerung und zugleich Homogenisierung des Mischgutes erfolgen (2, 17).

Ultra-Turrax-Geräte stehen sowohl für den Laborbedarf als auch für die industrielle Verwendung in verschiedenen Größen zur Verfügung (17).

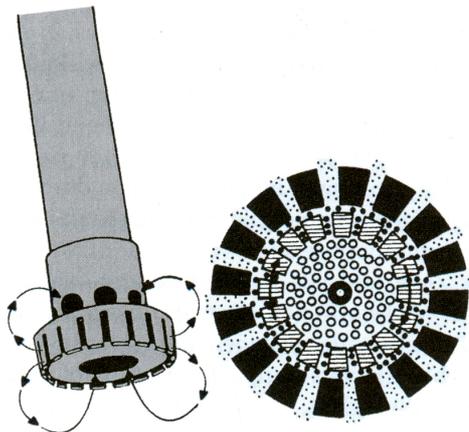


Abb. 17 Schematischer Aufbau eines Ultra-Turrax (17).



Abb. 18 Ultra-Turrax OMNI 5000.

3.1.2.2. Praktische Vorgehensweise

Nach Entfernen des Magnetrührstäbchens wird die erwärmte Mischung der beiden Phasen vier Minuten lang bei 2500 rpm mit dem Ultra-Turrax²⁵ vorhomogenisiert. Das Becherglas soll dabei laufend bewegt werden.

Nun wird die Emulsion ein weiteres Mal unter Rühren auf 50 °C erwärmt und anschließend rasch mit dem Hochdruckhomogenisator weiterverarbeitet.

3.1.3. Hochdruckhomogenisierung

3.1.3.1 Der Hochdruckhomogenisator

Hochdruckhomogenisatoren können eingesetzt werden, um besonders stabile feindisperse Emulsionen herzustellen (17, 19). Sie finden zahlreiche Verwendung in der pharmazeutischen, chemischen, biotechnologischen, Lebensmittel- sowie kosmetischen Industrie. Je nach Bedarf in Industrie oder Labor gibt es diese Homogenisatoren in unterschiedlichen Ausführungen (43).

Das dem Hochdruckhomogenisator zugrundeliegende Prinzip nennt man Kolben-Spalt-Homogenisation (19). Das voremulgierte Dispergiertgut wird dabei mit einer Pumpe unter hohem Druck durch einen engen Spalt in einem speziellen Homogenisationsventil gepresst. Durch die hohe Strömungsgeschwindigkeit der Flüssigkeit kommt es lokal zur Ausbildung von Zonen, an denen der Druck abfällt. Fällt der lokale Druck über einer Flüssigkeit unter den Dampfdruck dieser Flüssigkeit, so verändert sich ihr Aggregatzustand. Bei diesem Phasenübergang kommt es zur Ausbildung winziger Bläschen, die mit der Gas- oder Dampfform der Flüssigkeit gefüllt sind. Diese Bläschen kollabieren und implodieren, wenn sie in Regionen weiterbewegt werden, an denen der lokale Druck den Dampfdruck der Flüssigkeit übersteigt. Dabei werden umgebende Partikel in Richtung des Zentrums der kollabierenden Bläschen beschleunigt, wodurch diese zerkleinert oder sogar zerstört werden. Dieses Phänomen nennt man Kavitation und ist mutmaßlich der Hauptgrund für die Reduktion der Partikelgröße. Zusätzlich treten auch Scherprozesse und Kollisionen auf, die zur Partikelverkleinerung beitragen (43). Je nach Gerät kann der Arbeitsdruck bis zu 2000 bar betragen (44).

²⁵ OMNI 5000 International

3.1.3.2. Praktische Vorgehensweise

In Vorversuchen der Arbeitsgruppe wurden der optimale Arbeitsdruck und die Anzahl der Homogenisationszyklen ermittelt.

Die erwärmte Emulsion wird mit dem Hochdruckhomogenisator²⁶ bei einem Druck von rund 750 bar 12 Minuten lang homogenisiert. Das entspricht in etwa 16 Homogenisationszyklen.



Abb. 19 Hochdruckhomogenisator EmulsiFlex-C3.

Im Anschluss an die Hochdruckhomogenisation erfolgt eine erste Charakterisierung der entstandenen Submikronemulsion.



Abb. 20 Submikronemulsion.

²⁶ EmulsiFlex-C3, Fa. Avestin, Mannheim, Deutschland

3.2. Charakterisierung der Submikronemulsionen

Zur Charakterisierung der physikalischen Stabilität der Submikronemulsionen wurden die Teilchengröße, der Polydispersitätsindex²⁷ sowie das Zetapotential vermessen. Auch der pH-Wert gibt Aufschluss über die Haltbarkeit der Formulierungen.

Des Weiteren wurde der Gehalt an Progesteron bestimmt, um eine Aussage über die chemische Stabilität treffen zu können.

3.2.1. Bestimmung von Teilchengröße und Polydispersitätsindex

3.2.1.1. Allgemeines

Die Bestimmung der Teilchengröße findet in vielen Bereichen der Pharmazie eine Anwendung. Sie erlaubt die Charakterisierung von Pulvern, Suspensionen, Emulsionen sowie kolloidalen Arzneistoffträgersystemen. Zudem wird die Teilchengrößenmessung in der Industrie zur Qualitätsprüfung, Produktcharakterisierung und -entwicklung, Inprozesskontrolle sowie zu Untersuchungen zur physikalischen Lagerstabilität genutzt (45).

Die Teilchengröße der Formulierungen der vorliegenden Arbeit gibt Auskunft über die Genauigkeit der Herstellungsmethode, die Einheitlichkeit und Reproduzierbarkeit der Formulierungen sowie den Einfluss verschiedener Komponenten, insbesondere des Modellarzneistoffs, auf die Eigenschaften der Mischung.

Weiters ist die Breite der Partikelgrößenverteilung von Interesse, da sie Aufschluss über die Homogenität der Formulierungen gibt. Der wichtigste Parameter in diesem Zusammenhang ist der Polydispersitätsindex (45).

3.2.1.2. Photonenkorrelationsspektroskopie

Die Photonenkorrelationsspektroskopie²⁸ ist das der Teilchengrößenbestimmung zugrunde liegende Verfahren. Es handelt sich dabei um ein dynamisches Streulichtverfahren (Dynamic light scattering²⁹), das die Detektion von Partikeln mit

²⁷ PDI

²⁸ PCS

²⁹ DLS

einer Größe im Submikronbereich ermöglicht. Trifft ein Lichtstrahl auf eine Grenzfläche zwischen zwei Medien, die eine unterschiedliche optische Dichte aufweisen, so wird dieser zum Teil reflektiert und zum Teil gebrochen. Dieses Phänomen der Streuung macht man sich bei der Photonenkorrelationsspektroskopie zunutze (45, 46).

Teilchen in dispersen Systemen unterliegen der Brown'schen Molekularbewegung. Dabei handelt es sich um die ungerichtete Bewegung, die dispergierte Teilchen aufgrund der Stoßwirkung des sie umgebenden Dispersionsmediums aufweisen. Je größer die Teilchen sind, umso geringer ist die Geschwindigkeit mit der sie bewegt werden. Zur Bestimmung der Teilchengröße wird eine Probe mit Laserlicht beleuchtet. Das Laserlicht wird von den dispergierten Partikeln gestreut und detektiert. In Abhängigkeit der Brown'schen Bewegung der Teilchen schwankt die Intensität des Streulichts. Diese zeitabhängigen Intensitätsveränderungen werden mit Hilfe eines Korrelators ausgewertet und erlauben einen Rückschluss auf die Brown'sche Molekularbewegung und somit auf die Teilchengröße (45, 46).

Neben dem mittleren Teilchendurchmesser erhält man bei der Teilchengrößenbestimmung den Polydispersitätsindex als Maß für die Breite der Teilchengrößenverteilung. Wie in Tabelle 7 zu sehen ist, liegt bei einem PDI zwischen 0,03 und 0,06 ein monodisperses System vor. Bei einem PDI zwischen 0,1 und 0,2 handelt es sich um eine Dispersion mit einer engen Größenverteilung, zwischen 0,25 und 0,5 spricht man von einer breiten Verteilung. Liegt der PDI über 0,5, so gilt das Messergebnis als nicht auswertbar (45).

Tab. 7 Einteilung der Größenverteilungsbreite anhand des PDI (45).

PDI	Größenverteilung
0,03 – 0,06	monodispers
0,10 – 0,20	eng
0,25 – 0,50	breit
> 0,50	nicht auswertbar

Um Mehrfachstreuungen zu vermeiden, müssen die zu vermessenden Proben verdünnt werden (45).

3.2.1.3. Praktische Vorgehensweise

Zur Probenvorbereitung wird ein Teil der Submikronemulsion mit 0,01 mMolarer Natriumchlorid³⁰-Lösung in einem Verhältnis von 1:100 verdünnt. Dazu werden 100 µl der auf Raumtemperatur gebrachten und gut homogenisierten Submikronemulsion mit der vorbereiteten NaCl-Lösung auf 10 ml aufgefüllt. Ein Teil der so aufbereiteten Probe wird nun mit dem ZetaSizer³¹ hinsichtlich ihrer Teilchengröße und ihres PDI vermessen. Die Vermessung von 1,5 ml Probe erfolgt in einer Kunststoffküvette³².

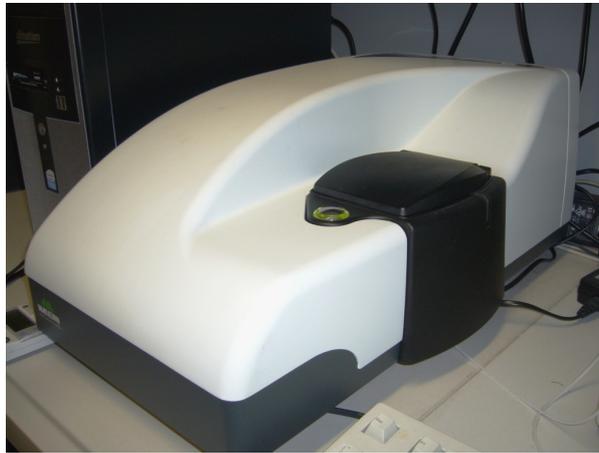


Abb. 21 ZetaSizer Nano ZS.

Die Untersuchung von Teilchengröße und PDI erfolgte jeweils sofort nach Herstellung und anschließend einmal wöchentlich 12 Wochen lang.

3.2.2. Zetapotential und Leitfähigkeit

3.2.2.1. Allgemeines

Das Zetapotential ist ein wesentlicher Parameter zur Charakterisierung der physikalischen Stabilität disperser Systeme. Teilchen, die in einer Flüssigkeit dispergiert vorliegen, tragen an ihrer Oberfläche eine Ladung (Nernst-Potential). Zur einfacheren Erläuterung des Zetapotentials wird im Folgenden von Partikeln mit einer negativen Oberflächenladung ausgegangen (47).

³⁰ NaCl

³¹ ZetaSizer Nano ZS, Malvern Instruments Ltd.

³² Semi-micro cuvette, Sterilin

An die negativ geladene Oberfläche eines dispergierten Teilchens lagern sich aufgrund von Van-der-Waals-Wechselwirkungen negativ geladene Ionen an, die dabei ihre Hydrathülle abstreifen. Die Hydrathülle von Anionen ist geringer ausgeprägt als die von Kationen, wodurch sie für Wechselwirkungen weniger stark abgeschirmt sind. Zudem sind Van-der-Waals-Kräfte elektrostatischen Kräften überlegen. Dadurch kann das paradoxe Phänomen der Adsorption von Anionen an einer negativ geladenen Teilchenoberfläche erklärt werden. Die so entstandene Monoschicht aus fixierten, dehydratisierten, negativ geladenen Ionen wird innere Helmholtz-Schicht genannt. An diese Schicht folgt die Anlagerung einer weiteren Monoschicht aus positiv geladenen Ionen. Die Kationen verlieren ihre Hydrathülle nicht und werden durch Van-der-Waals-Kräfte sowie durch elektrostatische Kräfte gebunden. Diese Schicht aus fixierten, hydratisierten, positiv geladenen Ionen wird als äußere Helmholtz-Schicht bezeichnet. Beide Schichten zusammen bilden die sogenannte Stern-Schicht (47).

Die positiv geladenen Ionen der äußeren Helmholtz-Schicht haben bedingt durch ihre Hydrathülle einen erhöhten Raumbedarf. Sie sind daher nicht in der Lage die negative Ladung der inneren Helmholtz-Schicht sowie der Teilchenoberfläche vollständig ausgleichen. Zur Kompensation des negativen Ladungsüberschusses bewegen sich positive Gegenionen in einer diffusen Schicht frei um das dispergierte Teilchen. Auch negativ geladene Ionen, sogenannte Co-Ionen, befinden sich in der diffusen Schicht. Die Konzentration der positiv geladenen Gegenionen nimmt mit zunehmender Entfernung zum dispergierten Teilchen ab, während die Konzentration an negativ geladenen Co-Ionen zunimmt, bis es schließlich zu einem Ladungsausgleich kommt. Nach außen hin erscheint das Teilchen elektrisch neutral (47).

Ein Teil der diffusen Schicht um die dispergierten Teilchen kann durch Diffusionsbewegung abgestreift werden, wodurch die Partikel ihre Neutralität verlieren und nach außen hin geladen sind. Legt man nun an eine Dispersion ein elektrisches Feld an, so beginnen die geladenen Teilchen in Richtung der entgegengesetzt geladenen Elektrode zu wandern. Dabei wirkt eine zunehmende Reibungskraft auf die Partikel, wodurch ein immer größerer Teil der diffusen Schicht abgestreift wird. Dies wiederum bewirkt einen Anstieg der Geschwindigkeit, mit der

sich die Teilchen im elektrischen Feld bewegen. Ist die Teilchengeschwindigkeit hoch genug, kann beinahe die gesamte diffuse Schicht abgestreift werden. Die Ladungsdifferenz, die an dieser Scherebene vorliegt, nennt man Zetapotential (47).

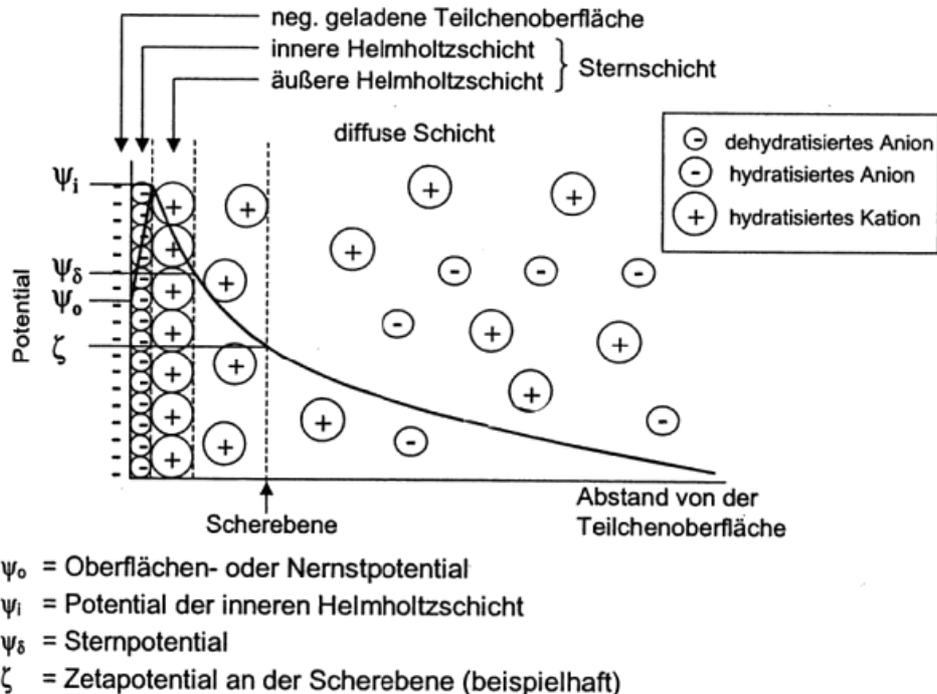


Abb. 22 Schematische Darstellung eines dispergierten Teilchens mit negativer Oberfläche und des Potentialverlaufs im Schichtenmodell (48).

Die Leitfähigkeit³³ besitzt einen wesentlichen Einfluss auf das Zetapotential. Durch Schwankungen der Leitfähigkeit im Messmedium, kann es bei der Bestimmung des Zetapotentials zu Abweichungen vom tatsächlichen Wert kommen. Insbesondere die Leitfähigkeit von destilliertem Wasser unterliegt je nach Qualität der Destillationsapparatur großen Schwankungen. Es wird daher empfohlen, mittels Zusatz von Elektrolyten, beispielsweise Natriumchlorid, die Leitfähigkeit des Verdünnungsmediums konstant zu halten. Dies ermöglicht zum einen eine hohe Empfindlichkeit der Messung des Zetapotentials und zum anderen eine Reproduzierbarkeit der Messergebnisse (47, 49).

3.2.2.2. Laser-Doppler-Anemometrie

Es ist möglich von der Teilchengeschwindigkeit durch ein elektrisches Feld auf das Zetapotential zu schließen. Die Bestimmung der Teilchengeschwindigkeit erfolgt

³³ Conductivity, Cond

mittels Laser-Doppler-Anemometrie. Trifft ein Laserstrahl auf sich in einem elektrischen Feld bewegende Teilchen, so wird dieser gestreut. Es kommt zu einer Frequenzverschiebung des gestreuten Lichtstrahls. Diese Frequenzverschiebung, auch Doppler-Effekt genannt, erfolgt in Abhängigkeit der Teilchengeschwindigkeit. Aus dieser gemessenen Frequenzverschiebung lässt sich die Teilchengeschwindigkeit berechnen (47).

3.2.2.3. Einfluss des Zetapotentials auf die physikalische Stabilität

Während des Lagerungszeitraums kann es bei instabilen Emulsionen zu einer Zunahme der Teilchengröße kommen. In den meisten Fällen ist diese Instabilität durch Koaleszenz bestimmt. Bei Koaleszenz handelt es sich um das Zusammenfließen kleiner Tröpfchen zu größeren. Häufig tritt auch Flotation, das heißt Aufrahmen der Emulsion, auf. Dabei steigen Öltröpfchen aus der dispergierten Phase an die Oberfläche der Emulsion auf und sammeln sich dort (47).

Solche Phänomene finden sich häufig in Systemen mit niedrigem Zetapotential. Die Stabilität disperser Systeme ist umso größer, je höher der Absolutwert des Zetapotentials ist. Eine hohe Oberflächenladung gleichsinnig geladener Teilchen in einer Dispersion bedeutet eine hohe elektrostatische Abstoßung und damit eine hervorragende Stabilisierung des Systems (47).

3.2.2.4. Praktische Vorgehensweise

Nach Vorversuchen, die Zetapotentialbestimmung in destilliertem Wasser betreffend, wurde eine 0,01 mMolare NaCl-Lösung als Messmedium für die Submikronemulsion gewählt. Diese gewährleistet im Vergleich zu destilliertem Wasser eine konstante Leitfähigkeit und somit genauere Messergebnisse.

Zur Probenvorbereitung werden 100 µl der zu vermessenden Submikronemulsion mit der NaCl-Lösung auf 10 ml aufgefüllt, das entspricht einer Verdünnung von 1:100. Die Bestimmung des Zetapotentials erfolgt wie die der Teilchengröße mittels ZetaSizer. Spezielle Zetapotentialküvetten³⁴ werden dazu luftblasenfrei mit der Probenlösung befüllt, verschlossen und sofort vermessen.

³⁴ Malvern Instruments Ltd.



Abb. 23 Zetapotentialküvette.

3.2.3. pH-Wert

3.2.3.1. pH-Wert und Stabilität

Bekanntermaßen kommt dem pH-Wert generell eine gewisse Aussagekraft über die Eigenschaften und in weiterer Folge auch über die Stabilität von Formulierungen zu. Daher ist es für die vorliegenden Mischungen von Interesse, den pH-Wert sowie dessen potentielle Veränderung während der Lagerung zu bestimmen.

3.2.3.2. Praktische Vorgehensweise

Die Vermessung des pH-Werts wird mit einer pH-Elektrode³⁵ durchgeführt und erfolgt direkt im Aufbewahrungsgefäß der Submikronemulsionen.

Der pH-Wert wurde einmal pro Woche über einen Zeitraum von 12 Wochen bestimmt.

³⁵ Orion Model 420A

3.2.4. Gehaltsbestimmung des Arzneistoffs und chemische Stabilität

3.2.4.1. Allgemeines

Die Gehaltsbestimmung des Modellarzneistoffs Progesteron gibt Aufschluss darüber, wie effizient dessen Inkorporierung in die Submikronemulsionen erfolgt ist. Während der Lagerung kann es durch äußere Einflüsse wie Luft, UV-Licht oder Keimeintrag zur Beeinträchtigung der Formulierungen kommen. Der Gehalt an Progesteron kann durch Abbau oder Aggregation abnehmen. Die Bestimmung der chemischen Stabilität gibt Auskunft darüber, ob und wie schnell ein Abbau des Arzneistoffs erfolgt.

3.2.4.2. Praktische Vorgehensweise

Die Gehaltsbestimmung erfolgte am Tag nach der Herstellung für eine ausgewählte Mischung jeder Charge. Über einen Zeitraum von 10 Wochen wurden Gehaltsbestimmungen durchgeführt, um eine Aussage über die chemische Stabilität treffen zu können. Die zur Gehaltsbestimmung ausgewählte Mischung wurde auch zur Bestimmung der chemischen Stabilität herangezogen.

Die Vorgehensweise wird im Folgenden erläutert:

Es werden pro Submikronemulsion vier Parallelbestimmungen durchgeführt (n=4). Dazu werden jeweils 10 mg der auf Raumtemperatur gebrachten und gut homogenisierten Submikronemulsion in ein Eppendorfgefäß eingewogen und mit Methanol auf 1 ml aufgefüllt. Die Mischung wird 30 Minuten lang geschüttelt³⁶ und anschließend sechs Minuten lang bei 12000 rpm zentrifugiert³⁷. Die nun gut homogenisierte Probenlösung wird in HPLC-Vials pipettiert und mit einer Bördelzange verschlossen.

Nun erfolgt die Bestimmung von Gehalt und chemischer Stabilität mittels HPLC-Analytik. Diese wird unter Punkt 3.4. näher erläutert.

³⁶ Eppendorf Thermomixer 5436

³⁷ Hermle Z323K

3.3. Permeationsstudien

Zur In-vitro-Untersuchung des Einflusses von Phytosphingosin und Saccharosestearat auf den transdermalen Transport von Progesteron wurde das Freisetzungsmodell nach Franz gewählt.

3.3.1. Freisetzungsmodell – Die Diffusionszelle nach Franz

Die Diffusionszelle nach Franz ist das am weitesten verbreitete und von der FDA³⁸ anerkannte In-vitro-Modell zur Untersuchung der Permeation aus Formulierungen zur Anwendung auf der Haut (50).

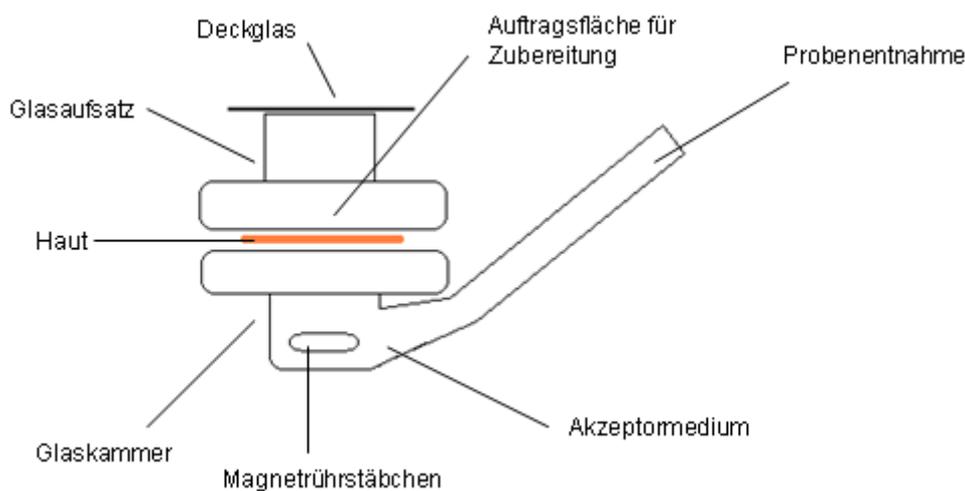


Abb. 24 Schematische Darstellung der Franz-Zelle.

Die Diffusionszelle besteht aus einer Glaskammer und einem ringförmigen Glasaufsatz. Die Glaskammer enthält das Akzeptormedium und ein Magnetührstäbchen. Dieses sorgt für eine ständige Durchmischung der Akzeptorflüssigkeit und verhindert das Auftreten von Diffusionsschichten. Auf dem Glasgefäß wird ein Hautstück so fixiert, dass die Unterseite der Haut zum Akzeptormedium zeigt. Ein Deckglas schützt die auf der Oberseite der Haut aufgetragene Formulierung vor Verdunstung und sorgt für gleichmäßige Hydratationsbedingungen. Durch die lange Glasöffnung können Proben aus der Akzeptorflüssigkeit gezogen werden (15, 17).

³⁸ Food and Drug Administration

3.3.2. Praktische Vorgehensweise

Zur Durchführung der Diffusionsstudien der vorliegenden Arbeit wurden jene Formulierungen herangezogen, die auch zur Vermessung von Gehalt und chemischer Stabilität verwendet wurden. Die Arbeitsvorschrift ist im Folgenden angeführt:

Für jede Formulierung werden sechs Franz-Diffusionszellen³⁹ (n=6) vorbereitet. Als Akzeptormedium wird ein frisch hergestelltes Propylenglykol-Wasser-Gemisch im Verhältnis 2:3 (40:60, G/G) gewählt, um Sink Conditions herzustellen. Bei der verwendeten Modellmembran handelt es sich um porcine Haut. Diese wird mit einem Dermatome⁴⁰ auf eine Dicke von 1,2 mm zugeschnitten und für eine längere Haltbarkeit tiefgekühlt. Die Barrierefunktion der Schweinehaut ist mit jener der menschlichen nahezu identisch, wodurch die Ergebnisse von Permeationsuntersuchungen in gewissem Maße vergleichbar sind (15).

Die Haut wird unmittelbar vor der Verwendung aufgetaut. Für jede Diffusionszelle wird ein passendes Hautstück auf eine Größe von etwa 1 cm² zurechtgeschnitten. Dieses Hautstück wird so zwischen die Glaskammer und den Glasring gelegt, dass die epidermale Seite nach oben zeigt. Anschließend fixiert man die beiden Glasteile mit einer Metallklammer, sodass kein Flüssigkeitsaustritt an den Rändern auftreten kann.

Nun legt man ein Magnetrührstäbchen in die Glaskammer und befüllt diese luftblasenfrei mit 2 ml Akzeptormedium. Nachdem die Apparatur auf ihre Dichtheit überprüft wurde, werden auf der Analysenwaage 0,6 g der Formulierung direkt auf die Hautfläche aufgetragen. Die Zellen werden nun mit einem Deckglas verschlossen und in einem Wasserbad⁴¹ auf eine Magnetrührplatte⁴² gestellt. Das Wasserbad wird auf 32 °C entsprechend der Hautoberflächentemperatur temperiert. Das Akzeptormedium wird bei rund 800 rpm gerührt.

³⁹ Fa. PermeGear, Pennsylvania, USA

⁴⁰ GB 228R, Aesculap

⁴¹ Wasserbad GFL®1092

⁴² Variomag, Telemodul 20P

Nach 2, 4, 6, 8, 24, 28, 32 und 48 Stunden erfolgt die Probenentnahme. Dazu werden 200 µl des Akzeptormediums entnommen und in ein Eppendorfgefäß pipettiert. Das fehlende Akzeptormedium wird umgehend durch frisches, auf 32 °C temperiertes Propylenglykol-Wasser-Gemisch ersetzt.



Abb. 25 Franz Zellen im temperierten Wasserbad.

Die entnommenen Proben werden nun bei 12000 Umdrehungen pro Minute sechs Minuten lang zentrifugiert. Von den jeweils 200 µl pipettiert man 180 µl in HPLC-Vials, um die Proben anschließend mittels HPLC zu analysieren.

3.3.3. Analytik

Die gezogenen Proben werden mittels HPLC-Analytik auf ihren Gehalt an Progesteron untersucht. So kann ermittelt werden, welche Menge an Progesteron durch die Modellmembran permeiert ist. Die Analysen-Methode sowie die genaue Vorgehensweise werden unter Punkt 3.4. beschrieben.

3.4. HPLC-Analytik

3.4.1. Methode zur Bestimmung von Progesteron

Die Quantifizierung von Progesteron wurde mit folgenden Parametern durchgeführt.

HPLC:

Apparatur: Perkin - Elmer (US) mit Series 200 column oven und Series 200 lc pump

Detektion: Perkin - Elmer Diode Array Detector 235 C dual channel bei 255 sowie 280 nm

Autosampler: Perkin - Elmer ISS - 200

Analysensoftware: Totalchrom, Version 6.2.0

Säule: EC 250/4 Nucleosil 100-5 C18; 250 x 4,0 mm, 5 μ m (Macherey-Nagel, Germany)

Vorsäule: CC 8/4 Nucleosil 100-5 C18; 8,0 x 4,0 mm (Macherey-Nagel, Germany)

Methode:

Mobile Phase: Methanol / Wasser (70:30, G/G)

Flussrate: 1,0 ml/min

Ofentemperatur: 55 °C

Injektionsvolumen: 20 μ l

Kalibrierung: externer Standard

Kalibrierbereich μ g: 1,22 μ g/ml - 156,10 μ g/ml

Kalibrierbereich mg: 0,0012 mg/ml - 0,1561 mg/ml

Druck: 2500 PSI

Wellenlänge: 255 bzw. 280 nm

Retentionszeit: ca. 7,5 Minuten



Abb. 26 HPLC-Anlage.

3.4.2. Erstellung einer Eichgeraden – Praktische Vorgehensweise

Zur quantitativen Bestimmung von Progesteron mittels HPLC wurde eine Eichgerade erstellt. Progesteron wurde dazu in Methanol gelöst. Ausgehend von einer Konzentration von 1,561 mg/ml wurden Verdünnungsreihen im Verhältnis 1:10 und anschließend 1:2 hergestellt.

Daraus ergaben sich folgende Eichlösungen, von denen die Lösungen 1 bis 8 vermessen wurden:

Stammlösung:	1,561 mg/ml
Lösung 1:	0,1561 mg/ml = 156,10 µg/ml
Lösung 3:	0,0390 mg/ml = 39,03 µg/ml
Lösung 4:	0,0195 mg/ml = 19,51 µg/ml
Lösung 5:	0,0098 mg/ml = 9,76 µg/ml
Lösung 6:	0,0049 mg/ml = 4,88 µg/ml
Lösung 7:	0,0024 mg/ml = 2,44 µg/ml
Lösung 8:	0,0012 mg/ml = 1,22 µg/ml

Da im Zuge der Gehaltsbestimmung von Progesteron Konzentrationen im Milligrammbereich, bei den Diffusionsversuchen jedoch im Mikrogrammbereich gefunden wurden, wird die Eichgerade hier in beiden Einheiten abgebildet.

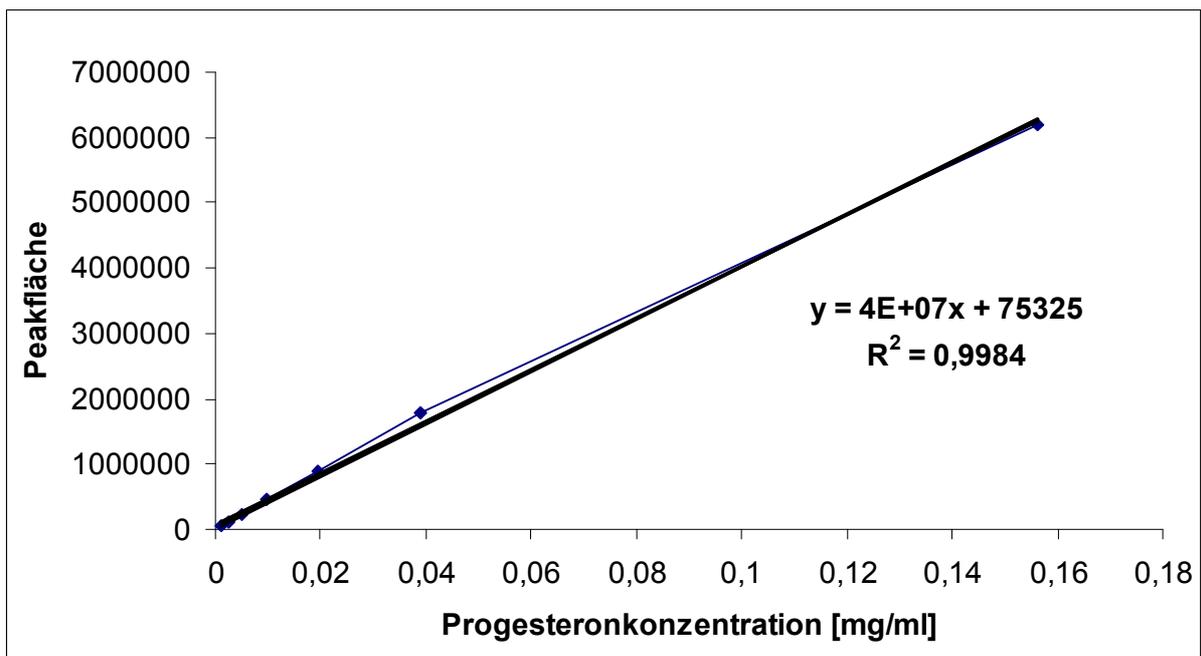


Abb. 27 Eichgerade für Progesteron im mg-Bereich mit Geradengleichung und Varianz.

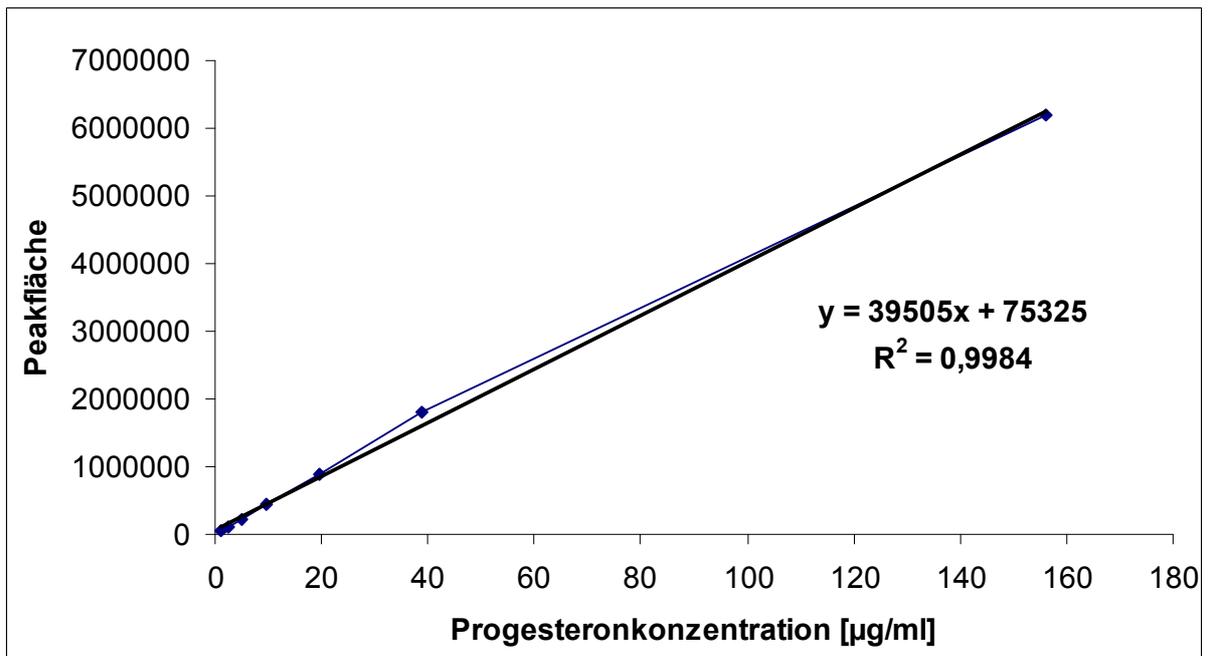


Abb. 28 Eichgerade für Progesteron im µg-Bereich mit Geradengleichung und Varianz.

Abbildung 29 zeigt ein charakteristisches Chromatogramm einer Lösung von Progesteron in Methanol, wie es im Rahmen der Untersuchungen erhalten wurde.

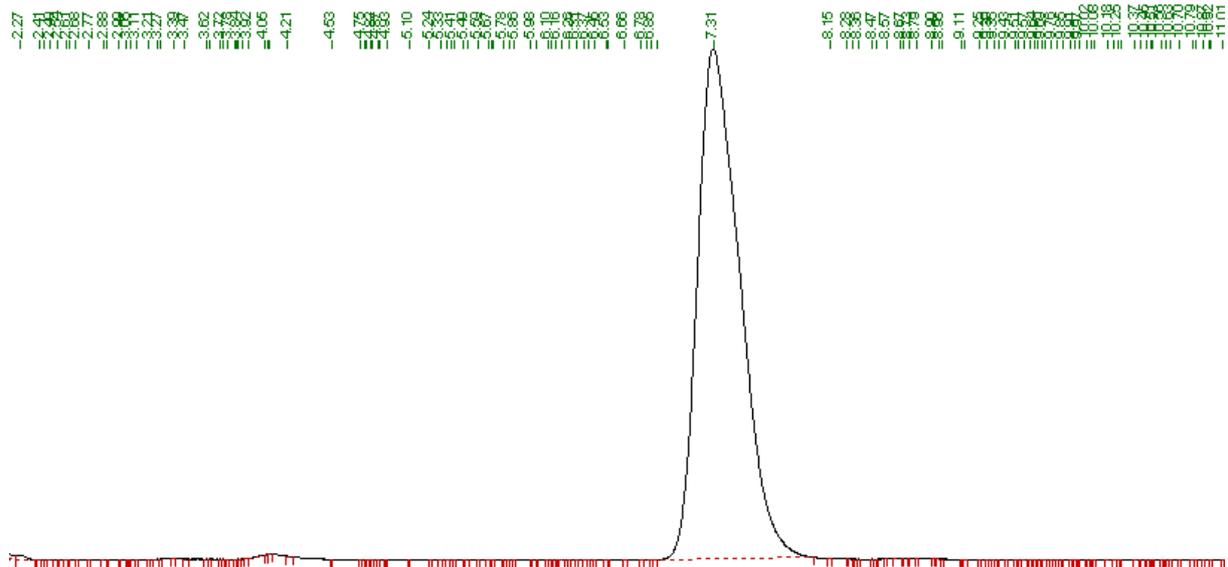


Abb. 29 HPLC-Chromatogramm von Progesteron in Methanol, Retentionszeit ca. 7,31 Min.

3.4.3. Praktische Vorgehensweise

Im Zuge der Probenvorbereitung für die Bestimmung des Gehalts und der chemischen Stabilität sowie für die Untersuchung der Permeationsversuche wurden die Proben durch Zentrifugieren aufgereinigt. Die genaue Vorgangsweise der Probenvorbereitung wurde bereits unter den Punkten 3.2.4.2 und 3.3.2. näher erläutert.

Die entsprechend vorbereiteten Proben werden nun im Autosampler der HPLC-Anlage positioniert und anschließend vermessen. Danach wird der Gehalt an Progesteron mit Hilfe der Eichgeraden ermittelt.

4. ERGEBNISSE

4.1. Ergebnisse der physikalischen Stabilitätsprüfung

4.1.1. Vergleich der Submikronemulsionen in Bezug auf Teilchengröße und Polydispersitätsindex

Im Rahmen der Prüfung auf die physikalische Stabilität der Submikronemulsionen wurden über einen Zeitraum von 12 Wochen die Teilchengröße und der PDI bestimmt.

Wie in Tabellen 8 und 9 zu sehen ist, wiesen sowohl die Mischungen mit Alpha- als auch mit Beta-Cyclodextrin ohne den Zusatz von Phytosphingosin einen sehr niedrigen PDI um 0,08 auf. Dies deutet auf eine monodisperse Größenverteilung der Teilchen hin. Der PDI der Formulierungen mit Phytosphingosin lag um 0,2. Die Teilchengröße dieser Mischungen ist demnach immerhin noch eng verteilt.

Tab. 8 Vergleich des PDI der Submikronemulsionen mit Alpha-Cyclodextrin am Tag der Herstellung (Tag 0); n=3.

Zubereitung	PDI	STABW
A-Prog	0,085 ±	0,034
A-S-Prog	0,074 ±	0,021
A-PS-Prog	0,259 ±	0,036
A-S-PS-Prog	0,249 ±	0,014

Tab. 9 Vergleich des PDI der Submikronemulsionen mit Beta-Cyclodextrin am Tag der Herstellung (Tag 0); n=3.

Zubereitung	PDI	STABW
B-Prog	0,083 ±	0,012
B-S-Prog	0,083 ±	0,012
B-PS-Prog	0,247 ±	0,033
B-S-PS-Prog	0,197 ±	0,029

Die Partikelgröße der Formulierungen blieb über den Beobachtungszeitraum von 12 Wochen weitgehend stabil. Wie Abbildungen 30 und 31 zeigen, wiesen die Mischungen ohne Phytosphingosin (A-Prog, A-S-Prog, B-Prog, B-S-Prog) eine weitaus geringere Teilchengröße von rund 170 bis 200 nm auf, als die entsprechenden Formulierungen mit Phytosphingosin.

Besonders auffallend ist die Zunahme der Teilchengröße der Zubereitungen mit Saccharosestearat und Phytosphingosin (A-S-PS-Prog, B-S-PS-Prog) über den Beobachtungszeitraum von rund 300 nm auf 800 nm (A-S-PS-Prog) beziehungsweise von ungefähr 270 nm auf 540 nm (B-S-PS-Prog). Die Formulierungen ohne Phytosphingosinzusatz blieben dagegen über den gesamten Zeitraum weitgehend stabil.

Weiters wiesen die Mischungen mit Phytosphingosin eine breitere Teilchengrößenverteilung, also einen höheren PDI, auf. Dies spiegelte sich auch in den größeren Standardabweichungen der entsprechenden Teilchengrößenbestimmungen wider.

Darüber hinaus zeigte sich, dass bei den Formulierungen mit Beta-Cyclodextrin (B-Prog, B-S-Prog, B-PS-Prog, B-S-PS-Prog) kleinere Teilchengrößen erzielt wurden als bei den entsprechenden Mischungen mit Alpha-Cyclodextrin (A-Prog, A-S-Prog, A-PS-Prog, A-S-PS-Prog).

Ab Woche 9 konnte bei Formulierung B-S-PS-Prog eine Wasserabscheidung beobachtet werden. Dieses Phänomen fand sich bei Mischung A-S-PS-Prog bereits ab Woche 4. Die Phasen ließen sich allerdings in beiden Fällen durch Aufschütteln problemlos wieder vereinen.

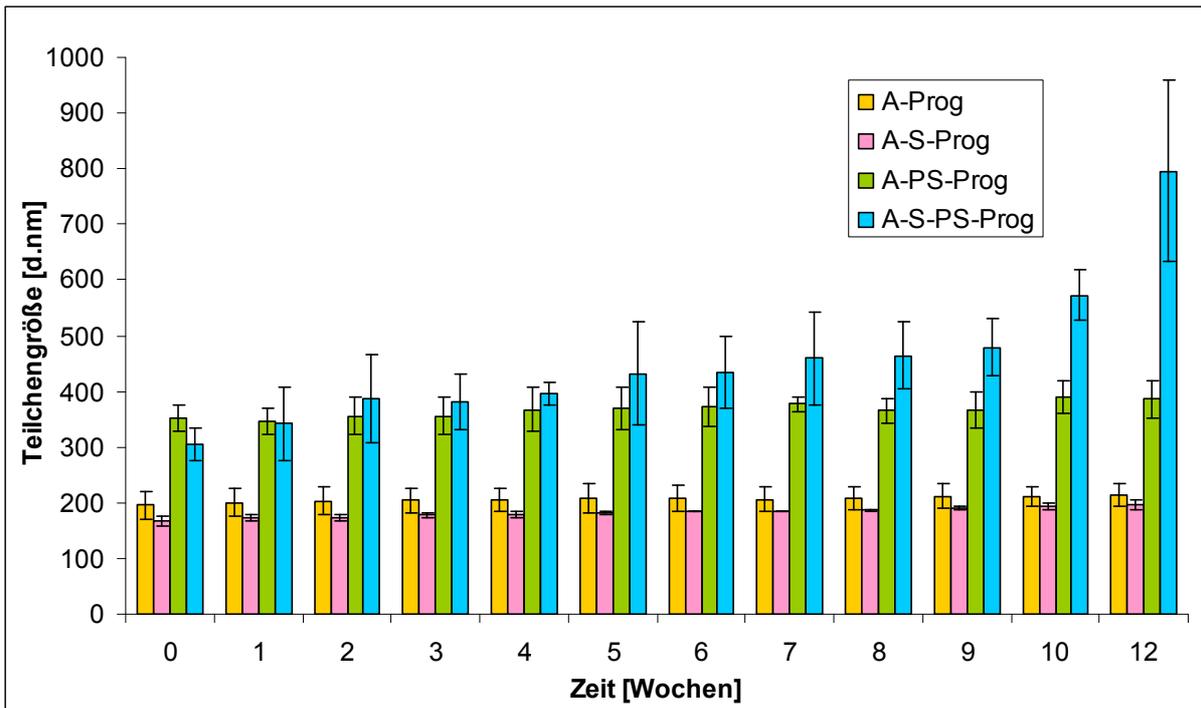


Abb. 30 Vergleich der Teilchengröße der Submikronemulsionen mit Alpha-Cyclodextrin über 12 Wochen; n=3; Messwerte \pm STABW.

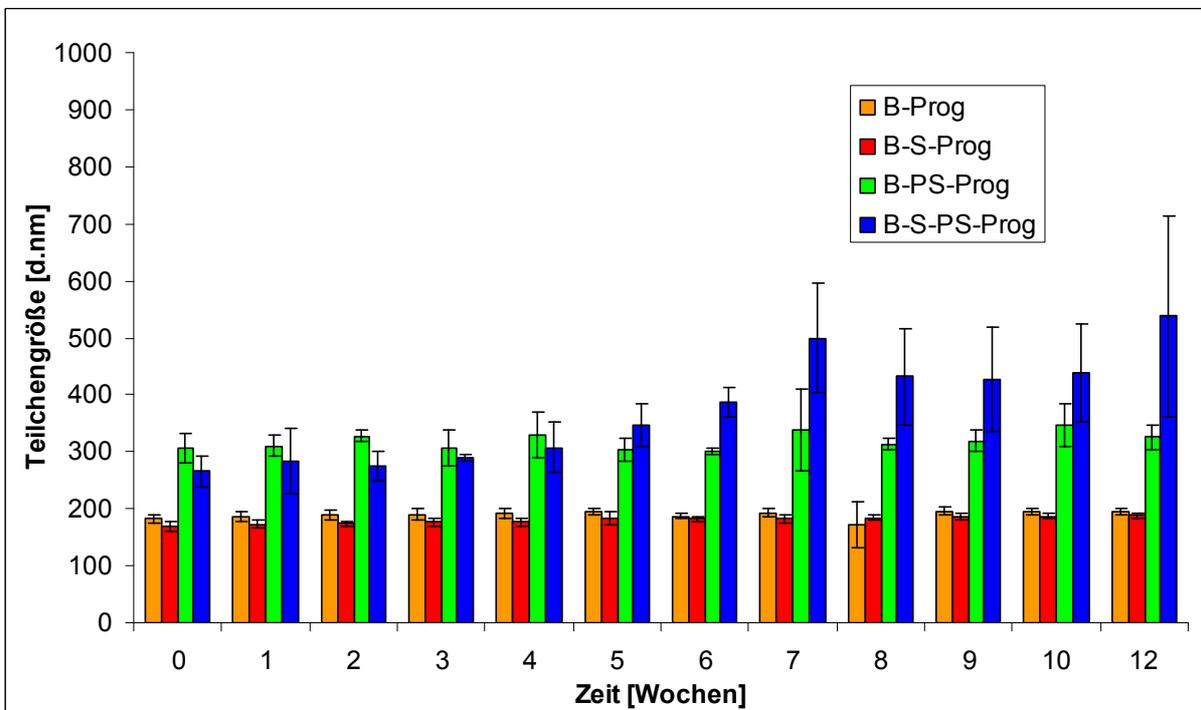


Abb. 31 Vergleich der Teilchengröße der Submikronemulsionen mit Beta-Cyclodextrin über 12 Wochen; n=3; Messwerte \pm STABW.

4.1.2. Vergleich der Submikronemulsionen in Bezug auf Zetapotential und Leitfähigkeit

Die Bestimmung des Zetapotentials und der Leitfähigkeit erfolgte im Zuge der Prüfung auf physikalische Stabilität über einen Beobachtungszeitraum von 12 Wochen.

Tab. 10 Vergleich der Leitfähigkeit (Conductivity) der Submikronemulsionen mit Alpha-Cyclodextrin am Tag der Herstellung (Tag 0); n=3.

Zubereitung	Cond [mS/cm]	STABW
A-Prog	0,026 ±	0,001
A-S-Prog	0,028 ±	0,003
A-PS-Prog	0,025 ±	0,003
A-S-PS-Prog	0,026 ±	0,002

Tab. 11 Vergleich der Leitfähigkeit (Conductivity) der Submikronemulsionen mit Beta-Cyclodextrin am Tag der Herstellung (Tag 0); n=3.

Zubereitung	Cond [mS/cm]	STABW
B-Prog	0,023 ±	0,003
B-S-Prog	0,025 ±	0,004
B-PS-Prog	0,026 ±	0,008
B-S-PS-Prog	0,023 ±	0,002

Wie in Abbildungen 32 und 33 zu sehen ist, bewirkte der Zusatz von Phytosphingosin eine Verschiebung des Zetapotentials in den positiven Bereich. Des Weiteren ist den Abbildungen zu entnehmen, dass alle positiv geladenen Formulierungen (A-PS-Prog, A-S-PS-Prog, B-PS-Prog, B-S-PS-Prog) eine stetige Abnahme des Zetapotentials zeigten. Bei den entsprechenden Mischungen ohne Phytosphingosin dagegen war für den Absolutwert des Zetapotentials keine Abnahme beziehungsweise sogar eine leichte Zunahme zu verzeichnen.

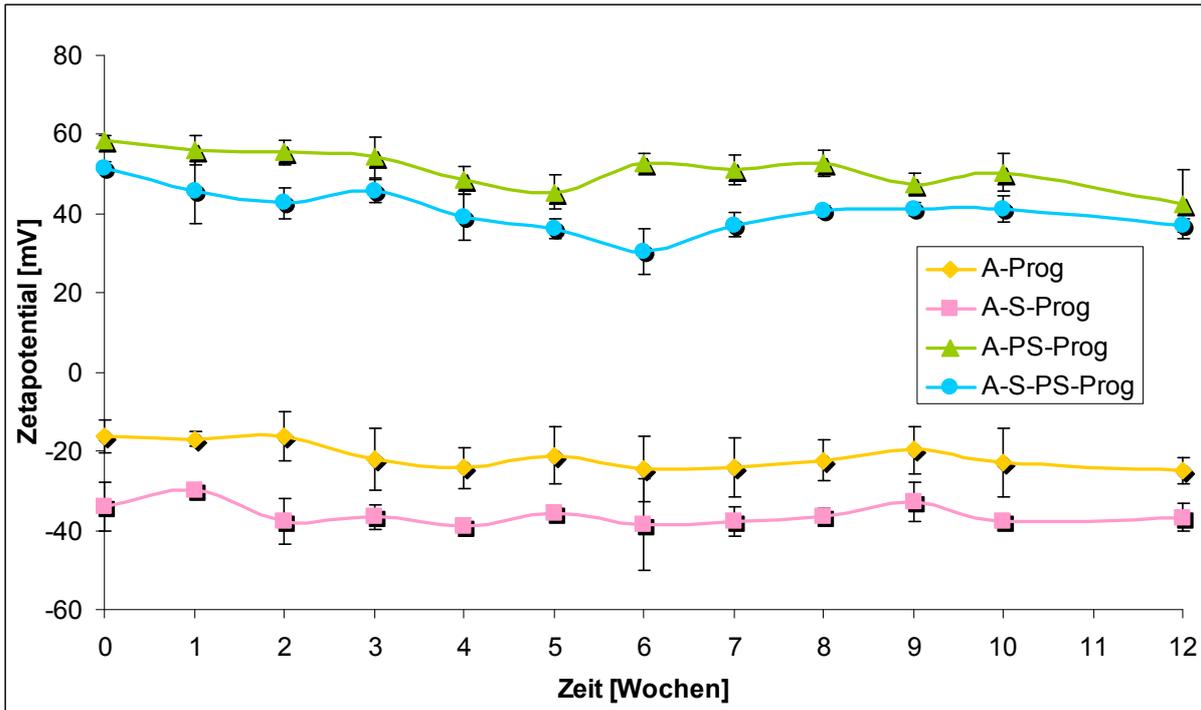


Abb. 32 Vergleich des Zetapotentials der Submikronemulsionen mit Alpha-Cyclodextrin über 12 Wochen; n=3; Messwerte \pm STABW.

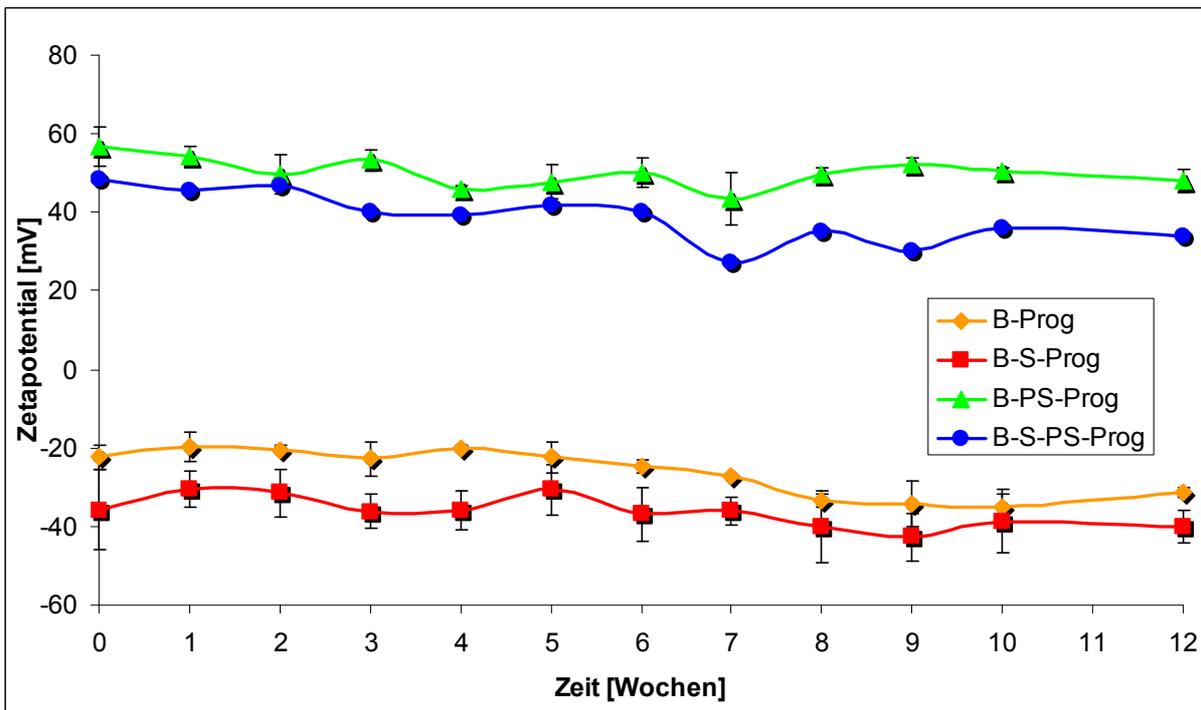


Abb. 33 Vergleich des Zetapotentials der Submikronemulsionen mit Beta-Cyclodextrin über 12 Wochen; n=3; Messwerte \pm STABW.

4.1.3. Vergleich der Submikronemulsionen in Bezug auf pH-Wert

Der pH-Wert der Submikronemulsionen wurde über einen Zeitraum von 12 Wochen ermittelt.

Wie Abbildungen 34 und 35 zeigen, bewirkte der Zusatz der kationischen Base Phytosphingosin (A-PS-Prog, A-S-PS-Prog, B-PS-Prog, B-S-PS-Prog) eine Verschiebung des pH-Werts in den alkalischen Bereich. Im Laufe der Lagerung kam es zu einem relativ raschen Abfall des pH-Werts dieser Formulierungen. Am Ende des Beobachtungszeitraums wiesen alle Mischungen sowohl mit Alpha- als auch mit Beta-Cyclodextrin einen pH-Wert zwischen 6 und 7 auf.

Während des gesamten Beobachtungszeitraums war durch visuelle Prüfung der Formulierungen kein mikrobieller Verderb feststellbar. Der leichte Abfall des pH-Wertes war der Wirksamkeit des sauren Konservierungsmittels Kaliumsorbat durchaus zuträglich (28).

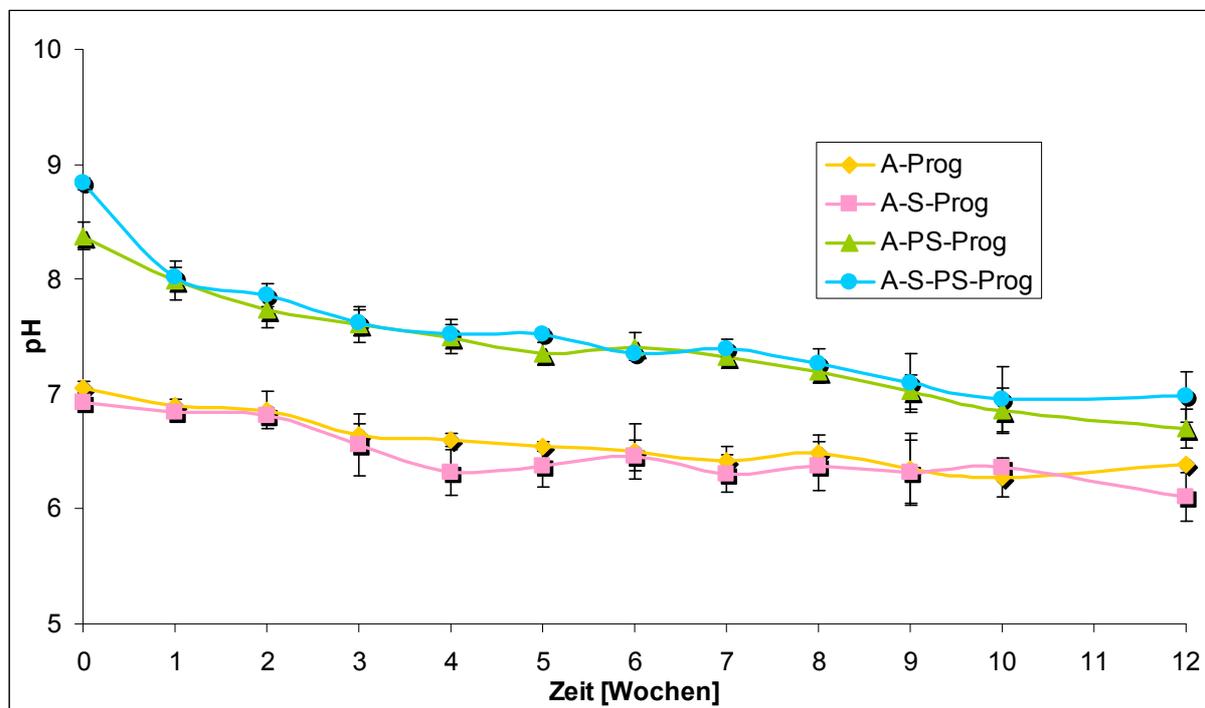


Abb. 34 Vergleich des pH-Werts der Submikronemulsionen mit Alpha-Cyclodextrin über 12 Wochen; n=3; Messwerte \pm STABW.

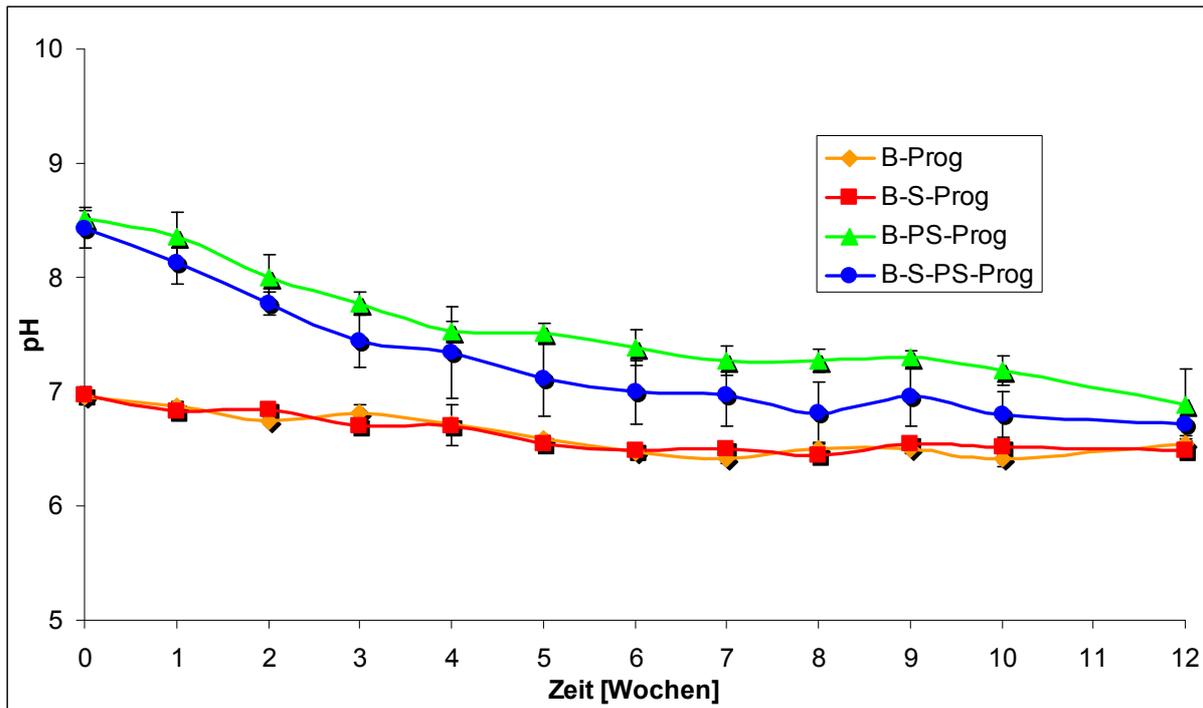


Abb. 35 Vergleich des pH-Werts der Submikronemulsionen mit Beta-Cyclodextrin über 12 Wochen; n=3; Messwerte \pm STABW.

4.2. Ergebnisse der chemischen Stabilitätsprüfung

Die Bestimmung des Gehalts an Progesteron erfolgte am Tag nach der Herstellung. Die Tabellen 12 und 13 zeigen den prozentuellen Anteil von Progesteron an der tatsächlichen Einwaage, der in den Submikronemulsionen wiedergefunden werden konnte.

Tab. 12 Gehalt an Progesteron in % in Submikronemulsionen mit Alpha-Cyclodextrin; Tag 1; n=4; Messwerte \pm STABW.

Zubereitung	Gehalt [%]	STABW
A-Prog	87,75 \pm	0,89
A-S-Prog	86,75 \pm	1,79
A-PS-Prog	90,54 \pm	1,78
A-S-PS-Prog	100,52 \pm	1,11

Tab. 13 Gehalt an Progesteron in % in Submikronemulsionen mit Beta-Cyclodextrin; Tag 1; n=4; Messwerte \pm STABW.

Zubereitung	Gehalt [%]	STABW
B-Prog	81,82 \pm	3,80
B-S-Prog	99,93 \pm	10,48
B-PS-Prog	95,37 \pm	2,02
B-S-PS-Prog	100,37 \pm	5,39

Die Ergebnisse der Gehaltsbestimmung am Tag nach der Herstellung wurden einem Prozentwert von 100% gleichgesetzt und ausgehend davon wurde die Abnahme des Gehaltes über einen Zeitraum von 10 Wochen bestimmt. Um die Abhängigkeit von statistischen Schwankungen zu reduzieren, wurden die Resultate von jeweils zwei aufeinander folgenden Wochen gemeinsam ausgewertet.

Der Gehalt an Progesteron in den Submikronemulsionen verhielt sich über den Beobachtungszeitraum weitgehend stabil und fiel bei keiner Formulierung unter 77% der Ausgangskonzentration. Die verschiedenen Mischungen mit Alpha-Cyclodextrin (A-Prog, A-S-Prog, A-PS-Prog, A-S-PS-Prog) verhielten sich in den ersten Wochen sehr ähnlich. Wie Abbildung 36 zeigt, nahm jedoch die Progesteronkonzentration in Formulierung A-Prog am stärksten ab.

Die Formulierungen mit Beta-Cyclodextrin verhielten sich, wie in Abbildung 37 zu sehen ist, anders als jene mit Alpha-Cyclodextrin. Die stärkste Gehaltsabnahme von Progesteron war für die Mischungen mit Saccharoseester (B-S-Prog, B-S-PS-Prog) zu verzeichnen.

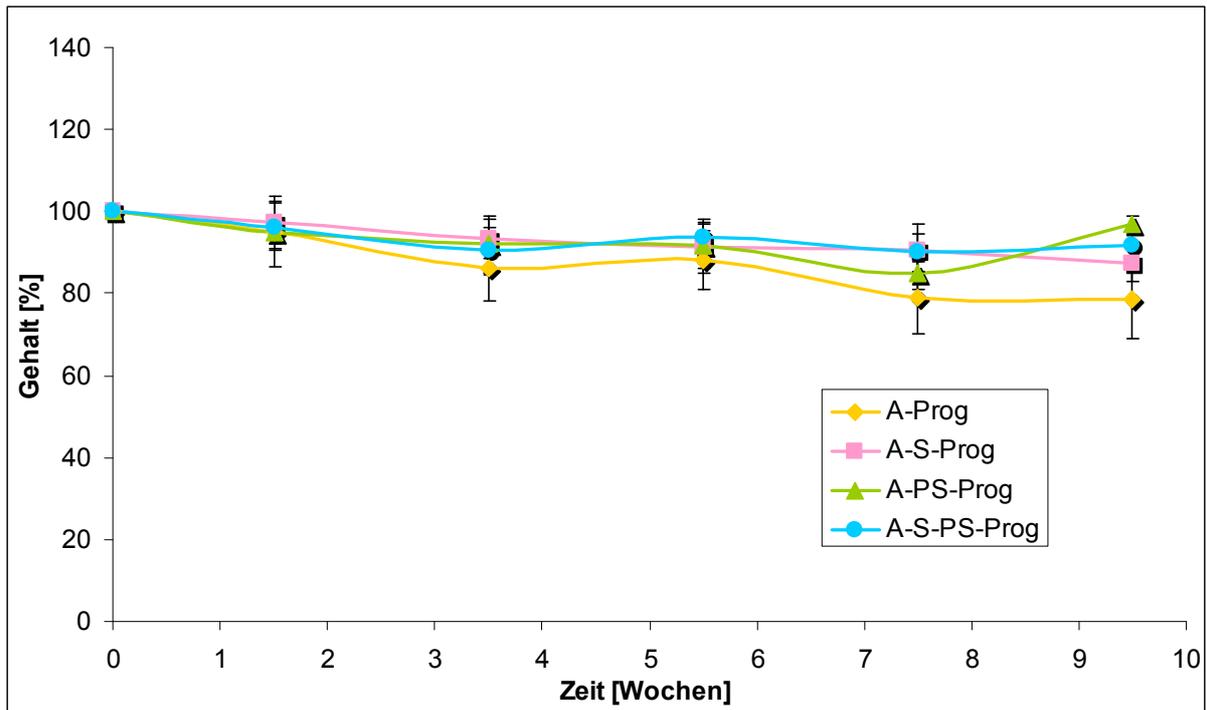


Abb. 36 Vergleich des Gehalts an Progesteron in % der Ausgangskonzentration in Submikronemulsionen mit Alpha-Cyclodextrin über 10 Wochen; $n \geq 3$, Messwerte \pm STABW.

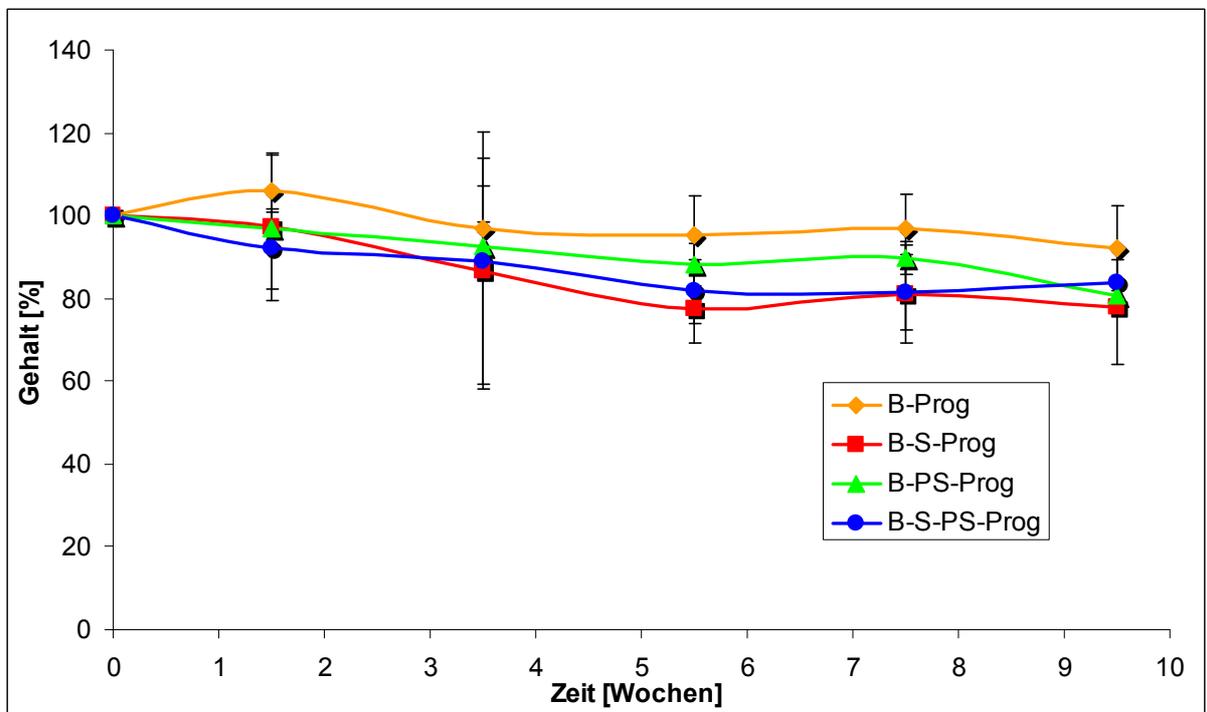


Abb. 37 Vergleich des Gehalts an Progesteron in % der Ausgangskonzentration in Submikronemulsionen mit Beta-Cyclodextrin über 10 Wochen; $n \geq 4$, Messwerte \pm STABW.

4.3. Ergebnisse der Permeationsstudien

Die Diffusionsraten von Progesteron durch porcine Haut waren für die getesteten Formulierungen durchwegs unterschiedlich. Da manche Franz-Zellen über den Versuchszeitraum von 48 Stunden undicht wurden, erfolgte die Auswertung der Permeationsstudien für jeweils vier Zellen pro Mischung.

Die Mischung mit Alpha-Cyclodextrin und Phytosphingosin (A-PS-Prog) wies, wie in Abbildung 38 gezeigt, nach 24 Stunden eine sehr gute Permeation auf, während mit den übrigen Formulierungen mit Alpha-Cyclodextrin nur geringe Diffusionsraten erzielt werden konnten. Eine außerordentlich geringe Hautpermeation des Progesterons ergab sich für die Mischungen mit Saccharosestearat (A-S-Prog, A-S-PS-Prog).

Wie in Abbildung 39 zu sehen ist, erzielten die Formulierungen mit Beta-Cyclodextrin und Saccharoseester (B-S-Prog, B-S-PS-Prog) höhere Hautdiffusionsraten als die Mischungen ohne Ester (B-Prog, B-PS-Prog). Allerdings lag die Permeation von Progesteron aus den Submikronemulsionen mit Phytosphingosin (B-PS-Prog, B-S-PS-Prog) jeweils unter der jener Mischungen ohne Phytosphingosin (B-Prog, B-S-Prog).

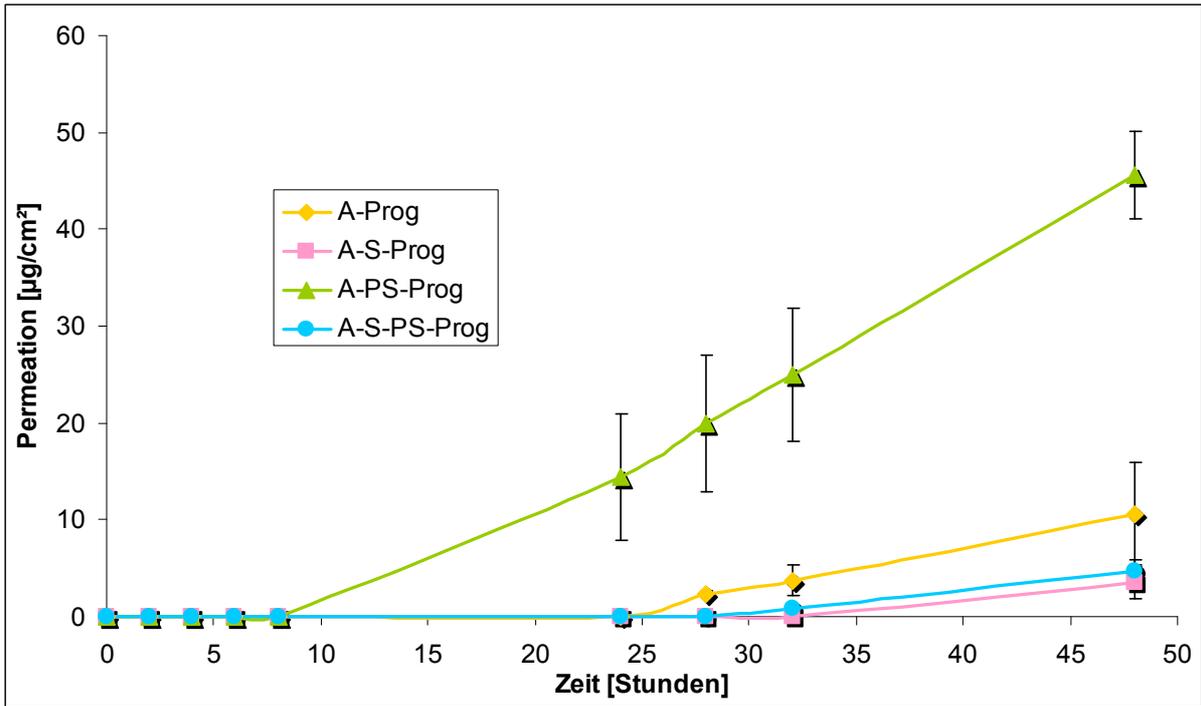


Abb. 38 Vergleich der Hautpermeation von Progesteron aus Submikronemulsionen mit Alpha-Cyclodextrin über 48 Stunden; n=4; Messwerte ± STABW.

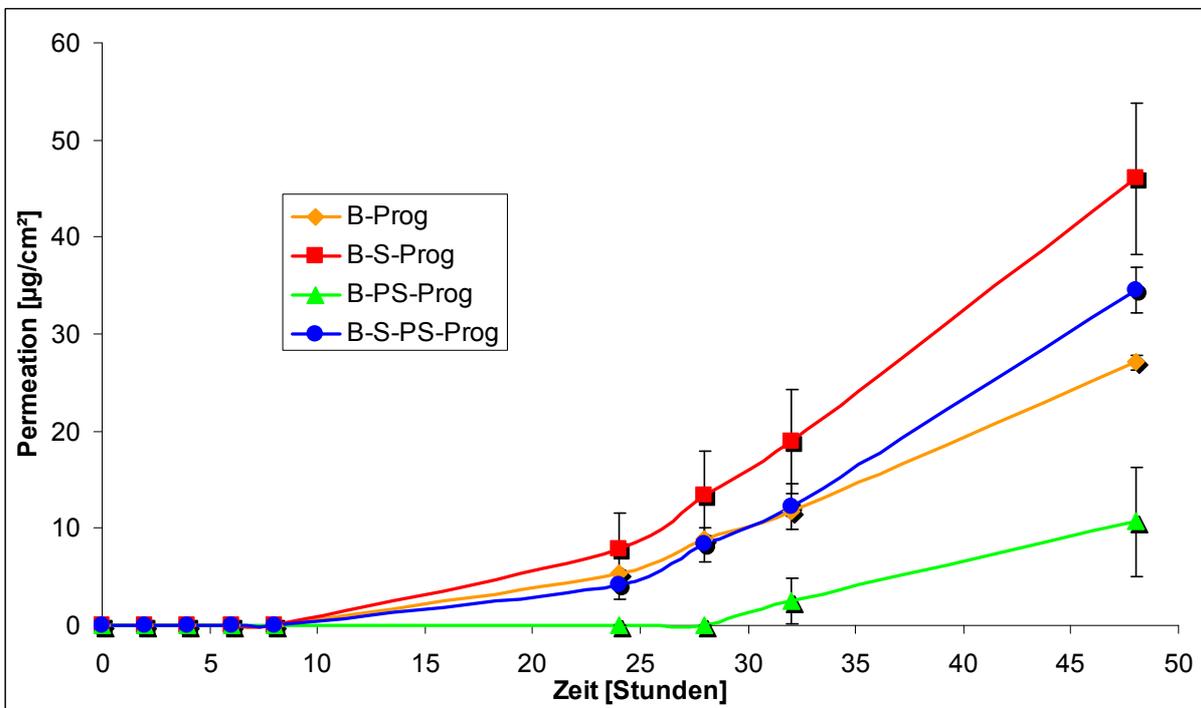


Abb. 39 Vergleich der Hautpermeation von Progesteron aus Submikronemulsionen mit Beta-Cyclodextrin über 48 Stunden; n=4; Messwerte ± STABW.

5. DISKUSSION

Wie der Literatur zu entnehmen ist, kann der gezielte Einbau von Cyclodextrinen in einfache Emulsionen deren Stabilität verbessern, da die Grenzflächenspannung durch neu gebildete Molekülkomplexe herabgesetzt wird (7). Die vorliegenden Untersuchungen stellen einen der ersten Versuche dar, diesen Ansatz für Mehrkomponentensysteme im Submikronbereich zu testen. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass durch die beschriebene Komplexierung von Fettsäureketten durch Cyclodextrine tatsächlich eine Verbesserung der Langzeitstabilität erzielt werden kann. Nicht publizierte Ergebnisse der Arbeitsgruppe zeigen eine hervorragende Langzeitstabilität von Submikronemulsionen ohne Modellarzneistoff von über einem Jahr. Durch den Einbau eines Arzneistoffs wird die Haltbarkeit der meisten Formulierungen im Submikronbereich naturgemäß beeinträchtigt, da die molekulare Struktur der Systeme verändert wird (6). Dennoch ist auch die physikalisch-chemische Stabilität der progesteronbeladenen Mischungen mit negativer Partikelladung vielversprechend und bereits seit rund sechs Monaten gegeben.

Cyclodextrine können mit sämtlichen Molekülen, die in den Hohlraum passen und einen energetisch günstigen Zustand des Wirt-Gast-Komplexes bewirken, Einschlussverbindungen bilden. Der exakte Mechanismus dieser Komplexbildung ist bis heute nicht genau geklärt (33), das große Interaktionspotential der „molekularen Zuckertüten“ ist jedoch weitreichend bekannt. Da die Zusammensetzung der Submikronemulsionen, die im Zuge der vorliegenden Arbeit entwickelt wurden, sehr komplex ist, sind innerhalb dieser Systeme zahlreiche Wechselwirkungen der Cyclodextrine mit anderen lipophilen Komponenten denkbar. Durch weitere Studien und molekulare Berechnungen könnte festgestellt werden, mit welchen Komponenten die Cyclodextrine in diesen Formulierungen tatsächlich interagieren. Dadurch könnte die beobachtete stabilisierende Wirkung der Cyclodextrine mit In-Silico-Studien untermauert werden.

Laut Literatur kann die Partikelgröße in Submikronemulsionen durch die Einarbeitung von Zuckerestern gesenkt und auch die physikalische Stabilität verbessert werden (9). Der positive Einfluss des „Zuckertensids“ Saccharosestearat konnte im Zuge der vorliegenden Arbeit bestätigt werden. Die Mischungen, denen Saccharosestearat

zugesetzt worden war, wiesen die geringste Teilchengröße auf und zeigten über den gesamten Beobachtungszeitraum eine sehr gute physikalische Stabilität. Die zusätzliche Einarbeitung des lipophilen Phytosphingosins bewirkte schon unmittelbar nach Herstellung eine deutlich höhere Teilchengröße sowie einen massiven Anstieg der Teilchengröße über den gesamten Beobachtungszeitraum. Dies deutet auf eine zunehmende Entmischung der Submikronemulsionen hin, die auch durch den stabilisierenden Einfluss des Saccharosestearats nicht aufgehalten werden konnte.

Generell erwies sich der Zusatz von Phytosphingosin auf die physikalischen Eigenschaften der Submikronemulsionen als ungünstig. Dies spiegelte sich zum einen in einer höheren Teilchengröße aller positiv geladenen Formulierungen und einer raschen Zunahme derselbigen wider. Zum anderen wies der höhere PDI auf eine gewisse Inhomogenität der Mischungen hin. Das Zetapotential erfuhr über den Beobachtungsraum eine deutliche Abnahme und lieferte ebenfalls einen Hinweis auf die verminderte Stabilität der Formulierungen. Die anfänglich hohe positive Ladung konnte den rascheren Verderb dieser Formulierungen nicht verhindern. Bei den positiv geladenen Mischungen mit Saccharosestearat konnte während des Beobachtungszeitraums sogar eine reversible Wasserabscheidung beobachtet werden.

Die Einarbeitung von Phytosphingosin erwies sich auch bereits bei der Herstellung als Herausforderung. Zum einen dauerte der Lösevorgang der kationischen Base sehr lange. Zum anderen war eine sehr genaue Einhaltung der Herstellungstemperatur notwendig, um Submikronemulsionen mit zufriedenstellenden Eigenschaften zu erzeugen. Daher hatten diese Herstellungsparameter offensichtlich einen großen Einfluss auf das Endprodukt.

Die Bestimmung des Progesterongehalts sowie die Untersuchung der chemischen Stabilität der Submikronemulsionen lieferten durchaus zufriedenstellende Ergebnisse. Bei der Gehaltsbestimmung von Progesteron wurden in allen Mischungen mehr als 80% der tatsächlich eingewogenen Menge Progesteron wiedergefunden. Dies spricht für eine gut gelungene Inkorporierung des Modellarzneistoffs in die Submikronemulsionen.

Die Untersuchung der Gehaltsabnahme zeigte, dass alle Formulierungen im gesamten Beobachtungszeitraum über eine sehr gute chemische Stabilität verfügten. In keiner der Mischungen fiel der Gehalt an Progesteron unter 77% des Ausgangswertes. Darüber hinaus wiesen die Submikronemulsionen hervorragende Lagerungsstabilität auf. Die visuelle Untersuchung aller Formulierungen auf mikrobiellen Verderb war zufriedenstellend. Während des gesamten Beobachtungszeitraums trat kein erkennbarer Keimbefall auf. Vermutlich ist diese hohe mikrobielle Stabilität unter anderem auf den Einsatz des Konservierungsmittels Kaliumsorbat sowie auf die kühle Lagerung zurückzuführen.

Neben der positiven Wirkung der Cyclodextrine auf die physikalisch-chemische Stabilität von Submikronemulsionen finden sich in der Literatur Hinweise darauf, dass Cyclodextrine die Permeation von Arzneistoffen durch die Haut beeinflussen können (35). Die vorliegenden Permeationsstudien zeigten, dass für Submikronemulsionen mit Alpha-Cyclodextrin gänzlich andere Diffusionsraten für Progesteron erzielt wurden als für die entsprechenden Formulierungen mit Beta-Cyclodextrin. Generell zeigten die Mischungen mit Alpha-Cyclodextrin geringere Hautdiffusionsraten für Progesteron als die Submikronemulsionen mit Beta-Cyclodextrin. Es ist zu vermuten, dass das Steroidhormon von Alpha-Cyclodextrin aufgrund der geringeren Größe des Hohlraums nicht so gut komplexiert werden kann. Dagegen ist bekannt, dass die Kavität von Beta-Cyclodextrin für verschiedenste Arzneistoffe eine geeignete Größe hat (32). Das trifft wahrscheinlich auch auf Progesteron zu. Möglicherweise ist die erhöhte Diffusion daher auf eine Interaktion von Beta-Cyclodextrin mit Progesteron zurückzuführen. Hier sind weitere Studien notwendig, um zu ermitteln, weshalb bei der vorliegenden Versuchsanordnung mit Beta-Cyclodextrin höhere Permeationsraten für den Modellarzneistoff erzielt wurden als mit Alpha-Cyclodextrin.

Die Hautpermeation wurde in diesem Zusammenhang jedoch nicht nur vom verwendeten Cyclodextrin beeinflusst, sondern auch durch den Zusatz des Zuckeresters Saccharosestearat. Neben dem positiven Einfluss von Saccharosefettsäureestern auf die Langzeitstabilität finden sich in der Literatur auch Hinweise auf ein permeationsförderndes Potential dieser „Zuckertenside“ (8). Ein permeationsfördernder Effekt durch Saccharosestearat konnte nur für die

Submikronemulsionen, die Beta-Cyclodextrin enthielten, nachgewiesen werden. Im Falle der Zubereitungen mit Alpha-Cyclodextrin bewirkte der Zusatz von Saccharosestearat eine Verringerung der Hautdiffusion von Progesteron.

Im Zuge der Permeationsstudien wurde auch der in der Literatur erwähnte permeationsfördernde Effekt einer positiven Partikelladung von Submikronemulsionen (10, 11, 12) untersucht. In den Formulierungen mit Alpha-Cyclodextrin ohne Saccharosestearat war Phytosphingosin in der Lage die Progesteronpermeation um das 4,3-fache zu steigern. Dagegen fand sich in den saccharosestearathaltigen Mischungen nur eine geringfügige Diffusionserhöhung. Die Ergebnisse der Permeationsuntersuchungen der Submikronemulsionen, die Beta-Cyclodextrin enthielten, zeigten ein gänzlich anderes Bild. Während Saccharosestearat in der Lage war, die Progesteronpermeation zu erhöhen, bewirkte Phytosphingosin eine Erniedrigung der Diffusionsraten von Progesteron.

Zusammenfassend ist es gelungen Submikronemulsionen mit hervorragender Langzeitstabilität herzustellen. Dabei ist hervorzuheben, dass die negativ geladenen Zubereitungen generell über sehr gute physikalisch-chemische Eigenschaften verfügten, die durch den Zusatz von Saccharosestearat noch verbessert werden konnten. Die Verwendung des lipophilen Phytosphingosins erwies sich in diesem Zusammenhang als vergleichsweise ungünstig. Dennoch konnte mittels Phytosphingosin die Diffusion von Progesteron in gewissen Submikronemulsionen mit Alpha-Cyclodextrin deutlich verbessert werden. Es sind jedoch weitere Studien nötig, um festzustellen, unter welchen Bedingungen Saccharosestearat beziehungsweise Phytosphingosin die Hautpermeation verbessern können.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Dermale und transdermale Formulierungen werden seit langem therapeutisch eingesetzt. In den letzten Jahrzehnten hat sich der Bereich der kolloidalen Systeme als besonders zukunftsweisend herausgestellt. Moderne Arzneistoffträgersysteme im Submikronbereich sind von großem Interesse, da man mit ihrer Hilfe die Hautbarriere gezielt überwinden kann. Schwerpunkte bei der Entwicklung solcher Formulierungen sind nicht nur gute Arzneistoffinkorporierung und Arzneistoffabgabe an den Körper, sondern auch hohe Hautverträglichkeit sowie gute Lagerstabilität.

In diesem Zusammenhang sind Submikronemulsionen von großem Interesse. Diese hautfreundlichen Mehrphasensysteme erzielen gute Permeationsraten, sind jedoch meist nur begrenzt haltbar. Im Zuge der vorliegenden Arbeit wurden Submikronemulsionen hergestellt, deren physikalisch-chemische Stabilität mit Hilfe von Alpha- und Beta-Cyclodextrin verbessert werden sollte. Die Formulierungen wurden im Rahmen der physikalischen Stabilitätsprüfung hinsichtlich Teilchengröße, PDI, Zetapotentials und pH-Werts getestet. Dabei zeigte sich, dass es gelungen ist, Submikronemulsionen mit hervorragender Langzeitstabilität zu entwickeln. Der Zusatz von Alpha- beziehungsweise Beta-Cyclodextrin als Co-Stabilisator ist mutmaßlich ein Grund für die verbesserte Haltbarkeit.

Submikronemulsionen ermöglichen bekanntermaßen die Inkorporierung von besonders lipophilen Arzneistoffen und werden in diesem Zusammenhang als Arzneistoffträgersysteme verwendet. Ein besonderer Schwerpunkt der modernen Forschung liegt in der Verbesserung der Hautpermeation von Problemарzneistoffen. Es wurde daher im Zuge dieser Arbeit der Modellарzneistoff Progesteron in die Submikronemulsionen eingearbeitet. Damit wurden In-vitro-Permeationsstudien mit porciner Haut durchgeführt. Die Hautdiffusion von Progesteron sollte zum einen mit Hilfe des Zuckeresters Saccharosestearat, zum anderen durch die kationische Base Phytosphingosin verbessert werden.

Bei diesen Untersuchungen zur Hautdiffusion von Progesteron lassen sich zwei Beobachtungen aufzeigen. Die Hautpermeation von Progesteron aus Submikronemulsionen, die Alpha-Cyclodextrin enthielten, wurde durch den Zusatz

von Saccharosestearat gehemmt. Die Einarbeitung der lipophilen Komponente Phytosphingosin hingegen wirkte sich deutlich positiv auf die Progesteronpermeation aus. Im Gegensatz dazu konnte für die Formulierungen mit Beta-Cyclodextrin durch den Zusatz von Saccharosestearat ein penetrationsfördernder Effekt für Progesteron gefunden werden. Hier allerdings hatte die positive Ladung bedingt durch Phytosphingosin einen negativen Einfluss auf die Hautdiffusion von Progesteron. Es sind in diesem Zusammenhang noch weitere Studien nötig, um die genauen Mechanismen der Permeationsförderung in komplexen Systemen, wie den Submikronemulsionen der vorliegenden Arbeit, zu untersuchen.

Neben den Wirkungen von Saccharosestearat und Phytosphingosin auf die Hautpenetration von Progesteron wurde auch deren Einfluss auf die physikalisch-chemische Stabilität der Submikronemulsionen untersucht. Der positive Effekt des Zuckeresters Saccharosestearat auf die Formulierungen, insbesondere der negativ geladenen Zubereitungen, darf im Hinblick auf die physikalischen Eigenschaften nicht unerwähnt bleiben. Der Zusatz der Sphingoidbase Phytosphingosin hingegen erwies sich als eine Herausforderung in der Handhabung und trug maßgeblich zur Destabilisierung der Mischungen bei.

Zukünftige Studien könnten Aufschluss über einige offene Fragestellungen geben. Mittels molekularer Berechnungen könnte das Verhalten von Cyclodextrinen in komplexen Mischungen mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit vorhergesagt werden. Auf diese Weise könnte man Cyclodextrine verschiedener Größen gezielt einsetzen, um optimal stabilisierte Formulierungen zu erzeugen und unerwünschte Interaktionen zu vermeiden. Auch der permeationsfördernde Effekt von Saccharosestearat sowie von anderen Zuckerestern könnte Gegenstand weiterführender Untersuchungen sein.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) S.A. Krause, *Entwicklung und Charakterisierung von Mikroemulsionen zur dermalen Applikation von Arzneistoffen*. Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2001.
- (2) K.H. Bauer, et al., *Lehrbuch der pharmazeutischen Technologie*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 7. Auflage, 2002.
- (3) J.A. Bouwstra, et al., *Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations*. Prog Lipid Res, 2003. 42: 1-36.
- (4) V.B. Patravale, S.D. Mandawgade, *Novel cosmetic delivery systems: an application update*. Int J Cosmet Sci, 2008. 30: 19-33.
- (5) R.H. Müller, G.E. Hildebrand, *Pharmazeutische Technologie: moderne Arzneiformen*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 2. Auflage, 1998.
- (6) M. Sznitowska, et al., *Submicron emulsions as drug carriers. Studies on destabilization potential of various drugs*. Eur J Pharm Sci, 2001. 12: 175-9.
- (7) D. Duchêne, et al., *Cyclodextrins and emulsions*. Int J Pharm, 2003. 266: 85-90.
- (8) S.B. Calderilla-Fajardo, et al., *Influence of sucrose esters on the in vivo percutaneous penetration of octyl methoxycinnamate formulated in nanocapsules, nanoemulsion, and emulsion*. Drug Dev Ind Pharm, 2006. 32: 107-13.
- (9) S. Takegami, et al., *Preparation and characterization of a new lipid nanoemulsion containing two cosurfactants, sodium palmitate for droplet size reduction and sucrose palmitate for stability enhancement*. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2008. 56: 1097-102.
- (10) E. Yilmaz, H.H. Borchert, *Design of a phytosphingosine-containing, positively-charged nanoemulsion as a colloidal carrier system for dermal application of ceramides*. Eur J Pharm Biopharm, 2005. 60: 91-98.
- (11) M.P. Piemi, et al., *Positively and negatively charged submicron emulsions for enhanced topical delivery of antifungal drugs*. J Control Release, 1999. 58: 177-87.
- (12) S. Hoeller, et al., *Lecithin based nanoemulsions: A comparative study of the influence of non-ionic surfactants and the cationic phytosphingosine on*

- physicochemical behaviour and skin permeation*. Int J Pharm, 2009. 370: 181-6.
- (13) E. Yilmaz, *Entwicklung phytosphingosinhaltiger, positiv geladener Nanoemulsionen zur dermalen Applikation*. Dissertation, Freie Universität Berlin, 2005.
- (14) J. Hadgraft, *Skin, the final frontier*. Int J Pharm, 2001. 224: 1-18.
- (15) R.H.H. Neubert, et al., *Dermatopharmazie: Vehikel - Wirkstoffe - Pharmakologie*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1. Auflage, 2001.
- (16) D. Köpper, *Struktur- und Stabilitätsuntersuchungen an neuartigen topischen Grundlagen aus Naturstoffen*. Dissertation, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, 2004.
- (17) R. Voigt, A. Fahr, *Pharmazeutische Technologie für Studium und Beruf*, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart, 10. Auflage, 2006.
- (18) *Delivery system handbook for personal care and cosmetic products: technology, applications, and formulations*. Ed. M.R. Rosen, William Andrew Publishing Norwich, 2005.
- (19) H.P.T. Ammon, *Hunnius - Pharmazeutisches Wörterbuch*, Walter de Gruyter Berlin, 9. Auflage, 2004.
- (20) H.A. Benson, *Transdermal drug delivery: penetration enhancement techniques*. Curr Drug Deliv, 2005. 2: 23-33.
- (21) H. Fey, X. Petsitis, *Wörterbuch der Kosmetik*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 5. Auflage, 2004.
- (22) T.G. Mason, et al., *Nanoemulsions: formation, structure, and physikal properties*. Journal of Physics: Condensed Matter, 2006. 18 R635-R666.
- (23) R. Daniels. *Galenische Prinzipien moderner Hautpflegeprodukte*. Skin Care Forum 2001, http://www.scf-online.com/german/25_d/contents_25_d.htm, (Stand 18. Juni 2009).
- (24) R. Daniels. *Strategien zur Verbesserung der Hautpenetration*. Skin Care Forum 2004, http://www.scf-online.com/german/37_d/skinpenetration37_d.htm, (Stand 02. Juli 2009).
- (25) O. Sonnevile-Aubrun, et al., *Nanoemulsions: a new vehicle for skincare products*. Adv Colloid Interface Sci, 2004. 108-109: 145-9.

- (26) T. Tadros, et al., *Formation and stability of nano-emulsions*. Adv Colloid Interface Sci, 2004. 108-109: 303-18.
- (27) U. Schöffling, *Arzneiformenlehre - Ein Lehrbuch der Galenik für Theorie und Praxis*, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart, 4. Auflage, 2003.
- (28) P.C. Schmidt, I. Christin, *Wirk- und Hilfsstoffe für Rezeptur, Defektur und Großherstellung*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1999.
- (29) J. Friedland, *Arzneiformenlehre für pharmazeutisch-technische Assistenten*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 5. Auflage, 2005.
- (30) M. Gröger, et al., *Reader mit Hindergrundinformationen zum Thema Cyclodextrine*. Dissertation, Science Forum der Universität Siegen - Didaktik der Chemie Universität Siegen, 2001.
- (31) T. Loftsson, D. Duchene, *Cyclodextrins and their pharmaceutical applications*. Int J Pharm, 2007. 329: 1-11.
- (32) R. Challa, et al., *Cyclodextrins in drug delivery: an updated review*. AAPS PharmSciTech, 2005. 6: E329-57.
- (33) S. Klein, T. Zöller, *Molekulare Zuckertüten für Arzneistoffe*. Pharmazeutische Zeitung, 2008. 153: 2574-2579.
- (34) *Novel Cosmetic Delivery Systems*. Ed. S. Magdassi und E. Touitou, Marcel Dekker New York, 1999.
- (35) T. Loftsson, et al., *Effects of cyclodextrins on drug delivery through biological membranes*. J Pharm Sci, 2007. 96: 2532-46.
- (36) T. Loftsson, M. Masson, *Cyclodextrins in topical drug formulations: theory and practice*. Int J Pharm, 2001. 225: 15-30.
- (37) S.C. Yu, et al., *Effect of camphor/cyclodextrin complexation on the stability of O/W/O multiple emulsions*. Int J Pharm, 2003. 261: 1-8.
- (38) K. Aktories, et al., *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, Urban & Fischer Verlag, Elsevier GmbH München, 9. Auflage, 2005.
- (39) Neues Rezeptur-Formularium, *Rezepturhinweise: Progesteron zur Anwendung auf der Haut*, Govi-Verlag Pharmazeutischer Verlag GmbH Eschborn, 2008.
- (40) S. Wartewig, R.H.H. Neubert, *Properties of Ceramides and their impact on the Stratum Corneum Structure: A review*. Skin Pharmacol Physiol, 2007. 20: 220-229.

- (41) *Produktinformation Phytosphingosine, Phytosphingosin Hydrochloride - A natural, skin-identical active ingredient for Personal Care products*, Evonik Goldschmidt GmbH Essen, 2008
- (42) M. Farwick, et al., *Salicyloyl-phytosphingosine: a novel agent for the repair of photoaged skin*. Int J Cosmet Sci, 2007. 29: 319-29.
- (43) R.H. Müller, B.H.L. Böhm, *Dispersion Techniques for Laboratory and Industrial Scale Processing*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 2001.
- (44) *Produktinformation EmulsiFlex-C3*. 2008, <http://www.avestin.com/>, (Stand 24. Juni 2009).
- (45) R.H. Müller, R. Schuhmann, *Teilchengrößenmessung in der Laborpraxis*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1996.
- (46) Produktinformation Malvern Instruments Ltd. 2009, http://www.malvern.com/LabEng/technology/dynamic_light_scattering/dynamic_light_scattering.htm, (Stand 04. Juli 2009).
- (47) R.H. Müller, G.E. Hildebrand, *Zetapotential und Partikelladung in der Laborpraxis*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1996.
- (48) S. Leyke, *Entwicklung eines in-vitro Modells zur Verbesserung der Therapie einer Toxoplasmose*. Dissertation, Freie Universität Berlin, 2005.
- (49) T. Luxbacher. *Zetapotenzial als Indikator für Oberflächeneigenschaften*. 2007, <http://www.laborpraxis.vogel.de/analytik/titration/elektroden/articles/105140/>, (Stand 06. Juli 2009).
- (50) K. Cal, K. Centkowska, *Use of cyclodextrins in topical formulations: practical aspects*. Eur J Pharm Biopharm, 2008. 68: 467-78.

8. ANHANG

8.1. Tabellen zur physikalischen Stabilitätsprüfung

8.1.1. Tabellen zur Teilchengrößenbestimmung

Submikronemulsionen mit Alpha-Cyclodextrin

Tab. 8.1.1.1 Veränderung der Teilchengröße von A-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	Teilchengröße [d.nm]	STABW
0	195,07	± 24,29
1	200,01	± 24,78
2	203,38	± 23,91
3	203,94	± 22,29
4	205,69	± 21,36
5	207,29	± 26,65
6	208,46	± 23,56
7	206,60	± 20,76
8	208,28	± 21,34
9	212,09	± 22,84
10	211,40	± 18,27
12	214,37	± 21,13

Tab. 8.1.1.2 Veränderung der Teilchengröße von A-S-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	Teilchengröße [d.nm]	STABW
0	167,41	± 9,27
1	172,42	± 5,92
2	174,02	± 6,12
3	178,08	± 5,18
4	178,51	± 5,30
5	181,42	± 2,64
6	184,82	± 0,33
7	185,01	± 0,71
8	187,51	± 1,54
9	189,82	± 2,55
10	193,24	± 5,10
12	196,71	± 8,66

Tab. 8.1.1.3 Veränderung der Teilchengröße von A-PS-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	Teilchengröße [d.nm]	STABW
0	351,26	± 23,41
1	347,00	± 23,74
2	355,88	± 33,46
3	355,63	± 32,97
4	367,41	± 39,12
5	369,68	± 36,95
6	373,39	± 35,68
7	377,31	± 12,92
8	365,30	± 22,24
9	365,90	± 31,94
10	390,18	± 29,15
12	386,12	± 34,62

Tab. 8.1.1.4 Veränderung der Teilchengröße von A-S-PS-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	Teilchengröße [d.nm]	STABW
0	305,66	± 29,82
1	341,93	± 66,77
2	387,23	± 78,01
3	382,12	± 49,81
4	396,62	± 20,18
5	431,86	± 92,88
6	434,20	± 65,36
7	459,13	± 83,46
8	464,20	± 59,68
9	478,56	± 51,04
10	573,18	± 44,83
12	795,16	± 162,39

Submikronemulsionen mit Beta-Cyclodextrin

Tab. 8.1.1.5 Veränderung der Teilchengröße von B-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	Teilchengröße [d.nm]	STABW
0	183,13	± 7,32
1	185,34	± 8,15
2	187,91	± 8,43
3	190,48	± 8,71
4	191,94	± 7,28
5	193,83	± 6,05
6	187,51	± 4,52
7	192,67	± 6,61
8	172,93	± 39,79
9	196,23	± 6,42
10	195,16	± 5,15
12	195,56	± 5,02

Tab. 8.1.1.6 Veränderung der Teilchengröße von B-S-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	Teilchengröße [d.nm]	STABW
0	169,00	± 7,93
1	172,79	± 7,48
2	174,44	± 4,45
3	176,97	± 6,91
4	177,39	± 6,95
5	183,49	± 10,73
6	182,41	± 5,12
7	182,09	± 5,93
8	184,76	± 4,04
9	186,47	± 6,08
10	187,58	± 3,64
12	187,98	± 5,16

Tab. 8.1.1.7 Veränderung der Teilchengröße von B-PS-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	Teilchengröße [d.nm]	STABW
0	307,61	± 26,20
1	309,91	± 18,92
2	327,58	± 10,22
3	306,81	± 31,47
4	329,29	± 40,67
5	302,31	± 20,04
6	301,19	± 5,55
7	338,01	± 70,78
8	313,48	± 10,92
9	319,24	± 18,56
10	345,82	± 36,99
12	325,58	± 22,28

Tab. 8.1.1.8 Veränderung der Teilchengröße von B-S-PS-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	Teilchengröße [d.nm]	STABW
0	265,68	± 27,64
1	283,80	± 56,53
2	275,93	± 26,27
3	289,92	± 5,76
4	307,77	± 44,24
5	345,58	± 37,27
6	387,22	± 26,41
7	499,02	± 95,53
8	431,32	± 84,77
9	427,20	± 91,82
10	439,09	± 85,33
12	538,38	± 176,43

8.1.2. Tabellen zur Zetapotentialbestimmung

Submikronemulsionen mit Alpha-Cyclodextrin

Tab. 8.1.2.1 Veränderung des Zetapotentials von A-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	Zetapotential [mV]	STABW
0	-16,16	± 4,01
1	-16,84	± 1,88
2	-16,24	± 6,12
3	-22,00	± 7,81
4	-24,21	± 5,09
5	-21,13	± 7,26
6	-24,60	± 8,26
7	-23,99	± 7,41
8	-22,24	± 5,32
9	-19,67	± 5,96
10	-22,82	± 8,55
12	-24,94	± 3,19

Tab. 8.1.2.2 Veränderung des Zetapotentials von A-S-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	Zetapotential [mV]	STABW
0	-33,99	± 6,05
1	-29,99	± 0,37
2	-37,51	± 5,77
3	-36,62	± 3,15
4	-39,08	± 2,24
5	-35,49	± 1,59
6	-38,40	± 11,55
7	-37,89	± 3,72
8	-36,54	± 1,97
9	-32,88	± 4,92
10	-37,78	± 1,59
12	-36,72	± 3,47

Tab. 8.1.2.3 Veränderung des Zetapotentials von A-PS-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	Zetapotential [mV]	STABW
0	59,02	± 0,72
1	57,89	± 0,91
2	56,64	± 2,58
3	56,28	± 3,87
4	49,41	± 3,52
5	45,48	± 5,32
6	53,24	± 2,61
7	51,93	± 3,80
8	52,81	± 4,10
9	48,48	± 1,93
10	52,58	± 2,52
12	39,93	± 8,50

Tab. 8.1.2.4 Veränderung des Zetapotentials von A-S-PS-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	Zetapotential [mV]	STABW
0	51,60	± 1,49
1	45,86	± 8,25
2	42,72	± 3,96
3	45,74	± 2,74
4	39,19	± 5,65
5	36,17	± 2,55
6	30,40	± 5,94
7	37,16	± 3,08
8	40,72	± 1,42
9	41,11	± 1,72
10	41,18	± 3,38
12	36,97	± 1,59

Submikronemulsionen mit Beta-Cyclodextrin

Tab. 8.1.2.5 Veränderung des Zetapotentials von B-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	Zetapotential [mV]	STABW
0	-22,31	± 3,08
1	-19,79	± 3,85
2	-20,52	± 1,04
3	-22,64	± 4,38
4	-20,28	± 0,83
5	-22,29	± 4,00
6	-24,79	± 1,66
7	-27,38	± 0,37
8	-33,34	± 1,55
9	-34,09	± 5,77
10	-34,93	± 3,08
12	-31,26	± 1,35

Tab. 8.1.2.6 Veränderung des Zetapotentials von B-S-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	Zetapotential [mV]	STABW
0	-35,89	± 10,19
1	-30,65	± 4,59
2	-31,48	± 5,92
3	-36,20	± 4,30
4	-35,79	± 4,97
5	-30,69	± 6,27
6	-36,86	± 6,91
7	-35,99	± 3,50
8	-40,04	± 9,30
9	-42,62	± 6,04
10	-38,63	± 8,07
12	-40,06	± 4,05

Tab. 8.1.2.7 Veränderung des Zetapotentials von B-PS-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	Zetapotential [mV]	STABW
0	56,79	± 4,95
1	54,17	± 2,45
2	49,72	± 5,12
3	53,29	± 2,78
4	45,73	± 0,97
5	47,70	± 4,36
6	50,18	± 3,64
7	43,44	± 6,67
8	49,53	± 1,74
9	52,21	± 1,72
10	50,37	± 1,03
12	48,03	± 3,09

Tab. 8.1.2.8 Veränderung des Zetapotentials von B-S-PS-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	Zetapotential [mV]	STABW
0	48,29	± 4,01
1	45,56	± 1,96
2	46,68	± 0,52
3	40,25	± 3,79
4	39,47	± 0,62
5	41,72	± 5,87
6	40,23	± 1,47
7	27,29	± 1,48
8	35,19	± 6,75
9	30,00	± 7,50
10	35,98	± 3,91
12	33,89	± 6,08

8.1.3. Tabellen zur pH-Messung

Submikronemulsionen mit Alpha-Cyclodextrin

Tab. 8.1.3.1 Veränderung des pH-Werts von A-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	pH	STABW
0	7,06	± 0,05
1	6,89	± 0,06
2	6,86	± 0,16
3	6,65	± 0,10
4	6,60	± 0,06
5	6,54	± 0,04
6	6,50	± 0,24
7	6,42	± 0,12
8	6,48	± 0,15
9	6,34	± 0,31
10	6,28	± 0,17
12	6,39	± 0,01

Tab. 8.1.3.2 Veränderungen des pH-Werts von A-S-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	pH	STABW
0	6,93	± 0,03
1	6,85	± 0,02
2	6,81	± 0,07
3	6,56	± 0,27
4	6,32	± 0,20
5	6,38	± 0,18
6	6,46	± 0,13
7	6,31	± 0,16
8	6,37	± 0,21
9	6,32	± 0,27
10	6,36	± 0,08
12	6,10	± 0,22

Tab. 8.1.3.3 Veränderungen des pH-Werts von A-PS-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	pH	STABW
0	8,38	± 0,12
1	7,99	± 0,17
2	7,73	± 0,15
3	7,61	± 0,16
4	7,50	± 0,15
5	7,36	± 0,10
6	7,42	± 0,12
7	7,33	± 0,07
8	7,20	± 0,10
9	7,03	± 0,15
10	6,85	± 0,20
12	6,70	± 0,17

Tab. 8.1.3.4 Veränderungen des pH-Werts von A-S-PS-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	pH	STABW
0	8,84	± 0,05
1	8,02	± 0,08
2	7,86	± 0,10
3	7,62	± 0,11
4	7,52	± 0,09
5	7,52	± 0,04
6	7,36	± 0,02
7	7,40	± 0,08
8	7,27	± 0,12
9	7,10	± 0,25
10	6,95	± 0,28
12	6,98	± 0,22

Submikronemulsionen mit Beta-Cyclodextrin

Tab. 8.1.3.5 Veränderungen des pH-Werts von B-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	pH	STABW
0	6,96 ±	0,08
1	6,87 ±	0,05
2	6,75 ±	0,03
3	6,81 ±	0,08
4	6,71 ±	0,18
5	6,58 ±	0,03
6	6,47 ±	0,02
7	6,42 ±	0,05
8	6,49 ±	0,06
9	6,50 ±	0,04
10	6,42 ±	0,08
12	6,55 ±	0,06

Tab. 8.1.3.6 Veränderungen des pH-Werts von B-S-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	pH	STABW
0	6,98 ±	0,07
1	6,83 ±	0,02
2	6,84 ±	0,05
3	6,71 ±	0,12
4	6,70 ±	0,14
5	6,55 ±	0,13
6	6,49 ±	0,01
7	6,50 ±	0,07
8	6,44 ±	0,06
9	6,54 ±	0,03
10	6,51 ±	0,10
12	6,49 ±	0,10

Tab. 8.1.3.7 Veränderungen des pH-Werts von B-PS-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	pH	STABW
0	8,51	± 0,08
1	8,36	± 0,21
2	8,00	± 0,20
3	7,77	± 0,10
4	7,52	± 0,09
5	7,51	± 0,09
6	7,39	± 0,15
7	7,27	± 0,13
8	7,27	± 0,10
9	7,30	± 0,06
10	7,18	± 0,13
12	6,89	± 0,31

Tab. 8.1.3.8 Veränderungen des pH-Werts von B-S-PS-Prog über 12 Wochen; n=3.

Zeit [Wochen]	pH	STABW
0	8,43	± 0,18
1	8,13	± 0,18
2	7,77	± 0,11
3	7,45	± 0,24
4	7,34	± 0,40
5	7,11	± 0,32
6	7,00	± 0,28
7	6,98	± 0,27
8	6,81	± 0,27
9	6,96	± 0,26
10	6,80	± 0,20
12	6,72	± 0,15

8.2. Tabellen zur chemischen Stabilitätsprüfung

Submikronemulsionen mit Alpha-Cyclodextrin

Tab. 8.2.1 Veränderung des Gehalts an Progesteron in A-Prog über 10 Wochen; n \geq 5.

Zeit [Wochen]	Gehalt [%]	STABW
0	100,00	
1 und 2	95,12	\pm 8,40
3 und 4	86,19	\pm 8,00
5 und 6	88,15	\pm 7,22
7 und 8	78,97	\pm 8,88
9 und 10	78,55	\pm 9,64

Tab. 8.2.2 Veränderung des Gehalts an Progesteron in A-S-Prog über 10 Wochen n \geq 6.

Zeit [Wochen]	Gehalt [%]	STABW
0	100,00	
1 und 2	97,35	\pm 5,16
3 und 4	93,23	\pm 4,86
5 und 6	91,15	\pm 6,33
7 und 8	90,58	\pm 6,47
9 und 10	87,38	\pm 4,60

Tab. 8.2.3 Veränderung des Gehalts an Progesteron in A-PS-Prog über 10 Wochen; n \geq 3.

Zeit [Wochen]	Gehalt [%]	STABW
0	100,00	
1 und 2	94,78	\pm 3,87
3 und 4	91,95	\pm 7,07
5 und 6	91,67	\pm 5,39
7 und 8	84,89	\pm 3,74
9 und 10	96,73	\pm 2,31

Tab. 8.2.4 Veränderung des Gehalts an Progesteron in A-S-PS-Prog über 10 Wochen; n≥6.

Zeit [Wochen]	Gehalt [%]	STABW
0	100,00	
1 und 2	96,22 ±	5,69
3 und 4	90,40 ±	5,84
5 und 6	93,64 ±	4,38
7 und 8	90,05 ±	4,60
9 und 10	91,66 ±	4,85

Submikronemulsionen mit Beta-Cyclodextrin

Tab. 8.2.5 Veränderung des Gehalts an Progesteron in B-Prog über 10 Wochen; n≥5.

Zeit [Wochen]	Gehalt [%]	STABW
0	100,00	
1 und 2	106,11 ±	8,68
3 und 4	96,77 ±	10,35
5 und 6	95,35 ±	9,27
7 und 8	97,04 ±	8,19
9 und 10	92,00 ±	10,25

Tab. 8.2.6 Veränderung des Gehalts an Progesteron in B-S-Prog über 10 Wochen; n≥4.

Zeit [Wochen]	Gehalt [%]	STABW
0	100,00	
1 und 2	97,26 ±	17,78
3 und 4	86,69 ±	27,30
5 und 6	77,53 ±	8,36
7 und 8	81,15 ±	11,93
9 und 10	77,96 ±	14,08

Tab. 8.2.7 Veränderung des Gehalts an Progesteron in B-PS-Prog über 10 Wochen; n=8.

Zeit [Wochen]	Gehalt [%]	STABW
0	100,00	
1 und 2	97,01	± 3,94
3 und 4	92,51	± 5,97
5 und 6	88,28	± 5,05
7 und 8	89,82	± 3,98
9 und 10	80,73	± 3,64

Tab. 8.2.8 Veränderung des Gehalts an Progesteron in B-S-PS-Prog über 10 Wochen; n≥6.

Zeit [Wochen]	Gehalt [%]	STABW
0	100,00	
1 und 2	92,09	± 9,65
3 und 4	89,15	± 31,09
5 und 6	81,71	± 7,64
7 und 8	81,46	± 9,00
9 und 10	83,84	± 5,71

8.3. Tabellen zu den Permeationsstudien

Submikronemulsionen mit Alpha-Cyclodextrin

Tab. 8.3.1 Permeation von Progesteron aus A-Prog über 48 Stunden; n.d. = nicht detektierbar.

Zeit [Stunden]	Zelle 1 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 2 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 3 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 4 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Mittelwert	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
24	n.d.	0,251	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
28	n.d.	2,526	2,042	n.d.	2,284	0,342
32	n.d.	5,518	3,214	2,416	3,716	1,610
48	6,210	18,386	9,733	8,063	10,598	5,388

Tab. 8.3.2 Permeation von Progesteron aus A-S-Prog über 48 Stunden.

Zeit [Stunden]	Zelle 1 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 2 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 3 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 4 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Mittelwert	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
24	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
28	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
32	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
48	4,839	1,729	5,301	2,532	3,600	1,739

Tab. 8.3.3 Permeation von Progesteron aus A-PS-Prog über 48 Stunden.

Zeit [Stunden]	Zelle 1 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 2 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 3 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 4 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Mittelwert	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
24	24,000	11,989	9,164	12,783	14,484	6,531
28	30,160	16,537	14,329	18,809	19,959	7,042
32	35,016	21,550	19,777	23,366	24,927	6,884
48	51,502	42,692	41,373	46,871	45,609	4,574

Tab. 8.3.4 Permeation von Progesteron aus A-S-PS-Prog über 48 Stunden.

Zeit [Stunden]	Zelle 1 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 2 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 3 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 4 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Mittelwert	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
24	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
28	n.d.	n.d.	n.d.	0,133	n.d.	n.d.
32	n.d.	n.d.	1,084	0,512	0,798	0,404
48	5,454	3,054	5,833	4,333	4,668	1,251

Submikronemulsionen mit Beta-Cyclodextrin

Tab. 8.3.5 Permeation von Progesteron aus B-Prog über 48 Stunden.

Zeit [Stunden]	Zelle 1 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 2 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 3 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 4 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Mittelwert	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
24	5,651	5,357	4,980	5,174	5,290	0,286
28	9,243	8,728	8,884	8,996	8,963	0,217
32	12,143	11,095	11,704	12,120	11,766	0,490
48	26,942	27,394	26,182	27,868	27,097	0,717

Tab. 8.3.6 Permeation von Progesteron aus B-S-Prog über 48 Stunden.

Zeit [Stunden]	Zelle 1 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 2 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 3 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 4 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Mittelwert	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
24	3,830	11,414	5,721	10,714	7,920	3,723
28	8,468	17,595	10,519	16,828	13,352	4,545
32	13,223	24,152	15,517	22,814	18,927	5,372
48	38,294	54,264	40,610	50,950	46,030	7,772

Tab. 8.3.7 Permeation von Progesteron aus B-PS-Prog über 48 Stunden.

Zeit [Stunden]	Zelle 1 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 2 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 3 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 4 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Mittelwert	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
24	0,961	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
28	3,084	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
32	5,162	1,439	0,877	n.d.	2,493	2,329
48	18,965	8,773	7,832	7,098	10,667	5,574

Tab. 8.3.8 Permeation von Progesteron aus B-S-PS-Prog über 48 Stunden.

Zeit [Stunden]	Zelle 1 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 2 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 3 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Zelle 4 [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Mittelwert	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
24	n.d.	5,572	2,659	4,390	4,207	1,465
28	2,650	10,058	6,535	8,299	8,297	1,761
32	5,638	13,996	9,522	13,109	12,209	2,369
48	22,494	37,197	32,478	33,913	34,529	2,419

9. LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name: Anna-Maria Zimmermann
Adresse: Franz Guggenbergerstraße 8
2100 Korneuburg
Geburtsdatum: 29. November 1985
Geburtsort: 1030 Wien
Nationalität: Österreich

Ausbildung

Oktober 2004 – dato Studium der Pharmazie an der Universität Wien
Juni 2004 Reifeprüfung mit Auszeichnung
1996 – 2004 Gymnasium Sacré Coeur Wien

Arbeitserfahrung

Februar 2008 – dato Vitalapotheke Strebersdorf, Wien
Sommersemester 2009 Tutorin für das Grundpraktikum aus
Wintersemester 2008 Pharmazeutischer Technologie am Department
für Pharmazeutische Technologie und
Biopharmazie
Jänner 2006 – Dezember 2007 Leonhardus Apotheke, Wien
August 2005 Löwenapotheke, Stockerau
Juli 2002, 2003, 2004, 2005 CSC Pharmaceuticals HandelsGmbH, Bisamberg

Zusatzausbildung

August 2007 Summer School „Chinese Herbal Medicinal
Products“ am IMPLAD in Peking, China
Juni 2004 ECDL Computerführerschein

Sprachen

Deutsch: Muttersprache
Englisch: fließend
Französisch: Grundkenntnisse