



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

**„Beschleunigte Stabilitätsuntersuchung von Nanoemulsionen und
Hautpenetration aus halbfesten Systemen“**

Verfasserin

Sophie Raffener

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, im Februar 2014

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt: Pharmazie

Betreuerin: Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Claudia Valenta

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle ganz herzlich bei jenen Personen bedanken, die mich bei dieser Arbeit begleitet und unterstützt haben.

Als Erstes möchte ich Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Claudia Valenta danken, dass sie es mir ermöglicht hat, meine Diplomarbeit am Institut für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie zu verfassen. Dabei möchte ich besonders die freundliche und kompetente Betreuung hervorheben, sowie das angenehme Arbeitsklima in ihrer Arbeitsgruppe. Ich habe während meiner praktischen Arbeit einen guten Einblick bekommen, was es heißt, wissenschaftlich zu arbeiten.

Als nächstes möchte ich mich bei O. Univ.-Prof. Dr. Helmut Viernstein bedanken, der mir einen Arbeitsplatz am Department zur Verfügung gestellt hat. Ebenso möchte ich mich bei Dr. Mag. pharm. Victoria Klang bedanken, für die Einführung in das praktische Arbeiten, ihre tatkräftige Unterstützung und die vielen kompetenten Ratschläge.

Weiters möchte ich Mag. pharm. Corinna Nagelreiter für die gute Zusammenarbeit und Betreuung danken. Ein Dank auch an Dr. Nadejda Matsko für die Aufnahmen der TEM- und Cryo-TEM-Bilder.

Schließlich möchte ich mich ganz herzlich bei meinem Mann Stefan bedanken, der mich die ganze Studienzeit über geduldig sowohl seelisch als auch finanziell unterstützt hat, und so für mich das Studium überhaupt erst möglich gemacht hat.

Ganz herzlich möchte ich auch bei meinen Großeltern für die finanzielle Unterstützung bedanken und dafür, dass sie immer an mich geglaubt haben. Meiner Freundin Mag. pharm. Eva Mayr, die mit mir gemeinsam im Studium alle Höhen und Tiefen erlebt hat, danke ich von Herzen. Schlussendlich bedanke ich mich noch bei meinen Freunden, besonders bei Isabella und Patrick Gura, die mich regelmäßig motiviert und bekocht haben.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	11
2	Allgemeiner Teil	13
2.1	Die Haut	13
2.2	Untersuchung der Hautpenetration mittels Tape Stripping	14
2.2.1	Die Methode des Tape Stripping	14
2.2.2	Bedeutung der Formulierung	15
2.2.3	Lateral Spreading	16
2.3	Nanoemulsionen	17
2.3.1	Eigenschaften und Herstellung	17
2.3.2	Verwendete Tenside	20
2.3.3	Verwendete Öle	24
2.3.4	Fludrocortisonacetat	25
2.4	Dermatikagrundlagen	26
2.4.1	Ultrabas®	27
2.4.2	Ultrasicc®	27
2.4.3	Ultraphil®	28
3	Methoden	29
3.1	Herstellung und Charakterisierung der Nanoemulsionen	29
3.1.1	Rezepturen	29
3.1.2	Herstellung	30
3.1.3	Charakterisierung	31
3.2	Stabilitätsprüfung der Nanoemulsionen mittels dynamischer Lichtstreuung und Zeta-Potential	35
3.3	Stabilitätsprüfung der Nanoemulsionen mittels TEM und Cryo-TEM . . .	36

Inhaltsverzeichnis

3.4	In vitro Tape Stripping	36
3.4.1	Vorbereitung der Schweineohren und Auftragen der Formulierung	36
3.4.2	Quantifizierung der Corneozytenmenge mittels NIR	37
3.4.3	Quantifizierung der Arzneistoffmenge mittels HPLC	38
3.4.4	Untersuchung auf Lateral Spreading in vitro	39
4	Ergebnisse	41
4.1	Beobachtungen bei der Herstellung von Nanoemulsionen	41
4.2	Physikochemische Charakterisierung und Stabilitätsuntersuchung	42
4.2.1	Tröpfchengröße und PDI	42
4.2.2	Zetapotential	44
4.2.3	pH-Wert	46
4.3	Ergebnisse der TEM und Cryo-TEM-Aufnahmen	46
4.4	Ergebnisse der Tape Stripping-Studien	48
4.4.1	Vergleich der Hautpenetration der Formulierungen	48
4.4.2	Untersuchung des Lateral Spreading in vitro	52
5	Diskussion	53
5.1	Diskussion der Ergebnisse der Qualitäts- und Stabilitätsprüfung	53
5.2	Diskussion der Tape-Stripping-Studien	54
6	Zusammenfassung	57
7	Anhang	59
8	Literaturverzeichnis	75
9	Abstract	81
	Lebenslauf	85

Abbildungsverzeichnis

2.1	Schematischer Aufbau der Haut [32]	13
2.2	Strukturformel von Polysorbat 80 [50]	21
2.3	Schematischer Aufbau von Phospholipiden [43]	23
2.4	Strukturformel von Fludrocortisonacetat [12]	25
3.1	Rezeptur A nach Herstellung	30
3.2	Schematische Darstellung von DLS [8]	32
3.3	Schematische Darstellung des hydrodynamischen Durchmessers [21]	32
3.4	Eichgerade Fludrocortisonacetat	39
4.1	Durchschnittliche Tröpfchengröße unmittelbar nach Herstellung	42
4.2	Vergleich der Partikelgrößen der Sojaöl-Rezepturen	43
4.3	Vergleich der Partikelgrößen der Squalen-Rezepturen	44
4.4	Entwicklung des Zetapotentials der Sojaöl-Rezepturen	45
4.5	Entwicklung des Zetapotentials der Squalen-Rezepturen	45
4.6	pH-Werte der Emulsionen über die Zeit	46
4.7	TEM-Aufnahmen der Rezepturen A, B und C unmittelbar nach Anfertigung	47
4.8	TEM-Aufnahmen der Rezepturen A, B und C nach einer Lagerung von 5 Wochen	47
4.9	TEM-Aufnahmen der Rezepturen D, E und F unmittelbar nach Anfertigung	48
4.10	TEM-Aufnahmen der Rezepturen D, E und F nach einer Lagerung von 5 Wochen	48
4.11	Cryo-TEM Aufnahme Rezeptur E unmittelbar nach Anfertigung	49
4.12	Phasentrennung in Rezeptur E nach 7 Wochen Lagerung	49
4.13	Eindringtiefe von Fludrocortisonacetat aus verschiedenen Formulierungen	50
4.14	Arzneistoffverteilung im Stratum Corneum	51

Tabellenverzeichnis

2.1	Ultrabas [®] Zusammensetzung [16]	27
2.2	Ultrasicc [®] Zusammensetzung [16]	27
2.3	Ultraphil [®] Zusammensetzung [16]	28
3.1	Grundrezeptur	29
3.2	Rezepturübersicht	30
3.3	Verdünnungsreihe von Fludrocortisonacetat zur Erstellung der Eichgeraden	38
7.1	Rezeptur A, Charge 1-3	59
7.2	Rezeptur B, Charge 1-3	59
7.3	Rezeptur C, Charge 1-3	59
7.4	Rezeptur D, Charge 1-3	60
7.5	Rezeptur E, Charge 1-3	60
7.6	Rezeptur F, Charge 1-3	60
7.7	Rezeptur Z, Charge 1-3	60
7.8	Messwerte der Rezeptur A, Woche 0-7	61
7.9	Messwerte der Rezeptur B, Woche 0-7	62
7.10	Messwerte der Rezeptur C, Woche 0-7	63
7.11	Messwerte der Rezeptur D, Woche 0-7	64
7.12	Messwerte der Rezeptur E, Woche 0-7	65
7.13	Messwerte der Rezeptur F, Woche 0-7	66
7.14	Nanoemulsion: Konzentration Fludrocortisonacetat in $\mu g/ml$ (Mittelwerte, $n \geq 5$)	67
7.15	Nanoemulsion: Menge der Corneozyten in μg (Mittelwerte, $n \geq 5$)	68
7.16	Ultrabas [®] : Konzentration Fludrocortisonacetat in $\mu g/ml$ (Mittelwerte, $n \geq 5$)	69
7.17	Ultrabas [®] : Menge der Corneozyten in μg (Mittelwerte, $n \geq 5$)	70

Tabellenverzeichnis

7.18	Ultrasicc [®] : Konzentration Fludrocortisonacetat in $\mu g/ml$ (Mittelwerte, $n \geq 5$)	71
7.19	Ultrasicc [®] : Menge der Corneozyten in μg (Mittelwerte, $n \geq 5$)	72
7.20	Ultraphil [®] : Konzentration Fludrocortisonacetat in $\mu g/ml$ (Mittelwerte, $n \geq 5$)	73
7.21	Ultraphil [®] : Menge der Corneozyten in μg (Mittelwerte, $n \geq 5$)	74

1 Einleitung

Nanoemulsionen, die ursprünglich auf Basis von Lecithin, für die parenterale Ernährung entwickelt wurden, sind kolloidale Trägersysteme, die in den letzten Jahrzehnten auch eine steigende Anwendung sowohl in der pharmazeutischen Industrie als auch in der Kosmetikbranche fanden. Der am häufigsten angewendete Typ von Nanoemulsionen sind die Öl-in-Wasser-Emulsionen, die für den Transport von lipophilen Stoffen in wässrigen Systemen entwickelt wurden [4]. In der modernen Lebensmittelindustrie finden sich heute viele Emulsionen mit natürlich vorkommenden Ölen auf Basis von natürlichen Emulgatoren, die in letzter Zeit wegen ihrer oft sehr gut verträglichen und hautfreundlichen Eigenschaften auch Beachtung in der Kosmetik finden.

Durch die immer größere Nachfrage der Konsumenten ist zudem in der pharmazeutischen und kosmetischen Industrie ein Trend zu Produkten mit natürlich vorkommenden Inhaltsstoffen auszumachen. Diese Produkte sollen möglichst ohne mineralöhlhaltige Inhaltsstoffe hergestellt sein und eine besondere Hautverträglichkeit ohne allergenes Potential aufweisen.

Kosmetische Produkte mit mineralöhlhaltiger Zusammensetzung weisen zwar kein allergenes Potential auf, können vom Organismus jedoch auch nicht abgebaut werden und gerieten daher in letzter Zeit immer mehr in Verruf. Daher bevorzugen viele Konsumenten mittlerweile erdölfreie Alternativen, die aber die selben positiven physikalischen Eigenschaften wie gute Stabilität und Haltbarkeit aufweisen sollen. Andererseits muss aber auch ein guter Wirkstofftransport in die Haut gewährleistet sein.

Doch auch bei topischen Systemen, die vorwiegend aus natürlich vorkommenden Bestandteilen zusammengesetzt sind, ist die Auswahl der verwendeten Emulgatoren von großer Bedeutung, da diese Produkte eine ebenso gute physikalischen Stabilität aufweisen sollen wie schon etablierte.

Nanoemulsionen entstehen durch den Eintrag von hoher Energie in die vorbereitete, zumeist noch instabile Emulsion. In dieser Arbeit wurde dazu ein Hochdruckhomogenisator angewandt. Die dadurch entstehenden Tröpfchen im Mikrometerbereich wurden mit

1 Einleitung

Hilfe von Tensiden umschlossen und die so entstandene Emulsion stabilisiert. Durch die richtige Auswahl an Emulgatoren, die in Nanoemulsionen für die Stabilisation und damit für die Bildung und den Erhalt der Emulsion zuständig sind, wurde verhindert, dass es zu Koaleszenz und Phasentrennung der öligen- und der wässrigen Komponente kam [37].

Die vorliegende Arbeit geht beiden Entwicklungen nach: zum einen sollten Nanoemulsionen mit natürlich vorkommenden Ölen wie z.B. Sojaöl oder Squalen und Emulgatoren z.B. Lecithin oder Zuckerester, hergestellt werden, die hautfreundlich sind und ein möglichst geringes allergenes Potential aufweisen. Da die Qualität und Stabilität einer topischen Formulierung wie schon erwähnt grundlegende Parameter darstellen, sollte untersucht werden, welches Öl mit welcher Tensidmischung die auf die Tröpfchengröße bezogen einheitlichste Emulsion ergibt, und welche Stabilität die einzelnen Emulsionen aufweisen.

Zum anderen sollte die Penetration von Fludrocortisonacetat aus den verschiedenen Systemen mittels Tape Stripping an porcinen Ohren gemessen werden. Dazu sollte sowohl in die in Bezug auf Homogenität und Stabilität vielversprechendste Nanoemulsion als auch in die in der magistralen Arzneimittelherstellung langjährig etablierte Salbengrundlagen wie z.B. Ultrabas[®], Ultrasicc[®] und Ultraphil[®] der Wirkstoff Fludrocortisonacetat eingearbeitet werden und deren Einfluss auf die Wirkstoffpenetration untersucht werden.

Ein weiterer Aspekt, der in dieser Arbeit untersucht werden sollte, ist der Einfluss der hydrophilen und lipophilen Eigenschaften der Salbengrundlagen auf das Phänomen des „Lateral Spreading“ in in vitro Studien an porcinen Ohren.

2 Allgemeiner Teil

2.1 Die Haut

Die Haut des erwachsenen Menschen nimmt eine Oberfläche von ungefähr $1,7m^2$ ein. Wie in Abbildung 2.1 dargestellt, wird sie unterteilt in Epidermis (unterteilt in Stratum Corneum, Stratum Granulosum und Stratum Germinativum), die durch ein mehrschichtig verhorntes Plattenepithel (Stratum Corneum) an der Oberfläche gekennzeichnet ist. Die äußerste Schicht der Haut ist etwa $0,1 - 0,2mm$ dick. Die Dermis (unterteilt in Stratum Papillare und Stratum Reticulare), die aus einem Geflecht aus Kollagen und elastischen Fasern besteht, verleiht der Haut ihre Reißfestigkeit und ist von Blut- und Lymphgefäßen sowie Nervenfasern durchzogen. Die innerste Schicht ist die Subcutis, die aus fettreichem Bindegewebe besteht, das durch Bindegewebszüge fest umklammert wird. Dadurch wird die Verschiebbarkeit der Haut ermöglicht.

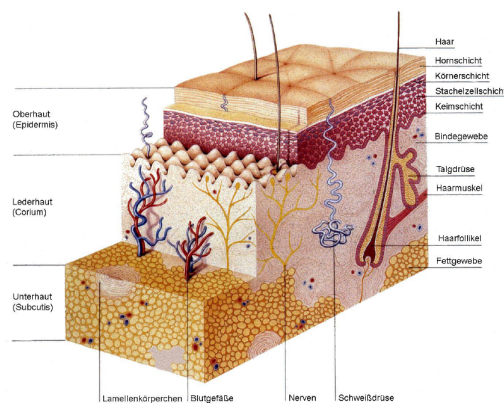


Abbildung 2.1: Schematischer Aufbau der Haut [32]

Durch die unterschiedlichen Schichten nimmt die Haut verschiedene Aufgaben und Funktionen wahr, von denen der Schutz- und Barrierefunktion eine wesentliche Rolle zukommt. Durch die Hornschicht und die Abgabe von Sekreten durch die in der Haut

2 Allgemeiner Teil

eingebetteten Drüsen ist ein Schutz vor chemischen, thermischen sowie mechanischen Schäden gewährleistet. Eine weitere nicht minder wichtige Aufgabe ist die der Thermoregulation, die durch die Verengung oder Erweiterung der Hautgefäße sowie die Abgabe von Flüssigkeit durch die Schweißdrüsen gekennzeichnet ist [36].

Bei der Wirkstoffpenetration durch die Haut ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Durchtritt durch das Stratum Corneum, wobei das Fick'sche Diffusionsgesetz gilt:

$$J = \frac{D_m \cdot C_{sm} \cdot C_v}{L \cdot C_{sv}}$$

J = Flux (Substanzfluss)

D_m = Diffusionskoeffizient des Arzneistoffs in der Haut

C_{sm} = Löslichkeit des Arzneistoffs in der Haut

C_v = Konzentration des Arzneistoffs im Vehikel

L = Weglänge

C_{sv} = Löslichkeit des Arzneistoffs im Vehikel

In diesem Gesetz ist deutlich zu sehen, dass der Wirkstoff und das Vehikel sowie die Löslichkeit eine wichtige Rolle spielen. Mit der Methode des Tape Strippings ist eine Methode gewählt worden, um den Einfluss der Galenik auf die Haut zu untersuchen.

2.2 Untersuchung der Hautpenetration mittels Tape Stripping

2.2.1 Die Methode des Tape Stripping

Tape Stripping ist eine minimalinvasive Methode, bei der mittels Klebestreifen das Stratum Corneum schichtweise abgetragen wird, um die Wirkstoffpenetration von verschiedenen topisch applizierten Formulierungen zu testen. Die Methode des Tape Stripping hat sich als Standardmethode etabliert um Hautpenetrationsprofile von Substanzen aus unterschiedlichen Formulierungen zu erhalten. Mittels Tape Stripping lassen sich sowohl in vivo als auch in vitro Studien durchführen, die an menschlicher oder tierischer Haut durchgeführt werden können [34]. Dabei können Aussagen sowohl über die Eindringtiefe

2.2 Untersuchung der Hautpenetration mittels Tape Stripping

als auch über die Menge des Arzneistoffes in der jeweiligen Schicht getroffen werden [29]. Dabei ist zu beachten, dass die Beschaffenheit des Stratum Corneum in Bezug auf die Anzahl der Corneozytenschichten unterschiedlich ist je nach Individuum und Lokalisation am Körper [34].

Zunächst wird der Arzneistoff in unterschiedlichen Formulierungen auf die Haut in einer definierte Menge pro Fläche aufgebracht. Nach einer definierten Einwirkzeit wird im Anschluss mit Hilfe von Klebestreifen das Stratum Corneum Schicht für Schicht abgezogen, bis es komplett entfernt ist. Die Klebestreifen werden danach einzeln hinsichtlich der Corneozytenmenge und der Arzneistoffmenge untersucht, um so Rückschlüsse auf die Dicke des Stratum Corneums und die Eindringtiefe des Arzneistoffs zu erhalten.

Für diese Untersuchung verwendet man ein IR-Densitometer, um eine nicht invasive und indirekte Bestimmung des Proteingehaltes der auf Corneofix-Streifen befindlichen Zellen des Stratum Corneums vorzunehmen. Vorteile dieser Technik sind die einfache Handhabung, die zeiteffiziente Durchführung und auch die vergleichsweise niedrigen Kosten. Bei der Messung handelt es sich um eine Messung der Pseudoabsorption bei einer Wellenlänge von 850 nm , also im nahen Infrarotbereich [47]. Das Messergebnis wird in Prozent Absorption angezeigt und kann mit linearer Abhängigkeit in den Proteingehalt umgerechnet werden. Diese lineare Abhängigkeit wurde in vorangegangenen Studien bewiesen [29].

Da Studien in vivo am Menschen organisatorisch langwierig und nur schwer umzusetzen sind, stellt die in vitro Studie am Schweineohr eine gute Alternative dar. Die Schweineohrhaut hat annähernd die gleiche Zusammensetzung wie die menschliche Haut [30].

2.2.2 Bedeutung der Formulierung

Die Zusammensetzung und die Mikrostruktur der Formulierung ist für die Diffusion durch das Stratum Corneum von wesentlicher Bedeutung. Grundsätzlich ist die Verteilung der Substanzen im Stratum Corneum vor allem von der Art der angewendeten Formulierung sowie von den physikalischen und chemischen Eigenschaften des Arzneistoffes abhängig. Unter „Lateral spreading“ versteht man die Ausbreitung von zuvor aufgetragenen topischen Systemen auf der Hautoberfläche. In einer Studie, die die Penetrationstiefe und das „Lateral Spreading“ von unterschiedlichen UV-Filtern in die Haut untersuchte, wurde festgestellt, dass Substanzen mit ähnlich molarer Masse und ähnlichem Volumen keine unterschiedlichen Ergebnisse bezüglich des „Lateral Spreadings“ aufweisen, obwohl sie

sich ihrer Polarität und Lipophilie unterscheiden. Dies lässt darauf schließen, dass die Zusammensetzung der Trägerformulierung ausschlaggebend ist für die Effektivität des Transports in das Stratum Corneum [25].

Beim Vorgang des Tape Strippings ist zu beachten, dass die Eigenschaften der auf das porcine Ohr aufgetragenen Formulierung einen Einfluss haben auf die Menge der beim Abziehen anhaftenden Corneozyten haben. Eine fette Formulierung kann zum Beispiel bewirken, dass durch den Fettfilm auf der Oberfläche bei den ersten Strips keine Corneozyten haften bleiben. In diesem Fall wurden bei der vorliegenden Arbeit diese Strips mit einem „X“ markiert und die eigentliche Auswertung erst mit dem ersten anhaftenden Strip begonnen [34].

2.2.3 Lateral Spreading

Wie schon erwähnt bezeichnet „Lateral Spreading“ das Ausbreiten von topisch aufgetragenen Substanzen aus der behandelten in die danebenliegende unbehandelte Hautzone [25]. Dies führt dann aus therapeutischer Sicht zu einer Abnahme des Wirkstoffes auf der zu behandelnden Fläche und damit möglicherweise zu Wirkungseinbußen [24].

In vivo Studien haben gezeigt, dass „Lateral Spreading“ bei topisch applizierten Substanzen zur Penetration des Arzneistoffs in die Haut in Konkurrenz tritt. „Lateral Spreading“ ist abhängig von der Zeit, die zwischen dem Auftragen der Formulierung und dem Tape Stripping liegt, sowie von der Größe der behandelten Fläche. Das Phänomen tritt vor allem bei kleinen Flächen auf. In in-vivo Studien wurde festgestellt, dass die Substanzmenge, die auf der behandelnden Fläche verlorengeht, im Stratum Corneum der angrenzenden Flächen wiedergefunden wurde.

Weiters wurde beobachtet, dass „Lateral Spreading“ symmetrisch passiert, das heißt rechts und links von der behandelten Stelle gleichermaßen auftritt [25]. Eine Erklärung dafür könnte im Faltenprofil liegen, das häufig parallel zur Körperachse beobachtet wird. Die Falten fungieren dabei wie Wege, anhand derer sich die Formulierung ausbreiten kann. Auch um die Haarfollikel hat man eine größere Ansammlung der Formulierung gefunden. Das erklärt auch, warum der höchste prozentuelle Anteil der beim „Lateral Spreading“ gefundenen Wirkstoffmenge an der Hautoberfläche gefunden wurde [24].

Um „Lateral Spreading“ möglichst zu vermeiden, kann die Substanz auf eine größere Fläche aufgebracht werden; in diesem Fall minimiert sich der Effekt. Da dies jedoch therapeutisch z.B. bei Steroiden nicht sinnvoll ist, besteht auch die Möglichkeit, das

zu behandelnde Gebiet mit einer silikonhaltigen Formulierung einzugrenzen [24]. Vor allem bei der Anwendung von Steroiden wie Cortisonpräparaten sollte dieses Phänomen Berücksichtigung finden, um deren Nebenwirkungen weitestgehend zu minimieren.

Die intraindividuellen Unterschiede in der Struktur und Beschaffenheit der Haut spielen bei „Lateral Spreading“ eine sehr untergeordnete Rolle und können daher ignoriert werden [25]. Vorangegangene Studien mit UV-Filtern, die an menschlicher oder porciner Haut *in vitro* durchgeführt wurden, haben gezeigt, dass „Lateral Spreading“ hier nicht nachzuweisen ist [24]. Da die vorliegende Arbeit die Hautpenetration aus einer Nanoemulsion sowie auch aus halbfesten Systemen untersuchen sollte, werden im nächsten Kapitel Nanoemulsionen beschrieben.

2.3 Nanoemulsionen

2.3.1 Eigenschaften und Herstellung

Der Begriff Nanoemulsion wurde ursprünglich für Emulsionen mit einer Tröpfchengröße von unter 100 nm verwendet. Dieser Begriff wird jedoch für alle metastabilen, kolloidalen Systeme im Submikrobereich so verwendet [31]. Solche Systeme können auch als Submicronemulsionen bezeichnet werden.

Um eine Nanoemulsion zu stabilisieren, ist ein hoher Energieeintrag durch mechanische Scherkräfte notwendig, sowie das Einbringen von grenzaktiven Substanzen, Polymeren oder anderen Stabilisatoren [31]. Es handelt sich dabei um ein metastabiles System, dessen Struktur von der Herstellungstechnik abhängig ist [46]. Man unterscheidet zwischen zwei Arten von Emulsionen: Öl-in-Wasser-Emulsionen (Öltröpfchen umgeben von einer Bulkwasserphase) und Wasser-in-Öl-Emulsionen (Wassertröpfchen umgeben von einer öligen Bulkphase) [31]. Die Art der entstehenden Emulsion ist abhängig von der Auswahl des zugegebenen Emulgatortyps. So haben vielfältige Studien ergeben, dass die Kombination von verschiedenen Emulgatoren die Stabilität verbessern kann. Um die richtige Kombination zu finden ist der hydrophilic/lipophilic Balancewert (HLB-Wert) zu beachten [13].

Die physikalische Stabilität ist neben den Emulgatoren auch von der Tröpfchengröße abhängig, die auch über die Herstellungsmethode der Nanoemulsion beeinflusst werden kann [10]. Je nach Tröpfchengröße können Nanoemulsionen milchig-weiß bis semitransparent sein [53].

2 Allgemeiner Teil

Nanoemulsionen als Arzneistoffabgabesysteme, die Lezithin enthalten, haben den Vorteil, mit nur 1,5% Tensidgehalt auszukommen [26]. Für eine Nanoemulsion mit 20% Ölgehalt genügt ein Tensidgehalt im Bereich von 5-10% [49]. Lezithin-basierte Nanoemulsionen sind je nach Teilchengröße flüssig und durchscheinend bis transparent [31]. Da Nanoemulsionen mit kleiner Tröpfchengröße jedoch eine geringe Viskosität haben, sind sie nicht für jede Applikationsform ideal geeignet, werden jedoch für dermale und kosmetische Applikation angewandt [31]. Der hauptlimitierende Faktor für die Anwendung von Nanoemulsionen ist jedoch deren physiko-chemische Instabilität bei der Zugabe von Arzneistoffen [48]. Sie sind aber gut geeignet, um Wirkstoffe in die Haut zu transportieren, da die Emulsionströpfchen wegen ihrer geringen Größe eine zum Volumen verhältnismäßig große Oberfläche besitzen [49].

Die kleine Tröpfchengröße führt dabei zu verschiedenen Effekten: zum einen ist eine große Reduktion der Schwerkraft festzustellen, sodass die Brownsche Molekularbewegung in ihrer Wirkung überwiegt, zum anderen werden Effekte wie Verfestigung oder Sedimentation und Koaleszenz verhindert [49]. Auch auf die Benetzung, die Ausbreitung sowie die Penetration der Nanoemulsion hat die geringe Tröpfchengröße einen positiven Einfluss. Zu erklären ist dieser Effekt durch die geringe Oberflächenspannung des Systems und die geringe Oberflächenspannung an der Grenzfläche der Öl-Wasser-Tröpfchen [5].

Auch bei der Auswahl des Öls sollten einige Überlegungen mit einfließen. So führt beispielsweise ein niedriges Molekulargewicht des Öls zu einer instabilen Nanoemulsion, im Gegensatz zu Ölen mit hohem Molekulargewicht. In der Kosmetik wird jedoch oft eine Ölmischung verwendet, da leichte Öle schnell einziehen während schwere Öle fettend sind. Der Einsatz der Nanoemulsion als Kosmetikum zeigt Vorteile in Bezug auf die Feuchthaltefähigkeit im Vergleich zu Körpermilch oder Körperwasser. Dabei zeigt sich ein länger anhaltender Effekt [46].

Angewandt werden Nanoemulsionen heute vielfältig: in der Lebensmittelindustrie, als Arzneistoffträgersysteme sowie in der Kosmetik, etwa in Deodorants oder alkoholfreien Parfums [49].

Herstellung

Grundsätzlich kann zwischen der Herstellung von Nanoemulsionen mit hohem Energieeintrag in Form von Druck oder Ultraschall und jener mit niedrigem Energieeintrag (Emulsifikation) unterschieden werden. Bei der Emulgierung macht man sich die physikalisch-

chemischen Eigenschaften der Bestandteile zunutze [3].

Zur den Herstellungsmethoden mit hohem Energieeintrag zählen die Hochdruckhomogenisation, die Microfluidisation und Ultraschall, während die EIP-Methode, die PIT-Methode und die Solvent-Evaporation-Methode zu den Methoden mit niedrigem Energieeintrag zählen [31]. In dieser Arbeit wird die Herstellung der Nanoemulsionen mittels Hochdruckhomogenisator durchgeführt, daher wird auf diese Methode genauer eingegangen.

Der hohe Energieeintrag, der zur Herstellung der Nanoemulsionen benötigt wird, wird verwendet, um größere Tropfen in kleinere zu zerreißen. Daher ist ein Emulgator auf jeden Fall notwendig, um sofort einen neuen Überzug auf der dabei entstandenen Oberfläche auszubilden [38]. Die Arzneistoffe können dabei vor oder nach der Energieeinbringung eingearbeitet werden [56].

Zahlreiche Faktoren haben einen Einfluss auf die entstehende Nanoemulsion. Zu den Wichtigsten zählen die Rezeptur, die Viskosität der Emulsion, die Inprozessbedingungen und die Temperatur [27].

Zur Verkleinerung der Tröpfchengröße können mehrere Faktoren beitragen: zum einen ein größerer Energieeintrag, eine länger andauernde Homogenisation oder größerer Druck [51], zum anderen eine Veränderung der Rezeptur wie beispielsweise eine Erhöhung der Lezithinkonzentration [48]. Ein geringerer Ölanteil hingegen führt zu einem Anstieg von Effekten wie der Kollision der Tröpfchen und damit weiters zur Koaleszenz [49]. Ein zu geringer Anteil an Tensiden wiederum verhindert die Verkleinerung der Tröpfchen, da für die immer größer werdende Oberfläche zu wenig Emulgator vorhanden ist [18].

Da die Wechselwirkungen von Nanoemulsion und Wirkstoff ebenfalls komplex sind [40] und die Stabilität der Nanoemulsion wesentlich beeinflussen, ist es wichtig für jede einzelne Formulierung die optimalen Herstellungsbedingungen zu finden. Ausschlaggebend dafür sind Faktoren wie die Lipophilie, die Ionisierung und das Molekulargewicht [48]. Auch eine mögliche Überbearbeitung wie zu langes Homogenisieren kann zu einer Verschlechterung der Stabilität führen [44]. Dies ist dadurch zu begründen, dass es zu einer vermehrten Kollision zwischen den Tröpfchen kommt und dadurch wieder mehr Tröpfchen koaleszieren. Diese Koaleszenz ist auch oft der limitierende Faktor für die Teilchengröße. Für den Herstellungsprozess heißt das, dass nach einer gewissen Zeit bzw. einem gewissen Energieeintrag der Punkt erreicht ist, an dem die Tröpfchen die kleinstmögliche Größe erreicht haben, und von da an bei Weiterbearbeitung wieder der gegenteilige Effekt ent-

ritt [18].

Die Emulgierung mittels Hochdruckhomogenisator basiert auf Scherkräften, Turbulenzen und Kavitation. Klassisch stellt man die Nanoemulsion mit Lezithin in mehreren Schritten her. Sie besteht grundsätzlich aus einer Ölphase und einer Wasserphase die getrennt voneinander unter Rühren mittels Magnetstäbchen bei 50 °C vorbereitet werden. Der Ölphase, die oft aus Sojaöl, anderen biokompatiblen Ölen und Lezithinen besteht sowie eventuell Antioxidantien enthält, wird der lipophile Wirkstoff zugegeben und darin gelöst. In der Wasserphase werden hydrophile Tenside gelöst, sofern welche enthalten sind [53]. Danach werden die zwei Phasen unter Rühren vereinigt und durch die hohen Scherkräfte des Ultra-Turrax emulgiert, sodass eine Tröpfchengröße von einigen Mikrometern erreicht wird [10]. Anschließend wird die entstandene Emulsion mittels Hochdruckhomogenisator weiter verkleinert.

Dabei wird das Fluid unter Druck durch eine kleine Düse des Hochdruckventils gepumpt. Das Fluid wird dabei schnell beschleunigt und es entsteht ein Hochdruckgradient zwischen der Eintrittsöffnung und der Austrittsöffnung der Ventils. Die daraus resultierenden einwirkenden Kräfte sind neben intensiven Scherkräften, Turbulenzen und Kollisionen vor allem die Kavitation, die aufgrund der hohen Druckunterschiede bedingt ist. Es entstehen Lösungsmitteldampfbläschen, die durch den hohen Druck kollabieren. Das führt zum Zerreißen der Bläschen und zur Entstehung kleinerer Tröpfchen [53]. Der verwendete Druck für die Herstellung von Nanoemulsionen liegt zwischen 500 – 800 *bar* [1].

2.3.2 Verwendete Tenside

Die ausgewählten Tenside sollen einen geschmeidigen Film bilden. Bei einer hohen Festigkeit des Tensidfilms prallen die Tröpfchen in der Emulsion voneinander ab, bei geringer Festigkeit kann es sehr leicht zur Koaleszenz der einzelnen Tröpfchen kommen. In der vorliegenden Arbeit wurden Polysorbat, Zuckerester und Lezithin als Tenside eingesetzt.

Polysorbat (Polyoxyethylensorbitanmonofettsäureester, Tween®)

Bei der Tweenreihe handelt es sich um Estergemische, die mit 20 Mol Ethylenoxid ethoxyliert sind. Als Fettsäuren kommen z.B. Stearinsäure, Ölsäure oder Laurinsäure zur Anwendung. Polysorbate sind durch einen charakteristischen Geruch und einen bitteren Geschmack gekennzeichnet. Der HLB-Wert liegt bei ca. 15 [22].

Das Aussehen ist gelblich bis bräunlich, die Konsistenz kann ölig bis wachsartig sein.

Tenside der Tweenreihe sind mischbar mit Wasser, Ethanol und Etylacetat, jedoch unlöslich in Mineralölen und Fetten [11]. Zur Anwendung kommen sie als Netzmittel (0,1-3%), Lösungsvermittler (1-10%), als Öl-in-Wasser-Emulgatoren (1-15%) [22] für Wirkstoffe, die in Ölen löslich sind, oder auch zur Extraktion von pflanzlichen Arzneidrogen [11]. Man unterscheidet verschiedene Polysorbate; die Wichtigsten davon sind Polysorbat 20, 40, 60, 65, 80. Diese unterscheiden sich hinsichtlich der Fettsäure und dem Grad der Veresterung.

Polysorbate verseifen bei Kontakt mit starken Säuren oder Laugen, gegenüber verdünnten Säuren oder Laugen hingegen verhalten sie sich stabil. In öligen Produkten sind sie oxidationsempfindlich. Die Aufbewahrung sollte in jedem Fall in dichten, lichtundurchlässigen Gefäßen erfolgen. Unverträglichkeitsreaktionen zeigen sich mit Phenolen, Tannin und Teerprodukten sowie teerähnlichen Produkten. Durch den Polyethylenglykolteil des Moleküls kann es zu einer Abschwächung der Wirkung von Konservierungsmitteln vor allem bei para-Hydroxybenzoesäureestern kommen [22]. Da diese, aufgrund ihrer hormonnähnlichen Wirkung nicht vorteilhaft für die Haut sind, ist eine höhere Konzentrationen dieser Konservierungsmittel zu vermeiden [9].

In der vorliegenden Arbeit wurde Tween[®]80 (Polyethylene Glycol Sorbitan Monooleate, CAS 9005-65-6) des Herstellers Sigma-Aldrich verwendet.

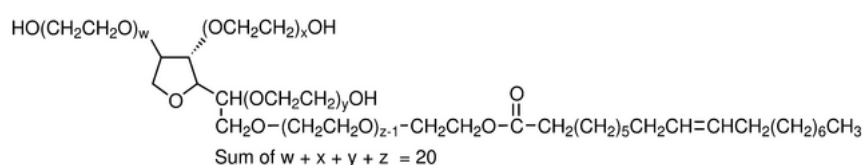


Abbildung 2.2: Strukturformel von Polysorbat 80 [50]

Zuckerester

Bei Zuckerestern handelt es sich chemisch betrachtet um Mono-Dipalmitat oder -laureat der Saccharose. Der besondere Vorteil der Zuckerester besteht darin, dass sie weder toxisch, sensibilisierend oder die Haut entfettend sind, noch zu Irritationen der Haut, Schleimhaut oder der Augen führen. Man zählt sie daher zu den hautfreundlichen nicht-ionogenen Emulgatoren, die nebenbei auch biologisch abbaubar sind [54]. Verwendung finden sie neben der Pharmazie in der Lebensmittelindustrie, der Landwirtschaft oder

2 Allgemeiner Teil

auch als Waschmittel [14].

Zuckerester haben den Vorteil, dass sie ökologisch gesehen aus nachwachsenden Rohstoffen gewonnen werden können. Ein chemischer Vorteil ist, dass sich ihr HLB Wert mit steigender Temperatur nicht verändert, sodass keine Phasenumkehr stattfindet [20].

Der Grundbaustein Saccharose hat acht Hydroxylgruppen, die zur Veresterung zur Verfügung stehen. Der Zuckerster wird also umso lipophiler, je mehr Hydroxygruppen mit Fettsäuren verestert werden. So kommen auch Zuckerester mit verschiedenen HLB Werten zustande [15].

Der Zuckerester S-1670[®] besteht aus Mono- und Diestern der Saccharose und Glucose mit Laurin-, Myristin-, Palmitin-, Stearin-, Ricinol- oder Ölsäure [22]. Für diese Arbeit wurde das Zuckertensid S-1670 der Marke Ryoto[®] verwendet, das von Mitsubishi-Kagaku Foods Corporation, Japan, hergestellt wird und vor allem auch als Lebensmittelzusatzstoff Verwendung findet. Bei diesem Estergemisch handelt es sich um einen Ester der Stearinsäure. Er besitzt ca. 75% Monoester-Anteil. Optisch handelt es sich um ein weißes Pulver. Es weist einen HLB-Wert von 16 auf und wird daher als Emulgator für die wässrige Phase verwendet [17].

Lezithin

Der Begriff Lezithin wird gewöhnlich für eine Mischung aus Phospholipiden, Glycolipiden und Öl verwendet [51]. Die am meisten vorkommenden Phospholipide in Lezithin-Mischungen sind Phosphatidylcholin, Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylinositol, Phosphatidylserin, Sphingomyelin und andere [52]. Lezithine haben einen hydrophilen Kopf, der über Esterbindungen mit den lipophilen Seitenketten verknüpft ist [31]. Lezithine sind eine milde, physiologische Alternative, um die natürliche Hautbarriere zu überwinden und so einen penetrationsfördernden Effekt auf die Arzneistoffpermeation zu bewirken [19]. Sie besitzen den GRAS-Status (generally recognized as safe) [52]. Lezithine können sowohl tierischen als auch pflanzlichen Ursprungs sein; so steht z.B. „E“ für „Egg“. Die häufiger verwendeten pflanzlichen Lezithine stammen aus ölhaltigen Samen der Sojabohne, von Sonnenblumenkernen oder Rapssamen [52].

Die Klassifikation von Lezithinen im HLB-System ist zwar wissenschaftlich problematisch, trotzdem ist es ein hilfreicher Wert bei der Findung der geeigneten Phospholipidmischung, um eine zufriedenstellende Emulgierung einer Emulsion zu erhalten [51].

Lipoid E 80 ist ein Gemisch aus Phospholipiden, das aus Eidotter gewonnen wird. Die

Hauptkomponente ist Phosphatidylcholin, ein Zwitterion, das den Vorteil aufweist, in einem großen pH-Bereich stabil zu sein. Weitere Bestandteile sind Phospholipide, Phosphatidylethanolamin und Phosphatidylserin [55].

Phospholipide besitzen die Fähigkeit, in Lösung verschiedene selbstorganisierte Strukturen zu bilden wie beispielsweise Mizellen, lyotropische Flüssigkristalle, Emulsionen oder Liposomen. Sie sind ambiphil [45].

Phospholipide verhalten sich unterschiedlich an der Öl-Wasser-Grenzfläche. Phosphatidylcholin bildet beispielsweise lamellare Strukturen mit geordneten ein oder zwei Reihen, die sich gut für Nanoemulsionen eignen [52].

Abbildung 2.3 zeigt den schematischen Aufbau dreier Phospholipide mit hydrophilen Kopf (D-1) und lipophilen Schwanz (D-2):

- A: Phosphatidylcholin
- B: Phosphatidylethanolamin
- C: Phosphatidylserin

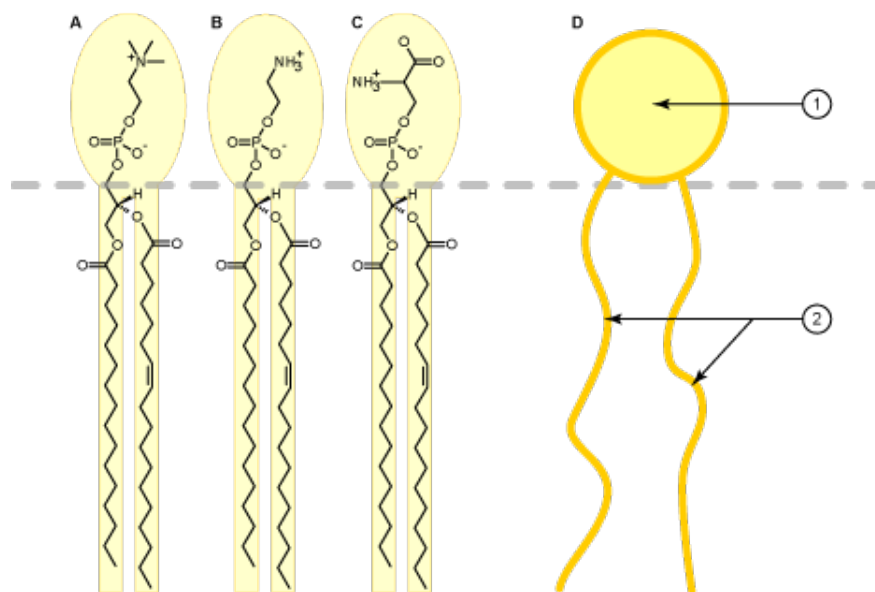


Abbildung 2.3: Schematischer Aufbau von Phospholipiden [43]

Nicht alle Phospholipide haben den gleichen permeationsverbessernden Effekt. Phosphatidylcholin ist besonders geeignet, da es bei mittlerer Hauttemperatur von 32 °C immer in flüssigem Zustand vorliegt [42] und daher fähig ist, durch das Stratum Corneum

durchzudiffundieren und somit die Permeation von Wirkstoffen zu verbessern [31].

Die meisten Nanoemulsionen mit Lezithin haben Partikelgrößen von $150 - 300\text{ nm}$, Größen darunter sind schwer zu erreichen [27]. Um kleinere Partikelgrößen zu erreichen kann die zusätzliche Zugabe von milden oberflächenaktiven Substanzen oder auch die Erhöhung des Ölanteils von Vorteil sein [35].

In der Kosmetik werden lezithinhaltige Nanoemulsionen als zukunftssträchtige Trägersysteme angesehen, da sie hautfreundlich sind, gute hydratisierende Eigenschaften haben und rasch in die Haut eindringen [46].

Bei dem in dieser Arbeit verwendeten Lezithin handelt es sich um Ei-Lezithin E 80 der Firma Lipoid GmbH, Ludwigshafen, Deutschland.

2.3.3 Verwendete Öle

Sojaöl

Sojaöl wird durch Pressen oder Extraktion der Sojabohne (Stammpflanze: *Glycine max*) gewonnen. Seine Inhaltsstoffe sind primär Fettsäuren, Triglyceride, Sterole, Tocopherole, Lezithin (ca. 4%), Isoflavone, Carotinoide, sowie die Vitamine A, B und E.

Sojaöl wird im medizinischen Bereich als pharmazeutischer Hilfsstoff und für parenterale Nährlösungen verwendet. Der in größeren Mengen vorkommenden Alpha-Linolensäure spricht man einen positiven Effekt bezüglich der Atherosklerose zu, während die Isoflavone durch ihre phytoöstrogene Wirkung vermutlich bei oraler Einnahme eine Schutzwirkung in Bezug auf Brustkrebs, Dickdarm-, Lungen-, Magen- und Prostatakrebs haben.

In der Kosmetik dient es hauptsächlich als Wirkstoffträger für fettlösliche Substanzen oder Vitamine sowie auch als Grundlage für Badeöle oder Cremen, da es gut und rückstandslos in die Haut einzieht und vor Feuchtigkeitsverlust schützt [6].

Das in dieser Arbeit verwendete Sojabohnenöl wurde von Dr. Temt Laboratories, W. Pauli, Wien, Österreich bezogen.

Squalen

Squalen (nach INCI: Squalene) wird auch als Spinacen oder Supraen (2,6,10,15,19,23-Hexamethyl-2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaen) bezeichnet. Es handelt sich um einen azyklischen C30-Kohlenwasserstoff (aliphatisches Triterpen) mit 6 trans-ständigen Doppelbindungen. Es kommt als natürliche organische Verbindung in den Leberölen verschie-

dener Fische vor, und in kleinen Konzentrationen als Begleitstoff in pflanzlichen Ölen (Olivenöl), in Getreidekeimölen und in medizinischer Hefe. Im menschlichen Hauttalg ist es zu fünf Prozent enthalten [54].

Squalen ist bei Raumtemperatur eine farblose, ölige Flüssigkeit, die in Wasser nicht löslich ist und sich in Lipidlösungsmitteln gut löst. Es hat einen schwach angenehmen Geruch und weist bakterizide Eigenschaften auf. In der Kosmetik fungiert es meist in hydrierter Form (Squalan) als Lösungsmittel für fettlösliche Farbstoffe oder Wirkstoffe, außerdem hat es hautglättende Eigenschaften und ist gut hautverträglich. Biochemisch gesehen ist es ein Zwischenprodukt des Stoffwechsels, das zur Biosynthese von Triterpenen und Steroiden verwendet wird [41].

In dieser Arbeit wurde Hexamethyltetracosahexaene (CAS 111-02-4) der Firma Sigma-Aldrich, St. Louis, USA, verwendet.

2.3.4 Fludrocortisonacetat

Fludrocortisonacetat (9-Fluor-11 β ,17dihydroxy-3,20-dioxopregn-4-en-21-ylacetat, siehe Abbildung 2.4) ist ein weißes bis fast weißes, kristallines Pulver mit einem Molekulargewicht von 422,5 g/mol. Es ist praktisch unlöslich in Wasser und nur wenig löslich in wasserfreiem Ethanol.

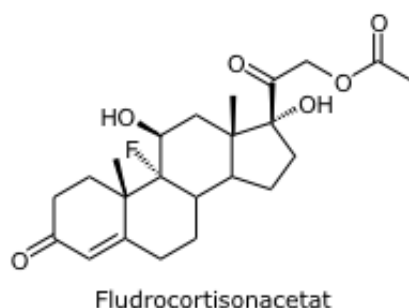


Abbildung 2.4: Strukturformel von Fludrocortisonacetat [12]

Fludrocortisonacetat ist ein Wirkstoff aus der Gruppe der Mineralocorticoide mit glucocorticoider Wirkungskomponente. Es wird innerlich unter anderem bei Nebennierenrinden-Insuffizienz und äußerlich bei einer Gehörgangsentzündung eingesetzt [12]. Allgemein werden Glucocorticoide zur lokalen, topischen Behandlung angewandt bei Psoriasis vulgaris, Rosacea, Ekzemen und anderen vor allem entzündlichen Hauterkrankungen [2].

2 Allgemeiner Teil

In dieser Arbeit wurde Fludrocortisonacetat (CAS 514-36-3) der Firma Sigma-Aldrich, St. Louis, USA, verwendet.

Im folgenden Abschnitt werden jene Salbengrundlagen im Detail beschrieben, die in der Praxis häufig in Kombination mit Cortison verwendet werden.

2.4 Dermatikagrundlagen

Mit Einführung der klassischen Cortisontherapie und deren Anwendung in der Dermatologie entstand das Bedürfnis, die Therapie bezüglich der Dosierung individuell an die Bedürfnisse der PatientInnen anzupassen. Daher begannen Firmen neben der Herstellung von Fertigarzneimitteln auch mit der Entwicklung von kortisonfreien Salbengrundlagen, um die von ihnen produzierten Spezialitäten in der Wirkstoffkonzentration individuell an den Patienten und dessen Bedürfnisse anzupassen.

Die so entwickelten Salbengrundlagen sind ebenso ein fixer Bestandteil für halb feste Zubereitungen, die in der Apotheke im Rahmen der magistralen Arzneimittelherstellung verwendet werden. Dies betrifft einerseits die Herstellung für von Ärzten verschriebenen individuellen Rezepturen, und andererseits auch in der Apotheke hergestellte Hautpflegeprodukte.

Da cortisonhaltige Formulierungen in der Praxis eine wichtige Bedeutung haben, fiel in dieser Arbeit die Wahl auf ein Cortisonderivat (Fludrocortisonacetat), um den Wirkstofftransport in das Stratum Corneum zu untersuchen.

Zu den häufigsten in der Praxis verwendeten Salbengrundlagen gehören Ultrabas[®], Ultrasicc[®] und Ultraphil[®]. Daher wurden die der vorliegenden Arbeit zugrundeliegenden Tests auf Basis dieser Formulierungen durchgeführt. Je nachdem, ob eine fetthältige oder wasserhältige Grundlage für die Therapie gewünscht ist, kann zwischen Ultrabas[®], Ultraphil[®] oder Ultrasicc[®] gewählt werden. Salbengrundlagen mit einem hohen Fettanteil, v.a. Kohlenwasserstoffe wie Vaseline, werden häufig bei chronischen oder starken Entzündungen angewandt, da durch den Okklusionseffekt der Wirkstoff besser in die Haut eindringen kann.

2.4.1 Ultrabas®

Ultrabas® ist ein lipophiles Wasser-in-Öl-System. Die einzelnen Inhaltsstoffe und ihre Funktion sind in Tabelle 2.1 angeführt.

Inhaltsstoff	Funktion
Dehymuls E	nichtionogener Emulgator
Paraffin dickflüssig	Fettkomponente
Vaseline weiß	Fettkomponente
Wasser gereinigt	wässrige Komponente
Cera alba	Fettkomponente
Parfumöl	Geruchsverbesserung

Tabelle 2.1: Ultrabas® Zusammensetzung [16]

2.4.2 Ultrasicc®

Ultrasicc® ist eine hydrophile Öl-in-Wasser-Emulsion. Tabelle 2.2 führt die einzelnen Inhaltsstoffe und ihre jeweilige Funktion an.

Inhaltsstoff	Funktion
Macrogolstearat 2000	nichtionogener Emulgator
Natriumedetat	Komplexbildner
Natriumhydroxid	zur Einstellung des pH-Wertes
Paraffin dickflüssig	Fettkomponente
Polyacrylsäure	Hydrogelbildner
Stearylalkohol	Konsistenzgeber
Vaselin weiß	Fettkomponente
Wasser gereinigt	Wasserkomponente
Methyl-4-hydroxybenzoat	Konservierungsmittel
Propyl-4-hydroxybenzoat	Konservierungsmittel
Parfumöl	Geruchsverbesserung

Tabelle 2.2: Ultrasicc® Zusammensetzung [16]

2.4.3 Ultraphil®

Bei Ultraphil® handelt es sich um eine ambiphile Salbengrundlage, die sich zur Einarbeitung sowohl von wasserlöslichen als auch von fettlöslichen Wirkstoffen gut eignet. Die Zusammensetzung ist der Tabelle 2.3 zu entnehmen.

Inhaltsstoff	Funktion
Glyceroldistearat	Konsistenzgeber
Glycerolmonostearat	Konsistenzgeber
Paraffin liquidum	Fettkomponente
Polyethylenglycol-100-stearat	nichtionogener Emulgator
Polyoxyethylen-2-stearylalkohol	nichtionogener Emulgator
Polyoxyethylen-21-stearylalkohol	nichtionogener Emulgator
Vaselin weiß	Fettkomponente
Wasser gereinigt	Wasserkomponente
Benzylalkohol	Konservierungsmittel
Parfumöl	Geruchsverbesserung

Tabelle 2.3: Ultraphil® Zusammensetzung [16]

Alle vorgestellten Salbengrundlagen wurden von der Firma Bayer bezogen.

3 Methoden

3.1 Herstellung und Charakterisierung der Nanoemulsionen

3.1.1 Rezepturen

Es wurden ausgehend von einer Grundrezeptur, die in Tabelle 3.1 angeführt ist, insgesamt sechs Rezepturen A bis F mit jeweils drei Chargen hergestellt. Dabei wurden jeweils die Ölphase als auch die Tenside variiert. Die Grundrezeptur wurde in der Arbeitsgruppe im Vorfeld entwickelt und für diese Arbeit übernommen.

Bestandteile	Prozentgehalt	Menge für 30 g
Tensid	2,5%	0,75 g
Ölphase	20,0%	6,00 g
Kaliumsorbat	0,1%	0,03 g
Aqua dest. ad 100%	77,4%	23,22 g

Tabelle 3.1: Grundrezeptur

Die Grundrezeptur wurde wie nachfolgend ersichtlich abgewandelt. Pro Rezeptur wurden jeweils parallel drei Chargen hergestellt. Bei den hergestellten Nanoemulsionen handelt es sich rezepturunabhängig um Öl-in-Wasser-Emulsionen.

Die Tabelle 3.2 zeigt eine Übersicht über die einzelnen Rezepturen, deren Ölphase sowie deren Tensidzusammensetzung. Rezeptur Z enthält zusätzlich den Wirkstoff Fludrocortisonacetat. Die genauen Einwaagen dazu finden sich im Anhang in Abschnitt 7.

Im Vorfeld des Tape Strippings wurde in alle Salbengrundlagen mittels TopiTec® der Wirkstoff Fludrocortisonacetat eingearbeitet, sodass sie einen Wirkstoffgehalt von 1% aufwiesen. Der Wirkstoff liegt in den halbfesten Zubereitungen nur in dispergierter Form vor, in der Nanoemulsion hingegen liegt er in der Ölphase gelöst vor.

3 Methoden

Emulgator	Gehalt in %	Sojaöl	Squalen
Lezithin (L)	2,5%	Rezeptur A	Rezeptur D
Lezithin/Tween (L/T)	2,5%+2,5%	Rezeptur B	Rezepturen E, Z
Lezithin/Zuckerester (L/Z)	2,5%+2,5%	Rezeptur C	Rezeptur F

Tabelle 3.2: Rezepturübersicht

3.1.2 Herstellung

Zur Herstellung der Ölphase wird das Tensid in einem 50 ml Becherglas vorgelegt und anschließend das Öl mittels Eppendorfpipette dazugewogen, um zu möglichst genauen Einwaagen zu kommen. Sodann wird ein Magnetrührstäbchen zugegeben, das Becherglas mit Folie verschlossen und diese Mischung dann auf einem Magnetrührer bei 50°C (Motor auf 500 U/min) ca. 30 Minuten lang gerührt, bis das Tensid in der Ölphase gelöst ist.

Für die Wasserphase wird das Kaliumsorbat in ein 25 ml Becherglas eingewogen und dann das Wasser mit Hilfe einer Spritze durch einen Sterilfilter in das Becherglas hinzugewogen. Es erfolgt weiters die Zugabe eines Magnetrührstäbchens und die Abdeckung mit Folie, um dann ebenso wie mit der Ölphase zu verfahren. Das Kaliumsorbat löst sich zwar sehr rasch, es ist jedoch wichtig, dass beide Phasen bei der Zusammenführung die gleiche Temperatur haben.

Pro Rezeptur wurden je 3 Chargen auf diese Weise jeweils hintereinander hergestellt (siehe Abbildung 3.1).

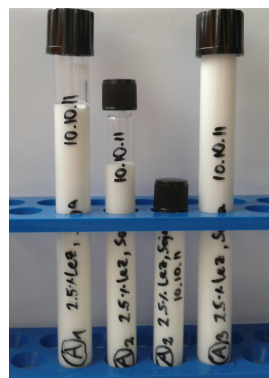


Abbildung 3.1: Rezeptur A nach Herstellung

Anschließend erfolgt die Vereinigung und Emulgierung der beiden Phasen mittels Ultra-Turrax (Omni 500). Dabei wird die Wasserphase mittels Eppendorfpipette zügig

3.1 Herstellung und Charakterisierung der Nanoemulsionen

der Ölphase zugegeben. Der Ultra-Turrax läuft dabei für 4 Minuten auf Stufe 3. Auf diese Weise wird wieder nacheinander mit den Chargen 1-3 aller Rezepturen verfahren. Die entstandenen Öl-in-Wasser-Emulsionen werden anschließend 20 Minuten lang mit Hilfe des Magnetrührers bei 50 °C gerührt.

Im nächsten und letzten Schritt werden die so entstandenen Emulsionen nacheinander jeweils 12 Minuten lang (4 Minuten pro 10 ml) im Hochdruckhomogenisator bei ca. 800 bar in eine Nanoemulsion übergeführt. Nach der Emulgierung mit dem Ultra-Turrax kommt es vielfach noch zur Phasentrennung, erst durch den Vorgang der Hochdruckhomogenisierung entstehen dann milchig-weiße stabile Nanoemulsionen. Die so hergestellten Emulsionen werden in verschraubbare Eprouvetten umgefüllt und noch zusätzlich mit Parafilm verschlossen.

Die Lagerung über Nacht erfolgt bei Raumtemperatur, bis sie am nächsten Tag zur Charakterisierung zum ersten Mal vermessen werden.

3.1.3 Charakterisierung

Zur Bewertung der Stabilität von Nanoemulsionen stehen die Parameter Partikelgröße, Polydispersitätsindex, Zetapotential und pH-Wert zur Verfügung. Außerdem können Aufnahmen mittels TEM und Cryo-TEM weitere Aufschlüsse über die Form und Beschaffenheit des topischen Systems liefern. Die praktische Vorgehensweise ist dem Abschnitt Stabilitätsprüfung der Nanoemulsionen zu entnehmen, da zur Charakterisierung die gleichen Methoden angewandt werden wie zur Stabilitätsprüfung und eine mehrfache Beschreibung der Vorgehensweise vermieden wird. Folgend werden daher die Prinzipien die den einzelnen Parametern zugrunde liegen kurz beschrieben:

Dynamische Lichtstreuung zur Partikelgrößenanalyse

Die dynamische Lichtstreuung (Dynamic Light Scattering, DLS) wird für Messungen im Nanometerbereich eingesetzt. Die Methode des DLS basiert darauf, dass Partikel in flüssigen Suspensionen durch die Brownsche Molekularbewegung der Flüssigkeitsmoleküle umhergestoßen werden [23]. Werden die Partikel dabei mithilfe eines Lasers angestrahlt (Aufbau siehe Abbildung 3.2), fluktuiert die Intensität des gestreuten Lichts, weil sich durch die Brownsche Bewegung die relativen Positionen der Partikel zueinander ständig verändern. Das führt auch zu einer Veränderung der Streuintensität [8].

Aus der Geschwindigkeit der Lichtfluktuationen kann auf die Geschwindigkeiten der

3 Methoden

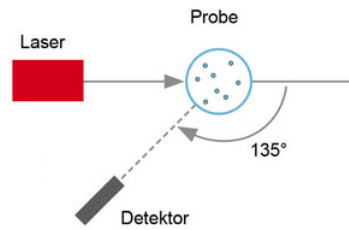


Abbildung 3.2: Schematische Darstellung von DLS [8]

Teilchen geschlossen werden [23]. Wenn sich die Partikel schnell bewegen (kleine Partikel), ist auch die Änderung der Streuintensität schnellen Variationen unterworfen, während langsame (große) Partikel zu langsameren Variationen führen. Diese Variationen werden mittels Detektor gemessen [8]. Kurz gesagt wird die Bewegungsgeschwindigkeit der Teilchen in ein Verhältnis zur Partikelgröße gesetzt.

Den Wert, den man mittels DLS erhält, ist der hydrodynamischen Durchmesser. Da die zu messenden Teilchen (die Emulsionströpfchen) in einer flüssigen Suspension vorliegen, erhält man in diesem Fall den hydrodynamischen Durchmesser des gesamten Partikels, also den Durchmesser des Teilchens zusammen mit der fest gebundenen Hydratschicht [23] (siehe Abbildung 3.3).

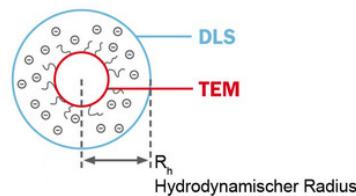


Abbildung 3.3: Schematische Darstellung des hydrodynamischen Durchmessers [21]

Zusätzlich zur Größe der Partikel erhält man auch Aussagen über die Tröpfchengrößenverteilung (Polydispersitätsindex, PDI) [31]. Der PDI gibt die Qualität der Emulsion in Bezug auf die Größenverteilung der Tröpfchen an. Dafür wird die Gaußsche Verteilung herangezogen. Für die Analyse gilt: Werte kleiner als 0,2 weisen auf eine gute Qualität hin, und Werte bei 1 auf eine schlechte [3]. Bei der Durchführung der Messung gilt es auch auf die Dichte und Viskosität der Probe zu achten, da beide Parameter einen Einfluss auf die Ergebnisse der Messung haben. Zur Verringerung des Einflusses wird die Probe verdünnt [5].

Zeta-Potential

Das Zetapotential wird als jenes elektrische Potential beschrieben, das an der Abscherschicht eines geladenen Partikels entsteht. In einer Suspension lagern sich zum Ausgleich dieses Potentials Ionen aus dem Suspensionsmedium an. Damit wirken die Partikel nach außen elektrisch neutral. Es ergibt sich eine schichtähnliche Struktur, von der das Teilchen umgeben ist. Die innenliegendste Schicht besteht aus den fest gebundenen Ladungen, die äußerste Schicht aus den locker gebundenen Gegenladungen. Wird an die Suspension nun ein elektrisches Feld angelegt, kommt es zu einer teilweisen Abscherung der äußeren Schicht (durch die Bewegung des Teilchens), womit das Partikel wieder über ein elektrisches Potential verfügt, das als Zetapotential bezeichnet wird [39].

Für die Praxis bedeutet dies, dass die Stabilität umso mehr gegeben ist, je höher die Oberflächenladung und das Zetapotential einer Ladung sind. Das ist dadurch zu begründen, dass sich bei einer hohen Ladungsdichte (einem großen Zetapotential) gleichgeladene Teilchen abstoßen und damit die Stabilität der Emulsion groß ist, und umgekehrt. Daher sind hohe Oberflächenladungen mit einem Betrag von über 30 mV für die Stabilität wünschenswert. Hohe Werte weisen dabei auf große Kräfte zwischen den Tröpfchen hin. Diese Tatsache trägt zu einer verbesserten physikalischen Stabilität des Systems bei. Eine Veränderung der Werte des Zeta-Potentials über einen längeren Zeitraum hinweg ist hingegen ein Zeichen für eine Destabilisation des Systems [31]. Es muss jedoch auch darauf hingewiesen werden, dass das Zetapotential keine Garantie für eine stabile Emulsion darstellt, weil andere Faktoren durch diesen Parameter nicht berücksichtigt werden [1].

Das Zetapotential der in dieser Arbeit verwendeten Emulsionen wurde mit dem Zetasizer Nano ZS der Firma Malvern Instruments Ltd., UK, vermessen.

Transmissionselektronenmikroskopie und Cryo-TEM

Die Messung der Stabilität von Emulsionen mit Hilfe von DLS und Zeta-Potential unterliegt bestimmten Limitationen und stellt oft nur unvollständige Informationen zur Verfügung. So können beispielsweise reversible destabilisierende Phänomene wie die Flockenbildung oder das Auftreten von größeren Aggregaten nicht detektiert werden [28]. Ebenso ist das Erkennen einiger weniger großer Tröpfchen in einer optisch homogenen Emulsion, oder das Auffinden von lamellaren Strukturen neben mizellaren nicht möglich. Da es jedoch bei der Herstellung von Emulsionen mittels Hochdruckhomogenisator häufig zu solchen Erscheinungen kommt, ist es wichtig, weitere Methoden anzuwenden, um

3 Methoden

auch diese Tatsachen nachweisen zu können. Diese Erscheinungen können ursächlich für Instabilitäten in Emulsionen sein.

Die TEM und Cryo-TEM sind vielversprechende zusätzliche Methoden für die Erforschung und Stabilitätsüberprüfung von Nanoemulsionen. Es handelt sich dabei jedoch um technisch und zeitlich sehr aufwändige Verfahren, die auch viel Erfahrung von Seiten der Anwender voraussetzen. Im Folgenden wird kurz das Prinzip der Transmissionselektronenmikroskopie erläutert.

Der Aufbau des Mikroskops ist gleich wie bei einem Lichtmikroskop, nur dass die Probe nicht mit Licht, sondern mittels Elektronenstrahl angestrahlt wird. Daher ist der Vorgang nur unter Hochvakuum möglich, da Gasmoleküle die Elektronen ablenken würden. Oben am Mikroskop befindet sich eine Elektronenkanone und ein System aus elektromagnetischen Linsen, die den Strahl bündeln und auf die Probe lenken. Der Bildkontrast kommt durch die Interaktion der Elektronen mit der Probe zustande. Die Auflösung des Bildes ist direkt proportional zur Beschleunigungsspannung der Elektronen. Das heißt, dass eine hohe Auflösung nur bei einer kurzen Wellenlänge der Elektronen und einer ansteigenden Spannung zu erreichen ist [33]. Die Auflösung ist in der Praxis jedoch eher durch die Beschaffenheit der Probe als durch das Gerät limitiert.

Eine der Gefahren der Untersuchung mittels TEM ist die Entstehung von Artefakten, daher gibt es nur wenige gute Bilder von Nanoemulsionen. TEM ist daher nur geeignet, um einen schnellen Eindruck des kolloidalen Systems zu gewinnen [28]. Ein weiterer wesentlicher Nachteil der konventionellen TEM ist die Notwendigkeit, den Messprozess unter Hochvakuum durchzuführen. Trotz der daraus resultierenden Deformation und Konzentration der Emulsionströpfchen kann man diese aber in der Praxis gut erkennen. Wesentlich scheint hierfür die Qualität der Tenside zu sein, die mit einem stabilen Film die Tröpfchen umgeben [28].

Cryo-TEM ist eine Methode, die es ermöglicht, eine nahezu artefaktfreie Darstellung von sehr kleinen Strukturen im Größenbereich von wenigen Nanometern zu ermöglichen. Dazu werden die wässrigen Proben mithilfe von verschiedenen Techniken in sehr dünnen Schichten (ca. 100 nm) sehr schnell eingefroren. Ziel ist es, keine Eiskristalle bilden zu lassen, die die Analyse der Struktur behindern würden [7], indem sie den ursprünglichen Zustand eines kolloidalen Systems zerstören.

Es gibt verschiedene Techniken, um einen sehr dünnen Film der Probe zu erhalten. Für die Untersuchung von Nanoemulsionen wird am häufigsten das Plunge Freezing oder

3.2 Stabilitätsprüfung der Nanoemulsionen mittels dynamischer Lichtstreuung und Zeta-Potential

das High Pressure Freezing angewandt. Die richtige Kühlung der Probe während der Aufnahme der Bilder ist besonders wichtig, da es sonst zur Bildung von Artefakten kommen kann [28].

Die TEM- und Cryo-TEM-Bilder in dieser Arbeit wurden von Dr. Nadejda Matsko, Technische Universität Graz, angefertigt.

Der pH-Wert

Der pH-Wert ist neben den oben genannten Parametern ein weiterer, der zur Charakterisierung der Stabilität einer Nanoemulsion herangezogen werden kann. Zu pH-Wertveränderungen kann es unter anderem durch Zersetzungsprozesse oder durch die Kontamination mit Mikroorganismen und deren Abbauprodukten kommen.

Die Kontrolle des pH-Wertes fand mittels pH-Meter (Orion 420A Bartelt, Austria) am Tag der Herstellung statt, und dann jeweils wöchentlich nach der Stabilitätsmessung mittels Zetasizer. Die Messung erfolgte immer direkt im Aufbewahrungsgefäß bei Raumtemperatur.

3.2 Stabilitätsprüfung der Nanoemulsionen mittels dynamischer Lichtstreuung und Zeta-Potential

Die Lagerung der Proben erfolgte im Wärmeschrank bei 37 °C. Die Messungen erfolgten in einem wöchentlichen Intervall über vier Wochen, die Schlussmessung in einem Abstand von nochmals drei Wochen. Die hergestellten Nanoemulsionen wurden jeweils am Vormittag vermessen. Beginnend mit der Charakterisierung am Tag 0 wurde jede Probe wöchentlich vermessen.

Zur Vermessung des Zetapotentials der Emulsionen mittels Zetasizer Nano ZS (Malvern Industries Ltd., UK) war es notwendig, die Proben zunächst mit 0,01 *mM*-NaCl-Lösung zu verdünnen, und zwar in einem Verhältnis von 1:100 (0,1 *ml* Emulsion und 9,9 *ml* 0,01 *mM*-NaCl-Lösung), um sicher zu gehen, dass die Leitfähigkeit der Probe unter 0,05 *mS/cm* liegt. Würde man nur destilliertes Wasser verwenden, bestünde die Gefahr, dass die Leitfähigkeit schwankt [39].

Für die Teilchengrößenbestimmung wurde die verdünnte Probe in eine Quarzküvette gefüllt und vermessen. Dadurch erhält man Aussagen über die Z-average-size, also den Tröpfchendurchmesser, und den Polydispersitätsindex (PDI), der in diesem Fall kleiner

3 Methoden

oder gleich 0,2 sein sollte (idealerweise bei 0,1). Je höher die Werte des PDI liegen, desto weniger aussagekräftig ist die Messung, da zu viele verschiedene Tröpfchengrößen vorliegen, die Probe also zu polydispers ist.

Das Zeta-Potential wurde mithilfe einer so genannten Zetazelle gemessen, in die die Probe mit einer Spritze möglichst luftblasenfrei eingebracht wurde (da es sonst zu falschen Messergebnissen kommen kann) und die dann im Zetasizer platziert wird. Für jede Probe finden drei Messungen statt.

3.3 Stabilitätsprüfung der Nanoemulsionen mittels TEM und Cryo-TEM

Von einem Teil der Nanoemulsionen wurden TEM- und Cryo-TEM-Aufnahmen angefertigt, um Aussagen über deren Stabilität zu erhalten. Dabei war auch interessant, welchen Beitrag die Cryo-TEM und TEM im Hinblick auf die Stabilität leisten könnten.

Jene Probe, die sich nach Herstellung aller Rezepturen und deren Charakterisierung bezüglich der erwähnten Parameter als stabilste erwies, sollte in weiterer Folge mit klassischen halbfesten Zubereitungen bezüglich der Permeation in die Haut verglichen werden. Im folgenden Kapitel wird daher die genaue vorgehensweise des Tape stripping erläutert.

3.4 In vitro Tape Stripping

3.4.1 Vorbereitung der Schweineohren und Auftragen der Formulierung

Die Lagerung der Schweineohren erfolgte bei -18°C , da sich in Studien bestätigt hat, dass dadurch die Barrierefunktion der Haut nicht beeinflusst wird [30]. Im ersten Arbeitsgang wurden die tiefgefrorenen porcinen Ohren unter fließendem kalten Wasser langsam aufgetaut und mit Küchenrolle anschließend vorsichtig abgetupft. Der knorpelige Gehörgang wurde mittels Skalpell abgetrennt und die sich am Ohr befindlichen Haare mit einer Schere vorsichtig entfernt, damit die Haut nicht verletzt wird.

Im nächsten Schritt wurden auf intakten, repräsentativen Stellen am Ohr mit einem Permanentmarker Flächen von mindestens 4 cm^2 eingezeichnet. Nach Möglichkeit wurden vier Flächen pro Ohr eingezeichnet, da vier verschiedene Formulierungen getestet werden sollten. Die Haut dieser Flächen wurde in weiterer Folge mittels Aquaflux (Biox Systems Ltd., UK) auf ihre Hautbarrierefunktion und somit Intaktheit des Stratum Corneums

überprüft. Bei dieser Untersuchung müssen Werte kleiner als $20\text{ g/m}^2/\text{h}$ erreicht werden, um davon ausgehen zu können, dass die Haut intakt ist.

Nach dieser Vorbereitung wurde auf den eingezeichneten Flächen nacheinander jeweils eine der Formulierungen aufgetragen. Dabei wurden 2 mg/cm^2 Formulierung mittels Handschuh mit gesättigter Fingerspitze eine Minute lang vorsichtig in die Haut eingeklopft. Die dafür benötigte Menge wurde dazu in eine vorher tarierte 5 ml Spritze aufgezogen, danach auf die Fläche aufgetupft und anschließend die Spritze wieder gegenwogen, um sicherzugehen, dass wirklich die gewünschte Menge der Formulierung auf das Ohr aufgetragen worden war.

Danach folgte eine Einwirkzeit von 1 Stunde. Im Anschluss wurden von einer 4 cm^2 großen Stelle pro Fläche jeweils 30 Corneofix[®] Tapes (Courage + Khazaka GmbH, Köln, Deutschland) in einem gleichmäßigen Zug abgezogen.

Wichtig beim Vorgang des Aufklebens und Abziehens ist, dass mit dem Daumen in einer Rollbewegung immer der gleiche Druck (5 kg) auf das Tape aufgetragen wird, und dass das Tape möglichst immer mit der selben Geschwindigkeit abgezogen wird, damit die Ergebnisse vergleichbar werden. Der Druck bewirkt weiters, dass der Einfluss von Falten möglichst minimiert wird [29].

3.4.2 Quantifizierung der Corneozytenmenge mittels NIR

Zur Quantifizierung der Corneozytenmenge wurden die abgezogenen Corneofix-Streifen mittels Pinzette mit der Klebefläche in eine Schablone gelegt. Diese hat 10 Positionen. An Position 1 wurde immer ein Leerstrip eingelegt, der als Referenzwert diente. Die eingelegten Klebestreifen wurden nun nacheinander vermessen und die Werte in einer Tabelle festgehalten. Auf diese Weise wurde für alle vier eingezeichneten Flächen verfahren, wobei jeweils 30 Strips abgezogen wurden.

Von einer der vier Stellen wurden so viele Strips abgezogen, bis sich die Werte des NIR bei 0,2-0,3 einpendelten und man daher annehmen konnte, dass das gesamte Stratum Corneum abgezogen war. Dies war notwendig, um die Gesamtdicke des Stratum Corneums des jeweiligen Ohrs zu berechnen. Die jeweilige Eindringtiefe der Formulierung konnte anschließend in Relation zur Gesamtdicke gesetzt werden.

Zur Messung wurde das Gerät Squame-Scan 850A der Firma Heiland electronic, Deutschland verwendet [47].

3.4.3 Quantifizierung der Arzneistoffmenge mittels HPLC

Die Quantifizierung der Wirkstoffstoffmenge von Fludrocortisonacetat auf den einzelnen Tape Strips erfolgte mittels High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Dafür wurde eine Anlage der Firma Perkin Elmer, USA, mit einem Autosampler, einer Pumpe und einem UV-Diodenarraydetektor verwendet. Als Säule wurde Nucleosil 100-5 C18 ($250\text{ mm} \times 4\text{ mm}$, Macherey-Nagel, USA) und eine Vorsäule Nucleosil 100-5 C18 (CC8/4, $40\text{ mm} \times 4\text{ mm}$, Macherey-Nagel, USA) verwendet. Die Temperatur des Säulenofens lag bei 50°C , das Injektionsvolumen betrug $20\text{ }\mu\text{l}$. Als mobile Phase für die Detektion des Fludrocortisonacetats wurde eine Mischung aus Wasser und Acetonitril im Verhältnis 60:40 (v/v) verwendet. Die Detektion erfolgte bei einer Wellenlänge von 240 nm .

Zur Ermittlung des Fludrocortisonacetatgehalts war es notwendig, eine Eichgerade zu erstellen (siehe Abbildung 3.4). Für die Verdünnungsreihe wurden $9,47\text{ mg}$ Fludrocortisonacetat eingewogen und in 10 ml Methanol gelöst. Das Verhältnis der weiteren Verdünnungsstufe war jeweils 1:2, wodurch die in Tabelle 3.3 angeführten Konzentrationen erhalten wurden.

Verdünnung	Konzentration $\mu\text{g/ml}$	Peakfläche
V0	947,00000	43041354,19
V1	94,70000	4617604,37
V2	47,35000	2367410,36
V3	23,67500	1198376,93
V4	11,83750	620495,44
V5	5,91875	283909,30
V6	2,95938	148874,78
V7	1,47969	77205,18
V8	0,73984	40479,12
V9	0,36992	19624,94
V10	0,18496	11520,18
V11	0,09248	7666,70
V12	0,04624	4453,06

Tabelle 3.3: Verdünnungsreihe von Fludrocortisonacetat zur Erstellung der Eichgeraden

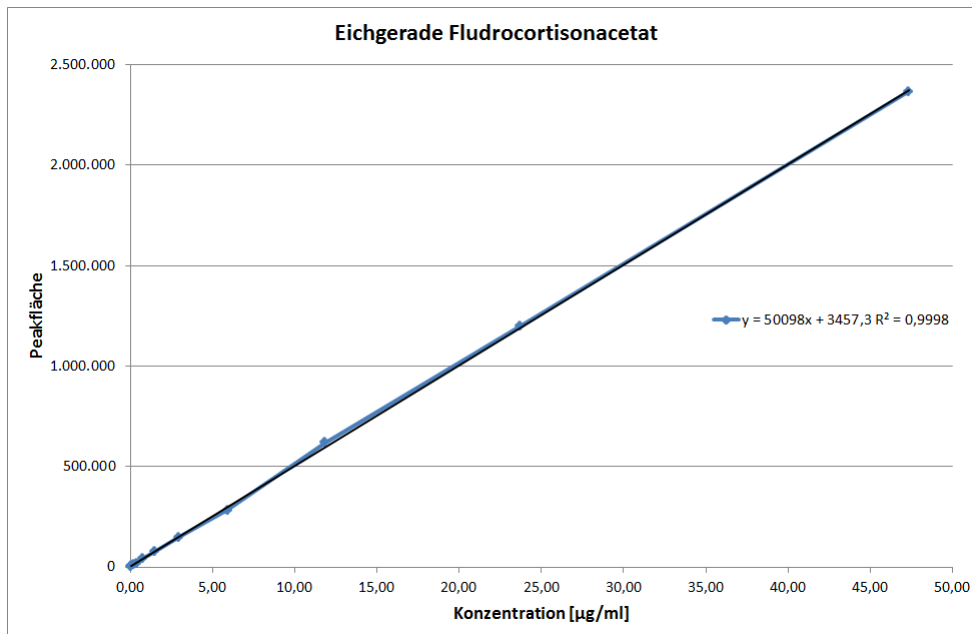


Abbildung 3.4: Eichgerade Fludrocortisonacetat

3.4.4 Untersuchung auf Lateral Spreading in vitro

Die grundsätzliche Vorgehensweise bei der Untersuchung auf „Lateral Spreading“ ist die gleiche wie in Abschnitt 3.4.1 detailliert beschrieben. Der Unterschied besteht darin, dass pro Ohr nur auf ein Feld Formulierung aufgetragen wurde (Wirkstofffeld). Rund um dieses Feld wurde jeweils rechts und links (horizontal) und oben und unten (vertikal) jeweils ein Feld eingezeichnet (LS-Felder). Dabei wurden jeweils ein horizontales und ein vertikales LS-Feld im Abstand von 3 mm zum Wirkstofffeld eingezeichnet, die beiden anderen LS-Felder hingegen direkt anliegend zum Wirkstofffeld.

Die Begründung dieser Vorgehensweise liegt darin, dass die Areale neben, unter und oberhalb des behandelten Hautareals untersucht wurden, um den möglichen Einfluss der Tiefe und Ausrichtung der Falten auf das „Lateral Spreading“ zu untersuchen. Vorangegangene in vivo Studien haben gezeigt, dass „Lateral Spreading“ in den Arealen neben der Behandlungszone, also parallel zur Körperachse, stärker auftritt als ober- oder unterhalb, also vertikal zur Körperachse, und dass die größten Mengen der Substanz an der Oberfläche zu finden sind [24].

Der Bereich um das Wirkstofffeld wurde beim Auftragen der Formulierungen mittels Folie abgedeckt, sodass nicht unbeabsichtigt eine Salbengrundlage auf die LS-Felder ge-

3 Methoden

langen konnte. Im Anschluss daran wurden nach einer einstündigen Einwirkphase von jedem der fünf Felder jeweils 20 Strips abgezogen und wie schon beschrieben mittels NIR und HPLC ausgewertet.

4 Ergebnisse

4.1 Beobachtungen bei der Herstellung von Nanoemulsionen

Die einzelnen Rezepturen zeigten ein unterschiedliches Verhalten bei der Herstellung. Daher wird im Folgenden ein kurzer Überblick gegeben.

Rezepturen mit Sojaöl

Prinzipiell löst sich das Lezithin in Sojaöl schlecht bzw. braucht sehr lange ($> 1 h$), bis es sich löst.

- Lezithin: nach der Emulgierung mittels Ultra-Turrax (UT) liegen weiterhin zwei getrennte Phasen vor; erst nach der Homogenisierung mittels Hochdruckhomogenisator liegt eine milchig-weiße, benetzende, sehr flüssige Emulsion vor;
- Lezithin/Polysorbat 80: keine Phasentrennung nach UT, gelbliche, leicht schäumende Emulsion;
- Lezithin/Zuckerester: keine Phasentrennung nach UT, flüssige, stark schäumende, stark benetzende Emulsion.

Rezepturen mit Squalen

In Squalen löst sich Lezithin besser und schneller als in Sojaöl.

- Lezithin: weiße, flüssige, kaum benetzende Emulsion, die an der Oberfläche einen Fettfilm aufweist;
- Lezithin/Polysorbat 80: weiße, flüssige, opaleszierende, homogene Emulsion;
- Lezithin/Zuckerester: weißliche, flüssige Emulsion.

Die Einarbeitung von Fludrocortisonacetat in Rezeptur Z zeigte hinsichtlich der entstehenden Partikelgröße, des PDI und des Zetapotentials der Emulsion keine Unterschiede im Vergleich zur wirkstofffreien Rezeptur E.

4.2 Physikochemische Charakterisierung und Stabilitätsuntersuchung

Die in den Abbildungen dargestellten Werte stellen Durchschnittswerte aus den Messungen der drei Chargen der jeweiligen Rezepturen dar.

4.2.1 Tröpfchengröße und PDI

Der PDI (siehe Tabellen 7.8 bis 7.13 im Anhang) lag bei fast allen Proben über den ganzen Beobachtungszeitraum im Schnitt unter 0,2. Das lässt auf eine sehr enge Teilchengrößenverteilung schließen verbunden mit einer guten Langzeitstabilität. Ausnahme war Rezeptur D, bei der von Beginn an bei allen drei Proben Werte von durchschnittlich 0,45 gemessen wurden. Hinsichtlich der zwei verschiedenen Ölkomponenten, die verwendet wurden, ist ersichtlich, dass die Sojaölemulsionen eine höhere Polydispersität zeigen als die Squalenemulsionen.

Allgemein kann gesagt werden, dass unabhängig vom verwendeten Öl die Emulsionen mit Lezithin alleine die größte Tröpfchengröße besitzen. Das wurde in bereits erschienenen Publikationen bestätigt [31]. Die Tensidmischung Lezithin/Polysorbat 80 führte zur Bildung der kleinsten Tröpfchen, wie in Abbildung 4.1 dargestellt.

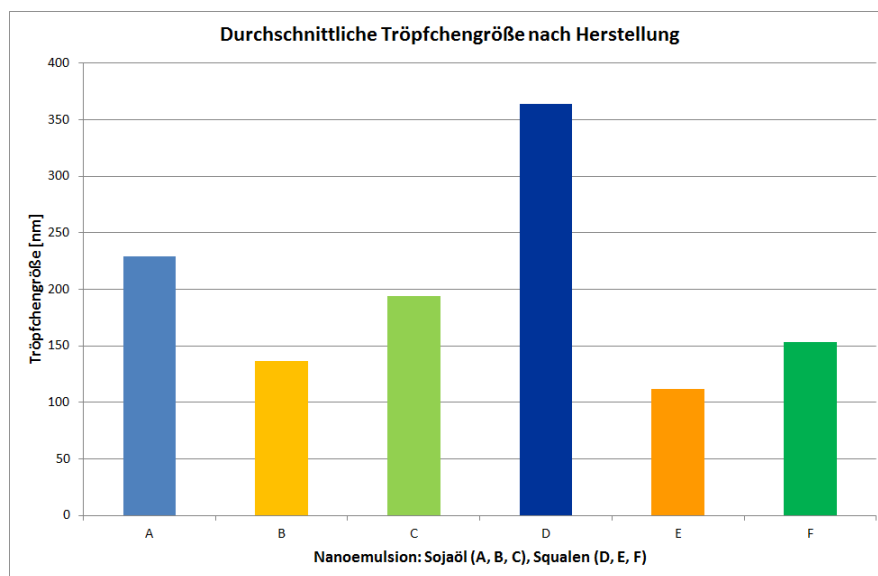


Abbildung 4.1: Durchschnittliche Tröpfchengröße unmittelbar nach Herstellung

4.2 Physikochemische Charakterisierung und Stabilitätsuntersuchung

Die Abbildungen 4.2 und 4.3 zeigen die Veränderung der Partikelgröße der einzelnen Tensidmischungen, jeweils für Sojaöl und Squalen, über den gesamten Lagerungszeitraum. Bei beiden Lezithinemulsionen (Rezepturen A und D) deuten die hohen Werte bei der Standardabweichung auf eine sehr inhomogene Mischung hin. Dies wird durch die höheren PDI-Werte der beiden Rezepturen bestätigt (Tabellen 7.8 und 7.11). Die Emulsionen, die Tensidmischungen enthalten, zeigen kaum sichtbare Veränderungen in der Partikelgröße während der Lagerung.

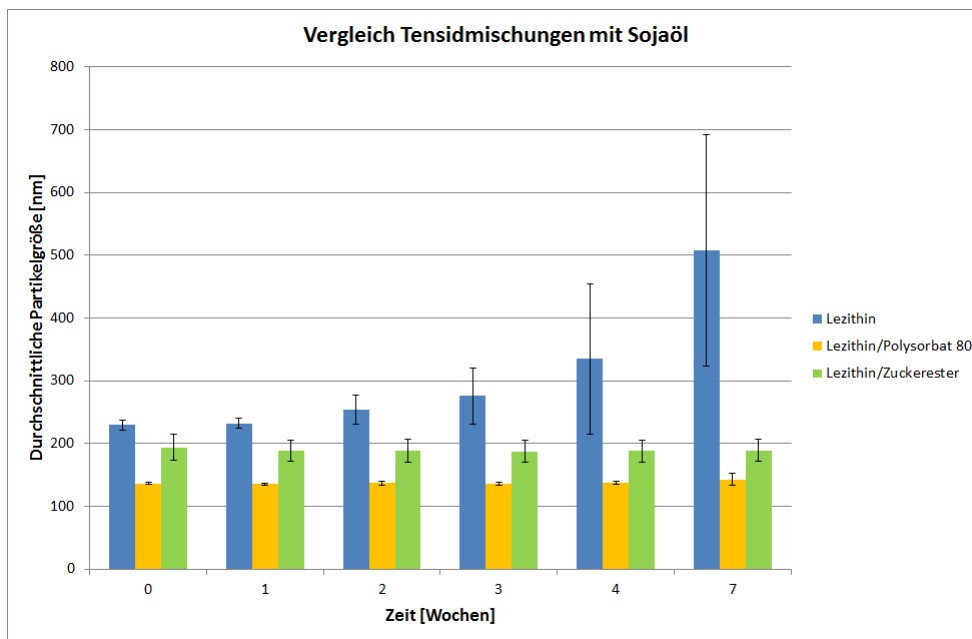


Abbildung 4.2: Vergleich der Partikelgrößen der Sojaöl-Rezepturen

Welche der beiden Tensidmischungen Lezithin/Polysorbat 80 oder Lezithin/Zuckerester die höhere Stabilität induzieren, lässt sich nicht allein durch die Messwerte des PDI und des Zetapotentials ableiten, denn die Stabilität hängt immer von vielen verschiedenen Faktoren ab, wie beispielsweise von der genauen Ölzusammensetzung, den verwendeten Tensiden, der Menge der eingesetzten Tenside und deren sterischen Eigenschaften an der Grenzfläche, der Herstellungsart, usw. Daher muss die Stabilität für jedes System im Speziellen experimentell untersucht werden.

Die Emulsionen der Letzithin/Polysorbat 80 Mischung mit Squalen zeigten ab einem Beobachtungszeitraum von drei Wochen eine Tröpfchenvergrößerung, die ab der 7. Woche noch verstärkt wird. Diese Tatsache weist auf Zersetzungsprozesse und Koaleszenz hin.

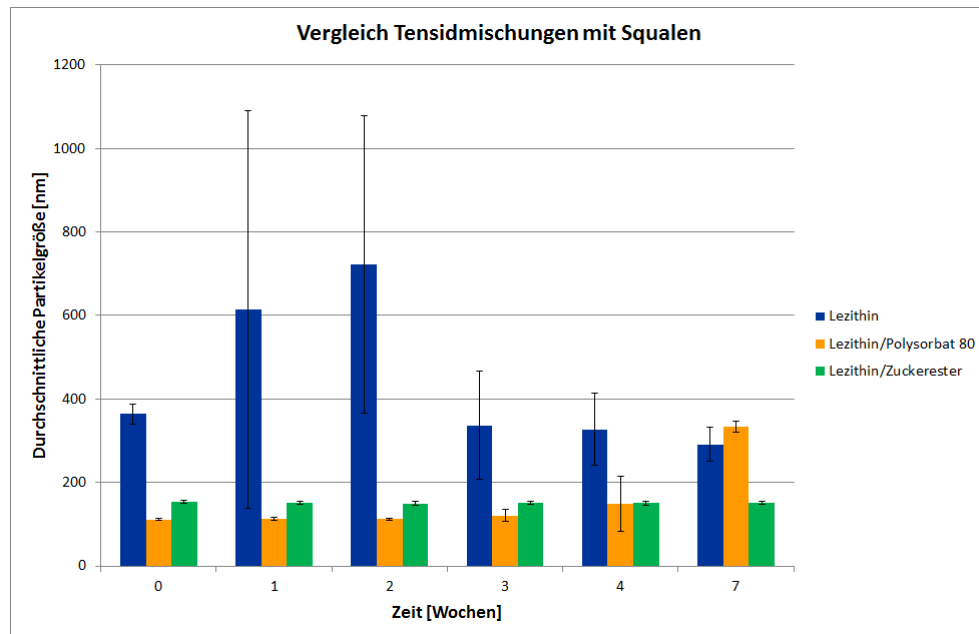


Abbildung 4.3: Vergleich der Partikelgrößen der Squalen-Rezepturen

4.2.2 Zetapotential

Der Verlauf der Änderung des Zetapotentials über den Lagerungszeitraum, jeweils wieder für Sojaöl und Squalen einzeln dargestellt, ist in den Abbildungen 4.4 und 4.5 zu sehen. Es gilt: Je höher das Zetapotential, unabhängig vom Vorzeichen, desto stabiler sind die Emulsionen. Aus Abbildung 4.4, ist ersichtlich, dass die Lezithin/Polysorbat 80 Mischung ein Zetapotential von ca. -25 mV aufweist, gefolgt von der Emulgatormischung Lezithin/Zuckerester bei ca. -35 mV . Die Lezithin/Polysorbat 80 Mischung zeigt allerdings einen Veränderung der Zetapotentialwerte, von ca. -25 mV auf knapp -40 mV . Lezithin/Zuckerester zeigt nur eine geringe Veränderung bis zur vierten Woche an. Lezithin hat die höchsten ZP-Werte, diese steigen aber auch nur kaum an.

Das Zetapotential der Emulsionen, die Squalen als Ölphase beinhalten, zeigt ein ähnliches Bild (Abbildung 4.5). Die Veränderung der Zetapotentialwerte von Lezithin/Polysorbat 80 ist hier sogar noch signifikanter. Gründe für die Veränderungen des Zetapotentials könnten möglicherweise Prozesse der Zersetzung der Ölphase oder auch der Emulgatoren zugrundeliegen.

4.2 Physikochemische Charakterisierung und Stabilitätsuntersuchung

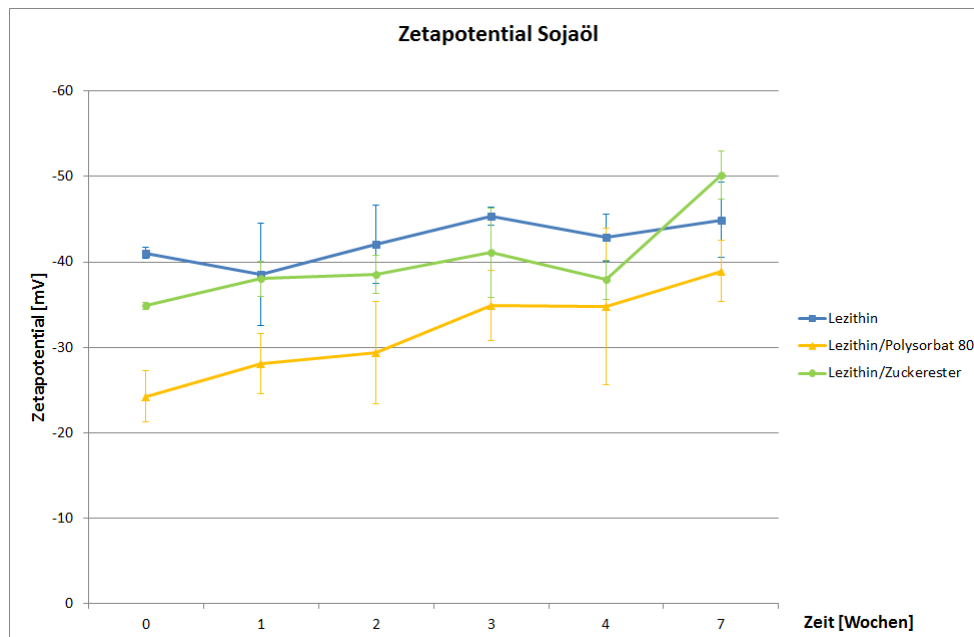


Abbildung 4.4: Entwicklung des Zetapotentia!s der Sojaöl-Rezepturen

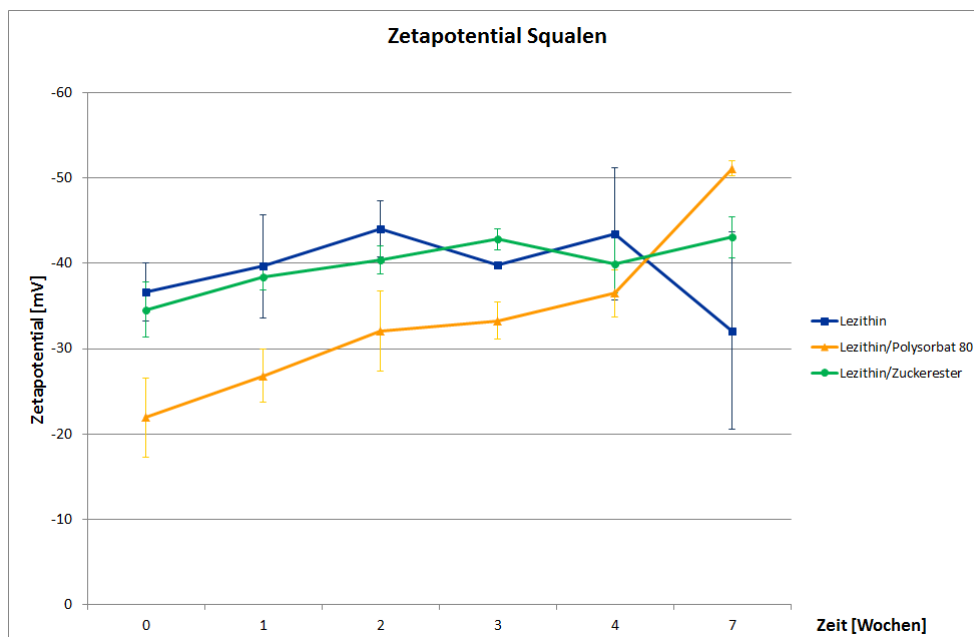


Abbildung 4.5: Entwicklung des Zetapotentia!s der Squalen-Rezepturen

4 Ergebnisse

4.2.3 pH-Wert

Bei der Untersuchung des pH-Werts der einzelnen Rezepturen A-F wurde festgestellt, dass der pH-Wert abnimmt. Dies ist insbesondere bei Rezeptur E zu erkennen, wie in Abbildung 4.6 abgebildet. Diese Ergebnisse decken sich mit den Erwartungen, da der sinkende pH-Wert auf Grund von Zersetzungsprozessen zu erklären ist.

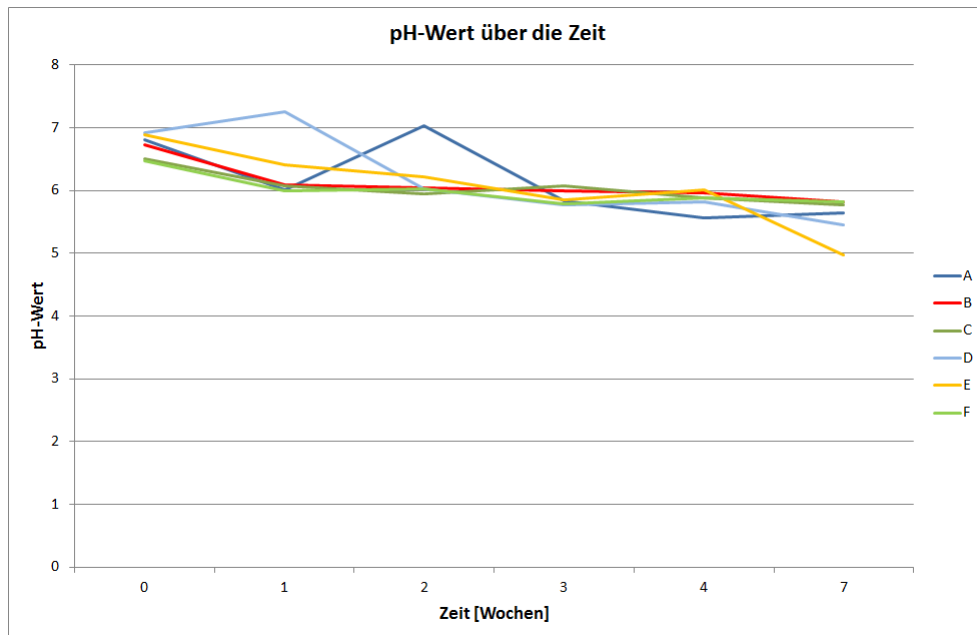


Abbildung 4.6: pH-Werte der Emulsionen über die Zeit

4.3 Ergebnisse der TEM und Cryo-TEM-Aufnahmen

Die Analyse der Bilder ergab, dass trotz Dehydratation der Proben die Form der Tröpfchen sehr gut zu erkennen ist. Ebenso ist die unterschiedliche Polydispersität der Proben gut zu erkennen. Die Zusammensetzungen der einzelnen Rezepturen die im folgenden Teil hingewiesen wird, sind der Tabelle 3.2 zu entnehmen.

So zeigt sich auf den Bildern, die mittels TEM angefertigt wurden (siehe Abbildung 4.9), dass jene Emulsionen mit Lezithin als alleiniger Emulgator inhomogenere Emulsionen bilden (Rezepturen A und D) als jene Emulsionen, bei denen Tensidmischungen Lezithin/Polysorbat 80 (Rezepturen B und D) und Lezithin/Zuckerester (Rezepturen C und F) eingesetzt wurden. Nur bei Rezeptur D war bereits ein hoher PDI-Wert zu

4.3 Ergebnisse der TEM und Cryo-TEM-Aufnahmen

erkennen. Daher konnte von einer hohen Instabilität ausgegangen werden.

Weiters ist zu beachten, dass die in Abbildungen 4.9 und 4.7 bei beiden Proben B und vor allem bei Probe E (Lezithin/Polysorbat 80-Mischungen) die Tröpfchen sehr dicht gepackt sind. In der Cryo-TEM zeigt sich dies als Aggregation, die sogar schon in der Probenvorbereitung auffiel, siehe Abbildung 4.11. Das heißt, dass man möglicherweise mittels Cryo-TEM sofort erkennen kann, ob das System stabil bleibt.

Nach der Lagerung der Emulsionen wurden weitere Bilder mittels TEM angefertigt. Diese zeigen wie in Abbildungen 4.8 und 4.10 zu sehen ist, dass sich die Tröpfchengröße bei allen Proben vergrößert und dass auch die Polydispersität angestiegen ist. Die geringsten Veränderungen waren bei den Proben C und F zu erkennen. Auch die Form der Tröpfchen bei Lezithin (Proben A und D) ist unregelmäßig und nicht kugelförmig. Die Form der Tröpfchen ist jedoch sowohl bei den Mischungen von Lezithin/Polysorbat 80 als auch bei den Lezithin/Zuckerester-Mischungen noch gut erkennbar.

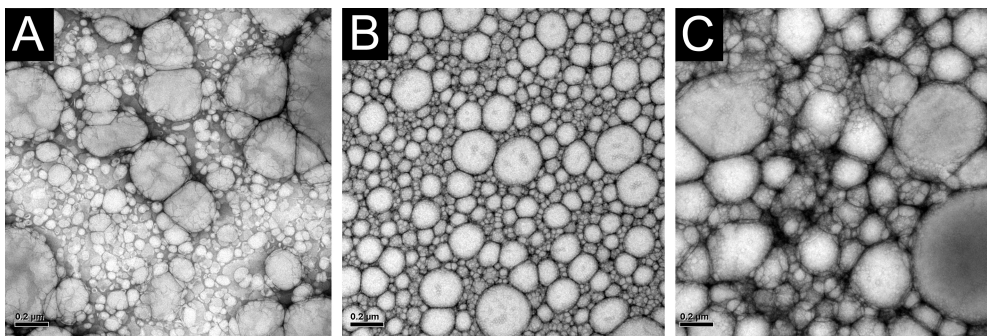


Abbildung 4.7: TEM-Aufnahmen der Rezepturen A, B und C unmittelbar nach Anfertigung

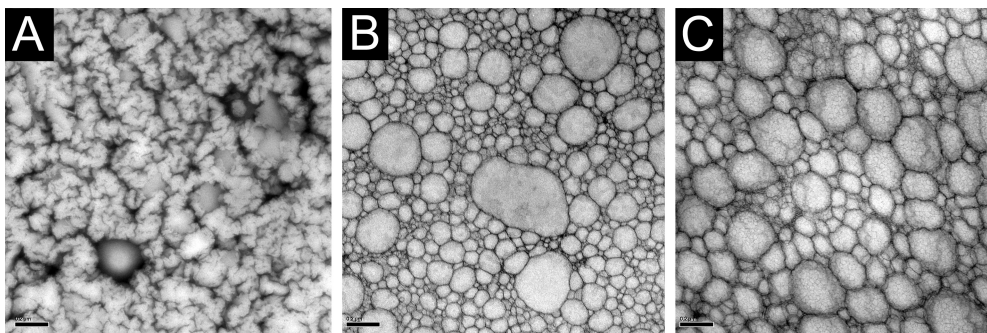


Abbildung 4.8: TEM-Aufnahmen der Rezepturen A, B und C nach einer Lagerung von 5 Wochen

4 Ergebnisse

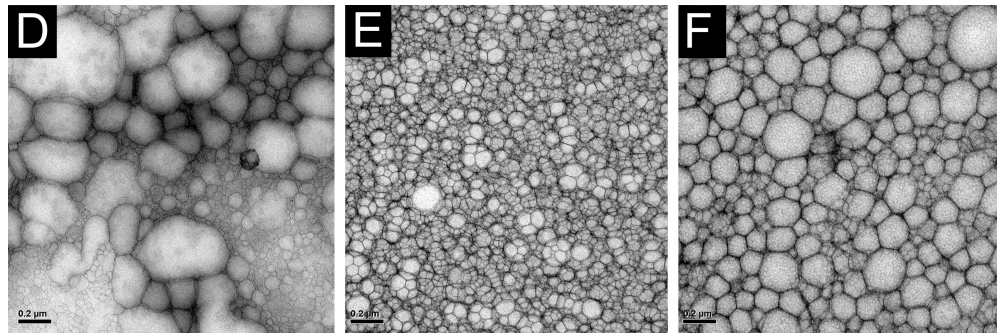


Abbildung 4.9: TEM-Aufnahmen der Rezepturen D, E und F unmittelbar nach Anfertigung

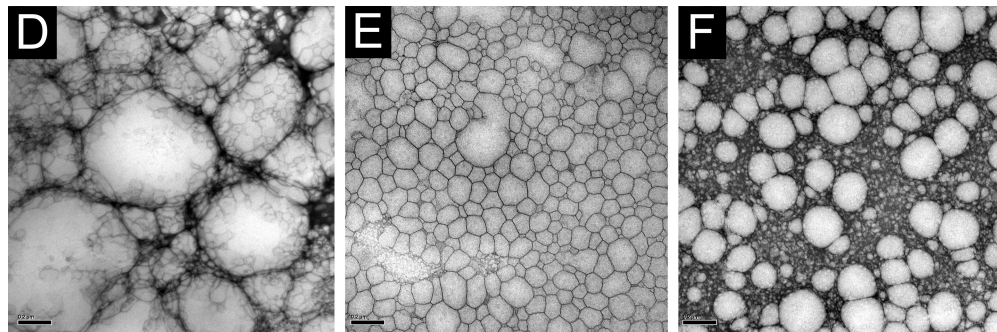


Abbildung 4.10: TEM-Aufnahmen der Rezepturen D, E und F nach einer Lagerung von 5 Wochen

Die Langzeitmessungen endeten mit der Phasentrennung der Nanoemulsionen nach einem Beobachtungszeitraum von 7 Wochen, die bei den Rezepturen A, B, D und E stattfand und in Abbildung 4.12 am prägnantesten zu erkennen ist.

4.4 Ergebnisse der Tape Stripping-Studien

4.4.1 Vergleich der Hautpenetration der Formulierungen

Abbildung 4.13 zeigt die Penetrationstiefe des jeweiligen Arzneistoffes aus den unterschiedlichen Formulierungen auf der y-Achse in Prozent des Stratum Corneum und in Bezug auf die einzelnen Tape strips 1-25. Es ist darauf hinzuweisen, dass aus den halbfesten Zubereitungen bereits in den ersten 25 Tape Strips die gesamte Wirkstoffmenge dedektiert werden konnte (siehe auch Tabellen 7.16, 7.18, 7.20).

4.4 Ergebnisse der Tape Stripping-Studien

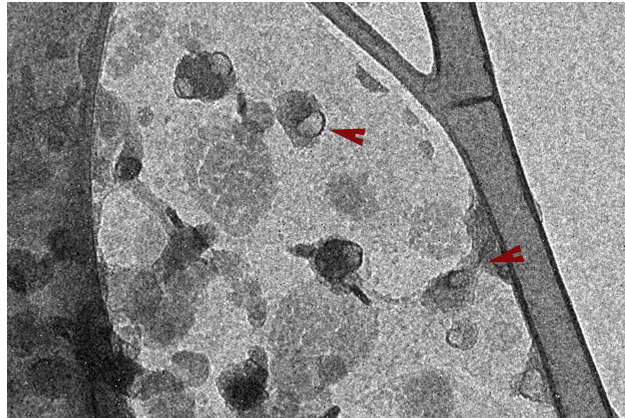


Abbildung 4.11: Cryo-TEM Aufnahme Rezeptur E unmittelbar nach Anfertigung

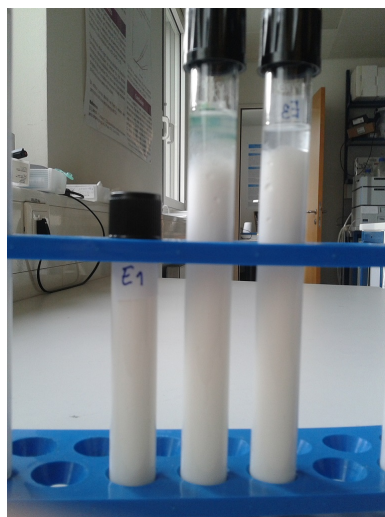


Abbildung 4.12: Phasentrennung in Rezeptur E nach 7 Wochen Lagerung

4 Ergebnisse

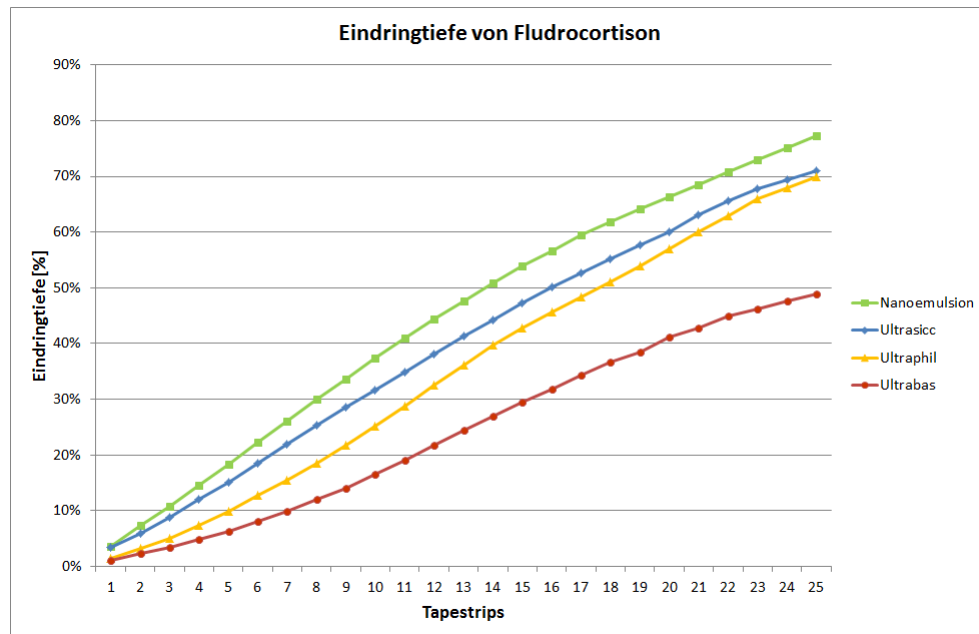


Abbildung 4.13: Eindringtiefe von Fludrocortisonacetat aus verschiedenen Formulierungen

Wie ersichtlich penetriert Fludrocortisonacetat aus Ultrabas[®] nur knapp 50% des Stratum Corneums. Aus Ultrasicc[®] und Ultraphil[®] wird annähernd die gleiche Penetrationstiefe von etwa 70% des Stratum Corneums erreicht. Aus der Nanoemulsion hingegen penetriert der Wirkstoff das Stratum Corneum bis zu knapp 80% (siehe dazu auch Diskussion in Kapitel 5.1).

Abbildung 4.13 zeigt zwar, wie tief der Wirkstoff in die Haut vordringt, gibt jedoch keinerlei Auskunft darüber, wie sich der Wirkstoff in diesem Bereich verteilt.

Einen genaueren Einblick gibt hier die Abbildung 4.14, die die Wirkstoffkumulation in μg (y-Achse) dem kumulierten Stratum Corneum in Prozent gegenüberstellt. Die Tape Strips, die in den Tabellen 7.16 bis 7.21 mit einem „X“ gekennzeichnet sind, wurden in diese Auswertung nicht einbezogen. Es handelt sich dabei um jene Strips, die nicht auf der Haut klebten und somit nur Formulierung, jedoch keine Corneozyten beinhalteten. Da es jedoch darum geht, wieviel Wirkstoff in die Haut eindringt, ist der Wirkstoffanteil auf der Hautoberfläche irrelevant.

Übereinstimmend mit der vorhergehenden Abbildung zeigt die Länge der Punktereihen die Eindringtiefe in das Stratum Corneum. Zusätzlich ist zu erkennen, wieviel Wirkstoff (in μg) in die jeweilige Tiefe des Stratum Corneum gelangt.

4.4 Ergebnisse der Tape Stripping-Studien

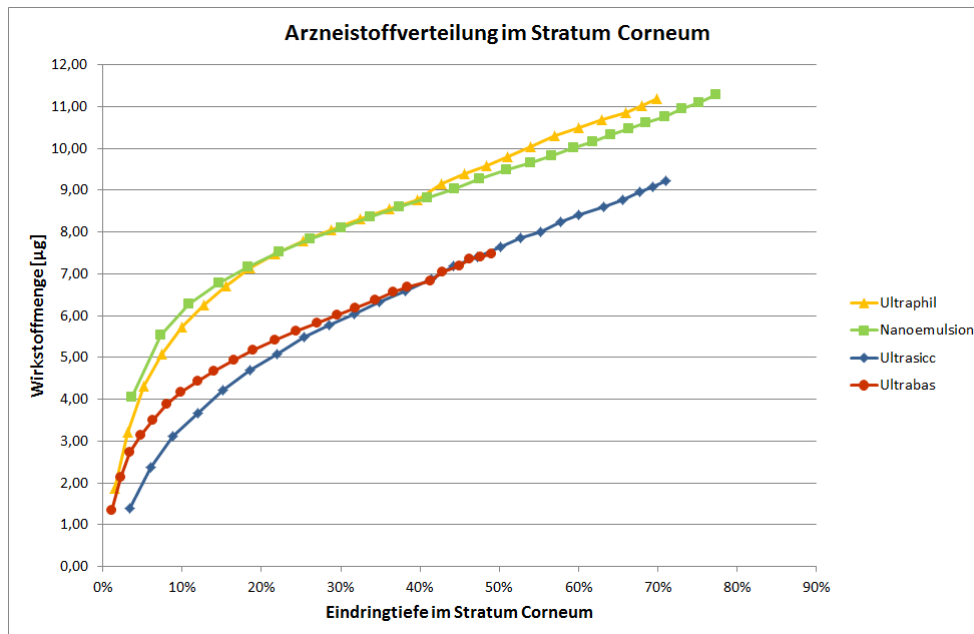


Abbildung 4.14: Arzneistoffverteilung im Stratum Corneum

Aus Ultrabas[®] (Tabellen 7.16, 7.17) kommen von im Schnitt 21,54 μg aufgetragenen Wirkstoff nur insgesamt 7,47 μg im Stratum Corneum an (35%). Davon bleiben 5,41 μg in den obersten 22% des Stratum Corneum (Tape Strip 1-12).

Bei Ultrasicc[®] (Tabellen 7.18, 7.19) ist ebenso ein Wiederfindungswert von im Schnitt 20,98 μg Arzneistoff zu beobachten. Dies entspricht der vollständigen aufgetragenen Wirkstoffmenge. Nach Abzug der X-Strips gelangen 9,22 μg (44%) Arzneistoff in das Stratum Corneum, wovon wiederum 5,09 μg in den obersten 22% des Stratum Corneums zu finden sind (Tape Strip 1-7).

Aus Ultraphil[®] (Tabellen 7.20, 7.21) konnten durchschnittlich 24,05 μg von Fludrocortisonacetat nachgewiesen werden. Diese Menge entspricht etwa 100% des aufgetragenen Wirkstoffes, wobei die Penetrationstiefe etwa 46% betrug. In den obersten 22% des Stratum Corneums (1-9 Tape Strips) konnten ca. 7,47 μg des Wirkstoffs gefunden werden.

Die Nanoemulsion (Tabellen 7.14, 7.15), aus der der Wirkstoff am tiefsten in die Haut eindringt, überrascht insofern, als dass im Schnitt nur 11,28 μg Fludrocortisonacetat wiedergefunden wurden. Es gibt jedoch nur sehr wenige nicht klebende Strips, also auch keine verbleibende Arzneistoffmenge auf der Hautoberfläche. 7,52 μg des Wirkstoffs sind in den obersten 22% des Stratum Corneums zu finden (Tape Strips 1-6).

4.4.2 Untersuchung des Lateral Spreading in vitro

Bei den Studien zur Untersuchung des „Lateral Spreading“ waren bei den Tape Strips, die im Rahmen der Lateral-Spreading-Studien abgezogen und mittels HPLC analysiert wurden, keine detektierbaren Wirkstoffkonzentrationen gefunden worden. In einigen Ausnahmefällen fand sich auf den ersten fünf Strips Wirkstoff, dies ist jedoch vermutlich durch eine Ungenauigkeit beim Auftragen der Formulierung zu erklären. Es ist höchst wahrscheinlich, dass unbeabsichtigt beim Auftragen auch ein wenig Substanz auf das unbehandelte Feld gekommen ist, möglicherweise durch Verrutschen der Schablone die eigentlich als Abdeckung der Felder dienen sollte.

5 Diskussion

5.1 Diskussion der Ergebnisse der Qualitäts- und Stabilitätsprüfung

Die Auswertung der Untersuchungen der Nanoemulsionen, die im Zuge dieser Arbeit hergestellt wurden, zeigte, dass die Tensidgemische eine stabilere und optisch ansprechendere Emulsion ergeben als nur der Emulgator Lezithin alleine. Diese Ergebnisse stimmen mit bereits publizierten Daten überein [31].

Im ersten Schritt ging es darum, die frisch hergestellten Nanoemulsionen auf ihre Qualität hin zu überprüfen. Dabei stellte sich heraus, dass die Rezeptur E bezüglich der Tröpfchengröße die kleinsten Werte zeigte. Es wurde daher eine weitere Rezeptur (Z) mit der selben Zusammensetzung wie Rezeptur E hergestellt, die jedoch auch Fludrocortisonacetat beinhaltet, um sie später für die Tape-Stripping-Versuche zu verwenden.

Unabhängig vom verwendeten Öl zeigte die Emulgatormischung Lezithin/Polysorbat 80 die kleinsten Partikelgrößen, gefolgt von Lezithin/Zuckerester und Lezithin alleine. Die Ölphase hat beim Vergleich der Emulsionen von Sojaöl und Squalen einen geringeren Einfluss auf die Partikelgröße als die unterschiedlichen Tensidmischungen.

Nach neun Wochen Lagerung der Rezepturen D und E war eine sehr deutliche Phasentrennung zu erkennen, und die Rezepturen A und B zeigten bei der optischen Betrachtung große Öltropfen, die auch auf eine Phasentrennung schließen ließen. Optisch unauffällig waren noch die Rezepturen C und F, sie wiesen auch bei der Vermessung in Woche 7 noch keine wesentliche Veränderung in der Partikelgröße auf und wurden daher als stabilste Emulsionen betrachtet.

Diese Rezepturen waren jene mit der Emulgatormischung Lezithin und Zuckerester. Diese hatten zwar ein Zetapotential von -30 mV , das auf hohe Stabilität schließen lässt, jedoch nicht die kleinste Tröpfchengröße. Der PDI lag im Vergleich zu der Lezithin/Polysorbat 80 Mischung im gleichen Bereich. Daraus kann abgeleitet werden, dass all diese Werte nur Richtwerte sind, die an sich noch keine Voraussage über die Stabilität eines Systems zulassen. Es muss daher jede Zubereitung extra geprüft werden. Dies

gilt auch für das Ergebnis nach 7 Wochen. In den meisten Fällen zeigten sich optisch gut erkennbare Zeichen der Phasentrennung, wie große ölige Tropfen beim Schwenken oder Phasentrennungen an der Oberfläche. Die ermittelten Werte der durchschnittlichen Tröpfchengröße sind jedoch bis auf Rezeptur E nur geringfügig angestiegen.

Betrachtet man die Emulsionen aus dem Blickwinkel heraus, eine Emulsion mit möglichst natürlich vorkommenden Bestandteilen zu verwenden, wären die Kombinationen Sojaöl oder Squalen mit Lezithin/Zuckerester auf Grund der Vorzüge, die die einzelnen Komponenten in Bezug auf ihre Wirkung und Hautfreundlichkeit haben, sehr vielversprechend. Allerdings liegt die Tröpfchengröße beider Lezithin/Zuckerester-Emulsionen in der Mitte der drei verschiedenen Systeme bei etwa $150 - 200\text{ nm}$. Für die Stabilität hat das jedoch sichtlich keine Auswirkungen. Das System, das Polysorbat 80 beinhaltet, zeigt zwar kleinere Tröpfchengrößen, aber am Ende der Lagerzeit eine optisch gut sichtbare Phasentrennung, und das ölunabhängig. Polysorbat 80 wird zwar synthetisch hergestellt, gilt jedoch als chemisch inert. Diese Tendenz zur Aggregation war schon bei der Probenvorbereitung für die Cryo-TEM ersichtlich, wo speziell die Rezeptur E diese Tendenz zeigte.

In Bezug auf die Frage, welchen Stellenwert TEM und Cryo-TEM zur Beurteilung haben, wurde festgestellt, dass die TEM scheinbar einen guten Eindruck über die Form der Tröpfchen und die Homogenität der Emulsionen geben kann. Dies steht im Widerspruch zur allgemeinen Ansicht, dass die TEM nicht als Methode der Wahl für wässrige Systeme gilt, weil durch das Hochvakuum das Wasser verdunstet und man nur noch die Hüllen vom Tensidfilm sehen kann. Trotzdem decken sich die Ergebnisse der Größenmessungen mit jenen, die mittels DLS gewonnen wurden. Weiters kann erkannt werden, dass jene Emulsionen mit klar umrandeten Tröpfchen auch jene sind, die die höchste Stabilität aufweisen und daher scheinbar einen guten Tensidfilm bilden. Mittels Cryo-TEM konnte bei Rezeptur E Aggregation beobachtet werden, obwohl es bei der Analyse mittels DLS dafür noch keine Anhaltspunkte gibt.

5.2 Diskussion der Tape-Stripping-Studien

Die Studien bezüglich der vergleichenden Penetration von Fludrocortisonacetat aus den halbfesten Zubereitungen Ultrabas[®], Ultrasicc[®], Ultraphil[®] und der Nanoemulsion der Rezeptur Z werden im folgenden Absatz diskutiert.

Fludrocortisonacetat aus Ultrabas[®] zeigte die geringste Eindringtiefe in das Stratum

5.2 Diskussion der Tape-Stripping-Studien

Corneum (rund 50%). Im Vergleich zu den anderen Formulierungen kommt auch die geringste Menge Wirkstoff im Stratum Corneum an, nämlich etwa 37%, der Rest verbleibt auf der Hautoberfläche. Ein Grund dafür könnte sein, dass Ultrabas[®] schlecht oder langsamer in die Haut einzieht, da es zum größten Teil aus fetten Mineralölen besteht.

Aus Ultrasicc[®] und Ultraphil[®] konnte eine Eindringtiefe des Wirkstoffs in ca. 70% des Stratum Corneums gemessen werden. Die Salbengrundlagen transportieren dabei annähernd die gleiche Menge Wirkstoff, nämlich 44% bzw. 46% der aufgetragenen Menge. Im Vergleich zu Ultrabas[®] bleibt daher auch weniger Wirkstoff an der Hautoberfläche zurück. Weiters scheinen beide Formulierungen über eine bessere Fähigkeit als Ultrabas[®] zu verfügen, den Wirkstoff in tiefere Schichten mitzunehmen. In diesem Punkt liegt die Formulierung mit Ultrasicc[®] vor jener mit Ultraphil[®], denn von Ultrasicc[®] bleiben 55% des Wirkstoffs in den obersten 22% des Stratum Corneums, und von Ultraphil[®] 67% des Wirkstoffs. Dies bedeutet, dass von der gleichen Menge Wirkstoff im Stratum Corneum bei Ultrasicc[®] mehr Wirkstoff tiefer in das Stratum Corneum vordringen kann.

Die Nanoemulsion ist insofern ein Spezialfall, als dass die Wiederfindung des Wirkstoffes bei nur 11,28 μg von 20 μg lag. Es konnte jedoch im Gegensatz zu den halbfesten Formulierungen kein Wirkstoff an der Hautoberfläche nachgewiesen werden. Daraus ergeben sich nun zwei Hypothesen: entweder der Wirkstoff geht noch weiter in das Stratum Corneum als bis zum 25. Tape-strip, oder der Wirkstoff ist in der Emulsion so inhomogen verteilt, dass gar nicht 20 μg aufgetragen wurden. Welche der beiden Hypothesen nun zum Tragen kommt, muss in weiteren Studien geklärt werden. Wäre ersteres der Fall würde das bedeuten, dass die Nanoemulsion gegenüber Ultraphil[®] eine noch größere Fähigkeit hat, den Wirkstoff durch das Stratum Corneum zu transportieren.

Allerdings ist auch zu sagen, dass bei der Nanoemulsion ca. 66% des Wirkstoffs, der in das Stratum Corneum gelangte, in den ersten 22% des Stratum Corneum nachgewiesen werden konnte. Der Rest penetriert jedoch tiefer.

Zu den Studien bezüglich des „Lateral Spreadings“ kann nur gesagt werden, dass die bisher publizierte Meinung, dass dieses Phänomen in vitro nicht stattfindet, mit unseren Ergebnissen übereinstimmt.

6 Zusammenfassung

Nanoemulsionen finden eine immer breitere Verwendung in der pharmazeutischen wie auch kosmetischen Industrie. Dies beruht unter anderem auf der Tatsache, dass sie sehr gute physikalisch-chemische Eigenschaften besitzen. Durch die sehr kleine Tröpfchengröße haben sie im Verhältnis zum Volumen eine sehr große Oberfläche, die es ihnen erlaubt, sehr gut in die Haut zu penetrieren. Die in dieser Arbeit hergestellten Emulsionen (Öl-in-Wasser-Emulsionen) gehen dabei auch zusätzlich auf einen Trend ein, der in den vergangenen Jahren verstärkt beobachtet werden konnte, nämlich die Verwendung von natürlich vorkommenden Komponenten in topischen Produkten.

Die nach Herstellung aller Nanoemulsionen scheinbar stabilste (Partikelgröße, PDI, usw.) Emulsion wurde herangezogen, um sie bezüglich ihres Penetrationsvermögens und ihres Wirkstofftransports in das Stratum Corneum mit halbfesten topischen Systemen zu vergleichen, die in der Praxis schon langjährige Anwendung finden und sich gut etabliert haben. Bei diesen topischen Systemen handelt es sich mit Ultrabas[®], Ultrasicc[®] und Ultraphil[®] um Produkte der Firma Bayer. In der Apotheke können damit z.B. cortisonhaltige Spezialitäten der Firma individuell verdünnt werden. Der Vorteil dieser Verdünnung ist die individuelle Anpassung der Arzneistoffkonzentration an den Patienten und seine Erkrankung.

In diese halbfesten Zubereitungen und in die Nanoemulsion wurde jeweils 1% von Fludrocortisonacetat eingearbeitet. Die so hergestellten topischen Systeme wurden nun mittels Tape-Stripping-Studien an porcinen Ohren auf ihre Eindringtiefe und ihren Wirkstofftransport hin vergleichend untersucht.

Die Schlussfolgerungen aus den Stabilitätstests ergaben, dass die für die Tape-Stripping-Versuche ausgewählte Nanoemulsion (Lezithin/Polysorbat 80/Squalen, Rezeptur E) zwar die kleinste Tröpfchengröße und einen niedrigen PDI besaß, in Bezug auf die Stabilität aber unabhängig vom Öltyp den Emulsionen mit Lezithin/Zuckerester unterlegen war.

Daher ist zu vermuten, dass die Aussagen, die auf Grund von DLS-Werten getätigt werden können, nicht alleine für Stabilitätsvorhersagen herangezogen werden können,

6 Zusammenfassung

sondern dass zusätzliche Methoden einer Visualisierung wie z.B. TEM- und Cryo-TEM-Messungen sinnvoll sind. Insbesondere konnte festgestellt werden, dass bereits mittels TEM eine gute Einschätzung über die Form und die Stabilität der Emulsion gewonnen werden kann, obwohl die Emulsion nicht exakt so dargestellt wird wie sie tatsächlich vorliegt. Durch das Hochvakuum der TEM entweicht das Wasser in der Formulierung und es sind daher nur noch die Tensidhüllen zu sehen. Es ist jedoch wichtig festzustellen, dass es trotz all dieser Daten und Einblicke unerlässlich ist, weiterhin jedes topische System auf Stabilität zu prüfen, da die physikalische Stabilität von vielen Parametern abhängt, beispielsweise der verwendeten Ölphase, der Tensidmischung und deren prozentuellem Anteil. Durch die Cryo-TEM konnte die Tendenz zur Agglomeration der Rezeptur E und damit eine wahrscheinlich verminderte Stabilität festgestellt werden. Die DLS-Daten lieferten diesbezüglich keinen Hinweis.

Von den untersuchten topischen Systemen war die Eindringtiefe von Fludrocortisonacetat aus der Nanoemulsion am größten (80%), im Vergleich zu den halbfesten Zubereitungen, deren Eindringtiefe in einem Bereich von 50% bis 70% lag.

Nach Applikation der halbfesten Systeme war auch nach 1h noch mehr als 50% des Wirkstoffes auf der Hautoberfläche nachzuweisen.

Abschließend kann festgestellt werden, dass Nanoemulsionen ein großes Potential für Hautzubereitungen aufweisen. Es ist jedoch notwendig, für jeden Einzelfall die Kombination von Ölphase, Emulgatoren und Wirkstoff sowohl hinsichtlich der Stabilität als auch der Wirkstofffreigabe aus dem jeweiligen System zu prüfen. Daher sind zusätzliche Untersuchungen in weiterführenden Arbeiten durchzuführen.

7 Anhang

Rezeptur A	Charge 1	Charge 2	Charge 3
Lezithin	0,7508 <i>g</i>	0,75053 <i>g</i>	0,75075 <i>g</i>
Sojaöl	6,0168 <i>g</i>	6,00170 <i>g</i>	6,00640 <i>g</i>
Kaliumsorbat	0,0307 <i>g</i>	0,03088 <i>g</i>	0,03022 <i>g</i>
Aqua dest.	23,2278 <i>g</i>	23,22000 <i>g</i>	23,22690 <i>g</i>

Tabelle 7.1: Rezeptur A, Charge 1-3

Rezeptur B	Charge 1	Charge 2	Charge 3
Lezithin	0,75080 <i>g</i>	0,75049 <i>g</i>	0,75099 <i>g</i>
Tween 80	0,75054 <i>g</i>	0,75020 <i>g</i>	0,75872 <i>g</i>
Sojaöl	6,00505 <i>g</i>	6,02954 <i>g</i>	6,00947 <i>g</i>
Kaliumsorbat	0,03013 <i>g</i>	0,03057 <i>g</i>	0,03036 <i>g</i>
Aqua dest.	22,47330 <i>g</i>	22,47624 <i>g</i>	22,48186 <i>g</i>

Tabelle 7.2: Rezeptur B, Charge 1-3

Rezeptur C	Charge 1	Charge 2	Charge 3
Lezithin	0,7508 <i>g</i>	0,75098 <i>g</i>	0,75066 <i>g</i>
Zuckerester	0,75066 <i>g</i>	0,75021 <i>g</i>	0,75073 <i>g</i>
Sojaöl	6,00662 <i>g</i>	6,02661 <i>g</i>	6,05400 <i>g</i>
Kaliumsorbat	0,03064 <i>g</i>	0,03029 <i>g</i>	0,03065 <i>g</i>
Aqua dest.	22,47610 <i>g</i>	22,45231 <i>g</i>	22,47550 <i>g</i>

Tabelle 7.3: Rezeptur C, Charge 1-3

Rezeptur D	Charge 1	Charge 2	Charge 3
Lezithin	0,75012 <i>g</i>	0,75013 <i>g</i>	0,75098 <i>g</i>
Squalene	6,01420 <i>g</i>	6,00916 <i>g</i>	6,01204 <i>g</i>
Kaliumsorbat	0,03029 <i>g</i>	0,03037 <i>g</i>	0,03013 <i>g</i>
Aqua dest.	23,26635 <i>g</i>	23,22700 <i>g</i>	23,23607 <i>g</i>

Tabelle 7.4: Rezeptur D, Charge 1-3

Rezeptur E	Charge 1	Charge 2	Charge 3
Lezithin	0,75043 <i>g</i>	0,75059 <i>g</i>	0,75001 <i>g</i>
Tween 80	0,76170 <i>g</i>	0,76535 <i>g</i>	0,76150 <i>g</i>
Squalene	6,00090 <i>g</i>	6,00644 <i>g</i>	6,00615 <i>g</i>
Kaliumsorbat	0,03114 <i>g</i>	0,03055 <i>g</i>	0,03031 <i>g</i>
Aqua dest.	22,47381 <i>g</i>	22,47205 <i>g</i>	22,46633 <i>g</i>

Tabelle 7.5: Rezeptur E, Charge 1-3

Rezeptur F	Charge 1	Charge 2	Charge 3
Lezithin	0,75099 <i>g</i>	0,75046 <i>g</i>	0,75057 <i>g</i>
Zuckerester	0,75094 <i>g</i>	0,75028 <i>g</i>	0,75038 <i>g</i>
Squalene	6,01494 <i>g</i>	6,00130 <i>g</i>	6,01180 <i>g</i>
Kaliumsorbat	0,03023 <i>g</i>	0,03074 <i>g</i>	0,03036 <i>g</i>
Aqua dest.	22,48144 <i>g</i>	22,47293 <i>g</i>	22,48840 <i>g</i>

Tabelle 7.6: Rezeptur F, Charge 1-3

Rezeptur Z	Charge 1	Charge 2	Charge 3
Lezithin	0,75023 <i>g</i>	0,75064 <i>g</i>	0,75019 <i>g</i>
Tween 80	0,75087 <i>g</i>	0,74990 <i>g</i>	0,76384 <i>g</i>
Squalene	5,99977 <i>g</i>	6,00209 <i>g</i>	6,00530 <i>g</i>
Kaliumsorbat	0,03059 <i>g</i>	0,03060 <i>g</i>	0,03081 <i>g</i>
Fludrocortisonacetat	0,30010 <i>g</i>	0,30114 <i>g</i>	0,30136 <i>g</i>
Aqua dest.	22,19140 <i>g</i>	22,10334 <i>g</i>	22,18786 <i>g</i>

Tabelle 7.7: Rezeptur Z, Charge 1-3

Size <i>nm</i>	A1	A2	A3	MW	SD
0	237,13	228,67	221,70	229,17	7,73
1	237,07	235,93	222,60	231,87	8,05
2	263,20	271,20	226,83	253,74	23,65
3	291,03	310,90	225,17	275,70	44,88
4	302,77	466,93	234,67	334,79	119,40
7	623,33	604,47	294,73	507,51	184,51
PDI	A1	A2	A3	MW	SD
0	0,14	0,14	0,14	0,14	0,00
1	0,04	0,05	0,08	0,06	0,02
2	0,10	0,13	0,12	0,12	0,02
3	0,14	0,14	0,14	0,14	0,00
4	0,13	0,28	0,10	0,17	0,10
7	0,26	0,20	0,11	0,19	0,07
ZP <i>mV</i>	A1	A2	A3	MW	SD
0	-40,97	-40,43	-41,73	-41,04	0,65
1	-44,18	-32,30	-39,22	-38,57	5,97
2	-46,70	-42,03	-37,50	-42,08	4,60
3	-46,07	-45,83	-44,10	-45,33	1,07
4	-42,43	-45,73	-40,33	-42,83	2,72
7	-46,93	-47,97	-39,90	-44,93	4,39
Cond <i>mS/cm</i>	A1	A2	A3	MW	SD
0	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
1	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
2	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
3	0,02	0,02	0,03	0,02	0,00
4	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
7	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
pH	A1	A2	A3	MW	SD
0	6,77	6,85	6,82	6,81	0,04
1	6,01	5,86	6,16	6,01	0,15
2	7,01	6,88	7,22	7,04	0,17
3	5,86	5,76	5,90	5,84	0,07
4	5,52	5,53	5,64	5,56	0,07
7	5,53	5,61	5,79	5,64	0,13

Tabelle 7.8: Messwerte der Rezeptur A, Woche 0-7

Size <i>nm</i>	B1	B2	B3	MW	SD
0	137,97	136,07	134,67	136,23	1,66
1	137,23	133,87	133,97	135,02	1,92
2	139,37	136,50	133,73	136,53	2,82
3	138,27	136,30	133,67	136,08	2,31
4	139,97	136,47	134,43	136,96	2,80
7	140,43	153,10	134,10	142,54	9,67
PDI	B1	B2	B3	MW	SD
0	0,13	0,13	0,13	0,13	0,00
1	0,12	0,13	0,12	0,12	0,01
2	0,12	0,12	0,13	0,12	0,01
3	0,12	0,11	0,11	0,11	0,00
4	0,13	0,11	0,13	0,12	0,01
7	0,11	0,07	0,12	0,10	0,03
ZP <i>mV</i>	B1	B2	B3	MW	SD
0	-22,23	-27,73	-22,83	-24,27	3,02
1	-30,57	-29,70	-24,00	-28,09	3,57
2	-35,13	-29,97	-23,17	-29,42	6,00
3	-39,33	-34,27	-31,20	-34,93	4,11
4	-43,53	-35,50	-25,27	-34,77	9,16
7	-41,13	-40,83	-34,77	-38,91	3,59
Cond <i>mS/cm</i>	B1	B2	B3	MW	SD
0	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
1	0,02	0,01	0,02	0,02	0,00
2	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
3	0,02	0,03	0,02	0,02	0,00
4	0,02	0,02	0,03	0,02	0,00
7	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
pH	B1	B2	B3	MW	SD
0	6,67	6,76	6,77	6,73	0,06
1	6,14	6,11	6,03	6,09	0,06
2	6,07	6,06	5,99	6,04	0,04
3	5,98	6,04	5,98	6,00	0,03
4	5,95	6,00	5,95	5,97	0,03
7	5,85	5,78	5,84	5,82	0,04

Tabelle 7.9: Messwerte der Rezeptur B, Woche 0-7

Size <i>nm</i>	C1	C2	C3	MW	SD
0	213,80	194,20	173,00	193,67	20,41
1	203,37	190,90	170,03	188,10	16,84
2	204,47	191,13	169,17	188,26	17,83
3	203,93	188,63	169,57	187,38	17,22
4	205,17	188,40	170,30	187,96	17,44
7	205,30	190,83	171,10	189,08	17,17
PDI	C1	C2	C3	MW	SD
0	0,16	0,13	0,11	0,13	0,02
1	0,12	0,12	0,10	0,11	0,01
2	0,13	0,11	0,12	0,12	0,01
3	0,14	0,12	0,11	0,12	0,02
4	0,12	0,13	0,10	0,12	0,01
7	0,09	0,11	0,10	0,10	0,01
ZP <i>mV</i>	C1	C2	C3	MW	SD
0	-34,87	-34,47	-35,30	-34,88	0,42
1	-40,13	-38,00	-36,00	-38,04	2,07
2	-38,80	-40,63	-36,13	-38,52	2,26
3	-45,60	-42,33	-35,30	-41,08	5,26
4	-40,40	-37,37	-35,93	-37,90	2,28
7	-53,37	-48,67	-48,33	-50,12	2,81
Cond <i>mS/cm</i>	C1	C2	C3	MW	SD
0	0,03	0,02	0,02	0,02	0,00
1	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
2	0,03	0,02	0,02	0,02	0,01
3	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
4	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
7	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
pH	C1	C2	C3	MW	SD
0	6,47	6,50	6,53	6,50	0,03
1	6,02	6,11	6,11	6,08	0,05
2	5,77	5,98	6,10	5,95	0,17
3	6,09	6,10	6,03	6,07	0,04
4	5,87	5,88	5,91	5,89	0,02
7	5,85	5,61	5,84	5,77	0,14

Tabelle 7.10: Messwerte der Rezeptur C, Woche 0-7

Size <i>nm</i>	D1	D2	D3	MW	SD
0	365,43	386,80	339,47	363,90	23,70
1	377,67	302,73	1161,33	613,91	475,56
2	367,93	715,45	1080,67	721,35	356,40
3	487,27	254,33	269,63	337,08	130,29
4	425,17	261,17	294,87	327,07	86,61
7	335,80	258,77	279,67	291,41	39,84
PDI	D1	D2	D3	MW	SD
0	0,41	0,58	0,48	0,49	0,09
1	0,47	0,38	0,54	0,46	0,08
2	0,46	0,56	0,48	0,50	0,05
3	0,73	0,28	0,31	0,44	0,25
4	0,55	0,25	0,35	0,38	0,15
7	0,39	0,23	0,32	0,31	0,08
ZP <i>mV</i>	D1	D2	D3	MW	SD
0	-40,57	-34,87	-34,50	-36,64	3,40
1	-46,63	-35,88	-36,47	-39,66	6,05
2	-42,20	-47,80	-42,00	-44,00	3,29
3	-39,67	-39,97	-39,67	-39,77	0,17
4	-51,90	-41,77	-36,73	-43,47	7,72
7	-43,78	-31,90	-20,60	-32,09	11,59
Cond <i>mS/cm</i>	D1	D2	D3	MW	SD
0	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
1	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
2	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01
3	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
4	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
7	0,03	0,02	0,03	0,03	0,01
pH	D1	D2	D3	MW	SD
0	6,89	6,94	6,91	6,91	0,03
1	7,20	7,31	7,25	7,25	0,06
2	5,98	6,09	5,99	6,02	0,06
3	5,76	5,80	5,73	5,76	0,04
4	5,88	5,86	5,73	5,82	0,08
7	5,52	5,56	5,29	5,46	0,15

Tabelle 7.11: Messwerte der Rezeptur D, Woche 0-7

Size <i>nm</i>	E1	E2	E3	MW	SD
0	113,97	112,17	108,80	111,64	2,62
1	115,33	113,80	109,77	112,97	2,88
2	114,80	110,70	109,83	111,78	2,65
3	115,33	137,67	109,93	120,98	14,70
4	112,23	225,30	108,03	148,52	66,52
7	323,27	330,67	347,70	333,88	12,53
PDI	E1	E2	E3	MW	SD
0	0,08	0,07	0,07	0,07	0,01
1	0,08	0,07	0,09	0,08	0,01
2	0,06	0,06	0,08	0,07	0,01
3	0,07	0,02	0,07	0,05	0,03
4	0,08	0,12	0,03	0,08	0,05
7	0,25	0,27	0,39	0,30	0,08
ZP <i>mV</i>	E1	E2	E3	MW	SD
0	-27,23	-18,73	-19,77	-21,91	4,64
1	-27,38	-23,50	-29,61	-26,83	3,09
2	-36,77	-32,03	-27,43	-32,08	4,67
3	-35,63	-31,43	-32,73	-33,27	2,15
4	-34,87	-39,70	-35,00	-36,52	2,75
7	-52,17	-50,90	-50,40	-51,16	0,91
Cond <i>mS/cm</i>	E1	E2	E3	MW	SD
0	0,02	0,03	0,02	0,02	0,00
1	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
2	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
3	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
4	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
7	0,02	0,03	0,02	0,02	0,01
pH	E1	E2	E3	MW	SD
0	6,94	6,86	6,87	6,89	0,04
1	6,18	6,30	6,75	6,41	0,30
2	6,10	6,13	6,40	6,21	0,17
3	5,75	5,84	5,95	5,85	0,10
4	5,91	6,00	6,10	6,00	0,10
7	4,58	5,66	4,68	4,97	0,60

Tabelle 7.12: Messwerte der Rezeptur E, Woche 0-7

Size <i>nm</i>	F1	F2	F3	MW	SD
0	155,47	154,97	150,20	153,54	2,91
1	154,00	153,27	146,90	151,39	3,90
2	152,03	152,53	145,33	149,97	4,02
3	152,27	152,57	146,83	150,56	3,23
4	154,87	152,60	145,07	150,84	5,13
7	154,10	153,53	146,70	151,44	4,12
PDI	F1	F2	F3	MW	SD
0	0,09	0,08	0,08	0,08	0,00
1	0,07	0,07	0,07	0,07	0,00
2	0,07	0,07	0,06	0,07	0,01
3	0,07	0,06	0,08	0,07	0,01
4	0,08	0,07	0,06	0,07	0,01
7	0,07	0,08	0,08	0,08	0,01
ZP <i>mV</i>	F1	F2	F3	MW	SD
0	-32,57	-38,27	-32,83	-34,56	3,22
1	-38,73	-39,73	-36,80	-38,42	1,49
2	-42,23	-39,85	-39,18	-40,42	1,60
3	-44,00	-42,87	-41,60	-42,82	1,20
4	-43,23	-40,20	-36,43	-39,96	3,41
7	-45,77	-42,27	-41,17	-43,07	2,40
Cond <i>mS/cm</i>	F1	F2	F3	MW	SD
0	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
1	0,02	0,03	0,02	0,02	0,00
2	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
3	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
4	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
7	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00
pH	F1	F2	F3	MW	SD
0	6,39	6,52	6,51	6,47	0,07
1	5,99	5,89	6,12	6,00	0,12
2	5,94	5,93	6,21	6,03	0,16
3	5,70	5,72	5,92	5,78	0,12
4	5,86	5,72	6,05	5,88	0,17
7	5,84	5,74	5,88	5,82	0,07

Tabelle 7.13: Messwerte der Rezeptur F, Woche 0-7

Tape Nr.	1	2	3	4	5	6	MW	SD	MW kum
X1					5,18	5,72			
X2						2,35			
1	3,55	5,79	4,83	7,30	1,96	0,87	4,05	2,41	4,05
2	1,66	2,30	1,99	1,31	1,11	0,58	1,49	0,63	5,54
3	0,70	1,08	0,94	0,51	0,73	0,40	0,73	0,25	6,27
4	0,57	0,67	0,52	0,31	0,50	0,50	0,51	0,12	6,78
5	0,36	0,58	0,37	0,19	0,44	0,35	0,38	0,13	7,16
6	0,43	0,48	0,28	0,16	0,38	0,43	0,36	0,12	7,52
7	0,35	0,40	0,27	0,14	0,32	0,39	0,31	0,10	7,83
8	0,25	0,34	0,26	0,15	0,25	0,40	0,28	0,09	8,11
9	0,26	0,35	0,23	0,11	0,24	0,31	0,25	0,08	8,36
10	0,33	0,27	0,20	0,11	0,20	0,34	0,24	0,09	8,60
11	0,25	0,27	0,21	0,09	0,27	0,28	0,23	0,07	8,83
12	0,18	0,25	0,19	0,09	0,24	0,27	0,21	0,07	9,03
13	0,18	0,38	0,16	0,10	0,27	0,35	0,24	0,11	9,27
14	0,23	0,27	0,18	0,12	0,21	0,28	0,21	0,06	9,49
15	0,15	0,25	0,17	0,10	0,19	0,22	0,18	0,05	9,67
16	0,10	0,19	0,21	0,11	0,15	0,20	0,16	0,05	9,83
17	0,18	0,24	0,17	0,11	0,20	0,19	0,18	0,04	10,01
18	0,17	0,22	0,13	0,09	0,11	0,19	0,15	0,05	10,16
19	0,15	0,22	0,13	0,12	0,12	0,22	0,16	0,05	10,32
20	0,13	0,19	0,13	0,09	0,15	0,19	0,15	0,04	10,47
21	0,15	0,21	0,13	0,11	0,10		0,14	0,04	10,61
22	0,24	0,22	0,16	0,09	0,10		0,16	0,07	10,77
23	0,31	0,19	0,15	0,10	0,10		0,17	0,09	10,94
24	0,17	0,22	0,15	0,11	0,12		0,15	0,05	11,09
25	0,34	0,24	0,14	0,09	0,10		0,18	0,11	11,28
Summe	11,39	15,84	12,31	11,82	13,75	15,00	13,35	1,81	

Tabelle 7.14: Nanoemulsion: Konzentration Fludrocortisonacetat in $\mu g/ml$ (Mittelwerte, $n \geq 5$)

Tape Nr.	1	2	3	4	5	6	MW	SD	MW kum %	MW kum
1	41,08	33,30	70,00	21,15	26,98	16,53	34,84	19,30	3,69%	34,84
2	36,95	35,97	69,76	17,50	28,44	15,31	33,99	19,72	7,30%	68,83
3	29,17	42,78	52,75	26,01	31,36	15,80	32,98	13,02	10,79%	101,80
4	28,68	49,10	46,67	35,24	35,24	19,45	35,73	11,08	14,58%	137,54
5	28,92	54,20	40,84	40,35	31,11	18,23	35,61	12,35	18,36%	173,14
6	27,22	55,42	41,56	41,32	31,36	21,39	36,38	12,23	22,21%	209,52
7	28,68	55,66	37,19	43,75	33,79	22,36	36,91	11,73	26,12%	246,43
8	29,65	54,69	40,84	39,13	32,08	26,01	37,07	10,31	30,05%	283,50
9	22,85	52,50	34,76	40,35	31,11	24,79	34,39	10,95	33,70%	317,89
10	28,68	48,86	38,40	37,92	28,68	24,06	34,43	9,05	37,35%	352,33
11	25,28	50,31	31,84	40,84	28,44	24,55	33,54	10,13	40,91%	385,87
12	26,74	51,04	31,11	38,16	21,39	26,49	32,49	10,68	44,35%	418,36
13	21,88	42,29	32,57	32,57	22,36	29,65	30,22	7,60	47,55%	448,58
14	23,82	51,77	30,38	32,57	22,85	27,95	31,56	10,58	50,90%	480,14
15	22,36	48,86	30,87	23,33	20,17	25,28	28,48	10,62	53,92%	508,62
16	25,77	44,48	31,84	10,21	15,56	26,74	25,77	12,12	56,65%	534,38
17	23,82	43,75	33,06	13,61	13,61	28,68	26,09	11,69	59,42%	560,47
18	24,06	34,76	28,92	4,13	17,74	23,58	22,20	10,53	61,77%	582,67
19	24,06	36,22	29,65	4,38	12,15	25,28	21,96	11,69	64,10%	604,63
20	20,90	34,27	30,14	3,40	10,69	28,20	21,27	12,06	66,35%	625,90
21	22,12	31,60	39,86	1,22	7,54		20,47	16,13	68,52%	646,36
22	23,58	38,16	35,73	2,92	10,45		22,17	15,41	70,87%	668,53
23	25,28	27,22	35,49	3,40	9,97		20,27	13,19	73,02%	688,80
24	20,66	25,52	42,78	6,56	5,10		20,13	15,43	75,16%	708,93
25	25,28	35,24	30,14	2,43	7,29		20,08	14,43	77,28%	729,01
Summe	657,50	1078,00	967,16	562,46	535,48	470,33	711,82	250,58		

Tabelle 7.15: Nanoemulsion: Menge der Corneozyten in μg (Mittelwerte, $n \geq 5$)

Tape Nr.	1	2	3	4	5	6	7	MW	SD	MW kum
X1	7,06	7,75	6,48	7,12	7,54	6,95	7,76	7,24	0,47	
X2	4,04	4,34	4,27	3,93	4,61	4,07	5,63	4,41	0,58	
X3				2,37	2,73	2,31	3,45	2,72	0,52	
X4				1,27	1,31	1,59	1,73	1,48	0,22	
X5					0,66	0,85	0,96	0,83	0,15	
1	2,63	2,04	2,53	0,70	0,44	0,64	0,48	1,35	1,00	1,35
2	1,38	0,95	1,38	0,41	0,55	0,48	0,36	0,79	0,45	2,14
3	1,06	0,51	0,83	0,32	0,46	0,65	0,32	0,59	0,27	2,73
4	0,69	0,38	0,66	0,23	0,31	0,40	0,26	0,42	0,19	3,15
5	0,55	0,37	0,40	0,22	0,27	0,43	0,29	0,36	0,11	3,51
6	0,53	0,53	0,43	0,19	0,23	0,39	0,25	0,36	0,14	3,87
7	0,41	0,16	0,31	0,20	0,32	0,36	0,27	0,29	0,09	4,16
8	0,56	0,21	0,27	0,17	0,24	0,27	0,15	0,27	0,14	4,43
9	0,58	0,14	0,20	0,17	0,28	0,21	0,19	0,25	0,15	4,68
10	0,54	0,27	0,23	0,13	0,32	0,12	0,22	0,26	0,14	4,94
11	0,45	0,25	0,19	0,13	0,25	0,21	0,18	0,24	0,10	5,18
12	0,43	0,25	0,18	0,12	0,24	0,19	0,19	0,23	0,10	5,41
13	0,44	0,21	0,22	0,12	0,23	0,13	0,20	0,22	0,10	5,63
14	0,36	0,23	0,19	0,11	0,24	0,08	0,13	0,19	0,10	5,83
15	0,43	0,23	0,17	0,11	0,23	0,04	0,15	0,19	0,12	6,02
16	0,43	0,22	0,19	0,10	0,13	0,03	0,10	0,17	0,13	6,19
17	0,38	0,20	0,17	0,12	0,15	0,07	0,13	0,17	0,10	6,36
18	0,46	0,29	0,21	0,10	0,11	0,04	0,15	0,19	0,14	6,56
19	0,12	0,24	0,15	0,10	0,12	0,05	0,08	0,12	0,06	6,68
20	0,12	0,25	0,18	0,10	0,09	0,06	0,20	0,14	0,07	6,82
21	0,15	0,38	0,21		0,11			0,21	0,12	7,04
22	0,12	0,25	0,17		0,12			0,17	0,06	7,20
23	0,08	0,26	0,17		0,08			0,15	0,08	7,35
24					0,06			0,06		7,41
25					0,06			0,06		7,47
Summe	23,99	20,89	20,37	18,56	22,50	20,62	23,82	21,54	1,99	

Tabelle 7.16: Ultrabas[®]: Konzentration Fludrocortisonacetat in $\mu g/ml$ (Mittelwerte, $n \geq 5$)

Tape Nr.	1	2	3	4	5	6	7	MW	SD	MW kum %	MW kum
X1	14,10	13,37	16,29								
X2	8,75	8,51	17,99								
1	14,10	13,37	16,29	6,32	6,32	7,78	12,64	10,97	4,08	1,16%	10,97
2	8,75	8,51	17,99	6,32	12,64	7,05	13,13	10,63	4,16	2,29%	21,60
3	8,02	3,65	18,47	8,26	9,97	7,05	18,72	10,59	5,79	3,41%	32,19
4	10,69	2,92	21,39	8,26	13,13	11,67	24,31	13,20	7,41	4,81%	45,38
5	10,69	3,40	22,61	10,45	13,61	10,94	24,06	13,68	7,30	6,26%	59,07
6	11,42	7,78	29,17	13,13	17,50	14,34	24,06	16,77	7,48	8,04%	75,84
7	16,04	10,94	29,65	13,37	12,15	15,07	25,04	17,47	7,09	9,89%	93,30
8	19,45	13,85	32,81	18,23	22,12	15,80	19,20	20,21	6,16	12,03%	113,51
9	18,23	16,04	30,87	14,34	13,61	16,53	24,06	19,10	6,23	14,06%	132,61
10	22,36	21,63	31,36	26,25	16,29	20,42	25,28	23,37	4,81	16,54%	155,98
11	22,61	22,12	29,65	24,79	17,26	18,96	26,98	23,20	4,35	18,99%	179,18
12	17,99	26,25	40,84	28,44	20,66	21,15	24,79	25,73	7,56	21,72%	204,91
13	21,39	26,25	34,03	35,49	16,29	17,99	23,82	25,04	7,45	24,38%	229,94
14	17,01	26,25	34,52	28,44	19,69	24,31	25,52	25,11	5,72	27,04%	255,05
15	19,69	25,77	33,79	25,52	14,10	18,72	24,31	23,13	6,33	29,49%	278,17
16	19,93	26,01		26,25	17,50	19,20	21,39	21,71	3,64	31,79%	299,89
17	20,17	31,60	29,65	25,52	14,83	20,90	23,58	23,75	5,78	34,31%	323,64
18	17,01	24,31		23,58	15,56	17,50	31,11	21,51	5,93	36,59%	345,15
19	16,04	24,06	8,99	24,31	15,56	19,20	14,34	17,50	5,49	38,45%	362,65
20	19,45	26,49	71,70	15,56	20,90	17,50	13,61	26,46	20,38	41,25%	389,11
21	15,56	24,06	3,16		14,34			14,28	8,58	42,76%	403,39
22	17,26	48,37	0,00		15,56			20,30	20,26	44,92%	423,69
23	18,47	15,31	1,22		13,85			12,21	7,58	46,21%	435,90
24					12,88			12,88		47,58%	448,78
25					13,13			13,13		48,97%	461,91
Summe	382,34	448,95	538,15	382,83	379,43	322,06	439,95	413,39			

Tabelle 7.17: Ultrabas[®]: Menge der Corneozyten in μg (Mittelwerte, $n \geq 5$)

Tape Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	MW	SD	MW kum
X1	10,03	7,64	7,83	8,28	5,37	9,86	6,03	10,07	8,14	1,80	
X2	2,17	3,05	3,03	2,75	3,12	2,69	1,94	5,23	3,00	1,00	
X3						0,93	1,10	2,13	1,39	0,65	
X4							0,75	1,08	0,92	0,23	
X5							0,57	0,02	0,29	0,39	
1	1,09	1,70	1,78	2,18	2,21	0,58	0,57	1,12	1,40	0,66	1,40
2	0,83	1,26	1,20	1,49	1,54	0,43	0,39	0,65	0,97	0,46	2,38
3	0,59	0,89	0,92	0,98	1,34	0,40	0,26	0,48	0,73	0,36	3,11
4	0,51	0,88	0,66	0,70	0,85	0,32	0,20	0,41	0,57	0,25	3,68
5	0,59	1,05	0,46	0,49	0,69	0,30	0,21	0,48	0,53	0,26	4,21
6	0,43	0,90	0,46	0,52	0,55	0,37	0,23	0,38	0,48	0,20	4,69
7	0,43	0,85	0,30	0,44	0,44	0,29	0,15	0,33	0,40	0,21	5,09
8	0,63	0,81	0,23	0,43	0,28	0,33	0,13	0,24	0,38	0,23	5,48
9	0,49	0,44	0,23	0,32	0,26	0,21	0,15	0,25	0,29	0,12	5,77
10	0,53	0,32	0,23	0,25	0,26	0,22	0,20	0,22	0,28	0,11	6,05
11	0,57	0,32	0,19	0,29	0,29	0,28	0,08	0,15	0,27	0,14	6,32
12	0,46	0,43	0,16	0,26	0,23	0,31	0,18	0,19	0,28	0,11	6,60
13	0,35	0,73	0,16	0,26	0,21	0,25	0,14	0,20	0,29	0,19	6,88
14	0,48	0,71	0,16	0,26	0,24	0,19	0,16	0,20	0,30	0,19	7,18
15	0,45	0,26	0,15	0,20	0,21	0,17	0,14	0,17	0,22	0,10	7,40
16	0,45	0,51	0,16	0,21	0,20	0,17	0,08	0,16	0,24	0,15	7,65
17	0,55	0,23	0,15	0,20	0,15	0,19	0,09	0,09	0,21	0,15	7,85
18	0,17	0,15	0,17	0,19	0,17	0,18	0,12	0,12	0,16	0,03	8,01
19	0,33	0,23	0,16	0,28	0,15	0,19	0,18	0,28	0,22	0,07	8,24
20	0,23	0,28	0,16	0,18	0,16	0,22	0,12	0,13	0,18	0,05	8,42
21	0,22	0,26	0,19	0,17	0,11	0,15		0,16	0,18	0,05	8,60
22	0,11	0,24	0,13	0,16	0,22	0,16		0,16	0,17	0,05	8,77
23	0,12	0,48	0,11	0,18	0,13	0,14		0,15	0,19	0,13	8,96
24	0,13			0,13	0,13	0,14			0,13	0,01	9,09
25	0,14			0,13	0,10	0,14			0,13	0,02	9,22
Summe	23,07	24,62	19,39	21,93	19,61	19,81	14,16	25,25	20,98	3,57	

Tabelle 7.18: Ultrasicc®: Konzentration Fludrocortisonacetat in $\mu g/ml$ (Mittelwerte, $n \geq 5$)

Tape Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	MW	SD	MW kum %	MW kum
X1	40,35	50,07	47,16	39,1338								
X2	18,47	26,49	37,68	26,2513								
1	40,35	50,07	47,16	39,13	27,47	9,48	18,47	21,63	31,72	14,61	3,36%	31,72
2	18,47	26,49	37,68	26,25	32,57	12,15	19,93	23,82	24,67	8,07	5,98%	56,39
3	15,80	24,06	51,04	21,88	37,19	13,37	23,82	26,25	26,68	12,18	8,81%	83,07
4	15,56	28,44	51,04	37,19	39,86	14,10	22,61	32,08	30,11	12,62	12,00%	113,18
5	17,99	30,38	46,91	36,46	40,11	13,85	22,61	30,87	29,90	11,28	15,17%	143,08
6	18,72	26,49	54,20	38,65	42,78	15,07	23,82	35,97	31,96	13,25	18,56%	175,04
7	22,12	30,63	48,61	41,81	43,51	15,80	22,36	31,60	32,05	11,71	21,95%	207,09
8	20,66	23,82	57,85	42,78	38,16	15,07	26,49	30,38	31,90	13,82	25,34%	239,00
9	22,61	26,01	40,59	41,56	40,11	14,83	26,74	32,08	30,57	9,72	28,58%	269,56
10	19,45	29,17	37,43	40,84	38,16	11,91	23,33	31,11	28,92	10,11	31,64%	298,49
11	19,69	27,35	37,68	47,64	42,05	15,56	20,90	33,54	30,55	11,53	34,88%	329,04
12	21,88	36,22	41,81	43,02	37,43	13,13	18,72	34,03	30,78	11,29	38,14%	359,82
13	23,58	33,30	37,68	43,51	35,97	18,47	20,17	31,36	30,50	8,93	41,38%	390,32
14	19,93	31,11	35,73	33,06	32,57	13,37	16,29	36,46	27,31	9,26	44,27%	417,63
15	20,66	31,36	35,73	43,51	40,35	12,64	15,56	28,68	28,56	11,38	47,30%	446,20
16	18,96	25,77	33,30	36,95	30,14	19,93	15,07	31,36	26,43	7,78	50,10%	472,63
17	21,63	29,17	29,65	28,92	30,87	14,34	8,75	26,74	23,76	8,18	52,62%	496,39
18	24,06	22,85	34,27	30,14	34,03	15,31	9,72	24,79	24,40	8,65	55,21%	520,79
19	25,28	28,44	29,65	27,47	25,52	15,56	12,15	24,06	23,52	6,30	57,70%	544,30
20	21,15	22,85	34,76	20,66	27,95	20,90	7,05	21,63	22,12	7,80	60,05%	566,42
21	22,12	27,22	33,54	59,55	26,01	15,56		20,42	29,20	14,53	63,14%	595,63
22	21,88	26,98	29,17	8,51	33,06	16,53		21,63	22,54	8,25	65,53%	618,16
23	19,45	25,04	34,76	5,83	25,28	15,07		16,04	20,21	9,23	67,67%	638,37
24	18,72			2,67	27,47	16,29			16,29	10,27	69,40%	654,66
25	17,50			3,16	22,36	17,74			15,19	8,33	71,01%	669,85
Summe	528,18	663,21	920,25	801,15	850,98	376,02	374,57	646,56	645,12	207,72		

Tabelle 7.19: Ultrasicc®: Menge der Corneozyten in μg (Mittelwerte, $n \geq 5$)

Tape Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	MW	SD	MW kum
X1	4,51	6,59	4,82	5,61	3,39	6,95	5,99	3,40	5,16	1,36	
X2	3,67	4,25	2,99	4,00	2,54	4,27	2,55	3,43	3,46	0,71	
X3					2,50	3,47	1,92	3,63	2,88	0,81	
X4					2,33	2,78	1,46	2,63	2,30	0,59	
X5					1,76	2,30	0,98	2,27	1,83	0,62	
X6						2,06	0,82	2,04	1,64	0,71	
X7						1,56	0,80	1,55	1,30	0,44	
1	3,46	1,92	1,96	2,78	1,85	1,13	0,73	1,06	1,86	0,92	1,86
2	2,66	1,27	1,51	1,75	1,20	1,14	0,58	0,69	1,35	0,66	3,21
3	2,00	0,97	1,17	1,32	1,46	0,80	0,51	0,52	1,09	0,50	4,30
4	1,31	0,57	0,96	0,96	1,01	0,52	0,46	0,43	0,78	0,32	5,08
5	0,80	0,60	0,83	0,74	0,92	0,48	0,37	0,42	0,64	0,20	5,73
6	0,48	0,40	0,61	0,72	0,79	0,41	0,34	0,46	0,53	0,16	6,25
7	0,51	0,58	0,40	0,59	0,53	0,33	0,40	0,32	0,46	0,11	6,71
8	0,57	0,56	0,42	0,43	0,50	0,39	0,26	0,24	0,42	0,12	7,13
9	0,31	0,26	0,38	0,34	0,48	0,37	0,18	0,40	0,34	0,09	7,47
10	0,38	0,39	0,28	0,26	0,41	0,35	0,15	0,27	0,31	0,09	7,78
11	0,43	0,24	0,25	0,31	0,25	0,42	0,16	0,19	0,28	0,10	8,06
12	0,30	0,20	0,23	0,26	0,27	0,28	0,20	0,37	0,26	0,06	8,32
13	0,26	0,17	0,21	0,29	0,20	0,29	0,11	0,28	0,23	0,06	8,55
14	0,18	0,17	0,18	0,22	0,25	0,31	0,17	0,26	0,22	0,05	8,77
15	0,28	0,31	0,20	1,50	0,25	0,26	0,16	0,19	0,39	0,45	9,16
16	0,21	0,35	0,21	0,29	0,19	0,36	0,10	0,15	0,23	0,09	9,40
17	0,17	0,11	0,15	0,21	0,22	0,31	0,12	0,16	0,18	0,07	9,58
18	0,24	0,32	0,16	0,23	0,22	0,43	0,12	0,13	0,23	0,10	9,81
19	0,66	0,12	0,15		0,17	0,34	0,12	0,12	0,24	0,20	10,05
20	0,60	0,31	0,16		0,16	0,23	0,10	0,14	0,24	0,17	10,29
21	0,31	0,18	0,16		0,12	0,32		0,15	0,21	0,09	10,50
22	0,34	0,14	0,14		0,11	0,27		0,18	0,20	0,09	10,70
23	0,23	0,18	0,12		0,11	0,22		0,14	0,17	0,05	10,86
24		0,11			0,11	0,22		0,20	0,16	0,06	11,02
25		0,12			0,10	0,25		0,21	0,17	0,07	11,19
Summe	24,87	21,41	18,63	22,80	24,36	33,84	19,88	26,63	24,05	4,76	

Tabelle 7.20: Ultraphil®: Konzentration Fludrocortisonacetat in $\mu g/ml$ (Mittelwerte, $n \geq 5$)

Tape Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	MW	SD	MW kum %	MW kum
X1	26,74	17,99	27,71	13,1256								
X2	15,80	12,15	20,66	6,80588								
1	13,61	10,69	15,56	6,81	16,29	7,29	24,31	13,13	13,46	5,61	1,43%	13,46
2	18,72	12,64	20,42	7,29	18,96	7,54	26,98	18,96	16,44	6,78	3,17%	29,90
3	17,50	21,88	24,55	10,94	20,66	10,69	24,79	16,53	18,44	5,54	5,12%	48,34
4	24,31	23,33	33,30	14,58	25,04	11,18	24,06	20,66	22,06	6,78	7,46%	70,40
5	21,39	25,52	36,70	18,96	26,74	12,64	25,77	18,47	23,27	7,19	9,93%	93,67
6	25,77	28,92	36,95	25,28	31,11	14,10	25,77	21,63	26,19	6,71	12,71%	119,86
7	27,22	34,03	38,16	24,31	32,08	11,91	22,85	21,63	26,52	8,27	15,52%	146,39
8	26,25	29,17	45,70	28,20	37,68	14,34	27,71	21,15	28,77	9,56	18,57%	175,16
9	29,65	36,70	43,27	36,70	38,89	13,37	22,36	21,15	30,26	10,40	21,78%	205,42
10	34,03	32,81	52,50	34,27	41,32	17,50	23,82	23,09	32,42	11,16	25,21%	237,84
11	36,22	36,95	49,83	34,27	45,21	13,85	25,28	28,44	33,76	11,35	28,79%	271,60
12	31,84	34,52	54,69	38,65	45,21	15,80	33,54	26,01	35,03	11,75	32,51%	306,63
13	34,03	37,92	47,88	45,21	45,21	14,83	21,39	28,68	34,39	12,03	36,15%	341,02
14	29,17	35,24	49,10	38,65	49,83	14,58	23,09	25,77	33,18	12,44	39,67%	374,20
15	28,20	38,40	55,91	5,35	42,29	13,85	22,61	24,06	28,83	16,23	42,73%	403,04
16	27,22	36,46	47,16	0,73	43,02	14,10	22,12	24,79	26,95	15,30	45,58%	429,99
17	34,27	32,08	46,18	0,00	38,16	14,83	22,85	24,06	26,56	14,50	48,40%	456,54
18	31,84	33,30	43,02	0,00	34,27	12,64	20,17	22,61	24,73	13,80	51,02%	481,27
19	31,11	32,33	42,54		30,38	13,61	19,69	24,79	27,78	9,41	53,97%	509,05
20	32,08	35,24	50,07		30,63	12,88	21,39	20,17	28,92	12,18	57,03%	537,98
21	29,65	37,19	36,70		26,49	15,56		24,79	28,40	8,12	60,04%	566,38
22	32,81	30,63	41,81		24,31	12,64		23,58	27,63	9,89	62,97%	594,00
23	34,76	33,54	40,84		19,93	13,13		26,01	28,03	10,31	65,94%	622,04
24		28,20			15,80	12,88		18,23	18,78	6,65	67,93%	640,81
25		27,22			17,01	13,61		14,34	18,05	6,29	69,85%	658,86
Summe	651,66	764,93	952,82	370,19	796,53	329,36	480,54	552,73	612,35	218,54		

Tabelle 7.21: Ultraphil®: Menge der Corneozyten in μg (Mittelwerte, $n \geq 5$)

8 Literaturverzeichnis

- [1] Akkar, A. and Müller, R.H.: *Formulation of intravenous carbamazepine emulsions by soleuls technologie*. In *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, volume 55 (3), pages 305–312, 2003.
- [2] Aktories, Förstermann, Hofmann, and Starke: *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. Urban und Fischer Verlag, München, 2005.
- [3] Anton, N., Gayet, P., Benoit, J. P., and Saulnier, P.: *Nano-emulsions and nanocapsules by the pit method: an investigation on the role of the temperature cycling on the emulsion phase inversion*. In *Int. J. Pharm.*, volume 344 (1-2), pages 44–52, 2007.
- [4] Anton, N., Mojzisova, H., Porcher, E., Benoit, J. P., and Saulnier, P.: *Reverse micell-loaded lipid nano-emulsions: new technology for nano-encapsulation of hydrophilic materials*. In *Int. J. Pharm.*, volume 398, pages 204–209, 2010.
- [5] Benita, S. and Levy, M. Y.: *Submicron emulsions as colloidal drug carriers for intravenous administration: comprehensive physicochemical characterization*. In *J. Pharm. Sci.*, volume 82 (11), pages 1069–1079, 1993.
- [6] C. Klausberger, S. Krist und G. Buchbauer und: *Lexikon der pflanzlichen Fette und Öle*. Springer Verlag, Wien, 2008.
- [7] *Cryo-Transmissions-Elektronenmikroskopie*.
<http://www.pharmtech.uni-freiburg.de/dienstleistungen/cryo-transmissions-elektronenmikroskopie>, 10/2013.
- [8] *Dynamische Lichtstreuung (DLS)*.
<http://www.fritsch-sizing.de/index.php?id=990797&L=1>, 10/2013.

- [9] *endokrin aktive Substanzen*. <http://www.ages.at/ages/gesundheit/kosmetik/aktuelle-themen/endokrin-aktive-substanzen-in-kosmetikprodukten/faq-kosmetikprodukte-und-endokrin-aktive-substanzen/>, 02.2014.
- [10] Fernandes, P., Andre, V., Rieger, J., and Kuehnle, A.: *Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion*. In *Colloids and Surfaces A: Physico-chemical and Engineering aspects*, volume 251, pages 53–58, 2004.
- [11] Fink, E.: *Kosmetik - Wirk- und Hilfsstoffliste*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, Stuttgart, 1999.
- [12] *Fludrocortisonacetat*. <http://www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=Fludrocortisonacetat>, 10/2013.
- [13] Fox, C. B.: *Squalene emulsions for parenteral vaccine and drug delivery*. In *Molecules*, volume 14 (9), pages 3286–3312, 2009.
- [14] Garti, N., Clement, V., Leser, A., Aserin, M., and Fanun, M.: *Sucrose ester microemulsions*. In *Journal of Molecular Liquids*, volume 80, pages 253–296, 1999.
- [15] Glatter, O., Orthaber, D., Stradner, A., Scherf, G., Fanun, M., Garti, N., Clement, V., and Leser, M.: *Sugar-ester nonionic microemulsion: Structural characterisation*. In *J. Colloid Interface Sci.*, volume 241, pages 215–225, 2001.
- [16] GmbH, Bayer Austria: *Inhaltsstoffe - Topika von Intendis*. Broschüre, Bayer Austria GmbH, 2005.
- [17] GmbH, Mitsubishi Chemical Europe: *Ryoto sugar ester technical information*. Broschüre, Mitsubishi Chemical Europe GmbH, 2004.
- [18] Henry, J.V., Fryer, P.J., Frith, W.J., and Norton, I.T.: *Emulsification mechanism and storage instabilities of hydrocarbon-in-water sub-micron emulsions stabilised with tween (20 and 80), brij 96v and sucrose monoesters*. In *J. Colloid Interface Sci.*, volume 338 (1), pages 201–206, 2009.
- [19] Hoeller, S., Klang, V., and Valenta, C.: *Skin-compatible lecithin drug delivery systems for fluconazole: effect of phosphatidylethanolamine and oleic acid on skin permeation*. In *J. Pharm. Pharmacol.*, volume 60 (5), pages 587–591, 2008.

- [20] Hubbard, A.: Claesson, P. M. and Kjellin, U. R. M.: *Sugar-based surfactants*. Marcel Dekker, New York, 2002.
- [21] *Hydrodynamischer Durchmesser*.
<http://www.fritsch-sizing.de/index.php?id=990795&L=1>, 10/2013.
- [22] I. Christin, P. C. Schmidt und: *Wirk- und Hilfsstoffe für Rezeptur, Defektur und Großhersteller*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, Stuttgart, 1999.
- [23] *Absolute Größenwerte und -verteilungen von Nanopartikeln*.
http://www.innovations-report.de/html/berichte/medizintechnik/absolute_groessenwerte_verteilungen_nanopartikeln_186024.html, 10/2013.
- [24] Jacobi, U., Schanzer, S., Weigmann, H. J., Patzelt, A., Vergou, T., Sterry, W., and Lademann, J.: *Pathways of lateral spreading*. In *Skin Pharmacol. Physiol.*, volume 24, pages 231–237, 2011.
- [25] Jacobi, U., Weigmann, H. J., Baumann, M., Reiche, A. I., and Sterry, W.: *Lateral spreading of topically applied uv filter substances investigated by tape stripping*. In *Skin Pharmacol. Physiol.*, volume 17, pages 17–22, 2004.
- [26] Jumaa, M. and Mueller, B. W.: *The effect of oil components and homogenization conditions on the physico-chemical properties and stability of parenteral fat emulsions*. In *Int. J. Pharm.*, volume 163, pages 81–89, 1998.
- [27] Klang, V., Matsko, N., Zimmermann, A. M., Vojnikovic, E., and Valenta, C.: *Enhancement of stability and skin permeation by sucrose stearate and cyclodextrins in progesterone nanoemulsions*. In *Int. J. Pharm.*, volume 393 (1-2), pages 152–160, 2010.
- [28] Klang, V., Matsko, N.B., Valenta, C., and F., Hofer: *Electron microscopy of nanoemulsions: an essential tool for characterisation and stability assessment*. In *Micron*, volume 43, pages 85–103, 2012.
- [29] Klang, V., Schwarz, J. C., B., Lenobel, Nadj, M., Auböck, J., Wolzt, M., and Valenta, C.: *In vitro vs. in vivo tape stripping: Validation of the porcine ear model and penetration assessment of novel sucrose stearate emulsions*. In *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, volume 80, pages 604–614, 2012.

- [30] Klang, V., Schwarz, J. C., Hartl, A., and Valenta, C.: *Facilitating in vitro tape stripping: Application of infrared densitometry for quantification of porcine stratum corneum proteins*. In *Skin Pharmacol. Physiol.*, volume 24, pages 256–268, 2011.
- [31] Klang, V. and Valenta, C.: *Lecithin-based nanoemulsion*. In *Drug Del. Sci. Techn.*, volume 21 (1), pages 55–76, 2011.
- [32] *Kosmetik Transparent*. <http://www.kosmetik-transparent.at>, 10/2013.
- [33] Kuntsche, J., Horst, J. C., and Bunjes, H.: *Cryogenic transmission electron microscopy (cryo-tem) for studying the morphology of colloidal drug delivery systems*. In *Int. J. Pharm.*, volume 10, page 1016, 2011.
- [34] Lademann, J., Jakobi, U., Surber, C., Weigmann, H. J., and Fluhr, J.w.: *The tape stripping procedure - evaluation of some critical parameters*. In *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, volume 72, pages 317–323, 2009.
- [35] Lundberg, B.: *Preperation of drug-carrier emulsions stabilized with phosphatidylcholine-surfactant mixtures*. In *J. Pharm. Sci.*, volume 83 (1), pages 72–75, 1994.
- [36] M. Schunke, A. Faller und: *Körper des Menschen - Einführung in Bau und Funktionen*. Thieme Verlag, 2008.
- [37] Manson, T. G., Wilking, J. N., Meleson, K., Chang, C. B., and Graves, S. M.: *Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties*. In *Journal of Physics: Condensed Matter*, volume 18, pages R635–R666, 2006.
- [38] Mason, T. G., Wilking, J. N., Meleson, K., Chang, C. B., and Graves, S. M.: *Nanoemulsions: formation structure and physical properties*. In *Journal of Physics: Condensed Matter*, volume 18, pages R635–R666, 2006.
- [39] Müller, R. H.: *Zetapotential und Partikelladung in der Laborpraxis*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 1996.
- [40] Mlynarczyk, M., Sznitowska, M., and Watrobska-Swietlikowska, D.: *Antimicrobial activity of parabens in submicron emulsions stabilized with lecithin*. In *Drug Dev. Ind. Pharm.*, volume 34 (4), pages 355–362, 2008.

- [41] O. Sticher, R. Hänsel und: *Pharmakognosie - Phytopharmazie*. Springer Verlag, Heidelberg, 2007.
- [42] Paolino, D., Ventura, C. A., Nistico, S., Puglisi, G., and Fresta, M.: *Lecithin microemulsions for the topical administration of ketoprofen: percutaneous adsorption through human skin and in vivo human skin tolerability*. In *Int. J. Pharm.*, volume 244 (1-2), pages 21–31, 2002.
- [43] *Wikipedia: Phospholipide*. <http://de.wikipedia.org/wiki/Phospholipide>, 10/2013.
- [44] Schulz, M. B. and Daniels, R.: *Hydroxypropylmethylcellulose as emulsifier for sub-micron emulsions: influence of molecular weight and substitution type on the droplet size after highpressure homogenisation*. In *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, volume 49 (3), pages 231–236, 2000.
- [45] Shchipnov, Y. A.: *Self-organising structures of lecithin*. In *Russian Chemical Reviews*, volume 66 (4), pages 301–322, 1997.
- [46] Sonnevile-Aubrun, O., Simonnet, J. T., and L´Alloret, F.: *Nanoemulsions: a new vehicle for skincare products*. In *Advances in Colloid and Interface Science*, volume 108-109, pages 145–149, 2004.
- [47] *Herstellerseite SquameScan*. <http://heilandelectronic.de/squamescan>, 10/2013.
- [48] Sznitowska, M., Janicki, S., Dabrowska, E., and Zurowska-Pryczkowska, K.: *Sub-micron emulsions as drug carriers. studies on destabilization potential of various drugs*. In *Eur. J. Pharm. Sci.*, volume 12 (3), pages 175–179, 2001.
- [49] Tardos, Tharwat, Izquierdo, P., Esquena, J., and Solans, C.: *Formation and stability of nano-emulsions*. In *Advances in Colloid and Interfacial Science*, volume 108-109, pages 303–318, 2004.
- [50] *Tween 80 Herstellerseite*. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/p4780?lang=de®ion=AT>, 10/2013.
- [51] Van Nieuwenhuysen, W. and Szuhaj, B. F.: *Effects of lecithins and proteins on the stability of emulsions*. In *Fett/Lipid*, volume 100 (7), pages 282–291, 1998.

- [52] Van Nieuwenhuysen, W. and Tomas, M. C.: *Update on vegetable lecithin and phospholipid technologies*. In *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, volume 110, pages 472–486, 2008.
- [53] Wabel, C.: *Influence of lecithin on structure and stability of parenteral fat emulsions*. PhD thesis, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, 1998.
- [54] X. Petsitis, H. Fay und: *Wörterbuch der Kosmetik*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, Stuttgart, 2011.
- [55] Youenang Piemi, M. P., Korner, D., Benita, S., and Marty, J. P.: *Positively and negatively charged submicron emulsions for enhanced topical delivery of antifungal drugs*. In *J. Contr. Rel.*, volume 58, pages 177–187, 1999.
- [56] Zurowska-Pryczkowska, K., Sznitowska, M., and Janicki, S.: *Studies on the effect of pilocarpine incorporation into a submicron emulsion on the stability of the drug and the vehicle*. In *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, volume 47 (3), pages 255–260, 1999.

9 Abstract

Kolloidale Systeme und insbesondere Nanoemulsionen finden eine immer breitere Anwendung in der Lebensmittel-, Pharma- und Kosmetikindustrie. Am Weitesten verbreitet dabei sind Öl-in-Wasser-Emulsionen, die den Transport von lipophilen Wirkstoffen in die Haut ermöglichen. Der Vorteil der Nanoemulsion liegt in ihrer großen Oberfläche, durch die eine gute Permeation in die Haut gewährleistet ist.

Das Ziel dieser Arbeit war die Herstellung von Nanoemulsionen mit verschiedener Tensidzusammensetzung (Lezithin, Lezithin/Polysorbat 80, Lezithin/Zuckerester) und verschiedener Ölkomponenten (Sojaöl, Squalen) sowie deren anschließender Prüfung auf Stabilität mittels DLS und pH-Wert. Als Indikatoren für physikalische Stabilität wurden Tröpfchengröße und Tröpfchengrößenverteilung über einen Lagerungszeitraum von sieben Wochen beobachtet. Darüber hinaus wurde noch das Zetapotential bestimmt, da dieses als ein weiterer Indikator für physikalische Stabilität angesehen werden kann.

Um die Morphologie und Struktur solcher kolloidalen Systeme zu visualisieren sind auch mikroskopische Verfahren wie TEM und Cryo-TEM notwendig. Daher wurden ergänzend zu den physikalischen Untersuchungen auch (Cryo-)TEM-Aufnahmen der Nanoemulsionen angefertigt.

Die nach der Herstellung vielversprechendste Nanoemulsion wurde vergleichend mit den halbfesten Zubereitungen Ultrabas[®], Ultrasicc[®] und Ultraphil[®] für Tape-Stripping-Studien ausgewählt, um die Hautpenetration des Modellwirkstoffs Fludrocortisonacetat aus den jeweiligen topischen Systemen zu untersuchen.

Nach Abschluss der Studien konnte gezeigt werden, dass die TEM-Aufnahmen gute Hinweise zu Form und Stabilität einer Nanoemulsion geben können. Cryo-TEM-Aufnahmen zeigten Phänomene wie Aggregation bereits sehr früh im Zuge der Probenvorbereitung. Schließlich konnte gezeigt werden, dass die ausgewählte Nanoemulsion im Vergleich zu den halbfesten Zubereitungen möglicherweise die beste Fähigkeit besitzt, den Wirkstoff in tiefere Schichten des Stratum Corneums zu transportieren. Ultrasicc[®] ist bei gleicher Eindringtiefe bezüglich der Wirkstoffmitnahme Ultraphil[®] überlegen.

Abstract

Colloidal systems, and in particular nanoemulsions, are increasingly adopted by food, pharmaceutical and cosmetics industries. Most widely-used are oil-in-water emulsions, also because of their ability to transport lipophilic agents into the skin. An advantage of nanoemulsions is their large surface area, which ensures a good permeation into the skin.

The goal of this thesis was to produce nanoemulsions using a variety of surfactants (lecithin, lecithin/polysorbate 80, lecithin/sugar ester) and different oil components (soybean oil, squalene), and to assess the stability of these nanoemulsions through DLS and pH value. Over a period of 7 weeks, droplet size and droplet size distribution were observed as indicators for physical stability. In addition, the zeta potential of each emulsion was determined, as it can be used as a further indicator for physical stability.

In order to visualize morphology and structure of such colloidal systems, microscopic techniques like TEM and cryo-TEM have proven to be useful. Hence, in addition to the physical analyses, TEM and cryo-TEM pictures of the nanoemulsions were taken and interpreted.

The one nanoemulsion that deemed most promising after production was selected for tape stripping studies, along with semi-solid formulations Ultrabas[®], Ultrasicc[®] and Ultraphil[®], in order to determine the depth of skin penetration of the model drug fludrocortisone acetate.

After completion of all studies it could be demonstrated that TEM pictures were well suited to deliver important information about form and stability of a nanoemulsion. Cryo-TEM pictures would indicate phenomena such as aggregation already very early in the process of sample preparation. Finally, it could be demonstrated that nanoemulsions are potentially better suited for delivering active agents into lower layers of the stratum corneum than semi-solid formulations. Of these, Ultrasicc[®] was shown to be superior to Ultraphil[®] with respect to drug transportation capabilities, even though penetration depth was comparable.

Teile dieser Arbeit wurden bereits in Form eines Posters publiziert:

C. Nagelreiter, S. Raffeiner, C. Geyerhofer, V. Klang, C. Valenta (2013) Influence of drug content, type of semi-solid vehicle and rheological properties on the skin penetration of the model drug fildrocortisone acetate. *Int. J. Pharm.* 448, 305-312.

C. Nagelreiter, S. Krepcik, V. Klang, C. Valenta (2012) Skin Penetration of basic industrial dermal vehicles and assessment of lateral spreading in vitro. 8th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, 19th-22nd March 2012, Istanbul, Turkey (Poster).

Sophie Raffeiner



Berufserfahrung

Mohrenapotheke

Wipplingerstraße 12
1010 Wien
Österreich

15.03.2010 – 15.03.2012

Pharmaziestudentin in der Apotheke

Geringfügig beschäftigt

Tätigkeiten:

- Warenbewirtschaftung
- Warenübernahme
- Elaboration und Defektur von Waren und Substanzen
- Kleinchargenherstellung in der magistralen Arzneimittelherstellung (Teemischungen, Suppositorien etc.)
- Anfertigung von magistralen Verschreibungen
- Kundenbetreuung an der Tara (gemeinsam mit ApothekerInnen)

Apotheke zur Spinnerin am Kreuz

Wienerbergstraße 6
1100 Wien
Österreich

01.06.2007 – 15.03.2010

Pharmaziestudentin in der Apotheke

Geringfügig beschäftigt

Tätigkeiten:

- Magistrale Rezeptur inkl. Taxierung der Rezepte
- Identitätsprüfung
- Mitarbeit im Verkauf
- Lagerverwaltung (Rezeptur)

Universität Wien

Dr. Karl-Lueger-Ring 1
1010 Wien
Österreich

01.10.2010 – 31.07.2011

Tutorin „Übungen magistrale Arzneimittelherstellung“

Tätigkeiten:

- Betreuung und Unterstützung der Studenten bei der Herstellung von magistralen Zubereitungen
- Kontrolle der abgegebenen Produkte und Protokolle
- Mithilfe in der Organisation der Übungen

Gemeinde Wien,
MA 11a

1030 Wien
Österreich

08/2001 – 09/2004

Hortpädagogin

Kindertagesheim Bunsengasse, 1210 Wien (Vollzeit)

Tätigkeiten:

- Betreuung der 6-10 jährigen Kinder vor und nach der Schule
- Leitung einer Integrationshortgruppe im Team mit einer Sonderhortezieherin
- Mitarbeit in einer Kindergartengruppe vormittags

Mitarbeit am Projekt „Ferien im Hort“:

- Mitkonzeption und Gestaltung eines internetbasierten Spiels (Webseite)
- Betreuung der eigenen Hortkinder am abschließenden 5-tägigen Zeltlager

Gemeinde Wien,
MA 11a

1030 Wien
Österreich

09/2000 – 08/2001

Kindergartenpädagogin

Kindertagesheim Scottgasse, 1210 Wien (Vollzeit)

Betreuung der 0-3 jährigen Kinder im Team



10/2003-3/2005

Kurse

Diplom-Lehrgang Systemische Pädagogik:

Leitung: Toni Wimmer, Mag. Christa Renoldner

Umfang: 300 Einheiten zzgl. Projektarbeit

Aus dem Inhalt:

- Die Dynamik in Organisationen erkennen
- Die Gruppe - eine Erfindung ihrer Mitglieder
- Grundsätze und Werkzeuge der systemisch-pädagogischen Arbeit
- Professionalität, die wirkt
- Leiten und Lehren - eine Ko-Kreation
- Systemisch beraten im pädagogischen Alltag



10/2004 – 2013

Ausbildung

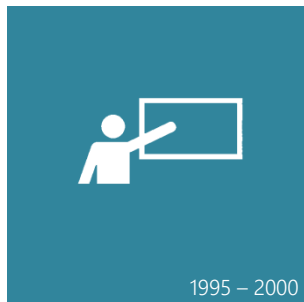
Universität Wien, Wien, Österreich

Studium der Pharmazie an der Universität Wien

Voraussichtlicher Studienabschluss: 04/2014

Wissenschaftliche Veröffentlichungen:

- "Influence of drug content, type of semi-solid vehicle and rheological properties on the skin penetration of the model drug fludrocortisone acetate", University of Vienna, Department of Pharmaceutical Technology and Biopharmaceutics, Althanstraße 14, 1090 Vienna, Austria. *International Journal of Pharmaceutics*, 2013.
- "Beschleunigte Stabilitätsuntersuchung von Nanoemulsionen und Hautpenetration aus halbfesten Systemen", Diplomarbeit, 2014



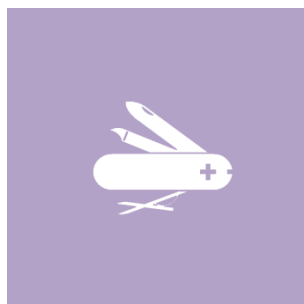
Bildungsanstalt für Kindergartenpädagogik

Patrizigasse, 1210 Wien

Ausbildung zur Kindergartenpädagogin und Hortpädagogin

Teilnahme an Früherziehungsausbildung

Abschluss mit Matura



Praktische Kenntnisse

EDV: Microsoft Windows, Microsoft Office (Word, Outlook, Excel), LaTeX,
Apothekensoftware des österreichischen Apothekerverlags,
Apothekensoftware von Kwizda

Führerschein B



Sprachen

Deutsch (Muttersprache)

Englisch (Maturaniveau)

