

Entwicklung und Charakterisierung von Mikroemulsionen zur dermalen Applikation von Arzneistoffen

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt der

Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät

(mathematisch-naturwissenschaftlicher Bereich)

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Diplompharmazeutin Sylvia Annett Krause

geb. am 12. April 1973 in Halle (Saale)

Gutachter:

1. Prof. Dr. R. Neubert
2. Prof. Dr. W. Wohlrab
3. Prof. Dr. C. Leopold

Halle (Saale), den 02.10.2001

urn:nbn:de:gbv:3-000002801

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000002801>]

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Zielstellung	1
2	Die menschliche Haut als Transportorgan für Arzneistoffe	3
2.1	Aufbau und Funktion der Haut	3
2.2	Das Stratum corneum	4
2.2.1	Aufbau und Struktur	4
2.2.2	Transport von Arzneistoffen	4
2.3	Grundlagen der dermalen Arzneistoffaufnahme	5
2.4	Möglichkeiten zur Beeinflussung der Arzneistoffpenetration	8
3	Mikroemulsionen – Theorie und pharmazeutische Anwendung	13
3.1	Definition und Eigenschaften	13
3.2	Bildung von Mikroemulsionen	14
3.3	Strukturuntersuchungen	15
3.4	Pharmazeutische Einsatzgebiete	16
3.4.1	Orale Anwendung	17
3.4.2	Parenterale Anwendung	17
3.4.3	Ophthalmologische Anwendung	18
3.4.4	Dermale Anwendung	18
4	Entwicklung von Mikroemulsionen und deren Charakterisierung	22
4.1	Entwicklung von Mikroemulsionen	22
4.1.1	Komponenten der Systeme	22
4.1.2	Entwicklung von Mikroemulsionen	25
4.2	Charakterisierung der Mikroemulsionen	26
4.2.1	Phasendiagramm	26
4.2.2	Polarisationsmikroskopie	27
4.2.3	Gefrierbruch-Elektronenmikroskopie	27
4.2.4	Rheologie	30
4.2.5	Dynamische Lichtstreuung	32
4.2.6	Stabilitätstestung	38
4.2.7	Zusammenfassung der Charakterisierungsergebnisse	38
5	Hydrocortisonhaltige Systeme	39
5.1	Einarbeitung von Hydrocortison in Mikroemulsionen	39
5.1.1	Hydrocortison als Modellarzneistoff	39
5.1.2	Verteilungskoeffizient	40
5.1.3	Sättigungslöslichkeiten	40

5.2	Untersuchungen zur Liberation von Hydrocortison	41
5.2.1	Das Mehrschichtmembranmodell	42
5.2.2	Freisetzung aus Mikroemulsionen	43
5.2.3	Freisetzung aus kommerziellen Produkten	44
5.3	Untersuchungen zur Penetration von Hydrocortison in exzidierte Humanhaut	46
5.3.1	Die Diffusionszelle nach FRANZ	46
5.3.2	Ergebnisse der Penetrationsuntersuchungen	47
5.3.3	Diskussion der Penetrationsergebnisse	51
5.4	Zusammenfassung der Ergebnisse	54
6	Lokalanästhetikahaltige Systeme	55
6.1	Theoretische Grundlagen der perkutanen Lokalanästhesie	55
6.1.1	Kutanes Schmerzempfinden	55
6.1.2	Lokalanästhetika	56
6.1.2.1	Struktur-Wirkungs-Beziehungen	56
6.1.2.2	Physikochemische Eigenschaften	57
6.1.2.3	Pharmakologische Wirkungen	58
6.1.2.4	Ausgewählte Lokalanästhetika	59
6.1.3	Anwendung von Lokalanästhetika auf der Haut	62
6.2	Entwicklung von lokalanästhetikahaltigen Mikroemulsionen	66
6.2.1	Untersuchungen mit Lidocainhydrochlorid	66
6.2.2	Untersuchungen mit Lidocain in Basenform	69
6.2.3	Vergleich verschiedener Lokalanästhetika	75
6.2.4	Optimierung der Mikroemulsion mit Lidocain/Prilocain	81
6.2.5	Zusammenfassung der Ergebnisse	87
7	Zusammenfassung	88
8	Experimenteller Teil	91
8.1	Charakterisierung der Systeme	91
8.1.1	Erstellung des Phasendiagramms	91
8.1.2	Polarisationsmikroskopie	91
8.1.3	Gefrierbruch-Elektronenmikroskopie	91
8.1.4	Viskositätsmessungen	91
8.1.5	Dynamische Lichtstreuung	92
8.2	Bestimmung physikochemischer Parameter der Arzneistoffe	92
8.2.1	Verteilungskoeffizienten	92
8.2.2	Sättigungslöslichkeiten	92
8.3	Herstellung der Mikroemulsionen	93
8.4	Stabilitätsuntersuchungen	93
8.5	<i>In-vitro</i> -Liberationsuntersuchungen am Mehrschichtmembranmodell	93

8.6	Penetrationsuntersuchungen an exzidiierter Humanhaut	95
8.7	Herstellung der Lokalanästhetikabasen aus Hydrochloriden	97
8.8	Klinische Testung am Probanden	97
8.9	Analytische Methoden	99
8.9.1	Bestimmung von Hydrocortison	99
8.9.2	Bestimmung von Lidocain und Prilocain	99
8.9.3	Bestimmung von Bupivacain	99
8.10	Statistische Auswertung	100
8.11	Liste der verwendeten Substanzen	100

Literaturverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

AOT	Diocetylnatriumsulfosuccinat (Aerosol [®] OT)
ATR	Abgeschwächte Totalreflexion
CMC	Kritische Mizellbildungskonzentration
c_s	Sättigungslöslichkeit
DAC	Deutscher Arzneimittelcodex
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DMSO	Dimethylsulfoxid
DSC	Differential Scanning Calorimetry
EMLA	Eutektische Mischung von Lokalanästhetika
EtOH	Ethanol
FTIR	Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie
HET-CAM-Test	hen's egg test on the chorionallantoic membrane
HC	Hydrocortison
HLB	Hydrophilic-Lipophilic-Balance
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
IPM	Isopropylmyristat
IPP	Isopropylpalmitat
LA	Lokalanästhetika
ME	Mikroemulsion
MSMM	Mehrschichtmembranmodell
n	Anzahl der Parallelversuche
NMR	Kernresonanzspektroskopie
POE	Polyethylenoxid
POP	Polypropylenoxid
PG	Propylenglycol
SC	Stratum corneum
s.c.	subkutan
SD	Standardabweichung
SDS	Natriumdodecylsulfat
V _k	Verteilungskoeffizient
\bar{x}	Mittelwert

1 Einleitung und Zielstellung

Die Haut stellt nicht nur das Grenzflächenorgan des menschlichen Körpers dar, sondern besitzt auch große Bedeutung als Zielort der Arzneimitteltherapie. Dies ist sowohl im Hinblick auf eine lokale als auch auf eine angestrebte systemische Wirkung der Fall. Vor allem für die Behandlung verschiedener Dermatosen bietet die direkte Applikation von Wirkstoffen auf der Haut eindeutige Vorteile gegenüber der systemischen Gabe, da so bei geringer Belastung des Gesamtorganismus hohe Arzneistoffkonzentrationen im erkrankten Areal erzielt werden können. Problematisch dabei ist, dass die äußere Hautschicht nicht nur einen effektiven Schutz des Körpers vor seiner Umwelt gewährleistet, sondern gleichzeitig eine Barriere für das Eindringen vieler Arzneistoffe darstellt. Diese weisen meistens keine optimalen physikochemischen Eigenschaften für eine gute Hautpenetration auf. Um trotzdem ein Eindringen in dermale Strukturen zu ermöglichen, ist die Auswahl geeigneter Vehikelsysteme von großer Bedeutung für die Wirksamkeit. Neben der Anwendung herkömmlicher Grundlagen wie Salben, Cremes, Gele oder Emulsionen gewinnen seit ein paar Jahren moderne, kolloidale Vehikelsysteme wie Liposomen, Nanoparts oder Mikroemulsionen zunehmend an Bedeutung. Sie sind vor allem für die Inkorporation von dermatologischen Problemarzneistoffen von großem Interesse, die bei Verwendung klassischer Salbengrundlagen die Hautbarriere schlecht überwinden können. Dazu gehören z. B. Stoffe mit einer geringen Löslichkeit im Vehikel, da eine Aufnahme in die Haut nur im gelösten Zustand erfolgen kann. Auch Arzneistoffe mit ausgeprägter Hydrophilie bedürfen galenischer Hilfsmittel, um die Hautbarriere zu überwinden, da ihre Affinität zu den lipophilen Strukturen der äußeren Hautschicht sehr gering ist. Möglich erscheint eine Anwendung kolloidaler Systeme auch für Stoffe, die zu Instabilitäten neigen, z. B. hydrolyseempfindlich sind.

Mikroemulsionen weisen im Vergleich zu den anderen Vehikeln einige Vorteile auf. Sie besitzen ein ausgezeichnetes Solubilisierungsvermögen für schlecht lösliche Stoffe und verfügen über sehr gute Penetrationseigenschaften, da sie in der Lage sind, die Barrierefunktion der Haut reversibel herabzusetzen. Hervorzuheben ist außerdem die thermodynamische Stabilität dieser Systeme sowie ihre einfache Herstellung. Aus dermatologischer Sicht ist der oft recht hohe Tensidgehalt der Mikroemulsionen als nachteilig zu bewerten, da er die Gefahr des Auftretens von Hautirritationen in sich birgt. Deshalb sollte bei der Entwicklung neuer Mikroemulsionssysteme zur dermalen Anwendung einer möglichen Minimierung des Tensidgehalts sowie der Auswahl gut hautverträglicher Komponenten besondere Bedeutung beigemessen werden. Bisher erfolgte die Anwendung von Mikroemulsionen an der Haut meistens mit dem Ziel einer transdermalen Applikation von Arzneistoffen. Dabei eignen sich diese Systeme auch hervorragend als Vehikel für eine gezielte topische Therapie.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, Mikroemulsionen für die dermale Applikation verschiedener Arzneistoffe zu entwickeln, die den erwähnten Anforderungen entsprechen. Die physikochemische Charakterisierung dieser Systeme erfolgt durch Kombination der mit Polarisationsmikroskopie, Gefrierbruch-Elektronenmikroskopie, Dynamischer Lichtstreuung und rheologischen Messverfahren erhaltenen Ergebnisse. Als Modellarzneistoff soll Hydrocortison dienen, ein Problemarzneistoff hinsichtlich der Löslichkeit. Als Aufgabe stellt sich somit die Inkorporation dieses Wirkstoffs in anwendungsrelevanten Konzentrationen in ein Mikroemulsionssystem. Dessen Eignung für die dermale Anwendung soll in Liberationsuntersuchungen *in vitro* sowie in Penetrationsstudien an exzidierte Humanhaut untersucht und mit kommerziell erhältlichen hydrocortisonhaltigen Präparaten verglichen werden.

Einen weiteren Schwerpunkt der Arbeit stellt die Entwicklung lokalanästhetikahaltiger Mikroemulsionen dar. Diese sollen in kurzer Zeit das Anfluten hoher Wirkstoffkonzentrationen in der Haut gewährleisten, um möglichst schnell eine lokale Anästhesie des behandelten Areals hervorzurufen. Hintergrund dieser Thematik ist, dass mit der stetig wachsenden Anzahl minimalinvasiver chirurgischer Eingriffe auch der Bedarf an effizienten lokalanästhetischen Präparaten ansteigt. Als Alternative zu schmerzhaften Injektionen steht bisher in Deutschland für diese Indikation nur EMLA[®] Creme zur Verfügung, die mindestens 60 min vor dem Eingriff unter Okklusionsbedingungen appliziert werden muss. Bei der Suche nach neuen, effizienteren Vehikeln scheinen Mikroemulsionen aufgrund ihrer bereits beschriebenen Eigenschaften besonders geeignet zu sein. Um das zu untersuchen, sollen verschiedene Systeme entwickelt, verglichen und optimiert werden. Die abschließende Bewertung stützt sich vor allem auf die Ergebnisse der *In-vitro*-Liberationsversuche, der Penetrationsuntersuchungen an exzidierte Humanhaut sowie der klinischen Testung der lokalanästhetischen Wirksamkeit an Probanden.

2 Die menschliche Haut als Transportorgan für Arzneistoffe

2.1 Aufbau und Funktion der Haut

Die Haut bildet als äußeres und zugleich größtes menschliches Organ die Abgrenzung des Organismus gegenüber seiner Umwelt und übt damit eine wichtige Kontakt- und Schutzfunktion aus.

Sie läßt sich von distal nach proximal betrachtet in Epidermis, Dermis und Subcutis unterteilen. Eingebettet in diese Strukturen befinden sich verschiedene Hautanhangsgebilde wie Haare, Talg- und Schweißdrüsen (Abb. 1). Die Hautoberfläche wird von einer dünnen Emulsionsschicht aus Sebum- und Schweißbestandteilen, epidermalen Lipiden und losen Hornhautschuppen bedeckt, die einen pH-Wert zwischen 5 und 6 aufweist und einen antimikrobiellen Schutz für die Haut darstellt [225] [235].

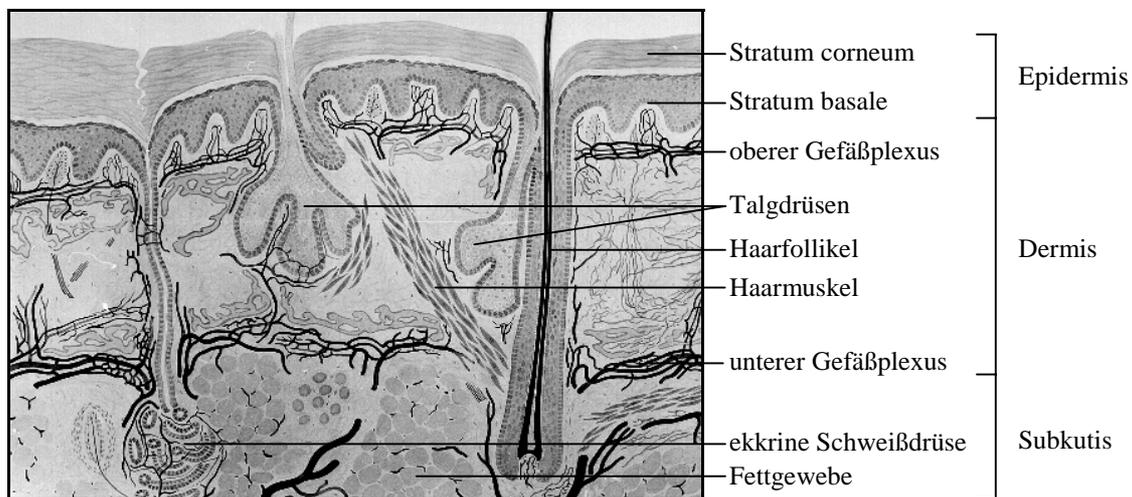


Abb. 1: Aufbau der Haut (modifiziert nach GRÜNEBERG, zitiert nach [137])

Die Epidermis ist ein mehrschichtiges, verhornendes Plattenepithel, das zu 90 % aus Keratinozyten besteht. Sie entstehen durch Zellproliferation im Stratum basale und gelangen unter zunehmender Differenzierung und Keratinisierung in den mittleren Epidermisschichten bis zum Stratum corneum, wo die inzwischen kernlosen Korneozyten als Hornhautschuppen abgestoßen werden. Weitere in der Epidermis vorkommende Zellarten sind die pigmentproduzierenden Melanozyten und die immunologisch aktiven Langerhans-Zellen. Die sich nach innen anschließende Dermis besteht aus Kollagen- und elastischen Fasern, die in eine Matrix aus Proteoglycanen eingebettet sind und für eine hohe Reißfestigkeit und Elastizität der Haut sorgen. In dieses Gerüst ist ein weitverzweigtes Netz an Gefäßen und Kapillaren eingelagert, das nicht nur die gesamte Haut mit Blut versorgt, sondern neben den Schweißdrüsen auch an der Thermoregulation des Körpers beteiligt ist. Das enge Geflecht an Nervenfasern in der Dermis sorgt mit seinen Schmerz-, Berührungs- und Thermorezeptoren an den vielen freien

Nervenendigungen für die Aufnahme von Reizen aus der Umwelt. Das in das Bindegewebe der Subkutis eingelagerte Fettgewebe dient vor allem der Wärmeisolierung und als Energiespeicher [68] [225].

2.2 Das Stratum corneum

2.2.1 Aufbau und Struktur

Eine besondere Schutzfunktion kommt dem Stratum corneum zu, das als äußere Epidermisschicht in ständigem Kontakt zur Umwelt steht. Sein Aufbau kann nach ELIAS [52] als ein Zweikompartimentmodell beschrieben werden. Dabei befinden sich ca. 5-20 Lagen ausdifferenzierter lipidarmer Epithelzellen ziegelsteinartig eingebettet in einer Matrix aus Hautlipiden. Diese setzen sich aus Ceramiden, Cholesterol und freien Fettsäuren in etwa gleichen Anteilen zusammen [105]. Gemeinsam mit Wasser bilden sie im Stratum corneum interzellulär Bilayer aus und stellen damit die eigentliche Barriere für das Eindringen von Xenobiotika dar [54]. Die Packungsdichte der beiden Komponenten weist innerhalb des Stratum corneum einen Gradienten auf. Der an der Grenze zur lebenden Epidermis sehr kompakte Zellverband wird nach außen hin immer lockerer.

Das Stratum corneum ist kein starres Gebilde sondern befindet sich in steter Regeneration und Umorientierung. Die Differenzierung der Keratinozyten zu Korneozyten ist mit zahlreichen Biosyntheseprozessen und morphologischen Veränderungen verbunden, die in den lebenden Epidermisschichten ablaufen. Dazu gehören die Synthese der Keratinfilamente, die unter dem Einfluß von Filaggrin vernetzen und damit das Gerüst der Korneozyten, das α -Keratin, bilden. Eine zusätzliche Stabilisierung erhalten die Zellen durch das Protein Involucrin, dass sich im Stratum granulosum an der Innenseite der Zellmembran anlagert und durch Quervernetzung eine sehr rigide Hülle um die Keratinmatrix bildet (cornified envelope). Die Synthese der Hautlipide erfolgt in Lamellargranula, die aus dem Golgiapparat hervorgehen (odland bodies). Ihre Anzahl nimmt auf dem Weg von den unteren Epidermisschichten bis zum Stratum granulosum beträchtlich zu. An der Grenze zum Stratum corneum fusionieren sie mit der Zellmembran und sezernieren exozytotisch ihren Inhalt in den Interzellularraum. Die Zusammensetzung des Lipidgemisches verändert sich im Laufe dieses Prozesses. Während in den unteren Epidermisschichten polare Lipide (z. B. Phospholipide) dominieren, findet man diese im Stratum corneum fast nicht mehr [53] [106] [196].

2.2.2 Transport von Arzneistoffen

Prinzipiell existieren zwei Möglichkeiten der Aufnahme von Stoffen über die Haut. So kann entweder eine Diffusion durch die Hornschicht oder durch die Hautanhangsgebilde (transfollikulär bzw. transglandulär) erfolgen [115]. Meist spielt der Transport durch Poren aufgrund des insgesamt geringen Anteils an Haarfollikeln, Talg- und Schweißdrüsen an der Hautoberfläche (0,1-1 %) keine große Rolle. Regionale Unterschiede hinsichtlich der

Porendichte der Haut können diesen Transport jedoch beeinflussen. Diskutiert wird seine Bedeutung für Elektrolyte, für sehr große Moleküle und eventuell in der Initialphase der Applikation einer Arzneiform [118].

Der Transport durch das Stratum corneum kann resultierend aus dessen Struktur entweder interzellulär oder transzellulär erfolgen (Abb. 2).

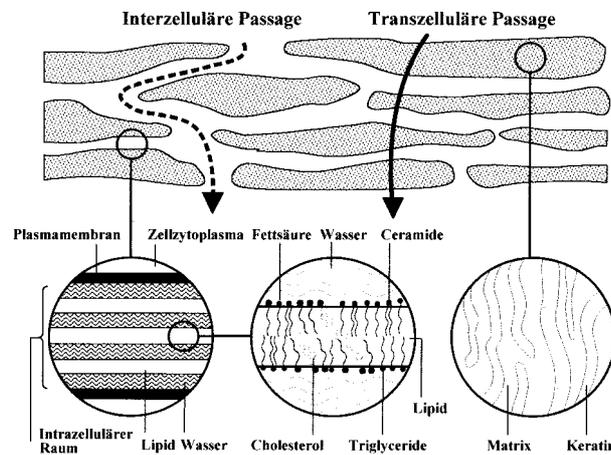


Abb. 2: Transportwege durch das Stratum corneum nach BARRY [12]

Für lipophile Stoffe gilt der interzelluläre Weg als wahrscheinlich [52]. Dabei erfolgt eine Diffusion innerhalb der Bilayer entlang der Alkylketten. Der Transport hydrophiler Stoffe wurde zunächst als überwiegend transzellulär eingestuft [178]. Da eine abwechselnde Diffusion von Molekülen durch dichtgepackte, keratinreiche Zellen und Lipidschichten dem Transport aber einen erheblichen Widerstand entgegensetzt, ist dieser Weg jedoch weniger wahrscheinlich. Außerdem bietet der geringe Wassergehalt der nicht hydratisierten Korneozyten schlechte Voraussetzungen als Diffusionsmedium für hydrophile Stoffe. In der neueren Literatur wird eine mögliche Diffusion entlang der hydratisierten Kopfgruppen innerhalb der Bilayer diskutiert [12]. Von BODDE konnte dieser Weg für den Transport der Modellsubstanz Quecksilberchlorid durch das Stratum corneum nachgewiesen werden [22]. So kann aus heutiger Sicht die interzelluläre Route als die dominierende beim Arzneistofftransport angesehen werden.

2.3 Grundlagen der dermalen Arzneistoffaufnahme

Die Aufnahme von Wirkstoffen über die Haut wird von einem komplexen Wechselspiel zwischen Arzneistoff, Vehikel und Haut geprägt. Der gesamte Prozess lässt sich in verschiedene Phasen unterteilen. Die Liberation (Freisetzung) des Arzneistoffs aus der Grundlage umfasst die Diffusion des gelösten Wirkstoffs bis zur Grenze Vehikel/Stratum corneum. Während der anschließenden Penetration (Eindringen in die Haut) wird diese Barriere überwunden, bevor mit der Permeation die Verteilung in untere Epidermisschichten und in die Dermis erfolgt. Dort kann ein Teil des Wirkstoffes durch Resorption in die systemische Zirkulation gelangen.

Meist verläuft die Liberation relativ rasch und die Penetration stellt den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt dar. Jedoch kann auch eine gesteuerte Freisetzung als galenisches Mittel zur Beeinflussung der Wirkstoffaufnahme dienen. Einige sehr lipophile Arzneistoffe bilden im Stratum corneum ein Depot, aus dem die Verteilung in das hydrophilere Milieu der Epidermis nur langsam erfolgt [116] [237].

Diffusion und Konvektion

Unter der Annahme von *Sink*-Bedingungen im Organismus läuft der Wirkstofftransport als passiver Prozess ab und unterliegt damit dem 1. FICKSchen Diffusionsgesetz. Da die Aufnahme in die Haut außerdem von der Verteilung zwischen Vehikel und Stratum corneum beeinflusst wird, resultiert für die Penetration folgende Gleichung [151]:

$$\frac{dQ}{dt} = -\frac{D \cdot V_k \cdot F}{d} c_v \quad \text{Gl. (1)}$$

$\frac{dQ}{dt}$ aus dem Vehikel diffundierende Arzneistoffmenge

D Diffusionskoeffizient im Stratum corneum

V_k Verteilungskoeffizient Stratum corneum/Vehikel

F Fläche

d Dicke des Stratum corneum

c_v Konzentration an freiem, gelöstem Arzneistoff.

Darin wird die Abhängigkeit der Stoffaufnahme von der Arzneistoffkonzentration bzw. Löslichkeit im Vehikel deutlich. Der Diffusionskoeffizient wird nach der Beziehung von STOKES-EINSTEIN von der Molekülgröße, der Viskosität des Diffusionsmediums und der Temperatur beeinflusst [115]. Der Flux (J) als die pro Zeit- und Flächeneinheit transportierte Arzneistoffmenge ist folgendermaßen definiert:

$$J = \frac{dQ}{dt \cdot F} = -\frac{D \cdot V_k}{d} c_v \quad \text{Gl. (2)}$$

Nach Definition des Permeabilitätskoeffizienten (P):

$$P = \frac{D \cdot V_k}{d} \quad \text{Gl. (3)}$$

resultiert für den Flux folgende Beziehung:

$$J = P \cdot c_v \quad \text{Gl. (4)}$$

Ergänzend zur Diffusion besitzt auch der konvektive Transport eine gewisse Bedeutung bei der dermalen Wirkstoffaufnahme. Dabei werden Moleküle aufgrund hydrodynamischer Druckdifferenzen zusammen mit einem strömenden Träger durch Poren transportiert. In der Haut können einige Salbenbestandteile (z. B. Isopropylmyristat, Propylenglycol) eine derartige Schlepperfunktion (solvent drag) übernehmen [83].

Verteilung

Während der Aufnahme durch die Haut ist ein Arzneistoff ständigen Verteilungsvorgängen zwischen Phasen unterschiedlicher Lipophilie unterworfen. Die Geschwindigkeit, mit der diese Prozesse ablaufen, hängt entscheidend von den physikochemischen Eigenschaften des jeweiligen Stoffes ab. Der Verteilungskoeffizient ist ein Maß zur Einschätzung der relativen Affinität eines Stoffes zu einem von zwei nicht miteinander mischbaren Medien und wird durch folgende Gleichung ausgedrückt:

$$Vk = \frac{c_1}{c_2} \quad \text{Gl. (5)}$$

Vk	Verteilungskoeffizient
c_1	Konzentration in Phase 1
c_2	Konzentration in Phase 2

Zur Bestimmung der Lipophilie eines Stoffes wird als Phase 1 ein organisches Lösungsmittel (meistens Oktanol) und als Phase 2 ein hydrophiles Medium (Wasser) eingesetzt. Da das Stratum corneum sowohl lipophile als auch hydrophile Bereiche aufweist, wirkt sich ein Verteilungskoeffizient nahe 1 günstig auf die Penetration aus.

Verteilungskoeffizienten können sich auch auf den Übergang von Stoffen in einen Akzeptor (Phase 1) aus einem Donator (Phase 2) beziehen, z. B. der in Gl. (1) einfließende Verteilungskoeffizient zwischen Stratum corneum und Vehikel, der experimentell allerdings schwer zu bestimmen ist.

Thermodynamische Aktivität

Die Tendenz eines Wirkstoffes, sein Vehikel zu verlassen, kann mit der thermodynamischen Aktivität ausgedrückt werden. Sie stellt das Verhältnis der Konzentration des Arzneistoffs (c_v) zu dessen Sättigungslöslichkeit (c_s) in der Grundlage dar (c_v/c_s). Mit steigender Substanzkonzentration nimmt die thermodynamische Aktivität zu, bis sie beim Erreichen der Sättigung des Vehikels maximal wird. Daraus resultiert für Lösungssalben mit steigender Applikationsdauer eine abnehmende thermodynamische Aktivität, während diese bei Suspensionssalben weitgehend konstant bleibt [11] [116].

2.4 Möglichkeiten zur Beeinflussung der Arzneistoffpenetration

Die Eigenschaft des Stratum corneum als ausgeprägte Barriere für den Arzneistofftransport resultiert vor allem aus seinem charakteristischen Aufbau und dem geringen Wassergehalt von 5-15 %. Folglich lassen sich bei diesen beiden Faktoren Ansatzpunkte für eine mögliche Penetrationsverbesserung finden.

Okklusion behindert die normale Wasserabgabe durch die Haut, was im Stratum corneum einen Anstieg des Wassergehalts bis zu 50 % zur Folge hat [83]. In der Literatur werden vor allem zwei Mechanismen zur Hydratisierung der Hornhaut diskutiert. Den Hauptangriffspunkt der Wassermoleküle stellt die Proteinmatrix in den Korneozyten dar. Durch Konkurrenz um Wasserstoffbrücken-Bindungsstellen sollen die Wechselwirkungen zwischen den Keratinfilamenten herabgesetzt werden und damit der Widerstand gegenüber penetrierenden Arzneistoffen abnehmen [236]. Außerdem konnte BARRY mit DSC-Messungen einen Anstieg der Fluidität der interzellulären Bilayer an voll hydratisiertem Stratum corneum nachweisen [13]. Nach Untersuchungen von BOUWSTRA et al. mit Röntgenkleinwinkelstreuung verändert sich dabei der Abstand zwischen den Lipidlamellen nicht. Bei einem Wassergehalt über 40 % deutet sich jedoch eine Abnahme des Ordnungszustandes der Bilayer an [24]. Wahrscheinlich greifen die Wassermoleküle zunächst an der Proteinmatrix an und lagern sich erst in höheren Konzentrationen in die Bilayer ein. Dort erfolgt eine Interkalation zwischen die hydrophilen Kopfgruppen, was ein laterales Anschwellen und abnehmende Dichte der Lipidalkylketten zur Folge hat. Der unveränderte lamellare Abstand läßt sich damit erklären, dass die Zunahme des Volumens der Kopfgruppenregion durch leichte Neigung der Alkylketten kompensiert wird [25]. Die Tatsache, dass auch die Penetration von Stoffen mit geringer Wasserlöslichkeit durch Okklusion verbessert werden kann, lässt sich also mit dem größeren lateralen Abstand zwischen den Alkylketten und dem abnehmenden Ordnungszustand der Bilayer begründen. Hydrophile Stoffe können schneller durch die erweiterte Region um die hydratisierten Kopfgruppen diffundieren.

Auch andere Substanzen sind in der Lage, reversibel die charakteristische Struktur des Stratum corneum zu verändern und können als **Penetrationenhancer** fungieren. Dadurch werden die Barriereigenschaften der Haut reduziert und die Permeabilität für Arzneistoffe steigt. Meist geschieht dies durch Interkalationen zwischen die Lipidketten der Bilayer oder Wechselwirkungen mit den polaren Kopfgruppen bzw. Denaturierung der Keratinfibrillen. Auch Eigenpenetration des Enhancers kann die Arzneistoffaufnahme durch verändertes Verteilungsverhalten beeinflussen [14]. Im Folgenden sollen von den penetrationsbeeinflussenden Substanzen diejenigen näher betrachtet werden, die im Rahmen dieser Arbeit eine Rolle spielen.

Von KNUTSON et al. konnte eine Korrelation zwischen temperaturbedingt zunehmender Fluidität der Stratum-corneum-Lipide und einem Anstieg des transdermalen Fluxes

ausgewählter lipophiler Stoffe nachgewiesen werden [100]. **Fettsäuren** können durch Einlagerung zwischen die Lipidketten penetrationssteigernde Effekte aufweisen. Nach GOLDEN et al. sind dabei einfach ungesättigte, cis-konfigurierte Fettsäuren am besten wirksam, da sie den Ordnungszustand der Lipide stärker verändern als gesättigte oder mehrfach ungesättigte bzw. trans-Fettsäuren [75]. Vielfältige Untersuchungen existieren zum Enhancermechanismus der Ölsäure [63] [122] [217]. Deren Wirksamkeit lässt sich nach COOPER durch die Kombination mit Propylenglycol noch steigern [39]. Die starken Veränderungen in der Anordnung der Lipidbilayer resultieren aus der gewinkelten Struktur der Ölsäure. Die Vermutung, dass auch verzweigt-kettige Fettsäuren positive Effekte auf die Penetration anderer Stoffe haben, konnte von SCHNEIDER et al. [183] bestätigt werden, wobei die Wirksamkeit etwas geringer als die der Ölsäure ist. Auch andere methylverzweigte Substanzen tragen zur Erhöhung der Fluidisierung der Lipidbereiche im Stratum corneum bei. Für den häufig in pharmazeutischen Zubereitungen als lipophile Komponente verwendeten Fettsäureester **Isopropylmyristat** wurden penetrationssteigernde Effekte für verschiedene Arzneistoffe beschrieben [9] [111]. Anhand von DSC-Untersuchungen konnten von LEOPOLD und LIPPOLD Wechselwirkungen mit Lipiden im Stratum corneum nachgewiesen werden [112].

Das in der Dermatologie häufig als Cosolvens eingesetzte **Propylenglycol** (PG) wird hinsichtlich seiner Eigenschaften als Penetrationenhancer in der Literatur unterschiedlich bewertet. Einerseits nimmt bei steigender Löslichkeit des Arzneistoffes im Vehikel dessen thermodynamische Aktivität ab, andererseits kann Propylenglycol durch Eigenpenetration in die Haut sowohl Wirkstoffe als auch andere Enhancer im Sinne eines *Solvent-drag*-Effektes mittransportieren [17]. Das erklärt auch die synergistische Wirkung in Kombination mit Ölsäure und Azon[®]. Ein auf diesem Prinzip beruhender Enhancereffekt konnte z. B. für den Transport von Hydrocortison nachgewiesen werden, das eine sehr viel bessere Löslichkeit in Propylenglycol als in Wasser aufweist. Weniger ausgeprägt ist der Einfluss auf die Penetration sehr hydrophiler Stoffe wie Mannitol oder von Substanzen mit einem hohem Verteilungskoeffizienten Stratum corneum/Vehikel wie Progesteron [15]. Obwohl in PG-behandelter Haut mit FTIR/ATR-Untersuchungen eine Änderung der intrazellulären Proteinkonformation festgestellt wurde [199], konnte die Aufnahme von Propylenglycol in die Korneozyten elektronenmikroskopisch nicht nachgewiesen werden [82]. Wahrscheinlich erfolgt eine Dehydratisierung der Zellen durch Propylenglycol. BOUWSTRA et. al postulierten anhand von Untersuchungen mit DSC und Röntgenkleinwinkelstreuung Wechselwirkungen des Enhancers mit den polaren Kopfgruppen der Bilayer [25].

Die penetrationsfördernde Wirkung von **Dimethylsulfoxid** (DMSO) ist schon seit langem bekannt. Bereits 1965 konnte STOUGHTON einen drastischen Anstieg der Konzentration an Hydrocortison und Fluocinolonacetonid in der Haut nach Zusatz von DMSO zu einer Cremegrundlage bzw. einer alkoholischen Lösung nachweisen [194]. Auch heute wird

DMSO in dermalen Rezepturen eingesetzt. Das liegt einerseits an den sehr guten Solvatationseigenschaften und der gesteigerten Aufnahme von Wirkstoffen in die Haut, andererseits interagiert DMSO konzentrationsabhängig mit verschiedenen Hautstrukturen [92]. Bei einem DMSO-Gehalt ab 20 % können Veränderungen in der Proteinanordnung im Stratum corneum auftreten. DMSO ist in der Lage, intrazellulär vorhandene Wassermoleküle aus ihren Bindungen zu verdrängen und so durch stärkere Solvatisierung die Struktur der Kerneozyten aufzulockern. In Konzentrationen ab 60 % erfolgt ein Angriff an den polaren Kopfgruppen der Bilayer. Auch dabei werden kleinere Wassermoleküle durch größere DMSO-Moleküle ersetzt und so die Packungsdichte der Bilayer verringert [13]. Wird jedoch statt Wasser Ethanol im Gemisch mit DMSO als Penetrationsgrundlage verwendet, kann bereits bei geringeren DMSO-Konzentrationen ein deutlicher Enhancereffekt erzielt werden [66].

Der Vorteil von DMSO liegt vor allem in der schnellen Wirksamkeit. Innerhalb von 30 min nach Applikation von Glucocorticoiden kann sich in Kombination mit DMSO ein Arzneistoffreservoir im Stratum corneum ausbilden [194]. Dazu ist jedoch die Anwendung hoher Enhancerkonzentrationen nötig. Als problematisch erweist sich dabei die zunehmende Neigung zur Erythembildung der Haut bei steigendem DMSO-Gehalt im Vehikel.

Unter den einwertigen Alkoholen ist **Ethanol** der am häufigsten an der Haut angewendete sowie hinsichtlich seiner Penetrationseigenschaften und Toxizität am besten untersuchte Vertreter. Aufgrund seiner Eigenschaften als Cosolvens und Enhancer ist er neben den klassischen dermalen Grundlagen auch in Transdermalen Therapeutischen Systemen zu finden [172]. Ethanol ist in der Lage, durch Eindringen in die Lipidbereiche des Stratum corneum die Löslichkeit für Arzneistoffe dort zu erhöhen. Dabei nimmt die Fähigkeit zur Extraktion von Lipiden und Proteinen mit steigender Konzentration sowie innerhalb der Reihe der Alkohole mit wachsender Kettenlänge zu. Für lipophile Stoffe resultiert aus der stärkeren Fluidisierung der Lipidbereiche eine Penetrationszunahme, die proportional zum Anstieg des Alkoholfluxes und unabhängig vom Molekulargewicht des Stoffes ist. So konnte z. B. eine lineare Korrelation zwischen der Permeation von Nitroglycerin aus Ethanol-Wasser-Mischungen und dem transdermalen Ethanolflux nachgewiesen werden [18]. Ähnliche Ergebnisse existieren für Estradiol, Fentanyl und Progesteron. Ein Anstieg des Ethanolgehalts über 70 % führt jedoch zu einer Dehydratisierung des Stratum corneum verbunden mit einer Fluxabnahme. Das bedeutet, dass eine gewisse Wassermenge im Vehikel für die penetrationssteigernde Wirkung von Ethanol nötig ist [19].

Die Aufnahme hydrophiler, besonders ionischer Stoffe, die bevorzugt durch Poren transportiert werden, steigt mit alkoholbedingt zunehmender Porosität des Stratum corneum ebenfalls, jedoch nicht im linearen Verhältnis zum Alkoholflux. Der wachsenden Permeabilität der Hornschicht steht die schlechtere Löslichkeit sehr hydrophiler Stoffe bei steigendem Alkoholgehalt entgegen [19].

Zu den Stoffen, die in fast allen dermalen Zubereitungen enthalten sind und den Substanztransport durch die Haut beeinflussen können, gehören auch die **Tenside**. Deren Wirksamkeit als Penetrationsenhancer lässt sich in der Reihenfolge kationisch – anionisch – nichtionisch als abnehmend einstufen, wobei nichtionische Tenside schneller penetrieren als ionische [4]. Umgekehrt verhält es sich mit der Hautverträglichkeit, so dass bevorzugt nichtionische und anionische Tenside dermal angewendet werden. Letztere erhöhen die Permeabilität der Haut durch Veränderungen der Keratinstruktur der Korneozyten, die α -Konformation wird in die β -Form umgewandelt [92] [170]. Mit DSC-Untersuchungen an SDS-behandelter Haut konnten auch Veränderungen der Lipidstruktur, vermutlich durch Lipidextraktion verursacht, nachgewiesen werden. Die Effekte an Lipiden und an Proteinen des Stratum corneum erwiesen sich als reversibel [13].

Die Wirkung nichtionischer Tenside hängt im Wesentlichen von zwei Faktoren ab: den Wechselwirkungen zwischen Tensid und Haut sowie zwischen Tensid und Arzneistoff. In der Haut greifen nichtionische Tenside hauptsächlich an Lipiden an. Im Vehikel führt ihr Zusatz häufig zu mizellarem Einschluss des Arzneistoffs. Damit lässt sich einerseits dessen Konzentration im Vehikel erhöhen, andererseits können Arzneistoffmoleküle besser in freigelöster Form als nach Assoziation mit Tensidmizellen in die Haut penetrieren. Die Frage, welcher der genannten Effekte überwiegt, entscheidet maßgeblich über Art und Umfang der Penetrationsbeeinflussung [3].

Deswegen weisen verschiedene Studien zum Einfluss pharmazeutisch relevanter Tenside auf die Arzneistoffpenetration auch unterschiedliche Ergebnisse auf. DALVI und ZATZ zeigten anhand des Transports von Benzocain, dass nichtionische Tenside nicht in der Lage sind, die Penetration von Stoffen aus wässrigen Lösungen zu erhöhen [46]. Das bestätigen auch Untersuchungen von CAPPEL und KREUTER. Sie stellten fest, dass Polysorbate in üblichen angewendeten Konzentrationen die Aufnahme der hydrophilen Modellsubstanz Methanol aus wässrigen Lösungen nur gering oder gar nicht erhöhen. Für das lipophile Oktanol wurde sogar eine Penetrationshemmung beobachtet [32]. Ähnliche Resultate erbrachte die Testung polymerer Tenside (Poloxamere und Poloxamine) unabhängig von deren Molekulargewicht und HLB-Wert [33].

Untersuchungen mit PG-Wasser-Mischungen als Grundlage zeigen jedoch andere Resultate. Der Zusatz verschiedener Polysorbate führt zur einer deutlichen Steigerung des Transports von Lidocain [174] und Hydrocortison [175] in die Haut verglichen mit der tensidfreien Grundmischung. Eine Ursache dafür ist die Erhöhung der CMC der Polysorbate durch Propylenglycol. Das Vorliegen von mehr freien Tensidmonomeren führt zu stärkerer Penetration der Polysorbate und damit zum verbesserten Arzneistofftransport. Außerdem wird der mizellar eingeschlossene Anteil des Arzneistoffs langsamer in die Haut transportiert als die frei gelösten Moleküle [174].

Eine besondere Stellung unter den Penetrationsenhancern nimmt **Harnstoff** ein, der als körpereigener Stoff eine gute dermale Verträglichkeit besitzt. Er kommt beim gesunden

Menschen zu etwa 1 % in der Haut vor und hat dort die Funktion eines natürlichen Feuchthaltefaktors (natural moisturizing factor) [224]. Da viele Hauterkrankungen mit dem Symptom trockene Haut einhergehen, nimmt Harnstoff heute einen festen Platz unter den dermalen Therapeutika ein, zumal er zusätzlich antipruriginöse und proliferationshemmende Effekte aufweist. Durch seine hygroskopischen Eigenschaften besitzt er eine große Wasserbindungskapazität und trägt so wesentlich zur Hydratisierung des Keratinmaterials im Stratum corneum bei. Harnstoff wirkt auch keratolytisch, besonders in höheren Konzentrationen. Wahrscheinlich spielen diese beiden Faktoren für den Enhancereffekt eine Rolle. Da beide Prozesse langsam ablaufen, ist eine penetrationssteigernde Wirkung erst bei Applikation über einen längeren Zeitraum zu erwarten [237]. Besonders gut untersucht ist die Wirkung des Harnstoffs auf den Transport verschiedener Glucocorticoide. Dabei konnte für Hydrocortison und Triamcinolonacetonid [222] sowie für Prednisolon [223] eine Penetrationssteigerung nachgewiesen werden.

3 Mikroemulsionen – Theorie und pharmazeutische Anwendung

3.1 Definition und Eigenschaften

1943 beschrieben HOAR & SCHULMAN die Bildung stabiler, optisch klarer, flüssiger Systeme nach Zugabe eines Alkohols zu einer definierten Mischung aus Wasser, Öl und einer Seife [80]. Die Bezeichnung Mikroemulsion zur Beschreibung derartiger Systeme prägten SCHULMAN et al. erst 1959 [184]. Seitdem existiert das Bestreben, diesen Begriff in einer exakten Definition von strukturell verwandten Systemen wie mizellaren Lösungen, Makroemulsionen oder flüssigkristallinen Phasen abzugrenzen [47].

Mikroemulsionen bestehen aus zwei, in den verwendeten Konzentrationen nicht miteinander mischbaren Flüssigkeiten, meistens Wasser und Öl, mindestens einem Tensid und häufig einem Cotensid. Zu ihren charakteristischen Eigenschaften zählen Isotropie, Transparenz oder schwache Opaleszenz, thermodynamische Stabilität und niedrige Viskosität.

Von den klassischen Emulsionen unterscheiden sie sich durch ihre sehr geringe Tröpfchengröße zwischen 10 und 200 nm und gehören somit zu den kolloidalen Systemen. In Abhängigkeit vom Verhältnis der Wasser- zur Ölphase kann eine Einteilung in O/W- oder W/O-Mikroemulsionen erfolgen. Die strukturelle Ähnlichkeit mit Mizellen bzw. Inversmizellen wird in Abb. 3 deutlich.

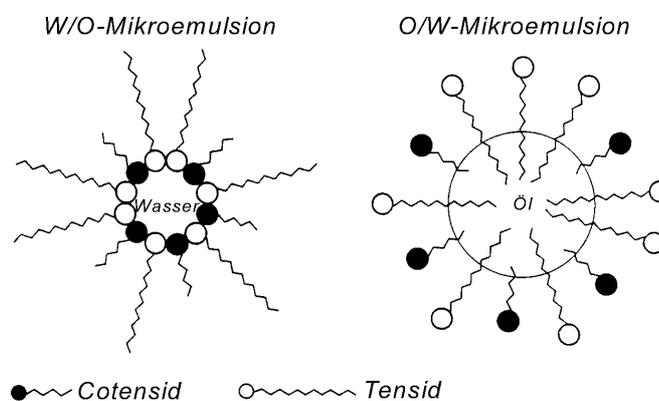


Abb. 3: Struktur von Mikroemulsionen nach [152]

Das Vorliegen von Öl und Wasser in etwa gleichen Anteilen führt dazu, dass sich wasser- und ölige Domänen stärker durchdringen. Statt Tröpfchen bilden sich bikontinuierliche Strukturen aus, die erstmals von SCRIVEN [186] beschrieben und von JAHN und STREY [87] elektronenmikroskopisch nachgewiesen wurden.

Bei all diesen Betrachtungen muss berücksichtigt werden, dass Mikroemulsionsstrukturen einer starken Dynamik unterliegen. Die stete Fluktuation einzelner Moleküle führt zu ständigen Auf- und Abbauprozessen der Aggregate, so dass die detektierten Strukturen stets nur einen momentanen Zustand widerspiegeln [234].

3.2 Bildung von Mikroemulsionen

Die Mikroemulsionsbildung als spontan ablaufender Prozess ist das Ergebnis eines komplexen Wechselspiels aller beteiligten Komponenten. Eine minimale Grenzflächenspannung ist die Voraussetzung für das Entstehen thermodynamisch stabiler Systeme. Das kann nur erzielt werden, wenn die positive Grenzflächenenergie zwischen zwei Phasen durch die negative freie Energie während des Mischens der Bestandteile kompensiert wird. Ein zugesetzter Emulgator bewirkt durch Anlagerung an der Grenzfläche Öl-Wasser eine Erniedrigung der Grenzflächenspannung. Nur wenige Tenside sind jedoch allein in der Lage, diese bis auf das zur Mikroemulsionsbildung nötige Minimum abzusenken. Das ist häufig erst durch Zusatz eines Cotensids möglich. Dazu werden meist ein kurz- oder mittelkettiger Alkohol bzw. ein zweites, nichtionisches Tensid, das sich vom ersten im HLB-Wert (Hydrophilic Lipophilic Balance) unterscheidet, eingesetzt. Das Cotensid penetriert zwischen die Tensidmoleküle, die die Tröpfchen der inneren Phase in monomolekularer Schicht umgeben. Dadurch verändert sich die geometrische Packung der Schicht und somit auch ihre Krümmung. Die Grenzfläche vergrößert sich und der Dispersionsgrad der Tröpfchen steigt. Zusätzlich muss jedoch berücksichtigt werden, dass auch Moleküle der Ölphase in die Tensidschicht penetrieren können und somit die Ausbildung der Grenzfläche beeinflussen [6] [51] [107] [109].

Unterschiedliche Meinungen existieren in der Literatur zu der Frage, ob die Bildung von Mikroemulsionen von der Art der Herstellung abhängt. Während die meisten Autoren von einem rein thermodynamisch getriebenen Prozess ausgehen, glauben ROSANO et al., dass die Bildung von Mikroemulsionen von der Reihenfolge der Komponentenzugabe beeinflusst wird [166]. ROSANO versuchte, die zur Mikroemulsionsbildung minimal erforderliche Tensidmenge zu berechnen. Nachteilig ist, dass in diese Rechnung nur geometrische Parameter der Moleküle einfließen und der Anteil des in wässriger oder ölicher Phase gelösten Tensids vernachlässigt wird [165].

Die Auswahl des Tensids entscheidet auch maßgeblich darüber, ob sich Mikroemulsionen vom Typ O/W oder W/O bilden. Eine Aussage darüber lässt sich z. B. aus dem HLB-Wert ableiten. Liegt dieser im Bereich zwischen vier und sieben, bilden sich W/O-Mikroemulsionen, bei größeren Werten zwischen neun und zwanzig entstehen O/W-Systeme. Da der HLB-Wert von der Temperatur abhängig ist, beeinflusst deren Veränderung auch das mizellare Verhalten des Tensids. Bei Temperaturerhöhung können die Wechselwirkungen eines hydrophilen Tensids soweit abnehmen, dass eine Phasenumkehr von O/W- zum W/O-System eintritt. Dieser Punkt wird als Phaseninversionstemperatur bezeichnet [154] [193]. Charakteristisch für Mikroemulsionen ist die Reversibilität derartigen Temperaturverhaltens [51].

Auch der von ISRAELACHVILI et al. [86] definierte Packungsparameter kann als Kriterium für die Emulgatorauswahl herangezogen werden. Tenside mit Werten kleiner als 1 ergeben mizellare Systeme, Werte über 1 führen zu inversen Strukturen. Allerdings fließen in diese

Betrachtung nur geometrische Parameter eines separaten Tensidmoleküls ein. Wechselwirkungen mit Cotensiden oder Molekülen der Ölphase, die in die Tensidschicht penetrieren können, und der Einfluss der Hydratation der Tensidkopfgruppen bleiben unberücksichtigt [6].

Untersuchungen zum Einfluss der Ölphase auf die Ausbildung von Mikroemulsionsgebieten wurden von MALCOLMSON und LAWRENCE unter Verwendung des nichtionischen Tensids Brij 96 durchgeführt. Sie kamen zu dem Schluss, dass sich Ölmoleküle stärker zwischen die Tenside der Phasengrenzschicht einlagern, je kleiner ihr molares Volumen ist. Damit steigt auch die Tendenz zur Bildung asymmetrischer Aggregate. Große Ölmoleküle neigen eher zur Bildung eines separaten Kerns und sphärischer Tröpfchen. Sie erwiesen sich als besser geeignet zur Solubilisierung des Modellarzneistoffs Testosteronpropionat. Dafür lassen sich von kleineren Ölmolekülen größere Mengen in eine Mikroemulsion einarbeiten. Unterschiede in der Polarität des Öls beeinflussten die Ausbildung des Phasengebietes dagegen kaum [120]. Diese Ergebnisse zeigen eine gute Übereinstimmung mit Untersuchungen von ABOOFAZELI et al. zum Einfluss der Ölphase auf die Bildung lecithinhaltiger Mikroemulsionen [1].

3.3 Strukturuntersuchungen

Phasendiagramme werden häufig zur Darstellung von Gleichgewichtszuständen zwischen verschiedenen Komponenten ternärer oder quarternärer Mischungen herangezogen. Die Charakterisierung des Phasenverhaltens von Mehrkomponentensystemen ist jedoch eine sehr komplexe und aufwendige Problematik. Meist entstehen Mikroemulsionen nur in einem eng begrenzten Gebiet innerhalb des Phasendiagramms, so dass oftmals nur dieser Bereich gekennzeichnet wird.

Zur Untersuchung der Struktur von Mikroemulsionen lassen sich in Abhängigkeit der jeweiligen Fragestellung verschiedene Methoden heranziehen. Eine umfassende physikochemische Charakterisierung erfordert jedoch die Kombination mehrerer Verfahren der Strukturuntersuchung.

Die Polarisationsmikroskopie liefert eine Aussage über die Isotropie der Systeme und kann damit Mikroemulsionen von flüssigkristallinen Phasen abgrenzen. Die im linear polarisierten Licht ebenfalls isotrop erscheinenden kubischen Phasen lassen sich durch Viskositätsuntersuchungen von Mikroemulsionen unterscheiden [94].

Leitfähigkeitsbestimmungen ermöglichen eine Differenzierung zwischen O/W- und W/O-Mikroemulsionen.

Messungen von Selbstdiffusionskoeffizienten mit NMR liefern Informationen zu Struktur, Fluidität und Emulsionstyp der Mikroemulsion. Die Methode gibt auch Hinweise auf Wechselwirkungen der Tenside und Cotenside innerhalb der Phasengrenzschicht [113].

Sehr verbreitet ist die Anwendung der Dynamischen Laser-Lichtstreuung zur Bestimmung der Teilchengröße der dispergierten Phase [108]. Daraus lassen sich z. B. Aussagen zur

Stabilität der Systeme ableiten. Neutronenstreuexperimente ermöglichen detailliertere Untersuchungen zur Gestalt der Tröpfchen.

Mit transmissionselektronenmikroskopischen Verfahren ist es möglich, die Struktur von Mikroemulsionen abzubilden. Vorher werden diese in der Regel einer Gefrierbruchätzung unterzogen [87].

Eine vor allem aus pharmazeutischer Sicht relevante Fragestellung ist die Verteilung von Arzneistoffen zwischen den beiden Phasen der Mikroemulsion. Eine direkte Messung war lange Zeit nicht möglich, so dass eine Abschätzung der Verhältnisse meist durch Bestimmung der Lipophilie des Stoffes mit Hilfe des Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten erfolgte. TROTTA et al. bestimmten den Verteilungskoeffizienten zwischen dem verwendeten Öl und Wasser in Gegenwart des Cotensids [208]. Der erhaltene Wert ist jedoch nur als Annäherung an reale Verhältnisse zu sehen, da Wechselwirkungen zwischen Arzneistoff und Tensid unberücksichtigt bleiben. Von MRESTANI et al. wurde kürzlich eine neuentwickelte Methode vorgestellt. Aus den mit Elektrokinetischer Chromatographie (Kapillarelektrophorese) gemessenen Mobilitäten des Arzneistoffs in innerer und äußerer Phase sowie der gesamten Mikroemulsion lässt sich ein Kapazitätsfaktor berechnen, der eine gute Korrelation zu Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten zeigt [131]. Damit werden Aussagen zum Aufenthalt des Arzneistoffs innerhalb der Mikroemulsionsphasen möglich. Die Grenzen der Methode liegen in der Viskosität der Systeme und der Ladung des Arzneistoffs. Bisher wurden nur niedrigviskose O/W-Mikroemulsionen mit Alkoholen als Cotensid untersucht, die geladene Arzneistoffe enthielten.

3.4 Pharmazeutische Einsatzgebiete

In der Pharmazie ist das Interesse an Mikroemulsionen in den letzten Jahren stark angestiegen. Das zeigt die zunehmende Anzahl von Publikationen zu Untersuchungen, die deren Wirksamkeit als potente *Drug-delivery*-Systeme belegen [110] [200]. Leider spiegelt sich diese Tatsache bisher nur in geringem Maße in der Zulassung neuer kommerzieller Präparate wieder. Probleme stellen dabei sicher die Toxizität einzelner Komponenten und der oft hohe Tensidgehalt der Systeme dar, die einer breiten Anwendung entgegenstehen. KAHLWEIT et al. beschäftigten sich bereits mit der Entwicklung spezieller „nichttoxischer“ Mikroemulsionen für den pharmazeutischen Einsatz. Sie schlugen die Anwendung natürlicher Substanzen wie Sojalecithin als Emulgator und ungesättigter Fettsäureester anstelle von Mineralölen als Ölkomponente sowie Alkandiolen statt Alkoholen als Cotensid vor [91]. Bei Untersuchungen an humaner Haut zeigten Mikroemulsionen mit Sojalecithin sehr gute Ergebnisse hinsichtlich dermalen Toxizität [50]. Dafür ergibt sich jedoch ein anderes Problem. Die starke Heterogenität verschiedener Chargen bei der Verwendung natürlicher Substanzen ist für die Herstellung von Mikroemulsionen äußerst nachteilig, da bereits kleine Veränderungen in der Zusammensetzung zu Verschiebungen der Mikroemulsionsgebiete im Phasendiagramm führen können. Damit eröffnen sich

jedoch auch neue Forschungsansätze für den pharmazeutischen Einsatz von Mikroemulsionen.

3.4.1 Orale Anwendung

Sehr gute Ergebnisse konnten bisher beim Einsatz von Mikroemulsionen zur Verbesserung der oralen Bioverfügbarkeit von Peptiden erzielt werden. Das erste kommerziell erhältliche Präparat auf Basis einer Mikroemulsion, Sandimmun[®] Optoral, enthält das sehr lipophile, kaum wasserlösliche Immunsuppressivum Ciclosporin A, das einen Problemarzneistoff hinsichtlich der Bioverfügbarkeit darstellt. Inkorporiert in ein wasserfreies Präkonzentrat aus Ethanol, lipophilen und hydrophilen Lösungsmitteln sowie einem Tensid wird das cyclische Peptid als Weichgelatine kapsel oder Lösung verabreicht [173]. Nach oraler Applikation bildet sich im Magen durch Wasseraufnahme eine Mikroemulsion. Aus dieser wird Ciclosporin A signifikant besser resorbiert als aus einer O/W-Emulsion, die sich nach oraler Gabe des Präparates Sandimmun[®] bildet. Das konnte von KOVARIK et al. an 24 Probanden nachgewiesen werden. Auch fielen bei der Mikroemulsion die inter- und intraindividuellen Schwankungen der Plasmaspiegel geringer aus [102].

Problematisch hinsichtlich der oralen Bioverfügbarkeit sind auch Peptide, die aufgrund ausgeprägter Hydrophilie schlecht resorbiert werden. CONSTANTINIDES et al. entwickelten W/O-Mikroemulsionen auf der Basis mittelkettiger Glyceride [41] und Fettsäuren [42]. Mit deren Hilfe konnte die Bioverfügbarkeit von zwei hydrophilen Peptiden, Calcein und einem Fibrinogenrezeptorantagonisten, im Vergleich zu wässriger Lösung nach intraduodenaler Gabe an der Ratte drastisch gesteigert werden [40].

Andere Autoren berichten über die intestinale Resorption von Insulin und Vasopressin aus Mikroemulsionen [160] bzw. arbeiten an der Entwicklung derartiger Systeme zur oralen Insulinapplikation [79].

Da die Substanzklasse der Peptide von zunehmendem therapeutischen Interesse ist, wird in Zukunft die galenische Entwicklung effizienter Vehikel wie Mikroemulsionen weiter an Bedeutung gewinnen.

3.4.2 Parenterale Anwendung

Zu den Vorteilen, die Mikroemulsionen gegenüber herkömmlichen Vehikeln bieten, gehört auch die Fähigkeit, schlecht lösliche Arzneistoffe zu solubilisieren. Für Hydrocortison konnte beispielsweise eine höhere Löslichkeit in Mikroemulsionen als in reinen alkoholischen Lösungen nachgewiesen werden [89]. Damit eröffnen sich neue Möglichkeiten für die intravenöse Applikation von Arzneistoffen mit geringer Wasserlöslichkeit. PARK und KIM entwickelten eine O/W-Mikroemulsion, die bei gleicher Pharmakokinetik und guter Stabilität eine achtfach höhere Löslichkeit für Flurbiprofen im Vergleich zu Pufferlösung besitzt. Damit lässt sich das Volumen für eine i.v. Bolusinjektion deutlich reduzieren [148]. Auch bikontinuierliche Mikroemulsionen scheinen sich für die intravenöse Gabe schlecht löslicher Arzneistoffe zu eignen [44]. Von

TROTTA et al. konnte ein Reservoireffekt für Diazepam in einer O/W-Mikroemulsion nach intravenöser Applikation nachgewiesen werden [206]. GASCO et al. entwickelten W/O-Mikroemulsionen für die i.m. Applikation von Peptiden. Diese Systeme schützen bioabbaubare Substanzen vor der Inaktivierung und setzen sie über einen längeren Zeitraum von bis zu drei Wochen retardiert frei [74].

Einen sehr interessanten Ansatzpunkt für mögliche Anwendungen von Mikroemulsionen stellt die Solubilisierung extrem lipophiler Fluorocarbone dar, die zum Sauerstofftransport befähigt sind und somit als Blutersatzflüssigkeiten dienen könnten [20].

Günstig für parenterale Anwendungen sind auch die geringe Teilchengröße von Mikroemulsionen, um der Gefahr von Fettembolien vorzubeugen, sowie deren Sterilisierbarkeit durch Mikrofiltration. Größte Sorgfalt ist auf die Auswahl gut verträglicher Tenside wie Phospholipide zu legen.

3.4.3 Ophthalmologische Anwendung

Mikroemulsionen als Vehikelsysteme sind auch für ophthalmologische Anwendungen von Interesse. Für verschiedene Arzneistoffe konnte im Vergleich zu wässrigen Augentropfen ein deutlicher Retardeffekt nachgewiesen werden. So wurde Pilocarpin aus Mikroemulsionen auf Saccharoseesterbasis verzögert freigesetzt [95]. Die Messung der miotischen Aktivität am Kaninchenaugen zeigte eine eindeutig höhere Bioverfügbarkeit des Arzneistoffs aus verschiedenen Mikroemulsionen verglichen mit wässrigen Lösungen, die auf dem Retardeffekt basiert [78]. Folglich könnte die Anzahl der Anwendungen pro Tag reduziert werden. Als geeignet erwiesen sich Mikroemulsionen auch für die Inkorporation schlecht wasserlöslicher Arzneistoffe wie Indomethacin, Diclofenac-Natrium und Chloramphenicol. Deren Freisetzung war vergleichbar mit Augenölen doppelter Konzentration, wobei Mikroemulsionen den Vorteil aufweisen, keine Sichtbehinderungen am Auge zu verursachen [189]. Für die genannten Systeme wurden Lecithin, Poloxamere bzw. Saccharoseester als besonders verträgliche Tenside ausgewählt, so dass für keine der ophthalmologisch angewendeten Mikroemulsionen eine Irritation im HET-CAM- bzw. Draize-Test nachgewiesen wurde. Eine interessante Möglichkeit, den Reservoireffekt von Mikroemulsionen am Auge noch zu verbessern, wird von GASCO et al. beschrieben. Durch Ionenpaarbildung mit Oktansäure kann die Lipophilie von Timolol erhöht werden [70]. Daraus resultiert in O/W-Mikroemulsionen eine stärkere Affinität des Arzneistoffs zur inneren Ölphase, eine Steigerung des Reservoireffekts und eine retardierte Freisetzung [73].

3.4.4 Dermale Anwendung

Ein sehr interessantes Einsatzgebiet für Mikroemulsionen ist die Anwendung an der Haut. Sie kann einerseits mit dem Ziel erfolgen, die kutane Penetration von Problemwirkstoffen in der dermalen Therapie zu verbessern. Andererseits eignen sich Mikroemulsionen hervorragend, um Stoffe auf transdermale Wege der systemischen Zirkulation

zuzuführen. Dabei kann nicht nur der First-pass-Effekt umgangen werden. Auch für Substanzen, die im Gastrointestinaltrakt hydrolytisch zerstört werden, bieten sie eine echte Alternative zu i.v. oder s.c. Injektionen [58].

Zahlreiche Studien mit verschiedenen Arzneistoffen belegen penetrationssteigernde Effekte nach Applikation einer Mikroemulsion im Vergleich zu herkömmlichen Vehikeln. ZIEGENMEYER und FÜHRER konnten bereits 1980 für 1%ige tetracyclinhydrochloridhaltige Zubereitungen eine deutliche Überlegenheit der Mikroemulsion gegenüber einer Creme und einem Gel hinsichtlich der Hautpenetration nachweisen [238]. GALLARATE et al. belegten eine zehnfach höhere Freisetzung von Azelainsäure aus O/W-Mikroemulsionen im Vergleich zu einer Creme [71]. LINN et al. verglichen eine W/O-Mikroemulsion mit einer Creme und einer Lotion. Dabei penetrierten die beiden Modellsubstanzen am schnellsten aus der Mikroemulsion in die Haut und ließen sich besonders in tieferen Schichten in größeren Mengen nachweisen, obwohl die Ausgangskonzentration der Substanzen in der Mikroemulsion am geringsten war [114].

Zu möglichen Mechanismen der gesteigerten Arzneistoffaufnahme existieren verschiedene, z. T. widersprüchliche Aussagen in der Literatur. Nach FRIBERG wirken Mikroemulsionen aufgrund ihres mizellartigen Aufbaus zerstörend auf die flüssigkristalline Struktur der Lipidbilayer des Stratum corneum und setzen so die Barrierefunktion der Haut herab. Dabei nimmt neben der Arzneistoffpenetration auch das Irritationspotential zu. Die Applikation von Mikroemulsionen auf der Haut kann jedoch durch Verdunstung flüchtiger Komponenten, besonders Wasser, zu strukturellen Veränderungen der Systeme bis hin zur Bildung flüssigkristalliner Phasen führen. Deren Anwendung ist besser hautverträglich, jedoch nicht so effektiv hinsichtlich der Enhancerwirkung [67]. Wie Ergebnisse von TROTTA et al. zeigen, nimmt auch die *In-vitro*-Permeation bei Umwandlung von Mikroemulsionen in flüssigkristalline Phasen ab [205].

THACHARODI und PANDURANGA RAO gehen von einer Penetration der Mikroemulsion in die Haut als intaktes System aus. Folglich müsste eine abnehmende Tröpfchengröße der inneren Phase zu einem Anstieg der perkutanen Arzneistoffaufnahme führen, da kleine Partikel besser in die Haut transportiert werden [197].

Wahrscheinlicher ist jedoch die Vorstellung, dass der Penetration ein komplexes Wechselspiel verschiedener Verteilungsvorgänge zugrunde liegt, wie von DELGADO-CHARRO et al. beschrieben. Arzneistoffe diffundieren zwischen innerer und äußerer Phase der Mikroemulsion, Vehikelbestandteile penetrieren in die Haut und interagieren mit Stratum-corneum-Komponenten, ebenso ist die Extraktion von Hautlipiden durch die Mikroemulsion möglich. Die Veränderungen am Stratum corneum führen zur Reduktion seiner Barriereeigenschaften und die Penetration von Stoffen wird erleichtert [48].

Studien zum Mechanismus der Enhancerwirkung von Mikroemulsionen wurden von OSBORNE et al. durchgeführt. Sie untersuchten den transdermalen Flux von Wasser nach Applikation einer W/O-Mikroemulsion, die AOT als Tensid und Oktanol als Öl enthielt. Der Wert wurde verglichen mit Fluxmessungen an Haut, die mit Oktanol, AOT oder einer

Mischung aus beiden vorbehandelt war. Dabei zeigte sich ein der Mikroemulsion vergleichbarer Enhancereffekt bei der Kombination aus Oktanol und AOT, nicht jedoch nach Behandlung mit den Einzelsubstanzen. Daraus resultiert die Schlussfolgerung, dass der Grund für die penetrationssteigernden Effekte in der synergistischen Wirkung einzelner Komponenten, nicht jedoch in der Mikroemulsionsstruktur liegt [145].

Ein Vergleich zwischen phospholipidhaltigen Mikroemulsionen und Liposomen hinsichtlich der *In-vitro*-Freisetzung und Hautpermeation wurde anhand der Modellsubstanz Diclofenac-Diethylamin von KRIWET und MÜLLER-GOYMANN vorgenommen. Bei beiden Untersuchungen erwies sich die Mikroemulsion als überlegen gegenüber allen anderen getesteten Systemen. Interessanterweise permeierte Diclofenac-Diethylamin in einem Zeitraum von 24 h weder aus uni- noch aus multilamellaren Vesikeln durch das Stratum corneum. Mit fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen konnte die Vermutung bestätigt werden, dass intakte Liposomen nicht bis in die lebende Epidermis penetrieren können. Dagegen konnte der aus Mikroemulsionen freigesetzte Fluoreszenzmarker auch in tieferen Hautschichten nachgewiesen werden [103].

Neben den Effekten von Mikroemulsionen an der Haut spielen auch Wechselwirkungen zwischen Vehikel und Arzneistoff für die Wirksamkeit der Arzneiform eine Rolle. Bei den von KEMKEN et al. entwickelten Mikroemulsionen hängt die Penetrationswirkung der Arzneistoffe maßgeblich von deren Löslichkeiten im Vehikel ab [97]. In wasserfreien Grundlagen aus Tensid, Cotensid und Öl wurden verschiedene β -Blocker bis zu ihrer Sättigung gelöst. Die Wirkstofffreisetzung aus diesen Systemen erfolgt nach dem von MÜLLER beschriebenen Prinzip [132]: Nach Applikation auf der Haut unter Okklusion bilden sich durch Wasseraufnahme *in situ* Mikroemulsionen, die eine geringere Löslichkeit für die untersuchten β -Blocker als die wasserfreien Grundlagen besitzen. Die eintretende Übersättigung der Systeme führt zu einer erhöhten thermodynamischen Aktivität, die Triebkraft für einen gesteigerten Arzneistoffflux durch die Haut ist. Die am Kaninchen nachgewiesenen pharmakodynamischen Effekte bestätigen die transdermale Wirksamkeit der Systeme [96].

Eine andere interessante Einflussgröße mit Auswirkungen auf die Penetration ist die Viskosität des Vehikels. Da Mikroemulsionen niedrigviskoser als Cremes und Salben sind, besitzen die inkorporierten Arzneistoffe höhere Diffusionskoeffizienten, was sich günstig auf die Penetration auswirkt. Da zu große Fluidität jedoch die Applikation erschwert, sind einige Versuche zur Entwicklung höherviskoser Systeme mit den Eigenschaften von Mikroemulsionen unternommen worden. GASCO et al. gelang die Modifizierung einer azelainhaltigen Mikroemulsion durch Zusatz von Carbopol 934 bei gleichzeitiger Erhöhung der Freisetzungsrates [72]. OSMAN-GARDABBOU et al. konnten für α -tocopherolhaltige O/W- und W/O-Mikroemulsionen größere Konzentrationen der Modellsubstanz in der Haut nach Applikation höherviskoser Mikroemulsionen nachweisen [146].

TROTTA et al. gingen der Frage nach, inwieweit die Penetration von Arzneistoffen von deren Verteilung zwischen innerer und äußerer Phase in der Mikroemulsion abhängt. Sie verglichen *In-vitro*-Permeationskoeffizienten von fünf Modellsubstanzen unterschiedlicher Lipophilie in O/W-Mikroemulsionen und stellten fest, dass die Permeation mit zunehmender Lipophilie, d. h. steigender Konzentration in der inneren Phase, abnimmt [207]. Zum gleichen Ergebnis kamen PATTARINO et al. bei Untersuchungen an Maushaut mit acht verschiedenen β -Blockern [149]. Analog dazu wirkt sich die Lipophilieerhöhung von Methotrexat durch Ionenpaarbildung in einer W/O-Mikroemulsion steigend auf den Permeabilitätskoeffizienten aus [209]. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass der Arzneistoff erst aus der inneren in die äußere Phase diffundieren muß, bevor er penetriert. Folglich bewirkt der Einschluß von Stoffen in die innere Phase einer Mikroemulsion die Bildung eines Reservoirs und ermöglicht einen Depoteffekt.

Dass sich auch bikontinuierliche Mikroemulsionen für die topische Therapie eignen, konnten BOLZINGER et al. durch Quantifizierung der antiinflammatorischen Wirksamkeit von nifluminsäurehaltigen Systemen an der Haut zeigen. Als Tenside wurden Sucroseester verwendet, die sich durch besonders gute Hautverträglichkeit auszeichnen [23].

Diese zahlreichen Beispiele sind Zeichen für die in Mikroemulsionen steckenden Potentiale für eine zukünftige Anwendung als Vehikel für Arzneistoffe.

Pharmazeutisch verwendet werden Poloxamere als Emulgator, Lösungsvermittler und Gelbildner.

Poloxamere weisen eine sehr geringe Toxizität auf und rufen an gesunder Haut keinerlei Reizungen hervor [56] [141] [181].

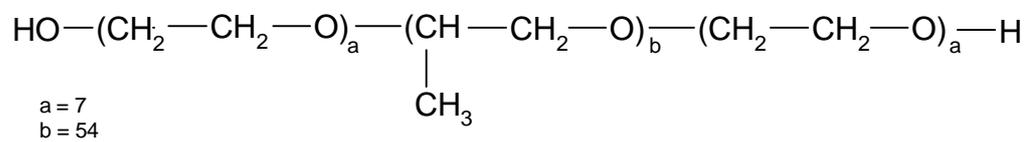


Abb. 5: Strukturformel von Pluronic[®] L101 bzw. Synperonic[®] PE L101

In mizellaren Lösungen und Mikroemulsionen liegen Blockpolymere nicht in gestreckter Form vor, wie in Abb. 5 dargestellt. Als wahrscheinlich gilt eine hufeisenförmige Krümmung, so dass die äußeren, hydrophilen POE-Ketten zur wässrigen Phase und der lipophile POP-Teil zum Mizellinneren bzw. zur Ölphase hin ausgerichtet sind [181].

Bei allen polyoxyethylenhaltigen und polymeren Tensiden kommt es herstellungsbedingt zu Schwankungen in der Kettenlänge, so dass die Produkte keine reinen Stoffe, sondern stets Gemische sind. Da bereits geringfügige Veränderungen der Tensidzusammensetzung die Ausbildung und Lage von Mikroemulsionsgebieten beeinflussen können, soll nach Möglichkeit nur eine Charge des Emulgators verwendet werden.

Isopropylmyristat / Isopropylpalmitat

Die Isopropylester der Myristinsäure (IPM, $M_r = 270,5$) und der Palmitinsäure (IPP, $M_r = 298,5$) sind klare, ölige Flüssigkeiten, die sich mit pflanzlichen Ölen, nicht jedoch mit Wasser, Propylenglycol und Glycerol mischen. Sie weisen eine gute allgemeine und dermale Verträglichkeit auf. IPM und IPP spreiten sehr gut auf der Haut und penetrieren rasch, IPM werden sogar Enhancereigenschaften zugeschrieben. Beide Ester weisen auch lösungsvermittelnde Eigenschaften auf und werden als Salbenbestandteile verwendet. Bei der Entwicklung von Mikroemulsionen fungieren sie als lipophile Komponente [59] [147].

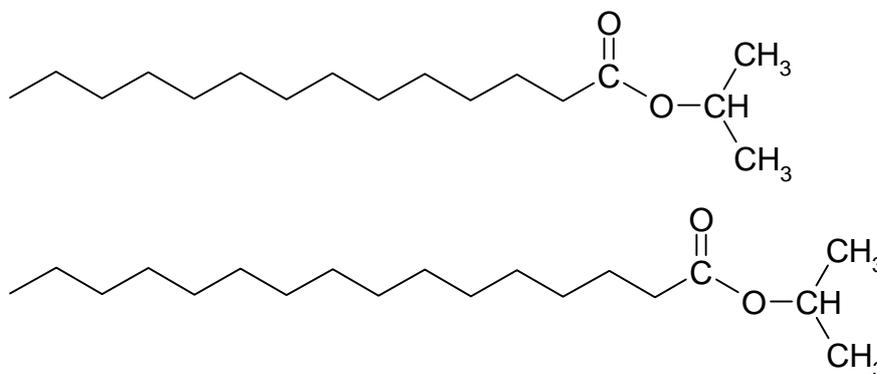


Abb. 6: Strukturformeln von Isopropylmyristat und Isopropylpalmitat

Ölsäure

Ölsäure ($M_r = 282,5$) ist eine farblose, ölige Flüssigkeit, die unlöslich in Wasser und leicht löslich in Ethanol, Ether u. a. Lösungsmitteln ist. Bedingt durch die im Molekül vorhandene Doppelbindung ist sie oxidationsanfällig. Ölsäure gehört zu den Lipiden, die natürlicherweise im Stratum corneum vorkommen und kann als Zusatz zu dermalen Formulierungen penetrationssteigernde Effekte hervorrufen [59] [144]. In den entwickelten Mikroemulsionen wird sie als Ölkomponente eingesetzt.

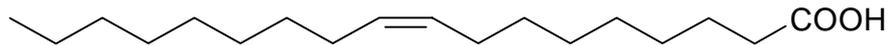


Abb. 7: Strukturformel von Ölsäure

Propylenglycol

Propylenglycol (PG, 1,2-Propandiol, $M_r = 76,1$) ist eine klare, farblose Flüssigkeit, die unbegrenzt mit Wasser mischbar ist. Pharmazeutisch angewendet wird es vor allem als Cosolvens, Penetrationsenhancer, Konservierungs- und Feuchthaltemittel in dermalen Zubereitungen. Zur Toxizität gibt es sehr viele Untersuchungen mit z. T. unterschiedlichen Ergebnissen. An Zellkulturen wurden in höheren Konzentrationen cytotoxische Effekte festgestellt. An Humanhaut konnten nur unter Okklusion und bei Applikation von hohen Propylenglycolkonzentrationen Irritationen beobachtet werden, so dass die Substanz bei Anwendung in üblichen pharmazeutischen Mengen als gut verträglich einzustufen ist [59]. In der Mikroemulsion bildet Propylenglycol im Gemisch mit Wasser die Grundlage für die hydrophile Phase.

Glycerol

Glycerol (1,2,3-Propantriol, $M_r = 92,1$) ist ebenfalls farblos und hygroskopisch, weist jedoch eine viel höhere Viskosität als Propylenglycol auf. Es ist in jedem Verhältnis mit Wasser und Ethanol, nicht jedoch mit Ether und Fetten mischbar. Aus pharmazeutischer Sicht sind vor allem die hautpflegenden Eigenschaften hervorzuheben. Sie führen zur Anwendung als Moisturizer bei trockenen Hautzuständen, da Glycerol in der Lage ist, den flüssigkristallinen Zustand der Hautlipide zu stabilisieren [59] [69].

Dimethylsulfoxid

Dimethylsulfoxid (DMSO, $M_r = 78,1$) ist eine dünnflüssige und stark hygroskopische Substanz, die mit Wasser und verschiedenen organischen Lösungsmitteln mischbar ist. In der Pharmazie wird DMSO besonders in Salben wegen seiner penetrationssteigernden, antiphlogistischen und hyperämisierenden Eigenschaften eingesetzt. Nachteilig ist neben dem unangenehmen Geruch vor allem das häufige Auftreten von Hautreizungen, weswegen nur geringe Konzentrationen verwendet werden sollten [59].

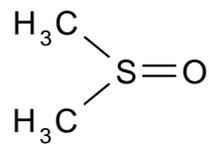


Abb. 8: Strukturformel von Dimethylsulfoxid

Ethanol

Ethanol ($M_r = 46,1$) ist eine klare, farblose Flüssigkeit mit charakteristischem Geruch, die in jedem Verhältnis mit Wasser und vielen organischen Lösungsmitteln mischbar ist. Ethanol ist in der Lage, in dermalen Formulierungen die Permeation von Stoffen durch das Stratum corneum zu fördern. Wegen seiner antimikrobiellen Eigenschaften kann es in Konzentrationen über 60 % zur Desinfektion von Haut und Flächen verwendet werden [59].

Wasser

Für die Herstellung der Mikroemulsionen wurde ausschließlich bidestilliertes Wasser verwendet, da bereits geringe Mengen von enthaltenen Ionen die Ausbildung von Mikroemulsionsgebieten beeinflussen können.

4.1.2 Entwicklung von Mikroemulsionen

Im Mittelpunkt der Arbeit steht die Entwicklung einer stabilen O/W-Mikroemulsion zur späteren Einarbeitung von Arzneistoffen, die bei einem maximalen Tensidgehalt von 20 % mindestens 5 % eines pharmazeutischen Öles als innere Phase enthalten soll.

Aus einer Vielzahl von getesteten Emulgatoren wurde als die geeignetste Kombination eine Mischung aus 2 Masseteilen Tween[®] 80 und 3 Masseteilen Pluronic[®] L101 ausgewählt. Dies entspricht einem molaren Verhältnis von ca. 2:1, das heißt statistisch betrachtet wechseln sich in der Phasengrenzschicht der Mikroemulsion zwei Tween-Moleküle mit einem der relativ großen Pluronic-Moleküle ab. Mit dieser Emulgatorkombination wurde im Phasendiagramm das größte Mikroemulsionsgebiet im gewünschten O/W-Bereich erhalten. Voraussetzung dafür ist die Anwesenheit eines Mindestanteils an Wasser und PG zur Ausbildung der äußeren Phase, eine der beiden Komponenten ist zur Mikroemulsionsbildung nicht ausreichend. Als pharmazeutisches Öl erwies sich IPM als geeignet.

Aus diesen Komponenten wurde auf empirischem Wege eine stabile O/W-Mikroemulsion entwickelt, die für diese Arbeit als Grundsystem dient. Sie weist folgende Zusammensetzung auf:

Tween [®] 80 / Pluronic [®] L101 (2:3 m/m)	20 %
IPM	5 %
Wasser / PG (1:1 m/m)	75 %

Während die ausgewählte Emulgatormischung ohne Veränderung ihrer Konzentrationsverhältnisse für alle in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen verwendet wurde, ließ sich die Mikroemulsion durch Veränderungen in der Zusammensetzung der hydrophilen und der lipophilen Phase modifizieren. So kann IPM der Ölphase durch IPP oder Ölsäure ausgetauscht werden, ohne dass sich die Stabilität der Mikroemulsion verringert. Eine Modifizierung der wässrigen Phase ist durch Zusatz von Glycerol, DMSO bzw. Ethanol zur PG-Wasser-Mischung möglich.

In Verlauf der Arbeiten wurde es notwendig, den nicht mehr verfügbaren Emulgator Pluronic® L101 durch das lt. Strukturformel identische Produkt Synperonic® PE L101 zu ersetzen. Dieser Austausch erwies sich als problematisch, da sich in o. g. Zusammensetzung keine isotropen, einphasigen Strukturen mehr bildeten. Das Problem konnte durch eine weitere Modifikation des Grundsystems gelöst werden, indem das Verhältnis Wasser / PG von 1:1 in 1:2 verändert wurde.

Für alle Untersuchungen mit Hydrocortison kamen die Mikroemulsionen mit Pluronic® L101 zum Einsatz, während die lokalanästhetikahaltigen Systeme zunächst ebenfalls mit diesem Emulgator, später mit Synperonic® PE L101 hergestellt wurden.

4.2 Charakterisierung der Mikroemulsionen

4.2.1 Phasendiagramm

Mit den Grundkomponenten des Mikroemulsionssystems wurde nach der in Kap. 8.1.1 beschriebenen Methode ein Phasendiagramm erstellt.

Abb. 9 zeigt die Lage und das Ausmaß des einphasigen, isotropen Gebietes. Dessen Beurteilung erfolgte zunächst nur unter phänomenologischen Gesichtspunkten. Eine detailliertere Charakterisierung wurde für die in den weiteren Untersuchungen verwendeten Systeme vorgenommen.

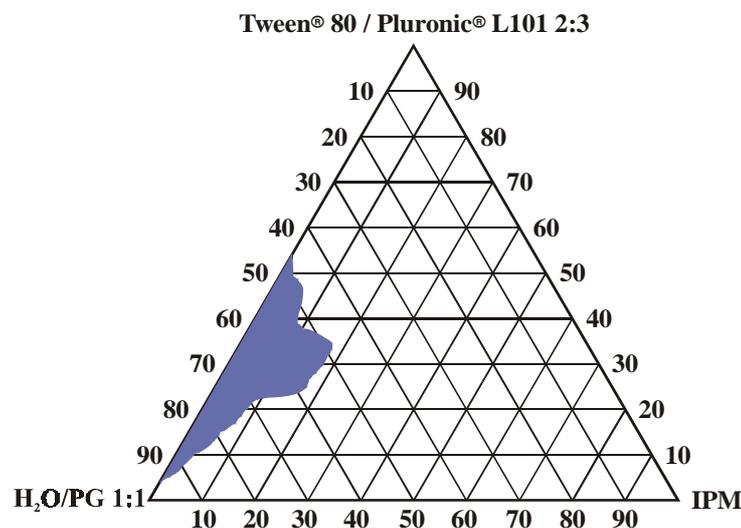


Abb. 9: Phasendiagramm der Grundkomponenten der Mikroemulsion

Da die Erstellung von Phasendiagrammen eine zeit- und materialaufwendige Methode mit relativ geringem Aussagewert für die praktische Anwendung an der Haut darstellt, wurde in dieser Arbeit darauf verzichtet, komplette Diagramme für alle modifizierten und arzneistoffhaltigen Systeme zu erarbeiten. Es wurden lediglich Mischungen mit bis zu 10 % unterschiedlichen Konzentrationen hergestellt und begutachtet, um auszuschließen, dass die verwendeten Zusammensetzungen direkt am Rand des Mikroemulsionsgebietes liegen.

4.2.2 Polarisationsmikroskopie

Mit Hilfe der Polarisationsmikroskopie lassen sich anisotrope Eigenschaften klarer, flüssiger Systeme feststellen und somit eine Abgrenzung flüssigkristalliner Phasen von Mikroemulsionen vornehmen. Dabei wird die zu untersuchende Probe mit linear polarisiertem Licht durchstrahlt und anschließend dessen Veränderungen mit einem zweiten Polarisator analysiert. Die von anisotropen Systemen hervorgerufene Doppellichtbrechung erzeugt bunte, charakteristische Texturbilder, während das Betrachtungsfeld des Mikroskops bei Vorliegen isotroper Phasen schwarz erscheint.

Alle im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Systeme wurden nach der in Kap. 8.1.2 beschriebenen Methode polarisationsmikroskopisch betrachtet und zeigten im untersuchten Temperaturbereich keine anisotropen Eigenschaften, so dass das Vorliegen flüssigkristalliner Phasen ausgeschlossen werden konnte.

4.2.3 Gefrierbruch-Elektronenmikroskopie

Die Gefrierbruch-Ätztechnik ist eine Präparationsmethode, die ursprünglich entwickelt wurde, um biologische Proben einer elektronenmikroskopischen Betrachtung unterziehen zu können. Sie stellt jedoch auch für Systeme wie Mikroemulsionen, die wegen ihres hohen Wassergehalts einer besonders schonenden Aufarbeitung bedürfen, eine geeignete Methode dar, zur Strukturaufklärung beizutragen.

Wichtig ist vor allem, dass die zu untersuchende Probe sehr schnell, d. h. mit einer Geschwindigkeit von 10^4 – 10^5 K/s, eingefroren wird, um ihre native Struktur beizubehalten. Anschließend wird sie im Vakuum aufgebrochen und geätzt. Das bedeutet, dass es unter den geringen Druckverhältnissen an den frischen Bruchflächen zur Sublimation des Eises an der Oberfläche kommt, was zur Ausbildung eines charakteristischen Reliefs führt. Um das elektronenmikroskopisch sichtbar zu machen, wird durch Bedampfung unter schrägem Winkel mit Platin und Kohle ein Abdruck der Oberfläche hergestellt. Dieser kann nach Ablösen von der Matrix im Transmissionselektronenmikroskop betrachtet werden. Durch die Schrägbeschattung sind die Platinschichten in Abhängigkeit von der Struktur der Oberfläche unterschiedlich dick, was zu Hell-Dunkel-Kontrasten im Bild führt [90].

Bereits SCHULMAN nutzte elektronenmikroskopische Verfahren, um die Struktur der von ihm beschriebenen Mikroemulsionen zu untersuchen. Zur Kontrastgebung wurde Osmiumtetroxid verwendet, das in der inneren Phase der O/W-Mikroemulsion mit Doppelbindungen der verwendeten Fettsäuren interagiert [184]. Nach Einführung der Gefrierbruch-Elektronenmikroskopie gewann dieses Verfahren schnell an Bedeutung zur Charakterisierung von Mikroemulsionen, wobei die Präparationstechnik zunehmend verbessert wurde [87] [213].

Heute stellt die Gefrierbruch-Elektronenmikroskopie ein geeignetes Verfahren dar, Strukturen von Mikroemulsionen abzubilden. Ein Nachteil der Methode ist, dass nicht die Probe selbst, sondern stets nur ein Abdruck von ihr betrachtet wird und Artefaktbildungen bei der Probenpräparation nicht immer ausgeschlossen werden können. Durch zu langsames Abkühlen beim Einfrieren kann z. B. Clusterbildung in der Wasserphase eintreten, was zu Veränderungen in der nativen Struktur der Systeme und Volumenvergrößerung führt. Deswegen sollte die Gefrierbruch-Elektronenmikroskopie nicht als einzige Charakterisierungsmethode einer Mikroemulsion herangezogen werden, sondern stets in Kombination mit anderen Methoden. SJÖBLOM und FRIBERG gelang die Aufklärung der Struktur von W/O-Mikroemulsionen durch die Kombination von elektronenmikroskopischen Ergebnissen mit Daten, die durch Dynamische Lichtstreuung ermittelt wurden [192].

Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Mikroemulsionen

Mit Hilfe der Elektronenmikroskopie sollte die Struktur der entwickelten Mikroemulsionen untersucht und die Größenordnung der Teilchen der dispersen Phase abgeschätzt werden. Dabei stand die Frage im Mittelpunkt, wie Veränderungen der Zusammensetzung der beiden Phasen die Struktur der Systeme beeinflussen. Zunächst wurde die Grundmikroemulsion betrachtet und anschließend mit einigen ausgewählten modifizierten Systemen verglichen. Dabei erfolgten Variationen der dispergierten und der äußeren Phase, wobei das Verhältnis Tensid / Öl / hydrophile Phase mit 20 / 5 / 75 konstant blieb.

Eine elektronenmikroskopische Aufnahme der Grundmikroemulsion zeigt Abb. 10. Darin sind deutliche partikuläre Strukturen erkennbar, die wahrscheinlich die von Tensidmolekülen umgebene Ölphase abbilden. Das deutet darauf hin, dass die Bindungskräfte innerhalb der dispersen Phase stärker ausgeprägt sind als die zum umgebenden Medium. Es sind sowohl aus der Bruchfläche herausragende als auch herausgebrochene Partikel erkennbar. Aus der Abbildung wurden für die Grundmikroemulsion Tröpfchengrößen im Bereich zwischen 15 und 30 nm ermittelt.

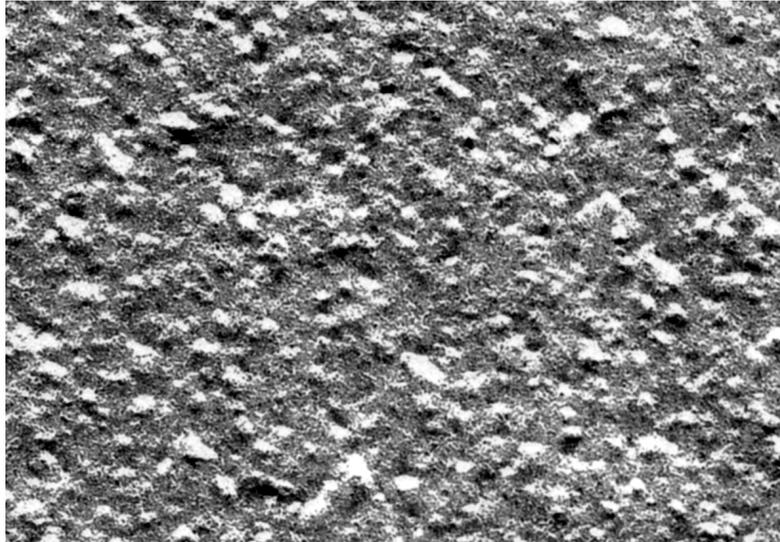


Abb. 10: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Grundmikroemulsion im Maßstab 1 : 154000 (3 mm $\hat{=}$ ca. 20 nm)

Um den Einfluss der Ölkomponente auf die Größe der Tröpfchen der inneren Phase abzuschätzen, wurde zum Vergleich die ölfreie mizellare Tensidlösung mit analoger Zusammensetzung zur Mikroemulsion untersucht. Wie in Abb. 11 sichtbar wird, sind die gebildeten Partikel mit Durchmessern unter 10 nm deutlich kleiner als die der Mikroemulsion. Das deutet darauf hin, dass sich die Ölmoleküle tatsächlich in der inneren Phase der Mikroemulsion befinden. Die Abnahme der Partikelgröße resultiert einerseits daraus, dass das Volumen der inneren Phase um den Ölanteil reduziert wird. Andererseits ist es auch möglich, dass eine in Abwesenheit von Öl entstehende reine Tensidmizelle aus weniger Emulgatormolekülen gebildet wird als ein Tröpfchen der Mikroemulsion und sich folglich mehr und kleinere Partikel bilden.

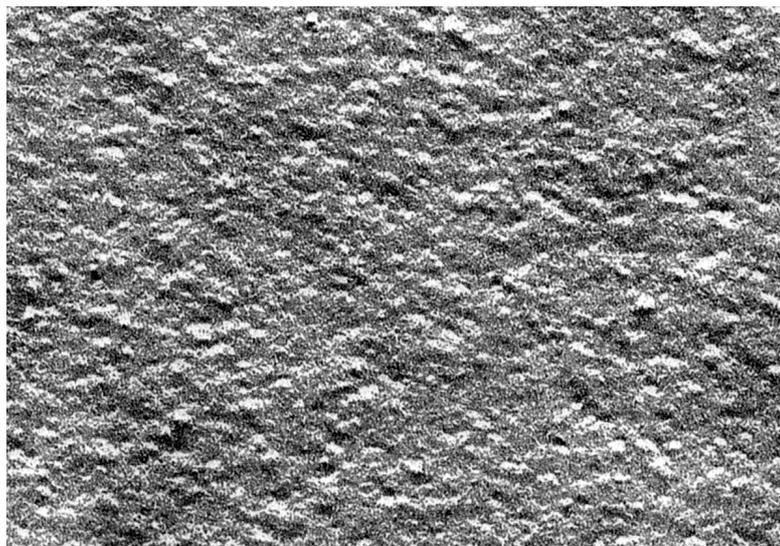


Abb. 11: Elektronenmikroskopische Aufnahme der mizellaren Tensidlösung im Maßstab 1 : 154000 (3 mm $\hat{=}$ ca. 20 nm)

Abb. 12 zeigt die Darstellung einer modifizierten Mikroemulsion, wie sie für die Einarbeitung von Lokalanästhetika verwendet wurde. Dabei lagen Wasser und Propylen-glycol im Verhältnis von 1:2 statt 1:1 vor und IPP diente statt IPM als Ölphase. Auch auf diesem Bild sind deutliche partikuläre Strukturen sichtbar, die im gleichen Größenbereich wie die der Grundmikroemulsion liegen. Die Abbildung zeigt keine großen Unterschiede zu Abb. 10, somit scheinen Veränderungen der PG-Wasser-Mischung in der äußeren Phase keinen Einfluss auf die Struktur und Teilchengröße der Tröpfchen zu haben.

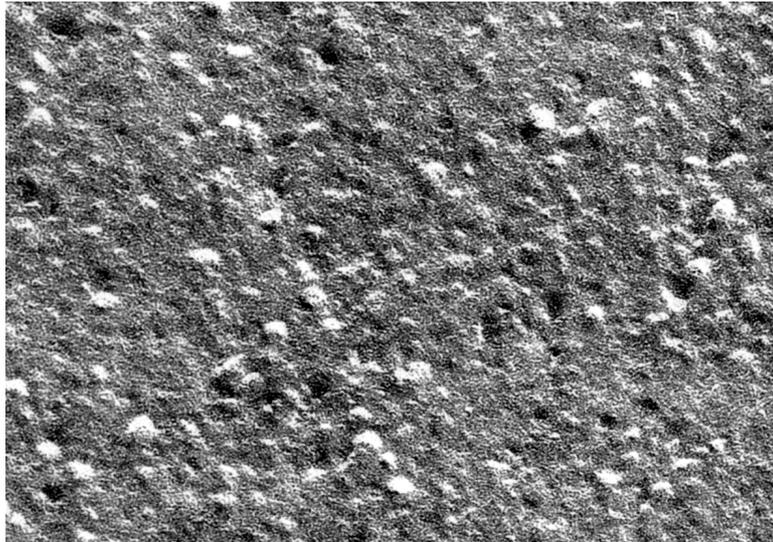


Abb. 12: Elektronenmikroskopische Aufnahme der modifizierten Mikroemulsion mit erhöhtem Propylenglycolanteil im Maßstab 1 : 154000 (3 mm $\hat{=}$ ca. 20 nm)

Ein ähnliches Ergebnis erbrachte eine frühere Untersuchung, die sich mit dem Einfluss von DMSO auf die Struktur von O/W-Mikroemulsionen beschäftigte. Dabei wurde als äußere Phase statt Wasser/PG im Verhältnis 1:1 eine Mischung aus Wasser/PG/DMSO 2:1:1 verwendet. Ein Vergleich der elektronenmikroskopischen Bilder ließ keine strukturellen Unterschiede zwischen beiden Systemen erkennen [219].

Daraus kann geschlossen werden, dass die durch Variationen der äußeren Phase modifizierten Mikroemulsionen keine veränderte Struktur hinsichtlich der kolloidalen Phase gegenüber dem Grundsystem aufweisen.

4.2.4 Rheologie

Strukturelle Aussagen über Mikroemulsionen lassen sich auch aus Messungen der Viskosität ableiten, da das Fließverhalten dieser Systeme durch deren Struktur bestimmt wird. Als Einflussfaktoren spielen dabei vor allem Art und Menge der verwendeten Emulgatoren sowie die Zusammensetzung der inneren und äußeren Phase eine Rolle.

Sphärische Partikel setzen dem Fließen einen viel geringeren Widerstand entgegen als lamellare Phasen und führen zur Bildung von Systemen mit geringerer Viskosität. Diese Tatsache kann z. B. bei der Erstellung von Phasendiagrammen zur Abgrenzung der Mikroemulsionsgebiete von flüssigkristallinen Phasen und Gelbereichen herangezogen

werden. Beim Übergang von O/W- zu W/O-Systemen steigt die Viskosität zunächst und nimmt dann wieder ab. Das lässt sich mit der Bildung lamellarer Strukturen im Übergangsbereich erklären.

PRIMORAC et al. führten verschiedene Untersuchungen zum Einfluss der Temperatur und der Art der verwendeten Emulgatoren auf das rheologische Verhalten von Mikroemulsionen durch. Dabei stellten sie einen Anstieg der Viskosität mit abnehmendem HLB-Wert des Tensids fest [156]. Ein ähnliches Ergebnis wurde auch für die untersuchten Mikroemulsionsgele beschrieben [195]. Erhöhung der Temperatur führte außer bei einer Mikroemulsion zu sinkender Viskosität. Diese Ausnahme wird damit erklärt, dass sich durch Abnahme der Wasserstoffbrückenbindungen bei steigender Temperatur größere Partikel bilden [155]. Nicht alle der untersuchten Mikroemulsionen wiesen Newtonsches Fließverhalten auf, das auf die Existenz sphärischer Partikel hindeutet. Auch pseudoplastische und thixotrope Eigenschaften wurden beobachtet [155] [195].

KTISTIS untersuchte den Einfluss des Volumenanteils der inneren Phase auf die Viskosität einer O/W-Mikroemulsion. Dabei stellte er einen Anstieg der Viskosität mit zunehmendem Ölanteil bei konstanter Tensidmenge fest. Die Viskosität stieg auch mit wachsender Tensidkonzentration bei gleichem Ölgehalt, obwohl die Teilchengröße dann abnehmen müsste. Aus den Daten konnte er eine Gleichung entwickeln und daraus das Verhältnis des Kerns zur umgebenden Hydratationsschicht abschätzen [104].

AYANNAIDES und KTISTIS bestimmten die Viskositäten von Mikroemulsionsgelen mit verschiedenen Wasser-Glycerol-Mischungen. Dabei führte ein Anstieg des Glycerolgehalts zu abnehmender Viskosität des Gesamtsystems. Der Effekt wird damit begründet, dass durch den gleichzeitig sinkenden Wassergehalt die Hydratation des Tensids Polysorbat 80 abnimmt [10].

Rheologische Messung der Mikroemulsion

Das Fließverhalten der entwickelten Grundmikroemulsion wurde bei verschiedenen Scherraten gemessen. Aus den Daten konnte bei 25 °C für die dynamische Viskosität ein Wert von 36,045 mPa·s ermittelt werden.

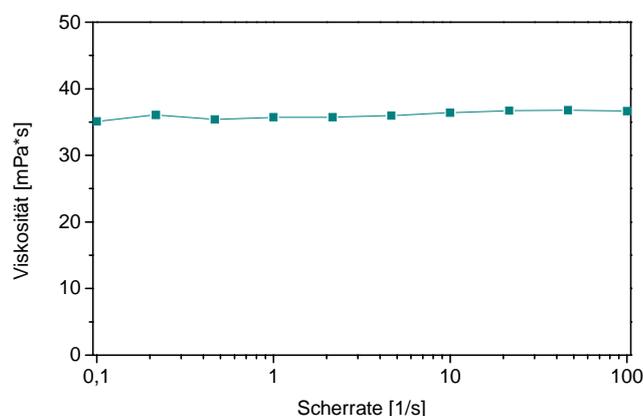


Abb. 13: Fließverhalten der Grundmikroemulsion bei 25 °C

Aus Abb. 13 wird deutlich, dass sich die Viskosität bei verschiedenen Scherraten nicht verändert, d. h. die Mikroemulsion zeigt Newtonsches Fließverhalten. Somit können sphärische Partikel vermutet werden. Diese Annahme steht in Übereinstimmung mit den Aussagen, die aus den elektronenmikroskopischen Aufnahmen der Mikroemulsionen abgeleitet werden können.

4.2.5 Dynamische Lichtstreuung

Die Dynamische Laserlichtstreuung (Photonenkorrelationsspektroskopie, PCS) ist eine häufig angewendete Methode zur Bestimmung von Diffusionskoeffizienten in flüssigen Medien.

Dabei wird auf die zu untersuchende Probe monochromatisches Licht eingestrahlt. Trifft ein Photon auf ein Teilchen, kommt es zu einer leichten Frequenzänderung. Da die Tröpfchen in der Mikroemulsion aufgrund der Brownschen Molekularbewegung ständig diffundieren, ändert sich auch deren Konzentration im untersuchten Probenvolumen permanent. Das hat zur Folge, dass die gemessenen Streuintensitäten zeitlichen Schwankungen unterworfen sind. Diese finden um so schneller statt, je größer die Geschwindigkeit der Teilchen in der Probe ist. Die Streulichtintensitäten werden von einem Photomultiplier detektiert und als Funktion der Zeit gespeichert. Aus dieser Autokorrelationsfunktion resultiert eine Exponentialfunktion, aus deren Exponenten sich der Diffusionskoeffizient ermitteln lässt.

Da bei den untersuchten Mikroemulsionen das Volumen der inneren Phase mit ca. 20-25 % relativ groß ist, treten natürlich auch Wechselwirkungen zwischen den Partikeln auf, die die Teilchenbewegung beeinflussen, so dass der ermittelte Wert als ein scheinbarer Diffusionskoeffizient (D_{app}) betrachtet werden soll. Unter der Annahme, dass es sich um harte, kugelförmige Teilchen handelt, wurde mit Hilfe der Gleichung:

$$D_{app} = D_0 \cdot (1 + 1,56\phi) \quad \text{Gl. (6)}$$

ϕ Volumenanteil der inneren Phase

eine Umrechnung in den wahren Diffusionskoeffizienten (D_0) vorgenommen [37]. Dieser basiert auf der Vorstellung der wechselwirkungsfreien Bewegung eines einzelnen, isolierten Teilchens im umgebenden Medium.

Aus D_0 kann der hydrodynamische Radius (R_h) eines Mikroemulsionströpfchens mit Hilfe der Stokes-Einstein-Gleichung ermittelt werden.

$$D_0 = \frac{KT}{6\pi\eta R_h} \quad \text{Gl. (7)}$$

K Boltzmann-Konstante
 T absolute Temperatur
 η Viskosität der äußeren Phase

Der hydrodynamische Radius beschreibt die theoretische Größe eines idealisierten, wechselwirkungsfreien Partikels mit Kugelform [88].

Im Rahmen der Charakterisierung von Mikroemulsionen kann die Dynamische Lichtstreuung zu Strukturuntersuchungen herangezogen werden. CAZABAT et al. beschrieben diese Methode bereits Ende der siebziger Jahre als geeignet zur Teilchengrößenbestimmung von W/O-Mikroemulsionen [35]. Inzwischen hat sich die Dynamische Lichtstreuung als Routineverfahren für die Bestimmung der Partikelgrößen der dispersen Phase etabliert. Sie ist gut geeignet zur Untersuchung von Systemen mit einem geringen Anteil an innerer Phase. Steigt dieser, nehmen die Wechselwirkungen zwischen den Teilchen zu. Damit erhöhen sich auch die Fehlermöglichkeiten bei der Berechnung, da die Annäherung an ideale Verhältnisse, auf denen die Modellrechnung basiert, immer geringer wird. Übersteigt die kleinere Phase der Mikroemulsion einen Anteil von 30 %, wie bei bikontinuierlichen Systemen, sollte anderen Charakterisierungsmethoden der Vorzug gegeben werden [108].

Die Partikelgröße von Mikroemulsionen gestattet eine Aussage über die thermodynamische Stabilität der Systeme und kann aus verschiedenen Gründen von Interesse sein. Bei der Entwicklung und Optimierung von Mikroemulsionen können kleine Veränderungen der Zusammensetzung große Auswirkungen auf die Tröpfchengröße der inneren Phase haben. Deswegen existieren zahlreiche mit Dynamischer Lichtstreuung durchgeführte Studien, die den Einfluss von Variationen in der Zusammensetzung der Mikroemulsion auf die Partikelgröße untersuchen. KALE und ALLEN kamen zu dem Ergebnis, dass die Teilchen von Brij 96-haltigen Mikroemulsionen mit steigendem Tensid-Cotensid-Verhältnis kleiner werden. Das bedeutet, es bilden sich mehr Teilchen, von denen jedes eine kleinere Ölmenge solubiliziert. Dabei ist jedoch eine Mindestmenge an Cotensid zur Mikroemulsionsbildung notwendig [93].

SAINT RUTH et al. detektierten für lecithinhaltige O/W-Systeme eine Zunahme der Tröpfchengröße bei steigendem Ölgehalt und gleicher Menge der übrigen Komponenten. Wird bei konstantem Volumen an innerer Phase das Verhältnis Lecithin/Öl verringert, nimmt die Partikelgröße ebenfalls zu, da mit weniger Tensidmolekülen eine größere Ölmenge solubiliziert werden muss [171].

ATTWOOD et al. gelangten bei Untersuchungen mit Statischer Lichtstreuung an polysorbathaltigen O/W-Mikroemulsionen zu ähnlichen Ergebnissen. Reduktion des Cotensidanteils im Vergleich zum Tensid führte zu kleineren Tröpfchen, während die Partikelgröße mit steigender Volumenfraktion der dispergierten Phase linear anwuchs [8]. ATTWOOD und KTISTIS berechneten anhand von Daten der Statischen Lichtstreuung das Verhältnis des Ölkerns zur Dicke der Tensidschicht [7].

MÜLLER und MÜLLER untersuchten mit Dynamischer Lichtstreuung die Lagerstabilität von W/O-Mikroemulsionen aus Paraffin, Wasser, Kaliumoleat und verschiedenen Alkoholen als Cotensid. Dabei neigten Systeme mit einer Zusammensetzung am Rand des Mikroemulsionsgebiets eher zur Größenzunahme der Teilchen durch Koaleszenz als solche

aus der Mitte der Mikroemulsionsphase. Von den drei getesteten Cotensiden erwies sich Hexanol als das geeignetste, da sich diese Systeme schneller bilden als bei Verwendung von Heptanol und stabiler sind als die mit Pentanol. Bei Verwendung von Hexanol entstand außerdem mit der geringsten Menge an Cotensid das größte Mikroemulsionsgebiet [133] [134].

CONSTANTINIDES und YIV führten Untersuchungen zur Veränderung der Teilchengröße von W/O-Mikroemulsionen bei Verdünnung mit hydrophilen Medien und unter verschiedenen Lagerbedingungen durch. Dabei bewirkte Verdünnung der Mikroemulsionen um den Faktor 100 oder 1000, wie sie nach oraler Gabe unter physiologischen Bedingungen passiert, unterschiedliche Effekte bei den getesteten Proben. Es traten sowohl Partikelverkleinerungen, die auf Phasenübergänge zu O/W-Mikroemulsionen hindeuten, als auch Vergrößerungen bis hin zur Umwandlung in O/W-Emulsionen auf. Die Veränderungen erwiesen sich als unabhängig von pH-Wert und Ionenstärke des Verdünnungsmediums. Sowohl nach 70-tägiger Lagerung als auch nach Verdünnung wurden keine Unterschiede in der Partikelgröße zwischen arzneistofffreien Mikroemulsionen und solchen, die ein Modellpeptid enthielten, festgestellt [43].

Untersuchungen der Mikroemulsionen mit Dynamischer Lichtstreuung

Die Dynamische Lichtstreuung wurde in dieser Arbeit angewendet, um die Tröpfchenradien der entwickelten Mikroemulsionen abzuschätzen und um zu untersuchen, welchen Einfluß Veränderungen in der Zusammensetzung der Systeme auf die Partikelgröße ausüben.

Um die Viskosität der äußeren Phase zu bestimmen, die als Berechnungsgrundlage für die Auswertung dient, sollte zunächst geklärt werden, wie groß der molekular gelöste Anteil der Tenside ist. Dabei ergaben sich sehr kleine Kritische Mizellbildungskonzentrationen (CMC) für beide Emulgatoren. Tween[®] 80 weist in Wasser eine CMC von 10^{-5} M auf [218]. Für Pluronic[®] L101 wurde tensiometrisch ein Wert von $1,08 \cdot 10^{-6}$ M ermittelt [159]. Da Polysorbate in Propylenglycol zu einem größeren Anteil molekular vorliegen als in reinem Wasser [174], wurde die CMC von Tween[®] 80 auch in der verwendeten PG-Wasser-Mischung 1:1 untersucht. Der ermittelte Wert von $5,17 \cdot 10^{-5}$ M liegt jedoch um weniger als eine Zehnerpotenz über der CMC für reines Wasser [159]. Diese geringen Anteile an molekularem Tensid haben keinen Einfluss auf die Viskosität des äußeren Phase. Deshalb konnten für die Auswertung der Lichtstreudaten die Viskositäten der reinen Wasser-PG-Mischungen zugrunde gelegt werden. Ihre Messung wurde analog zu der der Mikroemulsion durchgeführt, wie in Kap. 8.1.4 beschrieben.

Mit Dynamischer Lichtstreuung erfolgte zunächst eine Messung der Grundmikroemulsion nach der in Kap. 8.1.5 erläuterten Methode. Überraschenderweise traten als Ergebnis zwei deutlich voneinander abweichende Diffusionskoeffizienten auf, aus denen sich zwei Tröpfchengrößen ermitteln ließen.

Tab. 1: Mit Dynamischer Lichtstreuung ermittelte Diffusionskoeffizienten der Grundmikroemulsion und daraus abgeleitete Ergebnisse

Diffusionskoeffizient	$3,84 \cdot 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$	$5,92 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}$
Partikelradius	9,48 nm	61,60 nm
Zahlenmäßiger Anteil	92,9 %	7,1 %
Massenmäßiger Anteil	69,4 %	30,6 %

Nach Berechnung der Partikelgröße aus den Diffusionskoeffizienten weisen, wie in Tab. 1 ersichtlich, ca. 93 % der Partikel einen Radius von 9,5 nm auf, was einem Massenanteil von ca. 70 % entspricht. Aus dem zweiten, kleineren ermittelten Diffusionskoeffizienten resultiert nach der Beziehung von Stokes-Einstein für die übrigen Teilchen ein Partikelradius von über 60 nm. Dieses Resultat steht jedoch im Widerspruch zu den Ergebnissen der elektronenmikroskopischen Untersuchung. Während die aus dem größeren Diffusionskoeffizienten ermittelte Partikelgröße gut mit den Tröpfchen in Abb. 10 korreliert, lassen sich aus den elektronenmikroskopischen Bildern keinerlei Anhaltspunkte für die Existenz der großen Partikel ableiten. Deshalb wurde geschlussfolgert, dass der kleinere Diffusionskoeffizient daraus resultiert, dass sich mehrere kleine Partikel in aggregierter Form gemeinsam in der Probe bewegen. Diese Interpretation ist aufgrund des mit 25 % relativ großen Anteils an innerer Phase sehr wahrscheinlich. Derartige kollektive Diffusionskoeffizienten wurden in der Literatur auch von anderen Autoren beschrieben [48] [134]. Alle folgenden Betrachtungen berücksichtigen deshalb nur die größeren Diffusionskoeffizienten, die dem Hauptanteil der detektierten Partikel zuzuordnen sind.

Weiterhin sollte der Frage nachgegangen werden, wie sich Veränderungen der dispergierten Phase auf die Teilchengröße auswirken. Dazu erfolgte die Untersuchung von zwei weiteren Mikroemulsionen mit IPP und Ölsäure als lipophiler Phase sowie der ölfreien mizellaren Tensidlösung mit den gleichen Komponenten. Die Ergebnisse sind in Tab. 2 dargestellt. Wie erwartet bilden sich in der mizellaren Lösung der Tenside ohne Ölzusatz kleinere Teilchen als in der Mikroemulsion. Die ermittelten Radien korrelieren ebenfalls mit den aus den elektronenmikroskopischen Bildern abgeschätzten Partikelgrößen. Kein Unterschied ist zwischen den Radien der Mikroemulsion mit IPM und IPP als Ölkomponente erkennbar, während das ölsäurehaltige System geringfügig größere Partikel aufweist.

Dieser Vergleich erfolgte auch für die Mikroemulsionen, die unter Verwendung des Emulgators Synperonic® PE L101 und mit dem geringeren Wasser-PG-Verhältnis hergestellt wurden. Dabei ergaben sich tendenziell gleiche Resultate. IPM und IPP bilden etwa gleich große Partikel. Diese sind größer als die der reinen Tensidlösung und kleiner als die des ölsäurehaltigen Systems. Wahrscheinlich nimmt die Ölsäure aufgrund ihrer gewinkelten Struktur ein größeres Volumen ein.

Tab. 2: Mit Dynamischer Lichtstreuung ermittelte Partikelradien von Mikroemulsionen mit verschiedenen lipophilen Phasen ($\bar{x} \pm SD$, n=5)

	Teilchenradien der Partikel (nm) in Systemen der Zusammensetzung			
	ohne Öl	IPM	IPP	Ölsäure
Pluronic [®] L101/ Tween 80 Wasser/PG 1:1	6,14 ± 0,19	9,48 ± 0,14	9,21 ± 0,18	10,86 ± 0,18
Synperonic [®] PE L101/ Tween 80 Wasser/PG 1:2	5,69 ± 0,38	8,49 ± 0,14	8,52 ± 0,11	12,09 ± 0,64

Aus dem Vergleich zwischen den Mikroemulsionen mit Pluronic[®] L101 und Synperonic[®] PE L101 lässt sich keine Tendenz zu Größenunterschieden ableiten. Während die Teilchen der IPM- und IPP-haltigen Systeme durch Austausch des Emulgators geringfügig kleiner werden, nimmt die Größe der Ölsäuretröpfchen leicht zu.

Da der Unterschied zwischen beiden Systemen nicht nur im Emulgator sondern auch im veränderten Wasser-PG-Verhältnis besteht, ist im Folgenden die Frage zu klären, ob die Zusammensetzung der äußeren Phase die Partikelgröße beeinflusst. Dazu wurden jeweils 20 % des Tensidgemisches in verschiedenen Wasser-PG-Mischungen solubilisiert. Ein direkter Vergleich mit Mikroemulsionen war nicht möglich, da sich bei Anwesenheit von Öl nicht mit allen Wasser-PG-Verhältnissen isotrope Systeme bilden. Abb. 14 zeigt die graphische Darstellung der Teilchenradien der mizellaren Tensidlösung in Abhängigkeit vom Wasser- und Propylenglycolgehalt der äußeren Phase.

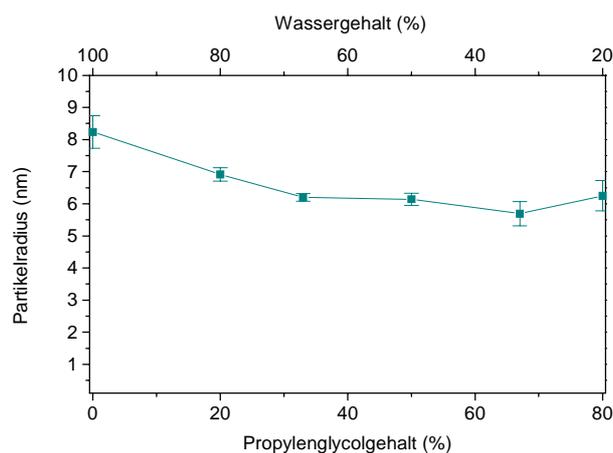


Abb. 14: Mit Dynamischer Lichtstreuung ermittelte Teilchenradien der mizellaren Tensidlösung in Abhängigkeit vom Wasser- und Propylenglycolgehalt der äußeren Phase ($\bar{x} \pm SD$, n=5)

Darin wird deutlich, dass sich die Tröpfchengrößen der inneren Phase bei einem Propylenglycolanteil über 30 % nicht signifikant unterscheiden. Größere Partikel bilden sich lediglich in reinem Wasser. Da die in dieser Arbeit verwendeten Mikroemulsionen alle einen Propylenglycolgehalt von über 30 % aufweisen, kann davon ausgegangen werden,

dass dessen Konzentration in der äußeren Phase keinen Einfluss auf die Teilchengröße der inneren Phase ausübt. Auch dieses Ergebnis zeigt gute Übereinstimmung mit den elektronenmikroskopischen Aufnahmen Abb. 10 und Abb. 12, bei denen ebenfalls keine Unterschiede zwischen den Mikroemulsionen mit verschiedenen Propylenglycolanteilen sichtbar wurden.

Einen anderen Untersuchungsparameter stellte die Tröpfchengröße in Abhängigkeit vom Ölgehalt der Mikroemulsionen dar. Bei einer konstanten Tensidmenge von 20 % ließen sich bis zu 8 % IPP in das System einarbeiten. Höhere Ölkonzentrationen ergaben keine isotropen Systeme mehr, es traten Phasentrennungen auf. Deshalb wurden die Lichtstreuungen mit Mikroemulsionen durchgeführt, deren IPP-Gehalt im Bereich zwischen 0 und 8 % lag. Die Ergebnisse sind in Abb. 15 dargestellt. Erwartungsgemäß führte eine Erhöhung des Ölgehalts zu einer Größenzunahme der Tröpfchen der inneren Phase, da mehr Ölmoleküle von der gleichen Emulgatormenge solubilisiert werden müssen. Das steht in Übereinstimmung mit bereits beschriebenen Ergebnissen anderer Autoren [8] [171]. Die Zunahme der Partikelradien zeigt im untersuchten Bereich einen linearen Trend.

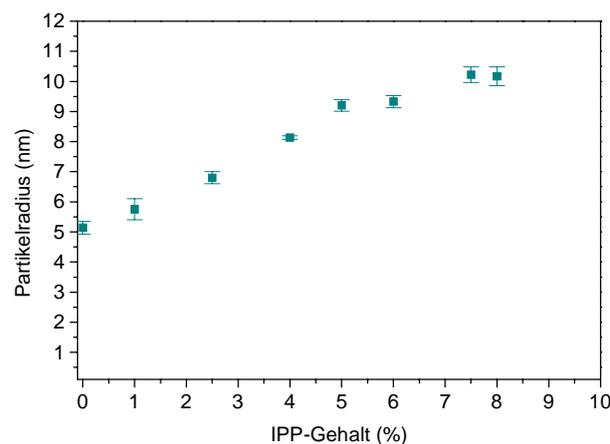


Abb. 15: Mit Dynamischer Lichtstreuung ermittelte Partikelradien der Mikroemulsion in Abhängigkeit vom IPP-Gehalt ($\bar{x} \pm SD$, $n=5$)

Von Interesse war auch das Verhalten der Mikroemulsion bei Verdünnung mit der äußeren Phase. Wie in Abb. 16 ersichtlich ist, nimmt die Teilchengröße mit abnehmendem Anteil des Volumens an innerer Phase leicht zu. Dieser Effekt kann damit begründet werden, dass bei größerem Anteil an wässriger Phase und konstanter CMC mehr Tensidmoleküle einzeln gelöst vorliegen. Somit stehen weniger von ihnen zur Solubilisierung der Ölphase zur Verfügung, folglich bilden sich größere Tröpfchen.

Im untersuchten Bereich, zwischen 10 und 20 % Anteil innerer Phase, ist die Größenänderung der Partikel relativ gering. Bei Verdünnung der Grundmikroemulsion mit 10 Teilen äußerer Phase ist bereits mit bloßem Auge eine schwache Opaleszenz erkennbar. Trotzdem ist dieses System thermodynamisch stabil, nach 6 Monaten Lagerung trat keine Phasenseparation auf.

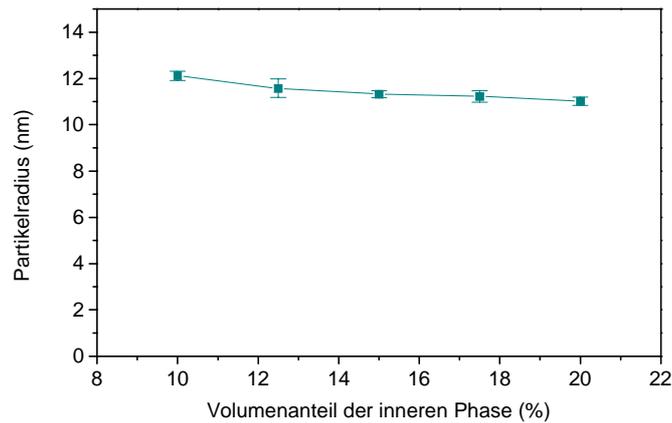


Abb. 16: Mit Dynamischer Lichtstreuung ermittelte Partikelradien der Mikroemulsion bei Verdünnung mit äußerer Phase ($\bar{x} \pm SD$, $n=5$)

Eine Zunahme der Teilchengröße von Mikroemulsionen nach Verdünnung ist auch von anderen Autoren beschrieben worden, wobei z. T. bereits zehnfache Verdünnung zur Umwandlung in Emulsionen führt [43] [206].

4.2.6 Stabilitätstestung

Alle in dieser Arbeit verwendeten Mikroemulsionen wurden mindestens ein Jahr lang luftdicht verschlossen aufbewahrt und anschließend einer erneuten Begutachtung auf optische Transparenz unterzogen. Bei keinem der Systeme traten, z. T. auch nach längerer Lagerung, Anzeichen von Instabilität wie Trübungserscheinungen oder Phasentrennungen auf. Die entwickelten Mikroemulsionen können somit als thermodynamisch stabil betrachtet werden.

4.2.7 Zusammenfassung der Charakterisierungsergebnisse

Nach Auswertung der Ergebnisse verschiedener Charakterisierungsmethoden lassen sich die entwickelten Vehikel als isotrope, thermodynamisch stabile Systeme einstufen.

Die Existenz sphärischer Partikel kann nach Auswertung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen und dem Nachweis des idealviskosen Fließverhaltens mit Hilfe rheologischer Messungen angenommen werden. Nach übereinstimmenden Ergebnissen aus elektronenmikroskopischen und Lichtstreuuntersuchungen besitzen die Teilchen der dispergierten Phase der Mikroemulsion einen Durchmesser von ca. 20 nm. Diese Größe wird weder durch die Verwendung anderer pharmazeutischer Öle noch durch die untersuchten Modifikationen der hydrophilen Phase nennenswert beeinflusst. Eine Senkung des Ölgehalts bis hin zum Vorliegen reiner Tensidlösungen führt jedoch zur Abnahme der Teilchengröße.

Die prozentuale Zusammensetzung der Systeme lässt auf die Existenz von O/W-Mikroemulsionen schließen.

5 Hydrocortisonhaltige Systeme

5.1 Einarbeitung von Hydrocortison in Mikroemulsionen

Für die Untersuchungen zum Arzneistofftransport aus Mikroemulsionen in die Haut wurde Hydrocortison als Modellarzneistoff ausgewählt. Dazu musste das Glucocorticoide zunächst in einer anwendungsrelevanten Konzentration in das System eingearbeitet werden. Voraussetzung dafür war die Bestimmung einiger physikochemischer Charakteristika wie Verteilungskoeffizient und Sättigungslöslichkeiten in den verwendeten Komponenten. Diese Daten ermöglichen eine Beurteilung des Verhaltens von Hydrocortison in der Mikroemulsion.

5.1.1 Hydrocortison als Modellarzneistoff

Hydrocortison (Cortisol, $M_r = 362,5$) ist ein körpereigenes Hormon, das in der Nebennierenrinde gebildet wird. Es besitzt glucocorticoide sowie mineralocorticoide Eigenschaften und spielt im menschlichen Stoffwechsel eine zentrale Rolle. Nach Aufnahme in die Zelle bindet es an zytoplasmatische Steroidrezeptoren und induziert nach Transport dieses Komplexes in den Zellkern die Biosynthese spezifischer Proteine, die die Auslösung verschiedener Stoffwechsel-Reaktionen hervorrufen. Therapeutisch wird Hydrocortison wegen seiner antiphlogistischen, immunsuppressiven und antiproliferativen Wirkungen angewendet. Die Applikation kann je nach gewünschtem Effekt systemisch oder lokal an der Haut erfolgen. Bei der dermalen Anwendung sind Arzneistoffkonzentrationen zwischen 0,1 und 1 % üblich [49] [126] [135].

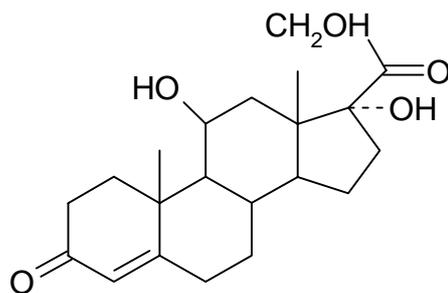


Abb. 17: Strukturformel von Hydrocortison

Hydrocortison ist kaum wasserlöslich und besitzt unter den Steroiden die geringste Lipophilie. Nach Applikation mit Hilfe klassischer Salbengrundlagen kann es die Barriere des Stratum corneum nur sehr schlecht überwinden. In dieser Arbeit wurde Hydrocortison als Modellarzneistoff verwendet, um die Eignung von Mikroemulsionen als mögliche potentere Vehikel für die dermale Therapie zu untersuchen.

5.1.2 Verteilungskoeffizient

Die Bestimmung des Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten (V_k) von Hydrocortison ergab bei Durchführung nach der in Kap. 8.2.1 beschriebenen Methode ein Ergebnis von $V_k = 32,8$ bzw. $\log V_k = 1,51$. Dieser Wert zeigt gute Übereinstimmung mit Literaturdaten [77]. Der Stoff weist somit eine mäßige Lipophilie auf.

LUDWIG bestimmte Verteilungskoeffizienten zwischen IPM als lipophiler Phase und Wasser, Propylenglycol bzw. einer Wasser-PG-Mischung. Dabei zeigte Hydrocortison deutlich weniger Affinität zu IPM als zu Oktanol. Außerdem wurde festgestellt, dass die Werte mit steigendem Gehalt an Propylenglycol abnahmen, d. h. Hydrocortison verteilte sich dann stärker in die hydrophile Phase [119].

5.1.3 Sättigungslöslichkeiten

Um zu ermitteln, in welcher Menge sich Hydrocortison in die entwickelten Mikroemulsionen inkorporieren lässt, wurden seine Sättigungslöslichkeiten in den Einzelkomponenten (Tab. 3) sowie im Gesamtsystem Mikroemulsion (Tab. 4) untersucht. Von den drei getesteten lipophilen Komponenten wies Ölsäure die beste Löslichkeit für Hydrocortison auf. In IPP löste sich am wenigsten, wobei sich nur eine geringe Differenz zu IPM ergab. Jedoch liegen alle drei Ergebnisse noch unter dem Wert für die Wasserlöslichkeit, der in der Literatur als sehr gering bezeichnet wird [147]. Als Ausweg kann bei diesem Problem der Zusatz von Propylenglycol angesehen werden. So löst sich in einer 1:1 Wasser-PG-Mischung etwa die 8-fache und in reinem Propylenglycol die 40-fache Menge Hydrocortison verglichen mit Wasser.

Tab. 3: Sättigungslöslichkeiten von Hydrocortison ($\bar{x} \pm SD$, n=9)

Testmedien	Sättigungslöslichkeit (mg/ml)
IPM	0,227 ± 0,013
IPP	0,192 ± 0,008
Ölsäure	0,325 ± 0,061
Wasser	0,371 ± 0,018
Wasser-PG 1:1	2,932 ± 0,108
PG	14,666 ± 0,265

In einer weiteren Untersuchung wurde die Sättigungslöslichkeit in fertigen Mikroemulsionen in gleicher Weise bestimmt (Tab. 4). Dabei wies das ölsäurehaltige System (ME-OA) das beste Ergebnis auf. Es konnte von den getesteten Vehikeln die größte Arzneistoffmenge solubilisieren. Auffällig ist, dass die Löslichkeit in der

Mikroemulsion fast viermal so hoch ist wie der Wert, der sich durch anteilmäßige Addition der Löslichkeiten in der hydrophilen und lipophilen Phase ergibt. Scheinbar resultiert dieser Zugewinn an Solubilisierungskapazität aus dem relativ hohen Tensidanteil von 20 %, denn auch bei der IPM- und IPP-haltigen Mikroemulsion lässt sich gleiches Verhalten beobachten. Dafür überraschen die deutlichen Differenzen zwischen den Löslichkeiten in den einzelnen Mikroemulsionen, die sich lediglich in der Natur der 5 %igen Ölphase unterscheiden. Das deutet darauf hin, dass nicht der Tensidgehalt allein, sondern das komplexe Zusammenspiel der Komponenten der Mikroemulsion für deren hervorragende Solubilisierungseigenschaften verantwortlich ist.

Die vorgenommenen Variationen der äußeren Phase führten zu einer Verringerung der Konzentration an Hydrocortison im Gesamtsystem. Die Abnahme der Löslichkeit bei Erhöhung des Wasser-PG-Verhältnisses auf 2:1 ließ sich nach den in Tab. 3 enthaltenen Ergebnissen bereits vermuten. Auch der Zusatz von Glycerol zur wässrigen Phase hat geringere Sättigungskonzentrationen zur Folge.

Tab. 4: Sättigungslöslichkeiten von Hydrocortison in verschiedenen Mikroemulsionen ($\bar{x} \pm SD$, n=9)

Komponenten der Mikroemulsion		Abk.	Sättigungslöslichkeit (mg/ml)
Ölphase (5 %)	hydrophile Phase (75 %)		
IPM	Wasser/PG 1:1	ME-IPM	5,407 ± 0,057
IPP	Wasser/PG 1:1		4,629 ± 0,289
Ölsäure	Wasser/PG 1:1	ME-OA	7,956 ± 0,743
IPM	Wasser/PG/Glycerol 1:1:1	ME-Gly	3,673 ± 0,281
IPP	Wasser/PG 2:1		2,795 ± 0,143

Drei dieser Mikroemulsionen sollten zu weiterführenden Untersuchungen wie der Durchführung von Liberationstestungen dienen. Dazu wurden neben dem IPM-haltigen Standardsystem (ME-IPM) die wegen der höchsten Solubilisierungskapazität prädestinierte ölsäurehaltige ME-OA und die mit glycerol-modifizierter hydrophiler Phase ME-Gly ausgewählt.

5.2 Untersuchungen zur Liberation von Hydrocortison

Mit Hilfe von *In-vitro*-Liberationsuntersuchungen lassen sich Wechselwirkungen zwischen Arzneistoff und Grundlage unbeeinflusst von möglichen Hauteffekten quantifizieren. Bei der Entwicklung von Vehikelsystemen sind diese Ergebnisse ein sehr wichtiges Kriterium zur Beurteilung der Qualität einer Formulierung, denn die Freisetzung aus der Arzneiform darf bei der Therapie nicht zum geschwindigkeitsbestimmenden Schritt werden.

5.2.1 Das Mehrschichtmembranmodell

Zur Testung der *In-vitro*-Liberation von Hydrocortison aus den Mikroemulsionen fand das Mehrschichtmembranmodell (MSMM) Verwendung, dessen Aufbau in Kap. 8.5 beschrieben ist. Im Unterschied zu anderen Freisetzungsmoellen muss der Arzneistoff nicht durch eine Membran in einen flüssigen Akzeptor diffundieren, sondern die Membran selbst fungiert als Aufnahmemedium. Sie besteht aus Collodium als Matrix, in die der vom jeweils untersuchten Arzneistoff abhängige Akzeptor eingelagert ist. Für Hydrocortison wurde aufgrund seiner Lipophilie Dodecanol verwendet. Zur Untersuchung hydrophiler Arzneistoffe ist Glycerol als Akzeptor zu bevorzugen. Die Kombination mehrerer übereinandergeschichteter Membranen gestattet eine stärkere Differenzierung und somit die Erfassung eines Konzentrationsprofils innerhalb des Modells. Damit wird eine bessere Annäherung an reale Hautverhältnisse erhalten. Die Durchführung der Testungen unter *Finite-dose*-Bedingungen ermöglicht Aussagen zum Verhalten des Arzneistoffs bei Applikation der Formulierung in klinisch relevanten Dosierungen von 2-3 mg/cm² Hautfläche.

PISTORIUS untersuchte, inwiefern das MSMM zur Testung der Freisetzung von Arzneistoffen aus Mikroemulsionen geeignet ist [153]. Als Vergleich dazu diente ein Liberationsmodell mit wässrigem Akzeptor, der durch eine Membran von der Formulierung abgegrenzt ist. Dabei waren bereits innerhalb von 1 min nach Auftragen der Mikroemulsion auf die Membran Trübungserscheinungen zu beobachten. Diese lassen sich mit der Aufnahme von Wasser begründen, das aus dem Akzeptor durch die Membran diffundiert. Die resultierende Verschiebung der Phasenlage kann dazu führen, dass sich keine Mikroemulsionen mehr bilden. Da die entstehenden zweiphasigen Systeme wahrscheinlich andere Liberationseigenschaften aufweisen, kann mit diesem Modell eine korrekte Untersuchung der Freisetzung aus Mikroemulsionen nicht vorgenommen werden. Dagegen zeigten die im MSMM applizierten Mikroemulsionen optisch keine Veränderungen. Die von PISTORIUS bei der Untersuchung von W/O-Mikroemulsionen verwendete wassergetränkte Nephrophanmembran zur Abgrenzung von Formulierung und Akzeptor erwies sich bei der Testung von O/W-Mikroemulsionen als unnötig. Die Applikation konnte direkt auf die oberste Dodecanolmembran erfolgen. Damit war auch ein unmittelbarer Vergleich der Ergebnisse der Mikroemulsionen mit denen der klassischen Vehikelsysteme möglich.

Berechnung der nötigen Membranzahl

Eine wichtige Voraussetzung zum Erreichen optimaler Liberationsergebnisse ist das Vorliegen von *Sink*-Bedingungen. Um das zu gewährleisten, kann die Art und Anzahl der verwendeten Membranen in Abhängigkeit von der Löslichkeit des jeweiligen Arzneistoffs variiert werden.

Für Hydrocortison ergibt sich auf der Basis der bei 32 °C ermittelten Sättigungslöslichkeit von 3,44 mg/ml für eine 2 %ige Dodecanolmembran eine maximale Aufnahmekapazität

von 55,25 µg Arzneistoff. Folglich wären nach Applikation von 10 mg einer 0,5 %igen Formulierung für die Gewährleistung von *Sink*-Bedingungen mit einer maximalen Akzeptorbelegung von 10 % theoretisch 9 Membranen nötig. Durch Erhöhung des Dodecanolgehalts der Membran auf 4 % konnte diese Anzahl auf 4,5 gesenkt werden. Ein weiterer Anstieg der Dodecanolmenge stößt auf herstellungsbedingte Schwierigkeiten. Nach BENDAS ist eine Steigerung der Aufnahmekapazität für Arzneistoffe durch erhöhte Membrananzahl jedoch nur bis zu einer Akzeptorerweiterung auf drei Membranen möglich, bei höherer Anzahl waren keine Unterschiede hinsichtlich der Gesamtliberation mehr feststellbar [16]. KNORST kam bei Untersuchungen zur Harnstoffliberation zu dem gleichen Ergebnis [99]. Deswegen wurden für die folgenden Untersuchungen zur Liberation von Hydrocortison drei Dodecanolmembranen verwendet. Das entspricht bei 0,5 %igen Vehikeln einer Akzeptorauslastung von 15 % für den Fall einer vollständigen Freisetzung. Für die zum Vergleich getesteten klassischen Vehikel mit 1 % Hydrocortison resultiert eine Akzeptorbelegung von maximal 30 %. Im Hinblick auf erfolgreich durchgeführte frühere Liberationsuntersuchungen mit höherer Akzeptorauslastung stellt diese Variante einen vertretbaren Kompromiss zwischen theoretisch Nötigem und praktisch Möglichem dar.

5.2.2 Freisetzung aus Mikroemulsionen

Die Testung der *In-vitro*-Liberation von Hydrocortison erfolgte aus den drei anhand von Löslichkeitsuntersuchungen in Kap. 5.1.3 ausgewählten Mikroemulsionen nach der in Kap. 8.5 beschriebenen Methode. In das IPM-haltige Standardsystem ME-IPM wurde der Arzneistoff in einer Konzentration von 0,5 % eingearbeitet. Dieser Gehalt liegt nur geringfügig unter der in Tab. 4 beschriebenen Sättigungskonzentration. Deswegen kann von einer hohen thermodynamischen Aktivität des Arzneistoffs im Vehikel ausgegangen werden. Außerdem liegt dieser Gehalt im klinisch relevanten Konzentrationsbereich. Auch die zweite ausgewählte Mikroemulsion ME-OA, die statt IPM als lipophile Phase Ölsäure enthält, wurde auf einen Hydrocortisongehalt von 0,5 % eingestellt. Das dritte untersuchte System ME-Gly mit einer Mischung aus gleichen Anteilen Wasser, PG und Glycerol als äußere Phase kann nach den in Tab. 4 dargestellten Ergebnissen weniger Hydrocortison solubilisieren, so dass der Arzneistoff in einer Konzentration von 0,35 % inkorporiert wurde. Diese liegt ebenfalls nur gering unter der Sättigungslöslichkeit.

In Abb. 18 sind die Ergebnisse der Liberation von Hydrocortison aus diesen drei Mikroemulsionen dargestellt. Darin wird deutlich, dass die Menge des freigesetzten Arzneistoffs aus ME-IPM bis zu 100 min nach Applikation ansteigt. Dann sind ca. 90 % aus dem Vehikel diffundiert, ein Anteil, der auch bei längerer Versuchsdauer nicht mehr gesteigert werden kann. Die beiden modifizierten Systeme ME-OA und ME-Gly erreichen bereits nach 30 min ihr Liberationsmaximum bei einem freigesetzten Hydrocortisonanteil zwischen 75 und 80 % der applizierten Dosis. Beide Mikroemulsionen zeigen vergleichbare prozentuale Freisetzungsraten. Das bedeutet jedoch, dass aus ME-Gly

aufgrund der niedrigeren Ausgangskonzentration eine geringere Hydrocortisonmenge als aus ME-OA verfügbar ist. Im Vergleich zu ME-IPM weist ME-Gly sowohl initial als auch nach längeren Versuchszeiten schlechtere Liberationsergebnisse auf. Nach 100 und 300 min wird aus ME-IPM auch signifikant mehr Wirkstoff als aus ME-OA freigesetzt.

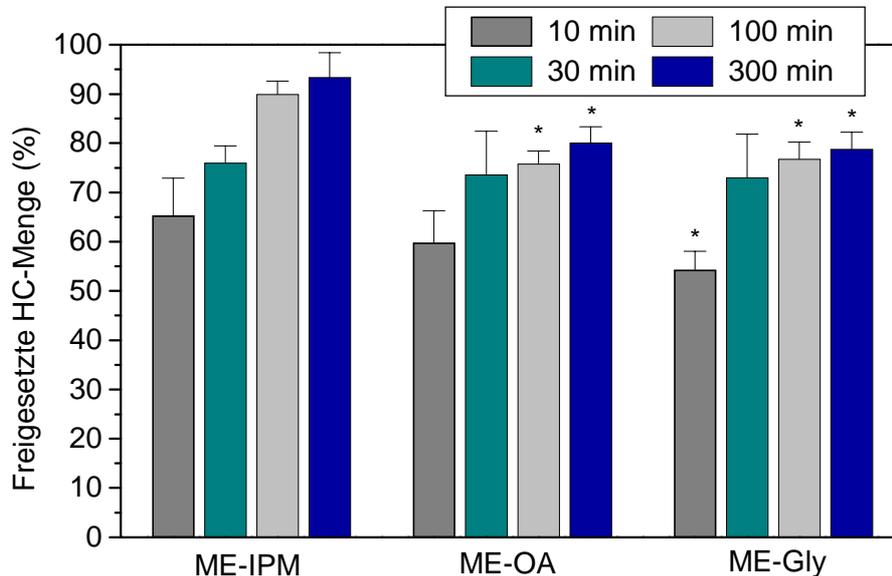


Abb. 18: Liberation vom Hydrocortison aus der Grundmikroemulsion ME-IPM und zwei modifizierten Systemen ($\bar{x} \pm SD$, $n=5$), * signifikant gegenüber ME-IPM, $p < 0,05$)

Obwohl bei den drei untersuchten Mikroemulsionen zwischen dem Standardsystem mit der höchsten Liberationsrate und dem mit Glycerol modifizierten Vehikel, das die geringste Arzneistoffmenge freisetzt, eine gewisse Differenzierung vorgenommen werden kann, sind die Liberationsergebnisse aller drei getesteten Formulierungen als sehr gut zu bewerten. Ein Grund dafür ist in der hohen thermodynamischen Aktivität der Systeme zu sehen. ME-IPM und ME-Gly sind annähernd mit Hydrocortison gesättigt. Möglicherweise schneidet ME-OA, dessen Solubilisierungskapazität nur zu etwa 60 % ausgelastet ist, deswegen bei den längeren Versuchszeiten schlechter ab als ME-IPM.

Wegen der limitierten Möglichkeiten zur Durchführung von Penetrationsversuchen an exzidiert Humanhaut musste exemplarisch eines dieser drei Systeme für die vergleichenden Untersuchungen mit klassischen Salbengrundlagen ausgewählt werden. Ausschlaggebend für die Entscheidung zugunsten des Systems ME-IPM waren letztlich dessen überzeugende Liberationsergebnisse.

5.2.3 Freisetzung aus kommerziellen Produkten

Neben diesen drei Mikroemulsionen wurden zum Vergleich auch vier kommerziell erhältliche Produkte hinsichtlich ihrer Hydrocortisonfreisetzung getestet. Dabei erfolgte eine gezielte Auswahl von Präparaten mit sehr guter therapeutischer Wirksamkeit. Alle sind zugleich harnstoffhaltig, was einen penetrationssteigernden Effekt für Hydrocortison mit sich bringt (siehe Kap. 2.4).

Hydrodexan[®] ist eine abwaschbare Creme mit geringem Wassergehalt und Hydrodexan[®] S eine wasserfreie Salbe auf der Basis von Vaseline. Beide enthalten 1 % Hydrocortison und 10 % Harnstoff als wirksame Bestandteile. Calmurid[®] HC als Vertreter der O/W-Emulsionen verfügt neben diesen beiden Komponenten in gleicher Menge zusätzlich über einen Gehalt von 5 % Milchsäure. Die Creme Nubral[®] 4 HC, ebenfalls vom O/W-Typ, ist mit 0,5 % Hydrocortison am niedrigsten konzentriert. Außerdem sind 4 % Harnstoff und 4 % Natriumchlorid enthalten, die einen synergistischen Effekt hinsichtlich der Erhöhung der Wasserbindungskapazität der Haut ausüben. Diese Creme lässt sich aufgrund der gleichen Dosierung am besten mit den untersuchten Mikroemulsionen vergleichen.

Abb. 19 zeigt die Ergebnisse der Liberationsuntersuchungen dieser vier Präparate. Hydrodexan[®] S weist bereits 30 min nach Applikation eine Hydrocortisonfreisetzung von über 70 % der applizierten Dosis auf. Dieser Wert ist sehr hoch und steigt auch nach längerer Versuchsdauer nicht mehr signifikant an. Im Gegensatz dazu zeigt Hydrodexan[®] eine deutlich verzögerte Liberation. Nach 30 min sind weniger als 50 % Arzneistoff freigesetzt. Dafür steigen die Werte über die gesamte Versuchsdauer an, so dass nach 300 min ca. 95 % des Hydrocortisons aus dem Vehikel diffundiert sind. Ähnliches Verhalten wurde für Calmurid[®] HC festgestellt. Auch bei dieser Creme steigt die Freisetzung über den gesamten Versuchszeitraum an, wobei anfänglich höhere Werte erreicht werden. Nubral[®] 4 HC zeigt ähnliches Liberationsverhalten wie Hydrodexan[®] S. Bereits nach 30 min ist mit über 80 % fast die gesamte verfügbare Arzneistoffmenge freigesetzt.

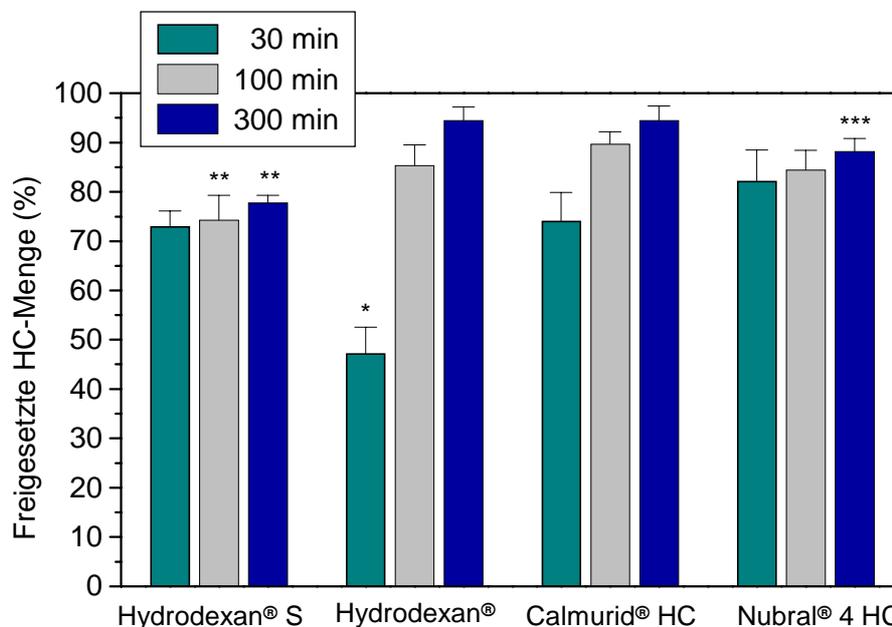


Abb. 19: Liberation von Hydrocortison aus vier kommerziellen Präparaten ($\bar{x} \pm SD$, n=5)

* signifikant gegenüber Hydrodexan[®] S, Calmurid[®] HC und Nubral[®] 4 HC, $p < 0,05$

** signifikant gegenüber Hydrodexan[®], Calmurid[®] HC und Nubral[®] 4 HC, $p < 0,05$

*** signifikant gegenüber Calmurid[®] HC und Nubral[®] 4 HC, $p < 0,05$

Ein Vergleich der vier Präparate untereinander zeigt nach 30 min eine signifikant schlechtere Hydrocortisonfreisetzung aus Hydrodexan[®] als aus den drei anderen Vehikeln. Doch bereits nach 100 min präsentiert sich ein anderes Bild, dann weist Hydrodexan[®] S den geringsten Wert der vier Formulierungen auf. Nach einer Gesamtversuchszeit von 300 min sind aus Hydrodexan[®] und Calmurid[®] HC die signifikant größten Mengen Arzneistoff freigesetzt worden.

Eine verallgemeinernde Aussage zum Verhalten von Hydrocortison in lipophilen und hydrophilen Grundlagen lässt sich aus diesen Ergebnissen nicht ableiten. Die beiden O/W-Cremes Calmurid[®] HC und Nubral[®] 4 HC differieren leicht hinsichtlich des zeitlichen Verlaufes der Arzneistofffreisetzung. Größere Unterschiede diesbezüglich lassen sich zwischen den beiden lipophileren Grundlagen, der Creme Hydrodexan[®] und der Salbe Hydrodexan[®] S, feststellen.

Bei diesem Vergleich muss jedoch berücksichtigt werden, dass Nubral[®] 4 HC nur die halbe Arzneistoffkonzentration der anderen Präparate besitzt. Das bedeutet, dass bei gleicher prozentualer Freisetzungsrate und gleicher applizierter Menge die zur Verfügung stehende Hydrocortisonkonzentration um die Hälfte geringer ausfällt.

Zusammenfassend kann eingeschätzt werden, dass alle vier getesteten Präparate über gute bis sehr gute Freisetzungseigenschaften verfügen. Folglich kann bei allen Formulierungen vorausgesetzt werden, dass die Liberation des Arzneistoffs nicht den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Penetration darstellt.

Bei der Auswahl von zwei der vier Präparate für weiterführende Penetrationsuntersuchungen wurde von den beiden O/W-Cremes aufgrund der besser mit der Mikroemulsion vergleichbaren Hydrocortisonkonzentration Nubral[®] 4 HC ausgewählt. Auch die anfänglich höhere Arzneistofffreisetzung, die von größerer praktischer Relevanz ist als der 300 min-Wert, spricht für diese Formulierung. Von den beiden lipophilen Grundlagen fiel die Wahl auf die wasserfreie Salbe Hydrodexan[®] S, die der Creme Hydrodexan[®] hinsichtlich der initialen Arzneistofffreisetzung deutlich überlegen ist.

5.3 Untersuchungen zur Penetration von Hydrocortison in exzidierte Humanhaut

5.3.1 Die Diffusionszelle nach FRANZ

Die Penetrationsuntersuchungen an exzidiierter Humanhaut erfolgten nach der in Kap. 8.6 beschriebenen Methode mit Hilfe von Diffusionszellen nach FRANZ [64]. Mit diesem Modell durchgeführte Studien weisen eine gute Korrelation zu *In-vivo*-Ergebnissen auf, so dass die Versuchsanordnung heute als Standard für derartige Testungen angesehen wird. Die Anwendung der *Finite-dose*-Technik ermöglicht im Unterschied zu anderen Modellen die Applikation von praktisch relevanten Mengen der jeweiligen Formulierung. Dabei wird jedoch keine *Steady-state*-Diffusion mit konstanten Fluxraten erreicht [65].

Die Einhaltung von *Sink*-Bedingungen im Akzeptor kann bei Durchführung der Penetrationsversuche unter *Finite-dose*-Bedingungen für alle drei untersuchten Vehikel gewährleistet werden.

Bei Verwendung von Humanhaut ergibt sich nicht nur das Problem der Verfügbarkeit. Auch erschwert die große inter- und intraindividuelle Variabilität des biologischen Materials die Ergebnisauswertung. Diese Schwankungen sollten durch Verwendung von Hautstücken gleicher Körperareale (Mammahaut) ausschließlich weiblicher Probanden mit möglichst geringen Altersdifferenzen minimiert werden.

Die Untersuchung der Penetration innerhalb verschiedener Zeiträume (30 und 300 min, bei der Mikroemulsion zusätzlich 100 min) gestattet Aussagen über das Verhalten der Systeme in der Initialphase sowie nach Langzeitapplikation. Im Folgenden sollen die in einzelne Hautschichten diffundierten Anteile der applizierten Arzneistoffmenge (Angaben in % der applizierten HC-Menge) sowie die dort vorliegenden Konzentrationen (Angaben mM bzw. μM) eingeschätzt und bewertet werden. Zusätzlich wurde der Hydrocortisongehalt im Akzeptor in die Auswertung einbezogen, wobei aus diesem Wert allein nicht automatisch eine Aussage über transdermale Effekte *in vivo* abgeleitet werden kann. Diese Daten sollen eher als Ergänzung der Ergebnisse der einzelnen Hautschichten betrachtet werden und deren Interpretation erleichtern.

5.3.2 Ergebnisse der Penetrationsuntersuchungen

Eine graphische Darstellung der aus der ausgewählten Mikroemulsion ME-IPM in die einzelnen Hautschichten diffundierten Mengen an Hydrocortison zeigt Abb. 20. Der Hauptanteil des penetrierten Arzneistoffs konnte im Stratum corneum und im Akzeptor lokalisiert werden. Dort wurden jeweils zwischen 6 und 12 % der applizierten Menge nachgewiesen. Eine Betrachtung des zeitlichen Verlaufs zeigt für beide Kompartimente keine Unterschiede zwischen kurzen und langen Penetrationszeiten. Innerhalb der Hornschicht ist ein ausgeprägtes Konzentrationsgefälle zu erkennen. Bei allen Versuchszeiten befindet sich ca. die Hälfte der im Stratum corneum nachgewiesenen Hydrocortisonmenge in den ersten beiden Abrissen (Abb. 21a). Eine um Größenordnungen geringere Menge an penetriertem Arzneistoff wurde in Epidermis und Dermis gefunden. Dabei weisen diese beiden lebenden Hautschichten vergleichbare Hydrocortisonkonzentrationen auf (Abb. 21b), was aufgrund der größeren Dicke der Dermissschicht einem höheren Anteil in Bezug zur applizierten Menge entspricht.

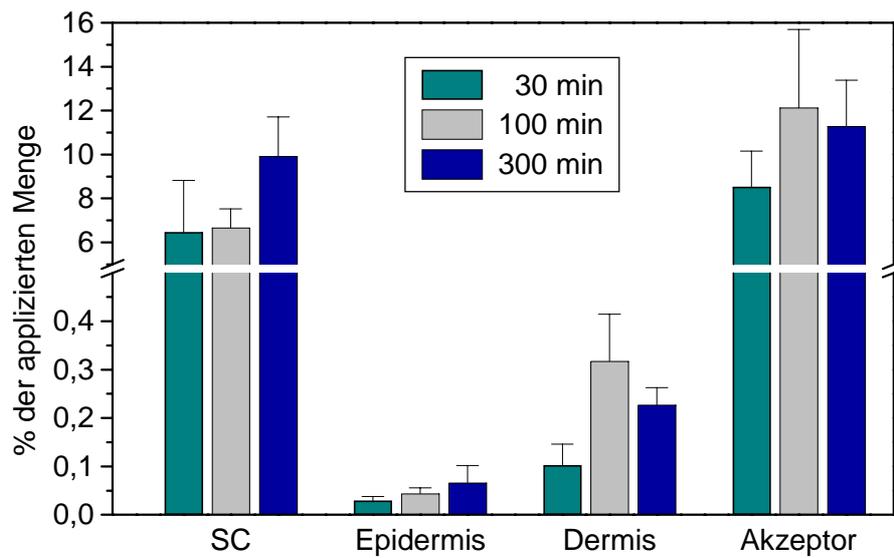


Abb. 20: Penetration von Hydrocortison aus der Mikroemulsion in exzidierte Humanhaut ($\bar{x} \pm SD$, n=3)

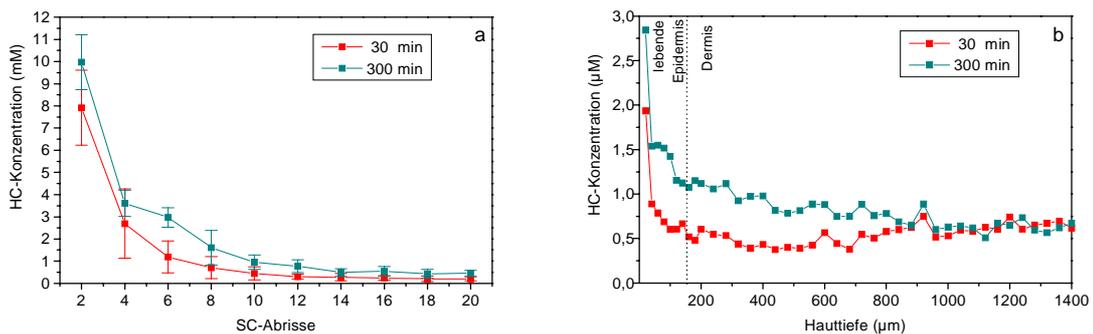


Abb. 21: Verteilung des penetrierten Hydrocortisons im Stratum corneum (a) sowie in Epidermis und Dermis (b)

In Abb. 22 ist die Verteilung der aus Nubral[®] 4 HC in Humanhaut penetrierten Anteile an Hydrocortison dargestellt. Erwartungsgemäß befinden sie sich hauptsächlich im Stratum corneum, wobei sich innerhalb dieser Hautschicht ebenfalls ein zeitlich konstantes Konzentrationsgefälle nachweisen lässt (Abb. 23a). Während nach 30 min kaum Unterschiede zwischen den beiden lebenden Hautschichten feststellbar waren, bildete sich mit zunehmender Versuchsdauer ein Konzentrationsgradient zwischen Epidermis und Dermis heraus, der auf eine langsame, aber stete Diffusion von Hydrocortison aus dem Depot im Stratum corneum hindeutet (Abb. 23b). Im Unterschied zur Mikroemulsion gelangen nur geringe Mengen bis in den Akzeptor. Der Anteil des dort gefundenen Hydrocortisons liegt in der Größenordnung der in den lebenden Hautschichten detektierten Mengen und ist im Lang- und Kurzzeitversuch nicht unterschiedlich.

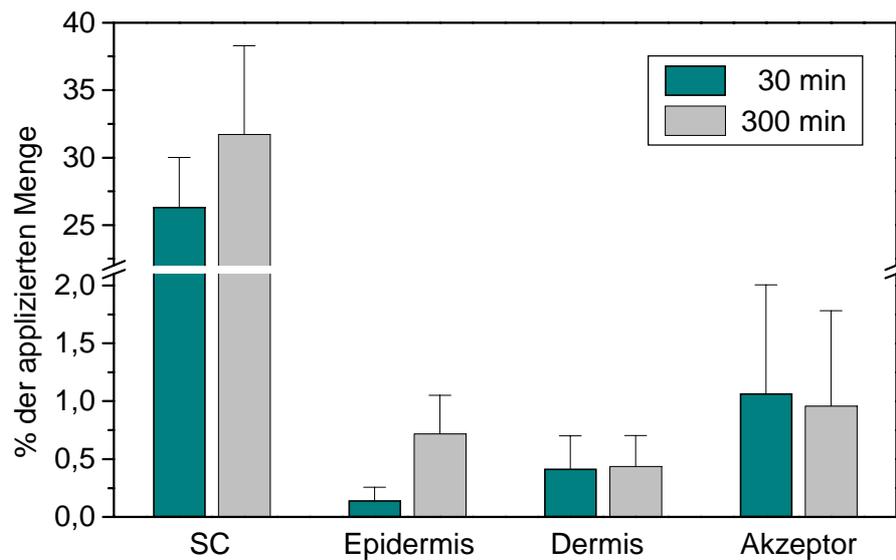


Abb. 22: Penetration von Hydrocortison aus Nubral[®] 4 HC in exzidierte Humanhaut ($\bar{x} \pm SD$, n=3)

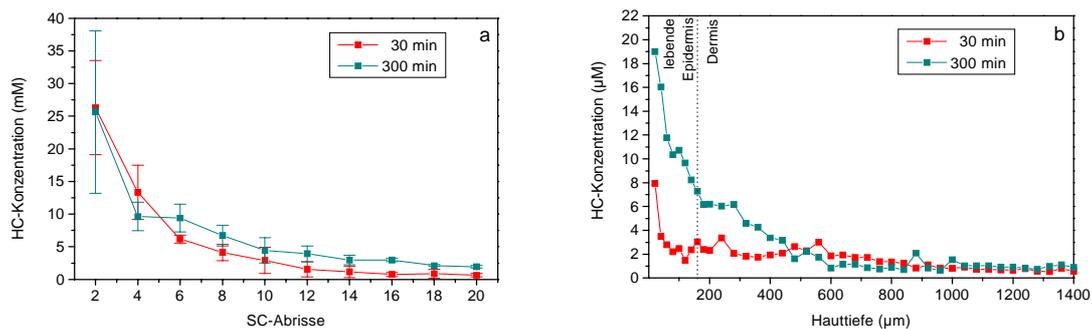


Abb. 23: Verteilung des penetrierten Hydrocortisons im Stratum corneum (a) sowie in Epidermis und Dermis (b)

Die Ergebnisse der Hydrocortisonpenetration aus Hydrodexan[®] S verdeutlicht Abb. 24. Die Verteilung in den einzelnen Hautschichten zeigt einen ähnlichen Trend wie bei Nubral[®] 4 HC. Von dem insgesamt penetrierten Anteil von ca. 20 % der Ausgangsdosis konzentrierten sich im Stratum corneum sowohl nach 30 als auch nach 300 min über 90 %, wovon sich ca. die Hälfte in den ersten beiden Abrissen befand (Abb. 25a). Auch bei Hydrodexan[®] S lag die im Akzeptor detektierte Menge um eine Zehnerpotenz unter dem Wert des Stratum corneum. Zwischen Epidermis und Dermis wurden im Unterschied zu Nubral 4 HC keine deutlichen Konzentrationsunterschiede festgestellt (Abb. 25b).

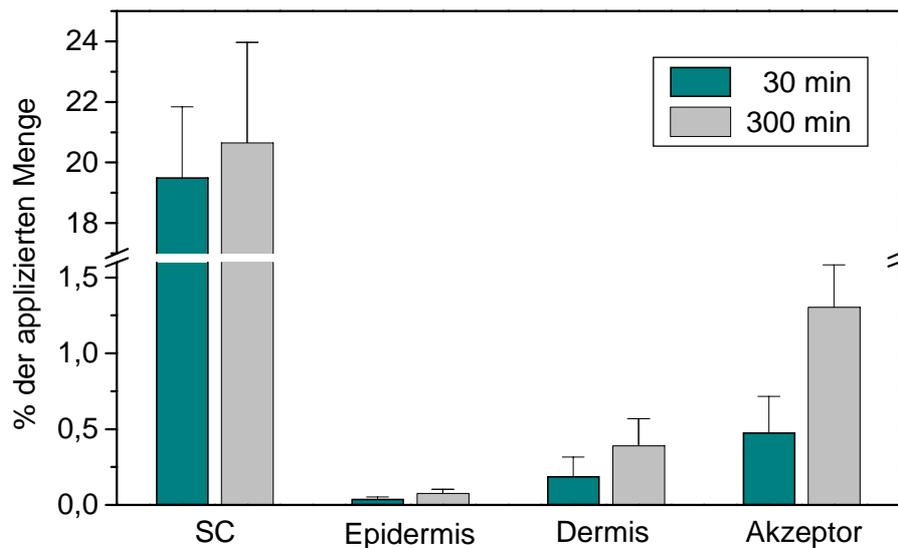


Abb. 24: Penetration von Hydrocortison aus Hydrodexan[®] S in exzidierte Humanhaut ($\bar{x} \pm SD$, n=3)

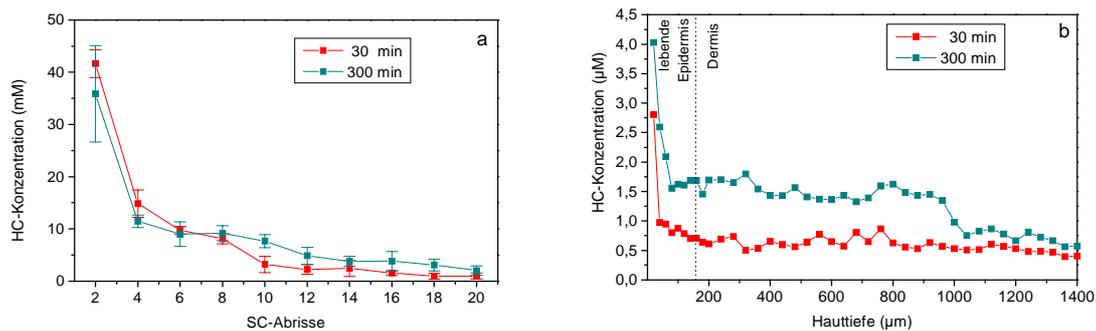


Abb. 25: Verteilung des penetrierten Hydrocortisons im Stratum corneum (a) sowie in Epidermis und Dermis (b)

Die folgenden Abbildungen zeigen einen Vergleich zwischen den drei untersuchten Vehikeln hinsichtlich der Hydrocortisonkonzentration in den einzelnen Hautschichten. Der Schwerpunkt dieser Betrachtungen soll auf einer Gegenüberstellung der Ergebnisse der Mikroemulsion und der Creme Nubral[®] 4 HC liegen. Die höhere Konzentration an Hydrocortison in Hydrodexan[®] S erschwert einen direkten Vergleich, trotzdem lassen sich einige Tendenzen ableiten.

Im Stratum corneum (Abb. 26a) wurden nach Applikation der beiden kommerziellen Präparate höhere Konzentrationen im Vergleich zur Mikroemulsion nachgewiesen, wobei sich keine Unterschiede zwischen 30 und 300 min feststellen ließen. Hydrodexan[®] S zeigte im Vergleich zu Nubral[®] 4 HC zwar etwas geringere prozentuale Mengen im Stratum corneum, was jedoch aufgrund des unterschiedlichen Ausgangsgehalts höheren Konzentrationen entspricht.

Auch in der Epidermis (Abb. 26b) wurden nach Auftragen der Mikroemulsion geringere Hydrocortisonkonzentrationen als bei den beiden klassischen Vehikeln gefunden. Nubral® 4 HC unterscheidet sich durch einen deutlichen Anstieg des Wirkstoffgehalts zwischen dem 30- und 300-min-Versuch von der Mikroemulsion und Hydrodexan® S.

Ein Vergleich der Arzneistoffkonzentrationen in der Dermis (Abb. 26c) zeigt nach 30 min kaum Unterschiede zwischen den drei Vehikeln. Bei längerer Versuchszeit von 300 min ist nur bei Hydrodexan® S ein leichter Konzentrationsanstieg feststellbar.

Bei Betrachtung der in den Akzeptor (Abb. 26d) permeierten Hydrocortisonmengen fallen deutliche Unterschiede zwischen der Mikroemulsion und den beiden kommerziellen Präparaten auf. Die nach Applikation von ME-IPM detektierten Mengen sind ca. zehnmal größer, wobei die Ergebnisse der beiden Versuchszeiten nicht differieren.

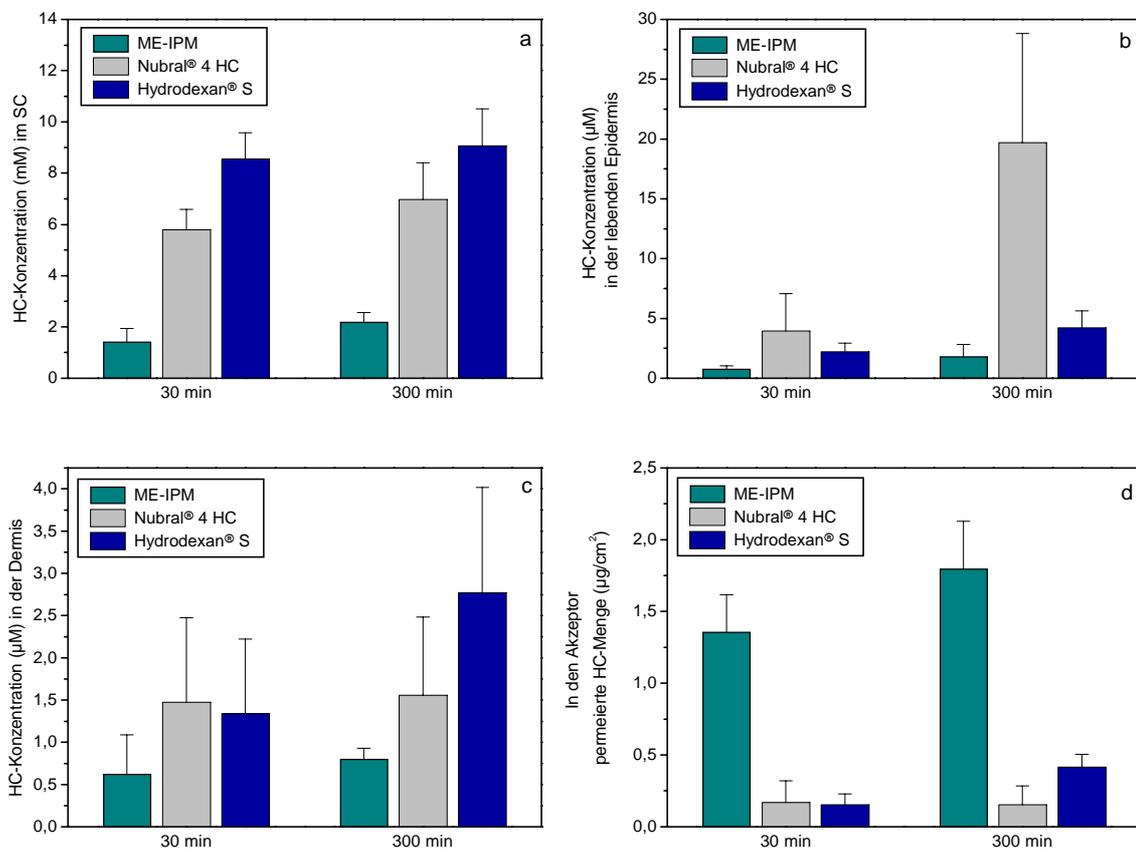


Abb. 26: Vergleich der HC-Konzentrationen in Stratum corneum (a), lebender Epidermis (b) und Dermis (c) sowie der in den Akzeptor permeierten HC-Mengen (d) nach Applikation einer Mikroemulsion, Nubral® 4 HC und Hydrodexan® S ($\bar{x} \pm SD$, n=3)

5.3.3 Diskussion der Penetrationsergebnisse

Diese Ergebnisse belegen deutliche Unterschiede zwischen der Mikroemulsion und den klassischen Vehikeln hinsichtlich der Hautpenetration des Modellarzneistoffs. Nach

Applikation von Nubral[®] 4 HC und Hydrodexan[®] S bildet sich im Stratum corneum ein ausgeprägtes Depot für Hydrocortison mit zeitlich konstantem Gehalt, aus dem der Arzneistoff langsam in die lebenden Hautschichten verteilt wird. Während sich im 30-min-Versuch die Konzentrationen in Epidermis und Dermis zwischen beiden Präparaten kaum unterscheiden, ist nach Langzeiteinwirkung von Nubral[®] 4 HC in der lebenden Epidermis eine Anreicherung von Wirkstoff zu erkennen. Offensichtlich verteilt sich Hydrocortison mit zunehmender Zeit stärker aus der Hornschicht in die Epidermis. Die Penetration in die Dermis und den Akzeptor nehmen jedoch nicht weiter zu, denn diese Konzentrationen steigen zwischen 30 und 300 min nicht mehr an. Die Hautpenetration von Hydrocortison aus Nubral[®] 4 HC kann folglich als über die Initialphase hinausgehend, aber mit relativ geringer Eindringtiefe charakterisiert werden. Für Hydrodexan[®] S können in Epidermis, Dermis und Akzeptor geringfügige zeitliche Konzentrationszunahmen beobachtet werden, so dass nach der initialen Verteilung von einem eher langsamen, konstanten und gleichmäßigen zeitlichen Verlauf der Penetration ausgegangen werden kann.

Im Akzeptor werden bei beiden Vehikeln mit weniger als einem Zehntel der im Stratum corneum detektierten Mengen vergleichsweise geringe Konzentrationen erreicht, so dass die Freisetzung aus dem Hornschichtdepot insgesamt als langsam einzuschätzen ist.

Das sich nach Applikation der Mikroemulsion bildende Depot im Stratum corneum ist wesentlich geringer als das der beiden klassischen Systeme. Dafür werden im Akzeptor etwa gleiche prozentuale Anteile wie in der Hornschicht gefunden. Obwohl die nach 30 und 300 min in Epidermis und Dermis detektierten Konzentrationen z. T. etwas geringer als bei den beiden kommerziellen Präparaten sind, ist die Penetrationsrate der Mikroemulsion als wesentlich höher einzustufen. In der Gesamtbilanz müssen die in den Akzeptor diffundierten Mengen mit berücksichtigt werden, da diese Anteile die lebenden Hautschichten bereits passiert haben. Bei der Mikroemulsion sind keine zeitabhängigen Unterschiede erkennbar. Folglich kann ihr eine sehr rasche Arzneistoffpenetration bescheinigt werden.

Dieses Ergebnis korreliert gut mit zahlreichen *in vivo* beschriebenen transdermalen Effekten von Mikroemulsionen, die in Kap 3.4.4 schon ausführlich behandelt wurden. Ebenso erfolgte bereits eine Diskussion möglicher Mechanismen dieses Enhancereffekts. Für die in der vorliegenden Arbeit untersuchte Mikroemulsion spielen wahrscheinlich verschiedene Aspekte für die hervorragende Penetration eine Rolle. Bereits die Anwesenheit von Propylenglycol im Vehikel wirkt sich nachhaltig auf das Transportverhalten aus. In Untersuchungen von BENDAS konnte eine gesteigerte Hydrocortisonpenetration aus Suspensionsgelen in Humanhaut mit zunehmendem Propylenglycolanteil im Vehikel nachgewiesen werden. Als Grund wird ein ausgeprägter *Solvent-drag*-Effekt für Hydrocortison bei Anwesenheit von Propylenglycol diskutiert. Beim lipophileren Corticoid Betamethasonvalerat ist dieser Transport deutlich geringer ausgeprägt [16].

Ergebnisse von SCHNEIDER zum Propylenglycoltransport in exzidierte Humanhaut zeigten eine schnelle initiale Penetration großer Mengen des Enhancers aus Hydrogelen mit 10 % Propylenglycolanteil. Die nach Applikation von reinem Propylenglycol im Stratum corneum detektierten Mengen lagen im vergleichbaren Größenbereich, was auf eine Sättigung der Hornschicht mit Propylenglycol hindeutet. Nach Langzeitapplikation von 300 min zeigten sich jedoch in allen Hautschichten und im Akzeptor deutliche Differenzen zwischen der 10 %igen Formulierung und reinem Propylenglycol. Als Ursache wird eine Donatorentleerung an Propylenglycol beim Hydrogel vermutet, da die Versuche unter *Finite-dose*-Bedingungen stattfanden [182]. Unter der Annahme eines Kotransports von Hydrocortison und Propylenglycol kommt dies auch als mögliche Erklärung dafür in Betracht, dass sich die Hydrocortisonkonzentrationen in der Haut nach Kurz- und Langzeitapplikation von ME-IPM nicht wesentlich unterscheiden. Allerdings kann auch eine Rückdiffusion von Molekülen aus dem Akzeptor nicht sicher ausgeschlossen werden. Neben Propylenglycol trägt vor allem der relativ hohe Tensidanteil in der Mikroemulsion zum verbesserten Arzneistofftransport in die Haut bei. Die penetrationssteigernden Effekte in Kombination mit Propylenglycol wurden bereits in Kap 2.4 erläutert. Größere Tensidkonzentrationen im Vehikel erhöhen auch die Solubilisierungskapazität für Arzneistoffe. Deren Einfluss auf die Freisetzung aus der Arzneiform wird in der Literatur unterschiedlich bewertet. NIEMI et al. berichten bei O/W-Cremes über einen Anstieg der Liberation, wenn die Löslichkeit von Hydrocortison durch steigende Emulgatorkonzentration im Vehikel zunimmt [138]. Dagegen nimmt nach SHAHI und ZATZ der Hydrocortisonflux aus Lösungen durch Maushaut ab, wenn die Löslichkeit durch Erhöhung der Konzentration des Cosolvens Propylenglycol im Vehikel ansteigt [187]. Die relativ hohen Tensidkonzentrationen in der Mikroemulsion ME-IPM tragen wesentlich zu deren hoher Solubilisierungskapazität bei. Die gesamte Hydrocortisonmenge liegt vollständig gelöst vor. Leider ließ sich aus den Informationen der Herstellerfirmen von Nubral® 4 HC und Hydrodexan® S nicht entnehmen, wie hoch der prozentuale Tensidanteil in den beiden Fertigarzneimitteln ist und welcher Anteil des Arzneistoffs gelöst vorliegt. Aufgrund der geringen Löslichkeit von Hydrocortison in vielen Medien und der Tatsache, dass beide Präparate kein Propylenglycol enthalten, ist das Vorliegen von Suspensionssalben zu vermuten. Trotz der normalerweise höheren thermodynamischen Aktivität derartiger Vehikel gegenüber Lösungssystemen erscheint in Analogie zu den Ergebnissen von NIEMI et al. [138] für das schlecht lösliche Hydrocortison die Formulierung mit vollständig gelöstem Arzneistoff günstiger.

Bei den beiden kommerziellen Präparaten Nubral® 4 HC und Hydrodexan® S sind penetrationssteigernde Effekte vor allem durch die Anwesenheit von Harnstoff im Vehikel bedingt. Dessen Enhancerwirkung auf den Transport von Corticoiden in die Haut wurde bereits in Kap. 2.4 beschrieben. Trotz erhöhter Arzneistoffaufnahme in die Haut gegenüber harnstofffreien Präparaten ist die Wirksamkeit von Harnstoff als Penetrationenhancer der Mikroemulsion unterlegen.

Als Vorteil der Mikroemulsion ist auch die geringere Viskosität zu bewerten. Einerseits diffundieren die Arzneistoffmoleküle schneller im bzw. aus dem Vehikel in die Haut. Andererseits ermöglicht das bessere Spreitungsvermögen von Mikroemulsionen ein stärkeres Eindringen der gesamten Formulierung in obere Hautschichten. SCHMALFUß untersuchte die Penetration der Vehikelbestandteile IPM und IPP aus W/O-Mikroemulsionen in exzidierte Humanhaut. Dabei konnten zwischen 6 und 10 % der applizierten Menge im Stratum corneum nachgewiesen werden, während nur minimale Konzentrationen die lebenden Hautschichten erreichten. Innerhalb der Hornschicht befand sich der Hauptanteil in den obersten Zellschichten, dem Stratum corneum disjunctum. Die dort sehr lose Packung der Zellen setzt dem Eindringen flüssiger Vehikelbestandteile nur einen geringen Widerstand entgegen [179].

5.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

In die in Kap. 4.1.2 beschriebene Grundmikroemulsion ließ sich Hydrocortison in einer Konzentration von 0,5 % einarbeiten. Dieses System zeigte sehr gute Ergebnisse hinsichtlich der Arzneistoffliberation. In weiteren Untersuchungen zur Penetration von Hydrocortison in exzidierte Humanhaut wurde die Mikroemulsion mit zwei kommerziellen Produkten, der Creme Nubral[®] 4 HC und der Salbe Hydrodexan[®] S, verglichen. Die Ergebnisse bescheinigen der Mikroemulsion eine deutlich stärkere Penetration des Arzneistoffs in bzw. Permeation durch die Haut. Somit erwies sich das entwickelte Mikroemulsionssystem für die dermale Applikation des Modellarzneistoffs Hydrocortison als sehr gut geeignet und klassischen Vehikelsystemen hinsichtlich der Penetrationsrate überlegen.

6 Lokalanästhetikahaltige Systeme

6.1 Theoretische Grundlagen der perkutanen Lokalanästhesie

Nachdem KOLLER 1884 erstmals die betäubende Wirkung von Cocain bei lokaler Anwendung am Auge beschrieben hatte [101], gewann die Lokalanästhesie bei operativen Eingriffen schnell an Bedeutung. 1905 wurde als erstes synthetisch hergestelltes Lokalanästhetikum Procain in die Therapie eingeführt, das eine deutlich geringere systemische Toxizität als Cocain aufweist. Mit der Synthese von Lidocain 1943 gelang LÖFGREN die Etablierung einer neuen Substanzgruppe, der Amid-Lokalanästhetika. Lidocain besitzt auch heute noch weltweit große Bedeutung, obwohl inzwischen zahlreiche strukturell verwandte Substanzen entwickelt wurden [139].

Für die Aufnahme von Lokalanästhetika durch intakte Haut stellt das Stratum corneum eine effektive Diffusionsbarriere dar, so dass deren lokale Applikation zunächst auf Schleimhäute und verletzte Hautstellen beschränkt war. MONASH beschrieb 1957 erfolgreiche Versuche, eine Lokalanästhesie nach dermalen Applikation an intakter Haut zu erzielen. Er verwendete anstatt der bisher üblichen wasserlöslichen Salzform Lokalanästhetika als freie Base in alkoholischer Lösung und in Salbengrundlagen [129]. Dieser Entdeckung wurde zunächst jedoch wenig Bedeutung beigemessen, da die Kombination von Lokalanästhetika mit Penetrationsenhancern wie DMSO, die die Barriereintegrität des Stratum corneum herabsetzen, sowie die Anwendung hoher Arzneistoffkonzentrationen auch den gewünschten Effekt hervorrufen. Die Entwicklungsarbeit einer schwedischen Forschungsgruppe in den siebziger Jahren führte zur Einführung des ersten kommerziell erhältlichen Produkts, das Lokalanästhetika in Basenform zur perkutanen Anwendung enthält [229].

Das Interesse an transdermalen Lokalanästhesie ist in den letzten Jahren stark angestiegen. Das ist nicht nur der wachsenden Anzahl an minimal invasiven chirurgischen Eingriffen zu verdanken. Auch verschiedene andere schmerzhafte Behandlungen lassen sich nach transdermalen Gabe lokalanästhetisch wirksamer Präparate für den Patienten angenehmer gestalten. Gute Erfolge sind z. B. bei Venenpunktionen [140], der Kürettage von Mollusken [167], der Wundversorgung von Ulcus-cruris-Patienten [81], bei schmerzhaften Lasertherapien [121], der Entnahme von Hautbiopsien [214], retrobulbären Injektionen vor Kataraktoperationen [30], der Allergietestung mittels Prick-Test [2], bei Neuralgieschmerzen nach Herpes-Zoster-Infektionen [169] sowie zahlreichen weiteren Anwendungen beschrieben worden. Von besonderem Interesse ist eine schmerzlose Lokalanästhesie ohne vorherige Injektion in der Pädiatrie.

6.1.1 Kutanes Schmerzempfinden

Die Wahrnehmung äußerer Reize über die Haut geschieht mit Hilfe des engen Geflechts an Nervenfasern, das die gesamte Dermis durchzieht. An den freien Nervenendigungen finden

sich neben Mechano- und Thermorezeptoren auch Nozizeptoren, die eintreffende Schmerzreize registrieren. Die Stimulation dieser Rezeptoren bewirkt eine Depolarisation der bis dahin im Ruhepotential befindlichen Membranen der ableitenden, erregbaren Nervenfasern. Bei Überschreiten eines Schwellenwertes bildet sich ein Aktionspotential aus. Dabei kommt es durch Konformationsänderung des Natriumkanalproteins zur Öffnung dieses im Ruhezustand geschlossenen Ionenkanals. Die Folge ist ein plötzlicher schneller Einstrom von Natriumionen aus dem Extrazellularraum in die Zelle aufgrund des vorhandenen Konzentrationsgefälles. Mit einer gewissen zeitlichen Verzögerung öffnen sich auch die Kaliumkanäle. In dieser Repolarisationsphase kommt es infolge der herrschenden elektrochemischen Gradienten zum Ausstrom von Kaliumionen. Gleichzeitig mit der Öffnung der Kaliumkanäle schließen sich die Natriumkanäle bereits wieder. Erst allmählich folgen die Kaliumkanäle und die Natriumkanäle werden wieder aktivierbar. Ionenpumpen sorgen nach Ablauf des Aktionspotentials für die Rückführung der Ionen, d. h. sie transportieren aktiv Natriumionen aus der Zelle heraus und Kaliumionen in diese hinein.

Die Weiterleitung der Erregungen vom Rezeptor durch die Nervenfasern bis zum Gehirn erfolgt dadurch, dass nach Ausbildung eines Aktionspotentials an der jeweils benachbarten Stelle der Nervenfasern eine Depolarisation der Membran induziert wird. Auf diese Weise breitet sich das Aktionspotential auf der Oberfläche der Nervenfasern aus. Die Geschwindigkeit dieser Ausbreitung und damit der Erregungsleitung differiert in Abhängigkeit vom Bau der Nervenfasern. Dicke, von einer Myelinschicht umhüllte Fasern (A-Fasern) leiten Erregungen schneller als dünne, marklose Fasern (C-Fasern). Afferente, von Schmerzrezeptoren ausgehende Nervenfasern gehören überwiegend zum letzten Typ, während die Erregungen von Hautrezeptoren für Druck und Berührung durch A β -Fasern weitergeleitet werden [201] [220].

6.1.2 Lokalanästhetika

6.1.2.1 Struktur-Wirkungs-Beziehungen

Lokalanästhetika sind Stoffe, die reversibel und örtlich begrenzt die Leitfähigkeit sensibler Nervenfasern herabsetzen. Durch Interaktion mit einer Bindungsstelle an der Membrannenseite des Natriumkanals wird dieser Ionenkanal blockiert, was den Einstrom von Natriumionen und damit die zur Erregungsleitung nötige Ausbildung von Aktionspotentialen verhindert.

Nach Untersuchungen von LÖFGREN zeigen Substanzen mit lokalanästhetischer Wirksamkeit strukturelle Gemeinsamkeiten (Abb. 27). Zur Bindung am Ionenkanal der Nervenmembran sind Substanzen befähigt, die ein lipophiles Ende, meistens aromatischer oder heterozyklischer Natur, und ein hydrophiles Ende, normalerweise in Form einer sekundären oder tertiären Aminogruppe, besitzen. Eine „Zwischenkette“ verbindet die beiden Molekülteile in einem bestimmten Abstand. In Abhängigkeit von deren Struktur

erfolgt die Einteilung der Lokalanästhetika in Ester- und Amidtyp. Beide unterscheiden sich vor allem in der chemischen Stabilität. Während Ester-Lokalanästhetika (z. B. Benzocain, Tetracain) im Plasma rasch durch Pseudocholinesterase gespalten werden, sind Amid-Lokalanästhetika (z. B. Lidocain, Bupivacain) hydrolysestabil. Ihre Metabolisierung erfolgt mit Ausnahme von Prilocain fast ausschließlich in der Leber. Als Derivate der p-Aminobenzoesäure besitzen Ester-Lokalanästhetika ein allergenes Potential.



Abb. 27: Grundstruktur der Lokalanästhetika nach LÖFGREN [117]

Eine Bindung derartiger Strukturen an entsprechende Stellen der Nervenmembran kann durch Wasserstoff-Brückenbindungen, Dipol-Dipol-Wechselwirkungen, van der Waals-Bindungen und Elektrostatische Wechselwirkungen erfolgen.

Die meisten Lokalanästhetika lassen sich in das LÖFGRENSche Schema einordnen. Jedoch existieren auch lokalanästhetisch wirksame Verbindungen anderer Struktur (z. B. der Dodecylalkohol Polidocanol, Thesit[®]) [180] [220].

Viele Lokalanästhetika sind außerdem in der Lage, aufgrund ihrer Struktur Wechselwirkungen mit Biomembranen einzugehen, wodurch deren Permeabilität beeinflusst wird. An der Nervenmembran kann eine derartige unspezifische Membranexpansion mit zur lokalanästhetischen Wirkung beitragen.

An isoliertem humanem Stratum corneum konnte von RÖMMEN et al. mit Hilfe von DSC-Untersuchungen eine Abnahme der Packungsdichte der Lipidbilayer unter Einfluss verschiedener Lokalanästhetika nachgewiesen werden [161]. Das könnte eine Ursache dafür sein, dass Lokalanästhetika die Aufnahme von Corticoiden durch die Haut verbessern. Sowohl an isolierter Rindereuterhaut *in vitro* [163] als auch im Blanching-Test an Probanden [162] konnten für verschiedene Lokalanästhetika unterschiedlich stark ausgeprägte Enhancereigenschaften nachgewiesen werden. Lidocain zeigte dabei die stärksten Effekte [164].

6.1.2.2 Physikochemische Eigenschaften

Die dem LÖFGRENSchen Schema entsprechenden Lokalanästhetika sind chemisch betrachtet schwache Basen. Sie bilden stabile, kristalline Salze, während die Basenform oft ölig oder amorph ist. Für Injektionen werden wegen ihrer guten Wasserlöslichkeit meistens die entsprechenden Hydrochloride verwendet. Dafür sind die Basen besser zur perkutanen Anwendung geeignet, da sie aufgrund ihrer Lipophilie das Stratum corneum besser durchdringen können.

In Abhängigkeit vom **pK_a-Wert** der Substanz stellt sich im physiologischen Milieu ein Gleichgewicht zwischen ionisierter Form und lipophiler Base ein. Während die Bindung am Natriumkanal nur durch die dissoziierte Form dieser Arzneistoffe erfolgen kann, wird

für die Penetration der Substanzen zum Bindungsort die lipophile Base gebraucht. Diese kann sich auch in Membranen einlagern und so eine Blockade von Ionenkanälen durch unspezifische Membranexpansion hervorrufen. Die Wirkungsweise der Lokalanästhetika basiert auf einem Wechselspiel zwischen ungeladener und ionisierter Form. Dabei wird die Geschwindigkeit des Wirkungseintritts vom pK_a -Wert der Arzneistoffe beeinflusst. Dieser liegt bei den meisten Lokalanästhetika zwischen 7,6 und 8,9, so dass im physiologischen Milieu zwischen 65 und 90 % der Substanz in ionisierter Form vorliegen. Je höher der pK_a -Wert, desto geringer ist der Anteil der für eine rasche Penetration nötigen lipophilen Basenform und desto langsamer erfolgt der Wirkungseintritt.

Die lokalanästhetische Wirksamkeit (Potenz) der Arzneistoffe hängt vor allem von der **Lipophilie** des jeweiligen Moleküls ab. Diese lässt sich anhand des Verteilungskoeffizienten beurteilen. Lipophilere Substanzen können nicht nur biologische Membranen schneller durchdringen. Sie weisen auch eine größere Affinität zum Nervengewebe auf und können sich dort verstärkt anreichern. Somit besteht ein direkter Zusammenhang zwischen Lipophilie und lokalanästhetischer Potenz der Arzneistoffe. Daraus leitet sich die Einteilung in gering, mittel und stark wirksame Lokalanästhetika ab.

Die **Proteinbindung** besitzt vor allem hinsichtlich der Wirkdauer Bedeutung. Ein hoher an Plasma- und Membranproteine gebundener Anteil an Arzneistoff hat eine langsamere Elimination und somit eine längere Wirksamkeit zur Folge. Für die Bindung von Lokalanästhetika besitzen vor allem die beiden Plasmaproteine Albumin und saures α -1-Glycoprotein Bedeutung. Letzteres weist eine hohe Affinität bei begrenzter Kapazität auf, während die weniger spezifische Bindung an Albumin mit größerer Bindungskapazität erst bei höheren Lokalanästhetikakonzentrationen erfolgt. Biologische Aktivität besitzt nur der nichtproteingebundene Anteil des Lokalanästhetikums, so dass die Systemtoxizität nicht von der Gesamtkonzentration, sondern nur vom freien Anteil an Arzneistoff im Plasma abhängt [45] [210] [229].

6.1.2.3 *Pharmakologische Wirkungen*

Da Lokalanästhetika an verschiedenen erregbaren Membranen prinzipiell gleichartig wirken, können besonders bei Gabe höherer Dosen neben dem bereits beschriebenen Einfluss auf die Erregungsleitung in nozizeptiven Nervenfasern auch andere Effekte auftreten. Nach Applikation eines Lokalanästhetikums erfolgt zunächst eine Blockade dünner, unmyelinisierter C-Fasern, dann die der schwach myelinisierten A δ -Fasern, die beide der Schmerzleitung dienen. Dieser Vorgang wird als Analgesie bezeichnet. Je dicker die Myelinschicht um die Nervenfasern ist, desto größere Mengen des Lokalanästhetikums werden zu ihrer Blockade benötigt. So tritt bei weiterem Konzentrationsanstieg zunächst eine Anästhesie, d. h. eine Hemmung der für die Weiterleitung von Berührungs- und Druckreizen verantwortlichen A β -Fasern, und später eine Blockade der motorischen Erregungen in den dick myelinisierten A α -Fasern auf. Auch die Anwendung von

Lokalanästhetika höherer Lipophilie kann zu schnellerer motorischer Blockade führen [210].

Die meisten Lokalanästhetika bewirken bei Anwendung in üblichen Konzentrationen eine Vasodilatation, die zu einem schnelleren Abtransport aus dem entsprechenden Gewebe führt. Um das zu minimieren, werden bei Infiltrationsanästhesien häufig Vasokonstriktoren wie Adrenalin zugesetzt, die die Durchblutung im entsprechenden Gewebe herabsetzen.

Die gute Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke für die meisten Lokalanästhetika ermöglicht ein rasches Anfluten im ZNS. Dies steht in direktem Zusammenhang mit der Lipophilie und damit der lokalanästhetischen Potenz der Substanz. Bei zunehmender Überdosierung treten in der Reihenfolge exzitatorische Symptome wie Taubheit von Mund und Zunge, Benommenheit, akustische, visuelle und Sprachstörungen, später Muskelzuckungen bis hin zum Krampfanfall mit Atemlähmung als möglichem Endstadium auf [185].

In höheren Konzentrationen beeinflussen Lokalanästhetika auch das kardiovaskuläre System. Am Herzen wirken sie negativ inotrop. Bedingt durch die auftretende Vasodilatation kann es zum Blutdruckabfall kommen. Häufig treten Störungen der Reizleitung auf, die Arrhythmien bis hin zum AV-Block zur Folge haben können [158].

Mit den genannten zerebralen und kardiovaskulären Nebenwirkungen ist normalerweise bei transdermaler Applikation von Lokalanästhetika und Oberflächenanästhesie auf Schleimhäuten nicht zu rechnen. Die beschriebenen Effekte sind im Rahmen intensivmedizinischer Betreuung bei Leitungsanästhesien oder intravenösen Lokalanästhesien beobachtet worden.

6.1.2.4 *Ausgewählte Lokalanästhetika*

Für die Einarbeitung in Mikroemulsionen wurden im Rahmen dieser Arbeit Substanzen ausgewählt, die eine gute Wirksamkeit im Hinblick auf schnelle und ausreichend tiefe Lokalanästhesie der Haut vermuten lassen. Zusätzlich spielten Aspekte der galenischen Verarbeitung und der Verfügbarkeit bei der Auswahl eine Rolle.

Im Folgenden sollen deswegen nur die Substanzen näher charakterisiert werden, die bei den weiteren experimentellen Arbeiten zum Einsatz kamen..

Lidocain

Lidocain (2-Diethylamino-2',6'-dimethylacetanilid) war nicht nur die erste therapeutisch verwendete Substanz aus der Gruppe der Amid-Lokalanästhetika, sondern ist auch heute noch eines der am häufigsten zur Oberflächen-, Infiltrations- und Leitungsanästhesie eingesetzten Lokalanästhetika. Wegen seiner Wirksamkeit am Herzmuskel findet es auch als Antiarrhythmikum Verwendung.

Lidocain besitzt einen pK_a -Wert von 7,9 und liegt zu ca. 64 % an Proteine gebunden vor. Seine Wirkung setzt schnell ein und ist von mittellanger Dauer (1,5 – 3 h). Mit einem

Verteilungskoeffizienten von 2,9 weist es eine mäßige Lipophilie auf und gehört zu den Stoffen mit mittlerer lokalanästhetischer Potenz.

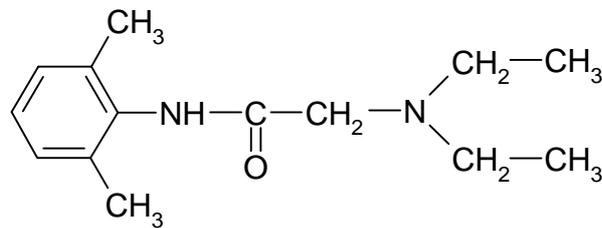


Abb. 28: Strukturformel von Lidocain

Lidocain wird zu über 90 % in der Leber metabolisiert, nur 5-10 % werden unverändert renal ausgeschieden. Aufgrund der vasodilatatorischen Wirkung erfolgt die Injektion ins Gewebe oft unter Zusatz von Adrenalin. Zur Oberflächenanästhesie von Häuten und Schleimhäuten wird Lidocain bzw. Lidocainhydrochlorid meist in Konzentrationen von 2 bis 5 % als wässrige Lösung, Gel oder Salbe verwendet [49] [211].

Prilocain

Prilocain (2'-Methyl-2-propylaminopropionanilid) gehört mit einem pK_a -Wert von 7,9 und einer Proteinbindungsrate von 55 % ebenfalls zu den schnell und mittellang wirksamen Amid-Lokalanästhetika. Obwohl sein Verteilungskoeffizient von 0,9 auf eine weitaus geringere Lipophilie als bei Lidocain hindeutet, weisen beide Substanzen eine vergleichbare lokalanästhetische Potenz auf. Der Grund dafür ist die deutlich geringere vasodilatatorische Aktivität von Prilocain. Diese sorgt für eine vergleichsweise höhere Konzentration im Gewebe, da die Diffusion von der Injektionsstelle ins Blut langsamer erfolgt [220]. Gleichzeitig ist die Plasmakonzentration geringer als nach Gabe vergleichbarer Lidocaindosen. Da Prilocain außerdem die höchste Clearance aller Amid-Lokalanästhetika aufweist, d. h. am schnellsten wieder aus dem Plasma eliminiert wird, ist seine Kardiotoxizität am geringsten [211].

Auch Prilocain unterliegt in hohem Maße dem First-pass-Effekt in der Leber. Der durch Hydrolyse entstehende Metabolit *o*-Toluidin kann zur Methämoglobinbildung führen, wobei toxische Bereiche erst nach Gabe sehr hoher Prilocaindosen in der Leitungsanästhesie erreicht werden [202]. Wie in mehreren Studien mit Neugeborenen nachgewiesen wurde, besteht bei sachgemäßer Applikation von prilocainhaltigen Zubereitungen auf der Haut in dieser Hinsicht keine Gefahr [26] [55].

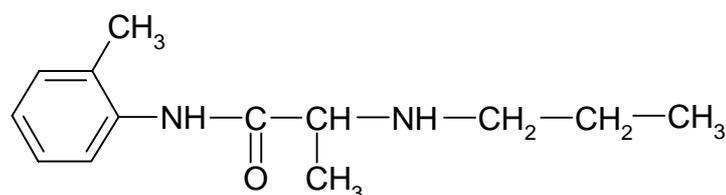


Abb. 29: Strukturformel von Prilocain

Prilocain wird bisher als Hydrochlorid zur Infiltrations- und Leitungsanästhesie in Konzentrationen von 0,5-2 % angewendet. Zur Applikation auf der Haut steht es in Basenform in Kombination mit Lidocain zur Verfügung [49].

Bupivacain

Das ebenfalls zu den Amid-Lokalanästhetika gehörende Bupivacain (D,L-1-Butyl-2',6'-dimethyl-2-piperidincarboxanilid) besitzt eine deutlich größere Lipophilie als Lidocain und gehört mit einem Verteilungskoeffizienten von 27,5 und mit einem proteingebundenen Anteil von 96 % zu den langwirksamen Substanzen. Seine lokalanästhetische Potenz ist vierfach im Vergleich zu Lidocain, die Anschlagzeit dafür länger. Bupivacain besitzt einen pK_a -Wert von 8,1 und liegt damit im physiologischen Milieu zu einem größeren Anteil protoniert vor. Die Blockade motorischer Nerven ist bei Bupivacain vergleichsweise gering ausgeprägt. Diese niedrigere Affinität zu den stärker myelinisierten Fasern ist vor allem durch das Verhältnis von pK_a -Wert zu Lipophilie bedingt [45] [211].

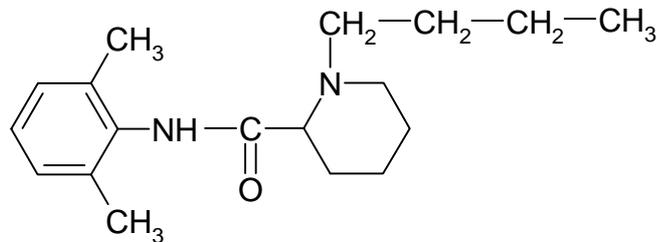


Abb. 30: Strukturformel von Bupivacain

Trotz starker Wirksamkeit in der Oberflächenanästhesie wird Bupivacain bisher nur in der Leitungsanästhesie eingesetzt. Dabei werden 0,25-0,75 %ige Lösungen des Hydrochlorids verwendet [49].

EMLA

Bei Kombination der Basenformen von Lidocain und Prilocain im Masseverhältnis 1:1 entsteht die Eutektische Mischung von Lokal-Anästhetika – **EMLA**. Ein Charakteristikum eutektischer Mischungen ist, dass der Schmelzpunkt einen minimalen Wert erreicht. Dieser beträgt bei EMLA 18 °C und ist damit deutlich niedriger als der von reinem Lidocain (67 °C) und reinem Prilocain (37 °C). Bei Raumtemperatur liegt die Lokalanästhetikamischung folglich als lipophile Flüssigkeit vor. Sie kann ohne weiteren Ölzusatz in einer wässrigen Phase emulgiert werden und besitzt dann eine höhere thermodynamische Aktivität als in einer Ölphase gelöste reine Lokalanästhetika. Nach NYQVIST-MAYER et al. existiert EMLA in einer derartigen O/W-Emulsion in drei Formen: frei gelöst, tensidsolubilisiert und emulgiert. Bei einer EMLA-Konzentration von 5 % liegen 80 % der Mischung in der emulgierten Form vor. Bei einer Lidocainemulsion gleicher Konzentration sind es dagegen nur 20 % [28] [142].

6.1.3 Anwendung von Lokalanästhetika auf der Haut

Gemessen an der Vielzahl in der Literatur beschriebener Versuche und patentierter Methoden, Lokalanästhetika auf der Haut anzuwenden, ist die Anzahl kommerziell erhältlicher Präparate bisher gering. Die derzeit in Deutschland zugelassenen Produkte enthalten meist Lidocainhydrochlorid in verschiedenen Zubereitungen und sind zur Anwendung auf Schleimhäuten vorgesehen. So werden 2 %ige Gele für Endoskopien und urologische Untersuchungen verwendet. 4 %ige wässrige Lösungen stehen für operative und diagnostische Eingriffe im HNO-Bereich zur Verfügung. Lidocain als Base ist in ethanolischer Lösung als Pumpspray sowie als 5 %ige Salbe erhältlich. Beide sind auf Haut und Schleimhaut anwendbar. Das Esterlokanästhetikum Benzocain ist in Mono- und Kombinationspräparaten in Konzentrationen zwischen 5 und 20 % in Form von Creme, Salbe oder Gel für die antipruriginöse Therapie zugelassen. Für diese Indikation existiert auch eine polidocanolhaltige Lotion [168].

Das zur Lokalanästhesie der Haut am besten geeignete und am häufigsten verwendete Präparat ist die EMLA[®] Creme. Sie enthält als wirksame Bestandteile die eutektische Mischung aus Lidocain und Prilocain in 5 %iger Konzentration. Diese beiden lipophilen Komponenten bilden mit Hilfe von Arlatone 289 (hydriertes Macrogolricinoleat) in Wasser eine O/W-Emulsion. Außerdem enthält EMLA[®] Creme zur Viskositätserhöhung 1 % Carbomer 2984 (Carboxypolymethylen). Mit NaOH wird ein pH-Wert von 9 eingestellt und somit die Dissoziation der Lokalanästhetikabasen minimiert [215]. Zusätzlich neutralisiert NaOH die freien Säuregruppen von Carbomer 2984 und verhindert damit mögliche Wechselwirkungen mit den Lokalanästhetikabasen [143]. Um nach Auftragen von EMLA[®] Creme eine ausreichende Lokalanästhesie auf intakter Haut zu erzielen, ist das Abdecken mit einem Okklusivverband und eine etwa einstündige Applikationsdauer erforderlich. Alternativ kann das EMLA[®] Pflaster verwendet werden. Es enthält 1 g der Creme und bewirkt selbst eine Okklusion der Haut, so dass sich ein zusätzlicher Verband erübrigt [5].

In der Literatur sind zahlreiche Untersuchungen mit EMLA[®] Creme beschrieben worden, von denen hier nur einige ausgewählte zitiert werden sollen. Das Produkt basiert auf der von BROBERG und EVERS patentierten eutektischen Mischung von Lidocain und Prilocain [27], die bereits in Kap. 6.1.2.4 charakterisiert wurde. Die von NYQVIST-MAYER et al. durchgeführten Untersuchungen zeigen eine kontinuierliche *In-vitro*-Freisetzung der beiden Lokalanästhetika aus einer einfachen O/W-Emulsion über einen weiten Konzentrationsbereich. Ein Grund dafür ist, dass zwischen frei gelöstem, solubilisiertem und emulgiertem Arzneistoff ein Gleichgewicht besteht. Dieses stellt sich schnell wieder ein, sobald gelöster Arzneistoff in den Akzeptor diffundiert ist, so dass stets eine gesättigte Lösung mit hoher thermodynamischer Aktivität vorliegt. Bei Zusatz des Viskositätserhöhers Carbomer 2984 wird die Freisetzung vehikelkontrolliert und gehorcht

dem Gesetz von HIGUCHI für Suspensionssalben, d. h. die freigesetzte Arzneistoffrate ist proportional zur Quadratwurzel der Zeit [143].

In klinischen Studien am Probanden zeigte sich, dass für eine hinreichende Lokalanästhesie der intakten Haut EMLA-Konzentrationen von 2,5 % nötig sind. Eine Erhöhung auf 5 % verbesserte die Wirksamkeit nicht weiter, während eine 1 %ige Creme signifikant schlechter abschnitt. Eine Okklusionsdauer von 30 min erwies sich als nicht ausreichend, nach 60 min war die Wirkung zufriedenstellend [57]. Eine längere Anwendung führte zu Anästhesie tieferer Hautschichten, wie am Beispiel von Hautbiopsien unterschiedlicher Tiefe gezeigt werden konnte [216].

Trotz der langen Mindestapplikationsdauer besitzt EMLA[®] Creme heute einen großen Stellenwert als nichtinvasives Lokalanästhetikum und wird für zahlreiche schmerzhafte Behandlungen und Untersuchungen in der Pädiatrie, Dermatologie, Venerologie, Urologie und Gynäkologie eingesetzt [31].

In der neueren Literatur wird von SCHERLUND et al. die Entwicklung EMLA-haltiger Systeme auf der Basis von POE-POP-Blockpolymeren zur Anwendung in der Mundhöhle beschrieben. Das als Grundlage dienende Lutrol[®] F127 bildet in bestimmten Konzentrationen mit Wasser Systeme, die bei Raumtemperatur flüssig sind und bei Körpertemperatur in einen gelartigen Zustand übergehen. Da nach Einarbeitung von 2,5 % EMLA jedoch Instabilitäten bis hin zur Phasentrennung auftraten, war der Zusatz eines weiteren Tensids erforderlich. In einigen der getesteten Zusammensetzungen bildeten sich bei höheren pH-Werten O/W-Mikroemulsionen. Niedrige pH-Werte führten zum Vorliegen der Lokalanästhetika als wasserlösliche Kationen, was begünstigend auf die Ausbildung von Mischmizellen wirkt. Letztere zeigten bessere *In-vitro*-Freisetzungsergebnisse als die Mikroemulsionen, alle getesteten Vehikel waren jedoch überlegen gegenüber EMLA[®] Creme [176] [177]. Die Systeme wurden für die Anwendung in der Mundhöhle patentiert [29].

In der Patentliteratur lassen sich weitere EMLA-haltige Vehikelsysteme zur Anwendung auf der Haut finden. RAJADHYASHA et al. entwickelten eine O/W-Creme mit je 2,5 % Lidocain und Prilocain, die einen pH-Wert von 6,8 aufweist. Unter Okklusion konnte eine rasche und langanhaltende lokalanästhetische Wirkung nachgewiesen werden [157].

CASTILLO beschreibt ein Vehikelsystem auf Paraffinbasis mit einem Wasseranteil unter 1 %, das ohne Okklusion nach 45-60 min eine ca. 180 min anhaltende gute Lokalanästhesie der Haut bewirken soll. Darin sind Lidocain und Prilocain im Verhältnis 3:1 kombiniert. Als besonders vorteilhaft wird die gute Lagerstabilität hervorgehoben [34].

Ein etwas anderes Wirkprinzip liegt dem von WOOLFSON und MCCAFFERTY entwickelten Produkt zugrunde, für das ebenfalls eine gute und schnelle lokalanästhetische Wirksamkeit nachgewiesen wurde [229]. Es enthält Tetracain in 4 %iger Konzentration und ist in Großbritannien unter dem Namen Ametop[®] Gel zugelassen [231].

Tetracain (Amethocain) gehört in die Gruppe der Ester-Lokalanästhetika und besitzt aufgrund seiner starken Lipophilie eine hohe, dem Bupivacain vergleichbare lokalanästhetische Potenz bei langer Wirkdauer. Mit einem pK_a -Wert von 8,5 liegt es im Gewebe überwiegend dissoziiert vor und weist einen eher langsamen Wirkungseintritt auf. Nach Untersuchungen von MCCAFFERTY et al. zeigt Tetracain neben Lidocain *in vitro* die höchsten Fluxraten der untersuchten Substanzen [125]. Seine Besonderheit gegenüber anderen Lokalanästhetika liegt darin, dass Tetracain bei Hydratisierung eine ausgeprägte Schmelzpunktdepression von ca. 42 °C auf 29-32 °C erfährt. Das bedeutet, dass der Arzneistoff in einem wasserhaltigen System wie Ametop[®] Gel bei Raumtemperatur als suspendierter Feststoff vorliegt, der sich beim Auftragen auf die Haut infolge der damit verbundenen Temperaturerhöhung in die ölige Base umwandelt und dann eine hohe thermodynamische Aktivität besitzt [230].

Bei Untersuchungen an Human- und Schweinehaut konnte gezeigt werden, dass dieses Gel mit 4 % Tetracain zu höheren Penetrationsraten führt als bei Verwendung von 2 % Wirkstoff, während eine Steigerung auf 6 % keine weitere Verbesserung bewirkt [228]. Dies steht in Übereinstimmung mit klinischen Daten aus Prick-Testungen, bei denen das kutane Schmerzempfinden nach einem Nadelstich beurteilt wird. Dabei wurde eine Verkürzung der Anschlagzeit bei Zunahme der Arzneistoffkonzentration bis 4 % beobachtet. Eine zum Vergleich getestete O/W-Creme wies erst bei einem Tetracaingehalt von 12 % eine vergleichbare Wirkung auf [226].

Tetracain kann aufgrund seiner Esterstruktur durch in der Haut befindliche Esterasen gespalten werden. Jedoch ist die kutane Metabolisierungsrate relativ niedrig, da Tetracain eine geringe Affinität zu den unspezifisch wirkenden Enzymen aufweist [227].

Vergleichende Untersuchungen mit EMLA[®] Creme sind von verschiedenen Autoren durchgeführt worden. Die lokalanästhetische Wirksamkeit wird dabei überwiegend als gleichwertig beurteilt [21] [38]. Während für EMLA[®] Creme jedoch eine Applikationsdauer von 60 min nötig ist, sind nach MCCAFFERTY et al. bei Ametop[®] Gel bereits nach 30 min lokalanästhetische Effekte nachweisbar [124]. Das später entwickelte tetracainhaltige Pflaster steht dem Gel dabei in seiner Wirksamkeit nicht nach [123].

Neben den klassischen Salbengrundlagen wie in EMLA[®] Creme und Ametop[®] Gel werden in der jüngeren Literatur in zunehmendem Maße Untersuchungen mit kolloidalen Arzneistoffträgersystemen beschrieben. Zu den besonders eingehend untersuchten Formulierungen gehören dabei Liposomenpräparate. So gibt es bereits einige Versuche, Lokalanästhetika liposomal auf der Haut zu applizieren. Ein von FOLDVARI entwickeltes derartiges System mit 2 % Tetracain wies eine höhere *In-vitro*-Freisetzungsrate als die zum Vergleich getesteten herkömmlichen Salbengrundlagen auf. Im Prick-Test an Probanden zeigte sich jedoch unter Okklusion keine deutlich bessere lokalanästhetische Wirksamkeit [61]. Mit elektronenmikroskopischen Untersuchungen an Meerschweinchenhaut konnten die Liposomen in der Dermis als intakte Partikel nachgewiesen werden [62]. Ein von

MEZEI und GESZTES entwickeltes Liposomenpräparat wies bereits mit 0,5 % Tetracain bzw. mit 2 % Lidocain lokalanästhetische Effekte auf, wobei die Okklusionsdauer mit der Intensität und Dauer der Wirksamkeit korrelierte [127]. Leider wurde weder bei FOLDVARI noch bei MEZEI und GESZTES EMLA[®] Creme als Vergleich getestet.

PETERS und MOLL konnten für Liposomen mit 2 % Tetracain im Prick-Test an Probanden eine mit EMLA[®] Creme vergleichbare lokalanästhetische Wirksamkeit nachweisen, während 2 % Tetracain in Basiscreme DAC signifikant schlechter abschnitt [150]. 5 % liposomales Tetracain erwies sich bei Untersuchungen von FISHER et al. bei oberflächlicher Anästhesie als etwas wirksamer im Vergleich zu EMLA[®] Creme, in tieferen Epidermisschichten waren die Unterschiede jedoch nicht signifikant [60]. Nach HUNG et al. wurde der Schmerz beim Legen einer Venenkanüle als geringer empfunden, wenn vorher unter 60-minütiger Okklusion statt EMLA[®] Creme ein Liposomenpräparat mit 5 % Tetracain aufgetragen wurde. Dieses erzeugte jedoch bei signifikant mehr Patienten Erytheme und Juckreiz [84].

Von SHARMA et al. sowie SINGH und VYAS wurden liposomale Systeme mit Lidocain [188] und Benzocain [191] beschrieben, die über einen längeren Zeitraum kontinuierliche Mengen des Lokalanästhetikums nach Kinetik 0. Ordnung freisetzen.

Auch der Einsatz einfacher Penetrationenhancer kann die Wirksamkeit dermalen Lokalanästhetika erhöhen. MALLORY et al. berichteten über gute lokalanästhetische Effekte mit 25 % Lidocain in einer Grundlage aus 70 % DMSO und Ethanol [121]. Von MILLER et al. wird ein System mit Tetracain in Propylenglycol-Lösung empfohlen, wobei der Arzneistoff zu 60 % als freie Base und 40 % als Hydrochlorid vorliegt [128].

VALENTA et al. untersuchten den Einfluß von Ionenpaarbildungen auf die Lidocainfreisetzung, wobei sich Unterschiede in Abhängigkeit von der Lipophilie ergaben [212].

Einen ganz anderen interessanten Ansatzpunkt stellt die Anwendung iontophoretischer Verfahren in der dermalen Lokalanästhesie dar, die bereits von verschiedenen Autoren beschrieben wurde. SINGH und ROBERTS untersuchten die Lidocainkonzentrationen in Gewebe und Plasma *in vitro* an Humanhaut und *in vivo* bei der Ratte. Dabei ließen sich nach Durchführung von Iontophorese höhere Konzentrationen im Gewebe und geringere im Plasma detektieren als nach einfacher passiver Diffusion [190]. IRSFELD et al. konnten nach 10-minütiger Iontophorese einer 5 %igen Lidocainlösung mit Adrenalinzusatz eine tiefere Lokalanästhesie nachweisen als nach 60 min Applikation von EMLA[®] Creme unter Okklusion [85]. Dafür ist die Anästhesiedauer nach Entfernung der Elektroden nur relativ kurz. Nach Untersuchungen von MOSS et al. mit Tetracain hält sie nur ca. 10-15 min an [130].

TACHIBANA und TACHIBANA untersuchten den Einfluß von Ultraschall auf die Penetration von Lidocain an Maushaut. Dabei konnte die lokalanästhetische Wirksamkeit einer 2 %igen Lösung in Kombination mit Ultraschall signifikant gesteigert werden, bei einem Lidocain-Gel war kein Unterschied festzustellen [198].

6.2 Entwicklung von lokalanästhetikahaltigen Mikroemulsionen

Trotz einer Vielzahl von Publikationen zur dermalen Lokalanästhesie gibt es nur sehr wenige Untersuchungen, die sich mit der Anwendung von Mikroemulsionen auf diesem Gebiet beschäftigen. Dabei bieten diese kolloidalen Vehikelsysteme aufgrund ihrer vielfach nachgewiesenen hervorragenden Enhancereffekte an der Haut (siehe Kap. 3.4.4) sehr gute Voraussetzungen für das schnelle Eindringen von Wirkstoffen auch in tiefere Hautschichten.

Zu den wenigen Autoren, die sich bisher an die Entwicklung lokalanästhetikahaltiger Mikroemulsionen wagten, gehören ZABKA und BENKOVA. Von ihnen wurde ein W/O-System mit Pentacainhydrochlorid vorgestellt, das sich an Ratten als lokalanästhetisch wirksam erwies [233].

CHANGEZ and VARSHNEY entwickelten eine tetracainhydrochloridhaltige W/O-Mikroemulsion aus den Komponenten AOT, IPM und Wasser. An der Ratte ließ sich für diese Systeme eine analgetische Wirksamkeit nachweisen, die mit zunehmendem Wassergehalt im Vehikel anstieg. Hautirritationen wurden nicht festgestellt [36].

Für die im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Systeme konnte mit dem Modellarzneistoff Hydrocortison eine sehr gute Penetration nachgewiesen werden. Im folgenden Teil soll deshalb untersucht werden, ob sich die entwickelten Mikroemulsionen auch als geeignet für die Applikation von Lokalanästhetika auf intakter Haut erweisen. Dabei wird eine mindestens mit EMLA[®] Creme vergleichbare Wirksamkeit möglichst ohne Anwendung von Okklusionsverbänden angestrebt.

6.2.1 Untersuchungen mit Lidocainhydrochlorid

Den Ausgangspunkt für die hier beschriebenen Arbeiten stellte die von PISTORIUS entwickelte W/O-Mikroemulsion dar, die Span[®] 20 und Pluronic[®] L101 als Tensidkomponenten sowie IPP als lipophile Phase enthält [153]. Der zur Bildung eines stabilen Systems nötige Tensidanteil ist mit 30 % jedoch relativ hoch. In die 5 %ige Wasserphase wurden 4 % Lidocainhydrochlorid eingearbeitet. Liberationsuntersuchungen am MSMM ergaben eine Freisetzungsrate von über 80 % innerhalb von 30 min nach Applikation. Bei Penetrationsstudien an exzidiierter humaner Mammahaut wurden bereits nach 5 min ca. 15 % und nach 30 min 23 % Arzneistoff in der Haut nachgewiesen, wobei eine relativ gleichmäßige Verteilung über die Hautschichten Stratum corneum, Epidermis und Dermis festgestellt wurde. Dass sich kein Depot im Stratum corneum mit nachfolgendem Konzentrationsgradienten ausbildet, wie es für Hydrocortison beobachtet wurde (siehe Kap. 5.3.2), ist wahrscheinlich der stärkeren Hydrophilie von Lidocainhydrochlorid zuzuschreiben. Vergleichbare Konzentrationsprofile wurden auch von SCHMALFUß für die Penetration von Diphenhydraminhydrochlorid aus W/O-Mikroemulsionen gefunden [179]. Eine als Referenz getestete W/O-Emulsion (Eucerin cum Aqua) mit 4 % Lidocainhydrochlorid zeigte zu allen untersuchten Zeiten signifikant schlechtere Penetrationsergebnisse als die Mikroemulsion [153].

Im Rahmen der Weiterentwicklung der W/O-Mikroemulsion von PISTORIUS versuchte WIEFEL höhere Arzneistoffkonzentrationen einzuarbeiten. Dies gelang bis zu einer Menge von 7 % Lidocainhydrochlorid. Außerdem ließ sich ein Teil der Wasserphase durch DMSO ersetzen [219]. Als nächstes sollte ein Vergleich dieser Systeme mit O/W-Mikroemulsionen erfolgen. Die Einarbeitung des Arzneistoffs in das in Kap. 4.1.2 beschriebene Grundsystem erwies sich jedoch als schwierig. Der Zusatz von Lidocainhydrochlorid führte zu einer so starken Verschiebung des Mikroemulsionsgebietes, dass sich im untersuchten Bereich keine einphasigen Systeme mehr bildeten. Dieses Problem konnte durch eine Modifikation in der Zusammensetzung der wässrigen Phase gelöst werden. Wird ein Teil des Propylenglycols durch DMSO ersetzt, bilden sich auch mit 10 % Lidocainhydrochlorid isotrope Systeme. Dabei fungierte IPP als lipophile Phase. Als zweiter Arzneistoff wurde Bupivacain ausgewählt, das eine höhere lokalanästhetische Potenz als Lidocain besitzt, jedoch bisher nicht dermal angewendet wird. Von dessen Hydrochlorid lassen sich 4 % in das O/W-System einarbeiten. Aus diesen Entwicklungsversuchen resultieren vier Mikroemulsionen folgender Zusammensetzung, die als Basis für die weiteren Untersuchungen dienen:

W/O	Lidocain-HCl	7 %
	Span [®] 20/Pluronic [®] L101 (2:3)	30 %
	Wasser	5 %
	IPP	58 %
W/O - DMSO	Lidocain-HCl	5 %
	Span [®] 20/Pluronic [®] L101 (2:3)	30 %
	Wasser/DMSO (4:1)	5 %
	IPP	60 %
O/W	Lidocain-HCl	10 %
	Tween [®] 80/Pluronic [®] L101 (2:3)	20 %
	IPP	5 %
	Wasser/PG/DMSO (2:1:1)	65 %
O/W-B	Bupivacain-HCl	4 %
	Tween [®] 80/Pluronic [®] L101 (2:3)	20 %
	IPP	5 %
	Wasser/PG/DMSO (2:1:1)	71 %

Die **Testung der Liberation** erfolgte am MSMM, das bereits in Kap. 5.2.1 ausführlich beschrieben wurde. Aufgrund der sehr guten Löslichkeit der Lokalanästhetika-Hydrochloride in hydrophilen Medien dienten glycerolhaltige Membranen als Akzeptor (siehe Kap. 8.5). Durch Verwendung einer Nephrophanmembran als obere Abgrenzung sollte eine mögliche Penetration wässriger Vehikelbestandteile minimiert werden. Das Vorliegen von *Sink*-Bedingungen war für alle untersuchten Systeme gewährleistet. Da bei den lokalanästhetikahaltigen Mikroemulsionen vor allem die Geschwindigkeit des Wirkungseintritts von Bedeutung ist, erfolgten die Messungen nach sehr kurzen Applikationszeiten von 5, 10 und 30 min.

In Abb. 31 sind die prozentualen Ergebnisse der Liberationsuntersuchungen dargestellt. Dabei zeigen sich im untersuchten Zeitraum von 5-30 min nach Auftragen der Mikroemulsion relativ hohe Freisetzungsraten zwischen 55 und 80 %. Beim System W/O werden bereits innerhalb der ersten 5 min 66 % des Arzneistoffs freigesetzt, eine Menge, die auch bei längerer Applikationszeit bis 30 min nicht weiter ansteigt. Die Mikroemulsion W/O-DMSO zeigt dagegen eine initial etwas verzögerte Liberation. Bis 10 min ist ein Anstieg der freigesetzten Arzneistoffmenge zu verzeichnen, danach bleibt sie konstant. Die höchste initiale Freisetzungsrates weist die O/W-Mikroemulsion mit Lidocain auf, die gleichzeitig den höchsten Wirkstoffgehalt der untersuchten Systeme besitzt. Nach 5 min scheint die Liberation bereits ihren maximalen Wert erreicht zu haben und steigt bis 30 min nicht weiter an. Beim bupivacainhaltigen O/W-System ist bis 10 min ein Anstieg der freigesetzten Menge zu beobachten, danach bleibt sie konstant.

Ein Vergleich der vier Systeme untereinander zeigt nur geringfügige Unterschiede zu einzelnen Zeitpunkten. So weist die Mikroemulsion W/O-DMSO nach 5 min einen signifikant geringeren Wert auf, als die anderen drei. Nach 10 und 30 min zeigt W/O die niedrigsten Freisetzungsraten. Dabei muss jedoch berücksichtigt werden, dass alle Mikroemulsionen eine andere Arzneistoffkonzentration besitzen und somit ein direkter Vergleich absoluter Mengen erschwert wird. Die Berechnung prozentualer Liberationsraten soll vor allem gewährleisten, dass ausreichend große Mengen Arzneistoff aus der Formulierung freigesetzt werden und dieser Vorgang nicht den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt für den Wirkeintritt darstellt. Mit den vier untersuchten Systemen können gemessen an den sehr kurzen Applikationszeiten hohe Freisetzungsraten erzielt werden.

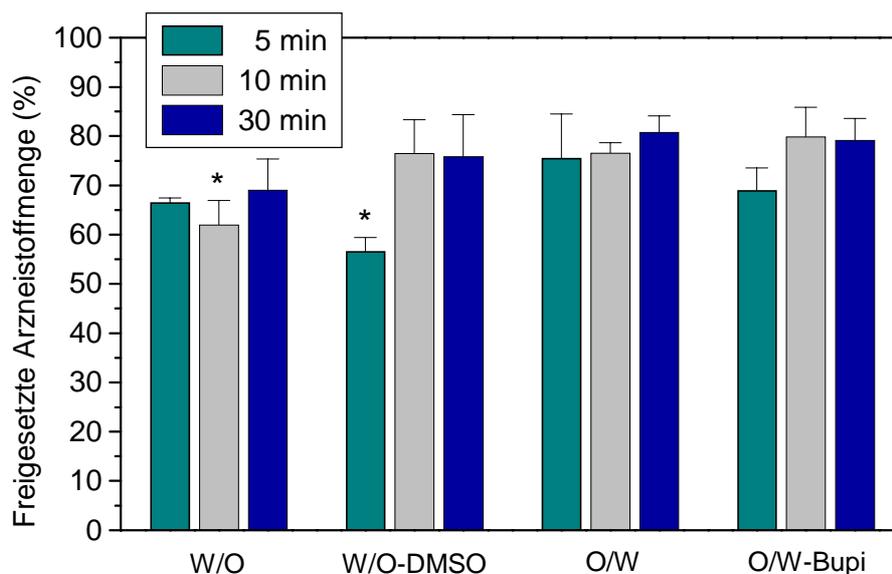


Abb. 31: Liberation von Lidocainhydrochlorid bzw. Bupivacainhydrochlorid aus vier Mikroemulsionen ($\bar{x} \pm SD$, n=5)

* signifikant gegenüber den anderen drei Mikroemulsionen, $p < 0,05$

Eine erste **Testung der lokalanästhetischen Wirksamkeit** dieser Mikroemulsionen im Selbstversuch erbrachte keine zufriedenstellenden Ergebnisse. Bei allen vier Formulierungen wurde ein Prick-Test bis zu drei Stunden nach Applikation noch als schmerzhaft empfunden, während die zum Vergleich getestete EMLA[®] Creme bereits nach 60 min eine komplette Anästhesie erzeugte. Es war kein Unterschied zwischen W/O- und O/W-Mikroemulsionen feststellbar. Auch der Zusatz von DMSO zum W/O-System führte nicht zu einer spürbaren Verbesserung der Anästhesiequalität, wobei die DMSO-Konzentration von 1 % als gering zu bewerten ist. Eine größere Menge ließ sich jedoch bei einem Gesamtanteil an hydrophiler Phase von 5 % nicht einarbeiten. Bei den beiden getesteten O/W-Mikroemulsionen war kein Unterschied zwischen der mit 10 % Lidocainhydrochlorid und jener mit 4 % Bupivacainhydrochlorid feststellbar [221].

Das führt zu dem Schluss, dass die untersuchten Lokalanästhetika-Hydrochloride trotz guter Freisetzung aus der Mikroemulsion nicht in ausreichendem Maße in der Lage sind, die Penetrationsbarriere Stratum corneum zu überwinden.

6.2.2 Untersuchungen mit Lidocain in Basenform

Ziel der folgenden Versuche war es, Lidocain als Base in Mikroemulsionen einzuarbeiten. Dabei sollte wieder ein Vergleich zwischen W/O- und O/W-Mikroemulsionen erfolgen. Als Ausgangspunkt für die Entwicklung dienten die in Kap. 6.2.1 bereits verwendeten Grundsysteme. In die O/W-Mikroemulsion ließen sich ohne Schwierigkeiten 5 % Lidocain inkorporieren. Der Zusatz dieses Arzneistoffs zu dem W/O-System von PISTORIUS hatte eine Phasentrennung zur Folge. Bei verschiedenen Versuchen zur Entwicklung einer geeigneten W/O-Mikroemulsion wurde festgestellt, dass die bereits für O/W-Systeme verwendete Tensidmischung Tween[®] 80/Pluronic[®] L101 (2:3) in Gegenwart von 5 % Lidocain mit IPP und Wasser ebenfalls ein isotropes W/O-System bildet. Diese Mischung wurde für die weiteren Untersuchungen als W/O-Mikroemulsion verwendet.

Wird die gut wirksame EMLA[®] Creme hinsichtlich ihrer Zusammensetzung genauer betrachtet, so fällt auf, dass außer der Verwendung der Lokalanästhetika in Basen- statt in Salzform noch ein anderer Unterschied zu den bisher getesteten Mikroemulsionen besteht: Bedingt durch das zur Herstellung verwendete Natriumhydroxid besitzt EMLA[®] Creme einen pH-Wert von ca. 9. Einerseits dient NaOH zur Neutralisierung des Carbomers, andererseits bewirkt das Vorhandensein des alkalischen Milieus, dass ein größerer Anteil des Lokalanästhetikums in der unprotonierten Basenform vorliegt, die aufgrund ihrer Lipophilie das Stratum corneum besser durchdringen kann. Die o. g. O/W-Mikroemulsion erweist sich auch als stabil, wenn statt Wasser Sörensen-Clark-Puffer pH=11 zur Herstellung verwendet wird. Das Gesamtsystem besitzt dann einen pH-Wert zwischen 8 und 9 und diente mit einem Lidocaingehalt von 5 % als dritte Testmikroemulsion. Bei dem W/O-System gelang es aufgrund des geringen Wasseranteils von 5 % nicht, mit Hilfe eines Puffers einen alkalischen pH-Wert der Gesamtmikroemulsion zu erreichen. Um den Einfluss des pH-Werts getrennt von der penetrationsfördernden Wirkung der

Mikroemulsion zu untersuchen, wurde außerdem eine Basiscreme DAC mit diesem Puffer statt Wasser hergestellt und als Vergleichsvehikel mit getestet. Die Creme wies einen pH-Wert von ca. 9 auf.

Insgesamt resultieren aus diesen Entwicklungsversuchen mit Lidocain in Basenform folgende vier Vehikel, mit denen die nachfolgend beschriebenen Testungen durchgeführt wurden:

W/O	Lidocain	5 %
	Tween [®] 80/Pluronic [®] L101 (2:3)	20 %
	Wasser	5 %
	IPP	70 %
O/W	Lidocain	5 %
	Tween [®] 80/Pluronic [®] L101 (2:3)	20 %
	IPP	5 %
	Wasser/PG/DMSO (2:1:1)	70 %
O/W pH 9	Lidocain	5 %
	Tween [®] 80/Pluronic [®] L101 (2:3)	20 %
	IPP	5 %
	Puffer/PG/DMSO (2:1:1)	70 %
BC pH 9	Lidocain	10 %
	Basiscreme DAC (hergestellt mit Puffer)	90 %

Für die **Freisetzungsuntersuchungen** am MSMM wurden dodecanolhaltige Membranen verwendet. Aufgrund der ausgezeichneten Löslichkeit von Lidocain in Dodecanol (493 mg/ml) liegt der Anteil der Akzeptorsättigung bei Testung 10 %iger Formulierungen selbst bei maximal möglicher Freisetzung deutlich unter 10 %, so dass *Sink*-Bedingungen garantiert werden konnten.

Abb. 32 zeigt die Ergebnisse der Liberationsuntersuchungen. Bei den Systemen W/O und O/W sowie bei der Basiscreme pH 9 zeigt sich eine Zunahme der freigesetzten Lidocainmenge über den Untersuchungszeitraum, während die Mikroemulsion O/W pH 9 offensichtlich bereits nach 5 min ihre höchstmögliche Liberationsrate erreicht hat, denn bis 30 min ist kein weiterer Anstieg zu verzeichnen. Die drei Mikroemulsionen weisen mit über 50 % Freisetzung innerhalb von 5 min nach Applikation alle sehr gute Ergebnisse auf und unterscheiden sich bis 10 min nicht signifikant voneinander. Nach 30 min zeigt W/O das beste Liberationsergebnis. In diesem Zusammenhang muss jedoch auf die eingeschränkte Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Vehikel hingewiesen werden. Aufgrund des hohen IPP-Anteils im System W/O kann ein Eindringen von Vehikelbestandteilen in den Akzeptor nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Um für die vier zu vergleichenden Systeme eine einheitliche Versuchsanordnung zu gewährleisten, wurde auch beim System W/O auf die von Schmalfuß für W/O-Mikroemulsionen vorgeschlagene Nephrophanmembran zur Abgrenzung des Vehikels vom Akzeptor

verzichtet. Die Basiscreme pH 9 zeigt von den vier untersuchten Formulierungen zu allen drei Zeiten die prozentual niedrigsten Freisetzungsraten. In Anbetracht der Tatsache, dass sie mit 10 % Lidocain die doppelte Arzneistoffkonzentration der Mikroemulsionen besitzt, ist die freigesetzte absolute Menge an Arzneistoff jedoch deutlich höher.

Insgesamt betrachtet ist die Freisetzung von Lidocain aus allen Vehikeln gemessen an den kurzen Versuchszeiten als gut bis sehr gut einzuschätzen und folglich nicht der limitierende Faktor für die nachfolgende Penetration in die Haut.

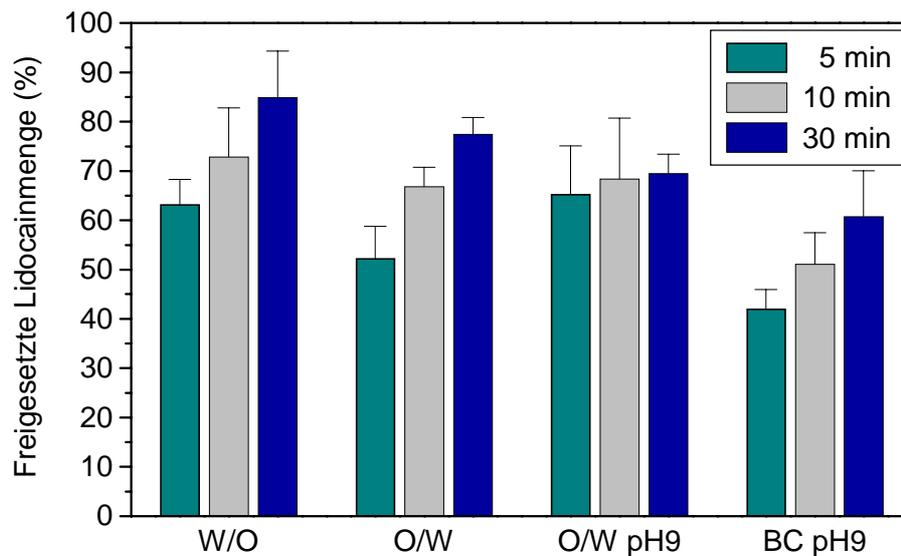


Abb. 32: Liberation von Lidocain aus drei Mikroemulsionen und Basiscreme pH 9 ($\bar{x} \pm SD$, n=5)

Die **lokanästhetische Wirksamkeit** dieser vier Systeme wurde zunächst ebenfalls im Selbstversuch mit Hilfe eines Prick-Tests bewertet, wobei sich Unterschiede zwischen den Präparaten abzeichneten. Als am schnellsten und besten wirksam erwies sich die Mikroemulsion O/W pH 9. Mit einem Wirkeintritt nach 60 min und einer Wirkdauer bis über das Versuchsende (3 h) hinaus ist sie mit EMLA[®] Creme vergleichbar. Lokalanästhetische Wirksamkeit zeigt auch die Basiscreme pH 9 mit Lidocain. Jedoch setzt die Wirkung trotz doppelt so hoher Konzentration im Vehikel etwas später ein und ist weniger stark ausgeprägt als bei O/W pH 9. Überraschend schlecht schneidet die Mikroemulsion O/W ohne pH-erhöhenden Puffer ab. Sie wirkt deutlich schwächer lokalanästhetisch als BC pH 9. Am geringsten ausgeprägt ist die Anästhesie nach Applikation des Systems W/O. Erst nach 3 h wurde eine leichte Schmerzreduktion spürbar [221].

Der Vergleich dieser Systeme zeigt, dass die beste lokalanästhetische Wirksamkeit mit den Präparaten erzielt wird, die nicht nur Lidocain in Basenform enthalten, sondern gleichzeitig einen alkalischen pH-Wert aufweisen. Im neutralen pH-Bereich wird der überwiegende Anteil des Lidocains bedingt durch den pK_a -Wert von 7,9 protoniert und

kann in dieser Form nicht in ausreichendem Maße durch das Stratum corneum diffundieren. Das wird besonders beim Vergleich der beiden O/W-Mikroemulsionen deutlich, die nicht in der Zusammensetzung sondern lediglich im pH-Wert differieren, aber deutliche Unterschiede in der Wirksamkeit aufweisen. Ein Vergleich zwischen Mikroemulsion und der Basiscreme als Vertreter einer klassischen Salbengrundlage bei gleichem pH-Wert deutet auf Vorteile des kolloidalen Systems hin. Bei geringerer Lidocainkonzentration wird mit der Mikroemulsion eine schnellere und stärkere Lokalanästhesie erzielt als mit der Creme. Dagegen wird die Effektivität kaum davon beeinflusst, ob eine Mikroemulsion vom Typ O/W oder W/O verwendet wird.

Insgesamt betrachtet scheinen die Vehikeleffekte offensichtlich eine geringere Rolle für die Wirksamkeit zu spielen, als die Form, in der das Lokalanästhetikum vorliegt. Zusammenfassend können folgende zwei wesentliche Voraussetzungen für ein rasch und gut lokalanästhetisch wirksames Präparat abgeleitet werden: Der Arzneistoff sollte in seiner lipophilen Basenform verwendet und in einem Vehikel eingebettet werden, das einen alkalischen pH-Wert besitzt.

Penetrationsuntersuchungen an exzidiierter Humanhaut konnten aufgrund deren stark limitierter Verfügbarkeit nur mit zwei Systemen durchgeführt werden. Dazu wurden die beiden im Prick-Test am besten wirksamen Formulierungen, die Mikroemulsion O/W pH 9 und die Basiscreme mit Lidocain BC pH 9, ausgewählt. Die Durchführung erfolgte mit der in Kap. 5.3.1 bereits beschriebenen Diffusionszelle nach FRANZ und der in Kap. 8.6 erläuterten Methode.

In den folgenden beiden Abbildungen sind die aus der Mikroemulsion (Abb. 33) und der Basiscreme (Abb. 34) in die einzelnen Hautschichten penetrierten Mengen an Lidocain graphisch dargestellt. Bei beiden Systemen wurde der prozentual größte Anteil in der Dermis nachgewiesen, die auch die dickste Hautschicht ist. Die höchste Arzneistoffkonzentration weist das Stratum corneum auf. Der Gradient zur lebenden Epidermis ist dabei deutlich geringer ausgeprägt, als bei den hydrocortisonhaltigen Systemen, bei denen Unterschiede von 2-3 Zehnerpotenzen zwischen den beiden Hautschichten nachgewiesen wurden (siehe Kap. 5.3.2). Das bedeutet, weder nach Applikation der Mikroemulsion noch der Basiscreme mit Lidocain bildet sich ein Arzneistoffreservoir im Stratum corneum aus. Sicherlich bietet die Fähigkeit der Lokalanästhetika, sich in Abhängigkeit vom pH-Wert des umgebenden Gewebes von der lipophilen Base in die protonierte Form umwandeln zu können, günstige Voraussetzungen für die Diffusion im hydrophilen Milieu von Epidermis und Dermis. Der Konzentrationsgradient zwischen diesen beiden Hautschichten ist noch geringer ausgeprägt als der zwischen Stratum corneum und Epidermis. Leider konnte bei den Penetrationsstudien keine weitere Differenzierung innerhalb der Hautschichten vorgenommen werden, denn die analytische Auswertung mittels HPLC erforderte das Poolen der Schnitte zu jeweils einer Probe pro Hautschicht.

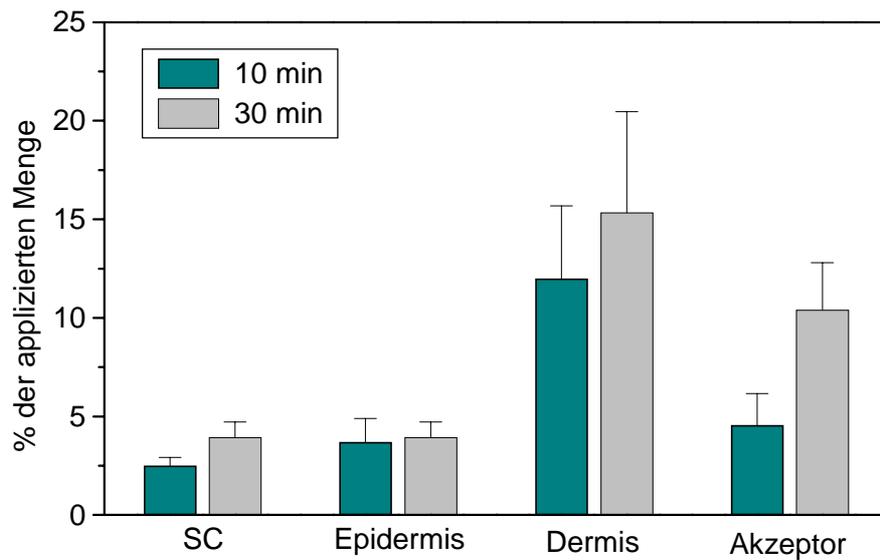


Abb. 33: Penetration von Lidocain aus der Mikroemulsion O/W pH 9 in exzidierte Humanhaut ($\bar{x} \pm SD$, n=3)

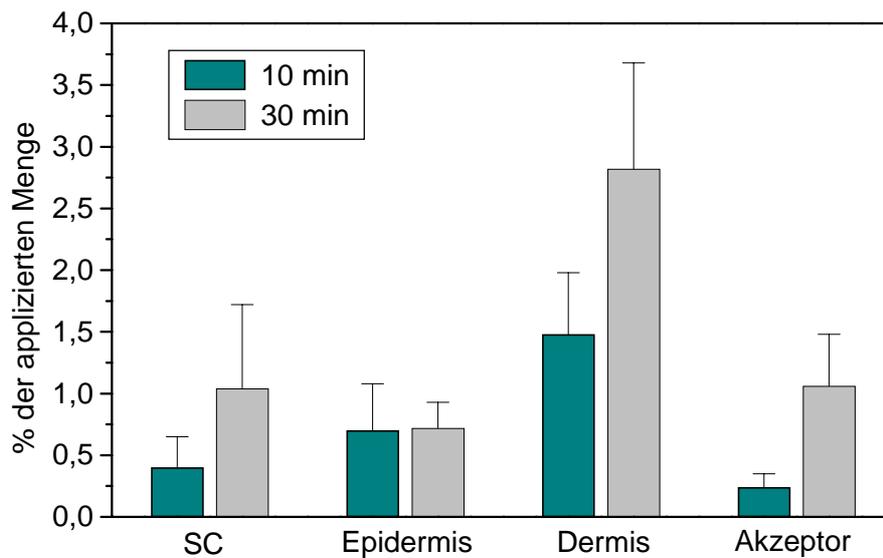


Abb. 34: Penetration von Lidocain aus der Basiscreme BC pH 9 in exzidierte Humanhaut ($\bar{x} \pm SD$, n=3)

Die im Akzeptor gefundenen prozentualen Mengen liegen bei beiden Vehikeln in der gleichen Größenordnung wie die in der Haut detektierten Anteile. Auch in dieser Hinsicht unterscheidet sich die lidocainhaltige Mikroemulsion von der in Kap. 5.3.2 untersuchten mit Hydrocortison, bei der im Akzeptor eine 20-100 mal größere prozentuale Menge Arzneistoff im Vergleich zu den beiden lebenden Hautschichten gefunden wurde. Einschränkend muss dazu angemerkt werden, dass diese Versuche über einen längeren Zeitraum durchgeführt wurden, was ebenfalls zu einer höheren Akzeptorkonzentration beitragen kann.

Im Verhältnis zu den sehr kurzen Versuchszeiten sind die in die Haut penetrierten Lidocainmengen als relativ hoch zu beurteilen. Zwischen den Ergebnissen der Versuche mit 10 und 30 min Applikationsdauer ist bei beiden Formulierungen im Stratum corneum und im Akzeptor, bei der Basiscreme auch in der Dermis ein Anstieg der Konzentration zu erkennen.

Ein Vergleich der beiden untersuchten Formulierungen zeigt eine ähnliche Verteilung des Arzneistoffs zwischen den Hautschichten und dem Akzeptor. Insgesamt wurden nach Applikation der Mikroemulsion jedoch in allen untersuchten Kompartimenten höhere Lidocainkonzentrationen erreicht, obwohl deren Wirkstoffgehalt mit 5 % nur halb so hoch wie der der Basiscreme ist. Die Ergebnisse sind in Abb. 35 graphisch dargestellt.

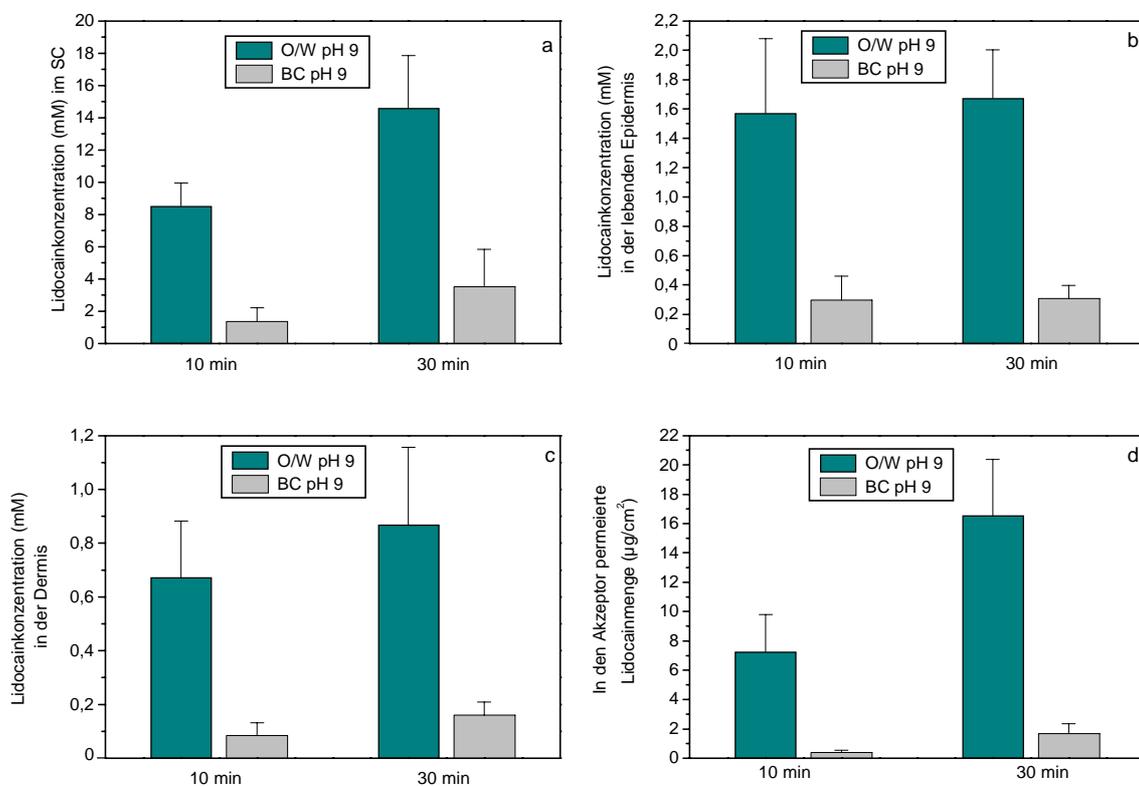


Abb. 35: Vergleich der Lidocainkonzentrationen in Stratum corneum (a), lebender Epidermis (b) und Dermis (c) sowie der in den Akzeptor permeierten Lidocainmengen (d) nach Applikation der Mikroemulsion (O/W pH 9) und der Basiscreme (BC pH 9) ($\bar{x} \pm SD$, n=3)

Diese Penetrationsuntersuchungen belegen die bereits nach den Voruntersuchungen postulierte Überlegenheit der Mikroemulsion mit 5 % Lidocain gegenüber der Basiscreme DAC mit doppelter Arzneistoffkonzentration.

6.2.3 Vergleich verschiedener Lokalanästhetika

In den bisherigen Untersuchungen stand die Frage der Entwicklung einer geeigneten Mikroemulsion als Grundlage für die Inkorporation von Lokalanästhetika im Vordergrund. Dabei kristallisierte sich das System O/W-L pH 9 in Prick-Testungen und Penetrationsstudien als das am besten wirksame heraus. Diese Mikroemulsionsgrundlage sollte deshalb als Basis für weitere Untersuchungen dienen mit dem Ziel, verschiedene lokalanästhetische Wirkstoffe zu vergleichen.

Dabei ergab sich zunächst folgendes Problem. Der bisher verwendete Emulgator Pluronic® L101 stand nicht mehr in ausreichender Menge zur Verfügung und war von der Firma nicht mehr erhältlich. Als Alternative wurde das Produkt Synperonic® PE L101 einer anderen Firma getestet, das laut Herstellerinformation eine mit Pluronic® L101 identische Zusammensetzung aufweist. Leider bildete sich nach Austausch dieses Emulgators mit der in Kap. 6.2.2 beschriebenen Zusammensetzung für das System O/W pH 9 keine Mikroemulsion. Der Grund liegt vermutlich in Differenzen im Polymerisierungsgrad, die bei polymeren Tensiden häufig auftreten. Als Folge davon kann sich ein Mikroemulsionsgebiet im Phasendiagramm so weit verschieben, dass in der bisherigen Zusammensetzung kein isotropes System mehr entsteht. Dieses Problem ist auch von anderen Autoren bei Verwendung verschiedener Chargen des gleichen Emulgators beschrieben worden [98] [232]. Folglich war eine erneute Modifizierung in der Zusammensetzung der Mikroemulsion notwendig. Dabei wurden verschiedene Mischungen mit den Komponenten Propylenglycol, DMSO und Sörensen-Clark-Puffer als wässrige Phase getestet, während die lipophile Phase mit 5 % IPP und die Emulgatoren in Menge und Verhältnis zueinander unverändert blieben. Einige dieser Systeme erwiesen sich als thermodynamisch stabil. Aus diesen wurde als Basismikroemulsion für die weiteren Untersuchungen das bereits in Kap. 4.1.2 vorgestellte System mit einer hydrophilen Phase aus Puffer und Propylenglycol 1:2 ausgewählt.

Basierend auf dieser Grundlage versuchte GRAFE, verschiedene Lokalanästhetika in vergleichbaren Konzentrationen in die Mikroemulsion einzuarbeiten [76]. Das gelang problemlos mit Lidocain in 5 und 10 %iger Konzentration. Auch ein Zusatz von 10 % Ethanol, dessen penetrationsbeeinflussender Effekt in Mikroemulsionen in diesem Zusammenhang mit untersucht werden sollte, führte zu keinerlei Stabilitätsverlust. Enthielt die hydrophile Phase zusätzlich zu Puffer und Propylenglycol noch DMSO, war zur Bildung eines thermodynamisch stabilen Systems ein gewisser Ethanolanteil erforderlich.

Auf der Suche nach anderen lokalanästhetischen Arzneistoffen, die sich für die dermale Anwendung eignen, fiel die Wahl zunächst auf die in EMLA® Creme verwendete eutektische Mischung aus Lidocain und Prilocain. Als Problem ergab sich dabei, dass Prilocain nur in Hydrochloridform kommerziell erhältlich ist. So stellte sich zunächst die Aufgabe, die freie Basenform aus dem Hydrochlorid herzustellen. Die in Kap. 8.7 beschriebene Methode durch Extraktion mit Ether im alkalischen Milieu erwies sich dabei

als gut geeignet. Die auf diesem Wege erhaltene ölige Base von Prilocain wurde im Masseverhältnis 1:1 mit Lidocain versetzt. Die entstandene eutektische Mischung weist bei Raumtemperatur eine ölartige, dickflüssige Konsistenz auf. Bei Inkorporation in die Basismikroemulsion entstanden mit 5 und 10 % Arzneistoff mit und ohne Ethanolzusatz stabile optisch isotrope Systeme.

Als weniger erfolgreich erwiesen sich diese Versuche mit Bupivacain. Dieser Arzneistoff wurde aufgrund seiner stärkeren Wirksamkeit als drittes Lokalanästhetikum ausgewählt. Er musste ebenfalls erst durch Extraktion aus der Hydrochloridform hergestellt werden. Die Einarbeitung in die Basismikroemulsion hatte jedoch eine Phasentrennung zur Folge. Auch zahlreiche Modifikationen der hydrophilen Phase mit Puffer, Propylenglycol, DMSO und Ethanol in verschiedenen Mischungen führten nicht zum gewünschten Erfolg. Deshalb wurde im nächsten Schritt versucht, IPP gegen andere lipophile Komponenten auszutauschen. Von den getesteten Substanzen erwies sich Ölsäure als die einzig geeignete. Trotzdem war für die Bildung thermodynamisch stabiler Systeme die gleichzeitige Anwesenheit von Ethanol essentiell. Zur Inkorporation von 10 % Bupivacain war z. B. ein Mindestanteil von 20 % dieses Alkohols erforderlich. Zusätzlich musste das bisher verwendete Puffersystem gegen 1 M NaOH ausgetauscht werden. Trotz deren höherer Basizität resultierte für die bupivacainhaltige Mikroemulsion ein Gesamt-pH-Wert von nur 7,8, während bei den Systemen mit Lidocain und Prilocain Werte zwischen 8,5 und 9,1 gemessen wurden.

Aus diesen Entwicklungsversuchen wurden folgende fünf Mikroemulsionen für die nachfolgenden Untersuchungen ausgewählt:

ME-L	Lidocain	10 %
	Tween [®] 80/Synperonic [®] PE L101 (2:3)	20 %
	IPP	5 %
	Puffer/PG (1:2)	65 %
ME-L EtOH	Lidocain	10 %
	Tween [®] 80/Synperonic [®] PE L101 (2:3)	20 %
	IPP	5 %
	Puffer/PG (1:2)	55 %
	Ethanol	10 %
ME-L DMSO	Lidocain	10 %
	Tween [®] 80/Synperonic [®] PE L101 (2:3)	20 %
	IPP	5 %
	Puffer/PG/DMSO (2:2:1)	55 %
	Ethanol	10 %
ME-L/P	Lidocain	5 %
	Prilocain	5 %
	Tween [®] 80/Synperonic [®] PE L101 (2:3)	20 %
	IPP	5 %
	Puffer/PG (1:2)	55 %
	Ethanol	10 %

ME-B	Bupivacain	10 %
	Tween [®] 80/Synperonic [®] PE L101 (2:3)	20 %
	Ölsäure	10 %
	1 M NaOH/PG (1:2)	40 %
	Ethanol	20 %

Untersuchungen zur Liberation der Arzneistoffe aus diesen Mikroemulsionen nach 5, 10 und 30 min wurden am MSMM mit Dodecanolmembranen durchgeführt [76]. Dabei konnten für Lidocain und Prilocain bei Verwendung von drei Membranen *Sink*-Bedingungen gewährleistet werden. Bupivacain, das eine im Vergleich zu Lidocain fünffach geringere Löslichkeit in Dodecanol aufweist, erreicht im Falle einer maximalen Freisetzung aus der Mikroemulsion eine Akzeptorauslastung von 40 %. Obwohl dies nicht mehr *Sink*-Bedingungen entspricht, wurden die Liberationsversuche für dieses System aus Gründen der Vergleichbarkeit unter den selben Bedingungen durchgeführt. Die resultierenden Ergebnisse sind in Abb. 36 veranschaulicht.

Dabei wird deutlich, dass sich die lidocainhaltigen Systeme mit und ohne Ethanol nicht signifikant unterscheiden. Bei beiden nimmt die Freisetzung zwischen 5 und 10 min zu, steigt bis 30 min jedoch nicht weiter an. Zusatz von DMSO erhöht nicht nur die initial freigesetzte Lidocainmenge, sondern zeigt vor allem beim 30-min-Wert einen signifikanten Anstieg gegenüber den kürzeren Zeiten und auch im Vergleich zu den Mikroemulsionen ohne DMSO. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass der Zusatz von DMSO zu einer verbesserten Freisetzung von Lidocain aus der O/W-Basismikroemulsion führt. Dieser Unterschied im Vergleich zu den Ergebnissen aus Kap. 6.2.1, bei denen die Freisetzung von Lidocainhydrochlorid aus W/O-Mikroemulsionen durch DMSO-Zusatz nicht beeinflusst wurde, basiert wahrscheinlich auf der zehnfach höheren DMSO-Konzentration im O/W-System. Die Anwesenheit von Ethanol scheint dagegen keinen nennenswerten Einfluss auf die Lidocainfreisetzung auszuüben.

Beim Vergleich der drei untersuchten Arzneistoffe zeigt die Lidocain-Prilocain-Mischung die besten Liberationsergebnisse. Bereits nach 5 min wurde eine im Vergleich zu den anderen beiden Wirkstoffen signifikant größere Menge freigesetzt. Bis 30 min ist ein weiterer Anstieg zu verzeichnen, wobei die Unterschiede dann nicht mehr als signifikant zu bewerten sind. Die Freisetzung der beiden Arzneistoffe Lidocain und Prilocain aus dem System ME-L/P erfolgte in etwa gleichen Mengen. Deshalb wurde bei der graphischen Darstellung in Abb. 36 der Mittelwert der prozentualen Freisetzungsraten beider Wirkstoffe zugrunde gelegt. Bupivacain zeigt eine geringe initiale Freisetzung. Zwischen dem 5- und 10-min-Wert zeichnet sich jedoch ein deutlicher Anstieg ab.

Insgesamt betrachtet sind die Liberationsergebnisse aller Systeme als gut einzuschätzen. Bereits 10 min nach Applikation ist aus allen untersuchten Mikroemulsionen über die Hälfte des Arzneistoffs freigesetzt worden.

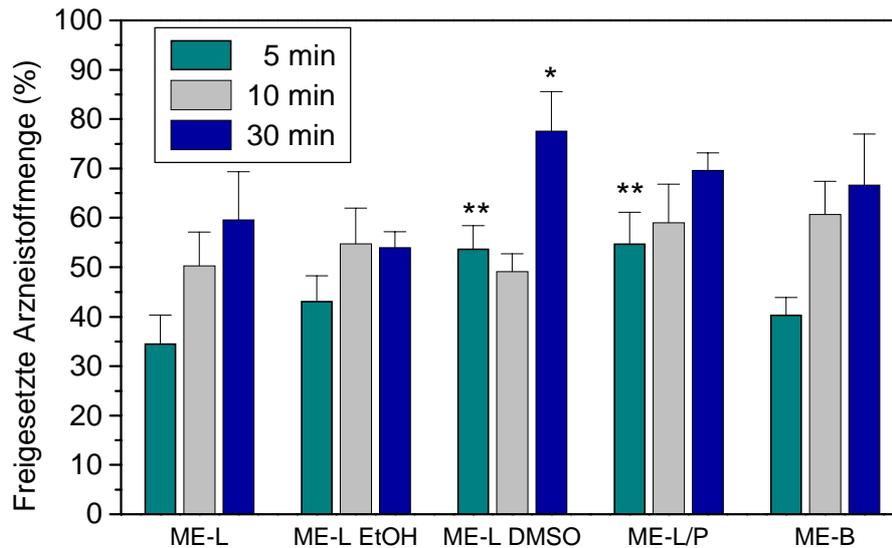


Abb. 36: Liberation von Lidocain (L), Prilocain (P) und Bupivacain (B) aus O/W-Mikroemulsionen ($\bar{x} \pm SD$, $n=5$) nach [76]

* signifikant gegenüber ME-L und ME-L-EtOH, $p < 0,05$

** signifikant gegenüber ME-L, ME-L-EtOH und ME-B, $p < 0,05$

Die **lokanalästhetische Wirksamkeit** der Mikroemulsionen wurde im Rahmen einer klinischen Studie im Prick-Test an Probanden untersucht. Der Ablauf der Testung ist in Kap. 8.8 näher beschrieben. Alle Systeme wurden nicht nur untereinander verglichen, sondern auch gegen den entsprechenden Blindwert (Mikroemulsionsgrundlage ohne Wirkstoff) getestet. Aus mathematisch-statistischen Gründen wurden keine Standardabweichungen ermittelt (siehe Kap. 8.10). Abb. 37 zeigt die Ergebnisse der Mikroemulsionen mit 10 % Lidocain. Darin wird deutlich, dass sich das Basissystem ME-L erst nach 120 min signifikant vom Blindwert unterscheidet und folglich erst nach dieser Zeitspanne eine lokalanästhetische Wirkung nachweisbar ist. Der Zusatz von 10 % Ethanol führt zu keiner deutlichen Verbesserung der Wirksamkeit, denn die ethanolhaltige Mikroemulsion unterscheidet sich zu keinem Zeitpunkt signifikant vom Grundsystem. Dieses Ergebnis ist nicht überraschend, nachdem beide Formulierungen bereits vergleichbare Liberationsergebnisse erbracht hatten. Allerdings ist bei ME-L EtOH im Vergleich zur arzneistofffreien Grundlage bereits nach 60 min eine lokalanästhetische Wirksamkeit nachweisbar. Die dritte lidocainhaltige Mikroemulsion enthielt zusätzlich DMSO. Trotz der guten Liberationsergebnisse ließ sich eine stärkere lokalanästhetische Wirksamkeit nur beim 30-min-Wert nachweisen, nach 60 und 120 min waren keine signifikanten Unterschiede zu den beiden anderen Mikroemulsionen feststellbar. Offensichtlich wird der Lidocaintransport in die Haut nur in der Anfangsphase durch DMSO erhöht.

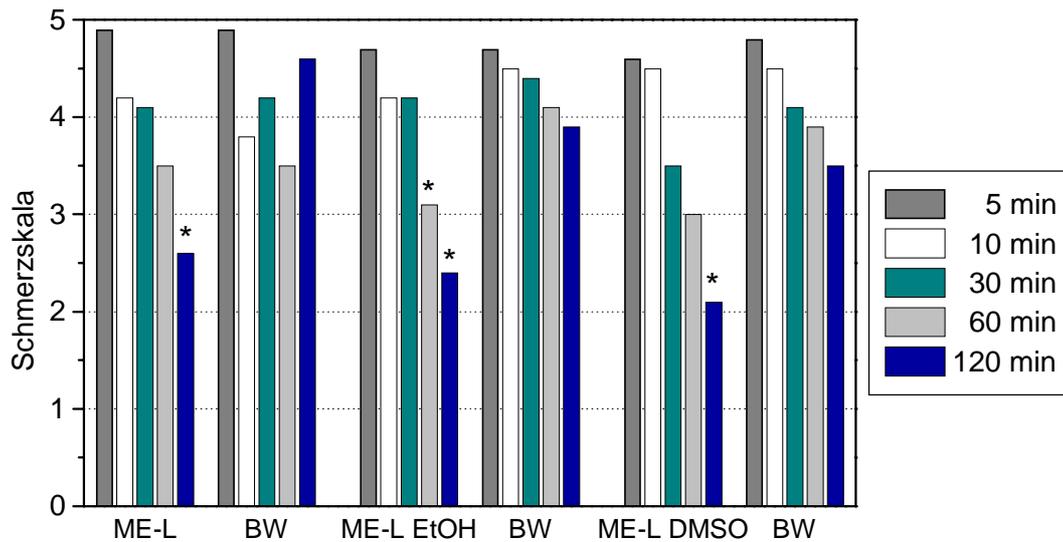


Abb. 37: Im Prick-Test ermittelte lokalanästhetische Wirksamkeit verschiedener Mikroemulsionen mit 10 % Lidocain im Vergleich zum jeweils zugehörigen Blindwert (BW) (\bar{x} , n=10) (Schmerzskaala: 5 = maximaler Schmerz, 0 = kein Schmerz)
* signifikant gegenüber zugehörigem Blindwert mit $p < 0,05$

Ein Vergleich der lokalanästhetischen Wirksamkeit verschiedener Arzneistoffe in Mikroemulsionen ist in Abb. 38 dargestellt. Als Referenz wurde EMLA[®] Creme in die Testung einbezogen, das unter den in Deutschland für diese Indikation zugelassenen Fertigarzneimitteln am besten wirksame Präparat.

Da sich stabile Systeme mit Bupivacain nur in Anwesenheit von Ethanol bilden, erfolgte eine Gegenüberstellung der ethanolhaltigen Mikroemulsionen der drei Arzneistoffe. Dabei fällt auf, dass das System mit der eutektischen Mischung aus Lidocain und Prilocain bereits nach 30 min eine lokalanästhetische Wirkung zeigt. Dies ist bei alleiniger Anwesenheit von Lidocain erst nach 60 min der Fall. Hier zeichnet sich eine Korrelation zu den Liberationsergebnissen ab. Im direkten Vergleich dieser beiden Mikroemulsionen zeigt ME-L/P ab einem Zeitpunkt von 30 min eine signifikant bessere lokalanästhetische Wirksamkeit als ME-L EtOH. Stellt man die Ergebnisse denen der EMLA[®] Creme gegenüber, so erweisen sich die beiden Vehikel mit der Lidocain-Prilocain-Mischung bis zu 60 min nach Applikation als gleichwertig, danach ist die Mikroemulsion signifikant stärker wirksam. Beim Vergleich von ME-L EtOH mit EMLA[®] Creme ist die Wirksamkeit der Mikroemulsion nach 30 min geringer, danach vergleichbar mit dem kommerziellen Präparat. Das bedeutet, ME-L EtOH weist bei gleicher Wirksamkeit einen langsameren Wirkeintritt als EMLA[®] Creme auf.

Im Vergleich der drei Lokalanästhetika schneidet Bupivacain eindeutig am schlechtesten ab. Zu keiner Zeit war ein signifikanter Unterschied zwischen dem arzneistoffhaltigen und dem arzneistofffreien System nachweisbar. Dafür sind ME-L/P und EMLA[®] Creme ab 30 min Applikationsdauer eindeutig besser wirksam. Die Unterschiede zu ME-L EtOH sind

dagegen nicht als signifikant zu bewerten. Zusätzlich traten bei ME-B nach einer Lagerzeit von einigen Tagen Stabilitätsprobleme auf. Die Mikroemulsion färbte sich orange, was auf eine Zersetzung von Bupivacain hindeutet. Wahrscheinlich wird im alkalischen Milieu die Amidbindung des Arzneistoffs gespalten und die entstehende Aminogruppe durch Luftsauerstoff oxidiert.

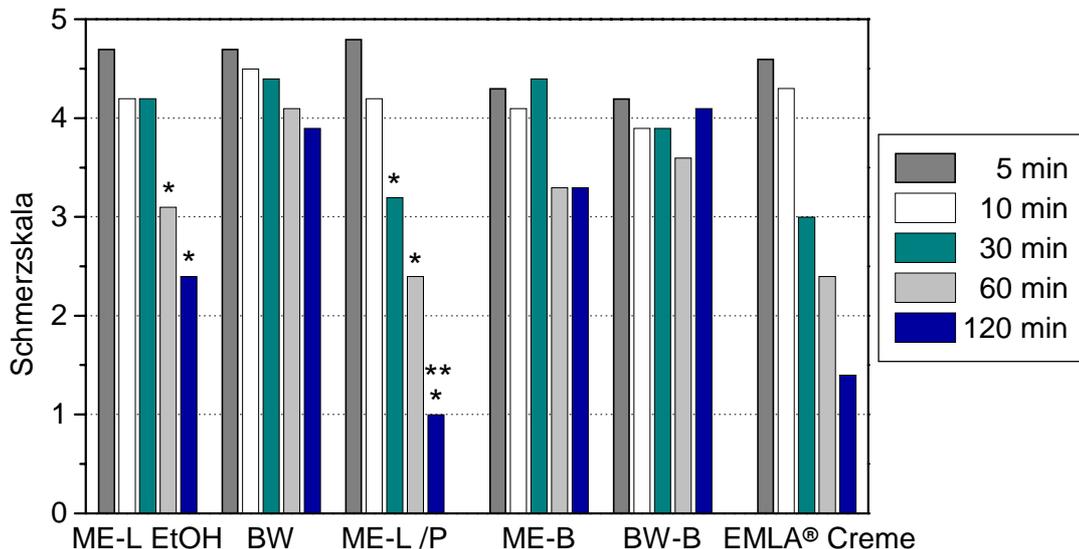


Abb. 38: Im Prick-Test ermittelte lokalanästhetische Wirksamkeit von Mikroemulsionen mit je 10 % Lidocain (L), Lidocain-Prilocain-Mischung (L/P) oder Bupivacain (B) im Vergleich zum jeweils zugehörigen Blindwert (BW für L und L/P, BW-B für B) und zu EMLA® Creme (\bar{x} , n=10) (Schmerzskala: 5 = maximaler Schmerz, 0 = kein Schmerz)

* signifikant gegenüber zugehörigem Blindwert mit $p < 0,05$

** signifikant besser wirksam als EMLA® Creme, $p < 0,05$

Die parallel zur Schmerzwahrnehmung getestete Berührungsempfindlichkeit nahm im untersuchten Zeitraum bei keiner der Formulierungen signifikant ab. Das zeigt, dass die untersuchten Mikroemulsionen die für die Weiterleitung des Schmerzempfindens zuständigen C-Fasern des Nervengeflechts blockieren, jedoch kaum an den dickeren A β -Fasern, die die Berührungsreize weiterleiten, angreifen (siehe Kap. 6.1.1).

Zusammenfassend lassen sich die Ergebnisse der Untersuchungen dieses Kapitels folgendermaßen bewerten: Ein Vergleich der drei Mikroemulsionen mit 10 % Lidocain zeigt nur geringe Unterschiede im Liberationsverhalten und in der lokalanästhetischen Wirksamkeit am Probanden. Das bedeutet, dass der Zusatz von Ethanol und DMSO in den verwendeten Konzentrationen die Penetration von Lidocain aus der Mikroemulsion in die Haut nicht signifikant steigert. Dagegen lassen sich die drei untersuchten Arzneistoffe nach ihrer Wirksamkeit in einer eindeutigen Rangfolge einordnen: Die eutektische Mischung von Lidocain und Prilocain führt auch bei Applikation in einer Mikroemulsion zu einer stärkeren und schnelleren dermalen Anästhesie als Lidocain. Dieses Ergebnis war etwas überraschend, da für das in der Mikroemulsion vollständig gelöste Lidocain eine ähnlich

hohe thermodynamische Aktivität wie für die bei Hauttemperatur flüssige eutektische Mischung vermutet worden war. Als etwas enttäuschend erwies sich die Tatsache, dass ME-L/P erst nach 120 min besser und ME-L EtOH nach 30 min sogar schlechter wirksam war als EMLA[®] Creme, die nur eine halb so hohe Arzneistoffkonzentration aufweist. ME-B zeigte trotz des Wirkstoffs mit der höchsten lokalanästhetischen Potenz die schlechteste Wirksamkeit. Diese Erkenntnis korreliert jedoch mit Ergebnissen von MCCAFFERTY et al., die bei Untersuchungen mit verschiedenen Lokalanästhetika *in vitro* keine Penetration von Bupivacain aus einer Creme nachweisen konnten [125].

6.2.4 Optimierung der Mikroemulsion mit Lidocain/Prilocain

In den vorangegangenen Untersuchungen mit verschiedenen Lokalanästhetika in Mikroemulsionen hatte sich die eutektische Mischung aus Lidocain und Prilocain als am besten wirksam erwiesen. Aufbauend auf diesen Ergebnissen sollte im Folgenden eine weitere Optimierung dieses Systems zur dermalen Anwendung erfolgen und die Wirksamkeit verschiedener Arzneistoffkonzentrationen untersucht werden.

Zunächst wurde der Frage nachgegangen, ob die **Anwesenheit von IPP** als lipophile Phase für eine Mikroemulsion mit Lidocain/Prilocain überhaupt notwendig ist, da diese Mischung bei Raumtemperatur bereits in flüssiger Form vorliegt und nicht erst gelöst werden muss. Untersuchungen dazu zeigten, dass sich in Abwesenheit von IPP mit der Lidocain/Prilocain-Mischung als lipophile und Puffer/PG als hydrophile Phase ebenfalls thermodynamisch stabile Systeme bildeten. Die beiden Phasen weisen in den verwendeten Konzentrationen ohne Tensid nur eine begrenzte Mischbarkeit auf, folglich entsprechen sie der Definition von Mikroemulsionen nach Kap. 3.1. Es ließen sich sogar größere Lokalanästhetikamengen einarbeiten, als in die IPP-haltigen Systeme. In Anwesenheit von Ethanol erwiesen sie sich im Vergleich zu den bisherigen Mikroemulsionen als stabiler. Aufgrund dieser Ergebnisse wurden für alle weiteren Versuche IPP-freie Systeme verwendet.

Um später verschiedene Arzneistoffkonzentrationen vergleichen zu können, sollte weiterhin untersucht werden, welcher **maximal mögliche Lidocain/Prilocain-Gehalt** in der Mikroemulsion erzielt werden kann. Dabei ergab sich für das Grundsystem eine Höchstkonzentration von 25 % der eutektischen Mischung. Überschreitung dieses Gehalts hatte eine Phasenseparation zur Folge. Bei Zusatz von Ethanol ließen sich sogar noch größere Mengen einarbeiten. Problematischer war die Herstellung DMSO-haltiger Mikroemulsionen mit Lidocain/Prilocain. Wie bei den in Kap. 6.2.3 beschriebenen lidocainhaltigen Systemen war ein entsprechender Mindestgehalt an Ethanol erforderlich, der mit der Höhe der Arzneistoffkonzentration zunahm.

Im Hinblick auf eine spätere praktische Anwendung am Patienten ist der bisher zur pH-Erhöhung verwendete **Sörensen-Clark-Puffer** aufgrund seines Gehalts an Borsäure nicht als optimal zu betrachten. Als nächstes stellte sich deshalb die Aufgabe, diesen Puffer zu substituieren, wobei der pH-Wert der Mikroemulsion erhalten bleiben sollte. Dazu

schien 0,1 M NaOH am besten geeignet zu sein, da sie der Hauptbestandteil des Puffers ist. Bei Untersuchungen zur Stabilität dieser Mikroemulsion mit verschiedenen Lidocain/Prilocain-Konzentrationen zeigten sich jedoch deutliche Unterschiede zum pufferhaltigen System. Mit 25 % Arzneistoff bildete sich keine Mikroemulsion, während die Systeme mit 20 und 15 % Lidocain/Prilocain zunächst optisch isotrop erschienen, jedoch nach 24 h ebenfalls eine Phasentrennung aufwiesen. Lediglich mit 10 und 5 % Wirkstoff entstanden stabile Mikroemulsionen. Dieses Ergebnis ist nicht zufriedenstellend, da der Austausch des Puffers gegen 0,1 M NaOH offensichtlich mit einem deutlichen Stabilitätsverlust der Systeme einhergeht. Weitere Untersuchungen wurden mit Formulierungen gleicher Arzneistoffkonzentration durchgeführt, die statt 0,1 M NaOH Wasser enthielten. Diese waren in ihrer Stabilität mit den pufferhaltigen Systemen vergleichbar. Das zeigt, dass die im Puffer enthaltene Borsäure offensichtlich nicht entscheidend für die Stabilisierung der Systeme ist. Wahrscheinlich wirkt sich eher der höhere pH-Wert der 0,1 M NaOH negativ aus. Die Herstellung vergleichbarer Vehikel mit 0,01 M NaOH sollte Klarheit darüber verschaffen. Dabei entstanden bis zu einem Lidocain/Prilocain-Gehalt von 25 % stabile Mikroemulsionen.

Um diese Stabilitätsunterschiede weiter aufklären zu können, erfolgte eine Messung der Teilchengrößen der inneren Phase der Mikroemulsionen mit Dynamischer Lichtstreuung sowie der pH-Werte der Gesamtsysteme. Es wurden jeweils Mikroemulsionen mit 5 % Arzneistoff verwendet. Die Ergebnisse sind in Tab. 5 dargestellt. Dort wird sichtbar, dass sich die Teilchengrößen der Mikroemulsionen mit Wasser, Puffer und 0,01 M NaOH kaum unterscheiden. Bei Herstellung mit der zehnfach konzentrierteren 0,1 M NaOH bilden sich dagegen mehr als drei mal so große Tröpfchen. Diese Erkenntnis stimmt genau mit den optisch beobachteten Stabilitätsunterschieden überein. Der pH-Wert der Systeme steigt in der Reihenfolge zunehmender Basizität der hydrophilen Phase an. Überraschend ist dabei der relativ hohe Wert der Mikroemulsion mit Wasser. Er lässt sich damit erklären, dass ein Teil der als Base vorliegenden Lokalanästhetikamoleküle protoniert wird und somit weniger freie Wasserstoffionen zur Verfügung stehen. Je höher der pH-Wert des umgebenden Mediums ist, desto geringer ist der protonierte Anteil an Arzneistoff. Für Lidocain und Prilocain, die beide einen pK_a -Wert von 7,9 besitzen, liegt dieser Anteil in einem System mit pH 9,5 bei 2,5 %, beträgt der pH-Wert 10,4 sind nur noch 0,3 % des Arzneistoffs protoniert. Dass die Tröpfchen der wasserhaltigen Mikroemulsion trotz des geringeren pH-Werts nicht kleiner als die des Systems mit 0,01 M NaOH sind, könnte an einer möglichen Sättigung der äußeren Phase mit Arzneistoff liegen. So ist nicht auszuschließen, dass sich protonierte Wirkstoffmoleküle verstärkt in den Tensidbereichen der Phasengrenzschicht anreichern und bei Lichtstremessungen der inneren Phase mit erfasst werden. Die Mikroemulsion mit 0,1 M NaOH besitzt den höchsten pH-Wert der untersuchten Systeme und folglich den größten Anteil an unprotoniertem Arzneistoff. Dies erklärt den größeren Teilchenradius der lipophilen Phase.

Tab. 5: Mit Dynamischer Lichtstreuung ermittelte Partikelradien und pH-Werte von Mikroemulsionen mit Lidocain/Prilocain in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der hydrophilen Phase

Hydrophile Phase	Partikelradius (nm)	pH-Wert der Mikroemulsion
Wasser/PG (1:2)	9,40	9,5
Puffer/PG (1:2)	9,37	9,8
0,01 M NaOH/PG (1:2)	8,71	9,9
0,1 M NaOH/PG (1:2)	32,44	10,4

Da sich nach den Ergebnissen in Kap. 6.2.2 mit Wasser hergestellte Mikroemulsionen als gering wirksam erwiesen haben, das pufferhaltige System aufgrund des Borsäuregehalts ausgeschlossen wurde und 0,1 M NaOH Systeme geringerer Stabilität bildet, soll für die weiteren Untersuchungen die Mikroemulsion mit 0,01 M NaOH als Grundlage dienen.

In dieses System wurden verschiedene Arzneistoffkonzentrationen inkorporiert, wobei der Tensidanteil von 20 % stets konstant blieb. Außerdem erfolgte die Herstellung von Vehikeln auf gleicher Basis mit Zusatz von 20 % Ethanol bzw. einem DMSO-Anteil. Alle Systeme weisen einen pH-Wert zwischen 9,5 und 10 auf. Die konkrete Zusammensetzung der Formulierungen wird in Tab. 6 ersichtlich.

Tab. 6: Zusammensetzung lidocain/prilocainhaltiger Mikroemulsionen mit 0,01N NaOH (Angaben in %)

	ME-L/P				ME-L/P EtOH				ME-L/P DMSO
	5	10	15	20	5	10	20	40	
Lidocain/Prilocain	5	10	15	20	5	10	20	40	20
0,01N NaOH/PG 1:2	75	70	65	60	55	50	40	20	–
Tween® 80/Synperonic® PE L101	20				20				20
0,01N NaOH/PG/DMSO2:1:1	–				–				40
Ethanol	–				20				20

Zunächst erfolgte die **Testung der Arzneistoffliberation** am MSMM. Dazu wurden aus Gründen der Vergleichbarkeit die Systeme mit jeweils 5 % Lidocain/Prilocain ausgewählt und den Ergebnissen der EMLA® Creme gegenübergestellt sowie die Mikroemulsionen mit jeweils 20 % Wirkstoff untereinander verglichen. Die Resultate sind in Abb. 39 und Abb. 40 graphisch dargestellt, wobei die nur gering differierenden Ergebnisse von Lidocain und Prilocain wieder zu einem Zahlenwert zusammengefasst wurden. Alle Vehikel zeigen im Untersuchungszeitraum zwischen 5 und 30 min eine Zunahme der freigesetzten Arzneistoffmenge, wobei bereits nach 5 min fast alle Systeme eine Liberation von über 50 % aufweisen. Als signifikant besser erwies sich die Freisetzung aus EMLA® Creme im Vergleich zur Mikroemulsion, wobei kein Unterschied zwischen den Systemen mit und ohne Ethanol festgestellt wurde. Bei einem Lidocain/Prilocain-Gehalt von 20 % trägt der Zusatz von Ethanol und DMSO jedoch zu einem Anstieg der Liberation bei.

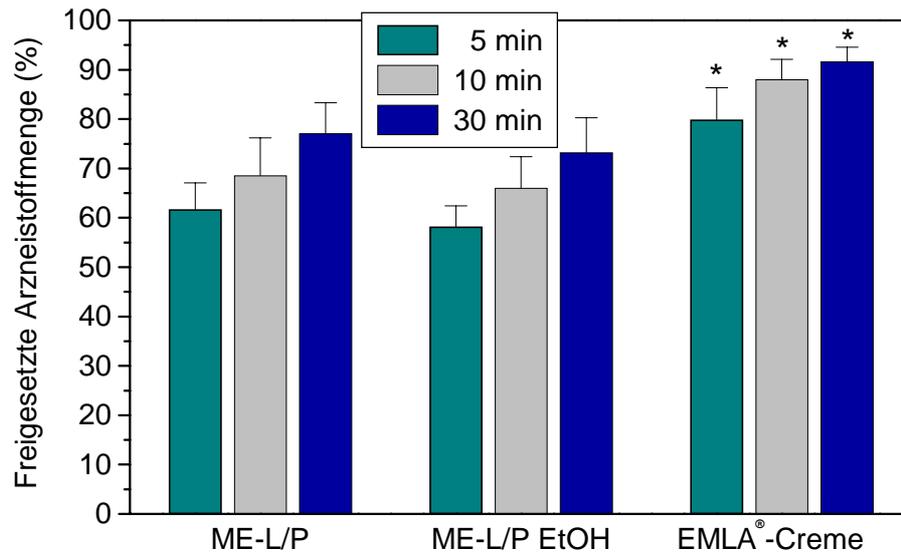


Abb. 39: Liberation von Lidocain/Prilocain aus zwei Mikroemulsionen mit 5 % Arzneistoffgehalt und EMLA® Creme ($\bar{x} \pm SD$, n=5)

* signifikant gegenüber ME-L/P und ME-L/P EtOH, $p < 0,05$

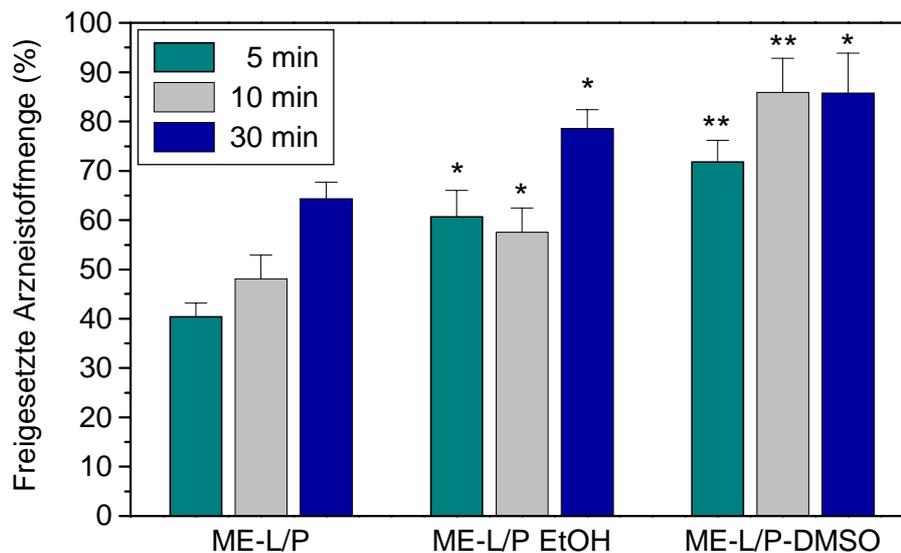


Abb. 40: Liberation von Lidocain/Prilocain aus drei Mikroemulsionen mit 20 % Arzneistoffgehalt ($\bar{x} \pm SD$, n=5)

* signifikant gegenüber ME-L/P, $p < 0,05$

** signifikant gegenüber ME-L/P und ME-L/P EtOH, $p < 0,05$

Die im MSMM untersuchten Mikroemulsionen wurden außerdem einem **Langzeitstabilitätstest** über mindestens ein Jahr unterzogen. Dabei erfolgte neben einer optischen Begutachtung auf Isotropie aller 1-2 Monate eine Bestimmung des Arzneistoffgehalts im Vehikel. Alle untersuchten Systeme erwiesen sich dabei im genannten Zeitraum bzw.

soweit untersucht auch darüber hinaus als stabil. Der Arzneistoffgehalt nahm nicht signifikant ab, wie die graphische Darstellung der Ergebnisse in Abb. 41 zeigt.

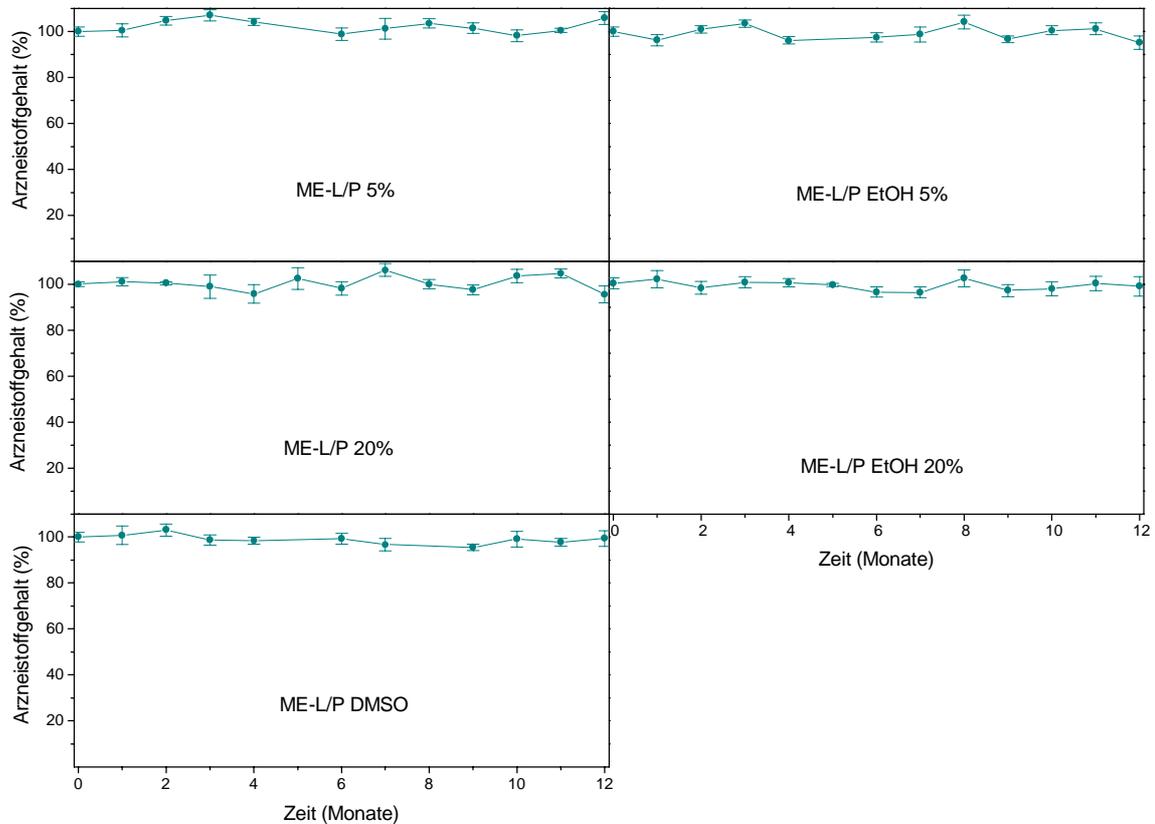


Abb. 41: Langzeitstabilität der Mikroemulsionen mit Lidocain/Prilocain ($\bar{x} \pm SD$, n=5)

Im Rahmen einer zweiten **klinischen Testung am Probanden** wurde die lokal-anästhetische Wirksamkeit der Mikroemulsion mit und ohne Ethanol in verschiedenen Konzentrationen bzw. mit DMSO (Zusammensetzung siehe Tab. 6) untersucht. Wie Abb. 42 zeigt, steigt die Wirksamkeit des ethanolfreien Grundsystems mit zunehmendem Arzneistoffgehalt an. Während sich die Mikroemulsion mit 5 % Lidocain/Prilocain erst nach 120 min signifikant vom Blindwert unterscheidet, ist bei doppelt so hohem Wirkstoffgehalt bereits nach 60 min und beim System mit 20 % Arzneistoff nach 30 min eine Wirkung nachweisbar. Im Vergleich zu EMLA[®] Creme wirkt die Mikroemulsion mit 5 % Lidocain/Prilocain 30 und 60 min nach Applikation sogar schlechter, bei höheren Konzentrationen ist kein signifikanter Unterschied zur Creme feststellbar.

Bei den ethanolhaltigen Systemen, deren lokal-anästhetische Wirksamkeit in Abb. 43 graphisch dargestellt ist, zeigt sich keine einheitliche Tendenz mit zunehmendem Arzneistoffgehalt. Statt dessen scheint bei 10 % Lidocain/Prilocain ein Optimum bezüglich der Wirksamkeit zu existieren, denn bei höheren Konzentrationen nimmt das Schmerzempfinden der Probanden wieder zu. So unterscheidet sich die Mikroemulsion mit 10 % Wirkstoff bereits nach 30 min vom Blindwert und weist nach 60 und 120 min signifikant bessere Ergebnisse auf als die Systeme mit 20 und 40 %. Dieses Phänomen

lässt sich damit erklären, dass durch den Ethanolgehalt von 20 % der Anteil an hydrophiler Phase entsprechend verringert ist. Mit steigender Arzneistoffkonzentration nimmt dieser Anteil weiter ab, bis er offenbar nicht mehr ausreicht, die Umwandlung der Lokalanästhetika in die schlechter wirksame protonierte Form zu verhindern, was eine Wirkungsabschwächung des Gesamtsystems zur Folge hat.

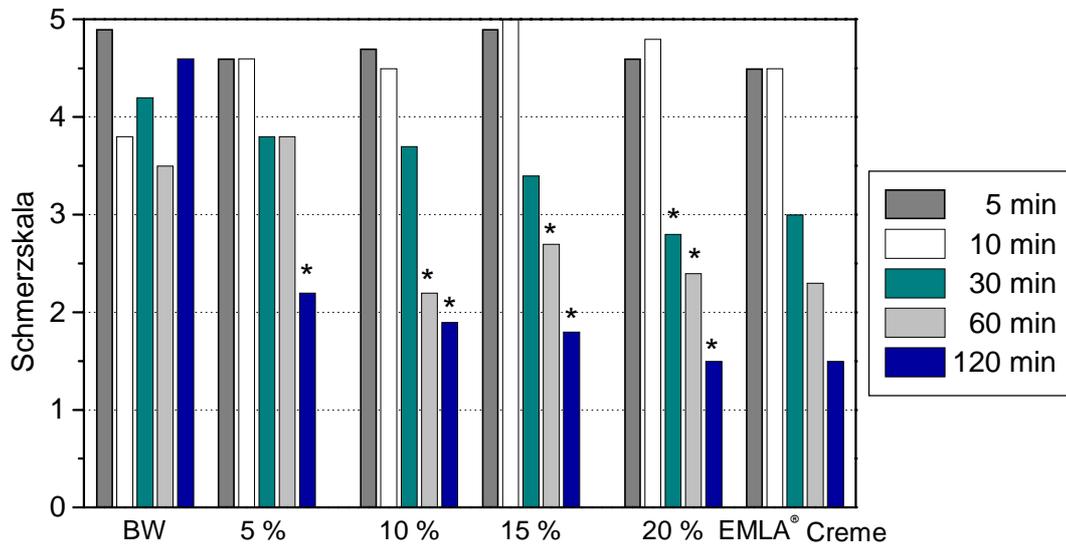


Abb. 42: Im Prick-Test ermittelte lokalanästhetische Wirksamkeit der Mikroemulsion mit verschiedenen Konzentrationen Lidocain/Prilocain im Vergleich zum Blindwert (BW) und zu EMLA® Creme (\bar{x} , n=10), (Schmerzskala: 5 = maximaler Schmerz, 0 = kein Schmerz)
* signifikant gegenüber Blindwert mit $p < 0,05$

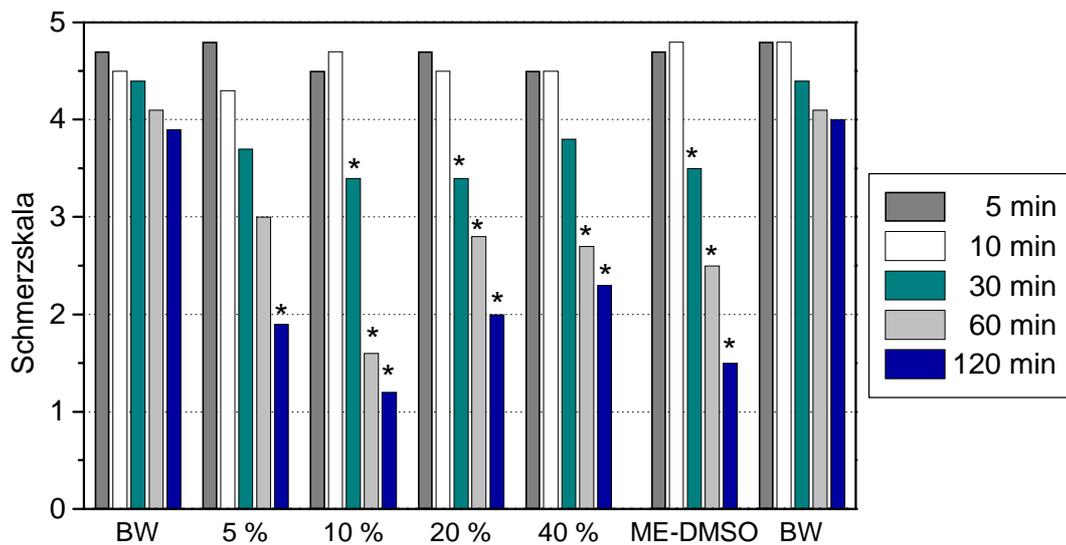


Abb. 43: Im Prick-Test ermittelte lokalanästhetische Wirksamkeit der ethanolhaltigen Mikroemulsion mit verschiedenen Konzentrationen Lidocain/Prilocain sowie der Mikroemulsion mit DMSO im Vergleich zum jeweiligen Blindwert (BW) (\bar{x} , n=10)
(Schmerzskala: 5 = maximaler Schmerz, 0 = kein Schmerz)
* signifikant gegenüber zugehörigem Blindwert mit $p < 0,05$

Stellt man die Systeme gleicher Arzneistoffkonzentration ohne und mit Ethanol gegenüber, lässt sich bei 5 und 20 % Lidocain/Prilocain kein Unterschied feststellen. Auch der Zusatz von DMSO führt nicht zu einer verbesserten Wirksamkeit. Dafür treten bei Anwendung dieses Systems vermehrt Hautirritationen, besonders Rötungen auf, so dass der Zusatz von DMSO zu den verwendeten Mikroemulsionen nicht zu empfehlen ist.

Unterschiede wurden jedoch beim Vergleich der beiden Mikroemulsionen mit 10 % Lidocain/Prilocain festgestellt. Dabei führt das ethanolhaltige System besonders nach 120 min zu signifikant besseren Ergebnissen. Insgesamt betrachtet weist diese Mikroemulsion von allen untersuchten Systemen die beste lokalanästhetische Wirksamkeit auf. Sie bewirkt nach 60 min sogar eine signifikant stärkere dermale Anästhesie als EMLA[®] Creme.

Abschließend stellt sich die Frage, warum die entwickelten Mikroemulsionen trotz nachgewiesener sehr guter und schneller Hautpenetration keine deutliche Überlegenheit in der Wirksamkeit bzw. im Wirkeintritt gegenüber EMLA[®] Creme aufweisen. Als eine mögliche Ursache sollte die Neigung von Lokalanästhetika zur Mischmizellbildung mit Polysorbaten in Betracht gezogen werden, die von THOMA und KASPER nachgewiesen wurde. Lidocain weist von den untersuchten Lokalanästhetika in wässriger Lösung zwar die geringste Tendenz zur Mizellbildung auf (Prilocain wurde nicht untersucht), jedoch nimmt diese mit steigendem pH-Wert und wachsender Ionenstärke deutlich zu [203]. Am Kaninchenaugen wurde nachgewiesen, dass eine verstärkte Mischmizellbildung von Lokalanästhetika mit Polysorbaten zu einer Abnahme der Wirksamkeit führt [204].

Auch bei den entwickelten Mikroemulsionen kann davon ausgegangen werden, dass ein bestimmter Teil der Lokalanästhetikamoleküle mizellar gebunden vorliegt und seine Wirksamkeit somit nicht optimal entfalten kann.

6.2.5 Zusammenfassung der Ergebnisse

Basierend auf dem in Kap. 4.1.2 vorgestellten Grundsystem und Voruntersuchungen von PISTORIUS [153] wurden verschiedene lokalanästhetikahaltige O/W- und W/O-Mikroemulsionen entwickelt und miteinander verglichen. Obwohl alle getesteten Formulierungen gute bis sehr gute Freisetzungsergebnisse aufweisen, zeigten sich im Prick-Test am Probanden z. T. erhebliche Unterschiede hinsichtlich der lokalanästhetischen Wirksamkeit. Aus diesen Ergebnissen leiten sich zwei essentielle Faktoren für die Herstellung gut wirksamer Systeme ab: Das Lokalanästhetikum muss in seiner lipophilen Basenform vorliegen und in ein Vehikel mit alkalischem pH-Wert inkorporiert werden. Die beste lokalanästhetische Wirksamkeit wurde bei Einsatz der eutektischen Mischung aus Lidocain und Prilocain erzielt. Während nach Einarbeitung in die Basismikroemulsion ein Anstieg der Wirksamkeit mit zunehmender Konzentration zu verzeichnen war, wies das ethanolhaltige System ein Wirkungsoptimum bei 10 % Arzneistoffgehalt auf. Diese Mikroemulsion wirkte signifikant besser als EMLA[®] Creme.

7 Zusammenfassung

Entscheidend für die Wirksamkeit eines Arzneimittels ist neben der Potenz des Wirkstoffs auch die Auswahl eines geeigneten Vehikels. Dies gilt in besonderem Maße in der Dermatologie, wo das Therapieergebnis stets als Resultat eines komplexen Wechselspiels zwischen Arzneistoff, Grundlage und Haut zu betrachten ist. Dabei gewinnen moderne, kolloidale Vehikelsysteme wie Mikroemulsionen zunehmend an Bedeutung. Diese bieten gegenüber klassischen Salbengrundlagen den Vorteil eines hohen Solubilisierungsvermögens für schlecht lösliche Stoffe und weisen hervorragende Penetrationseigenschaften auf.

Das Ziel dieser Arbeit bestand in der Entwicklung hautverträglicher Mikroemulsionen, die als Vehikelsystem für die dermale Applikation verschiedener Arzneistoffe Verwendung finden sollen.

Aus einer Vielzahl von getesteten Emulgatoren wurde als die geeignetste Kombination eine Mischung aus Tween[®] 80 und Pluronic[®] L101 bzw. Synperonic[®] PE L101 ausgewählt, die mit einer Wasser-Propylenglycol-Mischung als hydrophile Phase und verschiedenen lipophilen Komponenten stabile O/W-Mikroemulsionen bildet.

Die Kombination verschiedener physikochemischer Untersuchungen ermöglichte eine umfassende Charakterisierung dieser Systeme. Dabei konnte die Existenz sphärischer Teilchen mit einem Durchmesser von ca. 20 nm nachgewiesen werden. Die Systeme zeigten sich isotrop und thermodynamisch stabil. Sie ließen sich deutlich von flüssigkristallinen Strukturen abgrenzen. Aufgrund dieser Charakterisierungsergebnisse und ihrer Zusammensetzung können sie eindeutig den Mikroemulsionen zugeordnet werden.

Hydrocortisonhaltige Mikroemulsionen

In die entwickelten Mikroemulsionen ließ sich das als Modellarzneistoff ausgewählte Hydrocortison in Konzentrationen von bis zu 0,5 % inkorporieren.

In-vitro-Untersuchungen zur Liberation des Wirkstoffs aus dem Vehikel am Mehrschichtmembranmodell wurden mit der IPM-haltigen Basismikroemulsion sowie je einem in lipophiler und hydrophiler Phase modifizierten System durchgeführt. Alle drei Vehikel wiesen dabei sehr gute Freisetzungsergebnisse auf. Dies ist wahrscheinlich auf eine hohe thermodynamische Aktivität des Arzneistoffs im Vehikel zurückzuführen. Die zum Vergleich getesteten vier kommerziell erhältlichen Hydrocortisonpräparate auf Basis verschiedener Salbengrundlagen differieren dagegen deutlich in der Wirkstofffreisetzung. Während die wasserfreie Salbe Hydrodexan[®] S schnell das höchste Ausmaß ihrer Liberation erreicht hat, zeigt die Hydrodexan[®] Creme zunächst eine verzögerte Freisetzung, die nach längeren Versuchszeiten jedoch bis zum Maximalwert ansteigt. Die

beiden O/W-Cremes Calmurid® HC und Nubral® 4 HC weisen Ergebnisse zwischen diesen beiden Extremen auf.

An exzidierter Humanhaut wurde die Penetration von Hydrocortison aus der Basis-mikroemulsion sowie Hydrodexan® S und Nubral® 4 HC untersucht. Dabei bildete sich nach Applikation der beiden kommerziellen Präparate ein ausgeprägtes Arzneistoffdepot im Stratum corneum mit zeitlich konstantem Gehalt, aus dem nur geringe Mengen in die darunterliegenden Hautschichten bzw. bis in den Akzeptor diffundierten. Nach Anwendung der Mikroemulsion konnte dagegen ca. die Hälfte des penetrierten Arzneistoffanteils im Akzeptor nachgewiesen werden, während das Wirkstoffdepot im Stratum corneum deutlich geringer ausgeprägt ist. In den Hautschichten wurden ebenfalls etwas niedrigere Konzentrationen als nach Applikation der Salbe und der Creme detektiert. Dabei muss jedoch berücksichtigt werden, dass die im Akzeptor nachgewiesenen Arzneistoffmengen die Hautschichten bereits passiert haben. Insgesamt betrachtet konnte folglich aus der Mikroemulsion eine eindeutig stärkere Penetration von Hydrocortison in lebende Hautschichten als aus den beiden Präparaten Hydrodexan® S und Nubral® 4 HC nachgewiesen werden.

Lokalanästhetikahaltige Mikroemulsionen

Untersuchungen mit lokalanästhetikahaltigen Mikroemulsionen hatten die Optimierung der Systeme im Hinblick auf eine möglichst schnelle und starke Anästhesie einzelner Hautareale zum Ziel. In Voruntersuchungen zeigte sich, dass dafür besonders zwei Faktoren von Bedeutung sind: Das Lokalanästhetikum muss in seiner lipophilen Basenform vorliegen und sollte in einem Vehikel inkorporiert sein, das einen alkalischen pH-Wert aufweist. Da die entwickelte Basismikroemulsion auch bei Verwendung eines alkalischen Puffers bzw. von NaOH statt Wasser stabile, isotrope Systeme bildet, ließen sich auf diese Weise Mikroemulsionen im gewünschten pH-Bereich herstellen.

In Penetrationsuntersuchungen an exzidierter Humanhaut konnte die Überlegenheit der Mikroemulsion mit pH 9 gegenüber Basiscreme DAC, die ebenfalls auf diesen pH-Wert eingestellt wurde, gezeigt werden. In allen Hautschichten und im Akzeptor wurden nach Applikation der Mikroemulsion signifikant höhere Konzentrationen des Lokalanästhetikums Lidocain nachgewiesen.

Eine Bewertung der lokalanästhetischen Wirksamkeit der Mikroemulsion in Abhängigkeit von Modifikationen in der Zusammensetzung und mit drei verschiedenen Arzneistoffen erfolgte anhand der Ergebnisse eines Prick-Tests, die im Rahmen der klinischen Testung der Präparate an Probanden vorgenommen wurden. Dabei zeigte die eutektische Mischung aus Lidocain und Prilocain eine bessere Wirksamkeit als Lidocain allein, während für Bupivacain an der Haut keine nennenswerten lokalanästhetischen Effekte nachgewiesen werden konnten. Durch Zusatz von Ethanol bzw. DMSO konnte die Wirksamkeit der lidocainhaltigen Mikroemulsion nicht weiter gesteigert werden. Untersuchungen zur Konzentrationsabhängigkeit der lokalanästhetischen Wirkung an Systemen mit der

Lidocain-Prilocain-Mischung ergaben für die Basismikroemulsion einen Anstieg der Wirksamkeit mit zunehmendem Arzneistoffgehalt bis 20 %. Die Anwesenheit von Ethanol im Vehikel führte dagegen zur Ausbildung eines Wirkungsoptimums bei einer Arzneistoffkonzentration von 10 %. Diese Mikroemulsion wies von allen getesteten Systemen die beste lokalanästhetische Wirksamkeit auf und ist somit als optimiertes Vehikel zu betrachten.

8 Experimenteller Teil

8.1 Charakterisierung der Systeme

8.1.1 Erstellung des Phasendiagramms

Zur Ermittlung des Mikroemulsionsgebietes im Phasendiagramm wurden durch Rühren Mischungen der Komponenten abgestuft in 10 %-Schritten entsprechend den jeweiligen Schnittpunkten im Raster des Diagramms hergestellt und zur Gleichgewichtseinstellung 7 Tage stehen gelassen. Danach erfolgt eine Beurteilung der optischen Transparenz, wobei nur eindeutig klare, einphasige Systeme im Phasendiagramm als Mikroemulsionsgebiet gekennzeichnet wurden. Zur deutlichen Abgrenzung der Randgebiete der isotropen Phase wurden in den relevanten Bereichen weitere Mischungen in 5 bzw. 2 %igen Abstufungen der Konzentrationen der Komponenten hergestellt und in gleicher Weise geprüft.

8.1.2 Polarisationsmikroskopie

Die polarisationsmikroskopischen Untersuchungen der Mikroemulsionen wurden an dem Gerät Optiphot X2 der Fa. Nikon GmbH, Düsseldorf, durchgeführt. Ein Tropfen jeder Probe wurde zwischen zwei Deckgläschen auf dem Heiztisch des Mikroskops positioniert und bei einer 100-fachen Vergrößerung betrachtet. Nach anfänglichem Aufheizen auf 30 °C wurden die Proben unter ständiger Beobachtung mit einer Geschwindigkeit von 5 K/min bis auf -10 °C abgekühlt.

8.1.3 Gefrierbruch-Elektronenmikroskopie

Für die elektronenmikroskopische Untersuchung wurde ein Tropfen jeder Mikroemulsion zwischen zwei Kupferplättchen zu einer dünnen Schicht verteilt und in flüssigem Propan (-190°C) schockgefroren. Nach Überführung in die Gefrierbruchanlage (Balzers BAF 400 T) erfolgte bei -110 °C im Vakuum das Brechen und 30 s Ätzen der Probe. Die anschließende Bedampfung mit Platin fand unter einem Winkel von 35°, die mit Kohle bei 90° statt. Die entstandenen Abdrücke wurden mit einer Methanol-Chloroform-Mischung (1:1) vom Kupferplättchen abgelöst und konnten nach Reinigung mit Wasser im Transmissions-Elektronenmikroskop (Zeiss EM 902, Beschleunigungsspannung 80 KV) betrachtet werden.

8.1.4 Viskositätsmessungen

Die Messung der Dynamischen Viskositäten der Mikroemulsion und verschiedener PG-Wasser-Mischungen erfolgte an dem nach dem Couette-Prinzip arbeitenden Rotationsviskosimeter Fluids Spectrometer RFS II der Fa. Rheometrics Scientific, Bensheim. In den Außenzyylinder wurden ca. 12 ml der zu untersuchenden Probe gefüllt und der Innenzyylinder bis zur Oberkante darin eingetaucht. Nach Erreichen einer konstanten

Temperatur von 25 °C wurde bei Scherraten zwischen 0,1 und 100 s⁻¹ eine Fließkurve aufgezeichnet. Die Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe des Computerprogramms RHIOS, Version 4.2.

8.1.5 Dynamische Lichtstreuung

Zur Ermittlung von Teilchengrößen der Mikroemulsionen mittels Dynamischer Lichtstreuung wurden die Proben zunächst durch einen Celluloseacetat-Membranfilter (1,2 µm, Sartorius, Göttingen) filtriert und in Laserstreulichtküvetten (Hellma, Müllheim) eingefüllt. Nach Temperierung bei 25,0 ± 0,1 °C erfolgte die Messung mit einem Kompakt-Goniometer ALV/SP 86 (ALV-Laser Vertriebsgesellschaft mbH, Langen) der einen Nd:YAG-Laser (Fa. ADLAS) der Wellenlänge 532 nm mit einer Leistung von 140 mW enthielt. Die Ergebnisse stellen den Mittelwert der Messung bei verschiedenen Winkeln zwischen 60 und 120 ° dar.

Der Brechungsindex der Proben wurde mit einem Abbé-Refraktometer (Abbemat, Dr. Kernchen, Seelze) bei 25,0 ± 0,2 °C bestimmt.

Die Auswertung der Ergebnisse basiert auf der Viskosität der hydrophilen Phase, die gemäß Kap. 8.1.4 bestimmt wurde.

8.2 Bestimmung physikochemischer Parameter der Arzneistoffe

8.2.1 Verteilungskoeffizienten

Zur Bestimmung des Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten von Hydrocortison wurde eine Mischung aus je 100 ml der beiden Flüssigkeiten 12 h geschüttelt, um die Phasen gegenseitig zu sättigen. Nach eingetretener Phasenseparation erfolgte die Trennung beider Stoffe mit Hilfe eines Scheidetrichters. Das oktanolgesättigte Wasser diente zur Herstellung einer gesättigten Lösung von Hydrocortison. 3 ml dieser Stammlösung wurden mit 3 ml des wassergesättigten Oktanols versetzt und in einer Glasampulle verschweißt. Fünf dieser Proben wurden anschließend bei Temperierung von 32° C im Wasserbad 24 h geschüttelt. Nach Eintreten der Phasentrennung und Aufbrechen der Ampullen erfolgte nach entsprechender Verdünnung die Messung des Hydrocortisongehalts in der wässrigen und in der Oktanolphase mittels HPLC. Der Verteilungskoeffizient ließ sich aus dem Verhältnis der beiden gemessenen Konzentrationen ermitteln.

8.2.2 Sättigungslöslichkeiten

Um die Sättigungslöslichkeiten der einzelnen Arzneistoffe in verschiedenen Medien zu ermitteln, wurden jeweils ca. 2 ml des Lösungsmittels mit soviel Arzneistoff versetzt, dass sich ein Bodensatz bildete. Während des anschließenden 24-stündigen Schüttelns (Laborschüttler Fa. GLF, Burgwedel) wurde in gewissen Abständen das Vorhandensein des Bodensatzes überprüft und neuer Arzneistoff zugesetzt, sofern dieser sich komplett gelöst hatte. Nach Ablauf der Versuchszeit wurden alle Proben bei 4000 min⁻¹ zentrifugiert

(Laborzentrifuge MLW T52.1, Zentrifugenbau Engelsdorf) und ggf. filtriert (Filter Nr. 390, Spezialpapierfabrik Niederschlag/Erzgebirge). Nach entsprechender Verdünnung erfolgte die Gehaltsbestimmung des jeweiligen Arzneistoffs mittels HPLC. Aus je drei Parallelansätzen wurden je drei Proben analysiert.

8.3 Herstellung der Mikroemulsionen

Zur Herstellung der Mikroemulsionen wurden zunächst die beiden Tenside in entsprechender Konzentration gemischt und anschließend mit der nötigen Menge des pharmazeutischen Öls versetzt. Zuletzt erfolgte die Zugabe der ebenfalls im Voraus hergestellten Mischung der hydrophilen Phase. Die Einstellung des Mikroemulsionsgleichgewichts geschah durch Rühren in einer kleinen Fantaschale oder Schütteln im Reagenzglas.

Zur Herstellung hydrocortisonhaltiger Systeme wurde der Arzneistoff vor Zusatz der hydrophilen Phase mit Hilfe eines Pistills in einer Fantaschale homogen mit der Tensid-Öl-Mischung verrieben, um die Bildung von Arzneistoffagglomeraten zu verhindern.

Zur Herstellung der Mikroemulsionen mit Lokalanästhetika wurden die pulverförmigen Arzneistoffe ebenfalls mit der Tensid-Öl-Mischung angerieben, die flüssige eutektische Mischung wurde anstelle der Ölphase zugesetzt und das System einfach bis zur Gleichgewichtseinstellung im Reagenzglas geschüttelt.

8.4 Stabilitätsuntersuchungen

Zur Untersuchung der Stabilität der Arzneistoffe in den Mikroemulsionen wurden jeweils ca. 10 mg der Formulierung genau eingewogen, mit 2 ml Methanol versetzt und 30 min geschüttelt (Laborschüttler Fa. GLF, Burgwedel). Die Bestimmung des Arzneistoffgehalts der Proben erfolgte nach entsprechender Verdünnung mittels HPLC. Es wurden je 5 Parallelbestimmungen durchgeführt.

8.5 *In-vitro*-Liberationsuntersuchungen am Mehrschichtmembranmodell

Aufbau des Modells

Das Mehrschichtmembranmodell nach FÜRST/NEUBERT (Abb. 44) besteht aus einer Grund- und einer Deckplatte aus Polyacryl, zwischen denen 8–10 Einzelzellen für Parallelbestimmungen positioniert werden können. Eine derartige Zelle setzt sich aus einer Grundscheibe, einer Schablone mit einer Aussparung von 4 cm² zum Auftragen der Formulierung und einer Deckscheibe, die den oberen Abschluß der Zelle bildet, zusammen. Zwischen Grundscheibe und Schablone wird die für den jeweiligen Versuch benötigte Art und Anzahl von Dodecanol- bzw. Glycerolmembranen platziert und mit einer Nephrophanmembran von der Grundscheibe abgegrenzt [136].

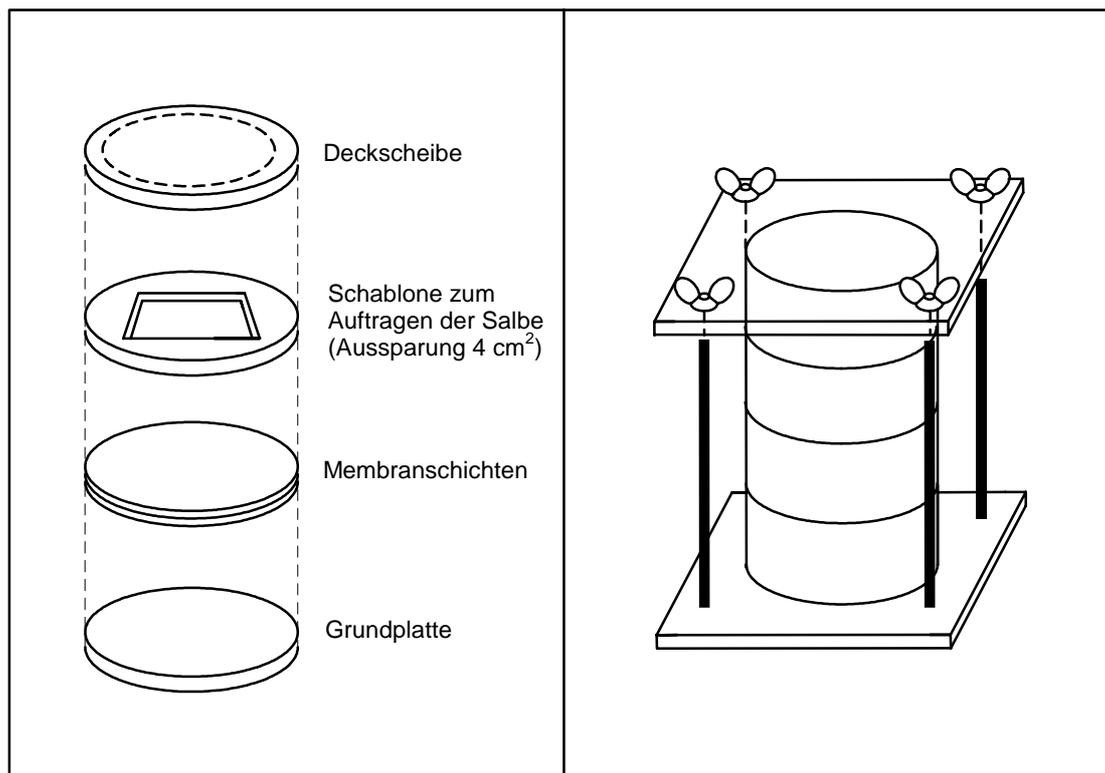


Abb. 44: Aufbau des Mehrschichtmembranmodells nach FÜRST/NEUBERT

Versuchsdurchführung

Auf der obersten Membran jeder Zelle wurden ca. 10 µl der Mikroemulsion bzw. 10 – 12 mg der Salbe genau eingewogen und innerhalb der Aussparung der Schablone möglichst gleichmäßig verteilt. Nach Fixierung der Einzelzellen durch Verschraubung wurde das gesamte Modell in einem Spezialeinsatz im Wasserbad bei 32 °C (Hauttemperatur) für die Dauer von 30, 100 und 300 min (HC) bzw. 5, 10 und 30 min (LA) temperiert. Nach Ablauf der Versuchszeit und Zerlegung des Modells in Einzelzellen erfolgte bei fünf der sieben Parallelansätze die Entfernung des verbleibenden Formulierungsrückstandes auf der obersten Membran. Die übrigen zwei Zellen dienten zur Bestimmung der Wiederfindungsrate, hier wurde der Formulierungsrückstand mit in die Analytik einbezogen. Nach Trennung der Membranen einer Zelle und Überführung in Reagenzgläser erfolgte die Extraktion des Arzneistoffs durch 30-minütiges Ausschütteln mit 2 ml Chloroform (HC) bzw. 5 ml 80 %igem Ethanol (LA). Während die ethanolischen Proben direkt mit HPLC vermessen werden konnten, musste das zur Extraktion benötigte Chloroform erst mit einem Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 1 ml Methanol wieder aufgenommen werden.

Herstellung der verwendeten Membranen

Membranrezeptur:	für Hydrocortison	für Lokalanästhetikabasen
Dodecanol	8,0 g	4,0 g
Ether-Ethanol-Mischung (85:15 V/V)	ad 100,0 g	ad 100,0 g
4 %ige Collodium-Lösung	ad 200,0 g	ad 200,0 g

Als Akzeptor für die in Voruntersuchungen getesteten Lokalanästhetika-Hydrochloride diente statt Dodecanol 4,0 g Glycerol.

Ca. 120 ml dieser Mischung wurden mit Hilfe eines Filmziehergerätes (institutseigene Werkstatt) bei definierter Spaltbreite gleichmäßig auf einer Glasplatte verteilt. Nach vollständigem Verdampfen der Lösungsmittel (ca. 4-6 h) konnte die Membran von der Glasplatte abgezogen werden. Anschließend erfolgte das Ausstechen kreisförmiger Stücke, die bis zur Verwendung zwischen Filterpapier im Exsikkator aufbewahrt wurden.

Glycerolmembranen wurden bedingt durch Verdunsten des Glycerols spätestens einen Tag nach Herstellung verwendet.

8.6 Penetrationsuntersuchungen an exzidiierter Humanhaut

Diffusionszelle nach FRANZ

Zur Durchführung der Penetrationsuntersuchungen wurde die Diffusionszelle nach FRANZ (Crown Glass Co. Inc., Evergreen Drive Somerville, N.Y. USA) verwendet. Deren Aufbau ist in Abb. 45 schematisch dargestellt. Sie besteht aus einer doppelwandigen, mit Wasser temperierbaren Glaskammer. Diese dient zur Aufnahme der Akzeptorflüssigkeit, die ständig gerührt wird, um die Ausbildung von Diffusionsschichten zu verhindern. Auf diesem Glasteil wird die auf einem Stück Gaze liegende Haut so positioniert, dass sich seine Dermis in ständigem Kontakt mit der Akzeptorflüssigkeit befindet. Nach Fixierung mit einer Metallklammer kann die Zelle mit einer Glasabdeckung versehen werden, um Verdunstungseffekte auszuschließen.

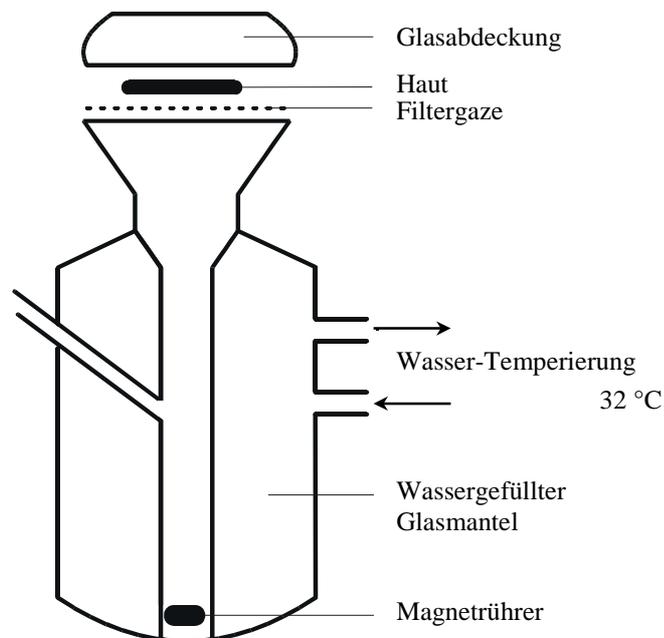


Abb. 45: Aufbau der Diffusionszelle nach FRANZ [64]

Präparation der Humanhaut

Die für die Penetrationsstudien verwendeten Hautstücke stammen von Mammareduktionsplastiken. Sie wurden innerhalb weniger Stunden nach der Operation mit isotonischer NaCl-Lösung gereinigt und vom subkutanen Fettgewebe befreit. Nach dem Ausstanzen runder Hautstücke von 2 cm Durchmesser mit einem Lochsisen wurden diese einzeln in Alufolie verpackt und bis zur Verwendung maximal 3 Monate bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt.

Für die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen wurde die Haut von drei Patientinnen im Alter von 38, 40 und 51 Jahren verwendet.

Herstellung der Formulierungen mit radioaktiv markiertem Hydrocortison

Zur Herstellung radioaktiv markierter Mikroemulsionen wurden $30\text{ }\mu\text{l}$ der ^3H -Hydrocortison-Gebrauchslösung auf ein Uhrgläschen gegeben und der nach Abdampfen des Lösungsmittels (Toluol:Ethanol 9:1) verbleibende Rückstand durch Rühren homogen in $15\text{ }\mu\text{l}$ Mikroemulsion verteilt. $10\text{ }\mu\text{l}$ davon wurden für die Penetrationsversuche verwendet. Daraus resultiert pro Hautstück eine aufgetragene Menge an Radioaktivität von $14\text{ }\mu\text{Ci}$. Da der tritiummarkierte Anteil an der Gesamtmenge des Hydrocortisons in der Mikroemulsion mit ca. 0,15 % sehr gering ist, musste der Arzneistoffgehalt der zu Penetrationsuntersuchungen verwendeten Systeme nicht reduziert werden.

Die Einarbeitung des ^3H -Hydrocortisons in Salben erfolgte durch Mischung von $20\text{ }\mu\text{l}$ der Gebrauchslösung mit einer genau eingewogenen Menge von ca. 10 mg Salbe, so dass pro Hautstück 12-15 μCi Radioaktivität aufgetragen wurden.

Versuchsdurchführung

a) Hydrocortisonhaltige Systeme

Auf die frisch aus dem Gefrierschrank entnommenen, aufgetauten und vom Gefrierwasser befreiten Hautstücke erfolgte die homogene Verteilung von $10\text{ }\mu\text{l}$ der Mikroemulsion bzw. der durch Differenzwägung genau ermittelten Masse an Salbe. Das Hautstück wurde anschließend in der auf $32\text{ }^{\circ}\text{C}$ vortemperierten Diffusionszelle positioniert, die isotonische NaCl-Lösung als Akzeptorflüssigkeit enthielt. Nach Ablauf der jeweiligen Versuchsdauer von 30, 100 oder 300 min und Entnahme des Hautstücks aus der Zelle wurde der auf der Hornschicht verbliebene Formulierungsrückstand vorsichtig mit einem Wattestäbchen entfernt und das Hautstück am Rand mit Stecknadeln auf einer mit Alufolie bespannten Styroporunterlage befestigt. Die Entfernung des Stratum corneum erfolgte nach Auflegen einer Schablone mit kreisförmiger Aussparung ($d = 16\text{ mm}$) durch 20 Abrisse mit Tesa[®]-Film. Aus der verbleibenden Epidermis und Dermis konnten drei Stanzbiopsien ($d = 6\text{ mm}$) entnommen werden. Sie bildeten die Grundlage zur Anfertigung von horizontalen Schnitten mit einem Gefriermikrotom (Fa. R. Jung, Heidelberg). Dabei wurde die lebende Epidermis in 8 Stücke a $20\text{ }\mu\text{m}$ Hauttiefe und die Dermis in 30 Stücke a $40\text{ }\mu\text{m}$ zerlegt. Für die analytische Auswertung mittels Flüssigkeitsszintillationszählung wurden jeweils zwei Hornhautabrisse zu einer Probe zusammengefasst und mit 4 ml Methanol

sowie 8 ml Szintillatorlösung [4,0 g PPO (2,5-Diphenyloxazol) und 0,1 g POPOP (1,4-Di-2-(5-phenoxazolyl)-benzen) ad 1,0 l Toluol] versetzt. Die gleiche Vorbehandlung erfolgte mit einer Probe der Akzeptorflüssigkeit und dem zur Entfernung des Formulierungsrückstandes verwendeten Wattetupfer, dessen Quantifizierung zu Bilanzierungszwecken diente. Die Epidermis- und Dermischnitte mussten zunächst zur Gewebeauflösung mit 100 µl Soluene[®] 350 behandelt werden, bevor sie nach Stehen über Nacht und Zusatz von 1 ml Methanol sowie 2 ml Szintillator einzeln vermessen werden konnten.

b) Lokalanästhetikahaltige Systeme

Die Durchführung dieser Versuche entspricht bis auf folgende Unterschiede der beschriebenen Testung der hydrocortisonhaltigen Systeme: Für jede lokalanästhetikahaltige Formulierung wurde die Penetration der Arzneistoffe in die einzelnen Hautschichten nach einer Versuchsdauer von 10 und 30 min gemessen. Die Entfernung des Stratum corneum erfolgte nicht durch Tesa[®]-Film-Abrisse sondern durch einen Mikrotomschnitt von 20 µm Tiefe aus jeder der drei Stanzbiopsien. Für die analytische Bestimmung mittels HPLC wurden alle Schnitte jeweils einer Hautschicht zu einer (Stratum corneum 1x 20 µm und Epidermis 8x20 µm) bzw. zwei (Dermis 2x15x40 µm) Proben zusammengefasst. Nach 24-stündiger Extraktion mit je 1 ml absolutem Ethanol und Zentrifugieren konnten die Proben abgefüllt und direkt in die HPLC eingespritzt werden. Als Blindwert diente ein unbehandeltes Hautstück.

8.7 Herstellung der Lokalanästhetikabasen aus Hydrochloriden

Zur Gewinnung von Prilocain in seiner Basenform wurden 10 g des entsprechenden Hydrochlorids in 75 ml Wasser gelöst. Nach Einfüllen in einen Scheidetrichter und Einstellen des pH-Wertes auf ca. 10 mit 6 M NaOH erfolgte die Extraktion der Prilocainbase durch Ausschütteln mit 70 ml Ether. Der Trennung von organischer und wässriger Fraktion schloss sich das Abdampfen des Ethers an, wobei reines Prilocain zurückblieb. Aus der verbliebenen wässrigen Phase erfolgte durch zwei weitere Extraktionen mit je 50 ml Ether die Gewinnung des restlichen Prilocains. Mit diesem Verfahren wurde der Arzneistoff als flüssige, klare Base mit einer Ausbeute von 98–100 % erhalten.

Die Herstellung von Bupivacain erfolgte durch Suspendieren von 2,5 g des Hydrochlorids in 20 ml Wasser und dreimaliges Ausschütteln der alkalisierten hydrophilen Phase mit 25 bzw. 20 ml Ether. Es konnte eine Ausbeute von 99 % erzielt werden, wobei das gewonnene Bupivacain als weißes Pulver vorlag.

8.8 Klinische Testung am Probanden

Ziel der klinischen Studien war ein Vergleich verschiedener topischer Formulierungen hinsichtlich des zeitlichen Verlaufs und der Stärke der lokalanästhetischen Wirksamkeit. Dazu lag ein positives Votum der Ethikkommission der Ärztekammer Sachsen-Anhalt vor.

Studiendesign

An den klinischen Studien nahmen je 10 freiwillige, volljährige Probanden teil, bei denen keine neurologischen oder Hauterkrankungen vorlagen. Die Anwendung von Medikamenten während der Studie wurde ebenso wie das Vorliegen einer Schwangerschaft ausgeschlossen. Die praktische Durchführung der Untersuchungen oblag einem Facharzt für Dermatologie und Venerologie, der über die nötige Erfahrung bei der klinischen Prüfung von Arzneimitteln verfügt. Die Probanden wurden vor der Testung über Ziel und Ablauf der Studie aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis.

Die Applikation der Prüfpräparate erfolgte mit Hilfe von Epicutan-Testpflastern Leukotest[®] (Fa. Beiersdorf). Jedes dieser Pflaster enthält 5 runde Baumwollläppchen als Matrix für verschiedene Testpräparate eingebettet in hypoallergener Klebmasse. Nach Auftragen der Formulierungen auf die Pflaster wurden diese zum Zeitpunkt Null auf dem Rücken des Probanden platziert (siehe Abb. 46). Nach 5, 10, 30, 60 und 120 min wurde jeweils ein Teil der Pflaster entfernt und die genauen Applikationsareale der einzelnen Formulierungen mit einem Stift auf der Haut markiert. Zur Quantifizierung der lokalanästhetischen Wirksamkeit musste der Proband die Schmerzintensität nach einem Feinnadelstich (Prick-Test) im behandelten Gebiet im Vergleich zum Schmerz an einer unbehandelten, benachbarten Stelle beurteilen. Diese Bewertung erfolgte auf der Basis einer Schmerzskala von 0 bis 5, wobei 5 maximales Schmerzempfinden und 0 keinerlei Schmerz ausdrückte. In gleicher Weise wurde das Empfinden von Berührungsreizen mit einer Kanülenhülle quantifiziert. Im Anschluss an die Testung erfolgte eine Desinfektion der Einstichstellen. Die Untersuchung wurde als Doppelblindstudie durchgeführt. Das Auftragen der Formulierungen auf die Epicutanpflaster erfolgte durch eine vom Prüfarzt unabhängige Person. Alle Präparate wurden auch gegen Placebo geprüft.

Die Voruntersuchungen im Selbsttest wurden an zwei Probanden vom selben Prüfarzt und in gleicher Weise durchgeführt.



Abb. 46: Applikation der Leukotest[®] Pflaster auf dem Rücken einer Probandin

8.9 Analytische Methoden

8.9.1 Bestimmung von Hydrocortison

Die Quantifizierung von Hydrocortison erfolgte mittels HPLC mit folgenden Parametern:

Apparatur:	KONTRON Instruments 325 mit Pumpe und Autosampler 360
Detektion:	DAD 440 bei 239 nm
Säule:	Eurospher 100 C18, 125 x 4 mm, 5 µm (Knauer, Berlin)
Mobile Phase:	Methanol / Wasser 60 / 40 (V/V)
Flußrate:	1,5 ml/min
Injektionsvolumen:	20 µl
Kalibrierung:	externer Standard
Kalibrierbereich:	0,5-50 µg/ml
Bestimmungsgrenze:	0,2 µg/ml

8.9.2 Bestimmung von Lidocain und Prilocain

Die Quantifizierung von Lidocain und Prilocain erfolgte mittels HPLC mit folgenden Parametern:

Apparatur:	MERCK-HITACHI D 6000A mit Autosampler AS 4000 und Pumpe L6200A
Detektion:	UV-VIS Detektor L4250 bei 204 nm
Säule:	Lichrospher 100 RP8, 125 x 4 mm, 5 µm (Merck KGaA, Darmstadt)
Mobile Phase:	Methanol / Wasser / Ammoniak-Lösung (25 %) 65 / 35 / 1(V/V/V)
Flußrate:	1,2 ml/min
Injektionsvolumen:	20 µl
Kalibrierung:	externer Standard
Kalibrierbereich:	10-200 µg/ml
Bestimmungsgrenze:	0,5 µg/ml

8.9.3 Bestimmung von Bupivacain

Die Quantifizierung von Bupivacain erfolgte mittels HPLC mit folgenden Parametern:

Apparatur:	MERCK-HITACHI D 6000A mit Autosampler AS 4000 und Pumpe L6200A
Detektion:	UV-VIS Detektor L4250 bei 204 nm
Säule:	Nucleosil 100 C8, 125 x 4 mm, 5 µm (Macherey-Nagel, Düren)
Mobile Phase:	Methanol / Wasser / Ammoniak-Lösung (25 %) 70 / 30 / 1(V/V/V)
Flußrate:	1,2 ml/min
Injektionsvolumen:	20 µl
Kalibrierung:	externer Standard
Kalibrierbereich:	10-200 µg/ml
Bestimmungsgrenze:	1 µg/ml

8.10 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe der Software WinSTAT 3.1. Die Ergebnisse wurden als signifikant unterschiedlich bewertet, wenn eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ vorlag.

Zur Auswertung der **Liberationsergebnisse** wurden der F-Test und der t-Test herangezogen. Dabei erfolgte ein Vergleich einzelner Systeme untereinander, um den Einfluss verschiedener Modifikationen der Vehikel auf die Freisetzung des Arzneistoffs zu beurteilen. Daraus resultieren bei einigen Abbildungen relativ viele signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Formulierungen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde auf eine vollständige Kennzeichnung aller Signifikanzen in diesen Abbildungen verzichtet. Es wurden lediglich einige ausgewählte Beispiele, die für den weiteren Verlauf der Arbeit von Bedeutung sind, entsprechend kenntlich gemacht. Auf weitere signifikante Unterschiede wird jedoch im Text hingewiesen.

Eine statistische Bewertung der **Penetrationsergebnisse** mit Hilfe des U-Tests (Mann-Whitney) bzw. nach Kruskal-Wallis erweist sich bei einer Stichprobenanzahl von $n = 3$ als wenig sinnvoll. Diese Einschätzung wird durch die Heterogenität des biologischen Materials und die dadurch bedingten relativ großen Standardabweichungen noch unterstrichen. Als eindeutig unterschiedlich wurden deshalb nur die Ergebnisse bewertet, die sich um mindestens eine Größenordnung voneinander unterscheiden.

Die Beurteilung der klinischen Daten aus den **Prick-Testungen am Probanden** erfolgte mit Hilfe des Wilcoxon-Tests, einem parameterfreien Prüfverfahren für abhängige Stichproben kleineren Umfangs. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden in den graphischen Darstellungen jeweils nur signifikante Unterschiede gegenüber den entsprechenden Blindwerten bzw. der als Referenz dienenden EMLA[®] Creme kenntlich gemacht. Differenzen zwischen den verschiedenen Formulierungen werden im Text erläutert. Die Standardabweichung der Mittelwerte wurde nicht ermittelt, da sie bei der Analyse von Ergebnissen aus einer Bewertungsskala keine relevanten Aussagen liefert.

8.11 Liste der verwendeten Substanzen

Ammoniak-Lösung 25 %	Grüssing GmbH, Filsum
Bupivacain-Hydrochlorid	Synopharm GmbH, Barsbüttel
Collodium Lösung 4 %	Caesar & Loretz GmbH, Hilden
Dimethylsulfoxid	Serva Feinbiochemica, Heidelberg
Dodecanol	Merck-Schuchard, Hohenbrunn
Ethanol (absolut)	Bundesmonopolverwaltung für Branntwein, Leipzig
Ether	Kraemer & Martin GmbH, Sankt Augustin
Hydrocortison, mikrofein	COM Pharma, Hamburg
³ H-Hydrocortison	Amersham Buchler GmbH, Braunschweig
Isopropylmyristat	Caesar & Loretz GmbH, Hilden
Isopropylpalmitat	FLUKA Chemie, Buchs

Lidocain	SIGMA-ALDRICH-CHEMIE GmbH, Deisenhofen
Lidocain-Hydrochlorid	SIGMA-ALDRICH-CHEMIE GmbH, Deisenhofen
Methanol, HPLC gradient	J.T. Baker, Deventer, Holland
Natriumhydroxid	Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe
Ölsäure	Caesar & Loretz GmbH, Hilden
POPOP	Canberra Packard GmbH, Dreieich
PPO	Canberra Packard GmbH, Dreieich
Pluronic [®] L101	Serva Feinbiochemica, Heidelberg
Propylenglycol	Caesar & Loretz GmbH, Hilden
Prilocain-Hydrochlorid	Synopharm GmbH, Barsbüttel
Soluene [®] 350	Canberra Packard GmbH, Dreieich
Synperonic [®] PE L101	C.H. Erbslöh, Krefeld
Toluol	Merck-Schuchardt, Hohenbrunn
Tween [®] 80	Serva Feinbiochemica, Heidelberg

Literaturverzeichnis

- [1] Aboofazeli, R., Patel, N., Thomas, M., Lawrence, M.J.: Investigations into the formation and characterization of phospholipid microemulsions. IV. Pseudo-ternary phase diagrams of systems containing water-lecithin-alcohol and oil; the influence of oil. *Int. J. Pharm.* **125** (1995) 107-116
- [2] Allert, M.H., Enzmann, H.: Painless pricktest by using EMLA? *Allergologie* **18** (1995) 429-432
- [3] Ashton, P., Hadgraft, J., Walters, K.A.: Effects of surfactants in percutaneous absorption. *Pharm. Acta Helv.* **61** (1986) 228-235
- [4] Ashton, P., Walters, K.A., Brain, K.R., Hadgraft, J.: Surfactant effects in percutaneous absorption: I. Effects on the transdermal flux of methyl nicotinate. *Int. J. Pharm.* **87** (1992) 261-264
- [5] Astra GmbH (Wedel): Fachinformation zu EMLA[®] und EMLA[®] Pflaster
- [6] Attwood, D.: Microemulsions. In: Kreuter, J. (Hrsg.): Colloidal drug delivery systems. Marcel Dekker, New York, Basel, Hong Kong 1994
- [7] Attwood, D., Ktistis, G.: A light scattering study on oil-in-water microemulsions. *Int. J. Pharm.* **52** (1989) 165-171
- [8] Attwood, D., Mallon, C., Ktistis, G., Taylor, C.J.: A study on factors influencing the droplet size in nonionic oil-in-water microemulsions. *Int. J. Pharm.* **88** (1992) 417-422
- [9] Aungust, B.J., Rogers, N.J., Shefter, E.: Enhancement of naloxone penetration through human skin in vitro using fatty acids, fatty alcohols, surfactants, sulfoxides and amids. *Int. J. Pharm.* **33** (1986) 325-334
- [10] Ayannides, C.A., Ktistis, G.: A rheological study on microemulsion gels of isopropyl myristat, polysorbate 80, glycerol and water. *J. Cosmet. Sci.* **50** (1999) 1-7
- [11] Bach, M., Lippold, B.C.: Percutaneous enhancement and its quantification. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **46** (1998) 1-13
- [12] Barry, B.W.: Penetration enhancers. In: Shroot, B., Schaefer, H. (Hrsg.): Skin Pharmacokinetics. Karger Basel, München, Paris, London, New York 1987
- [13] Barry, B.W.: Mode of action of penetration enhancers in human skin. *J. Contr. Rel.* **6** (1987) 85-97
- [14] Barry, B.W.: Lipid-Protein-Partitioning theory of the skin penetration enhancement. *J. Contr. Rel.* **15** (1991) 237-248
- [15] Barry, B.W., Bennett, S.L.: Effect of penetration enhancers on the permeation of mannitol, hydrocortisone and progesterone through human skin. *J. Pharm. Pharmacol.* **39** (1987) 535-546

- [16] Bendas, B.: Untersuchungen zum Mechanismus der *in vitro*-Penetration lipophiler Arzneistoffe aus binären und ternären Vehikelsystemen in künstliche und natürliche Akzeptoren. Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (1993)
- [17] Bendas, B., Neubert, R., Wohlrab, W.: Propylene glycol. In: Smith, E.W., Maibach, H.I. (Hrsg.): Percutaneous Penetration Enhancers. CRC Press Boca Raton, New York, London, Tokyo 1995
- [18] Berner, B., Mazzenga, G.C., Otte, J.H., Steffens, R.J., Juang, R.-H., Ebert, C.D.: Ethanol:Water mutually enhanced transdermal therapeutic system II: Skin permeation of ethanol and nitroglycerin. *J. Pharm. Sci.* **78** (1989) 402-407
- [19] Berner, B., Lu, P.: Alcohols. In: Smith, E.W., Maibach, H.I. (Hrsg.): Percutaneous Penetration Enhancers. CRC Press Boca Raton, New York, London, Tokyo 1995
- [20] Bhargava, H.N., Narurkar, A., Lieb, L.M.: Using microemulsions for drug delivery. *Pharm. Technol.* **11** (1987) 46-52
- [21] Bishai, R., Taddio, A., Bar-Oz, B., Freedman, M.H., Koren, G.: Relative efficacy of amethocaine gel and lidocaine-prilocaine cream for Port-a-Cath puncture in children. *Pediatrics* **104** (1999) e31
- [22] Bodde, H.E., Kruithof, M.A.M., Brussee, J., Koerten, H.K.: Visualization of normal and enhanced HgCl₂ transport through human skin *in vitro*. *Int. J. Pharm.* **53** (1989) 13-24
- [23] Bolzinger, M.A., Thevenin, M.A., Carduner, C., Poelmann, M.C.: Bicontinuous sucrose ester microemulsion: a new vehicle for topical delivery of niflumic acid. *Int. J. Pharm.* **176** (1998) 39-45
- [24] Bouwstra, J.A., Gooris, G.S., van der Spek, J.A., Bras, W.: Structural investigations of human stratum corneum by small-angle X-ray scattering. *J. Invest. Dermatol.* **97** (1991) 1005-1012
- [25] Bouwstra, J.A., de Vries, M.A., Gooris, G.S., Bras, W., Brussee, J., Ponc, M.: Thermodynamic and structural aspects of the skin barrier. *J. Contr. Rel.* **15** (1991) 209-220
- [26] Brisman, M., Ljung, B.M.L., Otterbom, I., Larsson, L.E., Andreasson, S.E.: Methaemoglobin formation after the use of EMLA cream in term neonates. *Acta Paediatr.* **87** (1998) 1191-1194
- [27] Broberg, B.F.J., Evers, H.C.A.: EP 0 002 425 (1981)
- [28] Brodin A., Nyqvist-Mayer, A.A., Wadsten, T., Forslund, B., Broberg, F.: Phase diagram and aqueous solubility of the lidocaine-prilocaine binary system. *J. Pharm. Sci.* **73** (1984) 481-484
- [29] Brodin, A., Fynes, R., Heijl, L., Nyqvist-Mayer, A., Scherlund, M.: New pharmaceutical composition with anaesthetic effect. WO 9738675 (1997)

- [30] Browne, J., Raza, A., Awad, I., Tan, B., McAdoo, J., Shorten G.: The effects of EMLA and a topical formulation of 4 % amethocaine (Ametop) on pain associated with retrobulbar injection. *Anaesthesia*. **54** (1999) 596-598
- [31] Buckley M.M., Benfield, P: Eutectic lidocaine/prilocaine cream. A review of the topical anaesthetic/analgetic efficacy of a eutectic mixture of local anaesthetics (EMLA). *Drugs* **46** (1993) 126-151
- [32] Cappel, M.J., Kreuter, J.: Effect of nonionic surfactants on transdermal drug delivery: I. Polysorbates. *Int. J. Pharm.* **69** (1991) 143-153
- [33] Cappel, M.J., Kreuter, J.: Effect of nonionic surfactants on transdermal drug delivery: II. Poloxamer and poloxamine surfactants. *Int. J. Pharm.* **69** (1991) 155-167
- [34] Castillo, J.: Topical anesthetic formulation of lidocaine and prilocaine. WO 9955287 (1999)
- [35] Cazabat, A.M., Langevin, D., Pouchelon, A.: Light-scattering study of water-oil microemulsions. *J. Colloid Interphase Sci.* **73** (1980) 1-12
- [36] Changez, M., Varshney, M.: Aerosol-OT microemulsions as transdermal carriers of tetracaine hydrochloride. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* **26** (2000) 507-512
- [37] Cheung, H.M., Qutubuddin, S., Edwards, R.V., Mann, J.A. jr: Light scattering study of oil-in-water microemulsions: Corrections for interactions. *Langmuir* **3** (1987) 744-752
- [38] Choy, L., Collier, J., Watson, A.R.: Comparison of lignocaine-prilocaine cream and amethocaine gel for local analgesia before venepuncture in children. *Acta Paediatr.* **88** (1999) 961-964
- [39] Cooper, E.R.: Increased skin permeability for lipophilic molecules. *J. Pharm. Sci.* **73** (1984) 1153-1156
- [40] Constantinides, P.P., Lancaster, C.M., Marcello, J., Chiossone, D.C., Orner, D., Hidalgo, I., Smith, P.L., Sarkahian, A.B., Yiv, S.H., Owen, A.J.: Enhanced intestinal absorption of an RGD peptide from water-in-oil microemulsions of different composition and particle size. *J. Contr. Rel.* **34** (1995) 109-116
- [41] Constantinides, P.P., Scalart, J.P., Lancaster, C., Marcello, J., Marks, G., Ellens, H., Smith, P.L.: Formulation and intestinal absorption enhancement evaluation of water-in-oil microemulsions incorporating medium-chain glycerides. *Pharm. Res.* **11** (1994) 1385-1390
- [42] Constantinides, P.P., Welzel, G., Ellens, H., Smith, P.L., Sturgis, S., Yiv, S.H., Owen, A.B.: Water-in-oil microemulsions containing medium-chain fatty acids/salts: formulation and intestinal absorption enhancement evaluation. *Pharm. Res.* **13** (1996) 210-215

- [43] Constantinides, P.P., Yiv, S.H.: Particle size determination of phase-inverted water-in-oil microemulsions under different dilution and storage conditions. *Int. J. Pharm.* **115** (1995) 225-234
- [44] v. Corswant, C., Thoren, P., Engström, S.: Triglyceride-based microemulsion for intravenous administration of sparingly soluble substances. *J. Pharm. Sci.* **87** (1998) 200-208
- [45] Covino, B.G.: Pharmacology of local anaesthetic agents. *Br. J. Anaesth.* **58** (1986) 701-716
- [46] Dalvi, U.G., Zatz, J.L.: Effect of nonionic surfactants on penetration of dissolved benzocaine through hairless mouse skin. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **32** (1981) 87-94
- [47] Danielsson, I., Lindman, B.: The definition of microemulsions. *Coll. Surf.* **3** (1981) 391-392
- [48] Delgado-Charro, M.B., Iglesias-Vilas, G., Blanco-Mendez, J., Lopez-Quintela, M.A., Marty, J.P., Guy, R.H.: Delivery of a hydrophilic solute through the skin from novel microemulsion systems. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **43** (1997) 37-42
- [49] Dinnendahl, V., Fricke, U. (Hrsg.): *Arzneistoff-Profile. Basisinformation über arzneiliche Wirkstoffe.* Govi Verlag Pharmazeutischer Verlag GmbH Eschborn 1999
- [50] Dreher, F., Walde, P., Luisi, P.L., Elsner, P.: Human skin irritation studies of a lecithin microemulsion gel and of lecithin liposomes. *Skin Pharmacol.* **9** (1996) 124-129
- [51] Dörfler, H.-D.: *Grenzflächen- und Kolloidchemie.* VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo 1994
- [52] Elias, P.M.: Epidermal lipids, membranes and keratinization. *Int. J. Dermatol.* **20** (1981) 1-19
- [53] Elias, P.M.: Epidermal lipids, barrier function and desquamation. *J. Invest. Dermatol.* **80** (1983) 44s-49s
- [54] Elias, P.M., Friend, D.S.: The permeability barrier in mammalian epidermis. *J. Cell Biol.* **65** (1975) 180-191
- [55] Engberg, G., Danielson, K., Henneberg, S., Nilsson, A.: Plasma concentrations of prilocaine and lidocaine and methaemoglobin formation in infants after epicutaneous application of a 5 % lidocaine-prilocaine (EMLA). *Acta Anaesthesiol. Scand.* **31** (1987) 624-628
- [56] Erbslöh, C.H.: *Produktinformation der Firma zu Synperonics*
- [57] Evers, H., v. Dardel, O., Juhlin, L., Ohlsen, L., Vinnars, E.: Dermal effects of compositions based on the eutectic mixture of lignocaine and prilocaine (EMLA). *Br. J. Anaesth.* **57** (1985) 997-1005

- [58] Fevrier, F.: Microemulsions for topical application. *B.T. Gattefosse* **83** (1990) 23-31
- [59] Fiedler, H.P.: Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete. 4. Auflage Editio Cantor Verlag Aulendorf 1996
- [60] Fisher, R., Hung, O., Mezei, M., Steward, R.: Topical anaesthesia of intact skin: liposome-encapsulated tetracaine vs EMLA. *Br. J. Anaesth.* **81** (1998) 972-973
- [61] Foldvari, M.: In vitro cutaneous and percutaneous delivery and in vivo efficacy of tetracaine from liposomal and conventional vehicles. *Pharm. Res.* **11** (1994) 1593-1598
- [62] Foldvari, M., Gesztes, A., Mezei, M.: Dermal drug delivery by liposome encapsulation: Clinical and electron microscopic studies. *J. Microencapsulation* **7** (1990) 479-489
- [63] Francoer, M.L., Golden, G.M., Potts, R.O.: Oleic acid: Its effects on stratum corneum in relation to (trans)dermal drug delivery. *Pharm. Res.* **7** (1990) 621-627
- [64] Franz, T.J.: Percutaneous absorption. On the relevance of in vitro data. *J. Invest. Dermatol.* **64** (1975) 190-195
- [65] Franz, T.J.: The finite dose technique as a valid in vitro model for the study of percutaneous absorption in man. *Curr. Probl. Dermatol.* **7** (1978) 58-68
- [66] Franz, T.J., Lehman, P.A., Kagy, M.K.: Dimethylsulfoxid. In: Smith, E.W., Maibach, H.I. (Hrsg.): *Percutaneous Penetration Enhancers*. CRC Press Boca Raton, New York, London, Tokyo 1995
- [67] Friberg, S.E.: Micelles, microemulsions, liquid crystals, and the structure of stratum corneum lipids. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **41** (1990) 155-171
- [68] Fritsch, P.: *Dermatologie*. 3. Auflage Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1990
- [69] Froebe, C.L., Simion, F.A., Ohlineyer, H., Rhein, L.D., Mattai, J., Cagan, R.H., Friberg, S.E.: Prevention of stratum corneum lipid phase transitions in vitro by glycerol: An alternative mechanism for skin moisturization. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **41** (1990) 51-66
- [70] Gallarate, M., Gasco, M.R., Trotta, M.: Influence of octanoic acid on membrane permeability of timolol from solutions and from microemulsions. *Acta Pharm. Technol.* **34** (1988) 102-105
- [71] Gallarate, M., Gasco, M.R., Rua, G.: In vitro release of azelaic acid from oil in water microemulsions. *Acta Pharm. Jugosl.* **40** (1990) 533-538
- [72] Gasco, M.R., Gallarate, M., Pattarino, F.: In vitro permeation of azelaic acid from viscosized microemulsions. *Int. J. Pharm.* **69** (1991) 193-196

- [73] Gasco, M.R., Gallarate, M., Trotta, M., Bauchiero, L., Gremmo, E., Chiappero, O.: Microemulsions as topical delivery vehicles: ocular administration of timolol. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **7** (1989) 433-439
- [74] Gasco, M.R., Pattarino, F., Lattanzi, F.: Long-acting delivery systems for peptides: reduced plasma testosterone levels in male rats after a single injection. *Int. J. Pharm.* **62** (1990) 119-123
- [75] Golden, G.M., McKie, J.E., Potts, R.O.: Role of stratum corneum lipid fluidity in transdermal drug flux. *J. Pharm. Sci.* **76** (1987) 25-28
- [76] Grafe, F.: Entwicklung und Charakterisierung von Mikroemulsionen zur dermalen Applikation von Lokalanästhetika. Diplomarbeit, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (1999)
- [77] Hansch, C., Sammes, G.P., Taylor, J.B.: *Comprehensive medicinal chemistry*. Vol. 6 Drug Compendium. Pergamon press Oxford 1990
- [78] Haße, A., Keipert, S.: Development and characterization of microemulsions for ocular application. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **43** (1998) 179-183
- [79] Ho, H.-O., Hsiao, C.-C., Sheu, M.-T.: Preparation of microemulsions using polyglycerol fatty acid esters as surfactant for the delivery of protein drugs. *J. Pharm. Sci.* **85** (1996) 138-143
- [80] Hoar, T.P., Schulman, J.H.: Transparent water-in-oil dispersions: the oleopathic hydro-micelle. *Nature* **152** (1943) 102-103
- [81] Holst, R.G., Kristofferson, A.: Lidocaine-prilocaine cream (EMLA Cream[®]) as a topical anaesthetic for the cleansing of leg ulcers. The effect of length of application time. *Eur. J. Dermatol.* **8** (1998) 245-247
- [82] Hoogstraate, A.J., Verhoef, J., Brussee, J., Ijzerman, A.P., Spies, F., Bodde, H.E.: Kinetics, ultrastructural aspects and molecular modelling of transdermal peptide flux enhancement by n-alkylazacycloheptanones. *Int. J. Pharm.* **76** (1991) 37-48
- [83] Horsch, W.: Transportmechanismen und Einflußfaktoren in den Systemen Salbe/Haut und Arzneistoff/Salbengrundlage. *Pharmazie* **39** (1984) 598-605
- [84] Hung, O.R., Comeau, L., Riley, M.R., Tan, S., Whynot, S., Mezei, M.: Comparative topical anaesthesia of EMLA and liposome-encapsulated tetracaine. *Can. J. Anaesth.* **44** (1997) 707-711
- [85] Irsfeld, S., Klement, W., Lipfert, P.: Dermal anaesthesia: comparison of emla cream with iontophoretic local anaesthesia. *Br. J. Anaesth.* **71** (1993) 375-378
- [86] Israelachvili, J.N., Mitchel, D.J., Ninham, B.W.: Theory of self-assembly of hydrocarbon amphiphiles into micelles and bilayers. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. II* **72** (1976) 1525-1568
- [87] Jahn, W., Strey, R.: Microstructure of microemulsions by freeze fracture electron microscopy. *J. Phys. Chem.* **92** (1988) 2294-2301

- [88] Janich, M.: Licht- und Neutronenstreuexperimente an Gallensalzmizellen. Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (1998)
- [89] Jayakrishnan, A., Kalaiarasi, K., Shah, D.O.: Microemulsions: Evolving technology for cosmetic applications. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **34** (1983) 335-350
- [90] Junginger, H., Heering, W.: Darstellung kolloider Strukturen von Salben, Cremes Emulsionen und Mikroemulsionen mittels Gefrierbruch-Ätztechnik und TEM. *Acta Pharm. Technol.* **29** (1983) 85-96
- [91] Kahlweit, M., Busse, G., Faulhaber, B., Eibl, H.: Preparing nontoxic microemulsions. *Langmuir* **11** (1995) 4185-4187
- [92] Kalbitz, J., Neubert, R., Wohlrab, W.: Modulation der Wirkstoffpenetration in die Haut. *Pharmazie* **51** (1996) 619-637
- [93] Kale, N.J., Allen, L.V. jr.: Studies on microemulsions using Brij 96 as surfactant and glycerin, ethylene glycol and propylene glycol as cosurfactants. *Int. J. Pharm.* **57** (1989) 87-93
- [94] Keipert, S., Siebenbrodt, I., Lüders, F., Bornschein, M.: Mikroemulsionen und ihre potentielle pharmazeutische Nutzung. *Pharmazie* **44** (1989) 433-444
- [95] Keipert, S., Schulz, G.: Mikroemulsionen auf Saccharoseesterbasis, Teil 1: In vitro-Charakterisierung. *Pharmazie* **49** (1994) 195-197
- [96] Kemken, J., Ziegler, A., Müller, B.W.: Investigations into the pharmacodynamic effects of dermally administered microemulsions containing β -blockers. *J. Pharm. Pharmacol.* **43** (1991) 679-684
- [97] Kemken, J., Ziegler, A., Müller, B.W.: Influence of supersaturation on the pharmacodynamic effect of bupranolol after dermal administration using microemulsions as vehicle. *Pharm. Res.* **9** (1992) 554-558
- [98] Kleinebudde, P.: Untersuchungen an pharmazeutisch verwendbaren, flüssigen Mehrkomponentensystemen mit nicht mischbaren Komponentenpaaren. Dissertation, Christian-Albrechts-Universität Kiel (1987)
- [99] Knorst, M.: Charakterisierung und Optimierung der Liberation und Penetration des Harnstoffs aus halbfesten Formulierungen. Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (1997)
- [100] Knutson, K., Krill, S.L., Lambert, W.J., Higuchi, W.I.: Physicochemical aspects of transdermal permeation. *J. Contr. Rel.* **6** (1987) 59-74
- [101] Koller, K.: Über die Verwendung des Cocains zur Anästhesierung am Auge. *Med. Wochenschr.* **34** (1884) 1276-1278, 1309-1311
- [102] Kovarik, J.M., Mueller, E.A., van Bree, J.B., Tetzloff, W., Kutz, K.: Reduced inter- and intraindividual variability in cyclosporine pharmacokinetics from a microemulsion formulation. *J. Pharm. Sci.* **83** (1994) 444-446

- [103] Kriwet, K., Müller-Goymann, C.C.: Diclofenac release from phospholipid drug systems and permeation through excised human stratum corneum. *Int. J. Pharm.* **125** (1995) 231-242
- [104] Ktistis, G.: A viscosity study on oil-in-water microemulsions. *Int. J. Pharm.* **61** (1990) 213-218
- [105] Lampe, M.A., Burlingame, A.L., Whitney, J., Williams, M.L., Brown, B.E., Roitman, E., Elias, P.M.: Human stratum corneum lipids: characterization and regional variations. *J. Lipid Res.* **24** (1983) 120-130
- [106] Landmann, L.: Die Permeabilitätsbarriere der Haut. *Pharm. i. u. Zeit* **20** (1991) 155-163
- [107] Langevin, D.: Low interfacial tensions in microemulsion systems. In: Friberg, S.E., Bothorel, P. (Hrsg.): *Microemulsions: Structure and dynamics*. CRC Press Boca Raton, Florida 1987
- [108] Langevin, D.: Optical methods for studying microemulsions and microemulsion interfaces. *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **100** (1996) 336-343
- [109] Lawrence, M.J.: Surfactant systems: Microemulsions and vesicles as vehicles for drug delivery. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* **19** (1994) 257-269
- [110] Lawrence, M.J.: Microemulsions as drug delivery vehicles. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1** (1996) 826-832
- [111] Leopold, C.S.: Enhancer-Effekte von lipophilen Salbengrundstoffen auf die Steady-state-Penetration von Methylnicotinat durch die Haut. Dissertation, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf (1992)
- [112] Leopold, C.S., Lippold, B.C.: An attempt to clarify the mechanism of the penetration enhancing effects of lipophilic vehicles with differential scanning calorimetry (DSC). *J. Pharm. Pharmacol.* **47** (1995) 276-281
- [113] Lindman, B., Olsson, U.: Structure of microemulsions studied by NMR. *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **100** (1996) 344-363
- [114] Linn, E.E., Pohland, R.C., Byrd, T.K.: Microemulsion for intradermal delivery of cetyl alcohol and octyl dimethyl PABA. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **16** (1990) 899-920
- [115] Lippold, B.C.: Kutane Resorption – Möglichkeiten, Modelle, Beeinflussung. *Acta Pharm. Technol.* **21** (1981) 1-9
- [116] Lippold, B.C.: *Biopharmazie*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 1984
- [117] Löfgren, N.: *Studies on local anesthetics*. Stockholm: J. Hoeggström 1948, zitiert nach [180]
- [118] Loth, H.: Grundlagen des intra- und transdermalen Transports von Arzneistoffen I. *Acta Pharm. Technol.* **32** (1986) 109-114

- [119] Ludwig, T.: Untersuchungen zum Einfluß von Glycolipiden auf den Hydrocortison-Transport in humane Haut ex vivo und auf die Keratinozytenreaktion in vitro. Diplomarbeit, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (1997)
- [120] Malcomson, C., Lawrence, M.J.: Effect of oil on the level of solubilization of testosterone propionate into nonionic oil-in-water microemulsions. *J. Pharm. Sci.* **87** (1998) 109-116
- [121] Mallory, S.B., Lehman, P.A., Vanderpool, D.R., Franz, T.J.: Topical lidocaine for anesthesia in patients undergoing dye laser treatment for vascular malformations. *Pediatr. Dermatol.* **10** (1993) 370-375
- [122] Mak, V.H.W., Potts, R.O., Guy, R.H.: Oleic acid concentration and effect in human stratum corneum: Non-invasive determination by attenuated total reflectance infrared spectroscopy in vivo. *J. Contr. Rel.* **12** (1990) 67-75
- [123] McCafferty, D.F., Woolfson, A.D.: New patch delivery system for percutaneous local anaesthesia. *Br. J. Anaesth.* **71** (1993) 370-374
- [124] McCafferty, D.F., Woolfson, A.D., Boston, V.: *In vivo* assessment of percutaneous local anaesthetic preparations. *Br. J. Anaesth.* **62** (1989) 17-21
- [125] McCafferty, D.F., Woolfson, A.D., McClelland, K.H., Boston, V.: Comparative *in vivo* and *in vitro* assessment of the percutaneous absorption of local anaesthetics. *Br. J. Anaesth.* **60** (1988) 64-69
- [126] Merk, H.F., Bickers, D.R.: Dermatopharmakologie und Dermatotherapie. Blackwell Wissenschaft, Berlin 1992
- [127] Mezei, M., Gesztes, A.: Liposomal local anesthetic and analgesic products. US 4937078 (1990)
- [128] Miller, K.J., Goodwin, S.R., Westermann-Clark, G.B., Shah, D.O.: Evaluation of local anesthesia provided by transdermal patches containing different formulations of tetracaine. *J. Pharm. Sci.* **82** (1993) 1123-1125
- [129] Monash, S.: Topical anesthesia of the unbroken skin. *Arch. Dermatol.* **76** (1957) 752-756
- [130] Moss, G.P., Woolfson, A.D., McCafferty, D.F.: Drug delivery electrodes for iontophoretic percutaneous local anaesthesia: Formulation, characterisation and clinical assessment. Perspectives in Percutaneous Penetration 7th Int. Conference 2000, La Grand Motte
- [131] Mrestani, Y., Neubert, R.H.H., Krause, A.: Partition behaviour of drugs in microemulsions measured by electrokinetic chromatography. *Pharm. Res.* **15** (1998) 799-801
- [132] Müller, B.W.: Topische Mikroemulsionen als neue Wirkstoffträgersysteme. In: Müller, R.H., Hildebrand, G.E. (Hrsg.): Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 1997

- [133] Müller, B.W., Müller, R.H.: Particle size analysis of latex suspensions and microemulsions by photon correlation spectroscopy. *J. Pharm. Sci.* **73** (1984) 915-918
- [134] Müller, B.W., Müller, R.H.: Particle size distributions and particle size alterations in microemulsions. *J. Pharm. Sci.* **73** (1984) 919-922
- [135] Mutschler, E.: *Arzneimittelwirkungen*. 7. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 1996
- [136] Neubert, R., Bendas, C., Wohlrab, W., Gienau, B., Fürst, W.: A multilayer membrane system for modelling drug penetration into skin. *Int. J. Pharm* **75** (1991) 89-94
- [137] Neubert, R.H.H., Wohlrab, W.A., Marsch, W.Ch.: *Dermatopharmazie*. Thieme Verlag (im Druck)
- [138] Niemi, L., Kahela, P., Turakka, L.: Effect of water content and type of emulgator on the release of hydrocortison from o/w creams. *Acta Pharm. Nordica* **1** (1989) 23-30
- [139] Niesel, H.C.: Lokalanästhetika: Pharmakologie, Toxikologie und Anwendung. *Krankenhauspharmazie* **9** (1988) 89-95
- [140] Nilsson, A., Boman, I., Wallin, B., Rotstein, A.: The EMLA patch – a new type of local anaesthetic application for dermal analgesia in children. *Anaesthesia* **49** (1994) 70-72
- [141] Nürnberg, E., Friess, S.: Poloxamere als strukturbestimmende Hilfsstoffe für streichfähige Systeme. *Pharm. Acta Helv.* **65** (1990) 105-112
- [142] Nyqvist-Mayer, A.A., Brodin, A.F., Frank, S.G.: Phase distribution studies on an oil-water emulsion based on a eutectic mixture of lidocaine and prilocaine as the dispersed phase. *J. Pharm. Sci.* **74** (1985) 1192-1195
- [143] Nyqvist-Mayer, A.A., Brodin, A.F., Frank, S.G.: Drug release studies on an oil-water emulsion based on a eutectic mixture of lidocaine and prilocaine as the dispersed phase. *J. Pharm. Sci.* **75** (1986) 365-373
- [144] Ongpipattanakul, B., Burnette, R.R., Potts, R.O., Francoeur, M.L.: Evidence that oleic acid exists in a separate phase within stratum corneum lipids. *Pharm. Res.* **8** (1991) 350-354
- [145] Osborne, D.W., Ward, A.J.I., O'Neill, K.J.: Microemulsions as topical drug delivery vehicles: I. Characterization of a model system. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **14** (1988) 1203-1219
- [146] Osman-Gardabbou, H., Pelletier, J., Sfar-Gandoura, S., Martini, M.C.: Thickening of hydrophilic/lipophilic and lipophilic/hydrophilic microemulsions. II. Comparative study of the thickening influence on H/L and L/H microemulsions as enhancers for a lipophilic tracer. *STP Pharma Sci.* **10** (2000) 224-228

- [147] Parfitt, K. (Hrsg.): MARTINDALE. The complete drug reference. 32. Ausgabe Pharmaceutical Press London 1999
- [148] Park, K.-M., Kim, C.-K.: Preparation and evaluation of flurbiprofen-loaded microemulsion for parenteral delivery. *Int. J. Pharm.* **181** (1999) 173-179
- [149] Pattarino, F., Carlotti, M.E., Trotta, M., Gasco, M.R.: Release of β -blockers from o/w microemulsions: influence of vehicle composition on the permeation across hairless mouse skin. *Acta Technol. Legis Medic.* **6** (1995) 79-88
- [150] Peters, H., Moll, F.: Pharmacodynamics of a liposomal preparation for local anaesthesia. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **45** (1995) 1253-1556
- [151] Pfeifer, S., Pflugel, P., Borchert, H.-H.: Biopharmazie. 3. Auflage Ullstein/Mosby GmbH & Co KG, Berlin, Wiesbaden, 1995
- [152] Pfüller, U.: Mizellen – Vesikel – Mikroemulsionen. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1986
- [153] Pistorius, S.: Entwicklung und Modifizierung von lidocain-HCl-haltigen Mikroemulsionen zur dermalen Anwendung. Diplomarbeit, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (1996)
- [154] Prince, L.M.: Microemulsions. Theory and practice. Academic press Inc. New York, San Francisco, London 1977
- [155] Primorac, M., Dakovic, L.J., Stupar, M., Vasiljevic, D.: The influence of temperature on the rheological behaviour of microemulsions. *Pharmazie* **49** (1994) 780-781
- [156] Primorac, M., Stupar, M., Vuleta, G., Vasiljevic, D.: Rheological properties of oil/water microemulsions. *Pharmazie* **47** (1992) 645-646
- [157] Rajadhyaksha, V.J., Sehgal, S.: Compositions and methods for inducing dermal analgesia. WO 9633706 (1996)
- [158] Reiz, S., Nath, S.: Cardiotoxicity of local anaesthetic agents. *Br. J. Anaesth.* **58** (1986) 736-746
- [159] Rietz, R.: Persönliche Mitteilung (1998)
- [160] Ritschel, W.A.: Microemulsions for improved peptide absorption from the gastrointestinal tract. *Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.* **13** (1991) 205-220
- [161] Römgen, C., Leopold, C.S., Lippold, B.C.: Do local anesthetics have an influence on the structure of isolated human stratum corneum? Perspectives in Percutaneous Penetration, 6th Int. Conference 1998, Leiden
- [162] Römgen, C., Leopold, C.S., Lippold, B.C.: Local anesthetics as penetration enhancers for a model corticoid – An in vivo study using the vasoconstrictor assay. 2nd World Meeting APGI/APV 1998, Paris

- [163] Römme, C., Leopold, C.S., Lippold, B.C.: Do local anesthetics affect the penetration of betamethasone-17-benzoate through isolated bovine udder skin? Controlled Release Society, 26th Int. Symposium 1999, Boston
- [164] Römme, C., Leopold, C.S., Lippold, B.C.: Do local anesthetics have an influence on the percutaneous penetration of a model corticoid? An in vivo study using the vasoconstrictor assay. *Eur. J. Pharm. Sci.* **9** (1999) 227-234
- [165] Rosano, H.L.: Microemulsions. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **25** (1974) 609-619
- [166] Rosano, H.L., Cavallo, J.L., Chang D.L., Whittam, J.H.: Microemulsions: A commentary on their preparation. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **39** (1988) 201-209
- [167] Rosdahl, I., Edmar, B., Gisslen, H., Nordin, P., Lillieborg, S.: Curretage of molluscum contagiosum in children: analgesia by topical application of a lidocaine/prilocaine cream (EMLA). *Acta Derm. Venerol.* **68** (1988) 149-153
- [168] Rote Liste. ECV Editio Cantor Verlag Aulendorf/Württ. 2000
- [169] Rowbotham, M.C., Davies, P.S., Verkempinck, C., Galer, B.S.: Lidocain patch: double-blind controlled study of a new treatment method for post-herpetic neuralgia. *Pain* **65** (1996) 39-44
- [170] Ruddy, S.B.: Surfactants. In: Smith, E.W., Maibach, H.I. (Hrsg.): *Percutaneous Penetration Enhancers*. CRC Press Boca Raton, New York, London, Tokyo 1995
- [171] Saint Ruth, H., Attwood, D., Ktistis G., Taylor, C.J.: Phase studies and particle size analysis of oil-in-water phospholipid microemulsions. *Int. J. Pharm.* **116** (1995) 253-261
- [172] Santus, G.C., Baker, R.W.: Transdermal enhancer patent literature. *J. Contr. Rel.* **25** (1993) 1-20
- [173] Sarciaux, J.M., Acar, L., Sado, P.A.: Using microemulsion formulation for oral drug delivery of therapeutic peptides. *Int. J. Pharm.* **120** (1995) 127-136
- [174] Sarpotdar, P.P., Zatz, J.L.: Evaluation of penetration enhancement of lidocaine by nonionic surfactants through hairless mouse skin in vitro. *J. Pharm. Sci.* **75** (1986) 176-181
- [175] Sarpotdar, P.P., Zatz, J.L.: Percutaneous absorption enhancement by nonionic surfactants. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **13** (1987) 15-37
- [176] Scherlund, M., Malmsten, M., Brodin, A.: Stabilization of a thermosetting emulsion system using ionic and nonionic surfactants. *Int. J. Pharm.* **173** (1998) 103-116
- [177] Scherlund, M., Malmsten, M., Holmqvist, P., Brodin, A.: Thermosetting microemulsions and mixed micellar solutions as drug delivery systems for periodontal anesthesia. *Int. J. Pharm.* **194** (2000) 103-116
- [178] Scheuplein, R.J., Blank, I.H.: Permeability of the skin. *Physiol. Rev.* **51** (1971) 702-747

- [179] Schmalfuß, U.: Untersuchungen zur Modulation der Penetration eines hydrophilen Arzneistoffs aus Mikroemulsionssystemen in humane Haut unter *ex vivo*-Bedingungen. Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (1997)
- [180] Schmidt, B.: Chemie der Lokalanästhetika. In: Ahnefeld, F.W., Bergmann, H., Burri C., Dick, W., Halmagyi, M., Hossli, G., Rügheimer, E. (Hrsg.): Lokalanästhesie. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1978
- [181] Schmolka, I.R.: A review of block polymer surfactants. J. Am. Oil Chem. Soc. **54** (1977) 110-116
- [182] Schneider, I.M.: Untersuchungen zum Einfluß von Glycolipiden und Fettsäuren auf den Wirkstofftransport in humane Haut und auf das Proliferationsverhalten von humanen Keratinozyten. Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (1997)
- [183] Schneider, I.M., Dobner, B., Neubert, R., Wohlrab, W.: Evaluation of drug penetration into human skin *ex vivo* using branched fatty acids and propylene glycol. Int. J. Pharm. **145** (1996) 187-196
- [184] Schulman, J.H., Stoeckenius, W., Prince, L.M.: Mechanism of formation and structure of micro emulsions by electron microscopy. J. Phys. Chem. **63** (1959) 1677-1680
- [185] Scott, D.B.: Toxic effects of local anaesthetic agents on the central nervous system. Br. J. Anaesth. **58** (1986) 732-735
- [186] Scriven, L.E.: Equilibrium bicontinuous structure. Nature **263** (1976) 123-125
- [187] Shahi, V., Zatz, J.L.: Effect of formulation factors on penetration of hydrocortison through mouse skin. J. Pharm Sci. **67** (1978) 789-792
- [188] Sharma, B.B., Jain, S.K., Vyas, S.P.: Topical liposome system bearing local anaesthetic lignocaine: preparation and evaluation. J. Microencapsulation **11** (1994) 279-286
- [189] Siebenbrodt, I., Keipert, S.: Poloxamer-systems as potential Ophthalmics: II. Microemulsions. Eur. J. Pharm. Biopharm. **39** (1993) 25-30
- [190] Singh, P., Roberts, M.S.: Iontophoretic transdermal delivery of salicylic acid and lidocaine to local subcutaneous structures. J. Pharm. Sci. **82** (1993) 127-131
- [191] Singh, R., Vyas, S.P.: Topical liposomal system for localized and controlled drug delivery. J. Dermatol. Sci. **13** (1996) 107-111
- [192] Sjöblom, E., Friberg, S.: Light-scattering and electron microscopy determinations of association structures in W/O microemulsions. J. Colloid Interface Sci. **67** (1978) 16-30
- [193] Solans, C., Garcia-Celma, M.J.: Surfactants for microemulsions. Curr. Opin. Colloid Interface Sci. **2** (1997) 464-471

- [194] Stoughton, R.B.: Dimethylsulfoxide (DMSO) induction of a steroid reservoir in human skin. *Arch. Dermatol.* **91** (1965) 657-660
- [195] Stupar, M., Primorac, M., Vuleta, G.: The rheological characteristics of microemulsive gels. *Pharmazie* **41** (1986) 516-517
- [196] Stüttgen, G.: Die biologische Funktion des Stratum corneum. Pharmakokinetische Bedingungen für die topische Applikation. In: Rietbrock, N. (Hrsg.): Die Haut als Transportorgan für Arzneistoffe. Steinkopf Verlag Darmstadt 1990
- [197] Tacharodi, D., Pandurango Rao, K.: Transdermal absorption of nifedipine from microemulsions of lipophilic skin penetration enhancers. *Int. J. Pharm.* **111** (1994) 235-240
- [198] Tachibana, K., Tachibana, S.: Use of ultrasound to enhance the local anesthetic effect of topically applied aqueous lidocaine. *Anesthesiology* **78** (1993) 1091-1096
- [199] Takeuchi, Y., Yasukawa, H., Yamaoka, Y., Kato, Y., Morimoto, Y., Fukumori, Y., Fukuda, T.: Effects of fatty acids, fatty amines and propylene glycol on rat SC lipids and proteins in vitro measured by Fourier Transform Infrared/Attenuated Total Reflection (FT-IR/ATR) Spectroscopy. *Chem. Pharm. Bull.* **40** (1992) 1887-1892
- [200] Tenjarla, S.: Microemulsions: An overview and pharmaceutical applications. *Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst.* **16** (1999) 461-521
- [201] Thews, G., Mutschler, E., Vaupel, P.: Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen. 4. Auflage Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 1991
- [202] Thiessen, F., Bergmann, J., Steinhoff, H.: Methämoglobinämie nach Blockade des Plexus brachialis mit Prilocain (Xylonest). *Reg. Anaesth.* **7** (1984) 94-95
- [203] Thoma, K., Kasper, F.R.: Kolloidassoziation und biologische Verfügbarkeit von Lokalanästhetika. 6. Mitteilung: Untersuchung der Mischmizellbildung mit Polysorbaten. *Pharm. Acta Helv.* **63** (1988) 102-110
- [204] Thoma, K., Kasper, F.R.: Kolloidassoziation und biologische Verfügbarkeit von Lokalanästhetika. 11. Mitteilung: Einfluss der Mischmizellbildung auf die oberflächenanästhetische Wirkung. *Pharm. Acta Helv.* **63** (1988) 210-214
- [205] Trotta, M., Gallarate, M., Gasco, M.R.: Effect of the variation of microemulsion water content on the in vitro permeation of hydrocortisone. *Acta Technol. Legis Medic.* **6** (1995) 67-78
- [206] Trotta, M., Gasco, M.R., Carlotti, M.E.: Study on an O/W microemulsion carrying diazepam. *Acta Technol. Legis Medic.* **1** (1990) 137-148
- [207] Trotta, M., Gasco, M.R., Morel, S.: Release of drugs from oil-water microemulsions. *J. Contr. Rel.* **10** (1989) 237-243

- [208] Trotta, M., Gasco, M.R., Pattarino, F.: Diffusion of steroid hormones from o/w microemulsions: Influence of the cosurfactant. *Acta Pharm. Technol.* **36** (1990) 226-231
- [209] Trotta, M., Pattarino, F., Gasco, M.R.: Influence of counter ions on the skin permeation of methotrexate from water-oil microemulsions. *Pharm. Acta Helv.* **71** (1996) 135-140
- [210] Tryba, M.: Pharmakologie und Toxikologie der Lokalanästhetika – klinische Bedeutung. In: Astra Chemicals GmbH (Hrsg.): *Regionalanästhesie*. Gustav Fischer Verlag 1989
- [211] Tryba, M.: Lokalanästhetika. In: Zenz, M., Jurna, I. (Hrsg.): *Lehrbuch der Schmerztherapie*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 1993
- [212] Valenta, C., Siman, U., Kratzel, M., Hadgraft, J.: The dermal delivery of lignocaine: influence of ion pairing. *Int. J. Pharm.* **197** (2000) 77-85
- [213] Vinson, P.K., Sheehan, J.G., Miller, W.G., Scriven, L.E., Davis, H.T.: Viewing microemulsions with freeze-fracture transmission electron microscopy. *J. Phys. Chem.* **95** (1991) 2546-2550
- [214] de Waard-van der Spek, F.B., Mulder, P.G.H., Oranje, A.P.: Prilocaine/lidocaine patch as a local premedication for skin biopsy in children. *J. Am. Acad. Dermatol.* **37** (1997) 418-421
- [215] Wagner, G., Barghorn, A.: *Praxis der perkutanen Anästhesie bei Verwendung einer Lidocain-Prilocain-Creme (EMLA® Creme)*. Arcis Verlag GmbH München 1999
- [216] Wahlgren, C.-F., Quiding, H.: Depth of cutaneous analgesia after application of a eutectic mixture of the local anesthetics lidocaine and prilocaine (EMLA cream). *J. Am. Acad. Dermatol.* **42** (2000) 584-588
- [217] Walker, M., Hadgraft, J.: Oleic acid – a membrane „fluidiser“ or fluid within the membrane? *Int. J. Pharm.* **71** (1991) R1-R4
- [218] Wan, L.S.C., Lee, P.F.: CMC of Polysorbates. *J. Pharm. Sci.* **63** (1974) 136-137
- [219] Wiefel, T.: Unveröffentlichte Ergebnisse (1997)
- [220] Wildsmith, J.A.W.: Peripheral nerve and local anaesthetic drugs. *Br. J. Anaesth.* **58** (1986) 692-700
- [221] Wohlrab, J., Krause, S.A., Wiefel, T.: Unveröffentlichte Ergebnisse (1997)
- [222] Wohlrab, W.: The influence of urea on the penetration kinetics of topically applied corticoids. *Acta Derm. Venerol.* **64** (1984) 233-238
- [223] Wohlrab, W.: Einfluß von Harnstoff auf die Penetration von Prednisolon in die menschliche Haut. *Dermatol. Mon.schr.* **172** (1986) 523-527
- [224] Wohlrab, W.: Harnstoff in der Dermatologie. *Deutsche Apothekerzeitung* **136** (1996) 2523-2527

- [225] Wokalek, H.: Die Haut. In: Niedner, R., Ziegenmeyer, J. (Hrsg.): Dermatika. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 1992
- [226] Woolfson, A.D., McCafferty, D.F., McClelland, K.H., Boston, V.: Concentration-response analysis of percutaneous local anaesthetic formulations. *Br. J. Anaesth.* **61** (1988) 589-592
- [227] Woolfson, A.D., McCafferty, D.F., McGowan, K.E.: The metabolism of amethocaine by porcine and human skin extracts: influence on percutaneous anaesthesia. *Int. J. Pharm.* **62** (1990) 9-14
- [228] Woolfson, A.D., McCafferty, D.F., McGowan, K.E.: Percutaneous penetration characteristics of amethocaine through porcine and human skin. *Int. J. Pharm.* **78** (1992) 209-216
- [229] Woolfson, D., McCafferty, D.: Percutaneous local anaesthesia. Ellis Horwood New York, London, Toronto, Sydney, Tokyo, Singapore 1993
- [230] Woolfson, A.D., McCafferty, D.F.: Percutaneous local anaesthesia: drug release characteristics of the amethocaine phase-change system. *Int. J. Pharm.* **94** (1993) 75-80
- [231] Woolfson, A.D.: Breaking out of the ivory tower: from academia to clinic. *J. Pharm. Pharmacol.* **51** (1999) 899-903
- [232] Wüst, M.: Untersuchungen zur perkutanen Absorption an einem *in-vitro* Modell mit exzidierter Schweinehaut. Dissertation, Christian-Albrechts-Universität Kiel (1987)
- [233] Zabka, M., Benkova, M.: Microemulsions containing local anaesthetics, Part 6: Influence of microemulsion vehicle on in vivo effect of lidocaine. *Pharmazie* **50** (1995) 703-704
- [234] Zana, R., Lang, J.: Dynamics of microemulsions. In: Friberg, S.E., Bothorel, P. (Hrsg.): Microemulsions: Structure and dynamics. CRC Press Boca Raton, Florida 1987
- [235] Ziegenmeyer, J.: Haut – Vehikel – Pharmakon, die entscheidenden Kriterien für die percutane Absorption. *Pharm. i. u. Zeit* **15** (1986) 129-142
- [236] Ziegenmeyer, J.: Transdermale Applikation von Arzneistoffen. *PZ* **134** (1989) 1085-1091
- [237] Ziegenmeyer, J.: Biopharmazeutische Aspekte bei der Anwendung von Dermatika. In: Niedner, R., Ziegenmeyer, J. (Hrsg.): Dermatika. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 1992
- [238] Ziegenmeyer, J., Führer, C.: Mikroemulsionen als topische Arzneiform. *Acta Pharm. Technol.* **26** (1980) 273-275

Dank

Ich möchte an dieser Stelle allen ganz herzlich danken, die Anteil am Zustandekommen der Arbeit hatten.

Dabei ist vor allem Herr Prof. Dr. R. Neubert zu nennen, der mir durch seine Betreuung und Unterstützung die Tätigkeit auf dem sehr interessanten Forschungsgebiet der Mikroemulsionen ermöglichte.

Herr Prof. Dr. W. Wohlrab vom Institut für experimentelle Dermatologie gab mir die Gelegenheit zu Penetrationsstudien an Humanhaut. Bei den praktischen Arbeiten stand mir Frau U. Schramm hilfreich zur Seite.

Die gute Zusammenarbeit mit Herrn Dr. J. Wohlrab, der die klinische Testung am Probanden vorbereitet und durchgeführt hat, war unverzichtbar für diese Arbeit.

Genannt seien auch alle, die zur Charakterisierung der Mikroemulsionen beigetragen haben, vor allem Herr Dr. M. Janich und Herr A. Shukla aus der Arbeitsgruppe Optik des Fachbereichs Physik mit Lichtstreuuntersuchungen sowie Herr Dr. K. Schröder (Polymerphysik) mit rheologischen Messungen, Herr Dr. R. Paschke vom Biozentrum der Martin-Luther-Universität mit polarisationsmikroskopischen Untersuchungen sowie Herr Prof. Dr. W. Meyer und Herr Dr. W. Richter vom Institut für Ultrastrukturforschung der Friedrich-Schiller-Universität Jena mit elektronenmikroskopischen Aufnahmen der Systeme.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. M. Janich, der durch seine stete Diskussionsbereitschaft zu physikalischen Fragen die Auswertung der verschiedenen Charakterisierungsergebnisse erleichtert hat.

Als wesentlichen Beitrag zum Gelingen der Arbeit möchte ich außerdem die sehr angenehme und kollegiale Atmosphäre in der Arbeitsgruppe Biopharmazie hervorheben. Herzlich gedankt sei an dieser Stelle vor allem Frau Apothekerin K. Jahn für die ständige und unermüdliche Bereitschaft zur Diskussion pharmazeutischer Probleme sowie Frau S. Todte und Frau M. Woigk für die Unterstützung bei den HPLC-Messungen.

Lebenslauf

Name: Sylvia Annett Krause
Geburtstag: 12.04.1973
Geburtsort: Halle (Saale)
Eltern: Dr. Hans-Thomas Krause, Historiker
Dr. habil. Eva Krause, Apothekerin
Familienstand: ledig

Schulausbildung

1979 – 1989 Polytechnische Oberschule „Frieden“ in Halle (Saale)
1989 – 1991 Erweiterte Oberschule „Adolf Reichwein“ in Halle (Saale)

Berufsausbildung

1991 – 1995 Pharmaziestudium an der Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg
Sept. 1993 1. Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
Aug. 1995 2. Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
Okt. 1995 – März 1996 Pharmaziepraktikum bei der *galmed* GmbH in Halle (Saale),
Anfertigung einer Diplomarbeit
April – Sept. 1996 Pharmaziepraktikum in der Engel-Apotheke in Halle (Saale)
Okt. 1996 3. Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
Nov. 1996 Approbation als Apothekerin
Nov. 1996 – Dez. 2000 wissenschaftliche Mitarbeiterin im Institut für Pharmazeutische
Technologie und Biopharmazie am Fachbereich Pharmazie der
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Nov. 1996 – Dez 1998 Mitglied im Sonderforschungsbereich 197 Bio- und Modell-
membranen Teilprojekt A 8 „Beeinflussung der Lipidorganisation
des Stratum corneum zur Modulation der Barrierefunktion und
der Wirkstoffpenetration in die menschliche Haut“
Febr. 1998 – Jan 2000 Assoziierte Kollegiatin im Graduiertenkolleg „Transport von
Wirkstoffen in biologischen Membranen“
seit Jan. 2001 Mitarbeiterin der Apotheke am Rosengarten in Halle (Saale)

Hiermit erkläre ich, dass die vorliegende Arbeit von mir selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literaturquellen und Hilfsmittel verfasst wurde. Diese Dissertationsschrift habe ich an keiner anderen Universität oder Hochschule vorgelegt und mich zu keinem früheren Zeitpunkt um den Doktorgrad beworben.

Halle (Saale), den 22.07.2001

Annett Krause