

Entwicklung und Charakterisierung einer Formulierung mit erhöhter Substantivität

Dissertation

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

vorgelegt von
Markus Schmidberger
aus Biberach an der Riß

Tübingen
2020

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

Tag der mündlichen Qualifikation:	28.05.2020
Dekan:	Prof. Dr. Wolfgang Rosenstiel
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Dominique J. Lunter
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. Rolf Daniels

Danksagung

Liebe Dominique, bei dir möchte ich mich besonders bedanken. Dafür, dass du es mir ermöglicht hast, dieses interessante Thema zu bearbeiten und die vorliegende Arbeit zu erstellen. Durch deine enge fachliche Betreuung und gleichzeitig die Freiräume, Ideen auch nach meinen Vorstellungen umzusetzen, konnte ich mich fachlich und persönlich weiterentwickeln. Des Weiteren für die Möglichkeit zur Teilnahme an wissenschaftlichen Kongressen.

Bei Ihnen, Herr Professor Daniels, möchte ich mich dafür bedanken, dass Sie mich schon früh für die Pharmazeutische Technologie begeistert haben. Ihre stets offene Tür, die fachlichen Anregungen und Hilfestellungen waren in all der Zeit eine wichtige Stütze. Nicht zuletzt danke ich Ihnen für die Betreuung während Weiterbildung zum Fachapotheker für Pharmazeutische Technologie und für die Erstellung des Zweitgutachtens.

Herrn Professor Wahl danke ich für seine konstruktiven Anmerkungen und seine Unterstützung bei allen statistischen Fragestellungen.

Der Familie Griebhaber danke ich für die freundliche und unkomplizierte Zusammenarbeit. Ohne sie wären große Teile dieser Arbeit nicht möglich gewesen.

Ein großer Dank geht auch an die Mitarbeiter der Werkstatt des Pharmazeutischen Institutes, die durch ihre Zuverlässigkeit und handwerkliches Geschick ebenfalls zum Gelingen beigetragen haben.

Bei Herrn Klaus Weyhing bedanke ich mich für seine stets helfende Hand und die unzähligen Tipps und Tricks bei allen Anliegen des universitären Alltags.

Vielen Dank allen Kollegen, die mich während meiner Promotion begleitet haben. Für all die fachlichen und nicht-fachlichen Gespräche und die schönen Erinnerungen, die ich mit ihnen, dem Pharmazeutischen Institut und Tübingen verbinde.

Bei meinem Bruder, Kollegen und langjährigen Mitbewohner Gregor bedanke ich mich für die lebendigen wissenschaftlichen Diskussionen, auch zu später Stunde.

Ilka, bei dir möchte ich mich für die beispiellose Unterstützung in den vergangenen Monaten bedanken; für das gewissenhafte Korrekturlesen des Manuskripts und auch einfach für die immer willkommene Ablenkung.

Der größte Dank gilt meinen Eltern, die mir das Studium ermöglicht und damit den Grundstein für meinen weiteren Werdegang gelegt haben. Sie haben mich bei meinen Vorhaben immer unterstützt und Rückhalt gegeben.

Teile dieser Arbeit wurden bereits in Fachzeitschriften oder als Tagungsbeiträge veröffentlicht.

Artikel in Fachzeitschriften:

Markus Schmidberger, Ines Nikolić, Ivana Pantelić, Dominique J. Lunter (2019):

Optimization of Rheological Behaviour and Skin Penetration of Thermogelling Emulsions with Enhanced Substantivity for Potential Application in Treatment of Chronic Skin Diseases, *Pharmaceutics*, 2019, 11.

Markus Schmidberger, Rolf Daniels, Dominique J. Lunter (2018):

Method to determine the impact of substantivity on ex vivo skin-permeation, *Eur J Pharm and Biopharm*, 2018, 131: 1-7.

Tagungsbeiträge:

Markus Schmidberger, Dominique J. Lunter (2018):

Polymer stabilised emulsions with enhanced substantivity, DPhG Annual Meeting, Hamburg

Markus Schmidberger, Sabrina Hermann, Ivana Pantelić, Snežana Savić, Rolf Daniels, Dominique J. Lunter (2018):

Comparison of ex vivo and in vivo substantivity tests for dermal dosage forms, 11th PBP World Meeting, Granada

Markus Schmidberger, Dominique J. Lunter, Rolf Daniels (2016):

Method to investigate the impact of substantivity of topical formulations on skin permeation, DPhG International PhD Students/Postdocs Meeting, Aachen

„Wissenschaft wird von Menschen gemacht“

Werner Heisenberg

Besondere Hinweise

Gesetzlich geschützte Warenzeichen werden ohne besondere Kennzeichnung verwendet.

Der Lehrstuhl für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie der Eberhard Karls Universität Tübingen ist für den Gebrauch tierischer Materialien beim Regierungspräsidium Tübingen registriert (Registrierungsnummer DE 08 416 1052 21).

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	XI
1 Einleitung und Zielsetzung	1
1.1 Zielsetzung	1
2 Allgemeiner Teil	3
2.1 Substantivität als Qualitätsmerkmal	3
2.2 Die Haut als Applikationsort	5
2.2.1 Aufbau der Haut	5
2.2.2 Stofftransport durch die Haut	9
2.2.3 Hautmodelle	13
2.2.4 Permeations- und Penetrationsmodelle	14
2.2.5 Modifikation der Hautpenetration	16
2.3 Capsaicinoide in der Arzneimitteltherapie	18
2.3.1 Pharmakologie der Capsaicinoide	19
2.3.2 Capsaicinoide als Arzneistoffe	20
2.4 Emulsionen	22
2.4.1 Begriffserklärung und allgemeine Grundlagen	22
2.4.2 Stabilität von Emulsionen	22
2.4.3 Herstellung von Emulsionen	27
2.4.4 Prüfung von Emulsionen	28
2.5 Rheologische Grundlagen	31
2.5.1 Viskosität	31
2.5.2 Rotationsmessungen	35
2.5.3 Oszillatorische Messungen	35
2.5.4 Messsysteme	38
3 Materialien und Methoden	40
3.1 Verwendete Materialien	40
3.2 Verwendete Geräte	44

3.3	Verwendete Software	49
3.4	Methoden	50
3.4.1	Herstellung der Zubereitungen	50
3.4.2	Hautpräparation	56
3.4.3	Herstellung von Phosphaftpuffer pH 7,4	57
3.4.4	Herstellung von isotonem Phosphaftpuffer pH 7,4	57
3.4.5	Ex-vivo-Permeationsuntersuchungen	57
3.4.6	Ex-vivo-Penetrationsuntersuchungen	59
3.4.7	Ex-vivo-Substantivitätsmessungen in Franzzellen	61
3.4.8	In-vivo-Substantivitätsmessungen	64
3.4.9	Ex-vivo-Substantivitätsmessungen	65
3.4.10	Rheologische Messungen	66
3.4.11	Tropfengrößenbestimmung	68
3.4.12	Mikroskopische Betrachtung	68
3.4.13	Leitfähigkeit	69
3.4.14	Bestimmung der Lagerstabilität	69
3.4.15	Trübungspunktmessungen	70
3.4.16	Flüssig-flüssig-Extraktion	72
3.4.17	HPLC-Analytik	76
3.4.18	UV-Spektroskopie	77
3.4.19	Statistische Auswertung	77
4	Ergebnisse und Diskussion	78
4.1	Einfluss der Substantivität auf die Hautpermeabilität von Arzneistoffen	78
4.1.1	Einfluss des Anpressdrucks	78
4.1.2	Einfluss von mechanischer Belastung auf die Hautpermeabilität	79
4.1.3	Einfluss von Kontakthäufigkeit und -geschwindigkeit	81
4.1.4	Einfluss der Substantivität auf die Permeation der Hydrophilen Nonivamid-Creme	84
4.1.5	Einfluss der Substantivität auf die Permeation der Öl-in-Öl-Emulsion	86
4.1.6	Einfluss der Substantivität auf die Permeation der filmbildenden Formulierung	88

4.2	In-vivo-Substantivitätsmessungen	91
4.3	Rheologische Untersuchungen	94
4.3.1	Modifikation der Hydrophilen Nonivamid-Creme	94
4.3.2	Temperaturgradient	99
4.3.3	Oszillatorische Messungen	104
4.4	Mikroskopische Betrachtung	117
4.5	Tropfengrößenbestimmung	120
4.5.1	Einfluss der Zusatzstoffe	120
4.5.2	Einfluss von Methylcellulose-Konzentration und Macrogol	122
4.6	Lagerstabilität	125
4.6.1	Rheologische Stabilität	125
4.6.2	Tropfengrößenstabilität	133
4.6.3	Einfluss von Methylcellulosekonzentration und Macrogol	141
4.7	Trübungspunktmessungen	146
4.8	Ex-vivo-Substantivitätsmessungen	152
4.9	Ex-vivo-Penetrationsuntersuchungen	159
5	Zusammenfassung	170
6	Verzeichnisse	173
6.1	Literaturverzeichnis	173
6.2	Tabellenverzeichnis	191
6.3	Abbildungsverzeichnis	201
7	Anhang	205
7.1	Zu den Methoden	205
7.1.1	HPLC-Kalibrierungsdaten	205
7.1.2	Flüssig-flüssig-Extraktion	210
7.2	Zu den Ergebnissen	211
7.2.1	Übersicht über die untersuchten Formulierungen	211
7.2.2	Ex-vivo-Permeationsuntersuchungen	215
7.2.3	In-vivo-Substantivitätsmessungen	233
7.2.4	Rheologische Untersuchungen	234

7.2.5	Leitfähigkeit	245
7.2.6	Lagerstabilität	247
7.2.7	Trübungspunktmessungen	255
7.2.8	Ex-vivo-Substantivitätsprüfungen	262
7.2.9	Ex-vivo-Penetrationsuntersuchungen	267

Abkürzungsverzeichnis

AVB	Avobenzon
BSA	Bovines Serumalbumin
bzw.	beziehungsweise
cm ²	Quadratcentimeter
d	Teilungswert
D	Durchmesser
D10	10 % der Partikel unterhalb dieses Wertes
D50	50 % der Partikel unterhalb dieses Wertes
D90	90 % der Partikel unterhalb dieses Wertes
DIN	Deutsches Institut für Normung e. V.
DMSO	Dimethylsulfoxid
DPhG	Deutsche Pharmazeutische Gesellschaft e.V.
E	Grenzflächenenergie
EMA	European Medicines Agency
η	dynamische Viskosität
g	Gramm
γ	Grenzflächenspannung
$\dot{\gamma}$	Schergeschwindigkeit
G'	Speichermodul
G''	Verlustmodul
h	Stunde

H/H	Haut-Haut-Kontakt
HNC	Hydrophile Nonivamid-Creme
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
H/T	Haut-Textil-Kontakt
IPM	Isopropylmyristat
ISO	Internationale Organisation für Normung
körp.	körperliche
LVE	linear-viskoelastisch
MC	Methylcellulose
MCT	Mittelkettige Triglyceride
mg	Milligramm
mL	Milliliter
N	Newton
ng	Nanogramm
NRF	Neues Rezepturformularium
NVA	Nonivamid
OECD	Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung
O/O	Öl-in-Öl-Phasenlage
O/W	Öl-in-Wasser-Phasenlage
Pa	Pascal
Ph. Eur.	Europäisches Arzneibuch
r	Radius
ρ	Dichte

s.	siehe
sog.	sogenannt
Stabw.	Standardabweichung
τ	Schubspannung
τ_0	Fließgrenze
TRPV-1	Transient Receptor Potential Vanilloid 1
UpM	Umdrehungen pro Minute
v	Geschwindigkeit
W/O	Wasser-in-Öl-Phasenlage
w/w	weiblich/weiblich
z. B.	Zum Beispiel
μm	Mikrometer

1 Einleitung und Zielsetzung

1.1 Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist es, den Einfluss der Substantivität topischer Darreichungsformen auf die penetrierte und permeierte Wirkstoffmenge zu untersuchen. Da keine Testmodelle existieren, die das Schicksal dermalen Zubereitungen nach der Applikation in akzeptabler Weise abbilden, soll zunächst eine Methode entwickelt werden. Diese soll die Vorgänge nach dem Auftragen eines Arzneimittels auf die Haut möglichst realitätsnah simulieren. Dabei steht der Kontakt mit anderen Oberflächen wie Haut oder Kleidung im Vordergrund. Die Ex-vivo-Permeations- und Penetrationsversuche werden in Franzzellen durchgeführt. Neben verschiedenen Kontaktszenarien werden drei Formulierungen ausgewählt und untersucht. Dabei handelt es sich um Rezepturen, die sich in ihrer Charakteristik unterscheiden; eine konventionelle Creme, eine Öl-in-Öl-Emulsion und eine filmbildende Formulierung. Die Formulierungen unterscheiden sich auch in ihrem Permeationsprofil und Änderungen im biopharmazeutischen Verhalten durch die simulierte Belastung können detektiert werden.

Der Einfluss durch Kontakt mit anderen Oberflächen soll quantifiziert und eventuelle Unterschiede zwischen den Formulierungen untersucht werden. Anhand der gewonnenen Erkenntnisse soll eine neue Formulierung entwickelt werden, die im Bezug auf die Substantivität optimiert ist. Die Rezeptur wird hinsichtlich verschiedener Qualitätsparameter getestet und charakterisiert. Biopharmazeutische Untersuchungen sollen Informationen über das Penetrationsverhalten liefern. Die Rezeptur wird mit einem monografierten Arzneimittel verglichen. Dadurch kann beurteilt werden, ob die Arzneistoffmenge am Wirkort in einem therapeutischen Bereich liegt.

Die Arbeit fokussiert sich auf Nonivamid als Arzneistoff. Dieses synthetische Capsaicinoid findet in der Therapie dermalen Erkrankungen, vor allem chronischen Pruritus, Anwendung. Aufgrund seiner pharmakologischen Eigenschaften wird es auch als lokales Analgetikum verwendet. Am Beispiel des Nonivamids lässt sich die Bedeutung der Substantivität topischer Darreichungsformen verdeutlichen. Aufgrund seiner pharmakologischen Eigenschaften ist eine mehrmals tägliche Applikation nötig, was durch eine optimierte Substantivität der Formulierung reduziert werden könnte. Außerdem ist es ein stark reizender Stoff und schon geringe Mengen reichen aus, um bei Kontakt Reizungen hervorzurufen. Bei hoher Substantivität wird weniger Wirkstoff in die

Umgebung der Patienten abgegeben und dadurch das Auftreten unerwünschter Arzneimittelwirkungen verringert.

Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag dazu leisten, die Therapie von Hauterkrankungen und zugleich die Arzneimittelsicherheit zu verbessern.

2 Allgemeiner Teil

2.1 Substantivität als Qualitätsmerkmal

Als Substantivität bezeichnet man das Bestreben einer Substanz, auf der Haut zu verbleiben (McNamara et al., 1965). Im technischen Bereich ist die Substantivität eine wichtige Eigenschaft von sogenannten Direkt-Farbstoffen. Diese werden vor allem zum Färben natürlicher Materialien, wie z.B. Baumwolle oder Papier, ohne Zusatz weiterer Hilfsstoffe verwendet (Arpe und Ullmann, 1985). Im Alltag begegnet uns diese Eigenschaft sehr häufig, ohne dass wir uns darüber weiter Gedanken machen. So hat wahrscheinlich jeder, der schon einmal Reparaturen an einer Fahrradkette durchgeführt hat und im Anschluss seine Hände wieder sauber bekommen musste, über die hohe Substantivität geflucht. Dieses Beispiel soll stellvertretend für eine Fülle anderer Situationen stehen, bei denen wir mit dieser Eigenschaft unbewusst konfrontiert werden. Andererseits ist es auch möglich, dass Stoffe oder Zubereitungen ganz bewusst auf die Haut aufgetragen werden. In diesem Fall ist eine hohe Substantivität ausdrücklich erwünscht. Allgemein spielt die Substantivität bei allen Substanzen eine wichtige Rolle, die auf der Haut ihre Funktion ausüben sollen. Dazu zählen z.B. Insekten- und Sonnenschutzmittel. Auch im kosmetischen Bereich spielt die Substantivität von Produkten eine Rolle. Hier wird diese Eigenschaft dann oft als Transferresistenz beworben.

Auf der anderen Seite kann eine hohe Substantivität auch nachteilige Folgen haben. So können sich Stoffe auf oder in der Haut anreichern und irritierende, allergene oder toxische Wirkungen entfalten. Li et al. (2018) zeigen mehrere Beispiele, bei denen eine hohe Substantivität zum Teil schwerwiegende, negative Folgen hat. Im Arzneimittelsektor nimmt das Bewusstsein über die Substantivität als Qualitätsmerkmal zu. So wurde jüngst am Beispiel von Diclofenac darauf hingewiesen, dass ein Großteil des topisch applizierten Wirkstoffs in die Umwelt gelangt (Borsch, 2019).

Für Arzneimittel gibt es nur wenige Untersuchungen, die sich mit der Bewertung der Substantivität beschäftigen. Für Sonnenschutzpräparate sind neben standardisierten Methoden zur Quantifizierung der Wasserresistenz (CFR, 2017; Colipa, 2005; Greiter et al., 1979) auch Versuche zur Prüfung der Sandresistenz (Stokes und Diffey, 2000) beschrieben. Diese Testmethoden sind jedoch ungeeignet zur Beurteilung der Substantivität von Arzneimitteln, da sie deren Schicksal nur unge-

nügend abbilden. Auch Methoden, die die Adhäsion von Prüfkörpern an die Formulierung testen (Heck, Hermann et al., 2016; Ochoa-Andrade et al., 2017), sind nicht geeignet, die Substantivität zu beurteilen. Bei diesen Veruschaufbauten wird die Kraft gemessen, die benötigt wird, um einen Prüfkörper von der Formulierung abzulösen. Rückschlüsse auf das Bestreben der Formulierung am Applikationsort zu verbleiben, sprich die Substantivität, sind nur begrenzt möglich.

Die von Herrmann et al. (2016) beschriebene Methode schließt diese Lücke. Hier ist es möglich, den Einfluss durch Kontakt mit Hautflächen oder Textilstücken zu simulieren und eine quantitative Aussage über die am Applikationsort verbleibende Wirkstoffmenge zu treffen. Dies spiegelt die Realität bedeutend besser wider, als die oben genannten Testsysteme. Jedoch ist es auch mit diesem Versuchsaufbau nicht möglich, den Einfluss auf die permeierte oder penetrierte Wirkstoffmenge zu erfassen und damit die biopharmazeutischen Auswirkung der Substantivität von Arzneimitteln zu beschreiben. Da sich der Wirkort der applizierten Substanzen in der Regel nicht auf der Hautoberfläche, sondern in tiefer liegenden Schichten befindet, sind diese Informationen von zentraler Bedeutung, um den Effekt der Substantivität auf den Therapieerfolg besser bewerten zu können. Die Ergebnisse von Herrmann et al. (2016) zeigen jedoch, dass je nach Formulierung und getesteter Kontaktart bis zu 90 % der Zubereitung von der Hautoberfläche entfernt werden. Dies verdeutlicht, dass der Substantivität topischer Darreichungsformen als Qualitätsmerkmal entsprechende Beachtung gewidmet werden muss.

Wird die Formulierung und mit ihr auch der enthaltene Wirkstoff von der Haut entfernt, ergeben sich daraus mehrere Probleme. Der abgetragene Anteil der aktiven Substanz steht nicht mehr zur Penetration oder Permeation zur Verfügung, was eine direkte Wirkung auf den Erfolg der Therapie hat. Das Arzneimittel muss somit öfter aufgetragen werden, um den gewünschten therapeutischen Effekt zu erzielen. Die Folge der kurzen Applikationsintervalle ist jedoch eine schlechtere Therapietreue (Cramer et al., 1989). Eine andere Möglichkeit ist, die Wirkstoffkonzentration in der Zubereitung zu erhöhen. Dadurch verbleibt auch bei einem entsprechenden Verlust durch Kontakt mit anderen Flächen genug Arzneistoff auf der Haut. Die Konsequenz daraus ist jedoch das vermehrte Auftreten von unerwünschten Arzneimittelwirkungen. Dies schlägt sich wiederum in der Compliance der Patienten nieder oder führt im schlimmsten Fall sogar zu einem vollständigen Abbruch der Therapie. Gleichzeitig findet eine Kontaminierung der Umgebung (z.B. Bettwäsche) des Patienten statt. Dies kann bei farbigen Arzneistoffen oder Zubereitungen für den Patienten optisch unangenehm sein, bei pharmakologisch aktiven Stoffen besteht bei unwillentlichem Kontakt auch das Risiko von unerwünschten Wirkungen. Bei entsprechen-

den Wirkstoffen können Reizungen oder andere Symptome hervorgerufen werden. Dies betrifft auch Personen im Umfeld des Patienten. Durch eine ungenügende Substantivität gelangen auf diese Weise auch große Mengen von Arzneistoffen in die Umwelt. Bei Analysen werden vor allem das bereits oben erwähnte Diclofenac, Ibuprofen oder Carbamazepin nachgewiesen (Umweltbundesamt, 2017). Dies ist natürlich vor allem auf den mengenmäßig starken Einsatz dieser Stoffe, hauptsächlich in Form von Tabletten und Kapseln, und nicht unbedingt auf eine mangelnde Substantivität ihrer topischen Darreichungsformen zurückzuführen. Aber auch Arzneistoffe wie Erythromycin oder Ketoconazol, die hauptsächlich in der Dermatologie zum Einsatz kommen, werden im Wasser gefunden (Chitescu et al., 2012).

Für Dermatika mit einer verlängerten Wirkstofffreisetzung ist eine sehr hohe Substantivität ausgesprochen wichtig. Hier bildet die Formulierung ein Arzneistoffdepot auf der Haut, aus dem der Wirkstoff über eine längere Zeitspanne gleichmäßig freigesetzt wird (Heck, Hermann et al., 2016; Lunter und Daniels, 2012; Rottke et al., 2014). Dadurch werden gleichmäßige Wirkstoffspiegel in der Haut erreicht und die Applikationsintervalle können verlängert werden. Um diese Vorteile in vivo zu erreichen, muss das Reservoir auf der Haut über eine entsprechend lange Zeit verbleiben. Dazu ist eine hohe Substantivität notwendig.

Bei der Behandlung von Hauterkrankungen spielt aber nicht nur der Wirkstoff, sondern auch das Vehikel für den Therapieerfolg eine Rolle (Daniels und Knie, 2007; Hagemann und Proksch, 1996). Auch von dieser Perspektive aus ist das Verbleiben der Formulierung auf der Haut erwünscht.

2.2 Die Haut als Applikationsort

2.2.1 Aufbau der Haut

Die Haut eines erwachsenen Menschen ist mit einer Fläche von etwa 2 m^2 und einem Gewicht von 15 % des Körpergewichts (Leider, 1949) das größte Organ des Körpers. Zu den wichtigsten Funktionen zählen neben der Regulation der Körpertemperatur auch die Barrierefunktion. Hier schützt die Haut zum einen vor Wasserverlust, bildet also eine Barriere von innen nach außen. Gleichzeitig verhindert sie auch die Stoffaufnahme, indem sie für eindringende Xenobiotika eine Hürde von außen nach innen darstellt. Des Weiteren schützt sie vor UV-Strahlung, mechanischen Einflüssen und Mikroorganismen.

Histologisch besteht die Haut aus mehreren unterschiedlichen Schichten und den Hautanhangs-

gebildet. Dazu zählen Nägel, Haare, Schweiß- und Talgdrüsen. Die äußere, zur Umwelt hin gerichtete, Struktur ist die Epidermis. Darauf folgt die Dermis oder auch Corium genannt und darunter liegend die Subkutis (Kanitakis, 2002). Die einzelnen Schichten sind nicht homogen, sondern lassen sich wiederum differenzieren. Einen Überblick über die einzelnen Hautschichten gibt die folgende Auflistung nach McGrath et al. (2010), wobei mit der äußersten, zur Umwelt hin gerichteten, Schicht begonnen wird und die tiefer liegenden darauf folgen.

◆ **Epidermis**

- ◇ Stratum corneum
- ◇ (Stratum lucidum)
- ◇ Stratum granulosum
- ◇ Stratum spinosum
- ◇ Stratum basale

◆ **Dermis**

- ◇ Stratum papillare
- ◇ Stratum reticulare

◆ **Subcutis**

- ◇ Fettgewebe, Blutgefäße, Nerven und Bindegewebe

Die Haut passt sich jedoch stark an ihre Umgebung an und entsprechend stark oder weniger stark sind die einzelnen Schichten ausgeprägt oder fehlen zum Teil auch vollständig. So ist z.B. das Stratum lucidum nicht immer vorhanden und ist nur in den Handinnenflächen und den Fußsolen ausgeprägt (Kanitakis, 2002). Epidermis, Dermis und Subcutis haben entsprechend ihren Funktionen einen unterschiedlichen Aufbau, auf den im Folgenden kurz eingegangen werden soll.

Epidermis

Die Epidermis bildet die äußerste Grenze des Körpers zur Umwelt. Aus den Schichten der lebenden Epidermis bildet sich das Stratum corneum oder Hornschicht, welches aus abgestorbenen Hautzellen besteht. Verhornen die Keratinozyten, entstehen die sogenannten Korneozyten. Der Körperstamm und die Extremitäten weisen etwa zehn bis 20 dieser Zellschichten auf (Ya-Xian et

al., 1999). Die Dicke variiert jedoch und kann an anderen Körperstellen stark davon abweichen. Das Stratum corneum unterliegt wie die Epidermis einer ständigen Erneuerung. Innerhalb von etwa 14 Tagen werden die Zellen durch neue ersetzt (Halprin, 1972; Iizuka, 1994). Für die gesamte Epidermis werden, je nach Bestimmungsmethode, verschiedene Zeitspannen zwischen 14 und 75 Tagen für die Erneuerung veranschlagt (Hoath und Leahy, 2003).

Der Aufbau des Stratum corneum wird durch das Ziegelstein-Mörtel-Modell (Elias, 1983) beschrieben (Abbildung 2.1). Dabei bilden die abgestorbenen Kerneozyten die Ziegel, welche durch Lipide, den Mörtel, zusammengehalten werden. Es entsteht eine sehr geordnete Struktur. Die Lipidfraktion besteht vor allem aus Ceramiden, Fettsäuren und Cholesterol. Phospholipide kommen nur in sehr geringen Mengen vor (Lampe et al., 1983; Wertz und van den Bergh, 1998). Dadurch unterscheidet sich das Stratum corneum von den üblichen Biomembranen im menschlichen Körper. Zusätzliche mechanische Stabilität wird durch Corneodesmosomen (Epstein et al., 1981) sowie hakenähnliche Strukturen (Pfeiffer et al., 2000; Wilhelm, 2007) erreicht. Die Epidermis besteht zum allergrößten Teil aus Keratinozyten (Haake et al., 2001), aber auch andere Zelltypen wie Merkel-Zellen, Langerhans-Zellen und Melanozyten sind vorhanden (Weller et al., 2015).

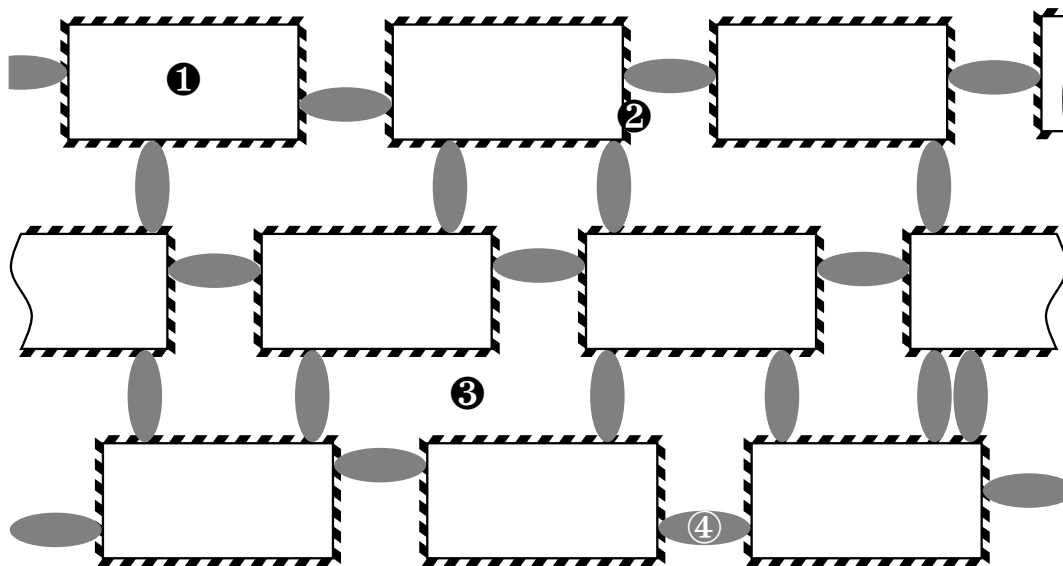


Abbildung 2.1: Ziegel-Mörtel-Modell des Stratum corneum vereinfacht nach Harding (2004). Kerneozyt ① mit verhornter Zellhülle und kovalent gebundenen Lipiden (sog. Cornified Envelope) ②, interzelluläre Lipide ③ und Corneodesmosomen ④.

Dermis

Auf die Epidermis folgt die Dermis, die auch Corium oder zu deutsch Lederhaut genannt wird. Sie gibt der Haut durch ihre hohe Reißfestigkeit Stabilität (Fritsch und T. Schwarz, 2018). Der am häufigsten vorkommende Zelltyp sind die Fibroblasten (Freinkel und Woodley, 2001). Desweiteren kommen Kollagenfasern und wasserbindende Makromoleküle wie Glykosaminglykane und Proteoglykane vor. Eine wichtige Aufgabe ist die Versorgung der Epidermis über Kapillaren. Drüsen sowie Haare und Nägel sitzen vor allem in der Dermis, auch wenn sie die Epidermis zur Oberfläche hin durchziehen. Zusammen mit der Epidermis bildet die Dermis die Kutis.

Subcutis

In der Subcutis sind größere Blutgefäße sowie Nervenfasern und Fettgewebe angesiedelt. Sie kann mehrere Millimeter dick werden. Bei normalgewichtigen Menschen sind etwa 50 bis 80 % des gesamten Fettgewebes in der Unterhaut angesiedelt (Abd et al., 2016; McGrath et al., 2010). Durch die gute Durchblutung sind die Fettreserven gut zugänglich und können schnell ab- bzw. aufgebaut werden. Die Subcutis isoliert den Körper und schützt vor zu großem Wärmeverlust. Außerdem spielt sie bei der Regulation des Wasserhaushalts eine Rolle.

2.2.2 Stofftransport durch die Haut

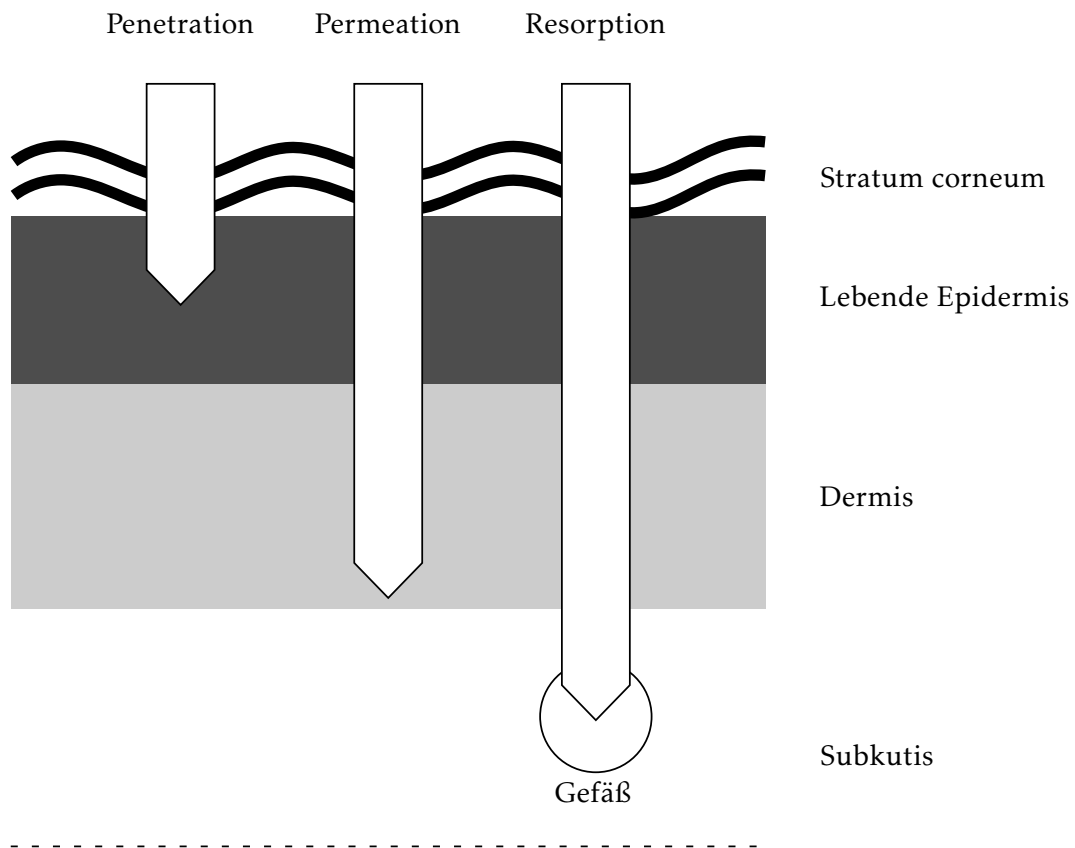


Abbildung 2.2: Schematischer Stofftransport durch die Haut nach Stüttgen und H. Schaefer (1974).

Wird ein Stoff auf die Haut aufgetragen oder gelangt auf andere Weise in Kontakt mit dieser, unterscheidet man anhand der Eindringtiefe verschiedene Szenarien (Abbildung 2.2). Dringt der Stoff in die Haut ein, spricht man von Penetration. Dabei gelangt der Stoff in der Regel in die Hornschicht und die lebende Epidermis, selten auch in tiefere Schichten. Jedoch wird der Stoff nicht über ein Blut- oder Lymphgefäß abtransportiert und somit systemisch nicht verfügbar. Unter Permeation versteht man das Durchdringen der Haut; gelangt der Stoff in den Blutkreislauf oder die Lymphe, wird von Resorption gesprochen (Stüttgen und H. Schaefer, 1974).

Entsprechend der Funktion von Stoffen oder Zubereitungen, die auf die Haut aufgetragen werden, ist ein mehr oder weniger tiefes Eindringen in die Haut gewünscht. Während Desinfektionsmittel oder Sonnenschutzprodukte auf der Haut wirken sollen und somit nach Möglichkeit nicht penetrieren, ist bei Wirkstoffen, die über transdermale therapeutische Systeme appliziert werden, genau das Gegenteil der Fall. Hier soll der Wirkstoff über die Hautbarriere systemisch verfügbar gemacht werden. Eine lokale Wirkung ist hier nicht erwünscht. Ein Vorteil transdermaler Resorp-

tion ist, dass der hepatische First-Pass-Effekt umgangen wird.

Die größte Barriere für das Eindringen in die Haut stellt in der Regel das verhornte Stratum corneum dar. Für Stoffe, die diese Hürde überwinden sollen, gibt es verschiedene Möglichkeiten. Unterschieden wird die Aufnahme über die in der Haut vorhandenen Drüsen und Haare, man spricht vom transglandulären (Schweißdrüsen) oder transfollikulären (Haarfollikel) Weg, sowie die Möglichkeit der transepidermalen Stoffaufnahme (Abbildung 2.3).

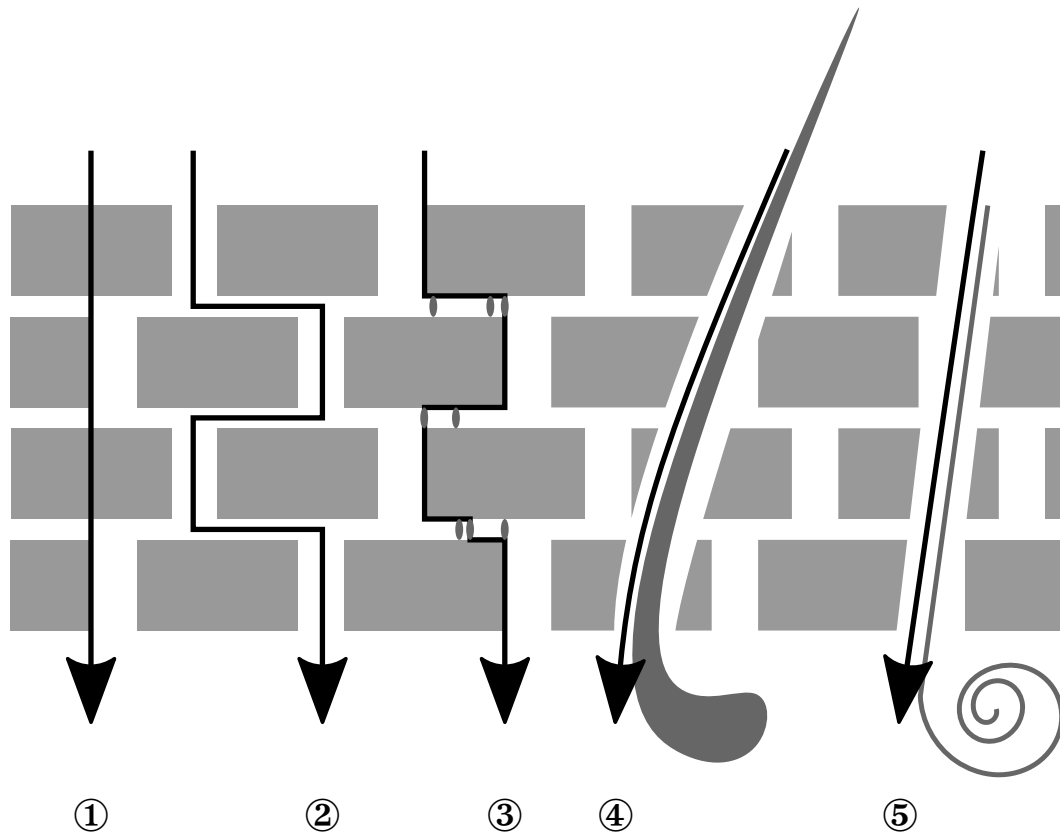


Abbildung 2.3: Penetrationswege in die Haut. Transzellulär ①, interzellulär ②, corneodesmosomal ③, transfollikulär ④ und transglandulär ⑤ (Anmerkung: der Conified Envelope ist der Übersicht wegen nicht abgebildet.)

Hierbei kann genauer in transzellulär und interzellulär differenziert werden. Der transzelluläre Weg stellt zwar die kürzeste Strecke dar, führt jedoch durch hydrophile und lipophile Schichten. Daher erscheint dieser Weg eher unwahrscheinlich. Die interzelluläre Route führt durch die Lipidmatrix des Stratum corneum und wird daher auch als lipophile oder apolare Route bezeichnet. Außerdem ist ein Stofftransport entlang der sehr dünnen Wasserschicht zwischen den hydrophilen Kopfgruppen der Lipide möglich (Trommer und Neubert, 2006). Des Weiteren können Stoffe entlang der Corneodesmosomen in die Haut gelangen (Hadgraft, 2001; Neubert und Wepf, 2007). Dieser Weg wird auch als hydrophile Route bezeichnet und stellt vor allem für polare Stoffe eine

Möglichkeit der Penetration dar.

Haare und Schweißdrüsen spielen flächenmäßig eine untergeordnete Rolle, dennoch scheinen sie eine beachtliche Rolle bei der Stoffaufnahme zu spielen (Blume-Peytavi et al., 2010; Lademann et al., 2008; H. Schaefer und Lademann, 2001). Neben der Dichte der Behaarung spielt auch die Größe und damit die Oberfläche der Haarfollikel eine wichtige Rolle beim Stofftransport durch die Haut (Otberg et al., 2004).

Aktive Mechanismen spielen bei der Aufnahme durch die Haut praktisch keine Rolle, sodass es ein rein passiv getriebener Vorgang ist. Der Stofftransport aus einem Arzneimittel in die Haut kann in mehrere Schritte untergliedert werden. Sofern der Stoff suspendiert vorliegt, muss sich dieser zunächst lösen. Die Geschwindigkeit lässt sich durch das Noyes-Whitney-Gesetz berechnen. Die gelösten Moleküle müssen anschließend durch die Formulierung diffundieren und treffen dann auf die äußerste Hautschicht. Die Diffusion durch das Stratum corneum ist in der Regel der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Penetration.

Mathematisch lässt sich das Eindringen in die Haut vereinfacht mit dem 1. Fickschen Diffusionsgesetz beschreiben (Gleichung 2.1) (Scheuplein und Blank, 1971).

$$J_s = \frac{D}{h} \cdot (c_v - c_a)$$

mit J_s = Flux im Steady State

D = Diffusionskoeffizient (2.1)

c_v = Konzentration im Vehikel

c_a = Konzentration im Akzeptor

h = Diffusionsstrecke

Diese Betrachtungsweise setzt voraus, dass eine einheitliche Barriere vorliegt. Die Diffusion vom Vehikel in die Membran wird hier nicht berücksichtigt. Soll die Diffusion vom Vehikel in die Membran bei der Berechnung des Fluxes berücksichtigt werden, muss der Verteilungskoeffizient zwischen Vehikel und Membran K_m in die Gleichung eingeführt werden. Gleichung 2.1 ändert

sich entsprechend zu Gleichung 2.2.

$$J_s = \frac{D \cdot K_m}{h} \cdot (c_v - c_a)$$

mit J_s = Flux im Steady State

K_m = Verteilungskoeffizient Vehikel:Membran (2.2)

D = Diffusionskoeffizient

c_v = Konzentration im Vehikel

c_a = Konzentration im Akzeptor

h = Diffusionsstrecke

Die Parameter Verteilungskoeffizient, Diffusionskoeffizient und Schichtdicke sind abhängig vom betrachteten System konstant und lassen sich zum Permeabilitätskoeffizient k_p zusammenfassen. Da vergleichsweise wenig Wirkstoff in die Haut penetriert, kann die Konzentrationsabnahme im Vehikel vernachlässigt werden. Unter physiologischen Bedingungen kommt es durch den Abtransport mittels Blut und Lymphe zu keinem merklichen Konzentrationsanstieg im Akzeptor. In Laborexperimenten muss dies durch ein geeignetes Medium, mit ausreichend hoher Löslichkeit für den Wirkstoff, gewährleistet werden. Entsprechend vereinfacht sich Gleichung 2.2 folgendermaßen:

$$J_s = k_p \cdot c_v$$

mit J_s = Flux im Steady State (2.3)

k_p = Permeabilitätskoeffizient

c_v = Konzentration im Vehikel

Zu beachten ist, dass sich ein gleichmäßiger Flux oft erst nach einer gewissen Zeit einstellt. Das vorgestellte Modell zeigt, dass auch die Konzentration im Vehikel direkten Einfluss auf die Penetrationsgeschwindigkeit hat. Außerdem entscheidet die Formulierung über den Verteilungskoeffizienten zwischen Stratum corneum und Vehikel. Somit nimmt auch das Vehikel eine entscheidende Rolle ein.

2.2.3 Hautmodelle

Um möglichst realistische Ergebnisse bei biopharmazeutischen Untersuchungen dermalen Zubereitungen zu erhalten, sollte humane Haut verwendet werden. Da diese jedoch post mortem oder durch Exzidieren vor allem bei kosmetischen Eingriffen gewonnen wird, ist deren Verfügbarkeit nicht immer gewährleistet. Es wurde daher versucht, andere Materialien finden, deren Eigenschaften vergleichbar und die vor allem bioäquivalent zur Humanhaut sind. Neben Tierhäuten können auch synthetische Membranen, die in Aufbau und Zusammensetzung der menschlichen Haut nachempfunden sind zum Einsatz kommen (z.B. Strat-M, Merck KGaA, DE-Darmstadt) (Haq et al., 2018). Letztere haben den Vorteil, dass dadurch inter- und intraindividuelle Schwankungen ausgeschlossen werden können. Ergebnisse, die mit einfachen synthetischen Membranen erhalten werden, sind dagegen nicht geeignet um Rückschlüsse auf Humanhaut zu ziehen (Abd et al., 2016).

Die heute am meisten verwendeten tierischen Hautmodelle stammen von Nagern und Schweinen. Primaten sind aufgrund der strengen Auflagen für den Einsatz dieser Tiere zu Versuchszwecken von untergeordneter Bedeutung. Dabei ist zu beachten, dass die Zusammensetzung, aber auch Behaarung und Dicke, mit der Haut des Menschen möglichst gut übereinstimmen. Nagetieren zeigen eine sehr dichte Behaarung, die mit der menschlichen Haut nicht verglichen werden kann. Auch wenn es mittlerweile haarlose Züchtungen gibt, werden in der Regel höhere Permeationsraten als bei der Verwendung von Humanhaut erhalten. Die Haut von Ratten ist der des Menschen relativ ähnlich und kann als bevorzugtes NagermodeLL angesehen werden (Godin und Touitou, 2007). Gray und Yardley (1975) zeigten, dass die Zusammensetzung der Lipide in der Epidermis humaner Haut mit der von Schweinehaut vergleichbar ist. In verschiedenen Untersuchungen wurde auch gezeigt, dass Schweinehaut ein geeigneter Ersatz für menschliche Haut in Ex-vivo-Experimenten ist. Gleichzeitig wurde auch die Überlegenheit gegenüber Haut von Nagern (Ratten) gezeigt (Barbero und Frasch, 2009; Gray und Yardley, 1975; Jacobi et al., 2007; Jung und Maibach, 2015; Schmook et al., 2001).

Da in der vorliegenden Arbeit neben dem Penetrations- und Permeationsverhalten auch die Oberflächenstruktur eine wichtige Rolle spielt, scheiden künstliche Membranen aus. Aufgrund der guten Verfügbarkeit und der Vergleichbarkeit mit Humanhaut wird in der vorliegenden Arbeit mit postaurikulärer Schweinehaut gearbeitet. Die Tiere stammen der deutschen Landrasse ab.

2.2.4 Permeations- und Penetrationsmodelle

Um im Labor schnell und zuverlässig Aussagen über das Penetrations- und Permeationsverhalten dermalen Zubereitungen treffen zu können, wurde eine Reihe von Modellen entwickelt. Grundsätzlich bestehen alle aus einem Akzeptorkompartiment, einer Membran und einem Donorkompartiment (OECD, 2004). Genannt seien hier die Franz-Diffusionszelle (Franz, 1975), wie sie in Abbildung 2.4 dargestellt ist, sowie davon abgeleitete automatisierte Systeme wie das Vision Microette (Teledyne Hanson Research, US-Chatsworth).

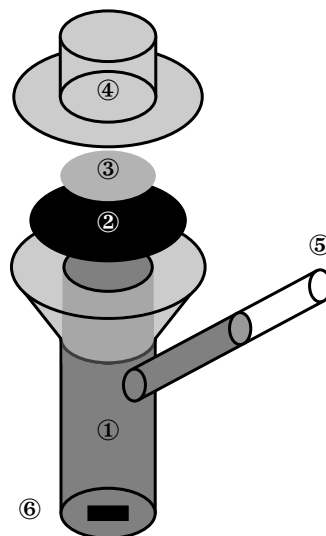


Abbildung 2.4: Schematischer Aufbau einer Franzzelle, wie sie in dieser Arbeit verwendet wird. Bestehend aus einem Akzeptorkompartiment ①, Membran ②, aufgetragener Formulierung ③, nach oben offenes Oberteil ④ und Probenzugarm ⑤. Zur Durchmischung des Mediums wird ein Rührfisch ⑥ eingelegt. Aufbau modifiziert nach Franz (1975). Nicht abgebildet ist ein Wasserbad oder Doppelmantel zur Temperierung

Von der Europäischen Arzneimittel-Agentur wird die Franzzelle als häufigste Apparatur zur Bestimmung der Penetration *in vitro* genannt (EMA, 2014). Das Saarbrücken-Penetrations-Modell nach U. Schaefer und Loth (1996) bietet ebenfalls die Möglichkeit die Penetration in die Haut zu untersuchen. Dabei wird auf ein Akzeptorkompartiment verzichtet und die Haut wird auf einem feuchten Filterpapier in einem Teflonblock inkubiert. Eine weitere Möglichkeit zur Bestimmung des Permeationsverhaltens flüssiger oder halbfester Zubereitungen ist das Skin-PAMPA-Modell (Sinkó et al., 2012). Hierbei wird mit sogenannten 96-Well-Platten gearbeitet. Das damit verbundene geringe Volumen im Akzeptorkompartiment bringt Vorteile, aber auch Einschränkungen mit sich. Die Konzentration des Analyten im Akzeptormedium steigt schnell an, was aber auch eine entsprechend hohe Löslichkeit voraussetzt. Beim Skin-PAMPA-Modell kommt keine natür-

lich Haut als Barriere zum Einsatz. Somit sind die Ergebnisse nur schwer auf den Menschen zu übertragen.

Bei Penetrationsversuchen wird das Eindringen des Arzneistoffs in die Haut untersucht. Entsprechend muss für jeden Zeitpunkt, zu dem eine Aussage über die penetrierte Menge getroffen werden soll, ein Hautstück aufbereitet und die darin enthaltene Arzneistoffmenge quantifiziert werden. Es gibt zwar Methoden zur zerstörungsfreien Bestimmung des Penetrationsprofils mittels konfokaler Raman Mikrospektroskopie (Lunter, 2017; Lunter und Daniels, 2014), jedoch ist es auch hier nötig, die Hautstanze aus der Apparatur zu entnehmen. Ein späteres Wiedereinlegen in die Franzzelle und Fortführen des Versuchs ist nicht möglich.

Da bei Permeationsexperimenten in der Regel ein Konzentrations-Zeit-Profil des Arzneistoffs im Akzeptormedium erstellt wird, ist es nötig, dass das dieses zur Quantifizierung des Analyten zugänglich ist. Bei der Franzzelle ermöglicht der Probenzugarm die Entnahme der Proben und auch das Wiederauffüllen.

Der Vollständigkeit halber seien noch die Enhancer-Zelle (Rege et al., 1998) sowie die Durchflusszelle (Chattaraj und Kanfer, 1995) erwähnt. Diese Apparaturen dienen in der Regel zur Bestimmung des Freisetzungsverhaltens halbfester Systeme, nicht aber für Permeations- oder Penetrationsuntersuchungen.

Mit Ausnahme der Durchflusszelle handelt es sich bei den anderen vorgestellten Apparaturen um geschlossene Systeme. Da es sich bei den verwendeten Akzeptormedien in den meisten Fällen um wässrige Flüssigkeiten handelt (Bartosova und Bajgar, 2012), kann es bei schlecht löslichen Stoffen nötig sein, durch Zusätze die Löslichkeit zu verbessern. Ziel ist dabei, dass über den gesamten Betrachtungszeitraum unter Sink-Bedingungen gearbeitet wird. Dabei darf die im Akzeptormedium vorhandene Konzentration maximal 10 bis 20 % der Sättigungskonzentration betragen (Bartosova und Bajgar, 2012; Posti und Speiser, 1980). Nur so kann ausgeschlossen werden, dass die bereits im Akzeptorkompartiment vorhandene Arzneistoffmenge einen Einfluss auf die Permeationsgeschwindigkeit hat. Der Analyt muss außerdem eine ausreichende Stabilität in der Akzeptorflüssigkeit aufweisen. Wird ein Teil des Mediums zur Gehaltsbestimmung entnommen, muss es entweder durch frisches Medium ersetzt werden oder das verringerte Volumen muss bei der Konzentrationsberechnung der folgenden Probenzeitpunkte entsprechend berücksichtigt werden. Zu beachten ist jedoch, dass die Flüssigkeit im Akzeptorkompartiment immer mit der Haut in Kontakt ist. Somit ist das Ersetzen von entnommener Probenflüssigkeit durch frisches Medium zum Teil obligatorisch.

2.2.5 Modifikation der Hautpenetration

Wie im Abschnitt 2.2.1 beschrieben ist, stellt die Haut eine Barriere für eindringende Stoffe dar. Wird die Haut geschädigt, ist die Barrierefunktion gestört und entsprechend leichter können Fremdstoffe eindringen. So haben bereits Klebebandabrisse, also eine mechanische Schwächung der Haut, einen messbaren Einfluss auf die Hautbarriere (Stüttgen, 1990). Beim Einsatz von sogenannten „Microneedles“ kann man gezielt kleine Verletzungen herbeiführen und dadurch die Verfügbarkeit von Arzneistoffen verbessern (Gill und Prausnitz, 2007; Sivamani et al., 2007). Vor allem für sehr große Moleküle wie Peptide ist diese Art der dermalen Applikation interessant (Martanto et al., 2004). Auch pathophysiologische Vorgänge wie Verbrennungen, Ekzeme oder andere Veränderungen haben Einfluss auf die Barriereigenschaften der Haut (Behl et al., 1981; Janssens et al., 2012; Proksch et al., 2006).

Um Arzneimittel in therapeutischen Mengen verfügbar zu machen, kann es nötig sein, die Barriere zu beeinflussen und die Penetration dadurch zu erleichtern. Eine Möglichkeit besteht darin, die Haut okklusiven Bedingungen auszusetzen. Bei der Okklusion werden verschiedene Eigenschaften modifiziert. Es kommt zu einer verstärkten Hydratation des Stratum corneum und einer veränderten Struktur der Hautlipide. Außerdem werden Hautoberflächentemperatur und Blutfluss beeinflusst (Zhai und Maibach, 2001). In Summe wird in der Regel das Eindringen von Fremdstoffen erleichtert (Bronaugh et al., 1985; Feldmann und Maibach, 1965; Hotchkiss et al., 1992). Dennoch führen okklusive Bedingungen nicht zwangsläufig zu einem Anstieg der Stoffaufnahme in die Haut (Bucks et al., 1988; Treffel et al., 1992).

Wie bereits weiter oben modellhaft erläutert wurde kann auch durch die richtige Auswahl des Vehikels die Pharmakokinetik beeinflusst werden. Diese Annahme wird von verschiedenen Autoren experimentell bestätigt (Daniels, 2015; Gomes et al., 2004; Otto et al., 2009).

Eine Reihe von Hilfsstoffen sind auf ihren Einfluss auf die Penetration untersucht worden. Zu den weit verbreiteten Penetrationsbeschleunigern zählen DMSO (Barry, 1987; Özgüney et al., 2006), Glycerol, Ethanol und Propylenglycol (Barry, 1987; Lane, 2013; Williams und Barry, 1989; Williams und Barry, 2012). Auch Fettsäureester wie Isopropylmyristat sind als Penetrationsbeschleuniger beschrieben (Lane, 2013).

Auch die thermodynamische Aktivität des Arzneistoffs im Vehikel beeinflusst die Geschwindigkeit der Penetration. Dies kann ausgenutzt werden, indem z.B. flüchtige Stoffe in der Formulierung verwendet werden. Dadurch kann eine Übersättigung im Vehikel erreicht werden. Solange

der Arzneistoff nicht ausfällt und eine stabile Übersättigung vorliegt, ist eine verbesserte Aufnahme in die Haut die Folge (Megrab et al., 1995; Moser et al., 2001; Pellett et al., 1997). Der Vorteil dabei ist, dass die Barriereigenschaften der Haut nicht beeinflusst werden.

2.3 Capsaicinoide in der Arzneimitteltherapie

Die Schärfe der Capsaicinoide wurde bereits gegen Ende des 19. Jahrhunderts wissenschaftlich untersucht (Thresh, 1876). Sie sind Inhaltsstoffe der Früchte der Pflanzengattung *Capiscum* und kommen je nach Art in unterschiedlichen Konzentrationen vor. Capsaicinoide sind Alkaloide und Produkte des sekundären Pflanzenstoffwechsels. Gebildet werden die Capsaicinoide in der Pflanze in der Plazenta der Früchte und reichern sich auch dort an (Ota, 1962; Suzuki, Fujiwake et al., 1980). Mengemäßig spielen vor allem Capsaicin und Dihydrocapsaicin eine Rolle. Zusammen machen sie über 90 % der enthaltenen Capsaicinoide aus (Bennett und Kirby, 1968). Homocapsaicin, Homodihydrocapsaicin sowie Norcapsaicin und Nordihydrocapsaicin sind weitere natürlich vorkommende Capsaicinoide (X.-F. Huang et al., 2013). Strukturell unterscheiden sich die Capsaicinoide nur minimal (s. Abbildung 2.5).

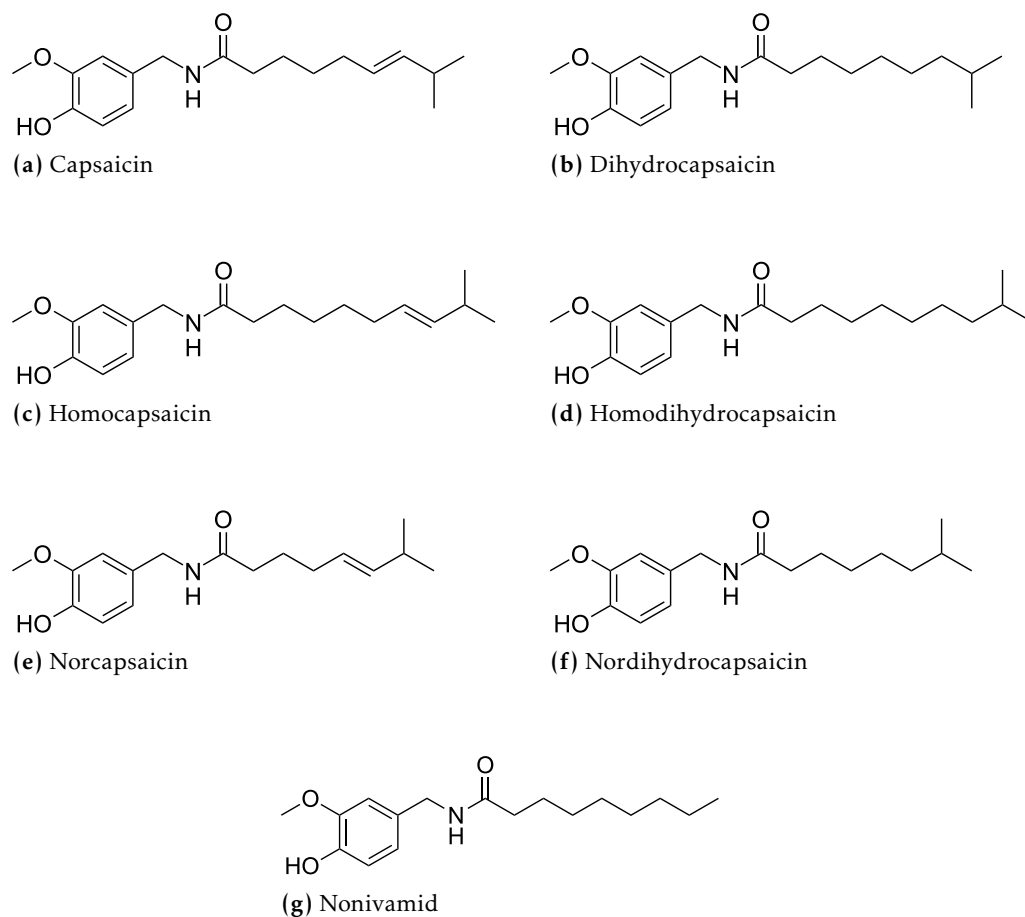


Abbildung 2.5: Strukturformeln verschiedener natürlich vorkommender Capsaicinoide und des synthetischen Nonivamids

Die Biosynthese verläuft dabei über zwei Wege, da die Fettsäure und der Vanillylamin-Rest in der Pflanze zunächst getrennt synthetisiert werden. Ausgehend von Phenylalanin wird über den

Phenylpropanoidweg das Vanillylamin gebildet. Dies zeigten Bennett und Kirby (1968) sowie Leete und Loudon (1968) und Rangoonwala (1969). Später konnte dann auch in intakten Zellen die Biosynthese in vitro simuliert werden und ein Syntheschema erstellt werden, das den Weg des Phenylalanins über verschiedene Zwischenstufen zum Vanillylamin aufzeigt (Fujiwake et al., 1982). Der Acyl-Rest, der zusammen mit dem Vanillylamin Capsaicin bildet, wird ausgehend von den Aminosäuren Leucin oder Valin gebildet (Suzuki, Kawada Teruo et al., 1981). Der letzte Schritt der Biosynthese ist die Verknüpfung der beiden Bausteine Acyl-Rest und Vanillylamin durch die Capsaicin-Synthase (Prasad et al., 2006). Eine Übersicht der Biosynthese mit den beteiligten Enzymen geben Stewart et al. (2007).

Für den Einsatz in Arzneimitteln hat sich außerdem das synthetische Derivat Nonivamid bewährt. Dieses kann in Reinform durch die Veresterung von Nonansäure mit Vanillylamin hergestellt werden. Strukturell unterscheidet es sich von Capsaicin durch den um eine Methylgruppe kürzeren Fettsäurerest und in der fehlenden Doppelbindung (s. Abbildung 2.5).

2.3.1 Pharmakologie der Capsaicinoide

Das Target, das Capsaicin und dessen Derivate adressieren, ist der TRPV-1 Rezeptor. Ein nicht-selektiver Ionenkanal (Caterina et al., 1997). Er wird in nicht myelinisierten C-Fasern sowie in A δ -Fasern exprimiert. Auch in der menschlichen Epidermis ist der Kanal zu finden (Ständer, Moormann et al., 2004). Physiologische Reize, die den Kanal öffnen, sind Hitze oder ein Anstieg der Protonenkonzentration bei niedrigem pH-Wert (Julius und Basbaum, 2001). Kommt es zur Aktivierung strömen vor allem Calciumionen und Natriumionen vom Extrazellularraum ins Cytoplasma (Bevan und Szolcsányi, 1990; Chung et al., 2008). Als Folge davon kommt es zur Depolarisation und Reizweiterleitung.

Capsaicinoide sind als Agonisten ebenfalls in der Lage, den TRPV-1 Kanal zu öffnen, und, wie oben beschrieben, kommt es zur Aktivierung des afferenten nozizeptiven Systems. Da der TRPV-1 Kanal auch intrazellulär exprimiert wird, kann durch Capsaicin auch Calcium aus dem Endoplasmatischen Reticulum freigesetzt werden (Gallego-Sandín et al., 2009). Auch eine calciumabhängige Freisetzung von Calcium aus zellulären Speichern ist beschrieben (W. Huang et al., 2008). Die hohen Calciumlevel führen zur Aktivierung verschiedener Enzyme, was zu gestörten Zellabläufen führt (Chard et al., 1995; Goswami et al., 2007; Han et al., 2007). Des Weiteren kommt es durch den Natriumeinstrom auch zu einem passiv getriebenen Anstieg der Chloridionen-Konzentration in der Zelle und sie wird gegenüber der extrazellulären Flüssigkeit hyperton. Dies führt zu einem

Einstrom von Wasser ins Zellinnere und zum Platzen der Zelle (Bevan und Szolcsányi, 1990). Es ist außerdem beschrieben, dass Capsaicin an den Mitochondrien angreift (Dedov et al., 2001) und die Zellatmung beeinflusst, was schließlich zum Zelltod führt (Athanasίου et al., 2007).

Bei der Therapie mit Capsaicinoiden tritt daher zunächst ein warmes, brennendes oder sogar schmerzhaftes Gefühl auf. Bei anhaltender Stimulation kann man zwei Effekte beobachten. Die selektive Wirkung auf C- und A δ -Fasern führt in Form eines Absinkens der Neuropeptidspiegel zu einer Desensitivierung der Nervenzellen. Außerdem kann eine unspezifische toxische Wirkung auf Neurone festgestellt werden.

2.3.2 Capsaicinoide als Arzneistoffe

In Deutschland sind mehrere capsaicinoidhaltige Fertigarzneimittel zugelassen. Im November 2019 sind in Deutschland 17 Humanarzneimittel mit Capsaicin, Cayennepfeffer-Extrakt oder dem synthetischen Nonivamid als Wirkstoff zugelassen. Dabei sind ausschließlich topische Darreichungsformen wie Cremes, Salben, Gele und Pflaster, verfügbar (DIMDI, 2019). Das NRF listet mit der „Hydrophile(n) Capsaicinoid-Creme“ eine Individualrezeptur mit Capsaicin auf (ABDA, 2013b). Die Arzneimittel werden in der Behandlung als topisches Analgetikum bei Myalgien, Gelenkschmerzen oder zur Durchblutungsförderung angewendet. Weitere Einsatzgebiete sind neuropathische Schmerzen (Bernstein et al., 1989; Jorge et al., 2011) oder als Off-Label-Use bei chronischem Pruritus (Pereira und Ständer, 2017), der oftmals als Begleiterscheinung bei verschiedenen Hautkrankheiten auftritt (Ständer, Schäfer et al., 2010).

Die pharmakologischen Eigenschaften erfordern bei konventionellen halbfesten Darreichungsformen ein mehrmals tägliches Auftragen. Zum Teil kann es nötig sein, das Arzneimittel bis zu fünfmal täglich aufzutragen (Ständer, Darsow et al., 2012). Die häufige Anwendung ist für den Patienten unkomfortabel und schlägt sich oft in mangelhafter Therapietreue nieder.

Die eingesetzte Konzentration ist in einem relativ großen Bereich variabel, was eine individualisierte Therapie ermöglicht. Eingesetzt werden in der Regel zu Beginn der Therapie Zubereitungen mit Capsaicinmengen ab 0,025 % und diese werden dann auf 0,1 % gesteigert (ABDA, 2013b). Die zugelassenen Fertigarzneimittel besitzen meistens eine Konzentration von 0,05 %, berechnet als Capsaicin. Mit Finalgon 4 mg/g + 25 mg/g (Sanofi-Aventis Deutschland GmbH) ist auch eine Zubereitung mit 0,4 % Nonivamid verfügbar. Zusätzlich enthält die Creme noch den Wirkstoff Nicoboxil mit einer Konzentration von 2,5 %. Für die Anwendung durch Ärzte und medizinisches Personal sind auch Pflaster mit höheren Konzentrationen verfügbar. Diese verbleiben 30 bis

60 min am Applikationsort. Dabei wird der enthaltene Wirkstoff verhältnismäßig schnell ins Stratum corneum transportiert. Von dort wird er über mehrere Wochen in tiefer liegende Hautschichten abgegeben. Um eventuell auftretende Schmerzen während der Behandlung zu lindern, kann eine zusätzliche lokale Analgesie z.B. mit Lidocain vorgenommen werden (Grünenthal GmbH, 2017). Um längere Applikationsintervalle zu erreichen, wurden Formulierungen entwickelt, die den Wirkstoff über einen längeren Zeitraum gleichmäßig an die Haut abgeben (Heck, Hermann et al., 2016; Lunter, Rottke et al., 2014).

2.4 Emulsionen

2.4.1 Begriffserklärung und allgemeine Grundlagen

Emulsionen bestehen aus zwei nicht miteinander mischbaren Flüssigkeiten. Die IUPAC gibt folgende Definition: „In einer Emulsion liegen Tropfen einer Flüssigkeit und/oder Flüssigkristalle in einer weiteren Flüssigkeit fein verteilt vor“ (IUPAC, 1972). In aller Regel handelt es sich dabei um Wasser sowie eine hydrophobe Flüssigkeit. Bildet Wasser die kontinuierliche Phase spricht man von einer Öl-in-Wasser-Emulsion. Umgekehrt, ist das Wasser in einer hydrophoben Flüssigkeit dispergiert, handelt es sich um eine Wasser-in-Öl-Emulsion. Es sind auch multiple Emulsionen möglich. Dabei ist eine Emulsion erneut in einer weiteren Flüssigkeit dispergiert. Auch hier sind zwei Arten möglich. Öl-in-Wasser-in-Öl-Emulsionen oder Wasser-in-Öl-in-Wasser-Emulsionen. Wasserfreie Systeme sind ebenfalls möglich. Diese Zubereitungen werden entsprechend als Öl-in-Öl-Emulsionen bezeichnet. Liegt die Tropfengröße von Emulsionen im Bereich von 20 und 200 nm spricht man von Nanoemulsionen (Tadros et al., 2004). Diese Emulsionen weisen eine sehr gute Aufrahm- bzw. Sedimentationsstabilität auf. Daneben erhöhen Nanoemulsionen die Bioverfügbarkeit von Wirkstoffen (Nastiti et al., 2017).

Von den klassischen (Makro-)Emulsionen abzutrennen sind Mikroemulsionen. Diese optisch transparent erscheinenden Systeme sind in ihrer qualitativen Zusammensetzung mit klassischen Emulsionen vergleichbar. Sie sind jedoch thermodynamisch stabil und benötigen einen deutlich geringeren Energieaufwand bei der Herstellung. Für bestimmte Stoffe lässt sich auch eine verbesserte chemische Stabilität nachweisen, wenn sie als Mikroemulsionen formuliert werden (Rozman und Gasperlin, 2007).

2.4.2 Stabilität von Emulsionen

Emulsionen sind als disperse Systeme thermodynamisch instabil. Somit ist es keine Frage ob sich die Phasen trennen, sondern nur wann. Daher muss bei Emulsionen für den pharmazeutischen Gebrauch, neben der chemischen und mikrobiologischen, auch besonderes Augenmerk auf die physikalische Stabilität gelegt werden. Die Anforderungen, die dabei an Emulsionen gestellt werden, variieren. Dabei muss berücksichtigt werden, ob es sich nur um ein Zwischenprodukt handelt, das nur eine gewisse Standzeit zwischen zwei Prozessschritten stabil sein muss, oder um ein Fertigarzneimittel. Hier entscheidet auch die physikalische Stabilität über die Haltbarkeit des Produktes. In Abbildung 2.6 ist der Ablauf der sukzessiven Phasentrennung einer Emulsion schema-

tisch dargestellt. Je nachdem, welche Art von Emulsion vorliegt, kann es zur Sedimentation oder zum Aufrahmen der inneren Phase kommen. Dies hängt davon ab, ob die dispergierte Flüssigkeit eine höhere oder niedrigere Dichte als das Dispersionsmedium besitzt. Dabei setzen sich die Tropfen unten oder oben ab. Entsprechend kommt es zu einer lokalen Konzentrationserhöhung der dispersen Phase und einer Verarmung im restlichen Dispersionsmedium. Lagern sich einzelne Tropfen traubenförmig zu größeren Agglomeraten zusammen, spricht man von Flockung. Dabei behalten die einzelnen Tropfen ihre Gestalt. Dieser Vorgang ist ebenso wie Sedimentation oder Aufrahmung durch Schütteln der Emulsion wieder reversibel. Die beschriebenen Instabilitäten verändern lediglich die Verteilung der Tropfen, aber nicht die Anzahl.

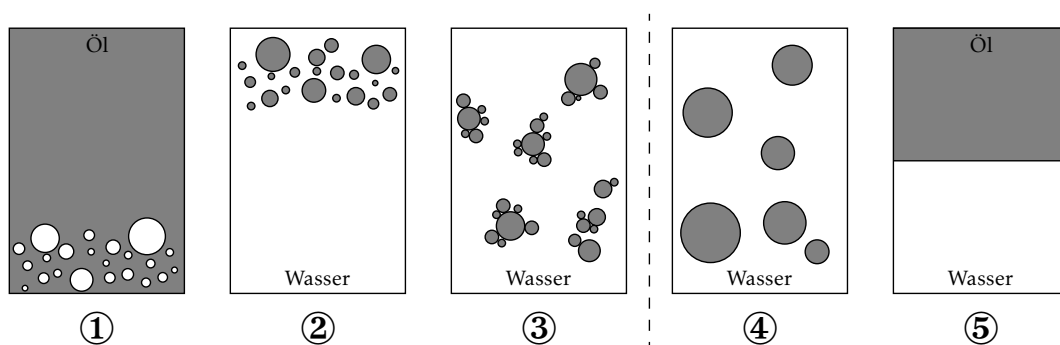


Abbildung 2.6: Physikalische Instabilitäten von Emulsionen nach Kutz et al. (2011). Sedimentation ①, Aufrahmung ②, Flockung oder Aggregation ③, Koaleszenz ④ und vollständiges Brechen ⑤. Die Linie trennt reversible von irreversiblen Vorgängen.

Sedimentation und Aufrahmung lassen sich näherungsweise mit dem Stoke'schen Gesetz (Gleichung 2.4) beschreiben. Aus der Formel lassen sich verschiedene Einflussfaktoren auf die Sedimentationsgeschwindigkeit ablesen. Streng genommen, darf es jedoch nur angewendet werden, wenn die Prozesse im laminaren Strömungsbereich stattfinden, da sich die Partikel sonst gegenseitig behindern (Martin et al., 1987).

$$v = \frac{2 \cdot r^2 \cdot \Delta\rho \cdot g}{9 \cdot \eta}$$

mit v = Geschwindigkeit

r = Tropfenradius

(2.4)

$\Delta\rho$ = Dichtedifferenz

g = Erdbeschleunigung

η = dynamische Viskosität des Dispersionsmediums

Um eine möglichst geringe Sedimentationsgeschwindigkeit zu erreichen, muss der Zähler im Verhältnis zum Nenner klein sein. Somit ergeben sich mehrere potentielle Stellschrauben. Ein kleiner Tropfenradius wirkt sich positiv auf die Aufrahmtendenz aus (Chanamai und McClements, 2000). Da diese Größe im Quadrat in die Formel einfließt, ist der Effekt besonders stark ausgeprägt. Emulsionen mit sehr kleinen Tröpfchen (20 bis 200 μm) werden als Nanoemulsionen bezeichnet und sind aufrahmstabil (Shah et al., 2010; Silva et al., 2015; Tadros, 2016). Auf der anderen Seite steigt durch die Tropfenverkleinerung auch der Dispersitätsgrad und damit die Grenzflächenenergie. Somit wird das System thermodynamisch instabiler. Ebenso kann durch eine geringe Dichtedifferenz die Sedimentation verlangsamt werden. Theoretisch kann bei Verwendung von zwei Phasen mit gleicher Dichte die Geschwindigkeit sogar auf null gesenkt werden. In der Praxis ist durch die Temperaturabhängigkeit der Dichte und die unterschiedlichen Wärmeausdehnungskoeffizienten eine exakte Dichteangleichung nur bei exakt einer Temperatur zu realisieren und damit nahezu unmöglich. Außerdem kann durch eine Viskositätserhöhung die Sedimentation beeinflusst werden. Nimmt die Viskosität sehr hohe Werte an, kann auch dadurch eine Sedimentation bzw. Aufrahmung vollständig unterbunden werden. In der Regel setzt die gewünschte Applikationsweise hier jedoch Grenzen. Gängige Hilfsstoffe zur Viskositätserhöhung sind Makromoleküle wie Xanthan oder Cellulosederivate (Luyten et al., 1993; Pal, 1995; Sun et al., 2007).

Abgrenzen davon muss man die irreversiblen Instabilitäten. Durch die beschriebenen reversiblen Vorgänge kommen sich die einzelnen Tropfen sehr nahe, was ein Zusammenfließen begünstigt. Fließen kleinere Tropfen zu größeren zusammen, spricht man von Koaleszenz. Getrieben ist dies durch die Verkleinerung der Grenzfläche und damit der Grenzflächenenergie. Zwischen der Grenzfläche und der Grenzflächenenergie besteht ein proportionaler Zusammenhang, wobei die Grenzflächenspannung der Proportionalitätsfaktor ist (s. Gleichung 2.5).

$$E = A \cdot \gamma$$

mit E = Grenzflächenenergie (2.5)

A = Grenzfläche

γ = Grenzflächenspannung

Durch die feine Verteilung der Tröpfchen im Dispersionsmedium liegt eine große Grenzfläche vor, was energetisch ungünstig ist. Entsprechend versucht das System, die Grenzfläche zu ver-

kleinern. Das Ende der Koaleszenz stellt das vollständige Brechen in zwei Phasen dar. Dieser Zustand weist die kleinste Grenzfläche auf und ist damit der energetisch günstigste Zustand. Um die Grenzflächenspannung und damit die Grenzflächenenergie abzusenken, werden Emulgatoren eingesetzt. Dabei handelt es sich um grenzflächenaktive Substanzen, die in geringer Menge die Bildung einer Emulsion erleichtern oder die Stabilität verbessern (IUPAC, 1972). Unterscheiden kann man Emulgatoren in klassische Emulgatoren, Polymere und Feststoffemulgatoren (Kutz et al., 2011). Klassische oder echte Emulgatoren sind Tenside. Diese Moleküle weisen in ihrer Struktur hydrophile und lipophile Bereiche auf. Sie besitzen damit eine gewisse Affinität zu beiden Phasen. Emulgatoren können außerdem nach ihrer Struktur in ionische, nicht-ionische und amphotere Emulgatoren unterschieden werden.

Neben den klassischen Emulgatoren werden auch Polymere eingesetzt, um die Grenzflächenspannung abzusenken. Zum Einsatz kommen dabei verschiedene Substanzen. Zum Beispiel Cellulose (Jia et al., 2015) und Cellulosederivate wie Ethylcellulose, Methylcellulose oder Hydroxypropylmethylcellulose (X. Huang et al., 2001; Melzer et al., 2003; Schulz und Daniels, 2000; Yonekura et al., 1998). Auch andere Polysaccharide wie modifizierte Stärke, Xanthan Gummi oder Gellan haben einen Einfluss auf die Grenzflächenspannung und können als Emulgatoren zur Stabilisierung eingesetzt werden (Chanamai und McClements, 2002; X. Huang et al., 2001). Daneben wird durch die in die kontinuierliche Phase hineinragenden Molekülteile eine Annäherung der Tropfen sterisch verhindert, was zusätzliche Stabilität mit sich bringt. In der Regel kommen bei dem Einsatz von Polymeren mehrere Effekte, wie Viskositätserhöhung, Grenzflächenaktivität und sterische Stabilisierung, zum Tragen.

Emulsionen, die mit Feststoffen stabilisiert werden, nennt man Pickering-Emulsionen. Namensgebend war Spencer Umfreville Pickering, der 1907 den Einfluss von Eisen- und Kupfersulfat auf die Stabilität von Emulsionen untersuchte (Pickering, 1907). Das Prinzip der Stabilisierung beruht dabei nicht auf einem Absenken der Oberflächenspannung sondern auf einer stabilen Barriere, die die Partikel um die dispergierte Phase ausbilden. Gleichzeitig stabilisieren die Partikel die Emulsion auch durch eine Viskositätserhöhung der kontinuierlichen Phase. Verantwortlich dafür ist, dass die Feststoffpartikel untereinander wechselwirken und sich eine netzwerkartige Struktur durch äußere Phase zieht (Kutz et al., 2011). Voraussetzung für Pickering-Emulsionen ist, dass die verwendeten Feststoffe von beiden Phasen benetzt werden, sich die Affinität zu den Phasen jedoch unterscheidet. Es gibt zahlreiche organische und anorganische Stoffe, die in der Lage sind, eine Pickering Emulsion zu bilden. Zum Beispiel können Calciumcarbonat oder mo-

difiziertes Titandioxid, aber auch Latexpartikel zur Stabilisierung eingesetzt werden (Binks und Lumsdon, 2001; Chevalier und Bolzinger, 2013; Nawaz et al., 2017). Daneben lassen sie sich auch danach einteilen, welche Phasenlage sie stabilisieren.

HLB-Konzept

Eine einfache Kennzahl zur Einteilung von Emulgatoren ist die „Hydrophilic-Lipophilic Balance“, kurz HLB-Wert. Gleichung 2.6 zeigt die Berechnung nach Griffin (1954).

$$HLB = 20 \cdot \left(1 - \frac{M_l}{M_g}\right)$$

mit HLB = Hydrophilic-Lipophilic Balance (2.6)

M_l = Molekülmasse lipophiler Molekülteil

M_g = gesamte Molekülmasse

Der HLB-Wert gibt Auskunft darüber, ob der hydrophile oder lipophile Molekülteil überwiegt. Er nimmt Werte zwischen 0 und 20 an. Substanzen mit sehr kleinen HLB-Werten werden in der Regel als Entschäumer eingesetzt. Beträgt der HLB-Wert 5 bis 8, handelt es sich um Emulgatoren, die W/O-Emulsionen stabilisieren. Mit einem Zahlenwert zwischen 8 bis 15 handelt es sich um O/W-Emulgatoren. Nimmt der HLB-Wert noch größere Zahlenwerte an, finden die Substanzen auch als Lösungsvermittler Anwendung. Die Definition nach Griffin ist für ionische Substanzen, wie zum Beispiel Natriumlaurylsulfat, nicht gültig. Die HLB-Werte solcher Stoffe müssen experimentell ermittelt werden und können Werte annehmen, die deutlich größer als 20 sind. Ein Vorteil des HLB-Wertes ist, dass es sich um eine additive Größe handelt und somit der HLB-Wert von Mischungen einfach aus den Einzelwerten und den Anteilen berechnet werden kann (Griffin, 1949). Gleichwohl weichen die so berechneten Werte oft von experimentellen Werten ab und sollten nur als Richtwerte angesehen werden (Pasquali et al., 2008).

2.4.3 Herstellung von Emulsionen

Die Herstellung von Emulsionen kann in verschiedene Grundoperatoren eingeteilt werden. Diese sind Mischen und Lösen, Dispergieren, Homogenisieren, Entlüften. Aufheiz- und Abkühlphasen sind ebenfalls wichtige Prozessschritte. Auch die Reihenfolge, in der die Inhaltsstoffe vereinigt werden, hat einen Einfluss auf das Endprodukt. Zum Beispiel kann der verwendete Emulgator in der späteren kontinuierlichen Phase zunächst gelöst werden. Im Anschluss wird dann die disperse Phase zugegeben und mechanisch eingearbeitet. Diese Vorgehensweise wird auch als „englische Methode“ oder „Lösungsmethode“ bezeichnet. Daneben gibt es auch die Möglichkeit, den Emulgator zunächst in der Flüssigkeit, die später die innere Phase bildet, zu dispergieren und dann die kontinuierliche Phase hinzuzugeben. Bei dieser Variante, der „kontinentalen“ oder „Suspensionsmethode“, kommt es zu einer Phasenumkehr. Die erzeugten Tropfen sind, verglichen mit der „Lösungsmethode“, kleiner. Werden beide Methoden zur „Aufschaukelmethode“ kombiniert, stellt man einen Emulsionskern mit dem Emulgator her, zu dem dann abwechselnd die kontinuierliche und disperse Phase zugegeben werden. Sehr feindisperse Emulsionen werden erreicht, wenn während der Herstellung die Phaseninversionstemperatur durchlaufen wird. Voraussetzung dafür sind hydrophile Emulgatoren, deren Eigenschaften stark temperaturabhängig ist. Wird die Emulsion erwärmt, sinkt die Hydratisierung des Emulgators ab und es kommt zum Wechsel der Phasenlage von O/W zu W/O. Beim Abkühlvorgang wird die Phaseninversionstemperatur erneut durchschritten und es kommt zum erneuten Wechsel der Phasenlage. Da die Grenzflächenspannung an der Phaseninversionstemperatur gegen null geht, lassen sich sehr kleine Tröpfchen erzeugen.

Entsprechend den Grundoperationen, kommen bei der Herstellung von Emulsionen Mischer und Homogenisatoren zum Einsatz. Mischwerkzeuge sollen Aggregate zerkleinern und die Stoffe möglichst gleichmäßig verteilen. Auch für eine gleichmäßige Temperierung sind Mischwerkzeuge nützlich. Um die innere Phase in möglichst gleichmäßig kleine Tröpfchen zu zerteilen, ist es nötig, die Grenzfläche aufzubrechen und zu vergrößern. Dazu kommen in der Regel hochtourige Homogenisatoren zum Einsatz. Diese können nach dem Rotor-Stator-Prinzip, Zahnkranzhomogenisatoren oder Kolloidmühlen, oder auch nach dem Rotor-Rotor-Prinzip aufgebaut sein. Durch die hohen Scherkräfte sowie Prall und Reibung kommt es zur mechanischen Zerkleinerung der dispersen Phase. Daneben gibt es noch Hochdruckhomogenisatoren, bei denen zusätzlich zur mechanischen Komponente auch Kavitation zur Dispergierung beiträgt. Eine weitere Möglichkeit,

Emulsionen zu homogenisieren, ist mittels Ultraschall. Auch hier werden die Tröpfchen mittels Kavitation zerkleinert. Je nach Geräteausführung ist eine Mindestansatzgröße nötig, dass die Homogenisierwerkzeuge arbeiten können. Für Kleinstansätze eignen sich vor allem Ultraschall und Homogenisatoren vom Rotor-Stator Typ. Eine weitere Herstellmethode für kleine Ansatzgrößen ist das Spritze-zu-Spritze-Verfahren. Dazu werden die Stoffe in einer Spritze vorgelegt und mit einer zweiten verbunden oder die Stoffe werden in zwei Spritzen vorgelegt anschließend verbunden. Durch mehrmaliges Überführen von einer Spritze zur anderen wird die Emulsion homogenisiert. Bei dieser Art der Herstellung kommt es durch starke Scherkräfte zur Zerkleinerung der Tröpfchen und dadurch zur Emulsionsbildung (Nastasa et al., 2014).

2.4.4 Prüfung von Emulsionen

Um Emulsionen und deren Stabilität beurteilen zu können, kommen eine Reihe verschiedener Testmethoden in Frage. Je nachdem, welches Merkmal bewertet werden soll, kommen physikalische, chemische oder mikrobiologische Prüfungen in Frage. In der vorliegenden Arbeit liegt der Fokus auf der physikalischen Stabilität, weshalb im Folgenden darauf genauer eingegangen wird.

Makroskopische und mikroskopische Betrachtung

Die einfachste und nach wie vor bedeutende Analysenmethode ist die organoleptische Prüfung. Allein die Betrachtung mit dem Auge und das Prüfen der Konsistenz mit den Händen lassen wichtige Rückschlüsse auf die Emulsion zu. Neben der Farbe lässt sich auch ein Geruch oder dessen Abwesenheit leicht sensorisch feststellen und Abweichungen davon detektieren. So gehören Angaben über das Aussehen und die Beschaffenheit zu Standardangaben in Chemikaliendatenblättern und Prüfvorschriften in der Qualitätskontrolle.

Der Einsatz des Lichtmikroskops ist ebenfalls eine schnelle und unkomplizierte Methode, die wichtige Erkenntnisse über die zu untersuchende Probe liefert. So geben mikroskopische Aufnahmen Aufschluss über den Aufbau der Emulsion und sind grundsätzlich auch dazu geeignet, die Tropfengröße und deren Verteilung zu beurteilen und im Rahmen von Lagerstabilitätsprüfungen zu beobachten. Daneben können suspendierte Feststoffpartikel detektiert werden und auch deren Verhalten während Stabilitätsprüfungen festgehalten werden. Die Auflösung der Lichtmikroskopie ist durch die Wellenlänge des Lichtes begrenzt. Daher können mit ihr nur Makro- und keine Nanoemulsionen im Hinblick auf die Tropfengröße untersucht werden.

Phasenlage

Um die Phasenlage der Emulsion zu beurteilen, macht man sich zu Nutze, dass sich kontinuierliche und disperse Phase in ihren Eigenschaften deutlich unterscheiden. Eine Möglichkeit ist, die Emulsion anzufärben. Das Testprinzip beruht darauf, dass sich nur die kontinuierliche Phase gleichmäßig färben lässt. Führt man die Prüfung mit einem hydrophilen und einem lipophilen Farbstoff durch, dann kann anhand der Färbung auf die Phasenlage geschlossen werden. Meistens verwendet man dabei Methylblau und Sudanrot. Ein ähnliches Prinzip liegt dem Verdünnungstest zugrunde. Dabei wird die Emulsion mit einer hydrophilen oder lipophilen Flüssigkeit versetzt. Wenn sich die zugesetzte Flüssigkeit gleichmäßig mit der Emulsion mischt, entspricht dies der kontinuierlichen Phase. Ein weitere Möglichkeit ist die Messung der Leitfähigkeit. Nur wenn eine O/W-Emulsion vorliegt, kann eine merkliche Leitfähigkeit gemessen werden. Bildet die ölige Flüssigkeit die kontinuierliche Phase, ist die Emulsion nicht elektrisch leitfähig.

Tropfengößenanalyse

Die Tropfengröße der Emulsion ist ein weiteres wichtiges Qualitätsmerkmal. Da die Tropfengröße bzw. die Tropfengößenverteilung maßgeblichen Einfluss auf die Stabilität der Emulsion nimmt. Außerdem besteht ein Zusammenhang zwischen der Tropfengröße und dem rheologischen Verhalten (Pal, 1996). Der Effekt der Tropfengröße auf das biopharmazeutische Verhalten ist nicht abschließend geklärt. Manche Autoren beschreiben einen Einfluss der Tropfengröße (Paolino et al., 2002; J. S. Schwarz et al., 1995). Dabei muss jedoch beachtet werden, dass sich neben der Tropfengröße meistens auch die Zusammensetzung der untersuchten Formulierungen unterscheidet. Dies erschwert die Interpretation der Ergebnisse. Izquierdo et al. (2007) zeigte anhand von Tetracain in Emulsionen mit derselben Zusammensetzung, dass es keinen Zusammenhang zwischen Tropfengröße und Penetrationsverhalten gibt.

Wie oben bereits angesprochen, ist es möglich, anhand von mikroskopischen Aufnahmen, sowohl die mittlere Tropfengröße als auch die Tropfengößenverteilung zu bestimmen. Eine komfortablere Möglichkeit ist die Ermittlung der Tropfengröße mittels Laserdiffraktometer. Das Verfahren wird in einer ISO-Norm (ISO, 2010) und vom Europäischen Arzneibuch als geeignete Methode angesehen (Ph. Eur., 2014b). Das Prinzip beruht darauf, dass monochromatisches Licht, das in der Regel in Form eines Laserstrahls auf einen Emulsionstropfen trifft, in Abhängigkeit von dessen Größe, abgelenkt wird. Anhand des auftretenden Beugungsmusters kann mit Hilfe komplexer Algorithmen dann die Tropfengröße berechnet werden.

Rheologische Betrachtung

Das rheologische Verhalten von Emulsionen hat Einfluss auf die Stabilität (vgl. Abschnitt 2.4.2) und auch auf die Spreitfähigkeit bei der Applikation. Außerdem spielt die Rheologie bei der Herstellung und Konfektionierung eine wichtige Rolle.

Die Wahl der Messmethode richtet sich nach der vorliegenden Probe und der Fragestellung. Während bei idealviskosen Flüssigkeiten eine Einzelmessung ausreicht, ist es in allen anderen Fällen nötig, eine umfangreichere Charakterisierung vorzunehmen (s. Abschnitt 2.5.1). Die verschiedenen Messsysteme werden in Abschnitt 2.5.4 beschrieben.

2.5 Rheologische Grundlagen

Kenntnisse über das rheologische Verhalten von Zubereitungen spielen bei der Herstellung, Verpackung, Applikation, aber auch bei der biopharmazeutischen Beurteilung eine Rolle. Deshalb soll nachfolgend auf wichtige rheologische Parameter und relevante Messmethoden eingegangen werden.

2.5.1 Viskosität

Eine Kerngröße der Rheologie ist die Viskosität. Sie kann auch als innere Reibung angesehen werden. Sie leitet sich nach Gleichung 2.7 her.

$$\frac{F}{A} = \eta \cdot \frac{\Delta v}{\Delta y}$$

mit η = dynamische Viskosität

$$F = \text{Kraft} \tag{2.7}$$

$$A = \text{Fläche}$$

$$\Delta v = \text{Geschwindigkeitsdifferenz}$$

$$\Delta y = \text{Abstand der Schichten}$$

Dabei wird eine vorliegende Flüssigkeit modellhaft in parallel verlaufende Schichten mit der Fläche A unterteilt. Um eine Schicht parallel zur nächsten zu verschieben wird die Kraft F benötigt. Das Verhältnis von benötigter Kraft zur Fläche wird auch als Schubspannung bezeichnet und mit τ abgekürzt. Aus dem Geschwindigkeitsunterschied von zwei Schichten zueinander und deren Abstand lässt sich die Schergeschwindigkeit $\dot{\gamma}$ berechnen. Die Formel 2.7 vereinfacht sich entsprechend und die Viskosität ist der Quotient aus Schubspannung und Schergeschwindigkeit.

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$$

$$\text{mit } \eta = \text{dynamische Viskosität} \tag{2.8}$$

$$\tau = \text{Schubspannung}$$

$$\dot{\gamma} = \text{Schergeschwindigkeit}$$

Trägt man Viskosität gegen die Schubspannung oder die Schergeschwindigkeit auf, erhält man das dazugehörige Viskogramm der Substanz. Im einfachsten Falle ist die Viskosität unabhängig von der Schubspannung und das Viskogramm zeigt eine horizontal verlaufende Gerade. Man spricht dann von newtonschem oder idealviskosem Fließverhalten. Wasser ist wohl der bekannteste Stoff, der sich rheologisch so verhält. Pharmazeutische Zubereitungen zur dermalen Applikation verhalten sich in der Regel nicht idealviskos, was bei diesen Formulierungen oftmals auch gar nicht gewünscht ist. Bei der Herstellung und Abfüllung kann ein idealviskoses Fließverhalten von Vorteil sein. Anforderungen an die technische Ausstattung und Durchflusszeiten durch Leitungen sind einfach zu berechnen. Bei der Applikation auf die Haut sind newtonsche Fluide dagegen oftmals nicht erwünscht. Begünstigen sie doch das „Wegfließen“ und erschweren so eine exakte Dosierung und das Aufbringen auf die betroffene Stelle.

Nicht-idealviskoses Fließverhalten kann wiederum in plastisches, pseudoplastisches und dilatantes Fließen unterteilt werden. Gemeinsam ist diesen Arten, dass die Viskosität von der Schubspannung abhängt. Wird das System mehr oder weniger stark beansprucht, ändert sich die Viskosität. In Abbildung 2.7 sind die unterschiedlichen Fließverhalten schematisch abgebildet.

Wie bereits besprochen, ist bei idealviskosen Substanzen (Abbildung 2.7a) die Viskosität von der Schubspannung unabhängig und die Schergeschwindigkeit ist direkt proportional zur Schubspannung. Zeigt eine Substanz plastisches Fließverhalten (Abbildung 2.7b), zeichnet sich das durch eine Fließgrenze im Rheogramm aus. Es muss also zuerst eine bestimmte Kraft aufgebracht werden, um den Stoff oder das System zum Fließen zu bringen. Die Fließgrenze wird als τ_0 bezeichnet. Steigert man die Schubspannung und im weiteren Verlauf und bleibt die Viskosität konstant, handelt es sich um einen Bingham-Körper, auch als ideal-plastisches Fließverhalten bezeichnet. Zeigt sich ein gekrümmter Verlauf und mit steigender Schubspannung nimmt die Schergeschwindigkeit überproportional zu, spricht man von einem Casson-Körper oder nicht-ideal-plastischem Verhalten. Für Dermatika ist vor allem letztgenanntes Verhalten gewünscht. Hier ist einerseits eine exakte Dosierung aus einer Tube möglich, da im Ruhezustand eine Fließgrenze vorliegt, die erst durch das Ausdrücken aus der Tube überwunden werden muss. Andererseits sinkt mit steigender Schubspannung, wie es bei der Applikation der Fall ist, die Viskosität ab und das Dermatikum lässt sich ohne viel Druck gleichmäßig verteilen.

Auch pseudoplastisches Fließverhalten (Abbildung 2.7c) zeigt eine Scherverdünnung. Die Viskosität nimmt hier bei steigender Schubspannung ab. Die Kurve entspringt fast im Nullpunkt und entsprechend liegt keine Fließgrenze vor. Dieses Fließverhalten ist für Lösungen natürlicher

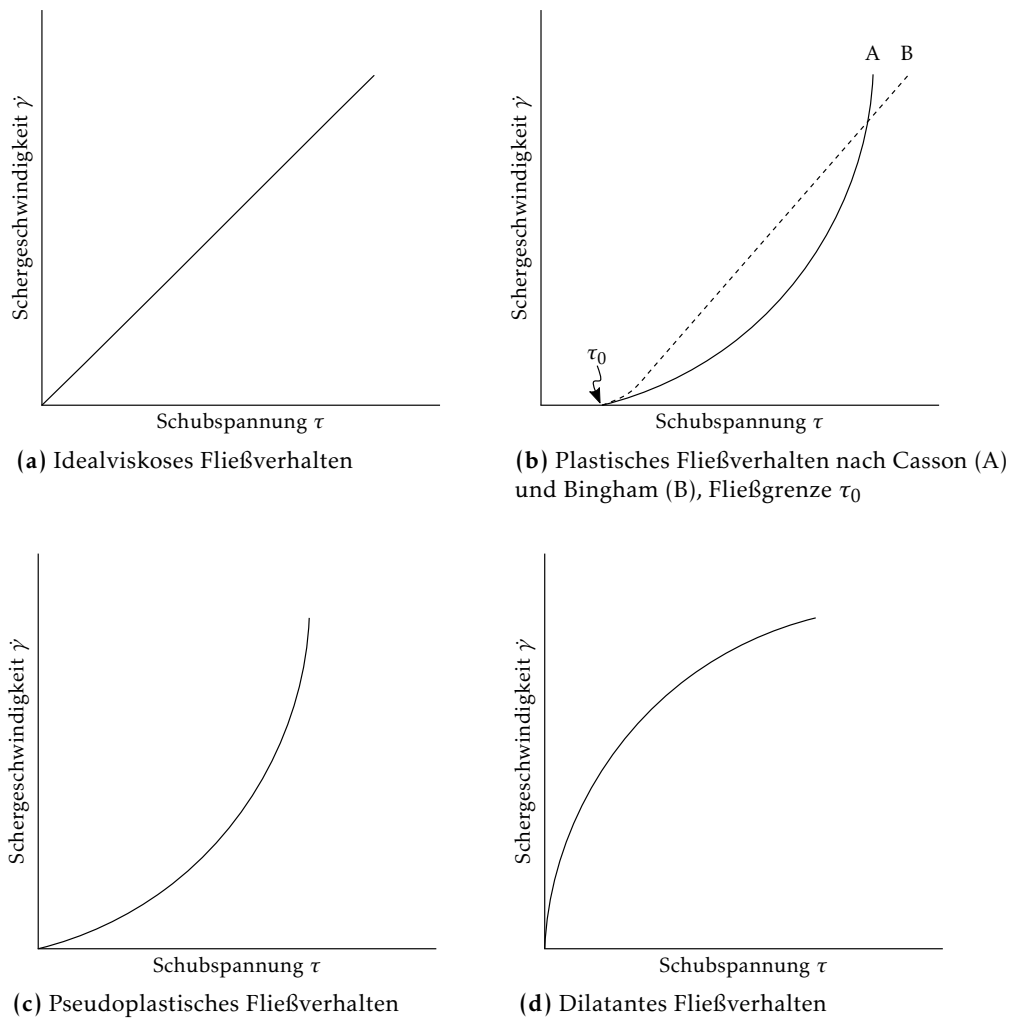


Abbildung 2.7: Fließkurven in Abhängigkeit des Fließverhaltens

und synthetischer Polymere typisch (Clasen und Kulicke, 2001; Fischer und Lindsley, 1948; Meter und Bird, 1964).

Die Viskositätsabnahme bei plasischem und pseudoplastischem Fließverhalten lässt sich dadurch erklären, dass das strukturegebende Gerüst durch die Scherung beeinflusst wird. Mit zunehmender Scherbeanspruchung richten sich die vorliegenden Moleküle vermehrt parallel aus und gleiten dadurch leichter aneinander vorbei. Somit sinkt der Widerstand und damit die Viskosität.

Dilatantes Fließen (Abbildung 2.7d) zeigt mit steigender Schubspannung eine Viskositätszunahme. Der Kurvenverlauf ist sozusagen das Gegenteil des pseudoplastischen Fließverhaltens. Hochkonzentrierte Suspensionen zeigen oft ein solches Fließverhalten. Dies lässt sich durch den Aufbau der Systeme und den Einfluss der Schubspannung erklären. Während in Ruhe und bei kleiner Schubspannung die Teilchen im Dispersionsmedium vollständig eingebettet sind, nimmt

bei starker Scherbeanspruchung das Volumen zwischen den Teilchen stark zu. Da die Menge an Flüssigkeit nicht ausreicht um dieses Volumen zu füllen, entstehen Hohlräume und der Strömungswiderstand steigt an.

Um die Viskosität eines idealviskosen Stoffes zu bestimmen, genügt es, die Messung bei einer Schubspannung bzw. bei einer Schergeschwindigkeit durchzuführen. Bei allen anderen Systemen muss die Messung einen gewissen Bereich umfassen, um eine Aussage über die Viskosität treffen zu können.

Nicht-newtonsche Systeme können auch ein scherzeitabhängiges Fließverhalten aufweisen. Dabei wird zunächst eine Aufwärtskurve aufgezeichnet, wobei die Schubspannung kontinuierlich gesteigert wird. Anschließend folgt die Abwärtskurve. Dabei wird die angelegte Kraft wieder verringert. Bei scherzeitabhängigem Verhalten sind Auf- und Abwärtskurve nicht identisch. Zeigt die Abwärtskurve eine geringere Viskosität, spricht man von Thixotropie. Dieses Verhalten kommt dadurch zustande, dass es durch die Scherung zum teilweisen Strukturaufbruch kommt. Aus einem Gel wird ein Sol. Entsprechend sinkt die Viskosität ab. Nach einer Ruhephase baut sich das gelartige Gerüst wieder auf. Da für den Strukturaufbau eine gewisse Zeit benötigt wird, verlaufen Auf- und Abwärtskurve nicht deckungsgleich. Das Ausmaß wird von der Dauer und Stärke der Beanspruchung der Probe bestimmt und zeigt sich in der Hysteresis-Fläche, die zwischen den Kurven entsteht. Die Thixotropie ist insofern von Bedeutung, dass bei rheologischen Messungen die Vorbehandlung des Probenmaterials eine wichtige Rolle spielt. Es kann daher nötig sein, nach dem Einbringen der Probe in das Messsystem vor dem Messbeginn eine Ruhephase abzuwarten. Abgrenzen von thixotropem Verhalten muss man die Rheodestruktion. Dabei wird die Struktur durch die Scherbeanspruchung irreversibel zerstört. Das Gegenteil der Thixotropie ist die Rheopexie, dabei wird durch die Scherung das Ausbilden von Kontaktstellen begünstigt. Nicht verwechselt werden darf dieses Phänomen jedoch mit dilatantem Fließen.

Wie viele Materialeigenschaften ist auch das rheologische Verhalten von der Temperatur abhängig. In aller Regel nimmt die Viskosität mit steigender Temperatur ab (Andrade, 1930; Doolittle, 1951). Die Temperaturabhängigkeit ist zum Teil sehr stark ausgeprägt. Erhöht man die Temperatur von Wasser von 20 auf 40 °C, nimmt die Viskosität um etwa ein Drittel ab (Kestin et al., 1978). Im Gegensatz dazu gibt es aber auch Systeme, die bei Erwärmung eine Viskositätszunahme zeigen. Beispielhaft seien Methylcellulose und Poloxamere genannt (Desbrières et al., 2000; Haque und Morris, 1993; Schmolka, 1972). Aufgrund hydrophober Wechselwirkungen kommt es bei diesen Systemen beim Erwärmen zum Sol-Gel-Übergang.

2.5.2 Rotationsmessungen

Eine Möglichkeit zur Bestimmung der Viskosität sind Rotationsmessungen. Dabei wird die zu untersuchende Probe zwischen einen beweglichen Rotor und einen festen Stator eingebracht. Um den Rotor in Bewegung zu versetzen, muss je nach Viskosität der Probe eine bestimmte Kraft angelegt werden. Durch das Messsystem kann die Kraft in Form des Drehmomentes gemessen werden und unter Berücksichtigung verschiedener gerätespezifischer Parameter in die Viskosität umgerechnet werden. Umgekehrt kann auch eine definierte Kraft angelegt werden und die daraus resultierende Schergeschwindigkeit erfasst werden.

In beiden Fällen ist es möglich, die Schubspannung bzw. die Schergeschwindigkeit kontinuierlich zu erhöhen oder zu erniedrigen. Dadurch ist es möglich eine Auf- und Abwärtskurve der Probe aufzuzeichnen. Anhand von Rotationsmessungen können Informationen über das Fließverhalten der Probe, die Fließgrenze sowie über das Maß der Thixotropie gewonnen werden.

2.5.3 Oszillatorische Messungen

Topische flüssige und halbfeste Systeme verhalten sich in der Regel weder idealviskos noch ideal-elastisch. Wird ein Stoff, der ausschließlich viskose Eigenschaften besitzt, deformiert, beginnt er zu fließen. Dabei wird die gesamte Deformationsenergie durch Fließen abgebaut. Das Gegenteil davon ist ein idealelastischer Körper. Er speichert die Deformationsenergie vollständig und kehrt nach der Beanspruchung in seine Ausgangslage zurück. Die meisten Systeme besitzen sowohl viskose als auch elastische Eigenschaften. Je nachdem, was überwiegt, liegt eine flüssige oder eine halbfeste Zubereitung vor. Die Viskosität besitzt hier nur beschränkte Aussagekraft. So können sich Materialien in ihrer Viskosität ähneln, jedoch völlig unterschiedliche viskoelastische Eigenschaften aufweisen. Als Beispiel seien hier Joghurt und Honig genannt (Doğan, 2011).

Um die viskoelastischen Eigenschaften zu untersuchen, sind Rotationsmessungen nicht geeignet und es müssen oszillatorische Messungen durchgeführt werden. Bei oszillatorischen Messungen wird nur eine geringe Deformationsenergie aufgewandt und es können Messungen durchgeführt werden, ohne dass die Probe fließt. Die Struktur bleibt somit zunächst intakt. Dazu wird der Prüfkörper sinusförmig um einen gewissen Betrag ausgelenkt und kehrt danach wieder in seine Ausgangsposition zurück. Hierbei kann man in Amplituden- und Frequenztests unterscheiden. Amplitudentests eignen sich zur Bestimmung des linear-viskoelastischen Bereichs. Dabei wird bei konstanter Frequenz ein Schubspannungs- oder Deformationsbereich durchlaufen. Ein schemati-

ches Messergebnis ist in in Abbildung 2.8 abgebildet. Entsprechend wird bei einem Frequenztest die Deformation nicht verändert sondern die Frequenz über einen definierten Bereich variiert.

Ergebnisse aus oszillatorischen Messungen enthalten Informationen über den Speichermodul G' und den Verlustmodul G'' . Dabei kann der Speichermodul als Maß für die elastischen Eigenschaften angesehen werden, der Verlustmodul entsprechend für die viskosen Eigenschaften. Das Verhältnis von Verlust- zu Speichermodul wird als Verlustfaktor $\tan \delta$ bezeichnet (Gleichung 2.9). Nimmt dieser einen Wert kleiner eins an, überwiegt der Speichermodul und damit der elastische Anteil. Es handelt sich somit um einen viskoelastischen Festkörper. Je kleiner der Wert wird, umso mehr ähnelt die Probe einem idealen Festkörper. Übersteigt der Verlustmodul den Speichermodul, wird $\tan \delta > 1$, und es liegt eine viskoelastische Flüssigkeit vor. Am Schnittpunkt von Speicher- und Verlustmodul ist der Wert genau eins. Hier liegt die Fließgrenze. Verlaufen Speicher- und Verlustmodul parallel zueinander, die Parameter sind somit unabhängig von der Deformation, spricht man vom linear-viskoelastischen (LVE) Bereich (s. Abbildung 2.8).

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'}$$

mit $\tan \delta =$ Verlustfaktor (2.9)

$G'' =$ Verlustmodul

$G' =$ Speichermodul

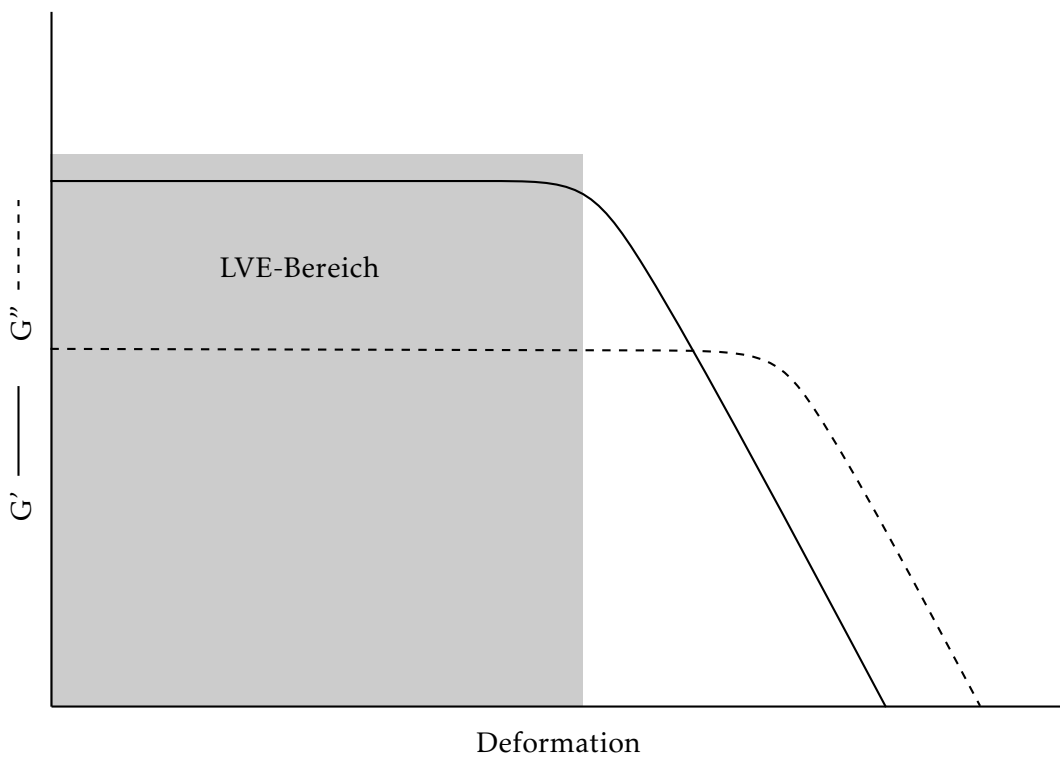


Abbildung 2.8: Schematische Darstellung eines Amplitudentests. Auftragung von Speichermodul G' und Verlustmodul G'' gegen die Deformation mit Hervorhebung des linear-viskoelastischen Bereichs.

2.5.4 Messsysteme

Die Zahl der verschiedenen Messsysteme zur Bestimmung der Viskosität oder des rheologischen Verhaltens ist sehr zahlreich und reicht von recht einfachen Systemen bis hin zu technisch aufwändigen Geräten.

Für newtonsche Flüssigkeiten kann die Viskosität anhand einer Einpunktmessung ermittelt werden. Dies ist zum Beispiel mit einem Kapillarviskosimeter nach Ubbelohde möglich, wie es auch das Europäische Arzneibuch beschreibt (Ph. Eur., 2014a). Grundlage der Messung ist dabei das Gesetz von Hagen-Poiseuille. Dieses beschreibt die Durchflussgeschwindigkeit einer Flüssigkeit durch eine Kapillare (Gleichung 2.10).

$$\frac{dV}{dt} = \frac{\pi \cdot r^4 \cdot \Delta p}{8 \cdot \eta \cdot l}$$

mit V = Volumen

t = Zeit

r = Radius

Δp = Druckdifferenz

η = dynamische Viskosität

l = Länge der Kapillare

(2.10)

Bezieht man die Gleichung auf das Kapillarviskosimeter sind Volumen, Radius und Länge der Kapillare bekannt und konstant. Der Druckunterschied ist neben der Erdbeschleunigung und der Höhe der Flüssigkeitssäule auch von der Dichte der Flüssigkeit abhängig. Sofern die Dichte oder die Schwerkraft Einfluss auf die Messung hat, wird die kinematische Viskosität bestimmt. Erst unter Berücksichtigung der Dichte der Probe, kann die dynamische Viskosität ermittelt werden. Dabei gilt Gleichung 2.11.

$$\eta_{kin} = \frac{\eta}{\rho}$$

mit η_{kin} = kinematische Viskosität

η = dynamische Viskosität

ρ = Dichte

(2.11)

Nach wie vor wird auch eine Methode zur Viskositätsbestimmung mittels Auslaufbecher beschrieben (DIN, 2012). Eine weitere anerkannte Methode ist das Kugelfallviskosimeter nach Höppler (DIN, 2019). Beide Methoden sind ausschließlich für idealviskose Flüssigkeiten geeignet.

Für alle anderen Fließverhalten ist die Verwendung eines Rheometers unumgänglich. Mögliche Messaufbauten sind zum Beispiel Kegel/Platte- (DIN, 1994) und Platte/Platte-Messsysteme oder Rotationsviskosimeter mit koaxialem Zylinder (DIN, 1994). Dabei wird die Probe zwischen einem festen Stator und einem beweglichen Rotor eingebracht. Ausgehend von Gleichung 2.8 kann nun entweder die Schubspannung vorgegeben und die resultierende Schergeschwindigkeit erfasst werden oder umgekehrt. Die Viskosität, Speicher- und Verlustmodul sowie andere Messgrößen lassen sich dann entsprechend zu jedem Messzeitpunkt bestimmen.

Rotationsmessungen sind dabei mit allen drei Messaufbauten (Kegel/Platte, Platte/Platte und koaxialer Zylinder) möglich. Soll die Bewegung des Prüfkörpers oszillatorisch erfolgen, sind nur Rheometer mit Kegel/Platte- oder Platte/Platte-Messaufbau möglich.

Wie bereits erwähnt, ist das rheologische Verhalten stark temperaturabhängig. Die Messsysteme müssen daher eine Temperierung ermöglichen, um aussagekräftige und vergleichbare Ergebnisse zu liefern.

Zusammenfassend wird deutlich, dass für newtonsche Fluide und nicht-idealviskose Proben unterschiedliche Messsysteme zur Verfügung stehen. Zusätzlich muss die Fragestellung bei der Auswahl des Geräts und der Methode berücksichtigt werden.

3 Materialien und Methoden

3.1 Verwendete Materialien

Tabelle 3.1: Verbrauchsmaterialien

Bezeichnung	Hersteller
Aluminiumfolie	FORA GmbH, DE-Radolfzell
Aluminiumtube mit Innenschutzlackierung	Tubex Holding GmbH, DE-Rangendingen
Bördelkappe, 20 mm	Zscheile & Klinger GmbH, DE-Hamburg
Deckglas, 22 mm × 22 mm	handelsüblich
Dermatomklinge, GB228R	Aesculap AG & Co. KG, DE-Tuttlingen
Doppelseitiges Klebeband	tesa SE, DE-Norderstedt
Einmalspritze, 1 - 50 mL	B. Braun Melsungen AG, DE-Melsungen
Handschuhe	Safeskin Purple Nitrile, Serimed GmbH & Co. KG, DE-Zeulenroda-Triebes
HPLC-Säule, Nucleosil 100-5 C8 EC 125/4	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, DE-Düren
HPLC-Säule, Nucleosil 100-5 C18 EC 125/4	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, DE-Düren
HPLC-Vial, N11, 1,5 mL mit Rollrand	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, DE-Düren
HPLC-Vial, N8, 1,5 mL mit Gewinde	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, DE-Düren
HPLC-Vial-Einsatz, 0,15 mL 9 mm Spitze	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, DE-Düren
HPLC-Vorsäule, EC 4/3 Universal RP	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, DE-Düren
Injektionsvial, 30 mL	Zscheile & Klinger GmbH, DE-Hamburg
Kanüle, Sterican 0,80 x 120 mm	B. Braun Melsungen AG, DE-Melsungen
Lyo-Stopfen für ISO Injektionsflaschen	Zscheile & Klinger GmbH, DE-Hamburg

Tabelle 3.1: Verbrauchsmaterialien (Fortsetzung)

Bezeichnung	Hersteller
Objektträger	VWR International GmbH, DE-Darmstadt
Papiertücher, WEPA comfort	WEPA Professional GmbH, DE-Amsberg
Parafilm M	Bemis Company, Inc., US-Oshkosh
Pasteurpipette, Glas	handelsüblich
Pasteurpipette, Kunststoff	Sarstedt AG & Co. KG, DE-Nümbrecht
Reaktionsgefäß, 1,5 und 2 mL	VWR International GmbH, Darmstadt
Schliff fett, Hochvakuumqualität	Borer Chemie AG, CH-Zuchwil
Schlinggazetupfer, Größe 5	Fuhrmann GmbH, DE-Much
Sekundenkleber, UHU blitzschnell	UHU GmbH & Co. KG, DE-Bühl/Baden
Skalpellklinge, unsteril	C. Bruno Bayha GmbH, DE-Tuttlingen
Stecknadeln	handelsüblich
Styroporplatte, Höhe 40 mm	handelsüblich
Unguator-Kruke	WEPA Apothekenbedarf GmbH & Co KG, DE-Hillscheid
Verschlusskonus, universal	B. Braun Melsungen AG, DE-Melsungen
weiblich/weiblich-Adapter	B. Braun Melsungen AG, DE-Melsungen
Zentrifugengefäß, 15 und 50 mL	VWR International GmbH, DE-Darmstadt

Tabelle 3.2: Chemikalien, Wirk- und Hilfsstoffe

Bezeichnung	Hersteller
Acetonitril (HPLC gradient grade)	J.T. Baker, Avantor performance Materials B.V., NL-Deventer
Albumin Fraktion V	Carl Roth GmbH + Co. KG, DE-Karlsruhe
Avobenzon	Symrise AG, DE-Holzminden
BY 11–030 Silikontensid	Dow Corning GmbH, BE-Seneffe
Cetylalkohol	Cesar & Loretz GmbH, DE-Hilden
Dinatriumhydrogenphosphat	Carl Roth GmbH + Co. KG, DE-Karlsruhe
Ethanol (HPLC gradient grade)	Sigma Aldrich Chemie GmbH, DE-Steinheim
Eudragit RS 30D	Evonik Industries AG, DE-Darmstadt
Glycerol	Carl Roth GmbH + Co. KG, DE-Karlsruhe
Glycerolmonostearat	Fagron GmbH & Co. KG, DE-Barsbüttel
Isopropylmyristat	BASF SE, DE-Ludwigshafen
Kaliumchlorid	Cesar & Loretz GmbH, DE-Hilden
Kaliumdihydrogenphosphat	Carl Roth GmbH + Co. KG, DE-Karlsruhe
Macrogol 200	BASF SE, DE-Ludwigshafen
Macrogol 4000	BASF SE, DE-Ludwigshafen
Macrogol 8000	BASF SE, DE-Ludwigshafen
Macrogol 40 000	BASF SE, DE-Ludwigshafen
Magnesiumsulfat-Heptahydrat	Cesar & Loretz GmbH, DE-Hilden
Methanol (HPLC gradient grade)	Carl Roth GmbH + Co. KG, DE-Karlsruhe
Methylcellulose (Metolose SM 25)	Shin-Etsu Chemical, JP-Tokio

Tabelle 3.2: Chemikalien, Wirk- und Hilfsstoffe (Fortsetzung)

Bezeichnung	Hersteller
Mittelkettige Triglyceride (Myritol 318)	BASF SE, DE-Ludwigshafen
Natriumchlorid	Ceasar & Loretz GmbH, DE-Hilden
Natriumcitrat	Ceasar & Loretz GmbH, DE-Hilden
Natriumdihydrogenphosphat	Carl Roth GmbH + Co. KG, DE-Karlsruhe
NEG 50	Richard-Allan Scientific, US-Kalamazoo
Nonivamid	Sigma Aldrich Chemie GmbH, DE-Steinheim
PEG-20-glycerolmonostearat	Fagron GmbH & Co. KG, DE-Barsbüttel
Phosphorsäure	Sigma Aldrich Chemie GmbH, DE-Steinheim
Propylenglycol	BASF SE, DE-Ludwigshafen
Q7-9120 silicone fluid 20 cst	Dow Corning GmbH, BL-Seneffe
Stickstoff, flüssig	Westfalen AG, DE-Münster
Rizinusöl, raffiniert	Ceasar & Loretz GmbH, DE-Hilden
Syloid XDP 3050	Grace GmbH & Co. KG, DE-Worms
Triethylcitrat	Sigma Aldrich Chemie GmbH, DE-Steinheim
Vaseline, weiß	Hansen & Rosenthal KG, DE-Hamburg

3.2 Verwendete Geräte

Tabelle 3.3: Verwendete Geräte

Gerät	Typenbezeichnung	Hersteller
Analysenwaage	Extend ED224S d = 0,1 mg	Sartorius AG, DE-Göttingen
Analysenwaage	ABJ 120-4M d = 0,1 mg	Kern & Sohn GmbH, DE-Balingen
Crimpzange		HP Inc., US-Palo Alto
Dermatom	GA 630	Aesculap AG & Co. KG, DE-Tuttlingen
Feinwaage	XPE205DR $d_{\text{bis } 81 \text{ g}} = 0,01 \text{ mg}$	Mettler Toledo, US-Columbus
Flügelrührer	RZR 2102 control	Heidolph Instruments GmbH & CO. KG, DE-Schwabach
Franzzellen, modifiziert		Gauer Glas, DE-Püttlingen
Gefrierschrank	Kühl- und Gefrierkombination Premium	Liebherr-International AG, CH-Bulle
Haartrimmer	Philips QC 5115/15 Series 3000	Philips Consumer Lifestyle BV, NL-Amsterdam
Heißluftschrank	Typ TU 60/60	Heraeus Holding GmbH, DE-Hanau
Henkellocheisen, 15, 25 und 30 mm		Eduard Gottfried Ferne GmbH, DE-Remscheid
HPLC	P680 HPLC Pump	Dionex Corporation, US-Sunnyvale

Tabelle 3.3: Verwendete Geräte (Fortsetzung)

Gerät	Typenbezeichnung	Hersteller
HPLC	ASI-100 Automated Sample Injector	Dionex Corporation, US-Sunnyvale
	Gynkotek UVD170U Detector	Dionex Corporation, US-Sunnyvale
	SunTherm 5-100 Säulenofen	SunChrom Wissenschaftliche Geräte GmbH, DE-Friedrichsdorf
Klimaschrank	Kühl- und Brutschrank Typ 3401	Rubarth Apparate GmbH, DE-Laatzen
Klimaschrank	Typ CB150	BINDER GmbH, DE-Tuttlingen
Konduktometer	Labor-Konduktometer 702	Knick Elektronische Messgeräte GmbH & Co. KG, DE-Berlin
Kryotom	HM 560 Cryo-Star	Thermo Fisher Scientific Inc., DE-Langensfeld
Küvette	Für den UV-Bereich, Schichtdicke 10 mm	Hellma GmbH & Co. KG, DE-Müllheim
Labormischer	LAB Mixer P22-L05 L01	Somakon Verfahrenstechnik UG, DE-Lünen
Laserdiffraktometer	Mastersizer 2000 mit Hydro 2000s	Malvern Instruments, UK-Malvern
Luftpolsterpipette	Research plus 2-20 µL	Eppendorf AG, DE-Hamburg
Luftpolsterpipette	Research 10-100 µL	Eppendorf AG, DE-Hamburg

Tabelle 3.3: Verwendete Geräte (Fortsetzung)

Gerät	Typenbezeichnung	Hersteller
Luftpolsterpipette	Research plus 20-200 µL	Eppendorf AG, DE-Hamburg
Luftpolsterpipette	Research plus 100-1000 µL	Eppendorf AG, DE-Hamburg
Luftpolsterpipette	Transferpipette S, D-5000, Typ variabel, 500-5000 µL	Brand GbH + Co. KG, DE-Wertheim
Magnetrührer mit Thermostat	MR 3001K mit EKT 3001	Heidolph Instruments GmbH & CO. KG, DE-Schwabach
Materialprüfer	BDO-FB0.5TS	ZwickRoell GmbH & Co. KG, DE-Ulm
Mehrstellenrührer	Variomag Poly	Thermo Fisher Scientific Inc., DE-Langenselbold
Mikroskop	Axio Imager Z1 mit AxioCam MRm	Carl Zeiss AG, DE-Jena
Optische Tauchsonde	Falcata Lab	Hellma GmbH & Co. KG, DE-Müllheim
pH-Meter	Seven Easy	Mettler Toledo, US-Columbus
Photometer	Lambda 35 UV/Vis Spektrometer	Perkin Elmer, US-Waltham
Photometer	Evolution 300	Thermo Fisher Scientific Inc., DE-Langenselbold
Reinstwasseranlage	Purelab Option Q	Veolia Water Technologies Deutschland GmbH, DE-Celle

Tabelle 3.3: Verwendete Geräte (Fortsetzung)

Gerät	Typenbezeichnung	Hersteller
Rezepturwasserbad		Memmert GmbH & Co. KG, DE-Schwabach
Rheometer	Physica MCR 501	Anton Paar, CH-Graz
Rührsystem	Unguator 2000	WEPA Apothekenbedarf GmbH & Co KG, DE-Hillscheid
Schüttler	IKA Vibrax	IKA-Werke GmbH & CO. KG, DE-Staufen
Schüttler	Vibrofix VF1	IKA-Werke GmbH & CO. KG, DE-Staufen
Schüttler	ZX Classic	VELP Scientifica s.r.l., IT-Usmate
Skalpellhalter		Aesculap AG & Co. KG, DE-Tuttlingen
Speedmixer	DAC 150.1 FVZ	Hausschild Engineering & Co. KG, DE-Hamm
Stoppuhr	Prisma 200	Hanhart 1882 GmbH, DE-Gütenbach
Styroporschneider	Gochange Foam Cutter	Guangzhou Tinghui Trade Co. Ltd., CN-Guangzhou
Thermometer	GMH 3700 Series Pt 100 Thermometer	GMH Messtechnik GmbH, DE-Regenstauf
Thermoschüttler	BioShake IQ	Analytik Jena AG, DE-Jena

Tabelle 3.3: Verwendete Geräte (Fortsetzung)

Gerät	Typenbezeichnung	Hersteller
Thermostat	Lauda alpha	Thermo Fisher Scientific Inc., DE-Langenselbold
Ultraschallbad	Sonorex Super RK 510 H	Bandelin electronic GmbH & Co. KG, DE-Berlin
Ultraschallbad	RK 31 H	Bandelin electronic GmbH & Co. KG, DE-Berlin
Waage	AX4202 d = 0,01 g	Sartorius AG, DE-Göttingen
Wasserbad	Lauda 020T	Thermo Fisher Scientific Inc., DE-Langenselbold
Zentrifuge	miniSpin	Eppendorf AG, DE-Hamburg
Zentrifuge	Megafuge 1.OR	Heraeus Holding GmbH, DE-Hanau

3.3 Verwendete Software

Tabelle 3.4: Verwendete Software

Bezeichnung	Hersteller
Axiovision 4.6.3	Carl Zeiss AG, DE-Jena
Chromeleon Client V 6.80	Dionex Corporation, US-Sunnyvale
Citavi 6.1.0.0	Swiss Academic Software GmbH, CH-Wädenswil
Inkscape	The Inkscape Project
JMP 14.0.0	SAS Institute Inc., US-Cary
Malvern Application 5.60	Malvern Instruments, UK-Malvern
Microsoft Excel 2013	Microsoft Corporation, US-Redmond
Rheoplus 32 V 3.40	Anton Paar, CH-Graz
UV WinLab 5.2.0.0646	Perkin Elmer, US-Waltham
Vision pro 4.20	Thermo Fisher Scientific Inc., DE-Langenselbold

3.4 Methoden

3.4.1 Herstellung der Zubereitungen

Herstellung der Basiscreme DAC

Die Basiscreme DAC ist eine monografierte Arzneimittelgrundlage. Die Herstellungsanweisung ist im NRF in der Monografie „Basiscreme“ (ABDA, 2013a) beschrieben. Dazu werden die Bestandteile Cetylalkohol (Ceasar & Loretz GmbH, DE-Hilden), Glycerolmonostearat 60 (Fagron GmbH & Co. KG, DE-Barsbüttel), Mittelkettige Triglyceride (Myritol 318, BASF SE, DE-Ludwigshafen) und weißes Vaselin (Hansen & Rosenthal KG, DE-Hamburg) in eine tarierte Fantaschale mit Pistill eingewogen und auf dem Wasserbad (Rezepturwasserbad, Memmert GmbH & Co. KG, DE-Schwabach) erwärmt, bis eine klare Schmelze entsteht. Die restlichen Inhaltsstoffe Propylenglycol (BASF SE, DE-Ludwigshafen), Macrogol-20-glycerolmonostearat (Fagron GmbH & Co. KG, DE-Barsbüttel) und gereinigtes Wasser werden auf dieselbe Temperatur gebracht. Diese Mischung wird anteilig in die aufgeschmolzenen Bestandteile eingearbeitet und bis zum Erkalten gerührt. Verdunstetes Wasser wird ergänzt. Abschließend wird die Creme in eine Unguator-Kruke (WEPA Apothekenbedarf GmbH & Co KG, DE-Hillscheid) überführt und einmalig mittels Rührsystem (Unguator 2000, WEPA Apothekenbedarf GmbH & Co KG, DE-Hillscheid) mit dem Programm „Normal“ behandelt.

Tabelle 3.5: Zusammensetzung der Basiscreme DAC nach NRF (ABDA, 2013a)

Inhaltsstoff	Anteil [%]
Glycerolmonostearat 60	4,0
Cetylalkohol	6,0
Mittelkettige Triglyceride	7,5
Weißes Vaselin	25,5
Macrogol-20-glycerolmonostearat	7,0
Propylenglycol	10,0
Gereinigtes Wasser	40,0

Tabelle 3.6: Zusammensetzung der hydrophilen Creme mit Avobenzon nach NRF 11.125. (ABDA, 2013b). Capsaicin wird durch Avobenzon ersetzt.

Inhaltsstoff	Anteil [%]
Avobenzon	0,90
Glycerolmonostearat 60	2,00
Cetylalkohol	3,00
Mittelkettige Triglyceride	3,75
Weißes Vaseline	12,75
Macrogol-20-glycerolmonostearat	3,50
Propylenglycol	15,0
Ethanol	9,10
Gereinigtes Wasser	50,00

Herstellung der hydrophilen Creme mit Avobenzon

Die Zusammensetzung entspricht der Hydrophilen Capsaicinoid-Creme, wie sie in der Monographie „Hydrophile Capsaicinoid-Creme NRF 11.125.“ (ABDA, 2013b) aufgeführt ist. Capsaicin wird jedoch durch Avobenzon ersetzt. Aufgrund der schlechten Löslichkeit von Avobenzon in Ethanol aber guten Löslichkeit in Öl, muss die Herstellung modifiziert werden. Dazu wird zunächst eine Basiscreme mit Avobenzon hergestellt. Die benötigte Menge Avobenzon (Symrise AG, DE-Holzminden) wird zusammen mit Cetylalkohol (Ceasar & Loretz GmbH, DE-Hilden), Glycerolmonostearat 60 (Fagron GmbH & Co. KG, DE-Barsbüttel), Mittelkettigen Triglyceriden (Myritol 318, BASF SE, DE-Ludwigshafen) und weißem Vaseline (Hansen & Rosenthal KG, DE-Hamburg) in eine tarierte Fantaschale mit Pistill eingewogen. Die Mischung wird auf dem Wasserbad (Rezepturwasserbad, Memmert GmbH & Co. KG, DE-Schwabach) erhitzt, bis eine klare Schmelze vorliegt. Die restlichen Inhaltsstoffe Propylenglycol (BASF SE, DE-Ludwigshafen), Macrogol-20-glycerolmonostearat (Fagron GmbH & Co. KG, DE-Barsbüttel) und gereinigtes Wasser werden auf dieselbe Temperatur gebracht. Diese Mischung wird anteilig in die aufgeschmolzenen Bestandteile eingearbeitet und bis zum Erkalten gerührt. Verdunstetes Wasser wird ergänzt. Danach wird die erhaltene Creme mit Ethanol HPLC gradient grade (Sigma Aldrich Chemie GmbH, DE-Steinheim), Propylenglycol (BASF SE, DE-Ludwigshafen) und gereinigtem Wasser in einem Spritze-Spritze-Verfahren durch 70 Kolbenbewegungen gemischt. Die fertige Zubereitung wird

in eine Aluminiumtube mit Innenschutzlackierung (Tubex Holding GmbH, DE-Rangendingen) abgefüllt und die Tube mit Doppelfalz verschlossen.

Herstellung der Hydrophilen Nonivamid-Creme

Die Herstellung der Hydrophilen Nonivamid-Creme erfolgt wie in der Monographie „Hydrophile Capsaicinoid-Creme NRF 11.125“ (ABDA, 2013b) beschrieben, wobei Capsaicin durch Nonivamid ersetzt wird. Die Basiscreme wird wie oben beschrieben vorbereitet und die entsprechende Masse in eine Einmalspritze, 20 mL (B. Braun Melsungen AG, DE-Melsungen) eingefüllt. In einer zweiten Spitze mit identischer Größe wird die benötigte Menge an gereinigtem Wasser, Propylenglycol (BASF SE, DE-Ludwigshafen) und ethanolischer Nonivamid-Lösung (Ethanol HPLC gradient grade (Sigma Aldrich Chemie GmbH, DE-Steinheim), Nonivamid (Sigma Aldrich Chemie GmbH, DE-Steinheim)) vorgelegt. Die Spritzen werden mit einem w/w-Adapter verbunden und anschließend 70-mal von einer Spitze in die andere überführt. Es entsteht eine weiße Zubereitung mit cremiger Konsistenz. Die Creme wird anschließend in eine Aluminiumtube mit Innenschutzlackierung (Tubex Holding GmbH, DE-Rangendingen) abgefüllt und die Tube mit Doppelfalz verschlossen.

Tabelle 3.7: Zusammensetzung der Hydrophilen Nonivamid-Creme nach NRF 11.125. (ABDA, 2013b). Capsaicin wird durch Nonivamid ersetzt.

Inhaltsstoff	Anteil [%]
Nonivamid	0,90
Glycerolmonostearat 60	2,00
Cetylalkohol	3,00
Mittelkettige Triglyceride	3,75
Weißes Vaseline	12,75
Macrogol-20-glycerolmonostearat	3,50
Propylenglycol	15,0
Ethanol	9,10
Gereinigtes Wasser	50,00

Herstellung der filmbildenden Formulierung

Die filmbildende Formulierung ist ein disperses System, wobei ölbeladene Silicapartikel in einer Polymerdispersion suspendiert sind. Die Herstellung erfolgt nach der von Heck, Hermann et al. (2016) entwickelten Methode. Dazu wird Nonivamid (Sigma Aldrich Chemie GmbH, DE-Steinheim) in raffiniertem Rizinusöl (Ceasar & Loretz GmbH, DE-Hilden) bei 55 °C unter Rühren (Magnetrührer MR 3001K mit Thermostat EKT 3001, Heidolph Instruments GmbH & CO. KG, DE-Schwabach) gelöst. Das Silicapulver wird für 30 min bei 110 °C im Heißluftschrank (Heißluftschrank Typ TU 60/60, Heraeus Holding GmbH, DE-Hanau) getrocknet und in das Mischgefäß des Lab Mixer (LAB Mixer P22-L05 L01, Somakon Verfahrenstechnik UG, DE-Lünen) gegeben. Der Doppelmantel wird auf 20 °C temperiert. Die Geschwindigkeit der Mischwerkzeuge wird auf 250 UpM eingestellt und das Pulver für zwei Minuten trocken vorgemischt. Die Mischgeschwindigkeit wird dann auf 1500 Upm gesteigert und die ölige Wirkstofflösung wird nun tropfenweise mit einer Geschwindigkeit von etwa $5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ aus einer Einmalspritze, 50 mL (B. Braun Melsungen AG, DE-Melsungen) hinzugegeben. Im Anschluss daran wird das Pulver noch für 5 min bei 1500 UpM gemischt. Das entstandene Pulver ist fast weiß und fließfähig.

Als Polymerdispersion wird Eudragit RS 30D (Evonik Industries AG, DE-Darmstadt) mit einem Zusatz von 7,5 % Triethylcitrat (Sigma Aldrich Chemie GmbH, DE-Steinheim), bezogen auf die Masse der Dispersion, verwendet. Triethylcitrat dient als Weichmacher (Gruetzmann und Wagner, 2005) und senkt in dieser Konzentration die Glasübergangstemperatur unter die Hautoberflächentemperatur von 32 °C (Lunter und Daniels, 2012). Die benötigte Menge Triethylcitrat wird abgewogen und portionsweise unter Rühren mit einem Flügelrührer (Flügelrührer RZR 2102 control, Heidolph Instruments GmbH & CO. KG, DE-Schwabach) bei 350 UpM dazugegeben. Anschließend wird noch für weitere 30 min weitergerührt. Die gleichmäßige Verteilung der Silicapartikel in der Polymerzubereitung erfolgt im Speedmixer (Speedmixer DAC 150.1 FVZ, Hausschild Engineering & Co. KG, DE-Hamm). Dazu wird zunächst die Hälfte des benötigten wirkstoffhaltigen Pulvers in einer Speedmixer-Kruke (Speedmixer DAC 150.1 FVZ, Hausschild Engineering & Co. KG, DE-Hamm) vorgelegt und mit der benötigten Menge Polymerdispersion versetzt. Die Mischung wird im Speedmixer für zwei Minuten bei 2000 UpM dispergiert. Anschließend wird die zweite Hälfte des Pulvers dazugegeben und erneut für 2 min bei 2000 UpM dispergiert. Vor der Verwendung wird die Formulierung ebenfalls mit dem Speedmixer bei 2000 UpM für 2 min redispergiert.

Tabelle 3.8: Zusammensetzung der filmbildenden Formulierung nach (Heck, Hermann et al., 2016)

Inhaltsstoff	Anteil [%]
Nonivamid	0,90
Raffiniertes Rizinusöl	14,10
Syloid XDP 3050	10,00
Eudragit RS 30 D	69,75
Triethylcitrat	5,25

Herstellung der O/O Emulsionen

Die Herstellung der O/O Emulsion erfolgt ebenfalls mit dem Spritze-zu-Spritze-Verfahren. Dazu wird Nonivamid (Sigma Aldrich Chemie GmbH, DE-Steinheim) zunächst in raffiniertem Rizinusöl (Ceasar & Loretz GmbH, DE-Hilden) gelöst. Das Nonivamidpulver sowie das Öl werden hierfür in ein Becherglas eingewogen. Unter Rühren wird die Mischung auf 55 °C erwärmt (Magnetrührer MR 3001K mit Thermostat EKT 3001, Heidolph Instruments GmbH & CO. KG, DE-Schwabach), bis eine klare Lösung entsteht. Die ölige Wirkstofflösung wird mit dem Emulgator BY 11-030 Silikontensid (Dow Corning GmbH, BE-Seneffe) und Silikonöl Q7-9120 silicone fluid 20 cst (Dow Corning GmbH, BL-Seneffe) in eine Einmalspritze, 10 mL (B. Braun Melsungen AG, DE-Melsungen) eingewogen und mit einer zweiten Spritze mittels w/w-Adapter verbunden. Durch insgesamt 70 Kolbenbewegungen wird eine vollständige Durchmischung der Bestandteile gewährleistet und es resultiert eine flüssige Zubereitung mit weißem Aussehen. Diese Vorgehensweise wurde in den Arbeiten von Lunter, Rottke et al. (2014) und Rottke et al. (2014) im Detail beschrieben. Für Zubereitungen mit Avobenzon wird analog vorgegangen.

Tabelle 3.9: Zusammensetzung der O/O Emulsionen nach (Lunter, Rottke et al., 2014)

Inhaltsstoff	Anteil [%]
Nonivamid	0,90
Raffiniertes Rizinusöl	46,6
Q7-97120 silicone fluid 20 cst	47,5
BY 11-030 (Silikontensid)	5,00

Herstellung der O/W Emulsionen

Die Herstellung der Emulsionen erfolgt mittels Spitze-zu-Spritze-Verfahren. Dazu wird in einem ersten Schritt die wässrige Phase hergestellt. Hierbei werden die Feststoffe in eine Kunststoffspritze mit Luer-Lock-Verschluss eingewogen. Dazu zählen Methylcellulose, Natriumcitrat, Macrogol 4000, 8000 und 40 000. Die flüssigen hydrophilen Bestandteile werden in eine zweite Spritze mit derselben Größe vorgelegt. Neben Wasser sind dies Ethanol, Propylenglycol, Glycerol und Macrogol 200. Das verwendete Wasser wird vor Gebrauch abgekocht und mit einer Temperatur zwischen 80 und 95 °C zu den flüssigen Bestandteilen hinzugegeben. Die Spritzen werden anschließend mittels w/w-Adapter verbunden und die Bestandteile durch Hin- und Herbewegen der Kolben gemischt. Nachdem die Bestandteile homogen dispergiert sind und am Spritzenkolben keine festen Bestandteile mehr sichtbar sind, werden die zwei Spritzen getrennt und vollständig entlüftet. So wird verhindert, dass Luft in die Zubereitung eingearbeitet wird. Im Folgenden werden die Spritzen erneut verbunden und insgesamt 100 Kolbenhübe ausgeführt. Es entsteht eine weiße Suspension. Das verbundene Spritzenpaar wird für 24 h im Kühlschrank (Kühl- und Gefrierkombination Premium, Liebherr-International AG, CH-Bulle) bei 5 °C gelagert. Die Zusammensetzung und Herstellung solcher wässrigen Methylcellulose-Zubereitungen orientiert sich an der von Takeuchi (Takeuchi et al., 2003) beschriebenen Methode. Da die Herstellung in einem geschlossenen System durchgeführt wird, kann kein Wasser Verdunsten und auf die Ergänzung verzichtet werden.

Durch die Abkühlung im Kühlschrank (Kühl- und Gefrierkombination Premium, Liebherr-International AG, CH-Bulle) löst sich die Methylcellulose in Wasser (Ph. Eur., 2014d) und es entsteht eine klare bis leicht opake Zubereitung. In einem letzten Schritt werden die Spritzen getrennt und in die leere Spritze wird die hydrophobe Flüssigkeit (mittelkettige Triglyceride oder Isopropylmyristat) oder hydrophobe Wirkstofflösung (Nonivamid in mittelkettigen Triglyceriden oder Isopropylmyristat) eingewogen. Die Spritzen werden erneut gekoppelt und wiederum insgesamt 100 Kolbenbewegungen ausgeführt. Es resultiert eine weiße Emulsion. Diese wird in ein 30 mL Injektionsvial (Zscheile & Klinger GmbH, DE-Hamburg) überführt, mit einem Gummistopfen (Lyo-Stopfen für ISO Injektionsflaschen, Zscheile & Klinger GmbH, DE-Hamburg) verschlossen und mit einer Aluminiumkappe verbördelt.

3.4.2 Hautpräparation

Präparation der Schweineohren

Die verwendete Haut stammt von Schweineohren, welche von der Abteilung für Experimentelle Medizin der Universität Tübingen sowie der Metzgerei Griefhaber (DE-Mössingen) zur Verfügung gestellt werden. Die Ohren werden nach dem Tod der Tiere entfernt und bis zur weiteren Verarbeitung auf eine Temperatur von 5 °C gekühlt (Kühl- und Gefrierkombination Premium, Liebherr-International AG, CH-Bulle). Die Ohren werden dann mit 0,9%iger Kochsalzlösung (Natriumchlorid, Ceasar & Loretz GmbH, DE-Hilden) und Schlinggazetupfern (Größe 5, Fuhrmann GmbH, DE-Much) gewaschen. Dabei wird anhaftender Schmutz und Blut entfernt. Mit Hilfe eines Skalpell (Skalpellhalter, Aesculap AG & Co. KG, DE-Tuttlingen mit Skalpellklinge unsteril, C. Bruno Bayha GmbH, DE-Tuttlingen) wird die postauriculare Haut vom Knorpelgewebe gelöst. Die Haut wird in Aluminiumfolie (FORA GmbH, DE-Radolfzell) verpackt, wobei darauf geachtet wird, dass sie plan ausgebreitet ist. Bis zum Verwendungsdatum werden die Schweineohren bei –30 °C tiefgefroren (Kühl- und Gefrierkombination Premium, Liebherr-International AG, CH-Bulle).

Gewinnung von Spalthaut

Die präparierte Schweinehaut wird, auf einem mit 0,9%iger Kochsalzlösung (Natriumchlorid, Ceasar & Loretz GmbH, DE-Hilden) getränkten Tuch (WEPA comfort, WEPA Professional GmbH, DE-Amsberg), mit dem Stratum corneum nach oben aufgetaut. Dadurch wird verhindert, dass die Haut austrocknet. Eventuell noch vorhandene Verunreinigungen werden von der Hautoberfläche mit einem in 0,9%iger Kochsalzlösung getränkten Schlinggazetupfer (Größe 5, Fuhrmann GmbH, DE-Much) entfernt. Die Haut wird in Streifen geschnitten, welche auf einem in Aluminiumfolie verpackten Styroporblock (Styroporplatte Höhe 40 mm, handelsüblich) mit Stecknadeln (handelsüblich) fixiert werden. Die Haare werden mit einem elektrischen Haartrimmer (Philips QC 5115/15 Series 3000, Philips Consumer Lifestyle BV, NL-Amsterdam) auf eine Länge kleiner 5 mm gekürzt. Dabei ist darauf zu achten, dass die Haut nicht verletzt wird. Mit Hilfe eines Dermatoms (Dermatom GA 630, Aesculap AG & Co. KG, DE-Tuttlingen) wird Spalthaut mit einer Dicke von 1 mm gewonnen. Die Hautstreifen werden wiederum auf einem mit 0,9%iger Kochsalzlösung (Natriumchlorid, Ceasar & Loretz GmbH, DE-Hilden) getränkten Tuch (WEPA comfort, WEPA Professional GmbH, DE-Amsberg) ausgebreitet. Mittels Henkellocheisen (Eduard Gottfried Ferne GmbH, DE-Remscheid) wird eine kreisrunde Hautstanze herausgelöst.

Für Permeations- und Penetrationsversuche an Franzzellen beträgt der Durchmesser der Stanze 25 mm, für Ex-vivo-Substantivitätsmessungen 30 mm.

3.4.3 Herstellung von Phosphaatpuffer pH 7,4

Der Puffer setzt sich aus 2,38 g Dinatriumhydrogenphosphat (Carl Roth GmbH + Co. KG, DE-Karlsruhe) und 0,19 g Kaliumdihydrogenphosphat (Carl Roth GmbH + Co. KG, DE-Karlsruhe) zusammen. Die Salze werden in 950 mL gereinigtem Wasser gelöst, der pH-Wert, sofern dies notwendig ist, mit verdünnter Phosphorsäure (Sigma Aldrich Chemie GmbH, DE-Steinheim) eingestellt und das Volumen auf 1000 mL aufgefüllt. Die Zusammensetzung entspricht der „*Phosphat-Pufferlösung pH 7,4, natriumchloridhaltige*“ (Ph. Eur., 2014f), wobei auf die Isotonisierung mit Kochsalz verzichtet wird.

3.4.4 Herstellung von isotonem Phosphaatpuffer pH 7,4

Für den Puffer werden 8,00 g Natriumchlorid (Ceasar & Loretz GmbH, DE-Hilden), 0,20 g Kaliumchlorid (Ceasar & Loretz GmbH, DE-Hilden), 1,44 g Dinatriumhydrogenphosphat (Carl Roth GmbH + Co. KG, DE-Karlsruhe) und 0,24 g Kaliumdihydrogenphosphat (Carl Roth GmbH + Co. KG, DE-Karlsruhe) in 950 mL gereinigtem Wasser gelöst. Der pH-Wert wird anschließend mit verdünnter Phosphorsäure (Sigma Aldrich Chemie GmbH, DE-Steinheim) eingestellt und das Volumen abschließend auf 1000 mL aufgefüllt (Green und Sambrook, 2012).

3.4.5 Ex-vivo-Permeationsuntersuchungen

Ex-vivo-Permeationsuntersuchungen werden in modifizierten Franzzellen (Franzzellen, modifiziert, Gauer Glas, DE-Püttlingen) mit einem Volumen von 12 mL und einer Permeationsfläche von 2 cm² durchgeführt. Dazu werden zunächst die Schliffflächen mit Schliff fett (Hochvakuumqualität, Borer Chemie AG, CH-Zuchwil) dünn bestrichen. Die Akzeptorkammer wird mit etwa 10 mL Medium vorgefüllt und ein Magnetrührfisch eingelegt. Um trotz des geringen Volumens und der schlechten Wasserlöslichkeit von Nonivamid unter Sink-Bedingungen arbeiten zu können, wird eine Mischung aus einem Teil Phosphatpuffer pH 7,4 und einem Teil Ethanol HPLC gradient grade (Sigma Aldrich Chemie GmbH, DE-Steinheim) verwendet. Die beschriebene Mischung hat sich für den verwendeten Wirkstoff als geeignetes Medium für Permeationsuntersuchungen erwiesen (Fang et al., 1995; Kasting et al., 1997; Rottke, 2012; Wang et al., 2001).

Die nach Abschnitt 3.4.2 präparierte Spalthaut wird auf das Oberteil der Franzzellen aufgelegt und die Zelle mit einer Schlißklemme verschlossen. Durch Drehen wird überprüft, ob die Zelle dicht verschlossen ist und anschließend wird mit Hilfe einer Einmalspritze, 20 mL (B. Braun Melsungen AG, DE-Melsungen) und Kanüle (Sterican 0,80 x 120 mm, B. Braun Melsungen AG, DE-Melsungen) weiteres Medium bis kurz unterhalb des Füllstriches aufgefüllt. Sollte die Zelle nicht vollständig dicht sein, wird versucht durch Anziehen der Schlißklemme den Flüssigkeitsaustritt zu stoppen. Wenn diese Maßnahme keinen Erfolg zeigt, wird die Zelle geöffnet und die Hautstanze ausgewechselt. Die Franzzellen werden dann im Wasserbad (Wasserbad Lauda 020T, Thermo Fisher Scientific Inc., DE-Langenselbold) mit Thermostat (Thermostat Lauda alpha, Thermo Fisher Scientific Inc., DE-Langenselbold) für 30 min auf 32 °C equilibriert, was der Hautoberflächentemperatur entspricht (Neubert, Wohlrab et al., 2001), und dann mit vortemperiertem Medium bis zum Nennvolumen aufgefüllt. Um das Verdunsten von Flüssigkeit über die Versuchsdauer zu unterbinden, wird der Probenzugarm der Franzzellen mit einem 2 mL-Mikroreaktionsgefäß (Reaktionsgefäß 2 mL, VWR International GmbH, Darmstadt) abgedeckt. Die Rührgeschwindigkeit wird über die gesamte Versuchsdauer konstant bei 500 UpM gehalten (Mehrstellenrührer Variomag Poly, Thermo Fisher Scientific Inc., DE-Langenselbold).

Nachdem die Franzzellen vorbereitet und equilibriert wurden, wird die Formulierung aufgetragen. Ex-vivo-Permeationsuntersuchungen werden unter finiter Dosierung durchgeführt. Die applizierte Menge entspricht somit $2 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2}$. Dazu werden möglichst genau 8 mg der Formulierung auf eine zylindrische Applikationshilfe aus Acrylglas (Eigenanfertigung der Werkstatt des Pharmazeutischen Institutes, Universität Tübingen, DE-Tübingen) aufgetragen und exakt gewogen (Feinwaage XPE205DR, Mettler Toledo, US-Columbus). Die Applikationshilfe wird dann auf die Hautoberfläche gepresst und gleichzeitig gedreht. Hierdurch wird eine gleichmäßige Spreitung auf der Haut erreicht. Im Anschluss wird der Acrylglaszylinder erneut gewogen und das Gewicht exakt bestimmt (Feinwaage XPE205DR, Mettler Toledo, US-Columbus). Die Massendifferenz wird als aufgetragene Masse an Formulierung angesehen.

Es erfolgen insgesamt fünf Probenentnahmen aus dem Akzeptormedium, vier in dem Zeitabschnitt zwischen 20 und 32 h, eine letzte Probe wird nach 48 h gezogen. Dazu wird zunächst mit einer 1 mL-Spritze (Einmalspritze, 1 mL, B. Braun Melsungen AG, DE-Melsungen) mit Kanüle (Sterican 0,80 x 120 mm, B. Braun Melsungen AG, DE-Melsungen) das Medium, durch wiederholtes Aufziehen und Entleeren zurück in das Akzeptorkompartiment, gemischt. Dadurch wird sichergestellt, dass auch das Medium, das im Probenzugarm steht und von der Bewegung des Ma-

gnetrührstäbchens nur schlecht erfasst wird, homogen mit der Flüssigkeit im Akzeptorkompartiment gemischt ist. Anschließend wird ein Volumen von 1 mL mit einer 1 mL-Spritze (Einmalspritze, 1 mL, B. Braun Melsungen AG, DE-Melsungen) mit Kanüle (Sterican 0,80 x 120 mm, B. Braun Melsungen AG, DE-Melsungen) entnommen und in ein HPLC-Vial, N11, 1,5 mL mit Rollrand (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, DE-Düren) überführt und dieses anschließend verschlossen. Die Quantifizierung wird mit der in Abschnitt 3.4.17 aufgeführten Methode durchgeführt. Das Akzeptorkompartiment wird anschließend wieder mit frischem, vortemperiertem Medium auf das Nennvolumen aufgefüllt.

3.4.6 Ex-vivo-Penetrationsuntersuchungen

Ex-vivo-Penetrationsuntersuchungen werden ebenfalls in modifizierten Franzzellen (Franzzellen, modifiziert, Gauer Glas, DE-Püttlingen) mit 12 mL Volumen und 2 cm² Penetrationsfläche durchgeführt. Nachdem die Schliefflächen gefettet (Schlieffett Hochvakuumqualität, Borer Chemie AG, CH-Zuchwil) worden sind und ein Magnetrührstäbchen eingelegt ist, wird die Akzeptorkammer mit etwa 10 mL Medium befüllt. Um unter möglichst physiologischen Bedingungen zu arbeiten, wird eine Lösung von 4 % BSA in isotonem Phosphatpuffer pH 7,4 als Akzeptorflüssigkeit verwendet.

Durch die Zugabe von BSA wird die Sättigungslöslichkeit von lipophilen Substanzen erhöht (Cross et al., 2003). Die Penetration wird somit über die Versuchsdauer nicht durch die bereits permeierte Menge an Nonivamid beeinflusst. Nachdem die Haut auf dem Oberteil der Zelle platziert worden ist, wird die Zelle mit einer Schlieffklemme dicht verschlossen. Durch kippen und drehen der Franzzelle wird überprüft, ob diese dicht verschlossen ist. Es wird dann Medium mit einer Einmalspritze, 20 mL (B. Braun Melsungen AG, DE-Melsungen) und Kanüle (Sterican 0,80 x 120 mm, B. Braun Melsungen AG, DE-Melsungen) bis kurz unterhalb des Füllstriches ergänzt und die Zellen für 30 min bei 32 °C im Wasserbad (Wasserbad Lauda 020T, Thermo Fisher Scientific Inc., DE-Langensfeld) mit Thermostat (Thermostat Lauda alpha, Thermo Fisher Scientific Inc., DE-Langensfeld) temperiert. Dann wird vortemperiertes Medium bis zum Erreichen des Nennvolumens ergänzt. Der Probenzugarm wird mit einem 2 mL-Mikroreaktionsgefäß (Reaktionsgefäß 2 mL, VWR International GmbH, Darmstadt) abgedeckt, um Flüssigkeitsverluste zu minimieren. Die Geschwindigkeit des Magnetrührers beträgt 500 UpM (Mehrstellenrührer Variomag Poly, Thermo Fisher Scientific Inc., DE-Langensfeld).

Die durchgeführten Ex-vivo-Penetrationsuntersuchungen werden mit finiter Dosierung durch-

geführt und die Applikation der Formulierung erfolgt analog zu der in Abschnitt 3.4.5 beschriebenen Vorgehensweise.

Nach abgeschlossener Inkubationszeit werden die Franzzellen aus dem Wasserbad entnommen, die Schliffklemme wird entfernt und die Hautstanze wird von der Zelle gelöst. Um die auf der Hautoberfläche anhaftende Formulierung vollständig zu entfernen, wird diese mit einem mit 2 mL gesättigter Magnesiumsulfat-Lösung (Magnesiumsulfat-Heptahydrat, Ceasar & Loretz GmbH, DE-Hilden) getränkten Schlinggazetupfer (Größe 5, Fuhrmann GmbH, DE-Much) abgewischt. Der Tupfer wird in ein 50 mL-Zentrifugengefäß (VWR International GmbH, DE-Darmstadt) überführt. Dieser Vorgang wird ein weiteres Mal wiederholt. Anschließend wird die Penetrationsfläche mit Hilfe eines Henkellocheisens (Eduard Gottfried Ferne GmbH, DE-Remscheid) ausgestanzt und genau gewogen. Um eine weitere Penetration zu unterbinden, wird das Hautstück in einer Aluminiumform (Eigenanfertigung der Werkstatt des Pharmazeutischen Institutes, Universität Tübingen, DE-Tübingen) in flüssigem Stickstoff (Westfalen AG, DE-Münster) tiefgefroren und dort bis zur weiteren Aufarbeitung gelagert.

Zur Bestimmung der Wirkstoffmenge in den verschiedenen Hautschichten, wird die Haut in drei Fraktionen segmentiert. Dazu wird die tiefgefrorene Haut mit der Hautoberfläche nach unten in ein zylindrisches ($D = 15 \text{ mm}$) Behältnis aus Aluminiumfolie (FORA GmbH, DE-Radolfzell) gegeben und mit Einbettungsmedium (NEG 50 Richard-Allan Scientific, US-Kalamazoo) überschichtet. Bei einer Temperatur von -50°C wird die Lösung zum Erstarren gebracht. Die Haut ist nun auf dem erhaltenen Polymerzylinder fixiert. Dieser wird mit wenigen Tropfen NEG 50 (Richard-Allan Scientific, US-Kalamazoo) auf dem Probenhalter des Kryo-Microtoms (Kryotom HM 560 Cryo-Star, Thermo Fisher Scientific Inc., DE-Langenselbold) angebracht. Der Objektisch des Microtoms wird so ausgerichtet, dass die Hautoberfläche horizontal und vertikal parallel zur Klinge verläuft. Um ein Auftauen während des Präparierens zu verhindern, werden Objektisch und Klinge auf -32 bzw. -30°C gekühlt. Die Schnittdicke wird auf $16 \mu\text{m}$ eingestellt.

Die Segmentierung erfolgt nach einer von Heck (2012) vorgestellten Methode. Die ersten unvollständigen und der erste komplette Schnitt werden dem Stratum corneum zugeordnet und in einem 2 mL-Mikroreaktionsgefäß (VWR International GmbH, Darmstadt) gesammelt. Die nächsten 14 Schnitte stellen die lebende Epidermis dar und werden in ein weiteres 2 mL-Mikroreaktionsgefäß (VWR International GmbH, Darmstadt) überführt. Die letzten Schnitte gehören zur Dermis und werden in einem dritten 2 mL-Mikroreaktionsgefäß (VWR International GmbH, Darmstadt) aufbewahrt.

Um den Wirkstoff aus der Probenmatrix (Haut und Tupfer) zu extrahieren und eine Aufkonzentrierung und Aufreinigung zu erzielen, wird eine Flüssig-flüssig-Extraktion durchgeführt. Das Vorgehen ist in Abschnitt 3.4.16 beschrieben.

3.4.7 Ex-vivo-Substantivitätsmessungen in Franzzellen

Um den Kontakt von Kleidung oder Haut zur Haut bzw. zur Formulierung auf der Haut zu simulieren, wird eine selbst entworfene und von der Werkstatt des Pharmazeutischen Instituts der Universität Tübingen gebaute Apparatur verwendet. Diese ist schematisch in den Abbildungen 3.1 und 3.2 dargestellt. Sie besteht aus zwei synchron laufenden Elektromotoren, die eine Halterungsschiene auf- und abbewegen. In diese Schiene können mehrere Halterungen eingehängt werden. In jeden Halter ist wiederum ein Aluminiumstempel frei eingelegt. Die Apparatur wird so ausgerichtet, dass sich je ein Aluminiumstempel zentriert über einer Franzzelle befindet. Der Ablauf ist dann wie folgt: Zunächst bewegt sich die Schiene mit Halterungen und Stempeln nach unten. Wenn die Unterseite eines Aluminiumstempels die Hautoberfläche erreicht hat, trennt sich der Stempel von der Halterung und steht frei auf der Haut. Dies hat zur Folge, dass er mit seinem Eigengewicht auf der Formulierung und der Haut lastet. Somit wird das Messen des Anpressdrucks überflüssig. Der Anpressdruck ergibt sich aus dem Gewicht des Werkzeugs und der Stempelfläche. Nachdem der Halter seinen unteren Totpunkt überschritten hat, bewegt er sich wieder nach oben und hebt den Stempel dabei wieder an. Die Apparatur bewegt sich nun so lange nach oben, bis der obere Totpunkt erreicht ist. Dann beginnt der Zyklus von Neuem.

Um Haut-zu-Haut-Kontakt zu simulieren, wird auf den Stempel ein Stück Spalthaut mit einem Cyanoacrylat-Klebstoff (UHU blitzschnell, UHU GmbH & Co. KG, DE-Bühl/Baden) fixiert. Für Haut-Textil-Kontakt wird ein Stück naturbelassenen Stoffes mit einem doppelseitigen Klebeband (tesa SE, DE-Norderstedt) angebracht.

Die Geschwindigkeit der Apparatur ist regelbar. Um den Anpressdruck zu variieren, werden Stempel mit unterschiedlichem Gewicht gefertigt (Werkstatt des Pharmazeutischen Instituts, Universität Tübingen, DE-Tübingen).

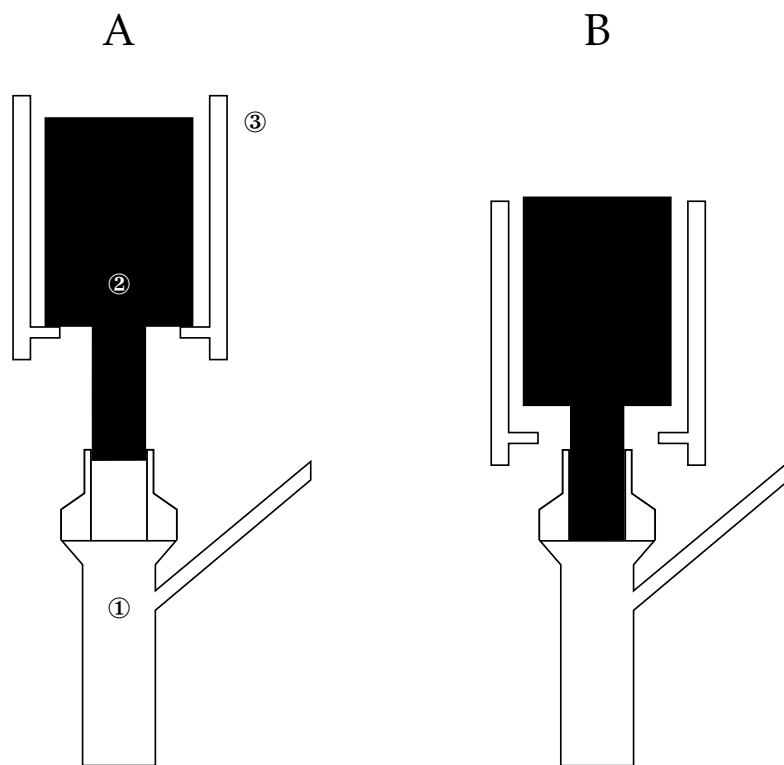


Abbildung 3.1: Schematischer Aufbau des Testsystems für Ex-vivo-Substantivitätsmessungen in Franzzellen. Abgebildet sind eine Franzzelle ①, Aluminiumstempel ② und Halterung ③ in der Ausgangsposition (A) und am unteren Totpunkt (B).

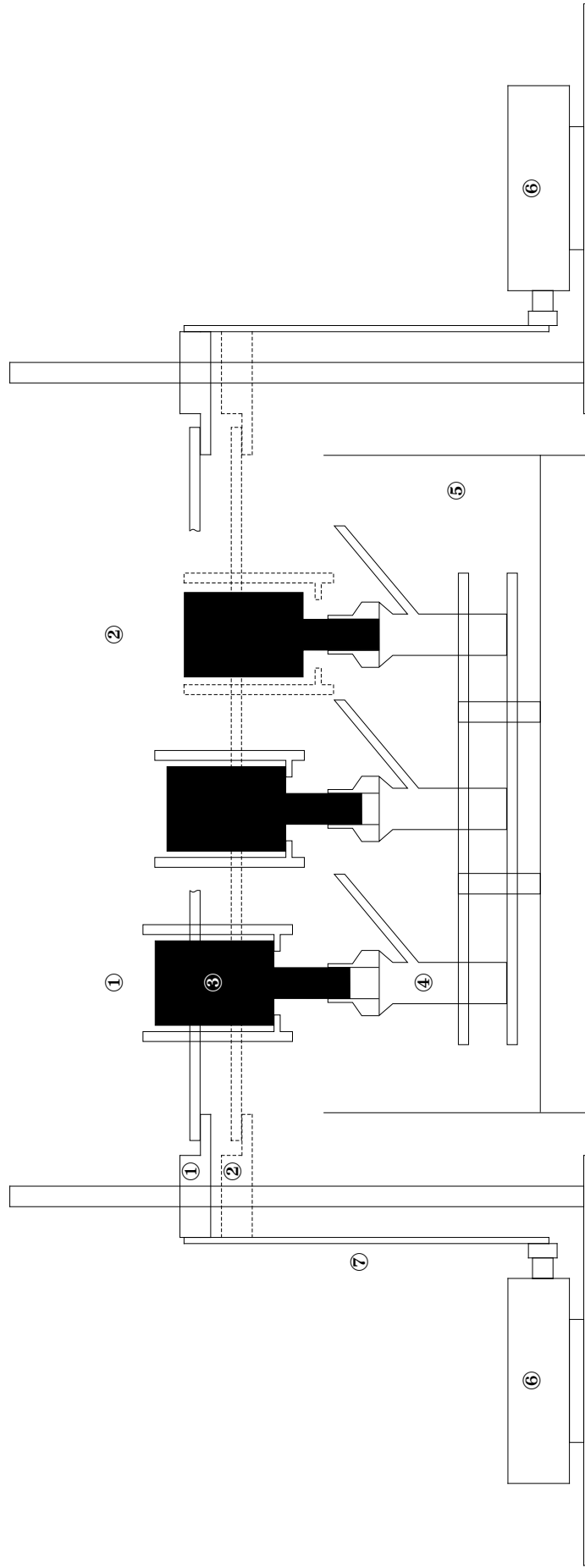


Abbildung 3.2: Schematischer Aufbau des Testsystems für Ex-vivo-Substantivitätsmessungen in Franzzellen. Abgebildet sind die Positionen am oberen Totpunkt ① und unteren Totpunkt ②, Aluminiumstempel ③, Franzzelle ④, Wasserbad ⑤, zwei synchron geschaltete Elektromotoren ⑥ und das exzentrisch gelagerte Gestänge ⑦

3.4.8 In-vivo-Substantivitätsmessungen

Die Untersuchungen wurden an freiwilligen Probanden erzielt. Die Probanden wurden im Voraus über den Ablauf der Studie aufgeklärt und es wurde auf die Freiwilligkeit hingewiesen. Es stand den Probanden zu jeder Zeit frei, die Untersuchung zu beenden. Die Genehmigung der Studie erfolgte durch die Ethikkommission der Universität Belgrad und ist unter der Nummer 2298/2 registriert.

Aufgrund der pharmakologischen Aktivität von Nonivamid und der Tatsache, dass der Wirkstoff über die Zeit in tiefere Hautschichten penetriert, wurde für In-vivo-Experimente der Wirkstoff Nonivamid durch den Sonnenschutzfaktor Avobenzon ersetzt. Avobenzon wird als UV-A-Sonnenschutzfaktor in dermalen Zubereitungen verwendet. Es penetriert in vernachlässigbar geringen Mengen in tiefere Hautschichten (Chatelain et al., 2003). Dies hat zum einen den Vorteil, dass die Untersuchungen für die Probanden unbedenklich sind. Zum anderen ist applizierte Menge vollständig analytisch erfassbar, da sich nur zwei Fraktionen, Hautoberfläche und entfernter Anteil, bilden. Die Ergebnisse sind dadurch einfacher zu interpretieren. Die Herstellung der verwendeten Formulierungen erfolgt nach den in Abschnitt 3.4.1 genannten Methoden. Den Freiwilligen wird am Oberarm mit einer Schablone eine quadratische Fläche mit einer Größe von 3 cm × 3 cm markiert. Auf der hautberührenden Seite der Kleidung wird nun ein 6 cm × 6 cm großes Textilstück aus naturbelassenem Stoff mit Sicherheitsnadeln befestigt. Das Textilstück wird dabei so platziert, dass die markierte Fläche vollständig bedeckt ist. Es werden insgesamt etwa 18 mg Formulierung aufgetragen. Dazu wird für die hydrophile Creme ein Schlinggazetupfer (Größe 5, Fuhrmann GmbH, DE-Much) tariert und möglichst genau 36 mg der Creme auf den Tupfer abgewogen (Analysenwaage ABJ 120-4M, Kern & Sohn GmbH, DE-Balingen). Die Zubereitung wird dann auf der zuvor markierten Fläche aufgetragen. Danach wird der Tupfer erneut gewogen (Analysenwaage ABJ 120-4M, Kern & Sohn GmbH, DE-Balingen). Die Differenz entspricht der aufgetragenen Menge. Die flüssige Emulsion wird appliziert, indem auf einem abgeschnittenen Finger eines Nitrilhandschuhs (Safeskin Purple Nitrile, Serimed GmbH & Co. KG, DE-Zeulenroda-Triebes) möglichst exakt 36 mg abgewogen werden (Analysenwaage ABJ 120-4M, Kern & Sohn GmbH, DE-Balingen). Das abgeschnittene Handschuhsegment wird dann über einen Finger gezogen und die Formulierung auf der markierten Stelle verteilt. Nach Zurückwiegen (Analysenwaage ABJ 120-4M, Kern & Sohn GmbH, DE-Balingen) des Fingerteils, erhält man die applizierte Menge. Anschließend wird eine Wartezeit von 10 min eingehalten, damit die

Formulierungen trocknen können. Erst dann wird das Kleidungsstück mit dem angehefteten Textilstück über die markierte Fläche gezogen. Die Probanden haben anschließend drei Stunden zur freien Verfügung. Um möglichst realitätsnahe Ergebnisse zu erhalten, sollten sie ihren normalen Tätigkeiten nachgehen. Im Anschluss wird die markierte Hautfläche mit einem mit 2 mL Wasser getränkten Schlinggazetupfer (Größe 5, Fuhrmann GmbH, DE-Much) abgewischt. Dieser Vorgang wird ein weiteres Mal wiederholt. Die Tupfer werden in einem 50 mL-Zentrifugengefäß (VWR International GmbH, DE-Darmstadt) gesammelt. Zur Extraktion des Avobenzens werden 10 mL Methanol HPLC gradient grade (Carl Roth GmbH + Co. KG, DE-Karlsruhe) hinzugefügt. Das Textilstück wird in ein zweites 50 mL-Zentrifugengefäß (VWR International GmbH, DE-Darmstadt) gegeben und mit einer Mischung aus 4 mL Wasser und 10 mL Methanol HPLC gradient grade (Carl Roth GmbH + Co. KG, DE-Karlsruhe) extrahiert. Jedes Gefäß wird im Anschluss für 60 s bei 1500 UpM geschüttelt (ZX Classic, VELP Scientifica s.r.l., IT-Usmate) und dann für 60 min im Ultraschallbad Sonorex Super RK 510 H, Bandelin electronic GmbH & Co. KG, DE-Berlin) extrahiert. Die Quantifizierung der enthaltenen Avobenzonmenge erfolgt mittels UV-Spektroskopie, wie in Abschnitt 3.4.18 beschrieben.

3.4.9 Ex-vivo-Substantivitätsmessungen

Das Vorgehen entspricht der von Herrmann et al. (2016) entwickelten Methode zur Bestimmung der Substantivität durch simulierten Haut-Haut-Kontakt. Zunächst wird Spalthaut, wie in Abschnitt 3.4.2 beschrieben, vorbereitet. Die Hautstanzen werden dann auf zwei temperierbaren Stahlzylindern fixiert (Eigenanfertigung der Werkstatt des Pharmazeutischen Institutes, Universität Tübingen, DE-Tübingen). Der Versuch wird bei Hautoberflächentemperatur in Höhe von 32 °C durchgeführt. Es werden 2 mg · cm⁻² Formulierung aufgetragen. Die applizierte Menge wird über Differenzwägung erhalten. Dazu werden zunächst möglichst genau 8 mg Formulierung auf einer zylindrischen Applikationshilfe aus Acrylglas (Eigenanfertigung der Werkstatt des Pharmazeutischen Institutes, Universität Tübingen, DE-Tübingen) abgewogen (Feinwaage XPE205DR, Mettler Toledo, US-Columbus) und das exakte Gewicht notiert. Der Acrylglaszylinder wird auf die Hautoberfläche gepresst und gleichzeitig gedreht. Die Zubereitung wird dadurch gleichmäßig auf der Hautoberfläche verteilt. Durch erneutes Wiegen (Feinwaage XPE205DR, Mettler Toledo, US-Columbus) der Applikationshilfe kann die Massendifferenz und somit die Menge an aufgetragener Formulierung bestimmt werden.

Der Formulierung wird dann 10 min Zeit gegeben, um zu temperieren und zu trocknen. Das

Hautstück des oberen Zylinders wird währenddessen durch Parafilm abgedeckt, was ein Austrocknen verhindert. Die Stahlzylinder werden an einem Materialprüfer (Materialprüfer BDO-FB0.5TS, ZwickRoell GmbH & Co. KG, DE-Ulm) fixiert. Dabei ist der untere Zylinder mit der aufgetragenen Formulierung statisch. Der zweite Zylinder ist zentriert darüber angebracht und dynamisch. Durch Starten der Messung fährt der obere Zylinder auf den unteren Zylinder mit der fixierten Hautstanze herunter und übt dort für 50 s eine Kraft von 10 N aus. Anschließend kehrt der obere Zylinder wieder in seine Startposition zurück. Die Hautoberfläche wird dann mit einem mit 2 mL Phosphatpuffer pH 7,4 getränkten Schlinggazetupfer (Größe 5, Fuhrmann GmbH, DE-Much) abgewischt. Dies wird mit einem zweiten Tupfer wiederholt. Beide Tupfer werden in einem 50 mL-Zentrifugengefäß (VWR International GmbH, DE-Darmstadt) gesammelt. Es werden dann 4 mL Methanol HPLC gradient grade (Carl Roth GmbH + Co. KG, DE-Karlsruhe) zugefügt und das Gefäß für 60 s bei 1500 UpM geschüttelt (Vibrofix VF1, IKA-Werke GmbH & CO. KG, DE-Staufen). Um den Wirkstoff trotz der geringen Flüssigkeitsmenge vollständig zu extrahieren, wird das Gefäß für 30 min im Ultraschallbad (Ultraschallbad Sonorex Super RK 510 H, Bandelin electronic GmbH & Co. KG, DE-Berlin) behandelt. Durch Zentrifugation bei 5000 UpM für 15 min (Megafuge 1.OR, Heraeus Holding GmbH, DE-Hanau) werden Schwebstoffe abgetrennt. Es werden 1000 µL (Luftpolsterpipette Research plus 100-1000 µL, Eppendorf AG, DE-Hamburg) der Lösung in ein HPLC-Vial, N11, 1,5 mL mit Rollrand (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, DE-Düren) überführt. Die enthaltene Menge Nonivamid wird mittels HPLC mit der Methode aus Abschnitt 3.4.17 ermittelt.

3.4.10 Rheologische Messungen

Oszillationsmessungen

Das rheologische Verhalten der Zubereitungen wird mit einem Rotationsviskosimeter (Rheometer Physica MCR 501, Anton Paar, CH-Graz) mit Platte-Platte-Messsystem ($D = 25$ mm) bestimmt. Die Messung besteht aus einer Vorscherung, einer anschließenden Ruhephase sowie der eigentlichen Messung. Die Messparameter sind in Tabelle 3.10 aufgeführt. Der Messspalt beträgt 0,2 mm. Die Messungen werden bei 5 °C und 32 °C durchgeführt. Die Messpunktabstände sind logarithmisch verteilt.

Verlustmodul G'' und Speichermodul G' werden im linear-viskoelastischen Bereich bestimmt. Der Verlustfaktor $\tan \delta$ wird über Gleichung 2.9 berechnet.

Tabelle 3.10: Messparameter der oszillatorischen Messungen

Parameter	Vorscherung	Ruhephase	Messung
Schergeschwindigkeit [s^{-1}]	5		
Frequenz [Hz]			1
Deformation [%]			0,01 bis 1000
Messpunktdauer [s]	1	1	6
Messpunkte	40	660	100

Temperaturabhängige Viskositätsmessungen

Um die Viskosität in Abhängigkeit von der Temperatur zu bestimmen, wird eine oszillatorische Messung mit festgelegter Frequenz und Deformation durchgeführt. Es wird ein Rheometer vom Typ Physica MCR 501 (Anton Paar, CH-Graz) mit Platte-Platte-Messkörper ($D = 25 \text{ mm}$) eingesetzt. Das Messsystem wird zunächst auf $5 \text{ }^\circ\text{C}$ temperiert. Nach einer Vorscherung von 20 s bei $5 \text{ }^\circ\text{C}$ mit einer Schergeschwindigkeit von 5 s^{-1} , folgt eine Ruhephase mit einer Länge von 660 s . So wird zum einen sichergestellt, dass alle Proben gleich vorbehandelt werden und, dass das Probenmaterial die eingestellte Temperatur erreicht. Die Messung wird bei 1 Hz und $0,1 \text{ \%}$ Deformation durchgeführt. Die Temperatur wird während der Messung mit einer Heizrate von $1 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$ bis auf $40 \text{ }^\circ\text{C}$ erhöht. Es werden 35 Messpunkte mit einer Messpunktdauer von 1 min aufgezeichnet.

Maximale Viskositätszunahme

Um die maximale Viskositätszunahme in Abhängigkeit von der Temperatur zu bestimmen, wird eine Rotationsmessung durchgeführt. Gearbeitet wird mit dem Rheometer vom Typ Physica MCR 501 (Anton Paar, CH-Graz) und einem Platte-Platte-Messsystem. Aufgrund der geringen Viskosität der Probenlösungen wird ein Prüfkörper mit einem Durchmesser von 50 mm verwendet. Der Messablauf ist in Tabelle 3.11 dargestellt. Es wird ein Temperaturbereich von 0 bis $80 \text{ }^\circ\text{C}$ untersucht. Die Heizrate beträgt $2 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$. Da es sich um Flüssigkeiten handelt, wird auf eine Ruhephase verzichtet. Im Anschluss an die Messung wird die erste Ableitung der Kurve der Viskosität gegen die Zeit berechnet. Der resultierende Hochpunkt der ersten Ableitung entspricht dem Wendepunkt und somit der maximalen Viskositätszunahme.

Tabelle 3.11: Messparameter zur Bestimmung der maximalen Viskositätszunahme

Parameter	Vorsicherung	Messung
Schergeschwindigkeit [s^{-1}]	5	5
Temperatur [$^{\circ}C$]	0	0 bis 80
Messpunktdauer [s]	1	60
Messpunkte	180	40

3.4.11 Tropfengrößenbestimmung

Die Tropfengröße der Emulsionen wird mittels Laserdiffraktometrie (Mastersizer 2000 mit Hydro 2000s & Malvern Instruments, UK-Malvern) bestimmt. Dazu werden etwa 200 μ L (Luftpols-terpipette Research plus 20-200 μ L, Eppendorf AG, DE-Hamburg) der Probe in 10 mL Wasser dispergiert. Diese Mischung wird dann in die Probenaufnahme des Mastersizer gegeben, bis die Verdunklung zwischen 10 und 20 % liegt. Die Rührergeschwindigkeit ist dabei konstant auf 2000 UpM eingestellt. Nach der Probenzugabe wird mit einem Zeitversatz von 60 s die Messung gestartet. Dabei wird das Signal dreimal für jeweils 30 s aufgezeichnet, der Hintergrund jeweils für 10 s. Zwischen den drei Teilmessungen besteht kein zeitlicher Abstand. Aus den drei aufgenommenen Signalen wird ein Mittelwert für D10, D50 und D90 gebildet. Es werden drei Wiederholungsmessungen durchgeführt.

3.4.12 Mikroskopische Betrachtung

Die Betrachtung erfolgt mittels Lichtmikroskop (Axio Imager Z1, Carl Zeiss AG, DE-Jena). Dazu wird ein Tropfen demineralisiertes Wasser auf einem Objektträger (VWR International GmbH, DE-Darmstadt) vorgelegt und ein Tropfen der zu betrachtenden Emulsion dazugegeben. Beim Auflegen des Deckglases (22 mm \times 22 mm, handelsüblich) ist darauf zu achten, dass sich keine Luft einschließen bilden. Durch diese Verdünnung kann die Probe besser durchleuchtet werden und es gelingen aussagekräftigere Aufnahmen. Das verwendete Objektiv erzeugt eine 63-fache Vergrößerung (Plan-Apochromat 63x/1,4 Oil). Von jeder Probe werden mindestens drei Ausschnitte ausgewählt und mit der im Mikroskop verbauten Kamera (AxioCam MRm, Carl-Zeiss AG, DE-Jena) aufgenommen.

3.4.13 Leitfähigkeit

Die verschiedenen Möglichkeiten, um die Phasenlage von Emulsionen zu bestimmen, sind im allgemeinen Teil, in Kapitel 2.4, kurz beschrieben. In der vorliegenden Arbeit wird die Phasenlage durch Bestimmen der Leitfähigkeit ermittelt.

Die Emulsionen werden, wie in Abschnitt 3.4.1 beschrieben, zubereitet, in ein 50 mL Zentrifugengefäß gefüllt und dicht verschlossen. Um eine gleichmäßige Temperatur zu gewährleisten, werden die Zubereitungen für 24 h am Arbeitsplatz bei Raumtemperatur gelagert. Die Leitfähigkeit wird mittels Konduktometer (Labor-Konduktometer 702, Knick Elektronische Messgeräte GmbH & Co. KG, DE-Berlin) bestimmt. Dazu wird die Sonde in die Flüssigkeit getaucht, sodass die Elektroden vollständig bedeckt sind. Die Leitfähigkeit wird abgelesen, sobald sich ein stabiler Wert eingestellt hat. Zum Vergleich wird auch die Leitfähigkeit der wässrigen Phase der Emulsion sowie die Leitfähigkeit von mittelkettigen Triglyceriden bestimmt. Es erfolgt eine Einmalbestimmung.

3.4.14 Bestimmung der Lagerstabilität

Aufgrund der Tatsache, dass Emulsionen thermodynamisch instabile Systeme sind, muss auch die physikalische Stabilität beachtet werden. Wobei mit Stabilität nur eine bestimmte Zeitspanne gemeint sein kann. Die Lagerstabilität der Emulsionen wird bei verschiedenen Temperaturen beurteilt. Um ein homogenes Ausgangsmaterial verwendet zu können wird für jede Lagertemperatur eine Charge mit je 50 g hergestellt und gleichmäßig auf vier Gefäße verteilt. Diese werden verschlossen und zusätzlich mit Parafilm abgedichtet, um einen Flüssigkeitsverlust zu unterbinden. Die Gefäße werden bei der entsprechenden Temperatur eingelagert. Als Lagertemperatur werden neben Raumtemperatur auch konstante 40 °C gewählt (Klimaschrank Typ CB150, Fa. BINDER GmbH, DE-Tuttlingen). Außerdem werden Gefäße bei wechselnden Temperaturbedingungen eingelagert (Kühl- und Brutschrank Typ 3401, Rubarth Apparate GmbH, DE-Laatzten) Dabei wird innerhalb von 24 h zweimal zwischen –5 und 40 °C gewechselt. Der detaillierte Temperaturverlauf ist in Abbildung 3.3 zu sehen.

Zu festgelegten Zeitpunkten werden die Tropfengröße nach der Methode in Abschnitt 3.4.11 sowie die rheologischen Eigenschaften nach der Methode in 3.4.10 bestimmt.

Das Gewicht der Gefäße wird zu Beginn bestimmt und dann am Tag der Messung vor Messbeginn sowie am Ende der Messungen erneut gewogen (Analysenwaage Extend ED224S, Sartorius

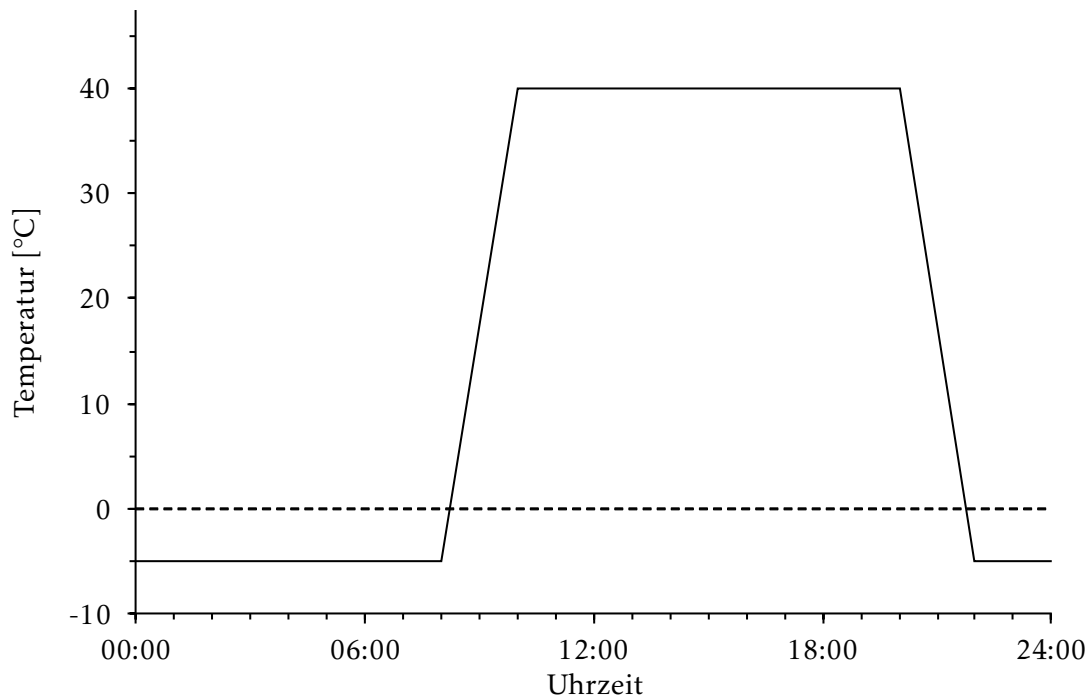


Abbildung 3.3: Verlauf des Temperaturgradienten über 24 h

AG, DE-Göttingen). So kann ein Massenverlust während der Lagerung detektiert werden.

Um auszuschließen, dass der Füllungsgrad einen Einfluss auf die Messungen hat, werden die Messungen an den Tagen 1, 3, 7 und 14 aus dem ersten Gefäß entnommen. Die folgenden beiden Messungen an Tag 21 und 28 aus Gefäß zwei und die weiteren Messungen aus dem dritten Gefäß. Die entnommene Menge kann dadurch vernachlässigt werden.

3.4.15 Trübungspunktmessungen

Der Trübungspunkt von Methylcellulose-Lösungen wird mittels Transmissionsmessungen bei einer Wellenlänge von 800 nm durchgeführt. Der Versuchsaufbau ist schematisch in Abbildung 3.4 gezeigt.

Die zu untersuchende Lösung wird in ein mit Aluminiumfolie (FORA GmbH, DE-Radolfzell) umwickeltes Gewindeglas eingefüllt und mit einem Deckel verschlossen. Im Deckel befinden sich zwei kleine Bohrungen, durch die ein Temperaturfühler (GMH 3700 Series Pt 100 Thermometer, GMH Messtechnik GmbH, DE-Regenstauf) sowie eine Messsonde (Falcata Lab, Hellma GmbH & Co. KG, DE-Müllheim) zur Transmissionsmessung in die Flüssigkeit eingetaucht werden können. Der Messspalt der Sonde beträgt 10 mm. Um ein Verdunsten der Flüssigkeit zu verhindern, sind die Öffnungen im Durchmesser nur minimal größer, als der Fühler bzw. die Sonde. Der Spalt zwischen Bohrung und Fühler bzw. Sonde wird mit Aluminiumfolie (FORA GmbH, DE-Radolfzell)

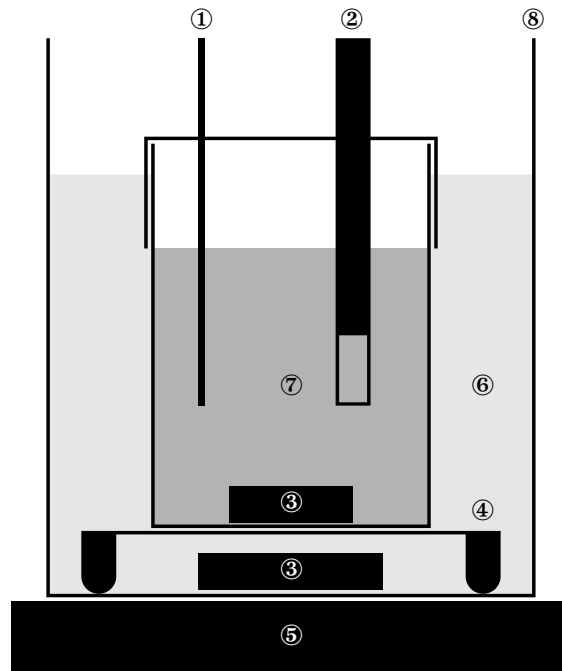


Abbildung 3.4: Schematischer Aufbau der Trübungspunktmessung von Methylcellulose-Lösungen. Thermometer ①, Messsonde ②, Magnetrührstäbchen ③, perforiertes Stativ ④, beheizbarer Magnetrührer ⑤, Wasserbad ⑥, Testlösung ⑦, Becherglas ⑧

abgedichtet. Die Messsonde (Falcata Lab, Hellma GmbH & Co. KG, DE-Müllheim) ist über einen optischen Leiter mit einem Photometer (Lambda 35 UV/Vis Spektrometer, Perkin Elmer, US-Waltham) verbunden. Um eine gleichmäßige Temperierung zu erreichen, wird das Gefäß mit der Probelösung auf ein perforiertes Stativ in ein mit 450 ± 5 g Wasser befülltes Becherglas gestellt. Die Wassermenge richtet sich nach der Größe der verwendeten Gefäße. So muss die Probenflüssigkeit vollständig von Wasser umgeben sein. Durch eine konstante Menge Wasser kann eine gleichbleibende Heizrate erreicht werden. Die Temperatur der Heizplatte wird auf $250 \text{ }^\circ\text{C}$ und der Thermostat auf $100 \text{ }^\circ\text{C}$ eingestellt (Magnetrührer MR 3001K mit Thermostat EKT 3001, Heidolph Instruments GmbH & CO. KG, DE-Schwabach). Das Wasserbad und die Probelösung werden mit einem Magnetrührer bei 200 UpM durchmischt. Vor Beginn der Messung wird das Signal auf eine Transmission von 100% genullt und anschließend die Messung gestartet. Die Temperatur wird dabei kontinuierlich um $2 \text{ K} \cdot \text{min}^{-1}$ gesteigert. Die Transmission und die exakte Temperatur werden alle 15 s aufgezeichnet.

Der Trübungspunkt wird als die Temperatur angesehen, bei der die Transmission halbmaximal

abgeschwächt wird. Siehe dazu Gleichung 3.1.

$$\tau_{\frac{Max}{2}} = \tau_{t=0}(800\text{ nm}) - \left(\frac{\tau_{t=0}(800\text{ nm}) - \tau_{t=\infty}(800\text{ nm})}{2} \right)$$

mit $\tau_{\frac{Max}{2}}$ = Transmission bei halbmaximaler Abschwächung (3.1)

$\tau_{t=0}$ = Transmission zum Beginn der Messung

$\tau_{t=\infty}$ = Transmission zum Ende der Messung

Die dazugehörige Temperatur wird über lineare Regression ermittelt. Dazu wird der Datenpunkt ober- und unterhalb des ermittelten Transmissionswertes $\tau_{\frac{Max}{2}}$ herangezogen. Aus den beiden Punkten wird mittels linearer Regression eine Geradengleichung ermittelt und die Temperatur der halbmaximalen Abschwächung intrapoliert.

Die Methylcellulosekonzentration darf nicht zu hoch gewählt werden, da für aussagekräftige Ergebnisse eine ständige Durchmischung gewährleistet sein muss. Vor allem im Messspalt der Transflexionssonde ist dies, bei hohen Polymerkonzentrationen und dem damit verbundenen starken Viskositätsanstieg mit steigender Temperatur, problematisch. Die Kraft des Magnetrührers reicht dann nicht mehr aus, um eine gleichmäßige Durchmischung der Lösung zu garantieren. In der vorliegenden Arbeit werden daher nur Lösungen mit einer Methylcellulose-Konzentration von 0,5 % untersucht.

3.4.16 Flüssig-flüssig-Extraktion

Bei dieser Art der Extraktion wird ausgenutzt, dass zwei Flüssigkeiten aufgrund ihrer Polarität nicht miteinander mischbar sind. Entsprechend des Verteilungskoeffizienten verteilen sich gelöste Substanzen in den beiden Phasen. Stark hydrophile oder lipophile Stoffe reichern sich in einer der beiden Phasen an. In der Regel werden dazu nicht mit Wasser mischbare organische Lösemittel wie zum Beispiel Octanol oder Dichlormethan verwendet. Diese können jedoch, eben weil sie nicht mit Wasser mischbar sind, nicht direkt per HPLC analysiert werden. Der erhaltene Überstand muss daher zunächst abdunsten und der Rückstand in einem geeigneten Lösemittel rekonstituiert werden. Neben dem erhöhten Arbeitsaufwand sind auch verstärkte Verluste an Analyt zu erwarten.

Es ist jedoch auch möglich mit anderen organischen Lösemitteln eine Flüssig-flüssig-Extraktion durchzuführen. Acetonitril, zum Beispiel, lässt sich bei hohen Salzkonzentrationen nicht mehr

mit Wasser mischen (Hyde et al., 2017; Valente et al., 2013). Somit kann der entstehende organische Überstand direkt mittels HPLC analysiert werden. In dieser Arbeit wird das Probenmaterial dazu mit gesättigter Magnesiumsulfat-Lösung (Magnesiumsulfat-Heptahydrat, Ceasar & Loretz GmbH, DE-Hilden) versetzt. Diese Lösung wird erhalten, indem solange Magnesiumsulfat zu Wasser gegeben wird, bis sich ein dauerhafter Bodensatz bildet. Der Ansatz wird dann bis zur Verwendung, jedoch für mindestens 24 h, bei Raumtemperatur ständig gerührt (Magnetrührer MR 3001K, Heidolph Instruments GmbH & CO. KG, DE-Schwabach). Die Mischung wird dann mit einer Lösung aus Avobenzon (Symrise AG, DE-Holzminden) in Acetonitril HPLC gradient grade (J.T. Baker, Avantor performance Materials B.V., NL-Deventer) überschichtet. Avobenzon zeigt strukturelle Ähnlichkeit mit Nonivamid (Siehe Abbildung 3.5) und wird als interner Standard verwendet. Da es sich bei Nonivamid und Avobenzon um stark lipophile Substanzen handelt, sind sie in Acetonitril gut löslich. Im vorliegenden Zweiphasensystem aus gesättigter Magnesiumsulfat-Lösung und Acetonitril verteilen sich Nonivamid und Avobezon entsprechend ihres Verteilungskoeffizienten. Somit können beide Stoffe in der organischen Phase angereichert werden. In Acetonitril ist Avobenzon stabil und die Photolabilität der Substanz spielt in diesem Lösemittel über die Versuchsdauer keine Rolle (Trebše et al., 2016).

3.4.16.1 Eignung der Methode

Um die Methode zu prüfen, wird zunächst Nonivamid (Sigma Aldrich Chemie GmbH, DE-Steinheim), Avobenzon (Symrise AG, DE-Holzminden) und ein Gemisch aus beiden Stoffen mit der Methode ausgeschüttelt und das Verhalten der Substanzen bzw. deren Gemisch untersucht. Aufgrund der schlechten Wasserlöslichkeit von Nonivamid und Avobenzon werden die Stoffe in Acetonitril HPLC gradient grade (J.T. Baker, Avantor performance Materials B.V., NL-Deventer) vorgelegt. Die Konzentration der Substanzen beträgt etwa $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. Zu $1000 \mu\text{L}$ (Luftpolsterpipette Research plus 100-1000 μL , Eppendorf AG, DE-Hamburg) gesättigter Magnesiumsulfat-Lösung (Magnesiumsulfat-Heptahydrat, Ceasar & Loretz GmbH, DE-Hilden) werden $200 \mu\text{L}$ der organischen Lösung hinzupipettiert (Luftpolsterpipette Research plus 20-200 μL , Eppendorf AG, DE-Hamburg). Anschließend wird das Gemisch erst für 60 min bei 1000 UpM geschüttelt (BioShake IQ, Analytik Jena AG, DE-Jena) und dann bei 13 400 UpM für 15 min (miniSpin, Eppendorf AG, DE-Hamburg) zentrifugiert. Der organische Überstand wird in ein HPLC-Vial (HPLC-Vial, N8, 1,5 mL mit Gewinde mit HPLC-Vial-Einsatz, 0,15 mL 9 mm Spitze, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, DE-Düren) überführt und mit der Methode aus 3.4.17 analysiert. Das Vorgehen ent-

spricht somit dem Prozedere, das auch bei der Aufarbeitung der Hautproben angewendet wird.

Die wässrige Phase kann wegen der sehr hohen Salzkonzentration und dem damit verbundenen Risiko von Ausfällungen nicht mittels HPLC analysiert werden.

Auch wenn sich durch das zugesetzte Magnesiumsulfat zwei Phasen bilden, ist die Löslichkeit des Acetonitrils in der gesättigten Salzlösung nicht gleich null. Daher entspricht das zugesetzte Volumen der organischen Flüssigkeit nicht dem Volumen des späteren Überstandes. Da somit weder die Konzentration in der wässrigen Phase direkt erfasst werden kann, noch aus der Differenz aus Stammlösung und ausgeschüttelter organischer Phase rechnerisch ermittelt werden kann, ist eine Kalkulation des Verteilungskoeffizienten nach Gleichung 3.2 nicht möglich. Es bleibt die Möglichkeit, die detektierten Peakflächen der Stammlösung und des ausgeschüttelten Überstands zu vergleichen. Man erhält daraus Informationen, ob sich Analyt und interner Standard vergleichbar verhalten und ob die Methode zu reproduzierbaren Ergebnissen führt. Die Ergebnisse sind im Anhang in Tabelle 7.13 aufgelistet.

$$V_k = \frac{c_o}{c_w}$$

mit V_k = Verteilungskoeffizient (3.2)

c_o = Konzentration in der organischen Phase

c_w = Konzentration in der wässrigen Phase

3.4.16.2 Extraktion aus Hautproben

Um den penetrierten Wirkstoff aus den Hautproben zu extrahieren, werden in das 2 mL-Mikroreaktionsgefäß (VWR International GmbH, Darmstadt) mit den Hautschnitten 1000 µL (Luftpolsterpipette Research plus 100-1000 µL, Eppendorf AG, DE-Hamburg) gesättigte Magnesiumsulfat-Lösung und 200 µL (Luftpolsterpipette Research plus 20-200 µL, Eppendorf AG, DE-Hamburg) einer Lösung von Avobenzon (Symrise AG, DE-Holzminden) in Acetonitril HPLC gradient grade (J.T. Baker, Avantor performance Materials B.V., NL-Deventer) gegeben. Das Probengefäß wird dann bei 22 °C und 1000 UpM für 60 min geschüttelt (BioShake IQ, Analytik Jena AG, DE-Jena). Die Mischung wird für 15 min bei 13 400 UpM (miniSpin, Eppendorf AG, DE-Hamburg) zentrifugiert, um das organische Lösemittel abzutrennen. Es werden dann 100 µL (Luftpolsterpipette Research 10-100 µL, Eppendorf AG, DE-Hamburg) des organischen Überstands in ein HPLC-Vial, N8, 1,5 mL mit Gewinde (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, DE-Düren) mit Einsatz HPLC-Vial-

Einsatz, 0,15 mL 9 mm Spitze (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, DE-Düren) überführt. Die Gehaltsbestimmung von Nonivamid und Avobenzon erfolgt mit der Methode, die in Abschnitt 3.4.17 aufgeführt ist.

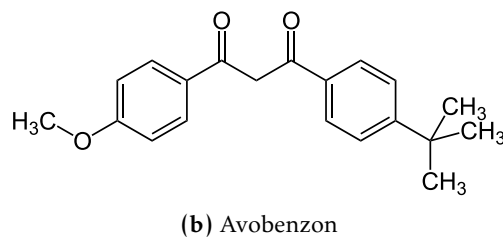
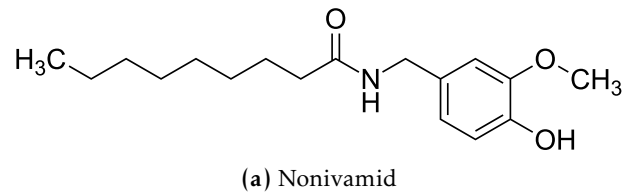


Abbildung 3.5: Strukturformeln von Nonivamid (3.5a) und Avobenzon (3.5b).

Die exakte Konzentration der Avobenzon-Standardlösung wird ebenfalls mittels HPLC bestimmt. Die enthaltene Menge Nonivamid wird auf den Gehalt an Standardsubstanz bezogen.

3.4.16.3 Extraktion aus Schlinggazetupfern

Die Extraktion der abgewischten Formulierung aus Schlinggazetupfern erfolgt nach der oben beschriebenen Flüssig-flüssig-Extraktion. Dazu werden die Tupfer mit 10 mL gesättigter Magnesiumsulfat-Lösung überschichtet und 2 mL (Luftpolsterpipette Transferpette S, D-5000, Typ variabel 500-5000 μ L, Brand GbH + Co. KG, DE-Wertheim) Acetonitril HPLC gradient grade (J.T. Baker, Avantor performance Materials B.V., NL-Deventer) mit Avobenzon (Symrise AG, DE-Holzminden) als internem Standard dazupipettiert. Das Gefäß wird dann für 60 s bei 1500 UpM (IKA Vibrax, IKA-Werke GmbH & CO. KG, DE-Staufen) intensiv geschüttelt. Durch Zentrifugieren bei 5000 UpM für 15 min (Megafuge 1.OR, Heraeus Holding GmbH, DE-Hanau) wird das Acetonitril abgetrennt, so dass es sich oben absetzt. Mit einer Pipette werden 500 μ L (Luftpolsterpipette Research plus 100-1000 μ L, Eppendorf AG, DE-Hamburg) der organischen Phase in ein HPLC-Vial, N11, 1,5 mL mit Rollrand (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, DE-Düren) überführt. Die Quantifizierung der Inhaltsstoffe erfolgt mit dem in Abschnitt 3.4.17 erläuterten Verfahren.

3.4.17 HPLC-Analytik

3.4.17.1 Nonivamid in ethanolhaltigem oder methanolhaltigem Phosphatpuffer

Die Quantifizierung von Nonivamid in ethanolhaltigem oder methanolhaltigem Phosphatpuffer erfolgt mit einem Dionex HPLC-System (Bauteile siehe Tabelle 3.2). Die verwendete Säule ist vom Typ HPLC column Nucleosil 100-5 C8 EC 125/4 (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, DE-Düren). Zur Analyse wird ein Fließmittelgradient aus Acetonitril HPLC gradient grade (J.T. Baker, Avantor performance Materials B.V., NL-Deventer) und Phosphorsäure (Sigma Aldrich Chemie GmbH, DE-Steinheim) pH 3 verwendet. Zu Beginn beträgt die Zusammensetzung 30 % Acetonitril und wird innerhalb von acht Minuten auf 75 % gesteigert. Diese Fließmittelzusammensetzung wird für zwei Minuten konstant gehalten und dann innerhalb von einer Minute auf die Ausgangsbedingungen zurückgefahren. Im Anschluss wird die Säule für vier Minuten equilibriert. Die Flussrate wird auf $1,15 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ festgesetzt und die Säulentemperatur beträgt $40 \text{ }^\circ\text{C}$. Aus jeder Probe werden $200 \mu\text{L}$ injiziert. Die Detektion erfolgt mittels UV-Detektor bei einer Wellenlänge von 230 nm . Die Retentionszeit für Nonivamid beträgt etwa $5,5 \text{ min}$.

3.4.17.2 Nonivamid und Avobenzon in Acetonitril

Die Auftrennung und Quantifizierung von Nonivamid und Avobenzon in Acetonitril erfolgt mit einem Dionex HPLC-System (Bauteile siehe Tabelle 3.2). Als Säulenmaterial wird eine C18 Umkehrphase (HPLC column Nucleosil 100-5 C18 EC 125/4, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, DE-Düren) verwendet. Es wird ein Fließmittelgradient aus Methanol HPLC gradient grade (Carl Roth GmbH + Co. KG, DE-Karlsruhe) und Phosphorsäure (Sigma Aldrich Chemie GmbH, DE-Steinheim) pH 3 ausgeführt. Der organische Anteil wird innerhalb von 15 min von 45 auf 99% erhöht und für zwei Minuten konstant gehalten. Danach wird die Fließmittelzusammensetzung in zwei Minuten wieder auf die Anfangskonditionen gebracht. Die Säule wird dann fünf Minuten für den nächsten Lauf equilibriert. Die Flussrate beträgt dabei $1,0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ und die Säule wird auf $30 \text{ }^\circ\text{C}$ gehalten. Das Injektionsvolumen beträgt $60 \mu\text{L}$. Die Detektion erfolgt photometrisch bei einer Wellenlänge von 230 nm für Nonivamid; Avobenzon wird bei 360 nm detektiert. Die Retentionszeit für Nonivamid beträgt etwa $8,6 \text{ min}$, für Avobenzon ungefähr $15,1 \text{ min}$.

3.4.17.3 Berechnung von Nachweis- und Bestimmungsgrenze

Die Berechnung von Nachweis- und Bestimmungsgrenze der Kalibrierungen erfolgt nach dem in der DIN 32645 beschriebenen Verfahren (DIN, 2008). Als Signifikanzniveau wird $\alpha = 0,05$ und für $k = 3$ festgelegt. Die erhaltenen Werte sind im Anhang im Abschnitt 7.1.1 aufgeführt.

3.4.18 UV-Spektroskopie

Etwa 2 mL der zu untersuchenden Lösung werden in eine Quarzküvette (Küvette für den UV-Bereich, Schichtdicke 10 mm, Hellma GmbH & Co. KG, DE-Müllheim) überführt. Die Küvette wird in den Strahlengang des UV-Spektrometers (Evolution 300, Thermo Fisher Scientific Inc., DE-Langenselbold) gestellt und die Absorption wird bei 360 nm erfasst. Liegt die gemessene Absorption oberhalb des kalibrierten Bereichs, wird mit frischem Lösemittel verdünnt. Die Kalibrierungsdaten sind im Anhang in Abschnitt 7.1.1 aufgelistet.

3.4.19 Statistische Auswertung

Die erhaltenen Ergebnisdaten werden mittels Einweg-Varianzanalyse (ANOVA) gefolgt von einem Student-Newman-Keuls-Test auf statistische Signifikanz geprüft. Das Signifikanzniveau beträgt $\alpha = 0,05$. Statistisch signifikante Unterschiede sind durch einen Stern (*) gekennzeichnet.

Die Bewertung von statistischen Ausreißern erfolgt nach dem Ausreißertest nach Grubbs. Das Signifikanzniveau beträgt $\alpha = 0,05$.

Die Ergebnisse der statistischen Tests sind im Anhang aufgeführt.

4 Ergebnisse und Diskussion

Um den Einfluss der Substantivität auf die permeierte Arzneistoffmenge zu untersuchen, wird zunächst eine geeignete Testmethode entwickelt. Dazu wird der Einfluss verschiedener Parameter identifiziert. Es wird dabei darauf geachtet, dass das Schicksal topischer Formulierungen möglichst realitätsnah abgebildet wird. Im Anschluss wird das Verhalten von drei Formulierungen, der Hydrophilen Nonivamid-Creme, der Öl-in-Öl-Emulsion und der filmbildende Formulierung, getestet. Die Arbeit fokussiert sich auf simulierten Haut-Haut- und Haut-Textil-Kontakt. Als Modellarzneistoff dient das synthetische Capsaicinoid Nonivamid.

Anhand der gewonnenen Erkenntnisse wird eine Formulierung mit erhöhter Substantivität entwickelt und charakterisiert.

4.1 Einfluss der Substantivität auf die Hautpermeabilität von Arzneistoffen

4.1.1 Einfluss des Anpressdrucks

Da die Haut je nach ihrer Lokalisation am Körper im Laufe eines Tages unterschiedlich starken Belastungen ausgesetzt ist und dies zusätzlich auch individuell stark variiert, kann die Belastung nur modellhaft auf einen einzigen Wert beschränkt werden. Eine beschriebene Methode, die den Reibungskoeffizienten zwischen Haut und Kleidung bestimmt, arbeitet mit einer Belastung von $0,5 \text{ N} \cdot \text{cm}^{-2}$ (Fujimura et al., 2011). Die vorliegende Arbeit orientiert sich an dieser Größenordnung.

Um einen möglichen Einfluss des Anpressdrucks auf die abgetragene Menge an Formulierung zu ermitteln, wird das Gewicht der Stempel variiert. Die verwendeten Stempelwerkzeuge haben ein Gewicht von 65, 130 und 200 g. Dies entspricht einen Anpressdruck von 0,33, 0,65 und $1,0 \text{ N} \cdot \text{cm}^{-2}$. Als Modellformulierung dient die HNC mit einem Wirkstoffgehalt von 0,9 %. Der Versuch wird wie in Abschnitt 3.4.5 beschrieben vorbereitet und gemäß der Methode aus Abschnitt 3.4.7 der Kontakt von Haut zu Textil simuliert. Da das absolute Ausmaß der entfernten Formulierung eine untergeordnete Rolle spielt, wird die Anzahl der Kontakte auf 100 festgelegt. Dadurch können die einzelnen Messreihen kurz nacheinander gestartet werden. Eine Änderung

der Hauteigenschaften durch mehrstündige Lagerzeiten der präparierten Spalthaut kann somit ausgeschlossen werden. Als Kontrollgruppe dienen Franzzellen, die ebenfalls mit der HNC mit 0,9 % Wirkstoff beaufschlagt wurden, jedoch keiner Belastung ausgesetzt sind. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.1 dargestellt. Es ist zu sehen, dass alle drei Messreihen nach 48 h, verglichen mit der Kontrollgruppe, einen reduzierten permeierten Anteil Nonivamid aufweisen. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den drei Gewichtsklassen kann nicht gefunden werden.

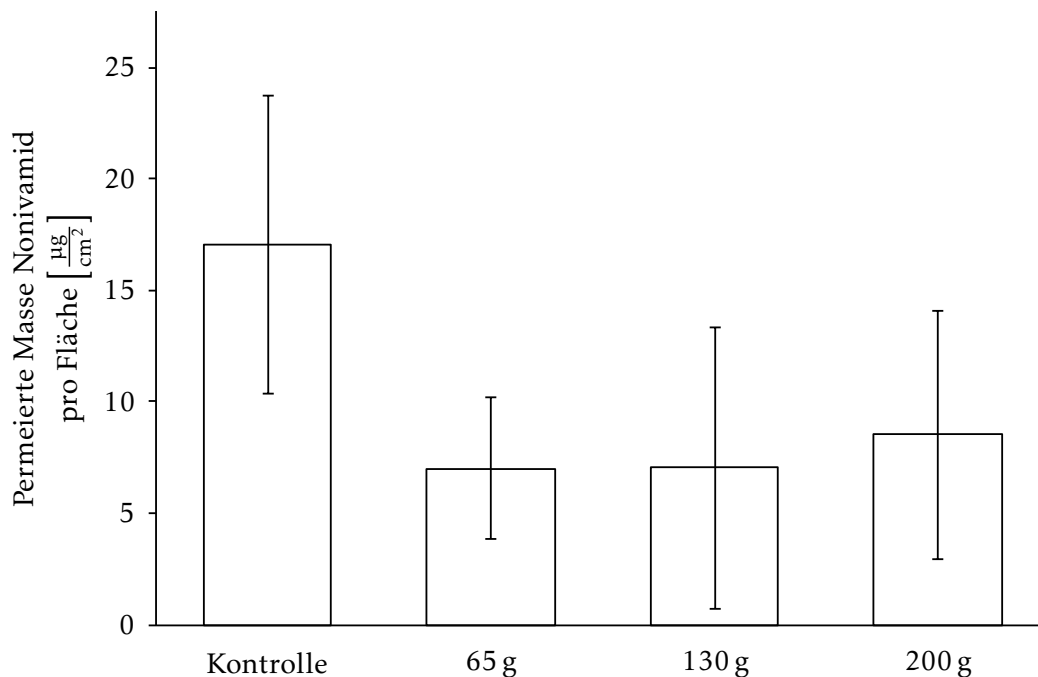


Abbildung 4.1: Gezeigt ist die kumulativ permeierte Masse an Nonivamid aus der HNC 0,9 % nach 48 h. Verglichen werden drei verschiedene Anpressdrücke. Simuliert wurde Haut-Textil-Kontakt. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n \geq 3$

4.1.2 Einfluss von mechanischer Belastung auf die Hautpermeabilität

Es wird untersucht, ob die in Abschnitt 3.4.7 beschriebene Methode einen Einfluss auf die Hautpermeabilität hat. Dadurch soll ausgeschlossen werden, dass die mechanische Belastung die Hautpermeabilität ändert. Um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten, darf die Methode keinen Einfluss auf die Barriereigenschaften der Haut nehmen.

Um den Einfluss der in Abschnitt 3.4.7 beschriebenen Methode auf die Hautpermeabilität zu untersuchen, wird folgendermaßen vorgegangen: Zunächst werden Franzzellen vorbereitet und anschließend wird auf fünf Zellen eine finite Dosis Hydrophile Nonivamid-Creme mit einem

Wirkstoffgehalt von 0,9% aufgetragen. Die Vorgehensweise entspricht Abschnitt 3.4.5. Die Zellen werden inkubiert und nach definierten Zeitpunkten wird eine Proben entnommen und die permeierte Menge Nonivamid wird bestimmt. Diese Messreihe stellt die Kontrollgruppe dar.

Mit der Haut des selben Spendertieres werden fünf weitere Franzzellen vorbereitet. Nachdem die Zellen für 30 min auf 32 °C equilibriert sind, wird die Haut ohne aufgetragene Formulierung mit der in Abschnitt 3.4.7 vorgestellten Methode mechanisch belastet. Dazu werden 5400 Kontakte innerhalb von 3 h ausgeführt. Dies wird in der vorliegenden Arbeit als maximale Belastung definiert (vgl. Abschnitt 4.1.3). Das Gewicht des Stempelwerkzeuges beträgt 130 g, was einem Anpressdruck von $0,65 \text{ N} \cdot \text{cm}^{-2}$ entspricht. Es wird Haut-Textil-Kontakt simuliert. Die Zellen sind während dieser Zeit auf 32 °C temperiert. Nachdem die mechanische Belastung beendet ist, wird gemäß Abschnitt 3.4.7 eine finite Dosis Hydrophile Nonivamid-Creme mit einem Wirkstoffgehalt von 0,9% aufgetragen und die Zellen weiter inkubiert. Nach definierten Zeitpunkten wird eine Proben entnommen und die permeierte Menge Nonivamid bestimmt.

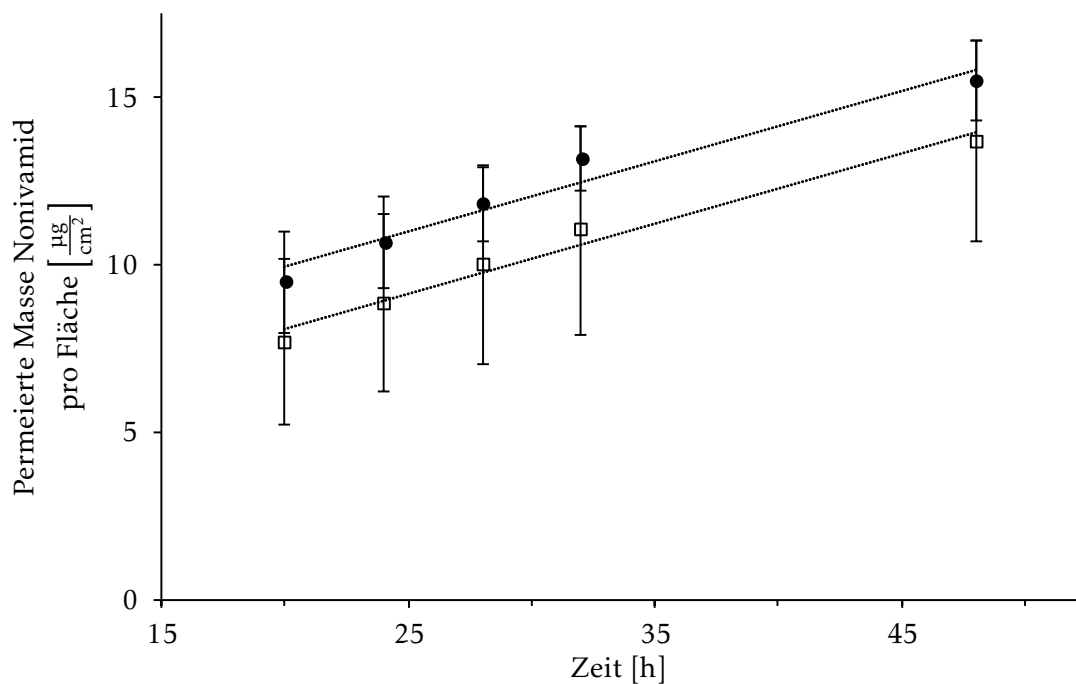


Abbildung 4.2: Gezeigt ist die kumulativ permeierte Menge an Nonivamid aus HNC 0,9% über die Zeit. Kontrolle (●) und belastete Versuchsreihe (□) sowie die Ausgleichsgeraden. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 5$

Durch den Vergleich der permeierten Menge und des Fluxes der beiden Messreihen, kann festgestellt werden, ob die ausgeführte mechanische Belastung die Hautpermeabilität beeinflusst.

Wie in Abbildung 4.2 zu sehen ist, verläuft der permeierte Anteil der Kontrollgruppe parallel zur belasteten Testgruppe. Auch kann kein statistisch signifikanter Unterschied in der permeier-

ten Menge Nonivamid nach 48 h festgestellt werden. Der berechnete Flux sowie die permeierte Menge an Arzneistoff sind vergleichbar. Somit hat die vorgestellte Methode keinen Einfluss auf die Barriereigenschaften der Haut.

4.1.3 Einfluss von Kontakthäufigkeit und -geschwindigkeit

Neben der Belastungsintensität sind auch die Häufigkeit und die Geschwindigkeit variable Parameter. Es wird versucht, ein möglichst realistisches Modell heranzuziehen. Dabei wird der Tagesablauf zunächst in die drei Phasen körperliche Aktivität, Sitzen und Schlafen eingeteilt. Für die körperliche Aktivität wurden zwei Gruppen betrachtet. Zunächst sehr aktive Menschen, welche sich 10 000 Schritte pro Tag bewegen. Im Gegensatz dazu werden für eher wenig aktive Menschen 5000 Schritte pro Tag angesetzt. Nach einer Studie der Techniker Krankenkasse (Techniker Krankenkasse, 2013) beträgt die Sitzdauer bis zu elf Stunden am Tag. Die untere Grenze wird im Modell auf vier Stunden begrenzt. Die mittlere Schlafdauer wird mit acht Stunden täglich angegeben (Robinson und Michelson, 2010). Durch Kombination der verschiedenen Grenzfälle für die einzelnen Phasen ergeben sich vier mögliche Szenarien. Diese sind in Abbildung 4.3 grafisch aufgelistet.

Es wird angenommen, dass sich die Bewegung gleichmäßig über den genannten Zeitraum verteilt. Daraus resultieren vier verschiedene Geschwindigkeiten: 33, 14, 17 und 7 Schritte \cdot min⁻¹. Dies wird gleichgesetzt mit der Kontakthäufigkeit mit Textil oder Haut. Um einen möglichen Einfluss der Kontaktgeschwindigkeit zu untersuchen, werden die zwei Extremsituationen dieses Modells untersucht. Das heißt viel Bewegung in kurzer Zeit sowie wenig körperliche Bewegung über eine längere Zeitspanne verteilt. Es wird von einer zweimal täglichen Applikation der Formulierung ausgegangen. Entsprechend halbiert sich die totale Kontakthäufigkeit. Simuliert werden daher 5400 Kontakte in 3 h mit einer Geschwindigkeit von 30 min⁻¹ sowie 2500 Kontakte mit 7 min⁻¹. Die Ergebnisse zeigt Abbildung 4.4.

Wie zu sehen ist, wird durch den simulierten Haut-Textil-Kontakt bei beiden Messreihen die permeierte Masse Nonivamid im Vergleich zur Kontrolle ohne Kontakte signifikant reduziert. Ein signifikanter Unterschied zwischen 5400 Kontakten mit einer Geschwindigkeit von 30 min⁻¹ und 2500 Kontakten mit 7 min⁻¹ kann nicht gefunden werden. Tendenziell ist der permeierte Anteil durch eine höhere Kontaktzahl stärker reduziert.

Da der Einfluss von Anpressdruck, Kontaktzahl und Geschwindigkeit zu vernachlässigen ist, werden die weiteren Versuche mit folgendem Versuchsaufbau durchgeführt. Es werden 5400 Kon-

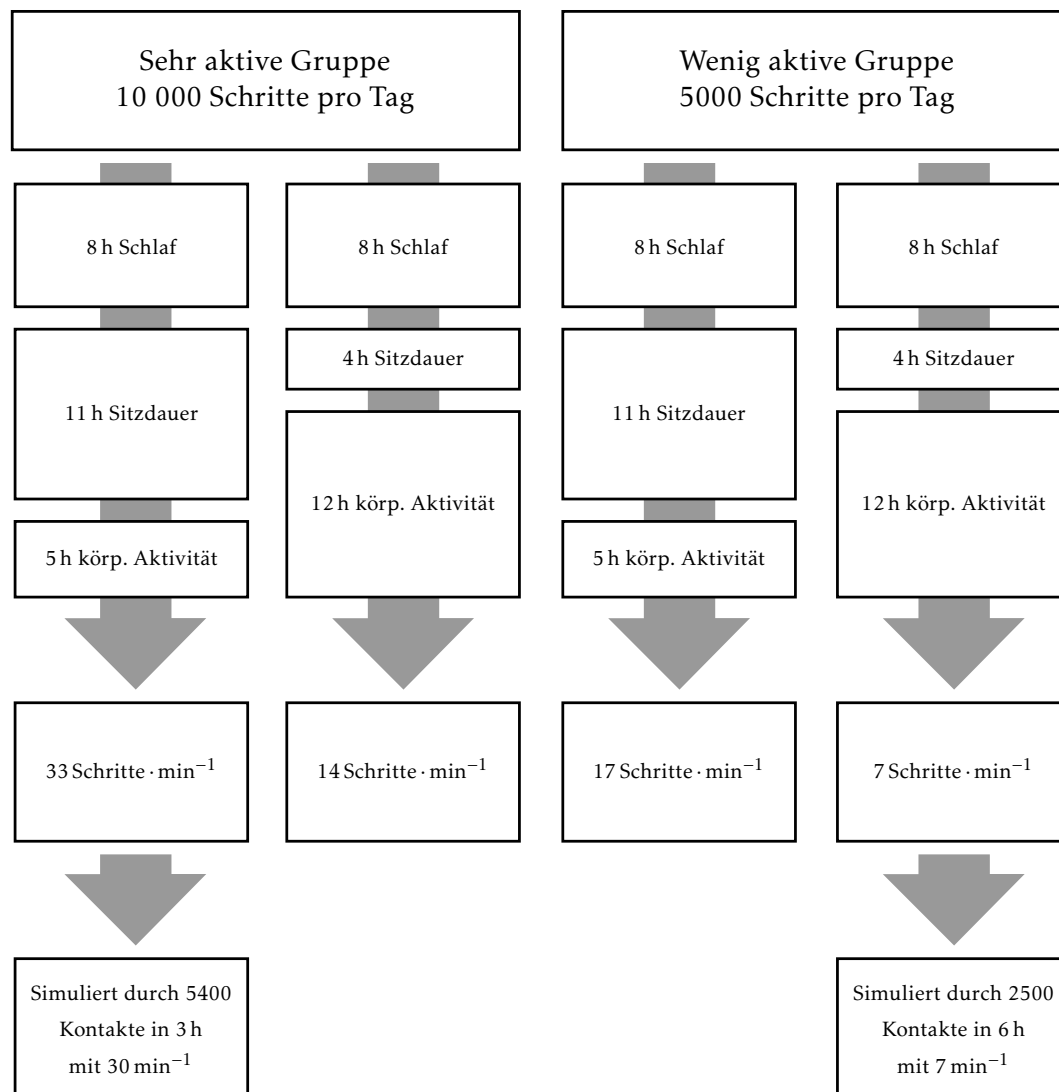


Abbildung 4.3: Die Abbildung zeigt eine schematische Darstellung von theoretischen Szenarien der körperlichen Aktivität

takte innerhalb von 3 h mit einer Geschwindigkeit von 30 min⁻¹ ausgeführt. Dabei wird mit dem 130 g schweren Werkzeug gearbeitet. Der resultierende Anpressdruck beträgt somit 0,65 N · cm⁻².

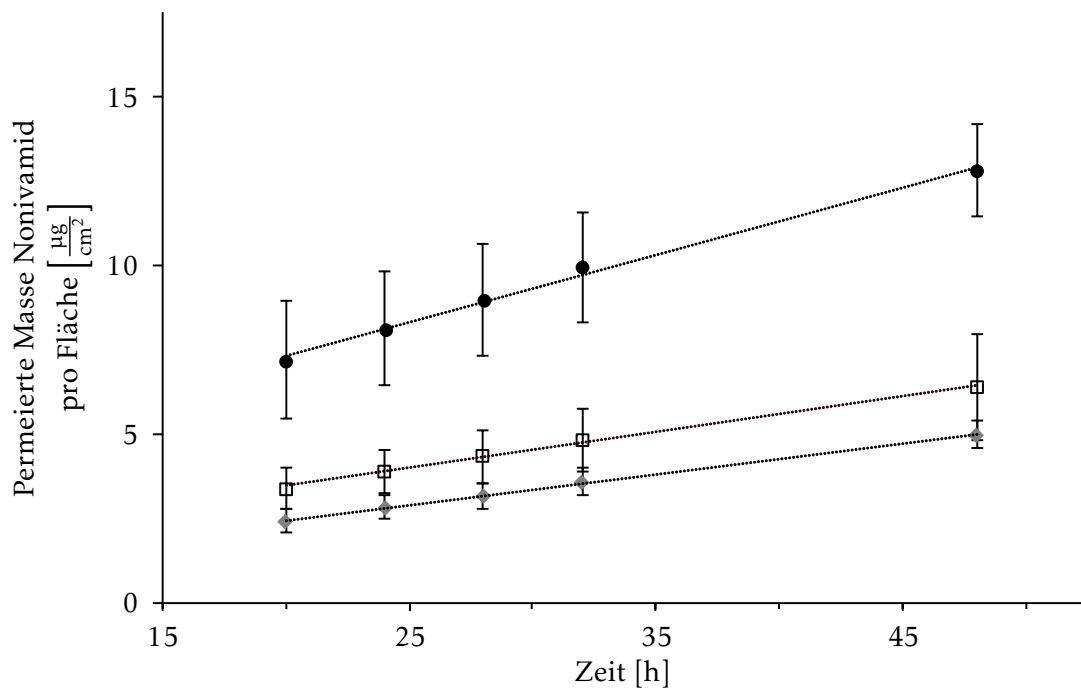


Abbildung 4.4: Gezeigt ist die kumulativ permeierte Masse an Nonivamid aus HNC 0,9 % über die Zeit. Kontrolle (●), 5400 Kontakte mit 30 min^{-1} (◆) und 2500 Kontakte mit 7 min^{-1} (□) sowie die Ausgleichsgeraden. Simuliert wurde Haut-Textil-Kontakt. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n \geq 3$

4.1.4 Einfluss der Substantivität auf die Permeation der Hydrophilen

Nonivamid-Creme

Der Einfluss von simuliertem Haut-Haut- und Haut-Textil-Kontakt auf die permeierte Masse Nonivamid aus der Hydrophilen Nonivamid-Creme ist in den Abbildungen 4.5 und 4.6 zu sehen.

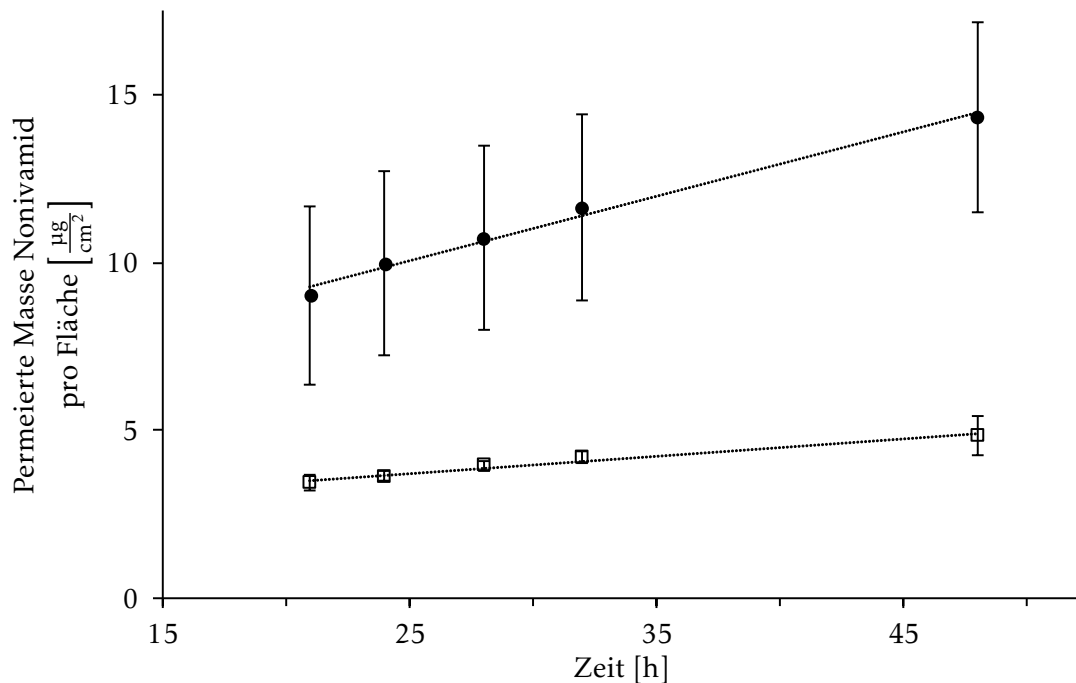


Abbildung 4.5: Gezeigt ist die kumulativ permeierte Masse an Nonivamid aus HNC 0,9 % über die Zeit. Kontrolle (●) und 5400 Kontakte mit 30 UpM (□) sowie die Ausgleichsgeraden. Simuliert wurde Haut-Textil-Kontakt. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

In beiden Experimenten nimmt die permeierte Menge an Wirkstoff im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne Kontakte signifikant ab. Durch Haut-Textil-Kontakt reduziert sich der permeierte Anteil nach 48 h statistisch signifikant von etwa $14 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ auf weniger als $5 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$. Auch die Permeationsrate sinkt von $0,19 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ auf $0,05 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$. Der Anteil an permeiertem Wirkstoff wird somit um fast 70 % reduziert, die Permeationsrate sinkt auf 26 % ab. Der Versuch wurde an der Haut von drei Spendertieren wiederholt. Die Tabelle 4.1 zeigt eine Übersicht der Ergebnisse der Hydrophilen Nonivamid-Creme mit simuliertem Haut-Textil-Kontakt und den dazugehörigen Standardabweichungen. Der permeierte Anteil nach 48 h und die Permeationsrate sind dabei in einer vergleichbaren Größenordnung vermindert. Die Schwankungen zwischen den Versuchen sind in einem Bereich, der sich durch die individuelle Hautbeschaffenheit der Tiere erklären lässt.

Durch Haut-Haut-Kontakt wird der permeierte Anteil Nonivamid nach 48 h von $16 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$

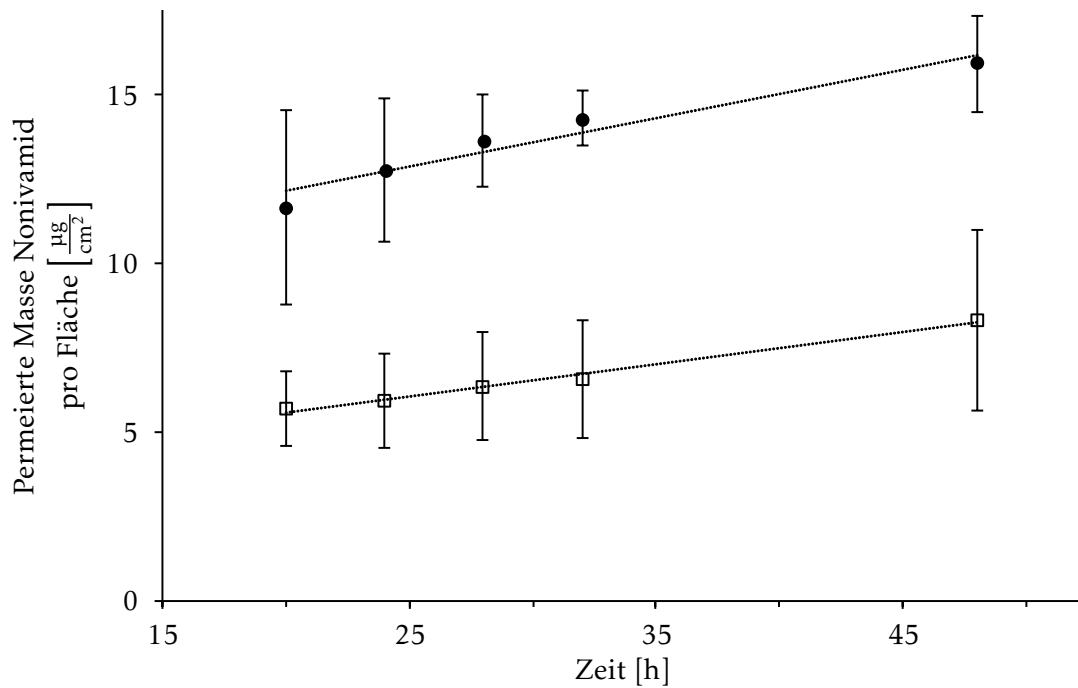


Abbildung 4.6: Gezeigt ist die kumulativ permeierte Masse an Nonivamid aus HNC 0,9 % über die Zeit. Kontrolle (●) und 5400 Kontakte mit 30 UpM (□) sowie die Ausgleichsgeraden. Simuliert wurde Haut-Haut-Kontakt. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

auf $8 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ reduziert. Dies entspricht einer mittleren Abnahme von beinahe 50 %. Auch die Permeationsrate sinkt von $0,14 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ auf $0,09 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$. Auf die Untersuchung der Reproduzierbarkeit wurde für Haut-Haut-Kontakt verzichtet, da diese bereits bei Haut-Textil-Kontakt nachgewiesen wurde.

Betrachtet man den Permeationsverlauf in den Abbildungen 4.5 und 4.6, so ist zu sehen, dass sich der permeierte Anteil proportional zur Zeit verhält. Eine Änderung in der Freisetzungskinetik kann also nicht beobachtet werden. Haut-Haut- und Haut-Textil-Kontakt haben einen merklichen Einfluss auf die permeierte Masse des Arzneistoffs Nonivamid.

Tabelle 4.1: Übersicht über den Einfluss von Haut-Textil-Kontakt auf die HNC 0,9 %. Aufgelistet sind Permeationsrate und kumulativ permeierte Masse nach 48 h. Es werden 5400 Kontakte mit 30 min^{-1} simuliert. Gezeigt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n \geq 3$

Donor	Permeationsrate [$\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$]		Permeierte Masse [$\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$]	
	Kontrolle	H/T	Kontrolle	H/T
1	$0,19 \pm 0,07$	$0,05 \pm 0,03$	$14,32 \pm 2,80$	$4,86 \pm 0,57$
2	$0,02 \pm 0,01$	$0,01 \pm 0,01$	$14,86 \pm 1,59$	$4,25 \pm 0,06$
3	$0,20 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,01$	$12,83 \pm 1,36$	$4,98 \pm 0,39$

4.1.5 Einfluss der Substantivität auf die Permeation der Öl-in-Öl-Emulsion

Die Öl-in-Öl-Emulsion wird ebenfalls mit Haut-Haut- und Haut-Textil-Kontakt belastet. In den Abbildungen 4.7 und 4.8 ist die permeierte Masse Nonivamid gegen die Zeit aufgetragen.

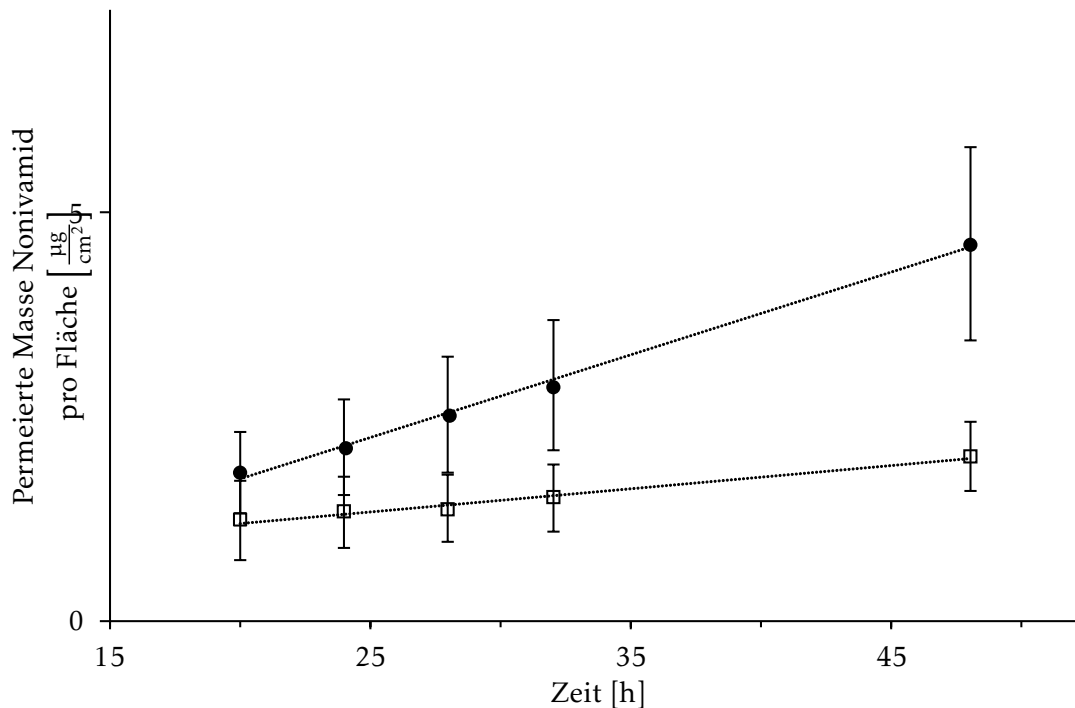


Abbildung 4.7: Gezeigt ist die kumulativ permeierte Masse an Nonivamid aus der Öl-in-Öl-Emulsion 0,9% über die Zeit. Kontrolle (●) und 5400 Kontakte mit 30 UpM (□) sowie die Ausgleichsgeraden. Simuliert wurde Haut-Haut-Kontakt. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Durch den simulierten Kontakt mit anderen Hautflächen reduziert sich der Anteil an Nonivamid im Akzeptorkompartiment nach 48 h statistisch signifikant von etwa $5 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ auf $2 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$. Der permeierte Wirkstoffanteil ist demnach um 56 % reduziert. Ebenso ist die Permeationsrate signifikant von $0,10 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ auf $0,03 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ abgeschwächt.

Auch Haut-Textil-Kontakt reduziert die permeierte Masse Nonivamid im Vergleich zur Kontrolle ohne Kontakte. Abbildung 4.8 zeigt die Abnahme um 57 % durch simulierten Haut-Textil-Kontakt im Vergleich zur Kontrollgruppe. Ergebnisse von weiteren Spendertieren sind in Tabelle 4.2 gezeigt und bestätigen den Einfluss von Haut-Textil-Kontakt auf die permeierte Menge und auch auf die Permeationsrate. Im Mittel nimmt die Wirkstoffmenge durch Belastung um 69% ab. Unterschiede im Ausmaß durch Haut-Haut- oder Haut-Textil-Kontakt können auch hier nicht ausgemacht werden.

Die Permeationsuntersuchungen der Öl-in-Öl-Emulsion zeigen, dass verglichen mit der Hydro-

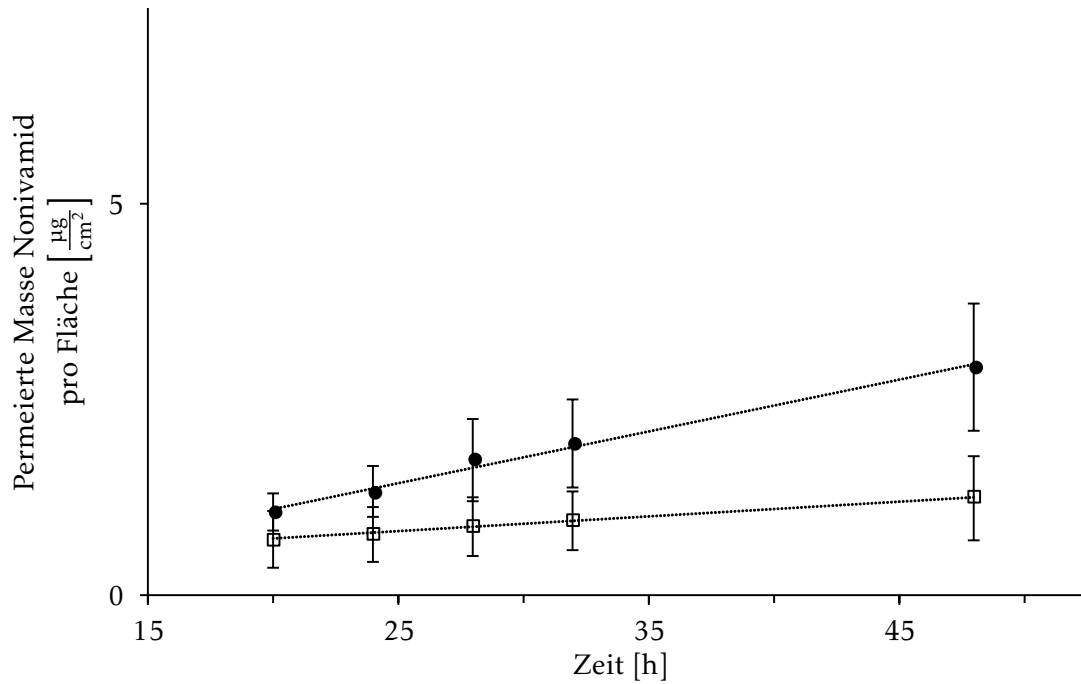


Abbildung 4.8: Gezeigt ist die kumulativ permeierte Masse an Nonivamid aus der Öl-in-Öl-Emulsion 0,9% über die Zeit. Kontrolle (●) und 5400 Kontakte mit 30 UpM (□) sowie die Ausgleichsgeraden. Simuliert wurde Haut-Textil-Kontakt. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

philen Nonivamid-Creme der absolute Anteil an permeiertem Wirkstoff geringer ist. Dies lässt sich auf die Formulierungseigenschaften zurückführen. Bei der Öl-in-Öl-Emulsion handelt es sich um eine Retard-Zubereitung zur dermalen Anwendung (Lunter, Rottke et al., 2014; Rottke et al., 2014). Entsprechend wird der Wirkstoff über eine längere Zeitspanne gleichmäßig freigesetzt.

Tabelle 4.2: Übersicht über den Einfluss von Haut-Textil-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion 0,9%. Aufgelistet sind Permeationsrate und kumulativ permeierte Masse nach 48 h. Es werden 5400 Kontakte mit 30 min^{-1} simuliert. Gezeigt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Permeationsrate [$\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$]		Permeiert Masse [$\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$]	
Kontrolle	H/T	Kontrolle	H/T
$0,07 \pm 0,02$	$0,02 \pm 0,01$	$2,93 \pm 0,81$	$1,25 \pm 0,53$
$0,06 \pm 0,04$	$0,01 \pm 0,00$	$2,83 \pm 1,83$	$0,79 \pm 0,15$
$0,11 \pm 0,02$	$0,02 \pm 0,01$	$4,85 \pm 0,64$	$1,05 \pm 0,32$

4.1.6 Einfluss der Substantivität auf die Permeation der filmbildenden Formulierung

Die Abbildung 4.9 zeigt den Einfluss von Haut-Textil-Kontakt auf die Permeation aus der filmbildenden Formulierung. Die permeierte Menge an Nonivamid beträgt für die Kontrolle $0,9 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$, bei Haut-Textil-Kontakt $0,6 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$. Wie zu sehen ist, unterscheidet sich die Wirkstoffmenge der Kontrollgruppe nach 48 h nicht signifikant von der Gruppe mit simulierter Belastung. Auch ein Effekt auf die Permeationsrate kann nicht gefunden werden. Hier betragen die Werte $0,016 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ für die Kontrolle bzw. $0,011 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, wenn Haut-Textil-Kontakt simuliert wird.

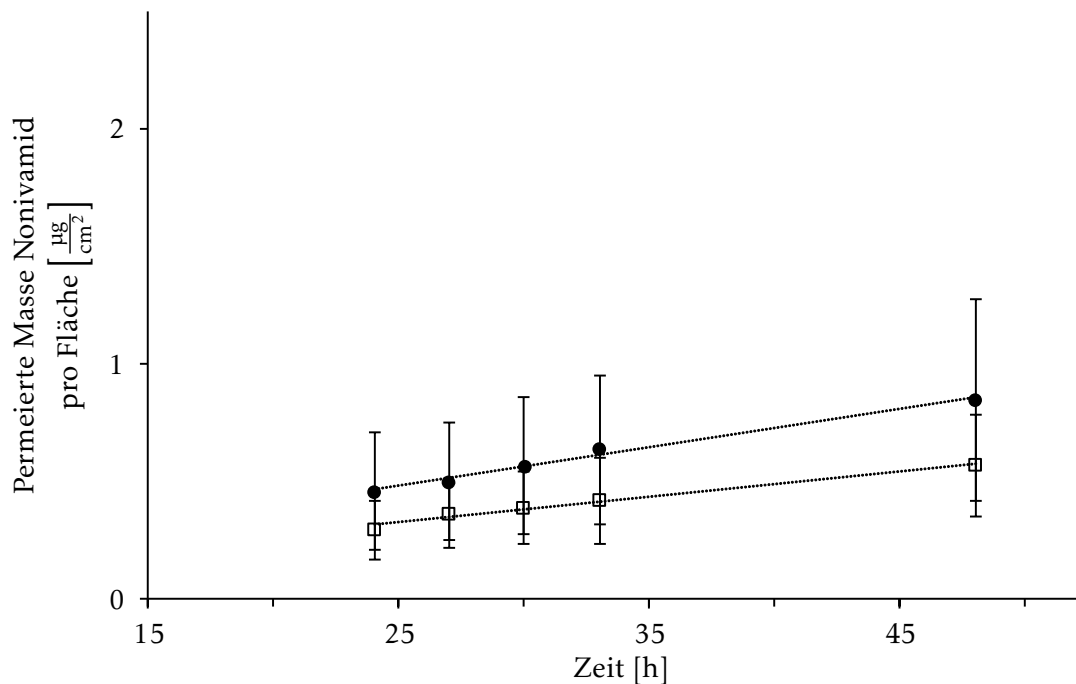


Abbildung 4.9: Gezeigt ist die kumulativ permeierte Masse an Nonivamid aus der filmbildenden Formulierung 0,9% über die Zeit. Kontrolle (●) und 5400 Kontakte mit 30 UpM (□) sowie die Ausgleichsgeraden. Simuliert wurde Haut-Textil-Kontakt. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n \geq 3$

Die Abbildung 4.10 zeigt den Einfluss von Haut-Haut-Kontakt auf die Permeation der filmbildenden Formulierung. Es lässt sich erkennen, dass die Kontrollgruppe und die Messreihe mit simuliertem Haut-Haut-Kontakt aufeinander liegen. Am Ende der Permeation beträgt die kumulativ permeierte Menge der Kontrollgruppe $0,4 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$. Mit etwa $0,5 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ erreicht der Mittelwert für die Gruppe mit Haut-Haut-Kontakt einen vergleichbaren Endpunkt. Durch Haut-Haut-Kontakt ist somit keine Verminderung in der permeierten Masse zu finden. Auch der Verlauf der Permeation ist nahezu identisch und die Permeationsrate der Kontrolle ist mit $0,007 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ vergleichbar mit $0,005 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$; dem Wert, der mit Belastung erhalten wird. Da die Formu-

lierung einen starren Film auf der Hautoberfläche ausbildet, war ein Effekt auf Permeationsmenge und -rate nicht zu erwarten. Auf eine Wiederholung der Messung wird in diesem Fall verzichtet.

Die permeierte Menge im Versuch mit simuliertem Haut-Haut-Kontakt fällt im Mittel verglichen mit der Permeation und simuliertem Haut-Textil-Kontakt, nur halb so hoch aus. Da die Versuch an Haut verschiedener Spendertiere durchgeführt werden, müssen interindividuelle Schwankungen berücksichtigt werden. Außerdem zeigt die Kontrollgruppe eine größere Schwankung.

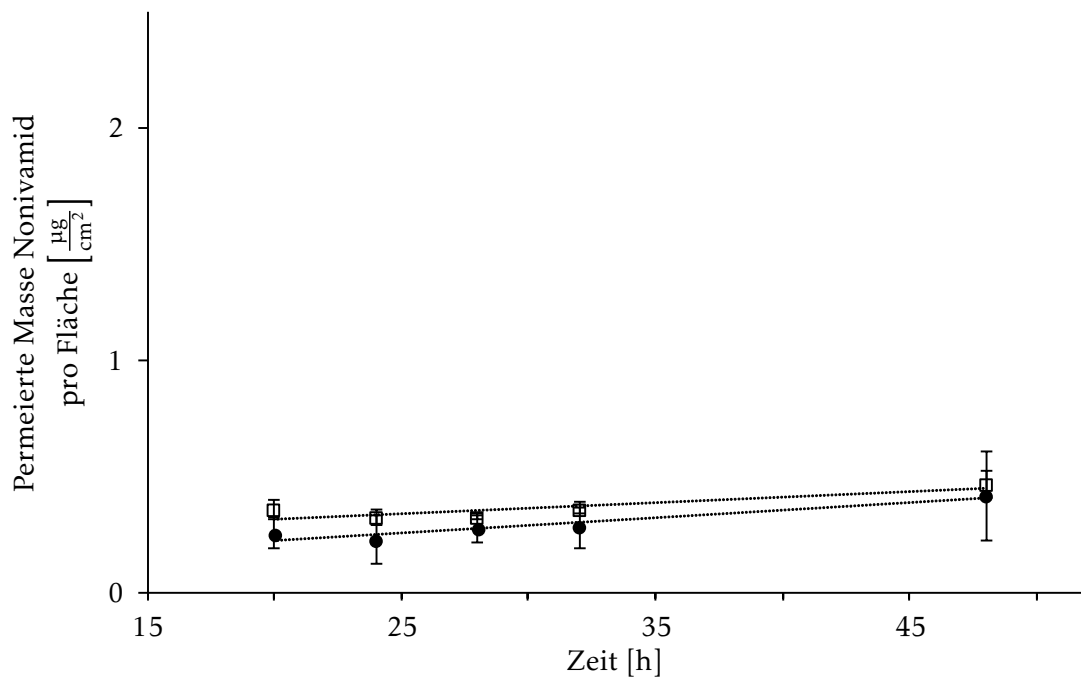


Abbildung 4.10: Gezeigt ist die kumulativ permeierte Masse an Nonivamid aus der filmbildenden Formulierung 0,9% über die Zeit. Kontrolle (●) und 5400 Kontakte mit 30 UpM (□) sowie die Ausgleichsgeraden. Simuliert wurde Haut-Haut-Kontakt. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Zusammenfassend kann gezeigt werden, dass die verschiedenen Formulierungen unterschiedlich stark durch Haut-Haut- bzw. Haut-Textil-Kontakt beeinflusst werden. Bei der Hydrophilen Nonivamid-Creme kann ein Effekt sowohl auf die permeierte Menge als auch auf die Permeationsrate beobachtet werden. Auch die Öl-in-Öl-Emulsion wird durch den Kontakt mit anderen Oberflächen beeinflusst und die Permeationsrate sowie der Anteil an penetriertem Wirkstoff verringern sich. Im Gegensatz dazu wird die filmbildende Formulierung durch den simulierten Kontakt nicht beeinflusst. Außerdem zeigt sich, dass die permeierte Menge Nonivamid aus der Hydrophilen Nonivamid-Creme am höchsten ist. Öl-in-Öl-Emulsion und filmbildende Formulierung zeigen bei gleicher Wirkstoffkonzentration im Vehikel eine geringere permeierte Menge. Die präsentierten Ergebnisse zeigen auch, dass die entwickelte Methode zu reproduzierbaren Ergeb-

nissen führt.

Die Ergebnisse sind mit den von Herrmann et al. (2016) gemachten Beobachtungen in Einklang zu bringen. Die dort gemessene Substantivität nimmt in der Reihenfolge filmbildende Formulierung, Hydrophile Nonivamid-Creme, Öl-in-Öl-Emulsion ab. Die vorliegenden Resultate zeigen bei der filmbildenden Formulierung keinen Effekt, jedoch eine statistisch signifikante Abnahme der permeierten Menge durch simulierten Haut-Haut- oder Haut-Textil-Kontakt bei der Creme und der flüssigen Öl-in-Öl-Emulsion. Vergleicht man die Ergebnisse mit denen von Lunter, Rottke et al. (2014) wird deutlich, dass eine hohe Wasserresistenz nicht gleichbedeutend mit einer hohen Substantivität ist. Die Wasserresistenz wird bestimmt, indem die Formulierung auf ein Hautstück aufgetragen wird und dieses eine gewisse Zeit mit einer definierten Menge Wasser in Kontakt steht. Die Wirkstoffmenge in der Flüssigkeit kann anschließend quantifiziert werden. Obwohl bei diesem Test die Öl-in-Öl-Emulsion im Vergleich zur Hydrophilen Nonivamid-Creme besser abschneidet zeigen die Ergebnisse, die Haut-Haut- oder Haut-Textil-Kontakt simulieren, dass die Öl-in-Öl-Emulsion der Creme nicht überlegen ist.

4.2 In-vivo-Substantivitätsmessungen

Um zu untersuchen in wie weit die in Abschnitt 4.1.6 erzielten Ergebnisse auf die Belastung einer topischen Zubereitung im Alltag zu übertragbar sind, werden In-vivo-Substantivitätsmessungen durchgeführt. Hierbei wird der Wirkstoff Nonivamid durch Avobenzon ersetzt. Dies hat zweierlei Gründe: Zum einen wird dadurch ein unnötiger Kontakt von Probanden mit dem pharmakologisch aktiven Wirkstoff Nonivamid vermieden. Auch versehentlicher Kontakt und daraus resultierende unerwünschte Arzneimittelwirkungen werden damit ausgeschlossen. Avobenzon ist als UV-Filter diesbezüglich unbedenklich. Zum anderen penetriert Avobenzon in einem vernachlässigbaren geringen Anteil in die Haut. Für die Messung der Substantivität ist dies deshalb von Vorteil, da sich dadurch nur zwei Fraktionen bilden, die auf der Haut verbleibende und die entfernte Menge. Beide sind direkt quantifizierbar und die Wiederfindung kann über die Massenbilanz aus applizierter und wiedergefundener Menge bestimmt werden. Die für Avobenzon beschriebene Photolabilität (Afonso et al., 2014; Trebše et al., 2016) ist über den Untersuchungszeitraum zu vernachlässigen, da die betroffenen Hautareale immer mit Kleidung vor Licht geschützt sind und die Versuchsdauer mit 3 h begrenzt ist. Während der Lagerung kann durch die Zugabe von polaren Lösemitteln, z.B. Alkoholen, die Stabilität verbessert werden (Huong et al., 2008). Die hydrophile Creme ist hierbei mit einem Anteil von 9 % Ethanol unproblematisch. Die Öl-in-Öl-Emulsion enthält kein Ethanol und wird vor Versuchsbeginn frisch hergestellt und lichtgeschützt gelagert.

Die In-vivo-Messung ermöglicht es, die Formulierungen unter realen Bedingungen zu testen und das sehr komplexe Zusammenspiel aus Anpressdruck, Bewegungsintensität und -profil nachzuahmen. Außerdem wird nicht mit einem Hautmodell, sondern mit lebender Humanhaut gearbeitet. Die Formulierung wird dazu am Oberarm aufgetragen. Diese Stelle ist in der Regel nicht oder nur wenig behaart und gut zugänglich und dadurch gut geeignet. Die Substantivität wird von zwei Formulierungen bestimmt: Der flüssigen Öl-in-Öl-Emulsion sowie der Hydrophilen Nonivamid-Creme. Die filmbildende Formulierung wurde in diesem Test nicht berücksichtigt, da kein Effekt zu erwarten ist.

In einem ersten Schritt wird ermittelt, ob die aufgetragene Menge mit der gewählten Methode wiedergefunden wird. Dazu wird, wie in Abschnitt 3.4.8 beschrieben, die Formulierung aufgetragen und nach 10 min wieder abgewaschen. Die detektierte Menge wird mit der aufgetragenen Menge ins Verhältnis gesetzt. Es werden pro Formulierung drei Wiederholungsmessungen an ver-

schiedenen Probanden durchgeführt. Für die Hydrophile Nonivamid-Creme wurde eine mittlere Wiederfindung von 90 % ermittelt; für die Emulsion 82 %.

Da nicht ausgeschlossen werden kann, dass die gesamte abgetragene Formulierung in das zur Extraktion angeheftete Textilstück wandert, sondern auch in angrenzende Kleidungsstücke, werden für die Auswertung der folgenden Versuche nur Proben mit einer Wiederfindung zwischen 75 und 125 % in die Auswertung mit einbezogen.

Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 4.11 und 4.12 dargestellt und werden mit denen aus Ex-vivo-Permeationsuntersuchungen verglichen.

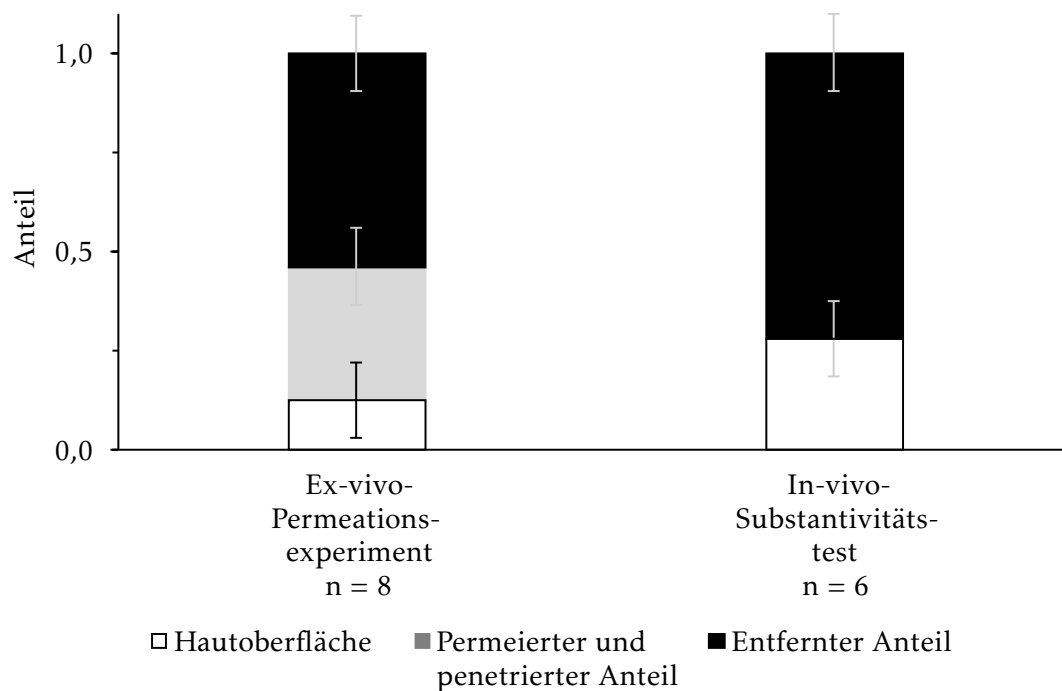


Abbildung 4.11: Vergleich der Substantivität der Hydrophilen Nonivamid-Creme mit 0,9% Nonivamid. Gezeigt sind die Ergebnisse aus den Ex-vivo-Experimenten und den In-vivo-Untersuchungen. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung

Von der Hydrophilen Nonivamid-Creme werden in vivo im Mittel 72 % abgetragen und im Textilstück wiedergefunden. Noch deutlicher wird der Effekt bei der Öl-in-Öl-Emulsion. Hier werden in vivo durchschnittlich sogar 95 % der aufgetragenen Formulierung im Textilstück wiedergefunden.

Vergleicht man die Ergebnisse mit den Werten der Ex-vivo-Permeationsexperimente aus Abschnitt 4.1.6, fällt der Effekt bei den In-vivo-Substantivitätsmessungen größer aus. Bei der Hydrophilen Nonivamid-Creme werden bei Ex-vivo-Permeationsexperimenten mit simuliertem Haut-Textil-Kontakt im Mittel 54 % vom Applikationsort entfernt. Bei der Öl-in-Öl-Emulsion liegt der

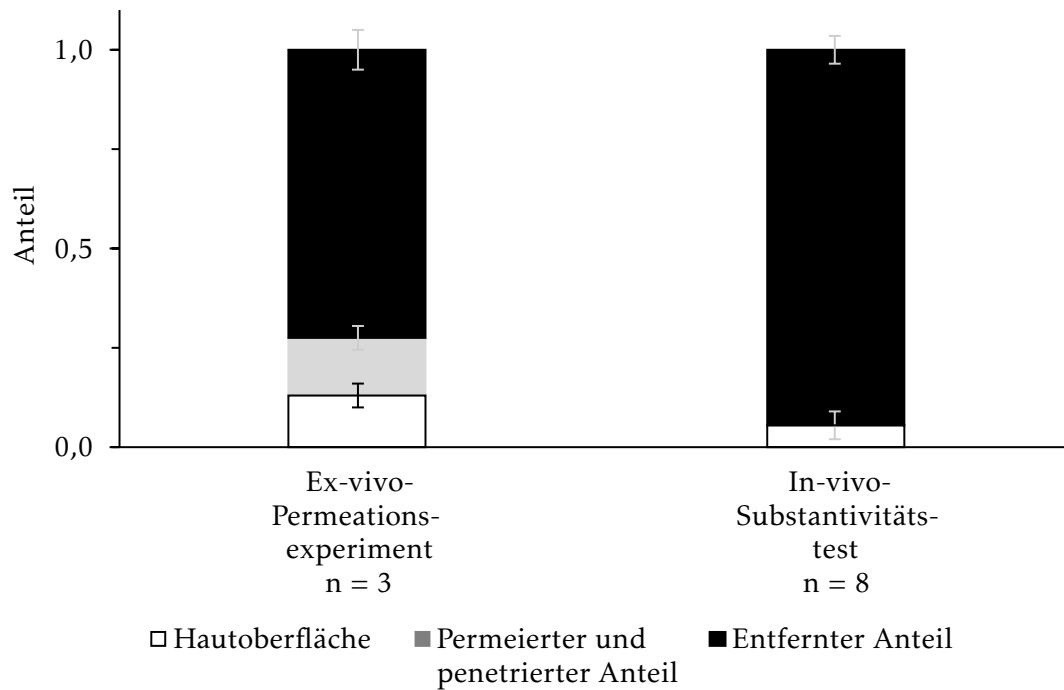


Abbildung 4.12: Vergleich der Substantivität der O/O-Emulsion mit 0,9 % Nonivamid. Gezeigt sind die Ergebnisse aus den Ex-vivo-Experimenten und den In-vivo-Untersuchungen. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung

Mittelwert der entfernten Formulierung ex vivo bei 73 %.

Bei der Interpretation der Ergebnisse muss beachtet werden, dass im Laborversuch nur eine horizontale Bewegung simuliert werden kann. Durch die Kombination aus horizontaler und vertikaler Wischbewegung wird im In-vivo-Experiment ein größerer Anteil entfernt. Bezogen auf die Ex-vivo-Experimente, ist sowohl für die Hydrophile Nonivamid-Creme als auch für die Öl-in-Öl-Emulsion der Anteil der im Textil gefundenen Nonivamidmenge in vivo um etwa 30 % höher.

4.3 Rheologische Untersuchungen

4.3.1 Modifikation der Hydrophilen Nonivamid-Creme

Die Ergebnisse aus den vorangegangenen Abschnitten 4.1.6 und 4.2 zeigen Unterschiede zwischen den Formulierungen. So lässt sich eine abnehmende Substantivität in der Reihenfolge filmbildende Formulierung, Hydrophile Nonivamid-Creme, Öl-in-Öl-Emulsion festlegen. Um die rheologischen Eigenschaften der Zubereitungen zu bestimmen, werde Oszillationsmessungen (s. Abschnitt 3.4.10) durchgeführt. Es werden die Hydrophile Nonivamid-Creme und die Öl-in-Öl-Emulsion charakterisiert. Die filmbildende Formulierung bildet einen starren Film auf der Hautoberfläche aus und die Messung würde keine sinnvoll zu interpretierenden Ergebnisse liefern. Die Messergebnisse der Creme sowie der Öl-in-Öl-Emulsion sind in Abbildung 4.13 abgebildet.

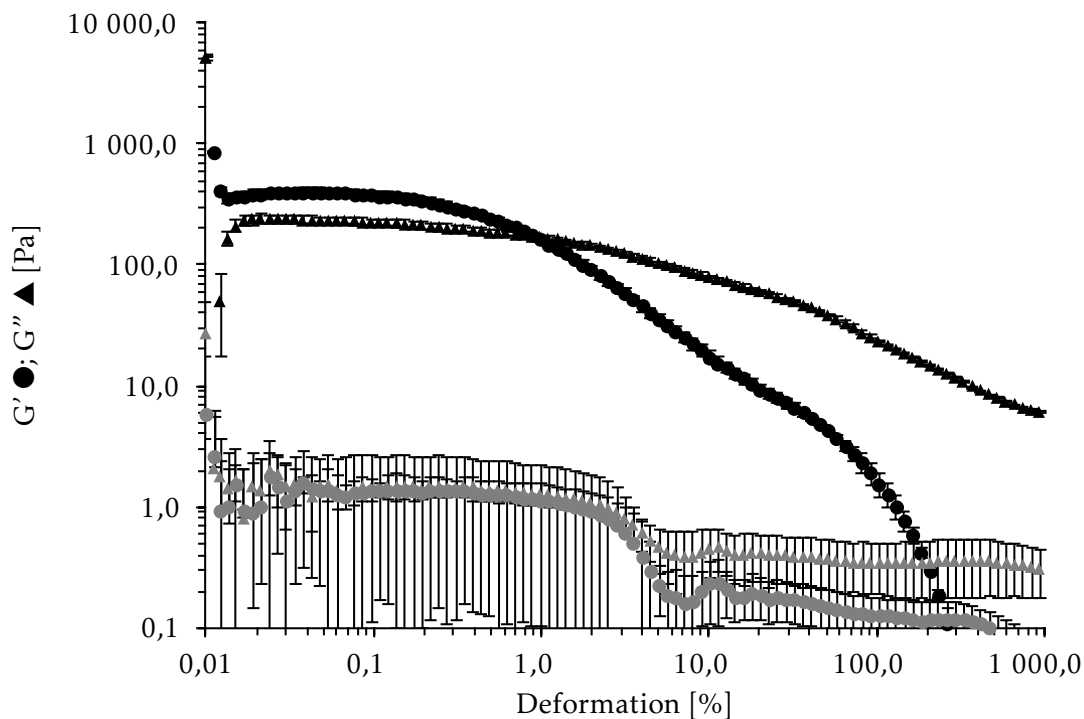


Abbildung 4.13: Oszillatorische Messung der Hydrophilen Nonivamid-Creme (●,▲) und der Öl-in-Öl-Emulsion (●,▲). Speichermodul G' und Verlustmodul G'' in Abhängigkeit von der Deformation bei 32 °C. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n \geq 3$

Wie aus der Grafik zu entnehmen ist, unterscheiden sich die Formulierungen in ihren rheologischen Eigenschaften. Betrachtet man Speichermodul G' und Verlustmodul G'' der Emulsion, so fällt zunächst auf, dass der Speichermodul über den gesamten Messbereich unter dem Verlustmodul verläuft. Somit überwiegt der viskose Anteil im System. Es handelt sich demnach um eine flüssige Zubereitung ohne Fließgrenze. Es wird ein mittlerer Verlustfaktor von eins im linearvisko-

elastischen Bereich bestimmt. Der Kurvenverlauf von Speicher- und Verlustmodul sind in Abbildung 4.13 dargestellt. Dem gegenüber verläuft der Speichermodul der Hydrophilen Nonivamid-Creme zunächst über dem Verlustmodul. Mit zunehmender Deformation sinkt der Speichermodul im Verhältnis zum Verlustmodul überproportional ab und die Kurven kreuzen sich. Dieser Schnittpunkt stellt den Cross-over-Punkt dar. Der Speichermodul im LVE-Bereich beträgt 396 Pa, für den Verlustmodul wird ein Wert von 234 Pa bestimmt. Der resultierende Verlustfaktor im LVE-Bereich der Formulierung liegt bei 0,59. Zunächst überwiegen somit die elastischen Anteile der Creme und die Creme verhält sich wie ein viskoelastischer Festkörper. Erst beim Überschreiten des Cross-over-Punktes überwiegen die viskosen Eigenschaften und es liegt eine viskoelastische Flüssigkeit vor.

Für die filmbildende Formulierung kann nur ein theoretischer Kurvenverlauf hergeleitet werden. Der Grund dafür ist, dass die Formulierung einen starren Film ausbildet, an dem keine sinnvolle rheologische Messung durchgeführt werden kann. Zu erwarten wäre, dass der Verlauf des Speichermoduls deutlich über dem der Hydrophilen Nonivamid-Creme liegt, also die elastischen Eigenschaften überwiegen. Die Werte des Verlustmoduls, und damit die viskosen Eigenschaften, sollten vernachlässigbar klein sein. Entsprechend wäre ein sehr kleiner Verlustfaktor zu erwarten.

Ordnet man die Zubereitungen entsprechend ihrem (theoretischen) Verlustfaktor, so sollte die filmbildende Formulierung den geringsten Wert aufweisen, gefolgt von der Hydrophilen Nonivamid-Creme und der Öl-in-Öl-Emulsion. Diese Reihenfolge deckt sich mit den ermittelten Substantivitätswerten.

Ausgehend von diesen Ergebnissen lässt sich schlussfolgern, dass der Verlustfaktor einen kleinen Wert annehmen sollte, um eine hohe Substantivität zu erhalten. Die elastischen sind gegenüber den viskosen Eigenschaften dominant. Wird die Formulierung durch äußere Einflüsse belastet, so wird die Deformationsenergie im System zu einem hohen Teil gespeichert. Nur ein geringer Teil wird in Form von Fließen abgebaut.

Dies ist der Ausgangspunkt für die folgenden Untersuchungen zur Entwicklung einer Zubereitung mit erhöhter Substantivität. In einem ersten Schritt wird untersucht, ob durch Modifikation der Hydrophilen Nonivamid-Creme der Verlustfaktor zu kleineren Werten hin verändert werden kann. Dazu wird die Wasserphase der Creme durch eine Methylcellulose-Zubereitung ersetzt. Dadurch soll der wässrigen Phase eine Struktur gegeben und die elastischen Eigenschaften verstärkt werden. Methylcellulose ist ein Polymer, das außerdem thermogelierende Eigenschaften zeigt. Durch Erwärmen solcher methylcellulosehaltigen Systeme setzt eine Gelbildung ein.

Gleichzeitig werden aus der Zubereitung Vaseline und Cetylalkohol entfernt. Somit soll der Erweichung der Creme bei Applikation auf der 32 °C warme Hautoberfläche entgegengewirkt werden. Die Menge an Vaseline wird dabei durch eine äquivalente Menge mittelkettiger Triglyceride ersetzt. Cetylalkohol wird anteilig durch Glycerolmonostearat 60 und Macrogol-20-glycerolmonostearat ausgetauscht, sodass sie im gleichen Verhältnis wie in der Hydrophilen Nonivamid-Creme vorliegen. Da Methylcellulose in Ethanol unlöslich ist, wird dieses entfernt und durch Wasser ersetzt. Als Folge davon kann das schlecht wasserlösliche Nonivamid nicht mehr in der Wasserphase gelöst werden und wird daher in mittelkettigen Triglyceriden gelöst. Die Herstellung der Creme ist in Abschnitt 3.4.1 beschrieben.

Die Zusammensetzung der polymerhaltigen Wasserphase ist in Tabelle 4.3 aufgelistet.

Tabelle 4.3: Zusammensetzung der Methylcelluloselösung

Inhaltsstoff	Anteil [%]
Methylcellulose SM-25	8,00
Macrogol	10,00
Natriumcitrat	3,50
Gereinigtes Wasser	78,50

Tabelle 4.4: Zusammensetzung der hydrophilen Creme mit Methylcellulose

Inhaltsstoff	Anteil [%]	Summe [%]
Glycerolmonostearat 60	3,09	
Mittelkettige Triglyceride	16,00	
Macrogol-20-glycerolmonostearat	5,41	
Nonivamid	0,50	25,00
Propylenglycol	15,00	15,00
Methylcellulose SM-25	4,80	
Macrogol	6,00	
Natriumcitrat	2,10	
Gereinigtes Wasser	47,10	60,00

Die angegebene Menge Methylcellulose stellt dabei das Maximum dar, das aufgrund der Viskosität mit der Spritze-zu-Spritze-Methode verarbeitet werden kann. Die qualitative und quantitative Zusammensetzung der modifizierten hydrophilen Creme ist in Tabelle 4.4 abgebildet. Zusätzlich werden Macrogol und Natriumcitrat eingearbeitet, um die Temperatur, bei der die Thermogelierung einsetzt abzusenken (Takeuchi et al., 2003). Die rheologischen Eigenschaften der abgewandelten Rezeptur werden nun mit der monografierten Creme verglichen. Dazu wird eine oszillatorische Messung (s. Abschnitt 3.4.10) durchgeführt. Das Ergebnis ist in Abbildung 4.14 dargestellt.

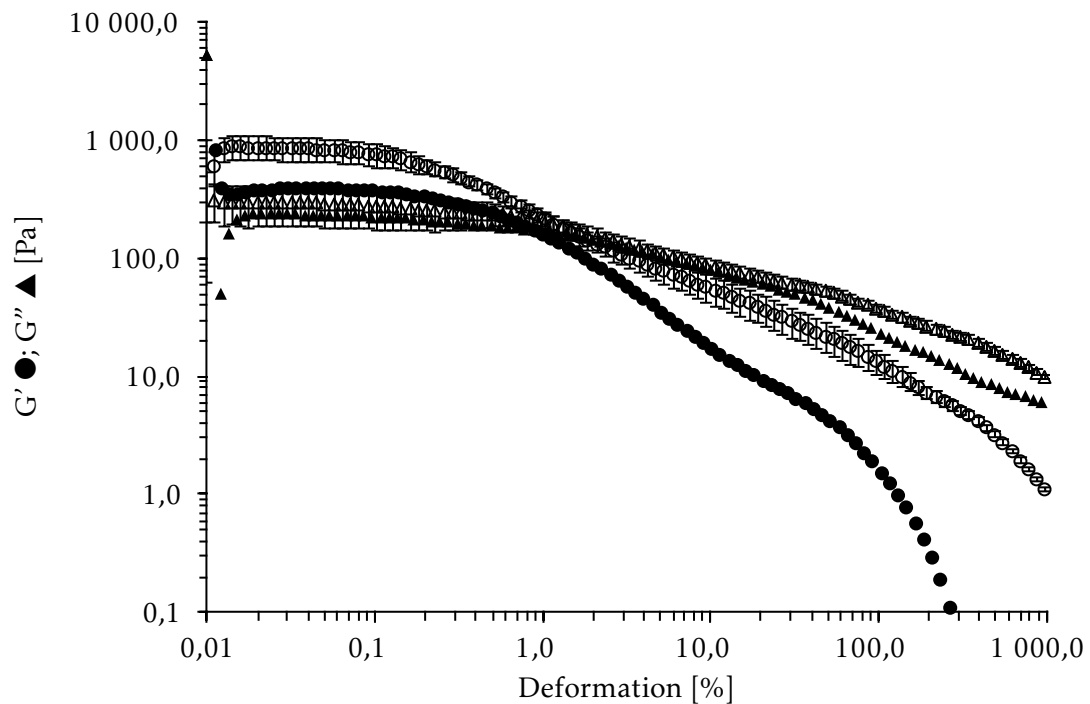


Abbildung 4.14: Oszillatorische Messung der Hydrophilen Nonivamid-Creme (●,▲) und der modifizierten amphiphilen Creme (○, △). Speichermodul G' und Verlustmodul G'' in Abhängigkeit von der Deformation bei 32 °C. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Der Verlustmodul der Hydrophilen Nonivamid-Creme beträgt 234 Pa und unterscheidet sich kaum vom Wert der modifizierten Creme (291 Pa). Der Speichermodul der Hydrophilen Nonivamid-Creme ist mit 396 Pa dagegen nur etwa halb so groß wie der, der abgewandelten Rezeptur (833 Pa). Somit kann der Verlustfaktor ausgehend von der Hydrophilen Nonivamid-Creme von 0,59 in etwa halbiert werden und beträgt nur noch 0,34. Vergleicht man die beiden Zubereitungen, so ist die Form der Kurven sehr ähnlich und auch die Lage des Cross-over-Punktes ist identisch. Betrachtet man die Lage von Speicher- und Verlustmodul, so tritt der gewünschte Effekt ein.

In wieweit der Verlustfaktor noch weiter verringert werden kann, wird im Folgenden untersucht. In dem System sind mit Glycerolmonostearat 60 und Macrogol-20-glycerolmonostearat

noch zwei Stoffe enthalten, die sich bei Erwärmung erweichen. Um diesen Effekt auszuschließen, wird die Zubereitung weiter modifiziert, indem die beiden Stoffe eliminiert werden. Da Methylcellulose ebenfalls emulgierende Eigenschaften besitzt und Öl-in-Wasser-Emulsionen stabilisieren kann, ist die Anwesenheit der zuvor eingesetzten Emulgatoren nicht zwingend erforderlich. Neben den bereits erwähnten mittelkettigen Triglyceriden wären auch andere Flüssigkeiten wie z.B. Isopropylmyristat denkbar. Ein Penetrationsbeschleuniger, wie Propylenglycol oder vergleichbare Stoffe, sollte ebenfalls berücksichtigt werden.

Während bei der filmbildenden Formulierung durch Verdunsten von Flüssigkeit und anschließendem Ausbilden eines Films das elastische Verhalten auf der Haut dominiert, wird hier ein anderer Ansatz verfolgt. Durch die Hautoberflächentemperatur von 32 °C setzt die Gelierung der Formulierung ein und die viskoelastischen Eigenschaften ändern sich. Dabei steigt der Speichermodul stärker als der Verlustmodul an. Nach der Applikation überwiegen dann die elastischen Eigenschaften. Die Formulierung sollte verglichen mit der Hydrophilen Nonivamid-Creme und der Öl-in-Öl-Emulsion eine höhere Substantivität zeigen.

Zunächst wird der Einfluss der einzelnen Hilfsstoffe auf die rheologischen Eigenschaften systematisch untersucht. Betrachtet werden dabei neben der Temperatur, bei der die Gelierung einsetzt, auch die viskoelastischen Eigenschaften.

Daraus ergeben sich verschiedene Zusammensetzungen, die im Folgenden untersucht werden. Es werden neben der Konzentration von Methylcellulose und Natriumcitrat die Art und Menge der verwendeten Macrogole und die verwendete lipophile Flüssigkeit variiert. Um den Lesefluss nicht zu sehr zu stören, werden die Zubereitungen mit einem dreistelligen Zifferncode, in der Form #123, versehen. Im Anhang ist die exakte Zusammensetzung jeder Emulsion aufgelistet. In den einzelnen Abschnitten wird dann nur auf die relevanten Inhaltsstoffe eingegangen.

Abbildung 4.15 zeigt die rheologischen Eigenschaften einer solchen Öl-in-Wasser-Emulsion. Diese besteht aus Methylcellulose, Natriumcitrat und Macrogol 8000 sowie Isopropylmyristat. Deutlich zu sehen ist, dass sich der Kurvenverlauf bei 5 °C deutlich von dem bei 32 °C unterscheidet. Während bei 5 °C der Verlustfaktor bei 17 liegt, steigt durch Erwärmen auf 32 °C der Speichermodul deutlich stärker an, als der Verlustmodul. Entsprechend verkleinert sich der Verlustfaktor auf 0,07. Damit ist dieser im Vergleich zur Hydrophilen Nonivamid-Creme um Faktor 8 kleiner. Bei einer Temperatur von 5 °C liegt somit eine flüssige Zubereitung vor, bei 32 °C überwiegen die elastischen Eigenschaften und die Emulsion verhält sich wie mehr wie ein viskoelastischer Festkörper. Dies belegt die thermogelierenden Eigenschaften der Zubereitung.

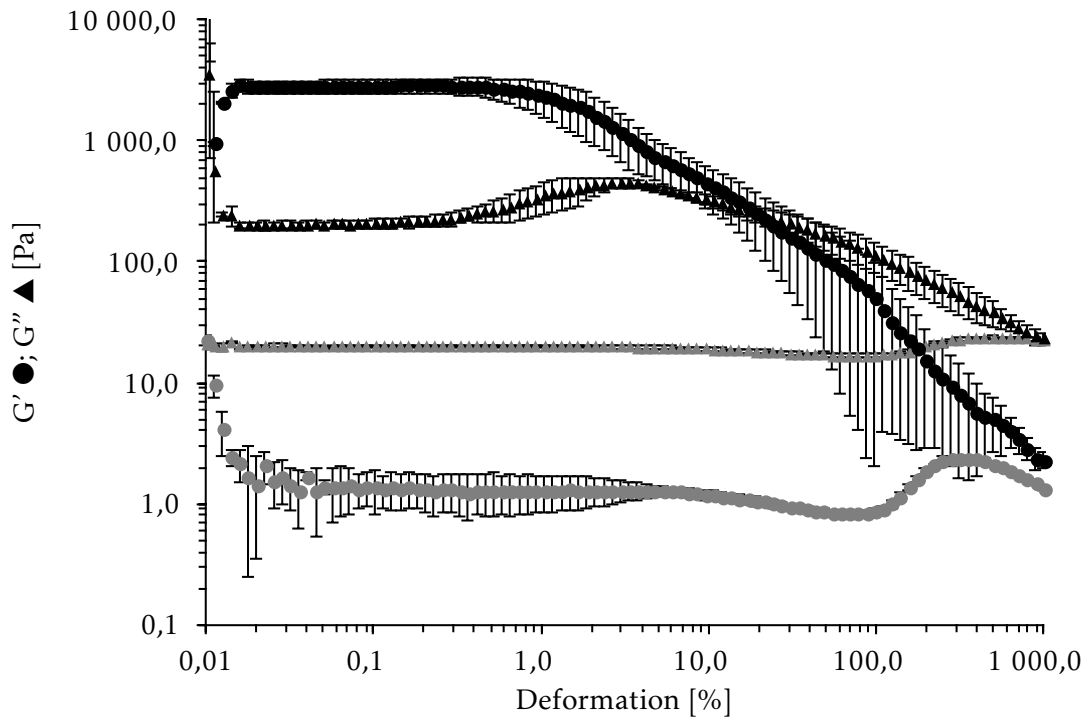


Abbildung 4.15: Oszillatorische Messung einer Emulsion (#014) bei verschiedenen Temperaturen. Speichermodul G' und Verlustmodul G'' in Abhängigkeit von der Deformation und der Temperatur. Dargestellt ist eine Messung bei 5 °C (●,▲) sowie bei 32 °C (●,▲). Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

4.3.2 Temperaturgradient

Die Emulsionen werden entsprechend Abschnitt 3.4.1 hergestellt. Um die thermogelierenden Eigenschaften zu untersuchen, wird zunächst die Viskosität in Abhängigkeit von der Temperatur untersucht. Methode und Messparameter sind in Abschnitt 3.4.10 beschrieben. Die in den folgenden Abschnitten verwendeten Zubereitungen variieren in ihrer Zusammensetzung. Aufgrund der Lesbarkeit werden nur die zur Charakterisierung nötigen Bestandteile im Text sowie den Beschriftungen genannt. Jeder Zubereitung ist ein dreistelliger Zahlencode zugeordnet. Eine detaillierte Auflistung der exakten Zusammensetzung findet sich im Anhang unter Abschnitt 7.2.1.

Abbildung 4.16 zeigt die Viskosität der Hydrophilen Nonivamid-Creme im Vergleich zu zwei methylcellulosestabilisierten Emulsionen. Dabei steigt die Temperatur von 5 °C, was einer Lagerung im Kühlschrank entspricht, bis auf 40 °C kontinuierlich an. Die Endtemperatur ist dabei so gewählt, dass sie über der Hautoberflächentemperatur von 32 °C liegt. Betrachtet man die Viskosität der Creme, nimmt sie mit steigender Temperatur ab. Bei etwa 35 °C knickt sie dabei deutlich ab. Dies lässt sich durch den Tropfpunkt von Vaseline erklären, welcher zwischen 35 und 70 °C liegt (Ph. Eur., 2014g). Bei 32 °C beträgt die Viskosität im Mittel 41 Pa · s. Die Emulsionen zeigen

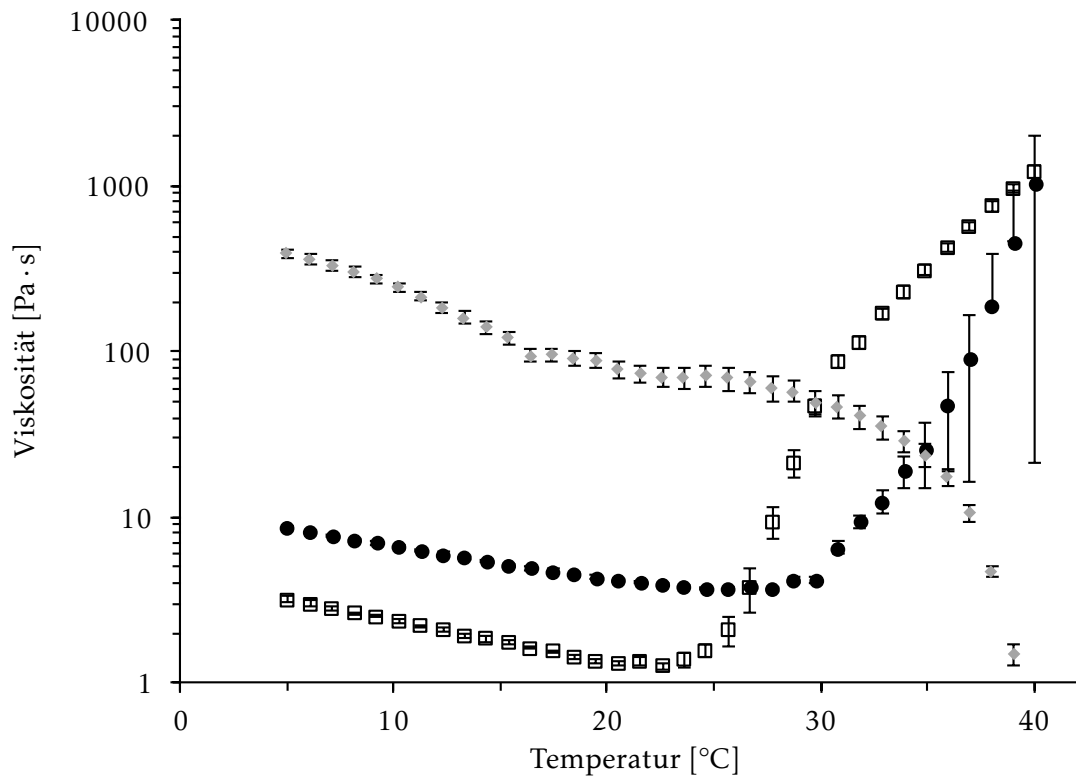


Abbildung 4.16: Viskosität gegen die Temperatur einer Emulsion ohne Natriumcitrat (●, #025) und mit 2,1 % Natriumcitrat (□, #014). Beide Emulsionen enthalten IPM. Zum Vergleich die HNC (◆) als konventionelle Zubereitung. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

im Vergleich dazu bei geringeren Temperaturen eine deutlich niedrigere Viskosität. Durch Erwärmen sinkt zunächst auch hier die Viskosität, jedoch nimmt diese ab einer gewissen Temperatur dann deutlich zu. Der postulierte Mechanismus der Thermogelierung kann dabei folgendermaßen zusammengefasst werden. Bei niedrigen Temperaturen liegen die Methylcellulose-Ketten im Wasser vollständig hydratisiert vor. Dabei spielen Wechselwirkungen zwischen den Molekülen praktisch keine Rolle. Kommt es zu einem Temperaturanstieg, werden die Polymerstränge zunächst flexibler und die Viskosität nimmt ab. Übersteigt die Temperatur einen gewissen Wert, nimmt, aufgrund der Temperaturempfindlichkeit der Wasserstoffbrücken, die Hydratisierung ab und es kommt zur Ausbildung hydrophober Wechselwirkungen zwischen den Polymermolekülen; es kommt zur Ausbildung eines dreidimensionalen Gelgerüsts (Haque und Morris, 1993; Sarkar, 1979). Das Molekulargewicht der verwendeten Methylcellulose spielt bei der Gelierungstemperatur im Gegensatz zum Substitutionsgrad eine untergeordnete Rolle (Sarkar, 1979). Die vorliegende Arbeit behandelt Emulsionen, die mit Methylcellulose vom Typ Metolose SM 25, diese weißt einen durchschnittlichen Substitutionsgrad von 1,8 auf.

Bei der Zubereitung ohne Natriumcitrat liegt die Temperatur, bei der die Gelierung einsetzt, bei

30 °C. Die Viskosität steigt auf 9 Pa · s bei Hautoberflächentemperatur. Durch Zusatz von Natriumcitrat kann sowohl die Temperatur, ab der die Viskosität steigt, erniedrigt werden als auch die Viskosität beeinflusst werden. Bei niedrigen Temperaturwerten liegt die Viskosität unter der der Zubereitung, die kein Natriumcitrat enthält. Ab 26 °C steigt sie an und erreicht bei Hauttemperatur einen Wert von 115 Pa · s. Der Zusatz von Natriumcitrat hat demnach einen Einfluss auf das rheologische Verhalten der Emulsion. Die zugesetzten Ionen werden wie die Methylcellulose hydratisiert. Dadurch ist ein Teil des Wassers gebunden und steht für die Hydratation des Polymers nicht mehr zur Verfügung. Wie oben beschrieben, beruht die Thermogelierung auf einer Abnahme der Hydratation der Methylcellulose. Werden Stoffe zugegeben, die eine höhere Affinität zu Wasser haben, setzt die Dehydratation des Polymers früher ein (Sarkar, 1979), was ein Absinken der Gelierungstemperatur zur Folge hat. Ein Zusatz von Natriumcitrat ist daher für den beabsichtigten Einsatz der Emulsion auf der Haut von Vorteil.

Im nächsten Schritt wird untersucht, ob durch die Wahl einer anderen hydrophoben Flüssigkeit das rheologische Verhalten der Emulsion ebenfalls beeinflusst werden kann.

Als potentielle Kandidaten wurden dabei Isopropylmyristat und mittelkettige Triglyceride gewählt. Diese sind gängige Hilfsstoffe in Dermatika und zeichnen sich durch eine geringe Viskosität aus. Raffiniertes Rizinusöl, das eine sehr gute Löslichkeit für den Modellarzneistoff Nonivamid aufweist, wurde aufgrund der hohen Viskosität ausgeschlossen. Ebenso flüssiges Paraffin, da Nonivamid diesem sehr schlecht löslich ist (Heck, 2017). In Abbildung 4.17 sind die Ergebnisse wiederum mit der Hydrophilen Nonivamid-Creme als Vergleich dargestellt.

Die Emulsionen unterscheiden sich nur in der dispersen Phase und beinhalten kein Natriumcitrat. Der Verlauf der Kurve der Hydrophilen Nonivamid-Creme und der Zubereitung mit Isopropylmyristat entsprechen dabei der Abbildung 4.16. Die Emulsion, die mit mittelkettigen Triglyceriden zubereitet wurden unterscheidet sich von der Emulsion mit Isopropylmyristat. Werden mittelkettige Triglyceride verwendet, steigt ab 26 °C die Viskosität stark an. Bei 32 °C beträgt sie 85 Pa · s. Sie ähnelt damit im Verlauf der Zubereitung mit Natriumcitrat aus Abbildung 4.16. Die Verwendung von mittelkettigen Triglyceriden ist verglichen mit Isopropylmyristat von Vorteil bezogen auf die Gelierungstemperatur. Ein weiterer Vorteil ist, dass die Sättigungslöslichkeit von Nonivamid in mittelkettigen Triglyceriden höher ist als in Isopropylmyristat (Heck, 2017).

Als weiterer Hilfsstoff wird Macrogol verwendet. Es wird untersucht, inwiefern sich das Molekulargewicht auf die Gelierungstemperatur auswirkt. In Abbildung 4.18 ist die Viskosität in Abhängigkeit von der Temperatur zu sehen. Die Zubereitungen sind bis auf das verwendete Ma-

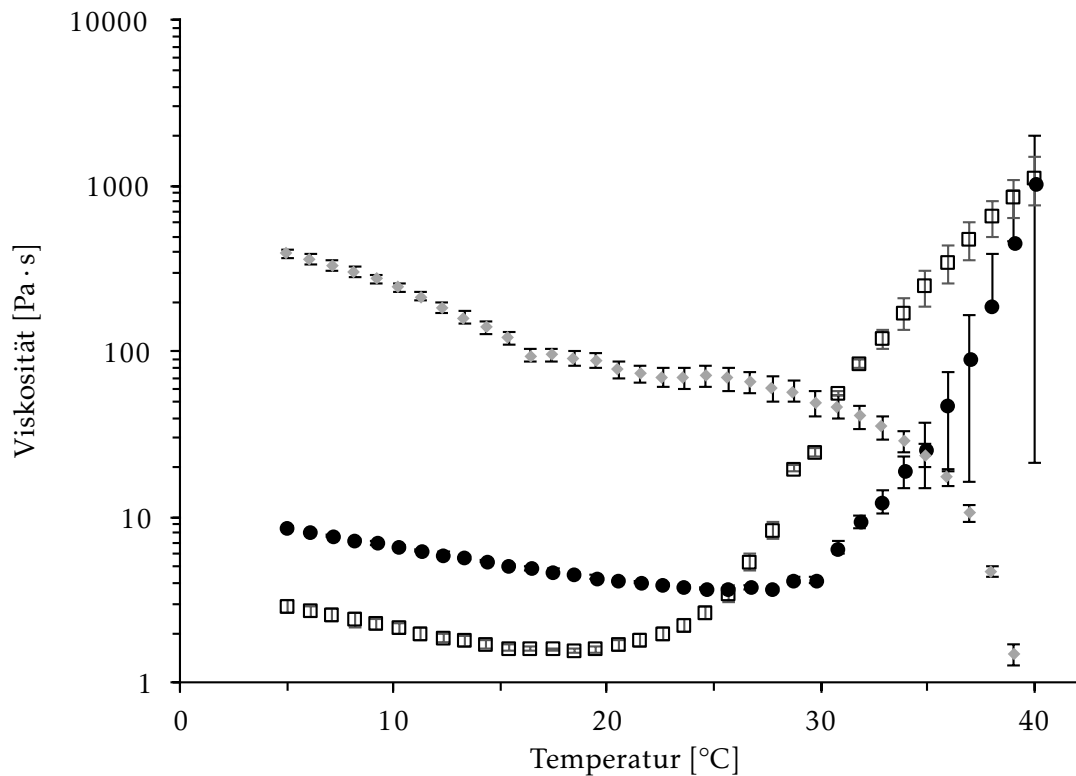


Abbildung 4.17: Viskosität gegen die Temperatur einer Emulsion mit IPM (●, #025) bzw. mit MCT (□, #027) als hydrophobe Phase. Zum Vergleich die HNC (◆) als konventionelle Zubereitung. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

crogol identisch.

Der temperaturabhängige Verlauf der Emulsionen mit Macroglol 4000 bzw. 8000 zeigt zwischen 5 und 20 °C eine geringe Abnahme der Viskosität. Übersteigt die Temperatur 26 °C steigt die gemessene Viskosität stark an. Ein Unterschied zwischen den beiden verwendeten Macroglolen kann nicht beobachtet werden. Das Molekulargewicht des verwendeten Macroglols (4000 oder 8000 $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$) ändert demnach nichts am Verlauf der Viskositätszunahme.

In Abbildung 4.19 ist der Vergleich zweier Emulsionen mit Macroglol 8000 bzw. 40 000 dargestellt. Wird Macroglol 40 000 in die Emulsion eingearbeitet, resultiert dies in einer schwachen Viskositätszunahme zwischen 5 und 30 °C. Übersteigt die Temperatur 30 °C nimmt die Viskosität stark zu. Die Emulsion mit Macroglol 40 000 besitzt bei 32 °C eine Viskosität von 35 Pa · s. Die Emulsion mit Macroglol 8000 zeigt, wie bereits beschrieben, zunächst einen Abfall der Viskosität, gefolgt von einem starken Anstieg ab etwa 26 °C. Bei 32 °C beträgt die Viskosität 57 Pa · s. Vergleicht man die beiden Emulsionen zeigt die Emulsion mit Macroglol 40 000 bereits bei geringen Temperaturen einen höhere Viskosität. Die Temperatur, ab der die Viskosität stark zunimmt ist im Vergleich zur Emulsion mit Macroglol 8000 zu höheren Werten verschoben. Bei Hautoberflä-

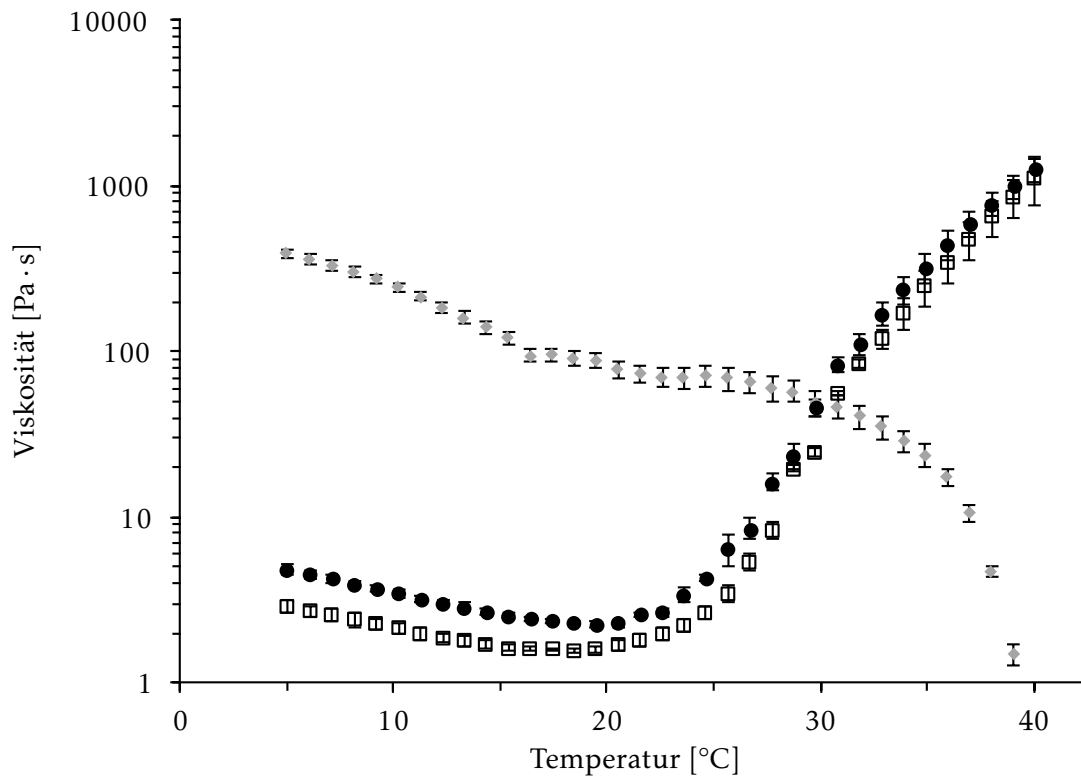


Abbildung 4.18: Viskosität gegen die Temperatur einer Emulsion mit Macroglol 4000 (●, #026) bzw. mit Macroglol 8000 (□, #027). Zum Vergleich die HNC (◆) als konventionelle Zubereitung. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

chentemperatur von 32 °C zeigt die Emulsion mit Macroglol 8000 den höheren Wert.

Somit kann ein Einfluss von Macroglolen mit Molekülmassen von mehr als 8000 $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ausgemacht werden. Zwischen mittleren Molekülmassen in Höhe von 4000 und 8000 $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ kann im Verlauf der temperaturabhängigen Viskosität kein Unterschied gefunden werden.

Die untersuchten Emulsionen unterscheiden sich abhängig von ihrer Zusammensetzung. Durch die konstante Methylcellulose-Konzentration von 4,8 % zeigen alle Zubereitungen thermogelierende Eigenschaften. Durch Variation der einzelnen Zusätze kann das Verhalten in gewissen Grenzen modifiziert werden. Als Zwischenfazit kann für die vorläufige qualitative Zusammensetzung folgende Auflistung gemacht werden (Tabelle 4.5).

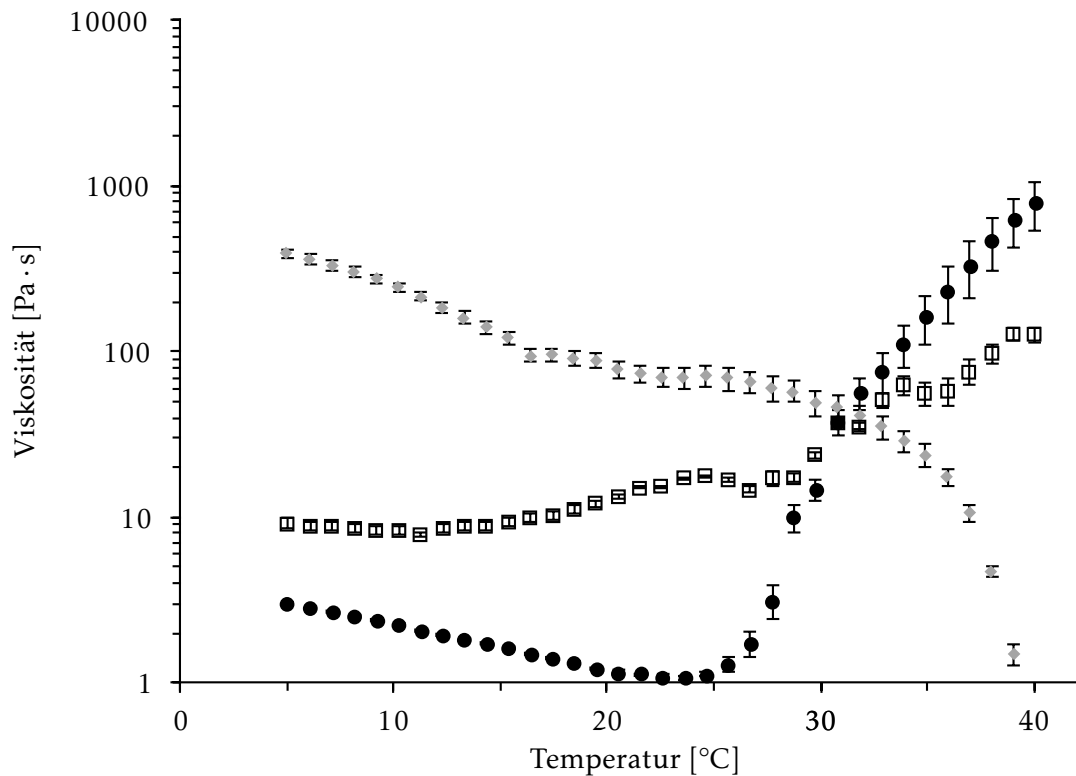


Abbildung 4.19: Viskosität gegen die Temperatur einer Emulsion mit Macroglol 8000 (●, #023) bzw. mit Macroglol 40 000 (□, #015). Zum Vergleich die HNC (◆) als konventionelle Zubereitung. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Tabelle 4.5: Vorläufige qualitative Zusammensetzung der Thermoemulsionen

Inhaltsstoff
Methylcellulose SM-25
Natriumcitrat
Macroglol $\leq 8000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
Mittelkettige Triglyceride
Gereinigtes Wasser

4.3.3 Oszillatorische Messungen

Einfluss von Macroglol, Natriumcitrat und disperser Phase

Für die weitere Charakterisierung der Zubereitungen werden oszillatorische Messungen durchgeführt. Aus diesen Ergebnissen werden Informationen über das viskoelastische Verhalten der Emulsionen gewonnen. Die Vorgehensweise ist in Abschnitt 3.4.10 beschrieben. Durch Kenntnis-

se über Speicher- und Verlustmodul sowie über den daraus resultierenden Verlustfaktor können die Emulsionen besser beurteilt werden. Da die Eigenschaften bei Hautoberflächentemperatur für die Charakterisierung von größerer Bedeutung sind, wird in den folgenden Abbildungen aus Gründen der Übersichtlichkeit darauf verzichtet, die Ergebnisse bei 5 °C darzustellen. Speicher- und Verlustmodul im LVE-Bereich bei dieser Temperatur sind im Anhang im Abschnitt 7.2.4 aufgelistet.

Zunächst wird untersucht, ob die viskoelastischen Eigenschaften durch das Einarbeiten unterschiedlicher Macrogole beeinflusst werden können.

Die vorhergehenden Untersuchungen zeigen keinen Unterschied zwischen Macrogol 4000 und 8000 bezüglich der Thermogelierung. Daher wird zunächst untersucht, ob die Formulierungen auch in ihren viskoelastischen Eigenschaften vergleichbar sind. In Tabelle 4.6 sind die Werte für Speicher- und Verlustmodul sowie für den Verlustfaktor aufgelistet.

Tabelle 4.6: Übersicht über die viskoelastischen Eigenschaften in Abhängigkeit von disperser Phase und Macrogol. Die Werte stellen den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung dar; $n = 3$

Kennzeichnung	Disperse Phase	Macrogol [g · mol ⁻¹]	G' [Pa]	G'' [Pa]	tan δ [1]
#027	MCT	8000	3338,3 \pm 757,2	334,7 \pm 82,4	0,10 \pm 0,00
#026	MCT	4000	2872,7 \pm 563,6	252,3 \pm 88,2	0,09 \pm 0,01
#015	IPM	40 000	3159,0 \pm 41,90	240,3 \pm 1,85	0,08 \pm 0,00
#014	IPM	8000	2850,3 \pm 349,5	207,4 \pm 17,2	0,07 \pm 0,01

Die Rezepturen #026 und #027 unterscheiden sich dabei nur in der Kettenlänge des verwendeten Macrogols. Weder für den Speichermodul noch für den Verlustfaktor kann dabei ein statistisch signifikanter Unterschied gefunden werden. Die zwei Emulsionen können bezüglich ihrer rheologischen Eigenschaften als äquivalent angesehen werden. Auch die beiden anderen Rezepturen (#015 und #014) sind bis auf das verwendete Macrogol in ihrer Zusammensetzung identisch; ebenso sind Speichermodul und Verlustfaktor gleich. Ein Einfluss der drei verwendeten Macrogole (4000, 8000 und 40 000) auf die viskoelastischen Eigenschaften kann somit nicht gefunden werden. Der Speichermodul der Formulierungen ist vergleichbar.

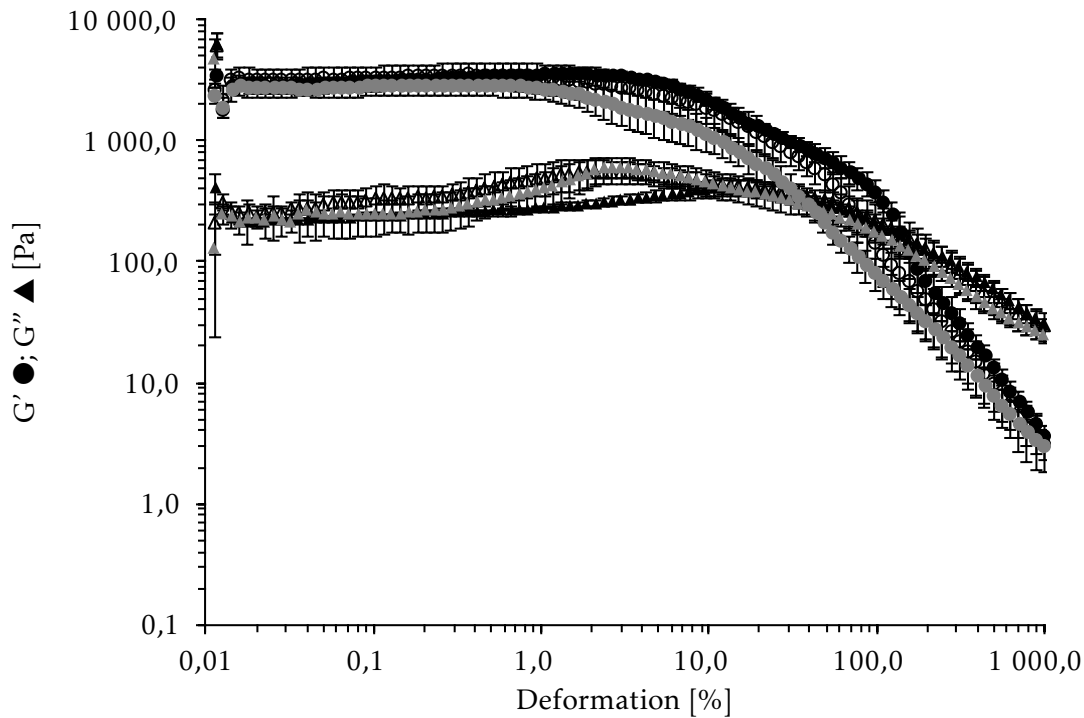


Abbildung 4.20: Oszillatorische Messung von Emulsionen mit verschiedenen Macrogolen. Macrogol 4000 (●, ▲, #026), Macrogol 8000 (○, △, #027) und Macrogol 40 000 (●, ▲, #015). Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Die weiteren verwendeten Hilfsstoffe sind Natriumcitrat und die Flüssigkeit der dispersen Phase. Betrachtet man die Werte für Speicher- und Verlustmodul und den resultierenden Verlustfaktor in Tabelle 4.7 und Abbildung 4.21, so kann Folgendes beobachtet werden. Der Verlustfaktor der Formulierung mit Macrogol 8000 und mittelkettigen Triglyceriden weist den höchsten Speichermodul auf. Verglichen mit den Formulierungen mit Isopropylmyristat ist ein signifikanter Unterschied feststellbar; die Werte sind in ihrer Größenordnung dennoch vergleichbar.

Tabelle 4.7: Übersicht über die viskoelastischen Eigenschaften in Abhängigkeit von disperser Phase und Natriumcitrat. Die Werte stellen den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung dar; $n = 3$

Kennzeichnung	Disperse Phase	Natriumcitrat [%]	G' [Pa]	G'' [Pa]	$\tan \delta$ [1]
#027	MCT	0,0	$3338,3 \pm 757,2$	$334,7 \pm 82,4$	$0,10 \pm 0,00$
#067	MCT	2,1	$4658,0 \pm 755,0$	$488,6 \pm 82,8$	$0,10 \pm 0,00$
#025	IPM	0,0	$552,8 \pm 210,0$	$90,6 \pm 18,1$	$0,17 \pm 0,03$
#014	IPM	2,1	$2850,3 \pm 349,5$	$207,4 \pm 17,2$	$0,07 \pm 0,01$

Wird einer Emulsion mit mittelkettigen Triglyceriden Natriumcitrat zugesetzt, steigen Speicher- und Verlustmodul an. Im gezeigten Beispiel nehmen beide Parameter in etwa um den Faktor 1,4 zu. Der Verlustfaktor beträgt für beide Rezepturen im Mittel 0,10. Ein Effekt durch die Zugabe von Natriumcitrat zu einer Emulsion mit mittelkettigen Triglyceriden kann beobachtet werden; wengleich sich dieser Effekt in gleichem Maße auf Speicher- und Verlustmodul auswirkt und damit der Verlustfaktor unberührt bleibt. Als Grund kann die Absenkung der Gelierungstemperatur durch Natriumcitrat angesehen werden (s. Abbildung 4.16).

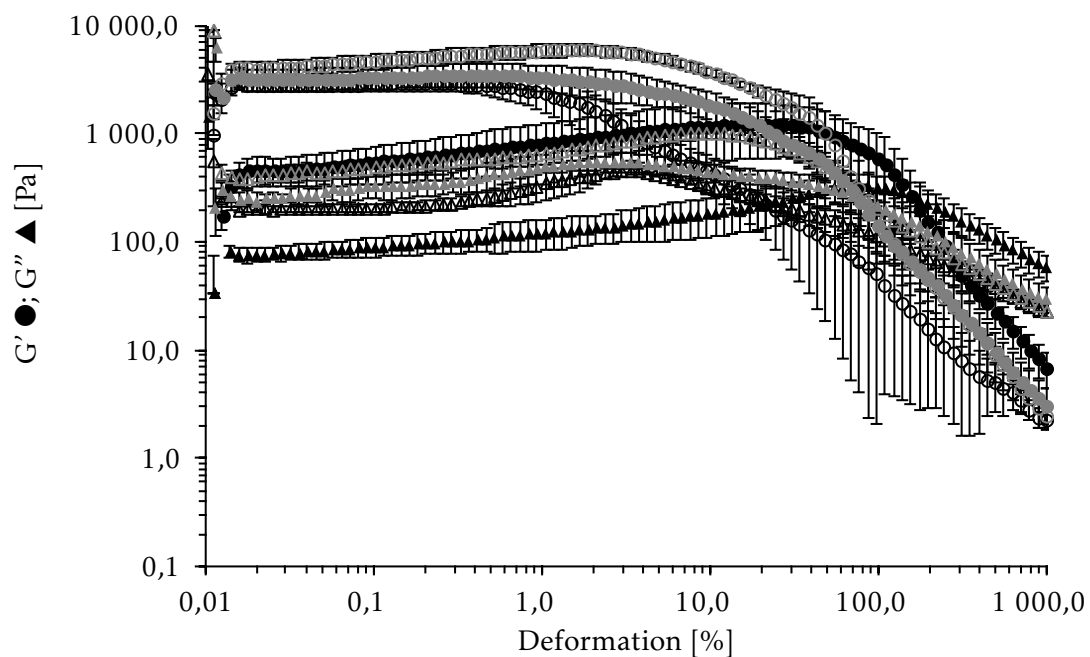


Abbildung 4.21: Oszillatorische Messung von Emulsionen mit bzw. ohne Natriumcitrat und verschiedenen dispersen Phasen. MCT ohne Natriumcitrat (●, ▲, #027), MCT mit Natriumcitrat (○, △, #067), IPM ohne Natriumcitrat (●, ▲, #025) und IPM mit Natriumcitrat (○, △, #014). Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Der Effekt durch die Zugabe von Natriumcitrat auf Emulsionen mit Isopropylmyristat ist stärker ausgeprägt. Hier steigt der Speichermodul durch die Zugabe des Salzes sogar um den Faktor 5,2 an. Gleichzeitig steigt der Verlustmodul nur um den Faktor 2,3. Als Folge sinkt durch das Natriumcitrat der Verlustfaktor statistisch signifikant von 0,17 auf 0,07. Beinhaltet die Emulsion kein Natriumcitrat, so hängen die viskoelastischen Eigenschaften von der verwendeten dispersen Phase ab. Vergleicht man die beiden Emulsionen ohne Natriumcitrat, so unterscheiden sie sich in Speicher- und Verlustmodul, wobei die Zubereitung mit mittelkettigen Triglyceriden einen sechsfach höheren Speichermodul aufweist. Hierbei muss auch die Viskosität der verwendeten dispersen Phase beachtet werden. Mit etwa $30 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ (Ph. Eur., 2014e) ist die Viskosität von mittelket-

tigen Triglyceriden in etwa sechsmal so hoch wie die von Isoptopylmyristat ($6 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ (Ph. Eur., 2014c)) Die Verlustmodule unterscheiden sich gleichzeitig um den Faktor 3,7 und entsprechend ändert sich der Verlustfaktor der Zubereitungen, dabei weist die Emulsion mit mittelkettigen Triglyceriden den kleineren Wert auf.

Enthalten die Zubereitungen Natriumcitrat und unterscheiden sie sich in ihrer dispersen Phase, ist der Effekt schwächer ausgeprägt. Die Emulsion mit mittelkettigen Triglyceriden zeigt einen 1,6-fach höheren Speichermodul als die Emulsion mit Isopropylmyristat; beim Verlustmodul ergibt sich ein Verhältnis von 2,4. Der ermittelte Verlustfaktor der Emulsion mit Isopropylmyristat beträgt 0,07 und ist verglichen mit der Emulsion mit mittelkettigen Triglyceriden (0,10) kleiner. Der Unterschied ist statistisch jedoch nicht signifikant.

Die verwendete hydrophobe Flüssigkeit hat einen Einfluss auf die viskoelastischen Eigenschaften der Formulierung bei $32 \text{ }^\circ\text{C}$. Durch den Zusatz von Natriumcitrat kann der Effekt der dispersen Phase abgeschwächt werden. In Bezug auf den Verlustfaktor ist dann kein Unterschied mehr feststellbar.

Einfluss von Ethanol, Propylenglycol und Glycerol

In Hinblick auf eine dermale Applikation, sollten auch biopharmazeutische Aspekte beachtet werden. Um die Wirkstoffpenetration in die Haut zu modifizieren, können verschiedene Stoffe eingesetzt werden. Im Folgenden wird daher untersucht, inwiefern Ethanol, Propylenglycol oder Glycerol die viskoelastischen Eigenschaften beeinflussen. Alle drei Hilfsstoffe sind als Penetrationsbeschleuniger an verschiedenen Stellen beschrieben (Barry, 1987; Lane, 2013; Williams und Barry, 1989; Williams und Barry, 2012). In Anlehnung an die Hydrophile Nonivamid-Creme, die 9,1 % Ethanol enthält, werden zwei Konzentrationsstufen untersucht. Ethanol, Propylenglycol und Glycerol werden jeweils separat mit einem Anteil von 9 bzw. 15 % bezogen auf die Gesamtmasse der Rezeptur untersucht.

Als erster Hilfsstoff soll Ethanol betrachtet werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.8 und Abbildung 4.22 dargestellt. Wie aus der Wertetabelle abgelesen werden kann, verändert der Ethanolzusatz den Wert von Speicher- und Verlustmodul. So zeigt die Emulsion ohne Ethanol im Mittel einen Speichermodul von 4658 Pa. Durch 9 % Ethanol wird er statistisch signifikant auf 317 Pa abgesenkt. Wird die Ethanolkonzentration weiter auf 15 % gesteigert, erhöht sich der Speichermodul und nimmt im Mittel einen Wert von 5950 Pa an. Damit unterscheidet er sich von den beiden anderen Emulsionen signifikant. Von der Größenordnung ähnelt der Speichermodul der Emulsion mit 15 % Ethanol der Emulsion ohne Ethanolzusatz. Da sich auch der Verlustmodul entsprechend ändert, bleibt der Verlustfaktor der drei betrachteten Emulsionen vergleichbar. Ein statistisch signifikanter Unterschied kann nicht gefunden werden. Da Methylcellulose in Ethanol unlöslich ist (Ph. Eur., 2014d), war ein Effekt auf die viskoelastischen Eigenschaften zu erwarten. Die Thermogelierung von Methylcelluloselösungen beruht auf einer Veränderung der Löslichkeit in Abhängigkeit von der Temperatur. Durch den Ethanolzusatz wird die Löslichkeit beeinflusst und demzufolge zeigt sich ein Effekt auf die Thermogelierung.

Tabelle 4.8: Übersicht über viskoelastischen Eigenschaften in Abhängigkeit von der Ethanolkonzentration. Die Werte stellen den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung dar; $n = 3$

Kennzeichnung	Ethanol [%]	G' [Pa]	G'' [Pa]	tan δ [1]
#067	0	4658,0 \pm 755,0	488,6 \pm 82,8	0,10 \pm 0,00
#099	9	317,0 \pm 162,3	28,3 \pm 10,5	0,09 \pm 0,01
#070	15	5950,3 \pm 1796,3	809,4 \pm 439,6	0,13 \pm 0,03

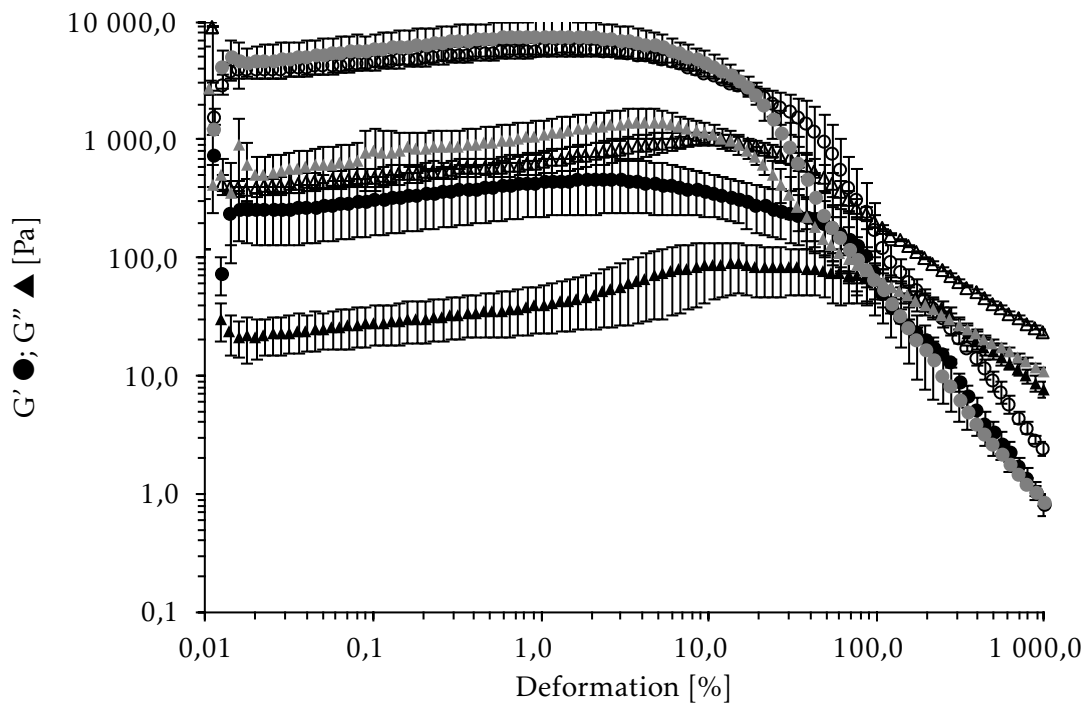


Abbildung 4.22: Oszillatorische Messung von Emulsionen mit unterschiedlichem Ethanolgehalt. Kein Ethanolzusatz (○, △, #014), 9% (●, ▲, #099) und 15% (●, ▲, #070). Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert ± Standardabweichung; n = 3

Eine Änderung der viskoelastischen Eigenschaften zeigt sich auch bei der Verwendung von Propylenglycol. Wie man in Tabelle 4.9 sehen kann, sinkt mit steigender Propylenglycolkonzentration der Speichermodul ab. Die Emulsionen mit Propylenglycol zeigen einen signifikant niedrigeren Speichermodul, verglichen mit der Emulsion ohne Zusatzstoff. Betrachtet man den Verlustfaktor, unterscheidet sich nur die Emulsion mit 9% Propylenglycol signifikant von den anderen Zubereitungen. Abbildung 4.23 zeigt den Kurvenverlauf grafisch. Hier ist zu sehen, dass die Kurven nur nach oben bzw. unten verschoben sind, die Kurvencharakteristik jedoch unverändert bleibt.

Tabelle 4.9: Übersicht über die viskoelastischen Eigenschaften in Abhängigkeit von der Propylenglycolkonzentration. Die Werte stellen den arithmetischen Mittelwert ± Standardabweichung dar; n = 3

Kennzeichnung	Propylenglycol [%]	G' [Pa]	G'' [Pa]	tan δ [1]
#067	0	4658,0 ± 755,0	488,6 ± 82,8	0,10 ± 0,00
#031	9	1868,7 ± 402,5	128,3 ± 33,7	0,07 ± 0,00
#029	15	343,4 ± 68,0	36,8 ± 4,5	0,11 ± 0,01

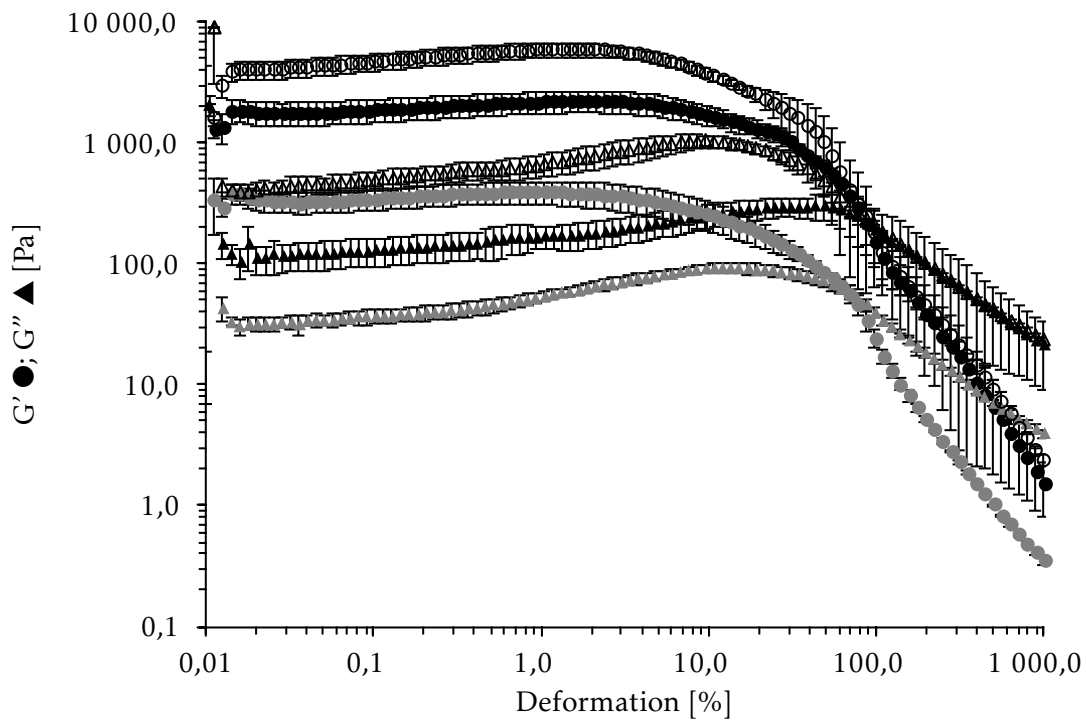


Abbildung 4.23: Oszillatorische Messung von Emulsionen mit unterschiedlichen Konzentrationen an Propylenglycol. Kein Zusatz (○, △, #067), 9 % (●, ▲, #031) und 15 % Propylenglycol (●, ▲, #029). Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert ± Standardabweichung; n = 3

Der dritte untersuchte Penetrationsbeschleuniger ist Glycerol. Auch hier werden Emulsionen mit 9 bzw. 15 % Glycerol mit einer Emulsion ohne Zusatz verglichen. Speicher- und Verlustmodul sowie der resultierende Verlustfaktor sind in Tabelle 4.10 aufgelistet; der Kurvenverlauf kann Abbildung 4.24 entnommen werden. Wie bei Ethanol und Propylenglycol ist auch bei Glycerolzusatz ein Effekt zu beobachten. Während bei einer Menge von 9 % eine Zunahme des Speichermoduls auftritt, kehrt sich dieser Effekt bei einer höheren Konzentration ins Gegenteil um und der Speichermodul sinkt im Vergleich zur Emulsion ohne Zusatz. Alle drei Rezepturen unterscheiden sich in Bezug auf den Speichermodul statistisch signifikant. Die Emulsion mit 15 % Glycerol unterscheidet sich bezüglich des Verlustfaktors signifikant von der Emulsion mit 9 % Glycerol. Zwischen den anderen Zubereitungen kann jedoch kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Vergleicht man die einzelnen Hilfsstoffe mit derselben Konzentration untereinander, ergibt sich folgendes Bild: Der Speichermodul von Emulsionen mit Ethanol bzw. Propylenglycol unterscheidet sich signifikant von der Emulsion mit Glycerol. Der Verlustfaktor wiederum ist mit einem Zusatz von 9 % Propylenglycol signifikant kleiner als bei Emulsionen mit 9 % Ethanol oder Glycerol.

Bei einer konstanten Konzentration von 15 % unterscheidet sich der Speichermodul der Emul-

Tabelle 4.10: Übersicht über die viskoelastischen Eigenschaften in Abhängigkeit von der Glycerolkonzentration. Die Werte stellen den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung dar; $n \geq 3$

Kennzeichnung	Glycerol [%]	G' [Pa]	G'' [Pa]	$\tan \delta$ [1]
#067	0	$4658,0 \pm 755,0$	$488,6 \pm 82,8$	$0,10 \pm 0,00$
#045	9	$7630,5 \pm 2318,9$	$677,6 \pm 230,3$	$0,09 \pm 0,01$
#055	15	$970,1 \pm 182,7$	$119,5 \pm 33,5$	$0,12 \pm 0,01$

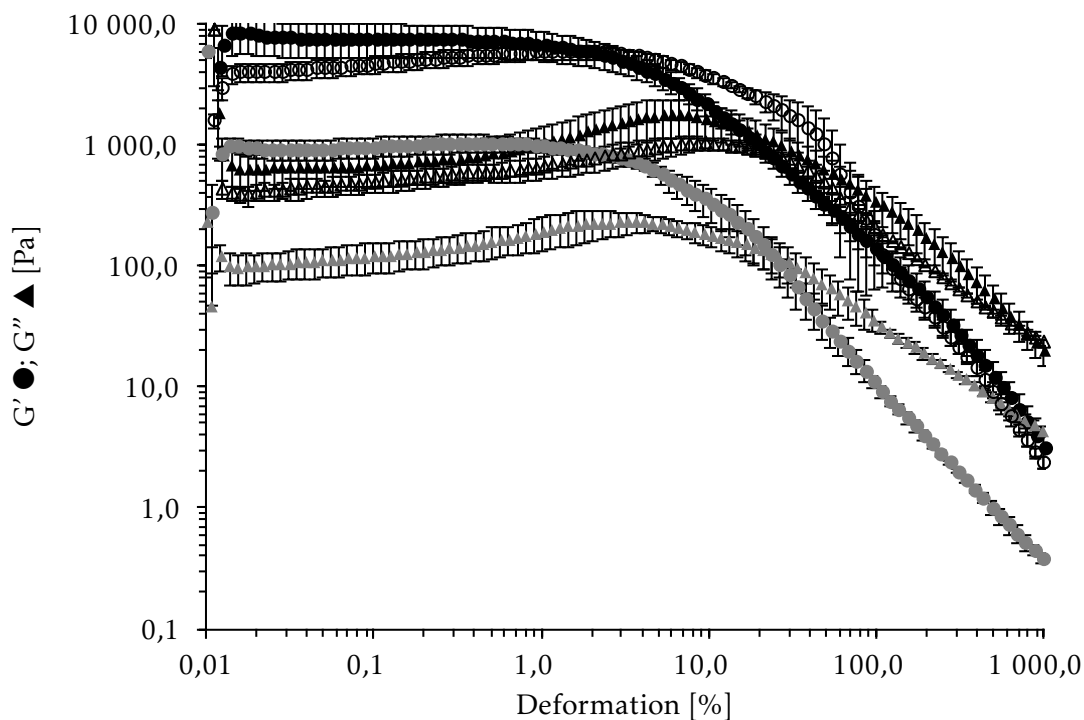


Abbildung 4.24: Oszillatorische Messung von Emulsionen mit unterschiedlichem Glycerolgehalt. Kein Glycerolzusatz (\circ , Δ , #067), 9 % (\bullet , \blacktriangle , #045) und 15 % Glycerol (\bullet , \blacktriangle , #055). Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n \geq 3$

sion mit Ethanol signifikant von den Emulsionen mit den Zusatzstoffen Propylenglycol bzw. Glycerol. Der Verlustfaktor der drei Emulsionen ist hingegen vergleichbar und ein statistisch signifikanter Unterschied kann nicht ermittelt werden.

Zusammenfassend kann man einen Einfluss der drei Penetrationsbeschleuniger Ethanol, Propylenglycol und Glycerol auf die viskoelastischen Eigenschaften feststellen. Die Effekte sind konzentrationsabhängig, wobei bei gleichen Anteilen zwischen den Hilfsstoffen Unterschiede bestehen. Durch den Zusatz der untersuchten Stoffe ändert sich die Löslichkeit von Methylcellulose im System. Ob ein direkter Zusammenhang zwischen der Löslichkeit und den rheologischen Eigenschaften besteht, wird durch Messung der Trübungspunktes in Abschnitt 4.7 diskutiert.

Einfluss der Methylcellulosekonzentration

Im folgenden Abschnitt soll der Einfluss der Methylcellulosekonzentration auf die viskoelastischen Eigenschaften der Emulsion beleuchtet werden. Der verwendete Methylcellulose-Typ ist immer Metolose SM 25. Es wird dieser Typ gewählt, um eine Emulsion mit möglichst geringer Viskosität zu erhalten. Die bis hierher beschriebenen Zubereitungen wurden mit einem konstanten Polymeranteil von 4,8 % hergestellt. Ob auch mit einer geringeren Menge an Methylcellulose vergleichbare Emulsionen präpariert werden können, soll nun untersucht werden. Dazu wird die Konzentration um eine Zehnerpotenz auf 0,5 % reduziert. Zusätzlich werden Emulsionen mit einer Konzentration von 1,0 %, was einer Reduktion um den Faktor fünf entspricht, hergestellt. Somit wird der untere Konzentrationsbereich näher betrachtet, da eine möglichst geringe Methylcellulosekonzentration in der finalen Formulierung wünschenswert ist. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.11 und Abbildung 4.25 abgebildet.

Tabelle 4.11: Übersicht über die viskoelastischen Eigenschaften in Abhängigkeit von der Methylcellulosekonzentration. Die Werte stellen den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung dar; $n = 3-5$

Kennzeichnung	Methylcellulose [%]	G' [Pa]	G'' [Pa]	$\tan \delta$ [1]
#099	4,8	$317,0 \pm 162,3$	$28,3 \pm 10,5$	$0,09 \pm 0,01$
#100	1,0	$6,32 \pm 0,97$	$0,64 \pm 0,06$	$0,10 \pm 0,01$
#101	0,5	$4,64 \pm 2,21$	$0,47 \pm 0,11$	$0,12 \pm 0,07$

Die Werte in Tabelle 4.11 zeigen, dass durch die Methylcellulosekonzentration die viskoelastischen Eigenschaften beeinflusst werden. Die Zubereitungen mit 0,5 oder 1,0 % weisen einen signifikant kleineren Speichermodul auf als die Emulsion mit 4,8 % Methylcellulose. Der Verlustfaktor der drei untersuchten Emulsionen zeigt mit kleiner werdendem Polymeranteil eine steigende Tendenz. Zu beachten ist, dass die Gelierungstemperatur von der Polymerkonzentration abhängig ist (Takeuchi et al., 2003; Thirumala et al., 2013). Bei geringer Methylcellulosekonzentration ist das Gelgerüst bei der vorliegenden Temperatur von 32 °C eventuell noch nicht voll ausgebildet. Verglichen mit der Hydrophilen Nonivamid-Creme sind die Werte für den Verlustfaktor aber auch bei geringer Methylcellulosekonzentration kleiner; ein signifikanter Unterschied kann jedoch nicht gefunden werden. Der Verlauf der Kurven für Speicher- und Verlustmodul bleibt hingegen unverändert (Abbildung 4.25).

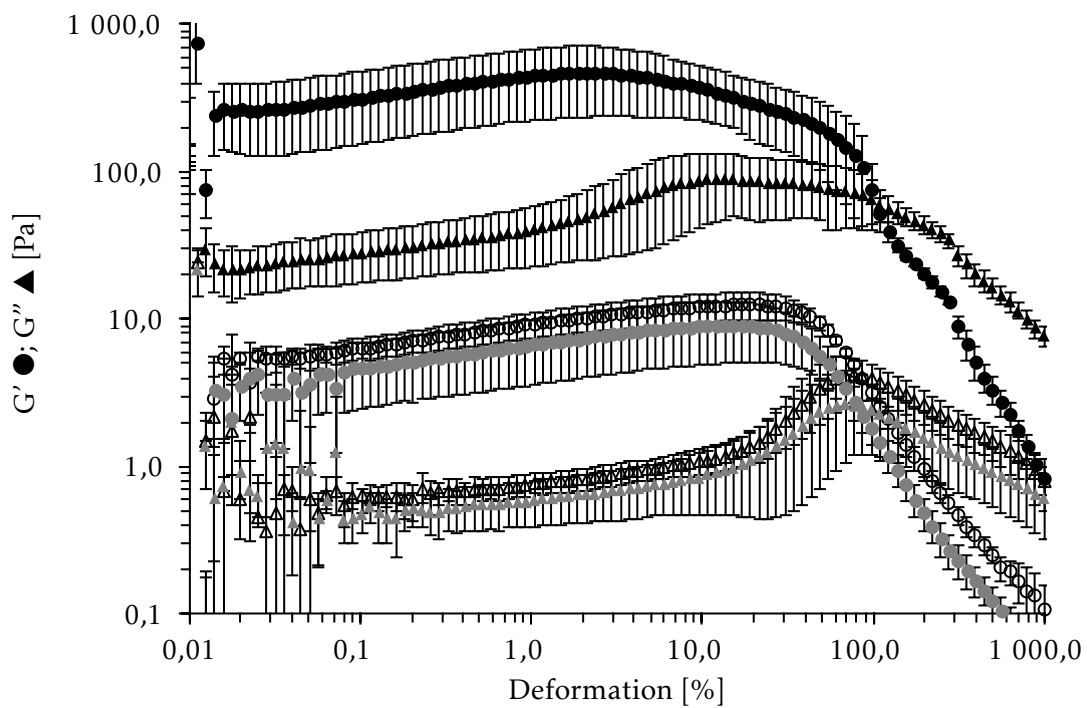


Abbildung 4.25: Oszillatorische Messungen von Emulsionen mit unterschiedlichen Mengen an Methylcellulose. Verglichen werden 4,8 % (●, ▲, #099), 1,0 % (○, △, #100) und 0,5 % Methylcellulose (●, ▲, #101). Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert ± Standardabweichung; $n \geq 3$

Einfluss niedermolekularer Macrogole

Da die Macrogole mit einer Molekülmasse von mehr als $1500 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ bei Hautoberflächentemperatur einen festen Aggregatzustand annehmen, besteht die Möglichkeit, dass sich eine starre, filmähnliche Schicht auf der Haut ausbildet. Durch den Einsatz von Macrogolen, die bei Hauttemperatur flüssig sind, kann dieser Effekt ausgeschlossen werden. Verwendet wird Macroglol mit einer mittleren molaren Masse von $200 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.12 und Abbildung 4.26 dargestellt.

Tabelle 4.12: Übersicht über die viskoelastischen Eigenschaften bei Verwendung eines Macrogols mit niedrigem Molekulargewicht. Am Beispiel von Macroglol 200. Aufgelistet ist der arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Kennzeichnung	Methylcellulose [%]	G' [Pa]	G'' [Pa]	$\tan \delta$ [1]
#102	4,8	$2366,7 \pm 63,5$	$228,7 \pm 6,0$	$0,10 \pm 0,00$
#103	1,0	$3,82 \pm 0,48$	$0,71 \pm 0,04$	$0,19 \pm 0,03$
#104	0,5	$2,11 \pm 0,19$	$0,29 \pm 0,15$	$0,14 \pm 0,08$

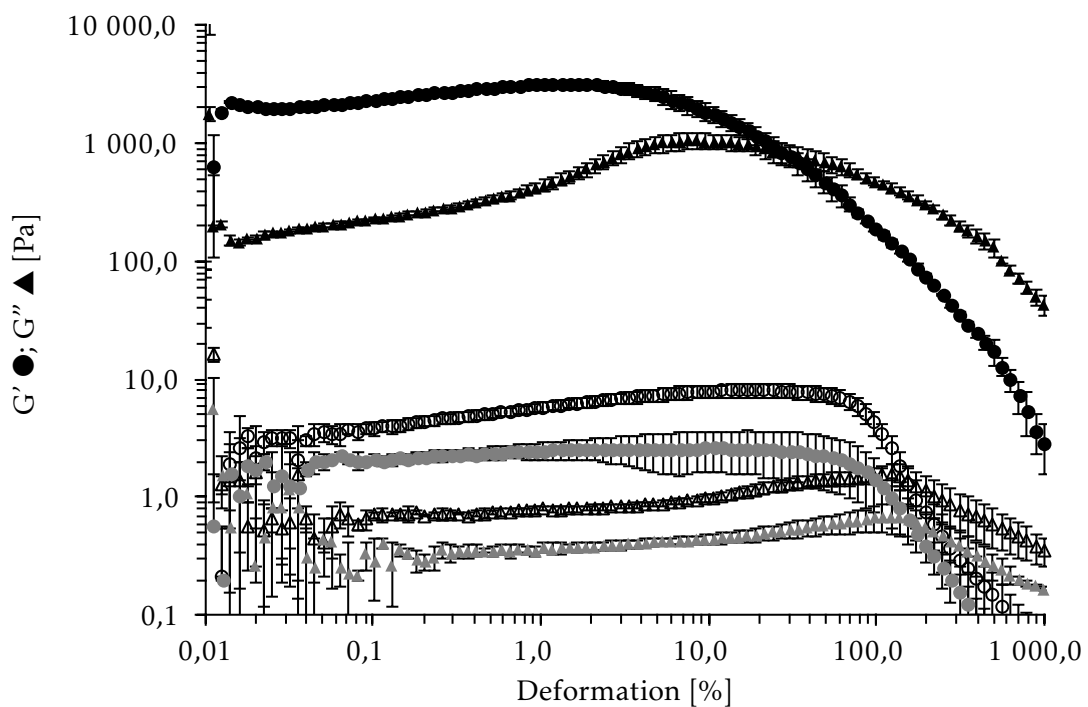


Abbildung 4.26: Oszillatorische Messungen von Emulsionen mit unterschiedlichen Mengen an Methylcellulose und Macroglol 200. Verglichen werden 4,8 % (●, ▲, #102), 1,0 % (○, △, #103) und 0,5 % Methylcellulose (●, ▲, #104). Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Vergleicht man die Werte der Zubereitungen mit Macrogol 4000 aus Tabelle 4.11 mit denen der Emulsionen, die Macrogol 200 enthalten, kann man folgende Aussage treffen: Bei 4,8 % Methylcellulose unterscheidet sich der Speichermodul der Zubereitung mit Macrogol 4000 von dem der Emulsion mit Macrogol 200 signifikant. Die Emulsionen mit geringeren Polymermengen sind vergleichbar. Ein Effekt des eingesetzten Macrogols wirkt sich anscheinend erst bei größeren Polymerkonzentrationen aus. Betrachtet man den Verlustfaktor, so kann zwischen den untersuchten Emulsionen kein statistisch signifikanter Unterschied gefunden werden. Weder die Polymerkonzentration noch das eingesetzte Macrogol hat hier einen Einfluss.

Der Einfluss der untersuchten Zusätze kann folgendermaßen zusammengefasst werden. Es zeigt sich, dass die eingesetzte Methylcellulosekonzentration einen Einfluss auf die rheologischen Eigenschaften hat. Ebenso kann durch die Wahl des Macrogols die Rheologie modifiziert werden. Hier zeigt sich ein Unterschied zwischen den bei Raumtemperatur flüssigen und festen Macrogolen. Außerdem unterscheiden sich die Emulsionen mit mittelkettigen Triglyceriden von denen mit Isopropylmyristat. Durch die Zugabe von Natriumcitrat kann dieser Effekt abgeschwächt werden. Die untersuchten alkoholischen Zusätze, Ethanol, Propylenglycol und Glycerol, zeigen einen konzentrationsabhängigen Effekt. Je nach Stoff und Konzentration können die rheologischen Eigenschaften bei 32 °C beeinflusst werden.

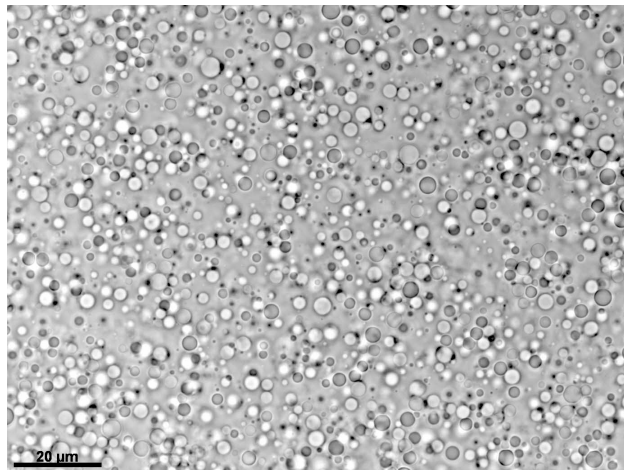
Im Folgenden wird der Einfluss der verschiedenen Zusatzstoffe auf die Tropfengröße untersucht. Dabei werden neben unterschiedlichen Methylcellulosekonzentrationen auch die unterschiedlichen Alkohole und Macrogole betrachtet.

4.4 Mikroskopische Betrachtung

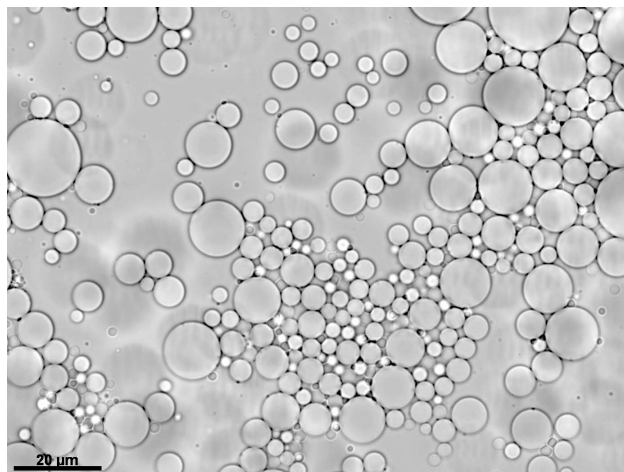
Mikroskopische Aufnahmen erlauben eine optische Bewertung der Emulsionen. Dadurch kann ein besseres Verständnis erlangt werden, wie das System aufgebaut ist. Um die Bilder besser vergleichen zu können, wird immer dieselbe Vergrößerung gewählt.

Betrachtet man die Aufnahmen, die in Abbildung 4.27 gezeigt sind, fällt Folgendes auf: Es wird ersichtlich, dass sich die Tropfengröße von der Zubereitung mit 4,8 % Methylcellulose in 4.27a von den Emulsionen mit 1,0 % und 0,5 % in den Abbildungen 4.27b und 4.27c unterscheiden. Der Vergleich der Emulsionen mit 1,0 und 0,5 % Methylcellulose zeigt keinen merklichen Unterschied zwischen den Rezepturen. Bezüglich der genauen Tropfengröße wird an dieser Stelle auf die Tropfengrößenanalyse in Abschnitt 4.5 verwiesen. Durch die mikroskopische Betrachtung kann ausgeschlossen werden, dass Bestandteile als ungelöste Feststoffpartikel vorliegen.

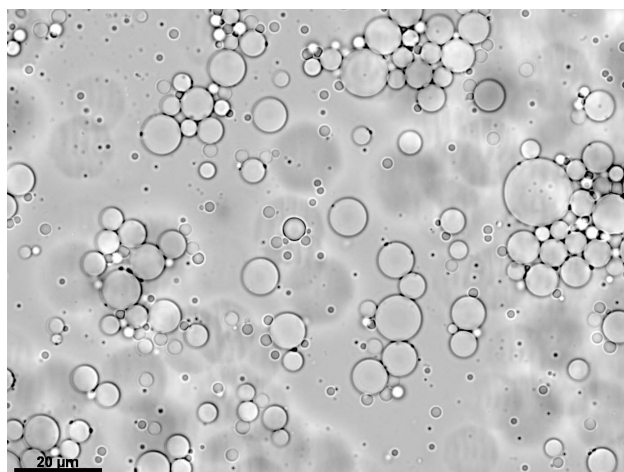
Die optischen Aufnahmen der Zubereitungen mit Macrogol 200 sind denen mit Macrogol 4000 ähnlich. Auch hier zeigt die Emulsion mit der höchsten Methylcellulosekonzentration die kleinsten Tröpfchen. Ein Unterschied zwischen den Rezepturen mit 1,0 und 0,5 % Methylcellulose (Abbildungen 4.28b und 4.28c) ist nicht zu erkennen. Auch die Emulsionen mit dem kurzkettigen Macrogol zeigen, wie die Emulsionen mit Macrogol 4000 keine ungelösten, festen Bestandteile.



(a) Emulsion #112 mit 4,8 % Methylcellulose

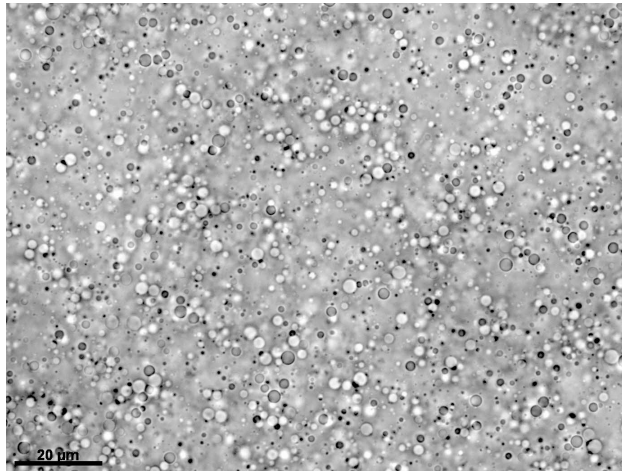


(b) Emulsion #113 mit 1,0 % Methylcellulose

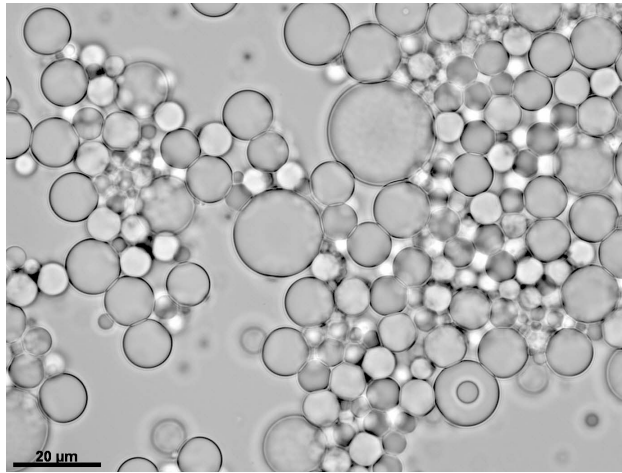


(c) Emulsion #114 mit 0,5 % Methylcellulose

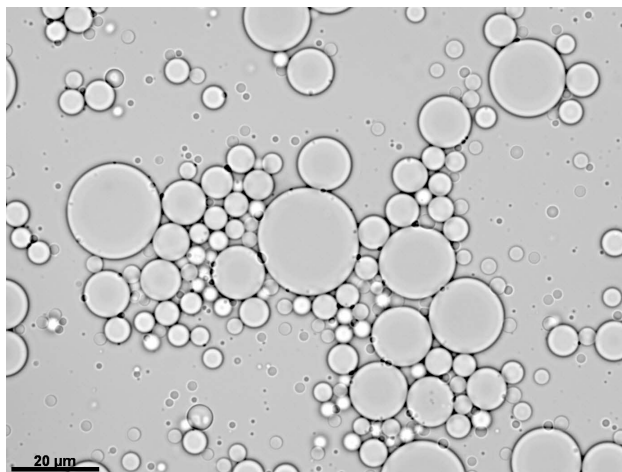
Abbildung 4.27: Die Bilder zeigen Aufnahmen von verschiedenen polymerstabilisierten Emulsionen. Die Rezepturen unterscheiden sich nur in ihrer Methylcellulosekonzentration. Alle Emulsionen enthalten Macrogol 4000. Die Aufnahmen wurden mit dem 63x Objektiv aufgenommen, der Maßstabsbalken hat jeweils eine Länge von 20 μm .



(a) Emulsion #115 mit 4,8 % Methylcellulose



(b) Emulsion #116 mit 1,0 % Methylcellulose



(c) Emulsion #117 mit 0,5 % Methylcellulose

Abbildung 4.28: Die Bilder zeigen Aufnahmen von verschiedenen polymerstabilisierten Emulsionen. Die Rezepturen unterscheiden sich nur in ihrer Methylcellulosekonzentration. Alle Emulsionen enthalten Macrogol 200. Die Aufnahmen wurden mit dem 63x Objektiv aufgenommen, der Maßstabsbalken hat jeweils eine Länge von 20 μm .

4.5 Tropfengrößenbestimmung

Nachdem die verschiedenen Emulsionen auf ihre rheologischen Eigenschaften hin untersucht wurden, wird auch der Einfluss der Zusammensetzung auf die Tropfengröße untersucht. Dazu werden die Emulsionen hergestellt und innerhalb von 24 h vermessen. Die Bestimmung der Tropfengröße erfolgt mittels Laserdiffraktometer, wie in Abschnitt 3.4.11 beschrieben ist.

4.5.1 Einfluss der Zusatzstoffe

Zunächst wird der Effekt von Ethanol, Propylenglycol und Glycerol auf die Tropfengröße betrachtet. Dazu werden immer 15 % des Stoffes zugesetzt. Die untersuchten Emulsionen enthalten außerdem Macrogol 4000 in einer Menge von 6 %. Durch den Zusatz von Macrogol wird die Gelierungstemperatur abgesenkt (Takeuchi et al., 2003). Es werden daher nur Emulsionen mit Macrogol betrachtet. Wie die Ergebnisse in Abbildung 4.29 und Tabelle 4.13 zeigen, ergibt sich

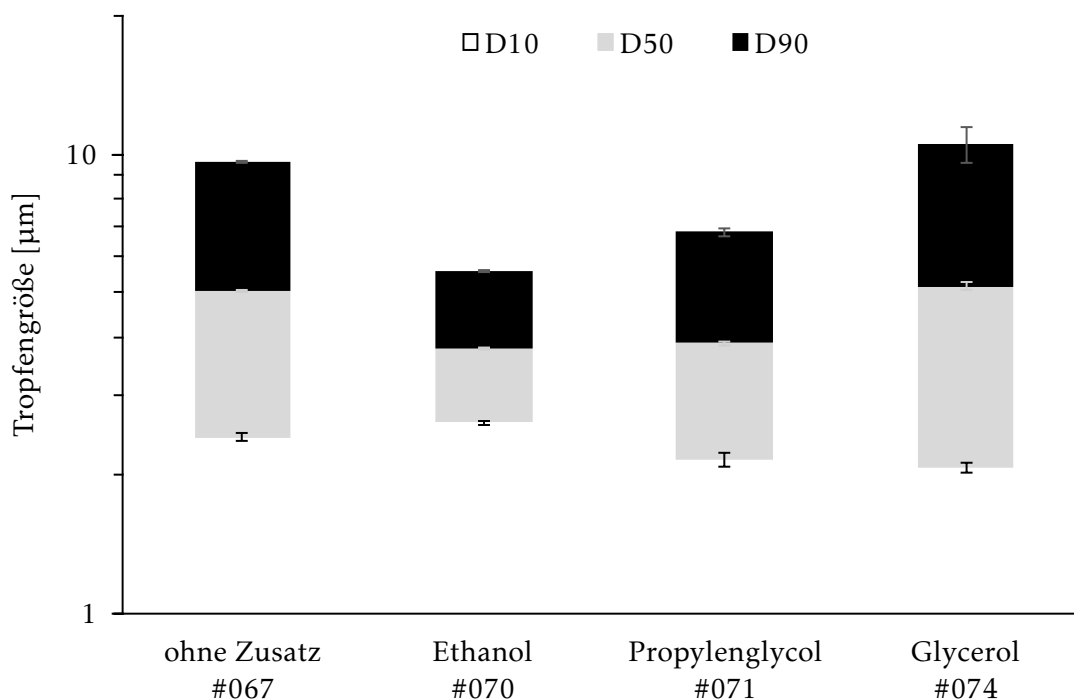


Abbildung 4.29: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit verschiedener Zusatzstoffe. Alle Emulsionen enthalten 4,8 % Methylcellulose und Macrogol 4000. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

folgendes Bild:

Die Emulsion ohne Zusatzstoffe zeigt einen D90-Wert von knapp unter 10 µm, die Hälfte der Tropfen ist kleiner als 5,1 µm und 10 % haben einen Durchmesser kleiner 2,4 µm. Vergleichbare Werte liefert die Emulsion mit Glycerol. Der D50- und D90-Wert weichen nur wenig voneinan-

Tabelle 4.13: Tropfengrößen der Emulsionen mit verschiedenen Zusatzstoffen. Alle Emulsionen enthalten 15 % des genannten Stoffes, 4,8 % Methylcellulose und Macrogol 4000. Aufgelistet ist der arithmetische Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3

Kennzeichnung	Zusatzstoff	D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]
#067	kein Zusatz	2,4 \pm 0,0	5,1 \pm 0,0	9,6 \pm 0,1
#070	Ethanol	2,6 \pm 0,0	3,8 \pm 0,0	5,6 \pm 0,0
#071	Propylenglycol	2,2 \pm 0,1	3,9 \pm 0,0	6,8 \pm 0,2
#074	Glycerol	2,1 \pm 0,1	5,2 \pm 0,1	10,5 \pm 1,0

der ab. Durch den Glycerol-Zusatz sinkt der D10-Wert minimal auf 2,1 μm ab. Setzt man der Emulsion statt Glycerol Propylenglycol zu, ergeben sich kleinere Tröpfchen. So erreicht der D90-Wert nur noch eine Größe von 6,8 μm . Auch die mittlere Partikelgröße sinkt auf 3,9 μm ab. Der D10-Wert bleibt in etwa konstant. Der dritte Zusatzstoff ist Ethanol. Hier zeigt sich eine mittlere Tropfengröße von 3,8 μm , was mit der propylenglycolhaltigen Emulsion vergleichbar ist. Der D90-Wert liegt mit 5,6 μm deutlich unterhalb der Werte der anderen Emulsionen, der Wert für die kleinsten 10 % liegt dagegen mit 2,6 μm höher als bei den anderen getesteten Emulsionen. Die ethanolhaltige Emulsion zeigt somit die engste Tropfengrößenverteilung.

Die Unterschiede in der Tropfengrößenverteilung können auch die rheologischen Eigenschaften beeinflussen. Es ist bekannt, dass die Tropfengröße Einfluss auf die Rheologie von Emulsionen hat (Pal, 1996). Emulsionen mit kleinen Tröpfchen zeigen dabei eine deutliche höhere Viskosität und auch einen höheren Speichermodul als Emulsionen mit größeren Tröpfchen. Die mittlere Tropfengröße steigt in der Reihenfolge Ethanol, Propylenglycol, Glycerol. Auf die rheologischen Eigenschaften lässt sich diese Reihenfolge jedoch nicht direkt übertragen. Hier zeigt die ethanolische Emulsion den höchsten Speichermodul, gefolgt von Glycerol und Propylenglycol (Tabelle 4.8 bis 4.10). Es muss jedoch beachtet werden, dass die rheologischen Untersuchungen bei 32 °C durchgeführt werden und durch die einsetzende Thermogelierung die Struktur der Emulsionen entsprechend beeinflusst wird. Die Tropfengrößenanalysen finden bei Raumtemperatur statt und ein direkter Vergleich ist daher nur schwer möglich.

4.5.2 Einfluss von Methylcellulose-Konzentration und Macrogol

Neben den Zusatzstoffen ist vor allem der Einfluss der Methylcellulosekonzentration und des verwendeten Macrogols von Interesse. Dazu werden Emulsionen mit drei verschiedenen Anteilen an Methylcellulose hergestellt. Neben Macrogol 4000 wird zusätzlich Macrogol 200 betrachtet. Da sich Ethanol als vorteilhaft bezüglich der Tropfengröße erwiesen hat, enthalten die nachfolgenden Emulsionen Ethanol. Um die Zubereitung später besser mit der Hydrophilen Nonivamid-Creme vergleichen zu können, wird die Ethanolmenge auf den gleichen Anteil von 9 % angepasst.

Wie in Abbildung 4.30 zu sehen ist, sinkt mit steigender Methylcellulosekonzentration die mittlere Tropfengröße. Die Zubereitung mit 0,5 % zeigt einen D50 von 6,7 μm . Wird die Methylcellulosekonzentration auf 1,0 % verdoppelt, sinkt der D50-Wert auf 4,9 μm . Bei 4,8 % Methylcellulose in der Emulsion sinkt die mittlere Tropfengröße weiter auf 2,4 μm . Auch bei den Emulsionen mit Macrogol 200 ist ein direkter Einfluss der Methylcellulosekonzentration auf die Tropfengröße zu erkennen (s. Abbildung 4.31). Vergleicht man die Emulsionen mit derselben Menge an Methylcellulose, kann kein Effekt des verwendeten Macrogols festgestellt werden. Die Werte in Tabelle 4.14 zeigen, dass bei gleicher Methylcellulosekonzentration nur geringe Änderungen in der Tropfengröße festgestellt werden können. Diese Ergebnisse stimmen auch mit den lichtmikroskopischen Betrachtung (Abschnitt 4.4) überein.

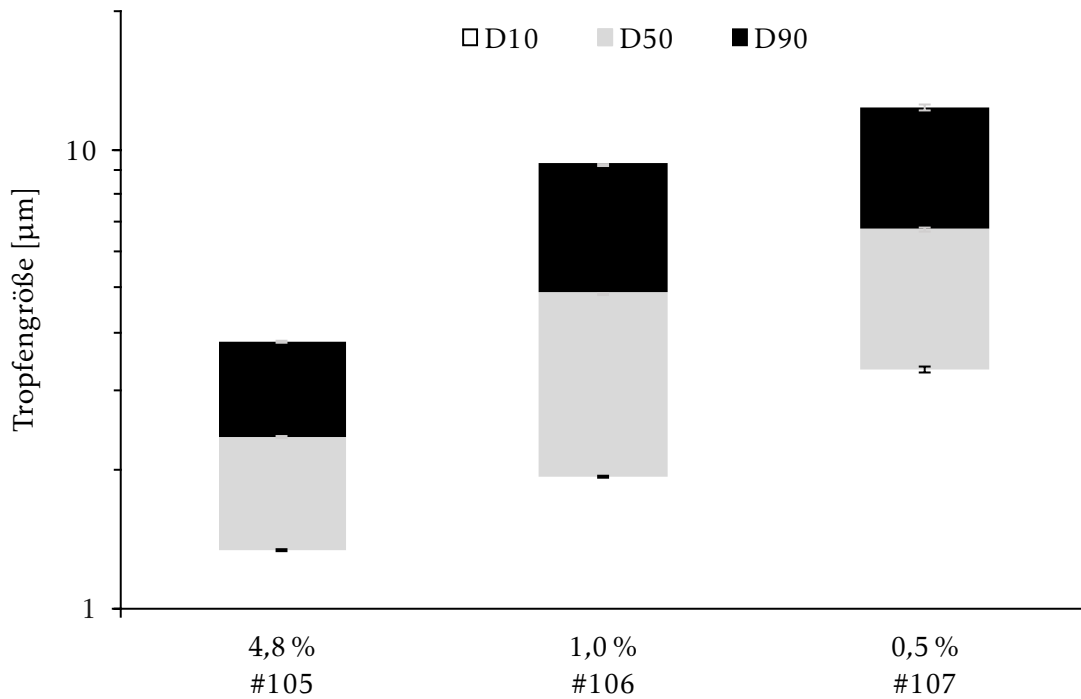


Abbildung 4.30: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration. Alle Emulsionen enthalten Macroglol 4000. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

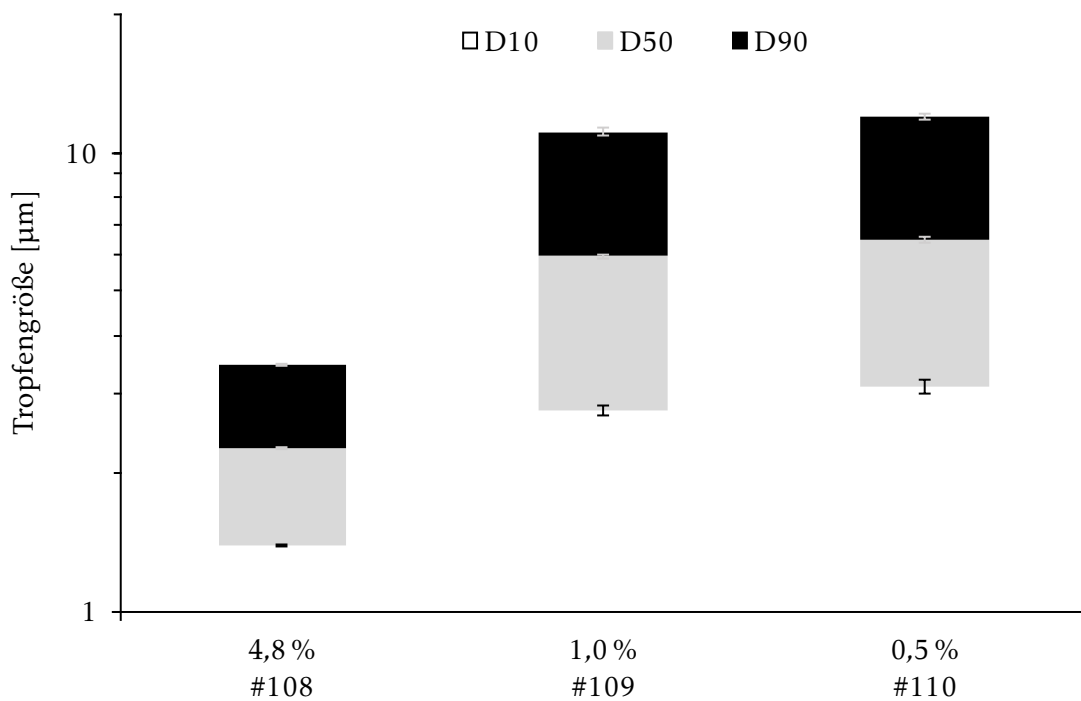


Abbildung 4.31: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration. Alle Emulsionen enthalten Macroglol 200. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Tabelle 4.14: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration und des verwendeten Macrogols. Die Werte sind arithmetische Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3

Kennzeichnung	MC [%]	Macrogol [g · mol ⁻¹]	D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]
#105	4,8	4000	1,3 ± 0,0	2,4 ± 0,0	3,8 ± 0,0
#108	4,8	200	1,4 ± 0,0	2,3 ± 0,0	3,5 ± 0,0
#106	1,0	4000	1,9 ± 0,0	4,9 ± 0,0	9,3 ± 0,0
#109	1,0	200	2,7 ± 0,1	5,9 ± 0,1	11,1 ± 0,2
#107	0,5	4000	3,3 ± 0,0	6,7 ± 0,1	12,4 ± 0,2
#110	0,5	200	3,1 ± 0,1	6,5 ± 0,1	12,0 ± 0,2

4.6 Lagerstabilität

Um die Stabilität von Arzneimitteln beurteilen zu können, müssen chemische, physikalische und mikrobielle Gesichtspunkte untersucht und bewertet werden. In der vorliegenden Arbeit ist die physikalische Stabilität von besonderer Bedeutung. Im folgenden Abschnitt werden daher die rheologischen Eigenschaften und die Tropfengröße der Emulsionen über eine Lagerzeit von bis zu acht Wochen bei drei verschiedenen Lagerbedingungen getestet. Neben Raumtemperatur und konstanten 40 °C werden die Emulsionen auch bei wechselnden Temperaturbedingungen zwischen –5 und 40 °C gelagert. Die Vorbereitung der Stabilitätsuntersuchung ist in Abschnitt 3.4.14 beschrieben. Um einen Einfluss durch Wasserverluste während der Lagerung auszuschließen, wird das Gewicht der Gefäße erfasst. Die Daten sind im Anhang unter Abschnitt 7.2.6 aufgelistet. Es hat sich keine relevante Gewichtsänderung ergeben, die auf Verdunstung zurückgeführt werden könnte.

4.6.1 Rheologische Stabilität

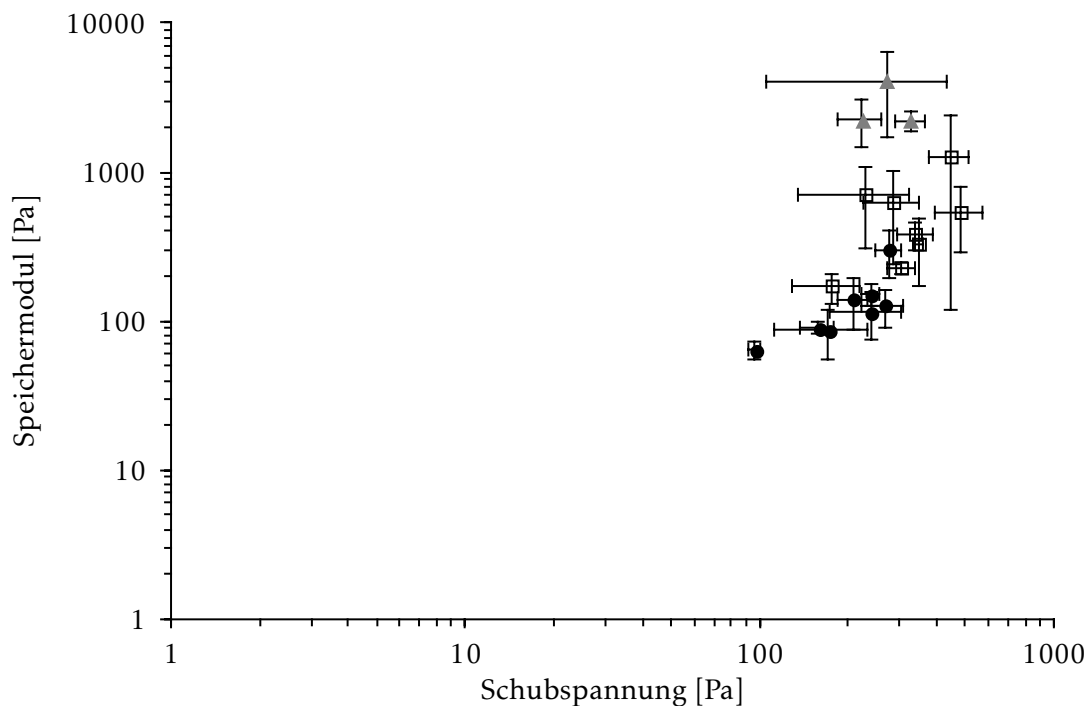


Abbildung 4.32: Ergebnisse der rheologischen Stabilitätsprüfung. Entwicklung der Fließgrenze einer Emulsion ohne Zusatzstoff bei verschiedenen Lagertemperaturen (Raumtemperatur ●, 40 °C □, Temperaturgradient –5 bis 40 °C ▲). Dargestellt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Zur Beurteilung der rheologischen Stabilität werden oszillatorische Messungen durchgeführt.

Somit kann neben der Fließgrenze auch der Verlustfaktor der Emulsionen bestimmt werden. Getestet werden verschiedene Zusammensetzungen, wobei der Einfluss der Zusatzstoffe Ethanol, Propylenglycol und Glycerol auf die Stabilität untersucht wird. Dazu werden Emulsionen mit einem Anteil von 15 % des jeweiligen Stoffes hergestellt. Außerdem wird auch eine Emulsion ohne Zusatzstoff eingelagert.

Die Fließgrenze der Emulsionen ist in Abbildung 4.32 dargestellt. Die Emulsionen ohne Zusatzstoffe zeigen eine Streuung der Fließgrenze über fast eine Zehnerpotenz. Es werden sowohl Schwankungen innerhalb der einzelnen Messpunkten einer Emulsion festgestellt als auch Unterschiede zwischen den Temperaturen. Ein Trend, wie sich die Fließgrenze über die Lagerzeit entwickelt, ist nicht vorhanden. Der Temperaturgradient zwischen -5 und 40 °C führt jedoch nach kurzer Zeit zum Brechen der Zubereitung. Eine Messung nach 14 Tagen kann nicht mehr durchgeführt werden.

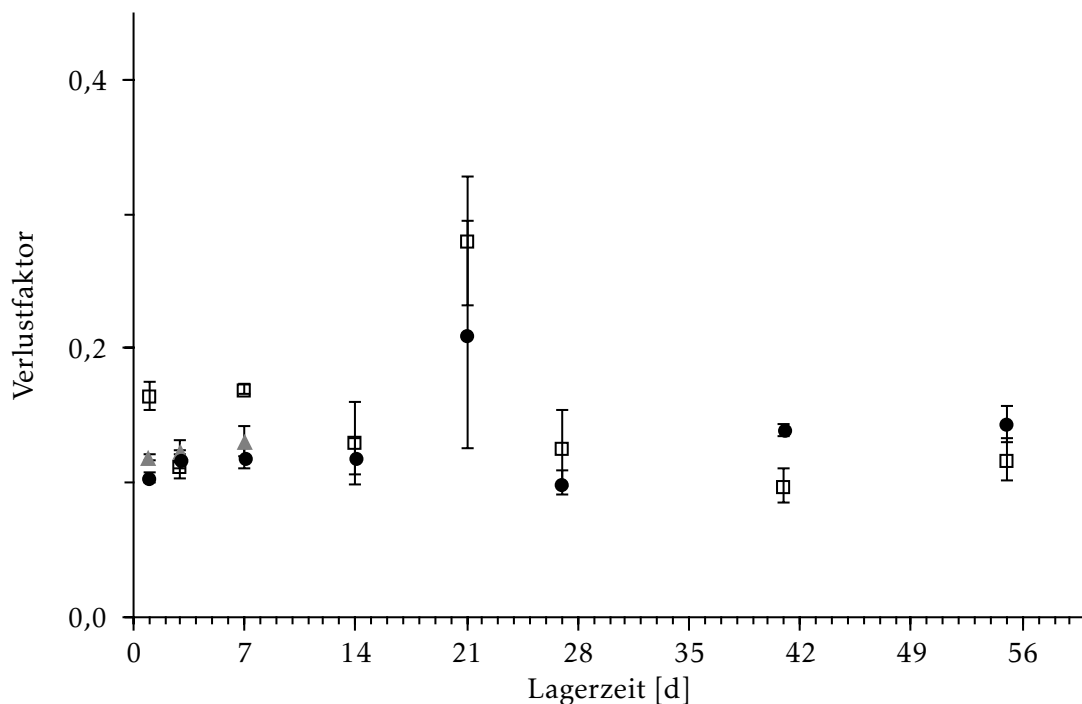


Abbildung 4.33: Ergebnisse der rheologischen Stabilitätsprüfung. Entwicklung des Verlustfaktors einer Emulsion ohne Zusatzstoff bei verschiedenen Lagertemperaturen (Raumtemperatur ●, 40 °C □, Temperaturgradient -5 bis 40 °C ▲). Dargestellt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Weniger ausgeprägt sind die Unterschiede im Verlustfaktor (s. Abbildung 4.33). Zwischen den bei Raumtemperatur gelagerten Emulsionen und denen bei wechselnden Bedingungen sind die Werte zu Beginn nahezu deckungsgleich. Für die Emulsion, die zwischen -5 und 40 °C gelagert wird, liegen jedoch nur Messwerte der ersten sieben Tage vor. Hier zeigt sich ein leichter Trend

zu höheren Werten. Wird die Emulsion bei 40 °C gelagert, zeigt der Verlustfaktor schwankende Werte, wobei besonders der Wert an Tag 21 stark heraussticht. Auch bei Raumtemperatur zeigt sich dieser Anstieg nach dreiwöchiger Lagerzeit. Im Lauf der Lagerung fällt dieser wieder auf das vorherige Niveau ab. Der Wert kann daher als Artefakt bei der Betrachtung nicht weiter berücksichtigt werden.

Wird die Emulsion stark zu belasten, wird sie einem Temperaturzyklustest unterzogen. Dabei können durch das abwechselnde Abkühlen auf -5 °C und das anschließende Erwärmen auf 40 °C Instabilitäten forciert werden. Durch das Abkühlen können gelöste Stoffe ausfallen. Außerdem verschiebt sich das Phasenvolumen-Verhältnis durch das teilweise Einfrieren des Wassers. Die Öltröpfchen nähern sich daraufhin stärker an. Als Ergebnis kommt es zur Koaleszenz und schließlich zum Brechen der Emulsion führen. Dem gegenüber ist die Emulsion bei konstanten Lagertemperaturen über den gewählten Beobachtungszeitraum stabil.

Im Folgenden sollen die verschiedenen Zusätze Ethanol, Propylenglycol und Glycerol betrachtet werden. In den Abbildungen 4.34 und 4.35 sind die Ergebnisse der ethanolischen Emulsionen dargestellt. Die Fließgrenze der eingelagerten Emulsionen schwankt nur wenig. Weder zwischen den einzelnen Messzeitpunkten einer Lagertemperatur noch zwischen den Lagerbedingungen kann ein Unterschied gefunden werden. Auch wenn der Verlustfaktor betrachtet wird, verlaufen die einzelnen Messreihen identisch. Kleinere Schwankungen zwischen den Messpunkten treten auch hier auf. Nach acht Wochen Lagerzeit nimmt der Verlustfaktor der drei Emulsionen den gleichen Wert von etwa 0,1 an.

Durch den Ethanolzusatz kann die Stabilität der Emulsion deutlich verbessert werden. Die Zubereitung ist nun bei allen gewählten Lagerbedingungen über einen Beobachtungszeitraum von acht Wochen stabil. Eine Folge der Ethanolzugabe ist, dass der Gefrierpunkt abgesenkt wird, wodurch die Emulsion auch bei Temperaturen unter null flüssig bleibt und es nicht zur Verschiebung des Phasenvolumen-Verhältnisses kommt. Daher ist die Emulsion bei schwankenden Lagerbedingungen stabiler als die Emulsion ohne Zusatzstoff.

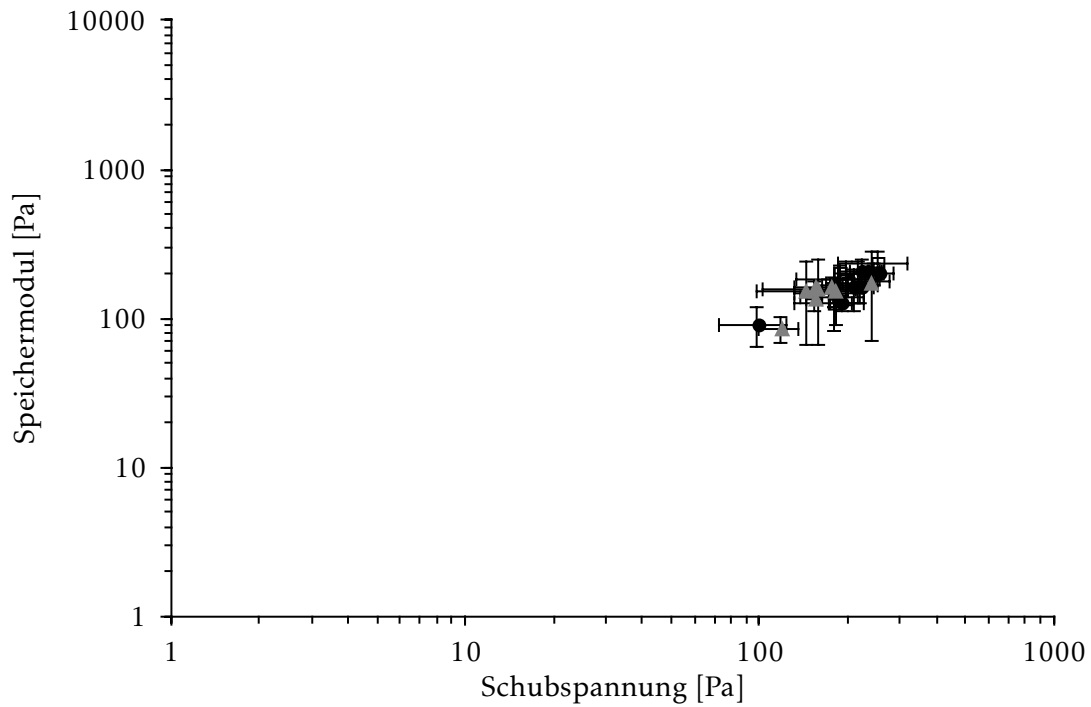


Abbildung 4.34: Ergebnisse der rheologischen Stabilitätsprüfung. Entwicklung der Fließgrenze einer Emulsion mit mit 15 % Ethanol bei verschiedenen Lagertemperaturen (Raumtemperatur ●, 40 °C □, Temperaturgradient –5 bis 40 °C ▲). Dargestellt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

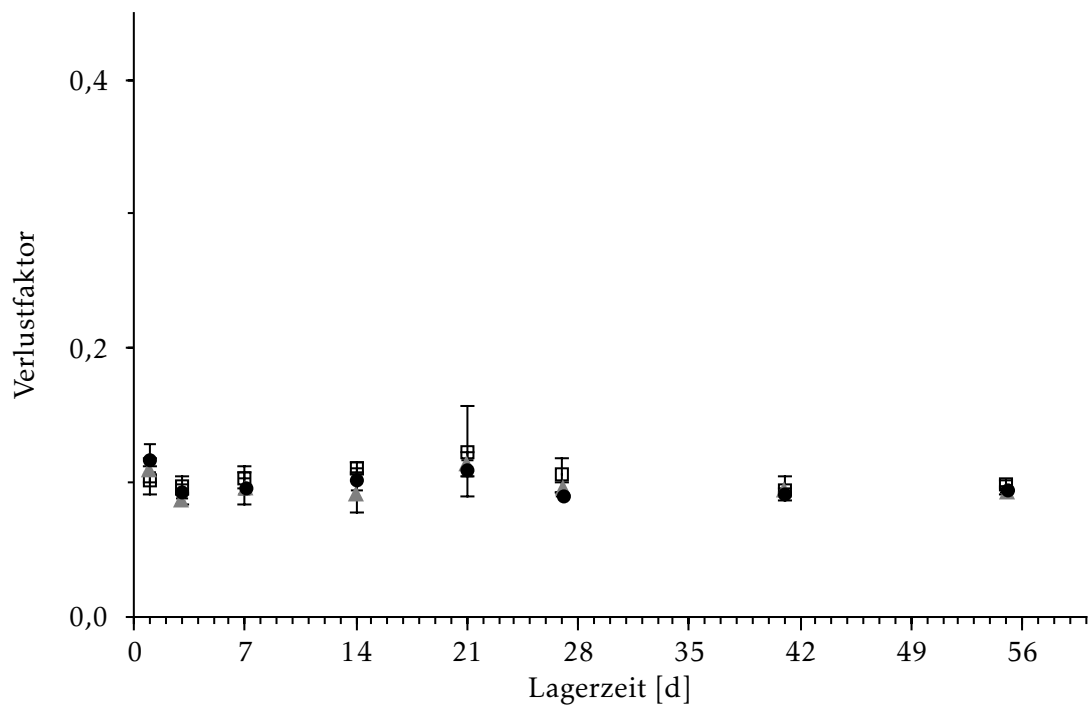


Abbildung 4.35: Ergebnisse der rheologischen Stabilitätsprüfung. Entwicklung des Verlustfaktors einer Emulsion mit 15 % Ethanol bei verschiedenen Lagertemperaturen (Raumtemperatur ●, 40 °C □, Temperaturgradient –5 bis 40 °C ▲). Dargestellt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Die Fließgrenze der Emulsion, die Propylenglycol enthält, zeigt nur geringe Schwankungen innerhalb einer Gruppe. Wie in Abbildung 4.36 zu sehen ist, liegen die Punkte der einzelnen Lagertemperaturen nahe beieinander. Den niedrigsten Wert zeigt dabei die Emulsion, die bei Raum-

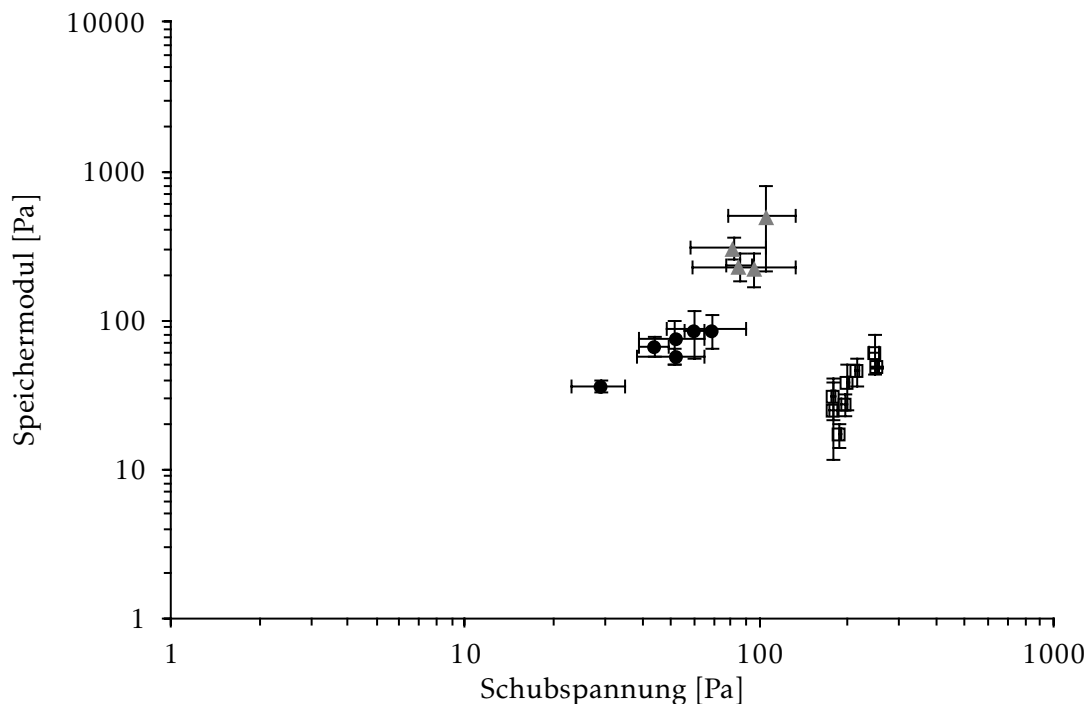


Abbildung 4.36: Ergebnisse der rheologischen Stabilitätsprüfung. Entwicklung der Fließgrenze einer Emulsion mit 15% Propylenglycol bei verschiedenen Lagertemperaturen (Raumtemperatur ●, 40 °C □, Temperaturgradient -5 bis 40 °C ▲). Dargestellt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

temperatur gelagert wird, gefolgt von der Zubereitung bei wechselnden Temperaturbedingungen. Das Maximum zeigt schließlich die Emulsion, die bei 40 °C gelagert wird. Insgesamt umspannen die Werte einen Bereich von etwa einer Zehnerpotenz. Über den gesamten Zeitraum von acht Wochen ist nur die Emulsion stabil, die bei 40 °C gelagert wird. Die anderen Testreihen mussten aufgrund irreversibler Phasentrennung früher abgebrochen werden. So ist die Zubereitung bei Raumtemperatur vier Wochen lang stabil, bei wechselnden Temperaturen sogar nur für 14 Tage. Somit wird deutlich, dass sich die Lagertemperatur auf die Stabilität der Emulsion mit Propylenglycol auswirkt. Da auch Propylenglycol, wie Ethanol, vor dem Einfrieren bei -5 °C schützen sollte, muss die Ursache an anderer Stelle gesucht werden.

Der Verlustfaktor in Abbildung 4.37 zeigt keine auffälligen Schwankungen und auch ein Trend über die Lagerdauer ist nicht erkennbar. Vergleicht man die Werte der Messreihe bei Raumtemperatur mit denen bei 40 °C, führt die höhere Temperatur zu einem höheren Verlustfaktor.

Wie bei Propylenglycol hat auch bei glycerolhaltigen Emulsionen die Lagertemperatur einen

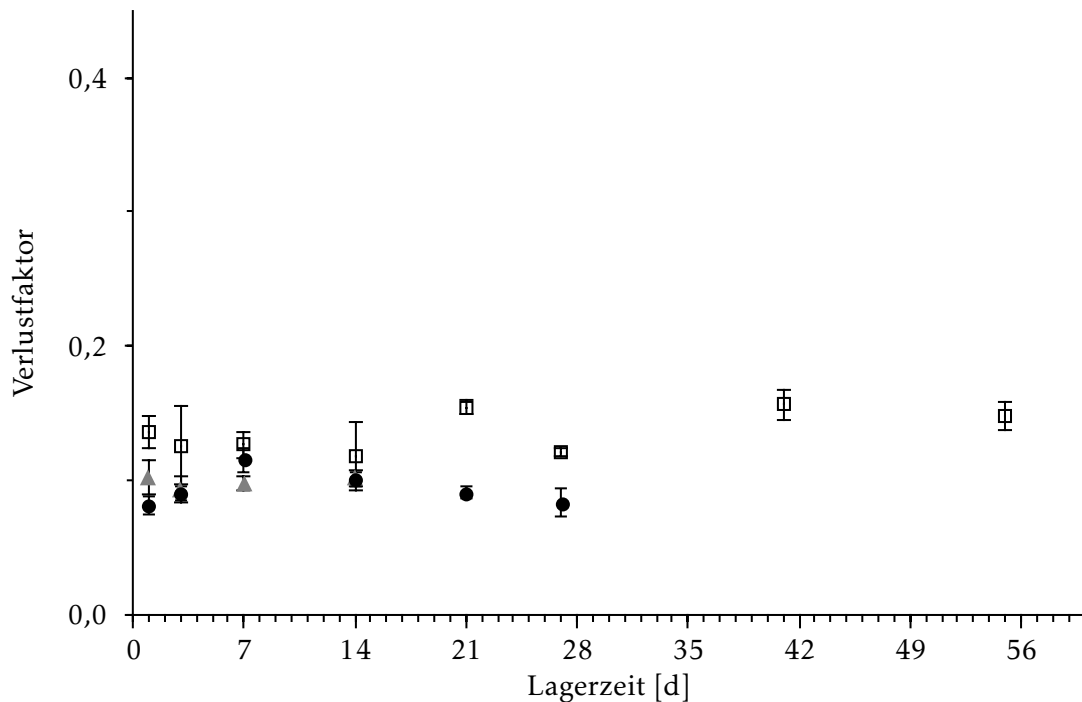


Abbildung 4.37: Ergebnisse der rheologischen Stabilitätsprüfung. Entwicklung des Verlustfaktors einer Emulsion mit 15 % Propylenglycol bei verschiedenen Lagertemperaturen (Raumtemperatur ●, 40 °C □, Temperaturgradient –5 bis 40 °C ▲). Dargestellt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Einfluss auf die Fließgrenze (s. Abbildung 4.38). Die Werte der gemessenen Schubspannung umspannen etwa zwei Zehnerpotenzen. Der Speichermodul liegt im Bereich von drei Zehnerpotenzen. Auch innerhalb einer Gruppe unterliegt die Fließgrenze gewissen Schwankungen. Bei den Zubereitungen mit Glycerol tritt bei den Messreihen bei Raumtemperatur und bei wechselnden Temperaturbedingungen eine irreversible Phasentrennung auf. Die Tests wurden daraufhin nicht weiter fortgeführt. Während die Emulsion bei Raumtemperatur vier Wochen lang homogen ist, bricht die Zubereitung im bei wechselnden Lagertemperaturen durch das Aufwärmen und Abkühlen bereits früher. Bei diesen Bedingungen ist die Emulsion für 14 Tage stabil.

Der Verlustfaktor der Emulsionen ist in Abbildung 4.39 gegen die Lagerzeit abgebildet. Die konstant warmen Lagerbedingungen bei 40 °C führen zu einem höheren Verlustfaktor verglichen mit den beiden anderen Messreihen. Schwankungen innerhalb einer Messreihe sind auch hier vorhanden. Die Emulsion, die bei Raumtemperatur gelagert wird, weist diesbezüglich die gleichmäßigsten Werte auf. Allgemein sind die Unterschiede jedoch nicht so drastisch, wie der Vergleich der Fließgrenze hätte vermuten lassen. Die Ergebnisse ähneln denen der Emulsion, die Propylenglycol enthält.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Zusammensetzung der Emulsion einen Einfluss auf die rheolo-

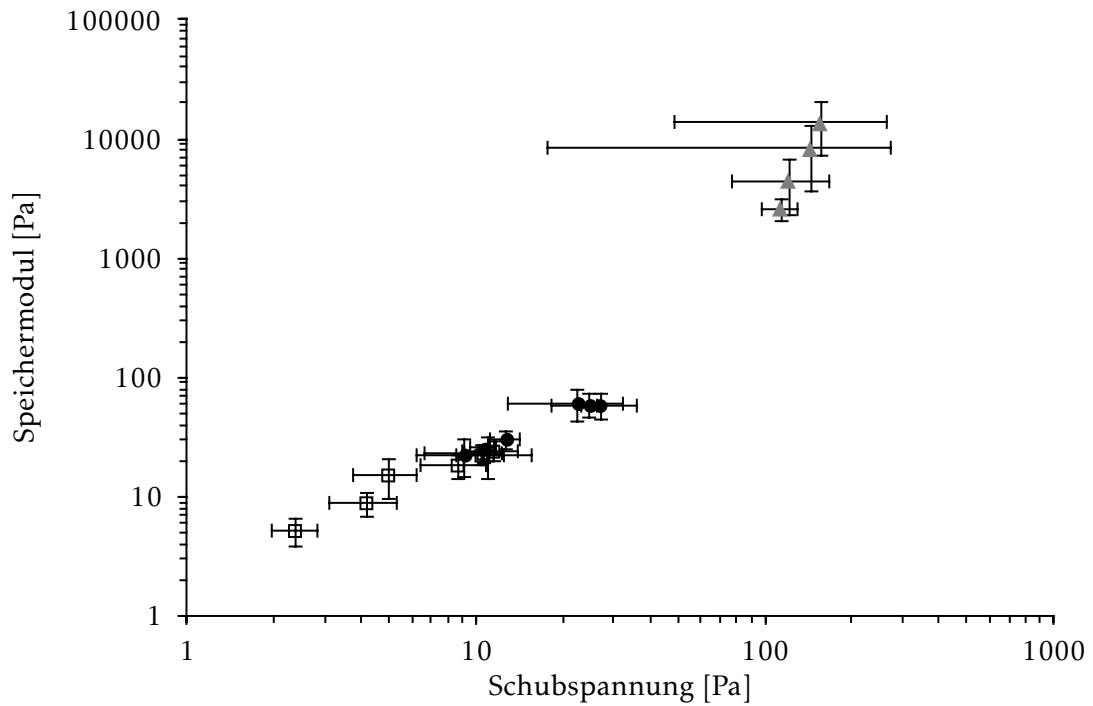


Abbildung 4.38: Ergebnisse der rheologischen Stabilitätsprüfung. Entwicklung der Fließgrenze einer Emulsion mit 15 % Glycerol bei verschiedenen Lagertemperaturen (Raumtemperatur ●, 40 °C □, Temperaturgradient –5 bis 40 °C ▲). Dargestellt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

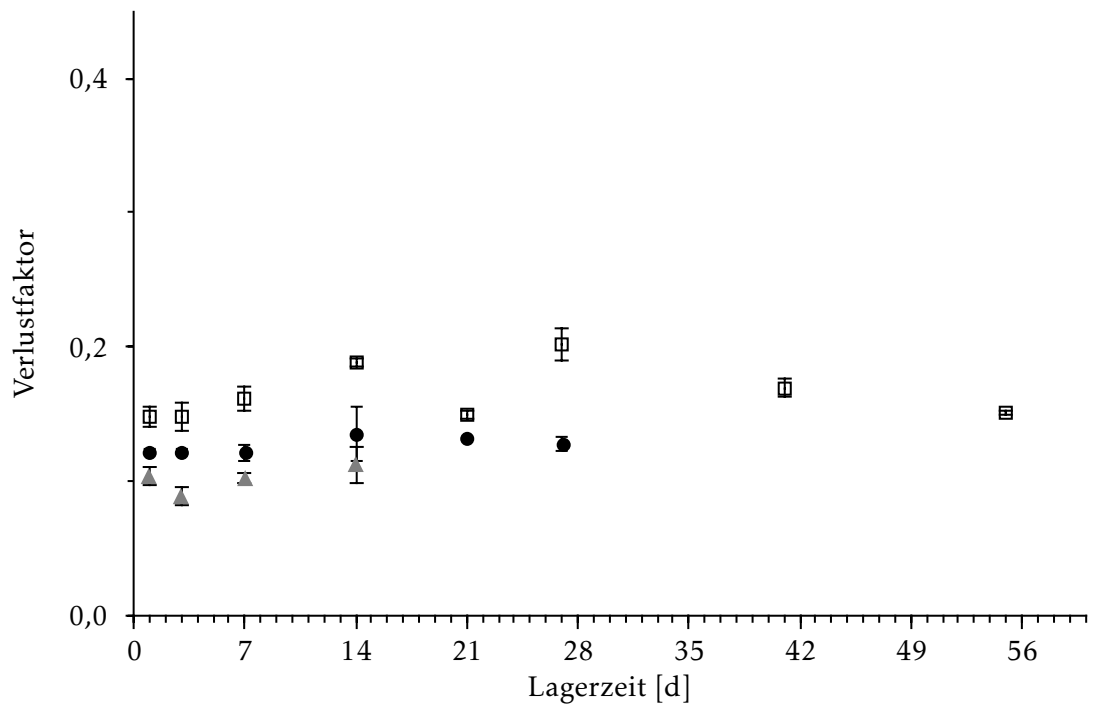


Abbildung 4.39: Ergebnisse der rheologischen Stabilitätsprüfung. Entwicklung des Verlustfaktors einer Emulsion mit 15 % Glycerol bei verschiedenen Lagertemperaturen (Raumtemperatur ●, 40 °C □, Temperaturgradient –5 bis 40 °C ▲). Dargestellt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

gische Stabilität hat. Während Propylenglycol und Glycerol keinen Vorteil gegenüber der Emulsion ohne Zusatzstoff aufweisen, zeigt Ethanol einen positiven Effekt auf die Zubereitung. Weder die Fließgrenze noch der Verlustfaktor unterliegen merklichen Schwankungen. Als einzige Zusammensetzung ist sie bei allen Lagerbedingungen über acht Wochen stabil. Die Ergebnisse zeigen auch, dass die Lagertemperatur die Stabilität beeinflusst. Wie zu erwarten war, belasten die Temperaturwechsel von -5 auf 40°C die Emulsionen am stärksten. Hier tritt mit Ausnahme der ethanolhaltigen Emulsion innerhalb von drei Wochen eine Phasentrennung auf. Auch bei Raumtemperatur sind nicht alle Zubereitungen acht Wochen lang stabil.

Lagert man die Emulsionen bei konstanten 40°C , tritt kein Brechen auf. Dies kann durch die thermogelierenden Eigenschaften erklärt werden. Steigt die Lagertemperatur über die Gelierungstemperatur, verdickt sich die Emulsion, was wie in Abschnitt 2.4 beschrieben einen positiven Effekt auf die physikalische Stabilität hat.

Inwiefern die Ergebnisse der rheologischen Stabilität auf die Tropfengröße übertragbar sind, wird im folgenden Abschnitt betrachtet.

4.6.2 Tropfengrößenstabilität

Neben den rheologischen Eigenschaften ist auch die Tropfengröße der Emulsion von Bedeutung. Hierzu werden dieselben Emulsionen, mit denen auch die oszillatorischen Tests durchgeführt werden, auf ihre Tropfengröße untersucht. Die Messungen erfolgen mittels Laserdiffraktometer, wie es in Abschnitt 3.4.11 beschrieben ist.

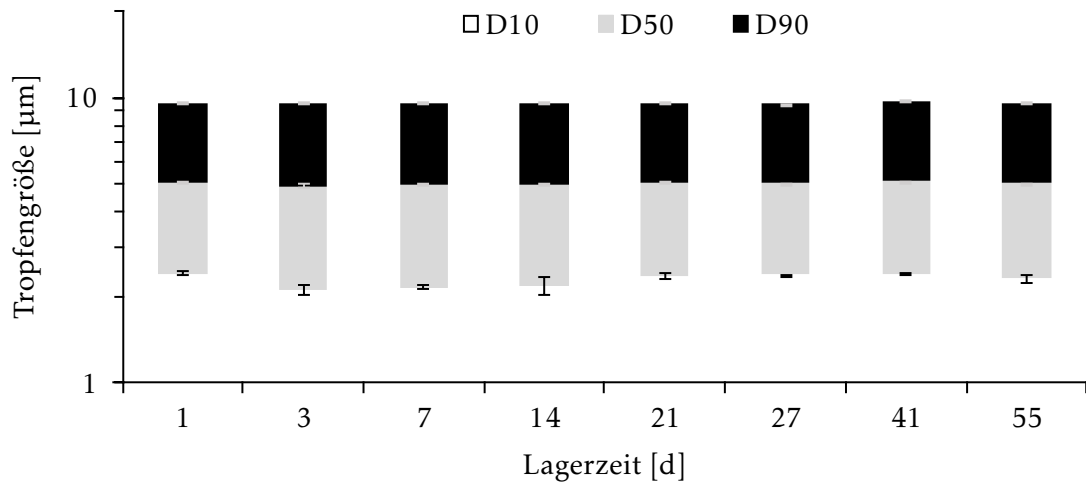
Betrachtet man die Tropfengröße der Emulsion ohne Zusatzstoff (Abbildung 4.40) fällt auf, dass bei konstanten Temperaturen über eine Dauer von acht Wochen keine Änderung gemessen werden kann (Abbildungen 4.40a und 4.40b). Bei Raumtemperatur bewegen sich die Werte für D10 um etwa $2,2\ \mu\text{m}$, für D50 werden um die $5,0\ \mu\text{m}$ gemessen und der D90 liegt konstant bei einem Wert um $9,5\ \mu\text{m}$. Wird die Emulsion bei $40\ ^\circ\text{C}$ gelagert, dann ist auch hier keine merkliche Änderung in der Tropfengröße zu beobachten. Die gemessenen Werte liegen dabei in der selben Größenordnung wie bei der Emulsion, die bei Raumtemperatur gelagert wird. Lediglich nach einer Lagerdauer von 41 Tagen ist der D90-Wert mit $29\ \mu\text{m}$ auffällig hoch. Die Werte für den D10- und D50-Parameter sind jedoch unverändert und auch am nächsten Messpunkt nach 55 Tagen entspricht die Tropfengröße wieder den vorangegangenen Werten. Möglicherweise werden nach 41 Tagen Agglomerate erfasst, die durch das Dispergierwerkzeug nicht vollständig separiert wurden. Dies ist in sofern wahrscheinlich, da die Lagertemperatur oberhalb der Gelierungstemperatur liegt. Somit ist vor der Messung die Gelstruktur aufgebaut und es ist entsprechend schwer, die Tropfen zu vereinzeln. Am nächsten Messpunkt wird dasselbe Probengefäß untersucht. Die Ergebnisse der Tropfengröße entsprechen dabei wieder den vorherigen Messzeitpunkten. Dies spricht gegen eine tatsächliche Erhöhung der Tropfengröße.

Der Ansatz, der bei wechselnden Bedingungen aufbewahrt wird, kann nur eine Woche lang vermessen werden. Über diese Dauer kann keine Zunahme in der Tropfengröße beobachtet werden und die Werte entsprechen denen der Emulsion, die bei $40\ ^\circ\text{C}$ gelagert wird. Danach zeigt sich im Gefäß eine Phasentrennung. Diese ist weder durch Schütteln noch durch Mischen mit einem Spatel reversibel. Alle Behältnisse dieses Ansatzes sind hiervon betroffen. Eine Messung ist somit nicht mehr möglich. Eventuell kommt es beim Abkühlen auf Temperaturen unterhalb von $0\ ^\circ\text{C}$ zu Einfriervorgängen, die auf Dauer zu einer Destabilisierung und Phasentrennung führen.

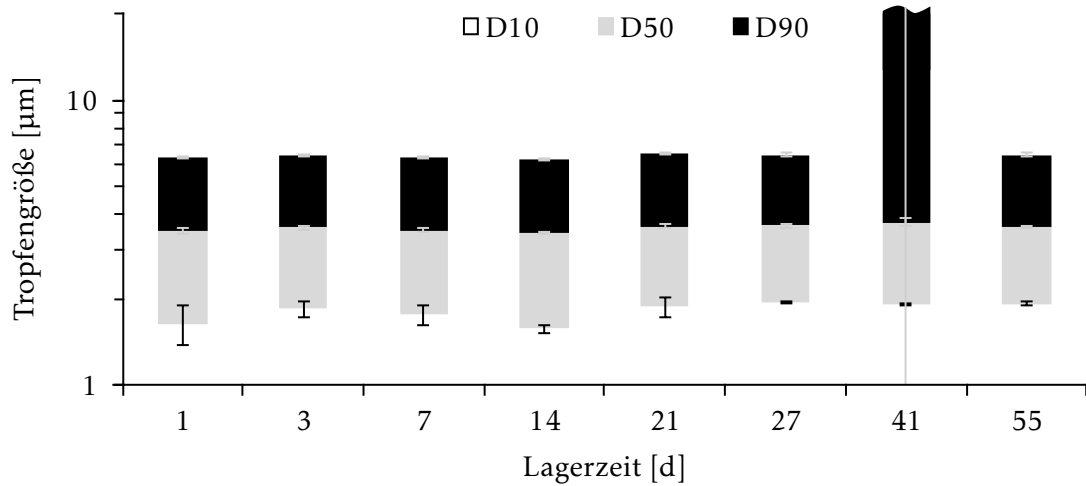
Die Tropfengröße dieser Emulsion ist bei Raumtemperatur und auch bei Temperaturen bis $40\ ^\circ\text{C}$ über acht Wochen konstant. Wechselnde Bedingungen führen innerhalb einer Woche zum irreversiblen Brechen der Emulsion.

In Abbildung 4.41 ist der Verlauf der Tropfengröße für Emulsionen mit 15 % Ethanol zu sehen. Der Ansatz, der bei Raumtemperatur gelagert wird, weist einen D10 in Höhe von etwa 2,6 μm auf und ist über die Lagerzeit relativ konstant (Abbildung 4.41a). Auch der D50-Wert verändert sich kaum und beträgt 3,8 μm . Der D90-Wert ist ebenfalls konstant bei 5,6 μm . Wird die Emulsion konstant bei 40 °C gelagert, ist keine Zunahme der Tropfengröße während acht Wochen zu beobachten (Abbildung 4.41b). Die Werte für D10, D50 und D90 sind vergleichbar mit denen bei Raumtemperatur. Auch wechselnde Bedingungen haben keinen Einfluss auf die Tropfengröße der Emulsion: Hier sind die Werte über den Beobachtungszeitraum konstant und in ihrer Größenordnung vergleichbar mit denen der anderen Emulsionen dieser Zusammensetzung (Abbildung 4.41c).

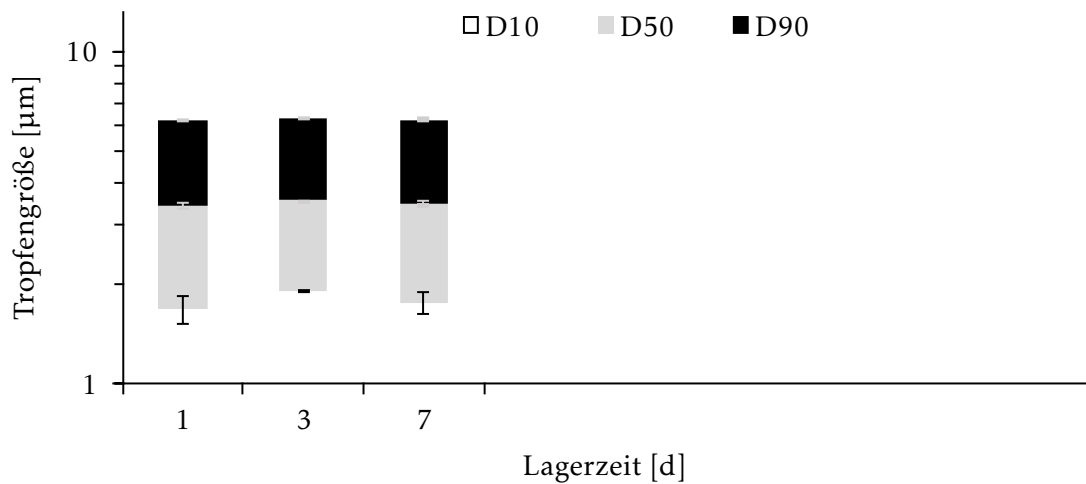
Der Ethanolzusatz bewirkt eine Verbesserung der Tropfengrößen-Stabilität. Vor allem bei wechselnden Temperaturbedingungen zeigt die Emulsion eine konstante Tropfengröße, was bei der Emulsion ohne einen Zusatzstoff nicht der Fall ist.



(a) Lagertemperatur: Raumtemperatur

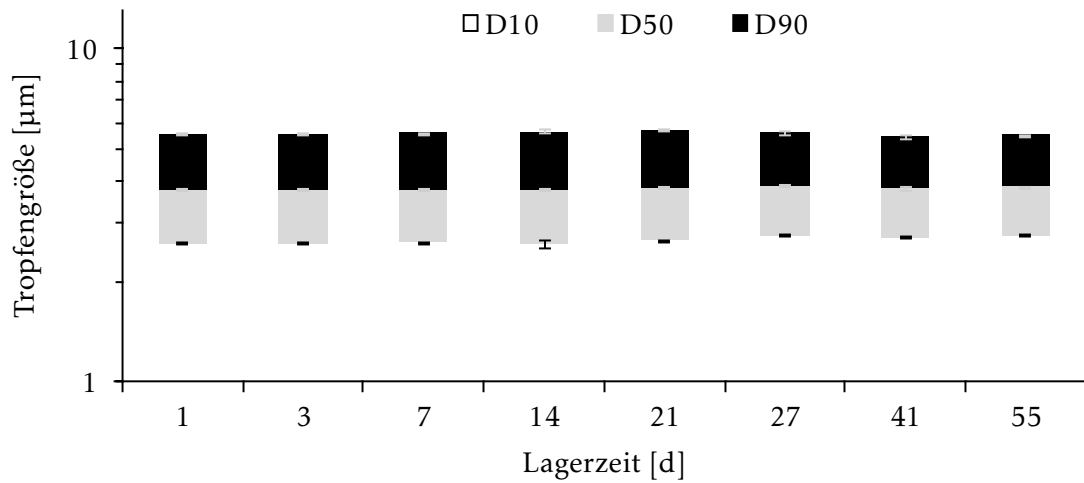


(b) Lagertemperatur: 40°C

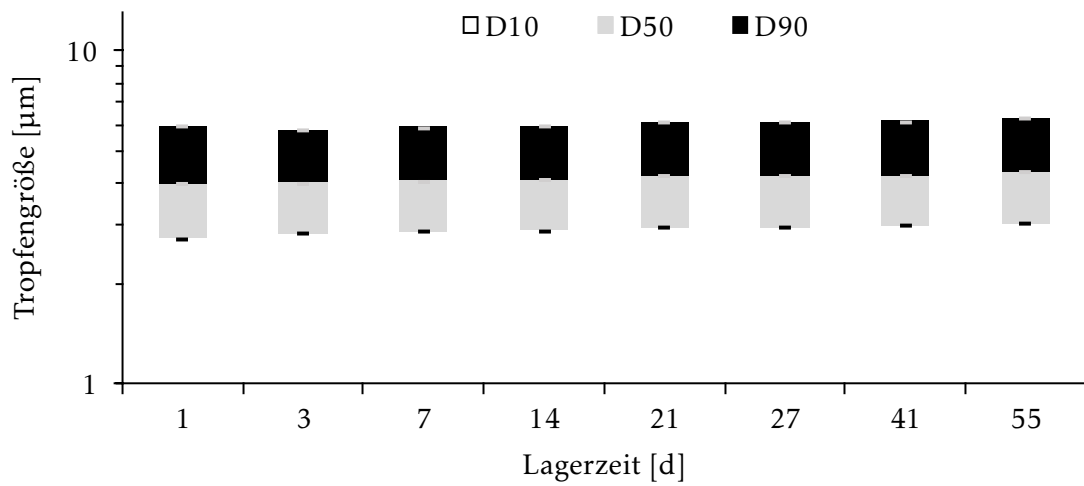


(c) Lagertemperatur: Temperaturgradient -5 bis 40°C

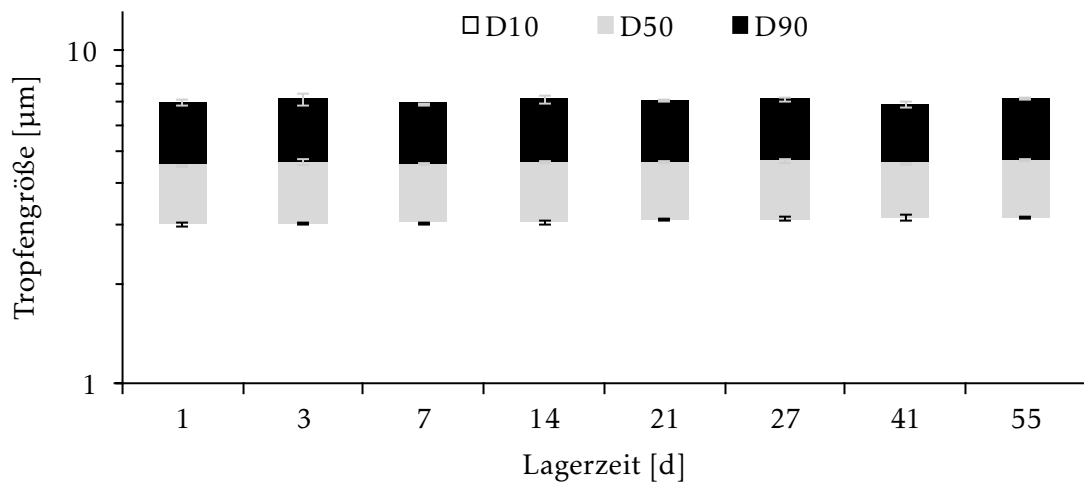
Abbildung 4.40: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsionen ohne Zusatzstoff bei verschiedenen Lagertemperaturen. Alle Abbildungen zeigen den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$



(a) Lagertemperatur: Raumtemperatur



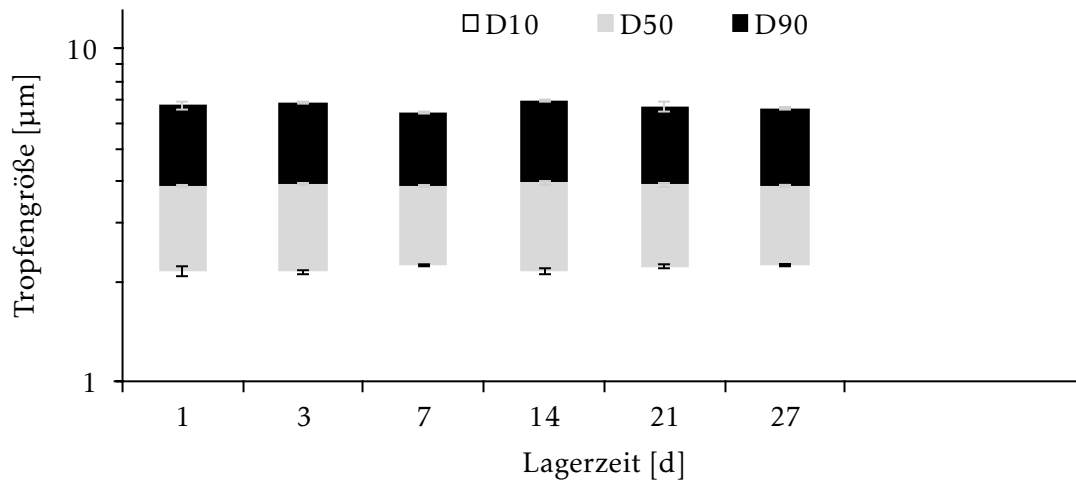
(b) Lagertemperatur: 40°C



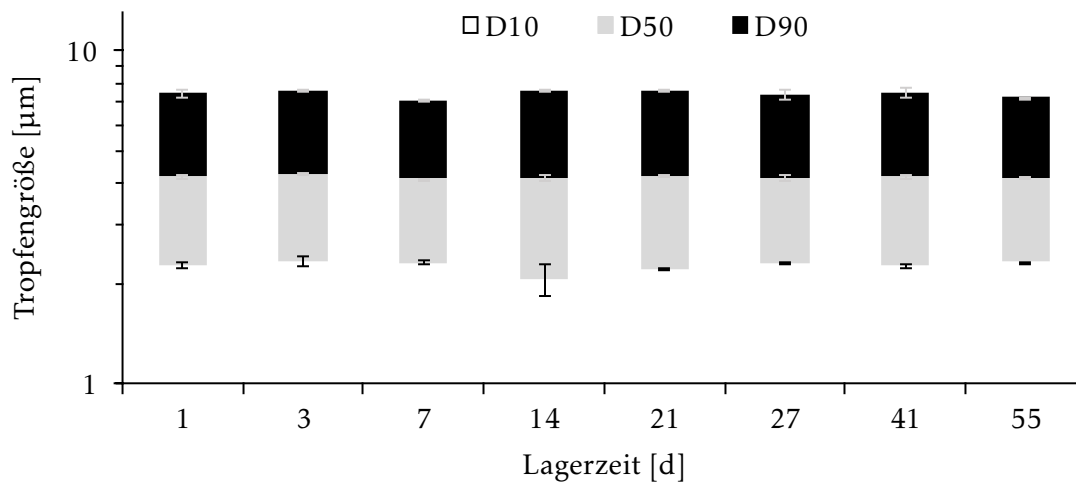
(c) Lagertemperatur: Temperaturgradient -5 bis 40°C

Abbildung 4.41: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsionen mit 15 % Ethanol bei verschiedenen Lagertemperaturen. Alle Abbildungen zeigen den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

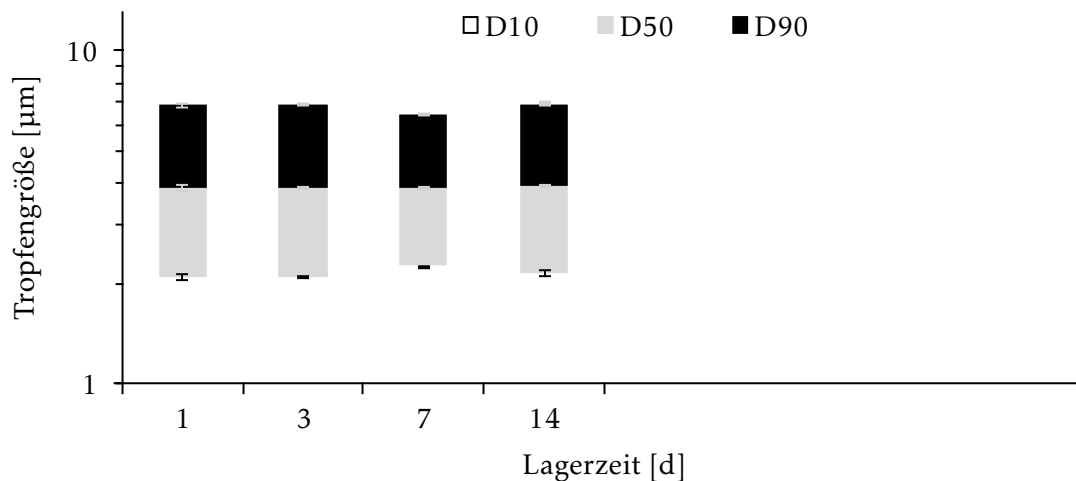
Als nächster Zusatzstoff wird Propylenglycol untersucht. Die Tropfengrößen sind in Abbildung 4.42 abgebildet. Bei dieser Zusammensetzung beträgt der D10-Wert etwa $2,2\ \mu\text{m}$, der D50-Wert $4,0\ \mu\text{m}$ und der D90-Wert $6,9\ \mu\text{m}$. Bei Raumtemperatur zeigt sich bei einer Lagerzeit, die 27 Tage überschreitet, eine irreversible Phasentrennung. Die Messreihe wurde daraufhin abgebrochen. Ein vorangegangenes Tropfengrößenwachstum ist jedoch nicht zu beobachten (Abbildung 4.42a). Wird die Emulsion bei einer Temperatur von $40\ ^\circ\text{C}$ gelagert, ist die Tropfengröße über die komplette Versuchsdauer von acht Wochen konstant (Abbildung 4.42b). Auch hier führt die Lagerung oberhalb der Gelierungstemperatur dazu, dass sich eine Gelstruktur aufbaut und somit das Zusammenfließen der Emulsionströpfchen erschwert wird. Bei wechselnden Bedingungen zeigt sich jedoch eine Phasentrennung, wenn die Emulsion länger als zwei Wochen gelagert wird (Abbildung 4.42c). Wie bei Raumtemperatur ist bis dahin keine Zunahme in der Tröpfchengröße zu sehen.



(a) Lagertemperatur: Raumtemperatur



(b) Lagertemperatur: 40°C

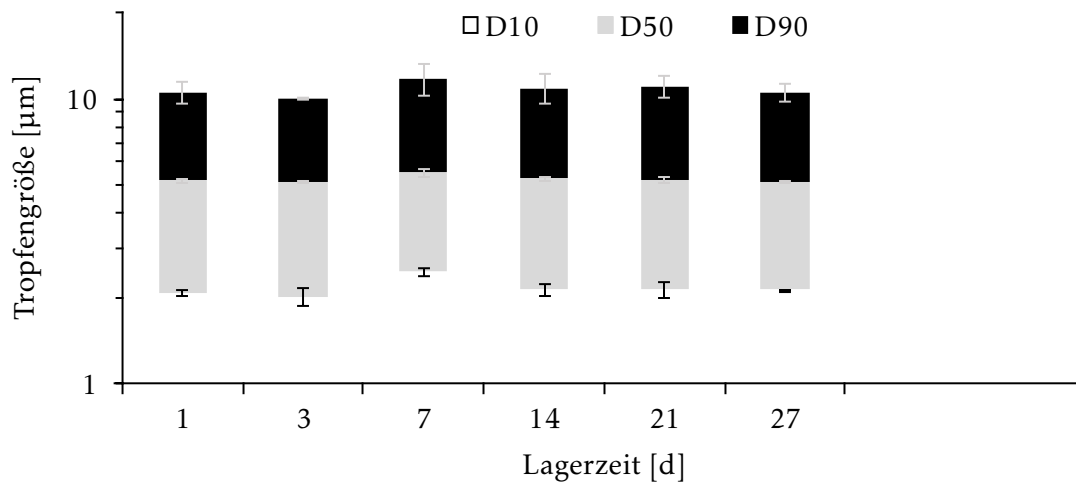


(c) Lagertemperatur: Temperaturgradient -5 bis 40°C

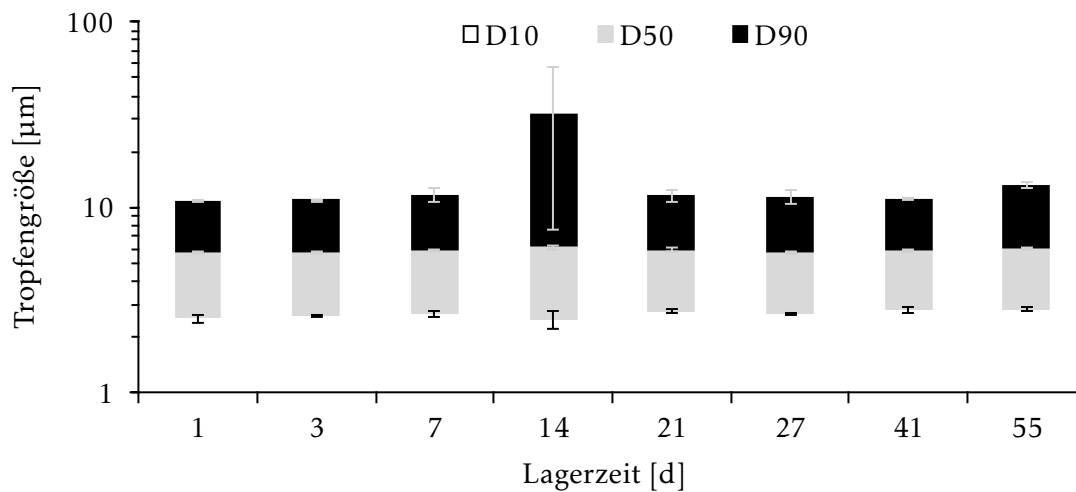
Abbildung 4.42: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsionen mit 15% Propylen-glycol bei verschiedenen Lagertemperaturen. Alle Abbildungen zeigen den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Der letzte Zusatzstoff, dessen Einfluss auf die Stabilität untersucht wird, ist Glycerol. Die Tropfengröße bei den verschiedenen Lagertemperaturen ist in Abbildung 4.43 gezeigt. Vergleicht man die Werte mit denen der bereits besprochenen Emulsionen (vgl. Abschnitt 4.5.1), sind diese in einem ähnlichen Bereich. Die Werte für D50 und D90 sind jedoch größer als bei den vorherigen Ansätzen ohne Zusatzstoff bzw. mit Ethanol oder Propylenglycol. Lagert man die Emulsion bei Raumtemperatur, zeigt sich eine konstante Tropfengröße bis zum Tag 27. Dann ist eine irreversible Phasentrennung zu beobachten und es wurden keine weiteren Messungen mehr durchgeführt. Bei 40 °C ist die Emulsion über die gesamte Beobachtungsdauer von acht Wochen stabil. Der Grund hierfür wird ebenfalls die thermogelierende Eigenschaft der Emulsion sein. Dadurch kommt es in der wässrigen Phase zum Strukturaufbau und demzufolge wird die Koaleszenz der dispersen Phase stark verlangsamt. Der Temperaturgradient zwischen -5 und 40 °C führt wiederum zu einer Phasentrennung nach mehr als 14 Tagen Lagerung. Die Ergebnisse der Emulsion mit Glycerol sind somit mit der propylenglycolhaltigen Emulsion vergleichbar.

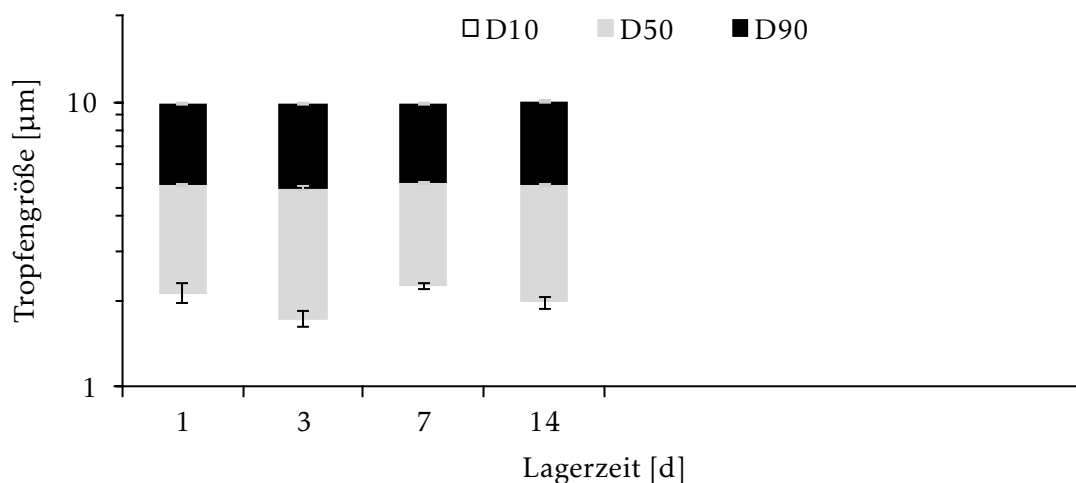
Zusammengefasst ergibt sich folgendes Bild: Bei einer Lagertemperatur von 40 °C ist die Tropfengröße aller getesteten Emulsionen über acht Wochen stabil. Dies lässt sich durch den Strukturaufbau oberhalb der Gelierungstemperatur begründen. Dieser verlangsamt das Zusammenfließen der dispergierten Öltröpfchen. Bei Raumtemperatur sind die Emulsion ohne Zusatzstoff sowie die ethanolhaltige Emulsion über die Versuchsdauer stabil. Propylenglycol und Glycerol zeigen hier nur über vier Wochen eine stabile Tropfengröße. Wird die Emulsion regelmäßig erwärmt und wieder abgekühlt, zeigen sich Unterschiede zwischen den Emulsionen. Wird kein Zusatzstoff hinzugefügt, trennen sich die Phasen bereits nach spätestens 14 Tagen. Auch der Zusatz von Propylenglycol oder Glycerol verlängern die Stabilität der Emulsion bei schwankenden Lagertemperaturen nicht. Lediglich die Emulsion mit Ethanol zeigt auch bei diesen Bedingungen eine stabile Tropfengröße über den gesamten Beobachtungszeitraum. Sie ist damit die einzige der vier getesteten Zubereitungen, die bei allen Temperaturen eine Stabilität von acht Wochen aufweisen kann.



(a) Lagertemperatur: Raumtemperatur



(b) Lagertemperatur: 40°C



(c) Lagertemperatur: Temperaturgradient -5 bis 40°C

Abbildung 4.43: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsionen mit 15% Glycerol bei verschiedenen Lagertemperaturen. Alle Abbildungen zeigen den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

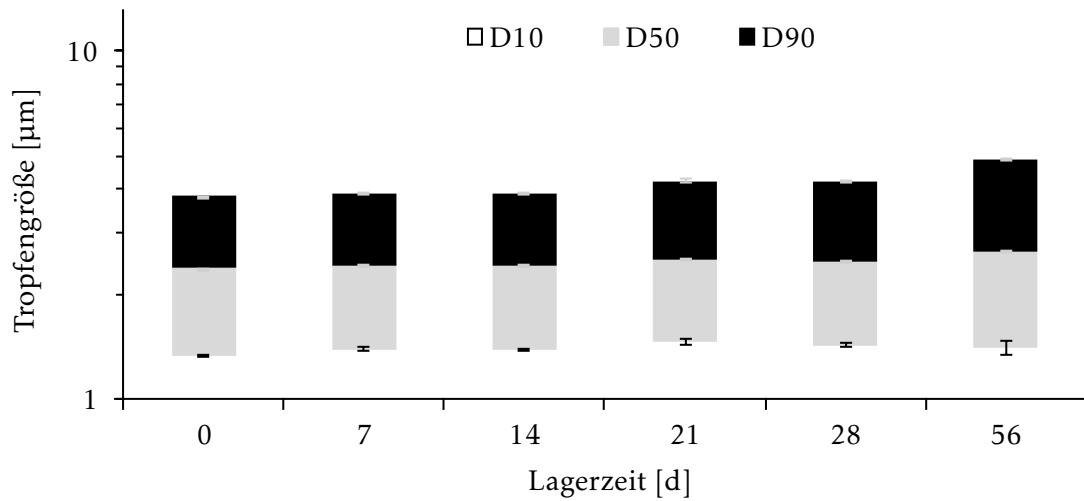
4.6.3 Einfluss von Methylcellulosekonzentration und Macrogol

Von den getesteten Zusatzstoffen zeigt Ethanol einen positiven Einfluss auf die Tropfengrößenstabilität (Abschnitt 4.6.2), weswegen zu den folgenden Emulsionen 9 % Ethanol zugesetzt wird. Damit enthält die Zubereitung den selben Ethanolanteil wie die Hydrophile Nonivamid-Creme. Methylcellulose fungiert als Emulgator in der Zubereitung. Deshalb wird untersucht, inwiefern die Konzentration sich auf die Tropfengrößenstabilität auswirkt. Es werden Emulsionen mit 4,8, 1,0 und 0,5 % Methylcellulose hergestellt. Außerdem wird der Einfluss des Macrogols auf die Stabilität getestet. Dazu werden Zubereitungen mit Macrogol 4000 und 200 betrachtet. Ausgehend von den Ergebnissen in Abschnitt 4.6.2 zeigt sich, dass durch den Temperaturzyklus-Test Instabilitäten innerhalb kurzer Zeit herbeigeführt werden können. Die Emulsionen werden daher nur bei den wechselnden Bedingungen zwischen -5 and 40 °C eingelagert.

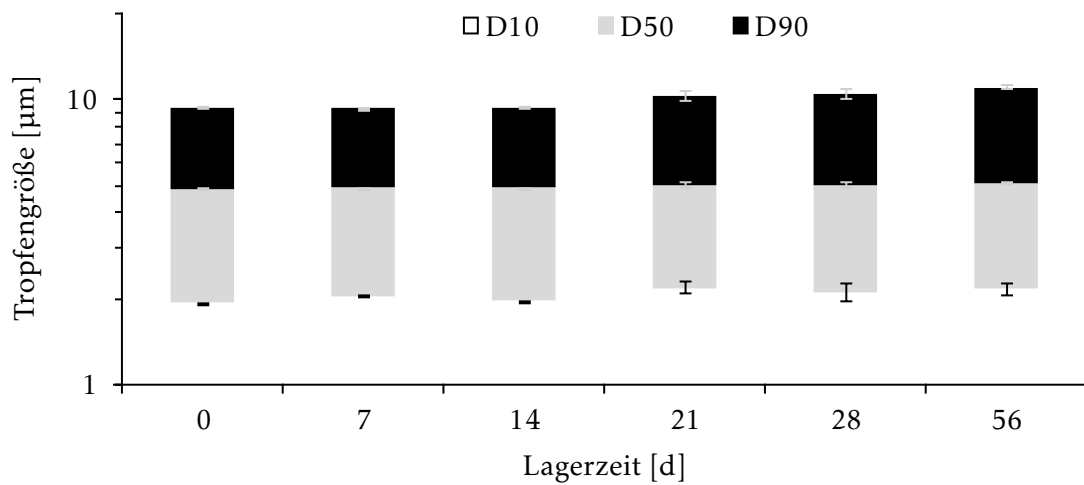
Auf den Tropfengrößenvergleich zwischen den einzelnen Emulsionen wird hier nicht näher eingegangen, sondern auf Abschnitt 4.5 verwiesen.

In Abbildung 4.44a ist die Emulsion mit 4,8 % Methylcellulose und Macrogol 4000 abgebildet. Die Tropfengröße von D10, D50 und D90 sind über vier Wochen konstant. Am letzten Messpunkt nach acht Wochen ist eine geringe Zunahme des D90-Wertes zu beobachten. Dieser steigt von $3,8$ μm direkt nach der Herstellung auf $4,9$ μm nach 56 Tagen an. Ein leichter Anstieg ist bereits am vierten Messpunkt nach 21 Tagen zu sehen. Dies deutet auf eine beginnende Kolaeszenz hin. Reduziert man die Methylcellulosekonzentration auf 1,0 % (Abbildung 4.44b) zeigt sich ein ähnliches Bild. Bis einschließlich zum 14. Tag ist die Tropfengröße konstant, danach kommt es zu einem Anstieg des D90-Wertes. Beträgt dieser nach der Herstellung $9,3$ μm , wächst er innerhalb von acht Wochen auf $11,0$ μm an. Die Werte von D10 und D50 bleiben hiervon unberührt.

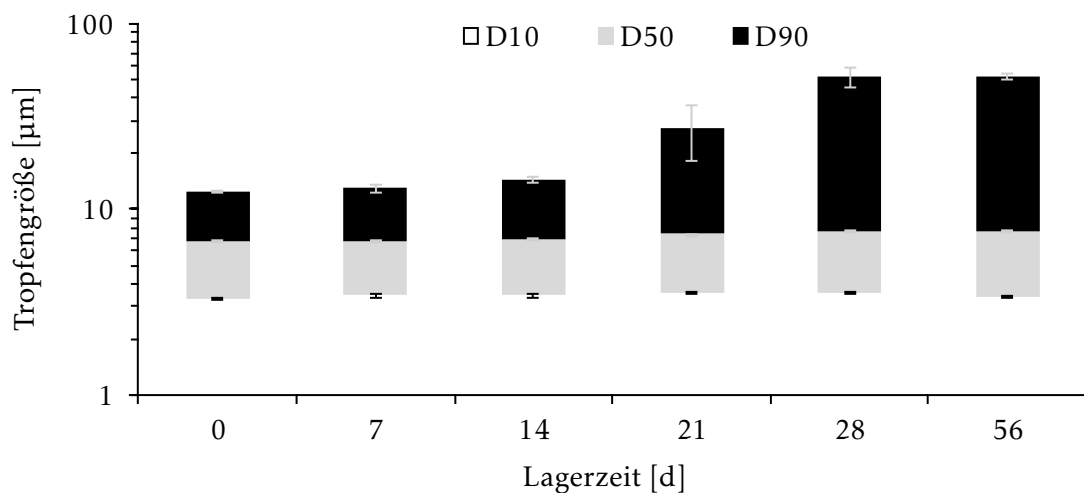
Eine weitere Reduktion des Methylcelluloseanteils führt zu einem stärkeren Tropfenwachstum über die Zeit. In Abbildung 4.44c ist die Emulsion mit 0,5 % Methylcellulose abgebildet. Die Tropfen sind über eine Woche stabil, dann kommt es bis zu Tag 14 zu einem leichten Anstieg des D90-Wertes. Am 21. Tag kann hier bereits mehr als eine Verdopplung vom Ausgangswert beobachtet werden. Nach acht Wochen ist der Wert von ursprünglich $12,4$ μm auf $51,8$ μm angewachsen. Der D50-Wert steigt ebenfalls minimal und der D10-Wert bleibt über die acht Wochen Lagerdauer konstant.



(a) #105 Methylcellulosekonzentration: 4,8 %



(b) #106 Methylcellulosekonzentration: 1,0 %



(c) #107 Methylcellulosekonzentration: 0,5 %

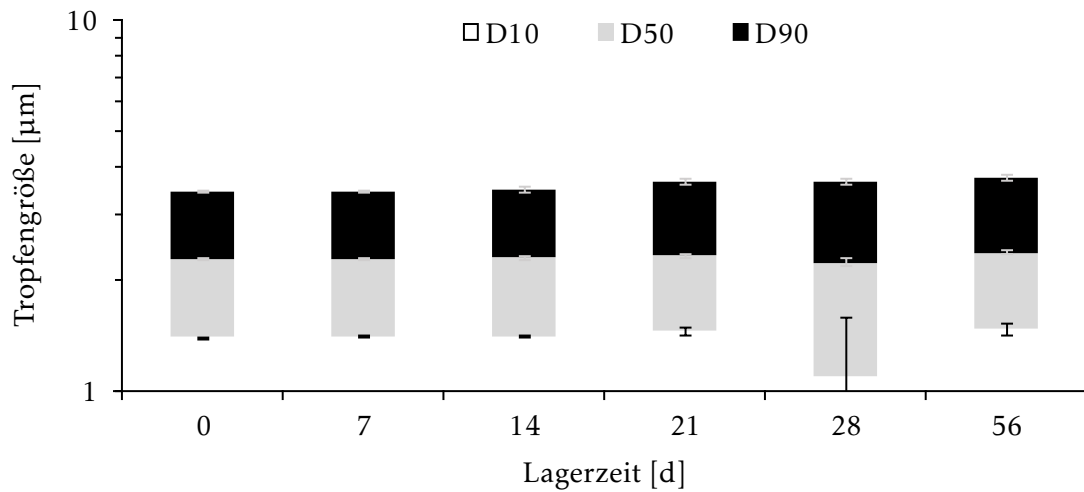
Abbildung 4.44: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentrationen und Macroglol 4000. Die Emulsionen wurden bei wechselnder Temperatur zwischen -5 um 40 °C gelagert. Alle Abbildungen zeigen den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Wird Macrogol 4000 durch Macrogol 200 ersetzt, so erhält man ähnliche Ergebnisse. In Abbildung 4.45a ist der Verlauf der Tropfengröße einer Emulsion mit 4,8 % Methylcellulose und Macrogol 200 abgebildet. Die Werte sind über acht Wochen konstant. Die D10- und D50-Werte bleiben über die Lagerzeit nahezu unverändert. Auffällig ist der sehr kleine D10-Wert nach 28 Tagen. Inwiefern dies der tatsächlichen Tropfengrößenverteilung entspricht oder ob es sich um einen Messartefakt handelt, kann nicht abschließend geklärt werden. Beim darauffolgenden Messzeitpunkt ist der Wert mit dem der ersten vier Zeitpunkte vergleichbar.

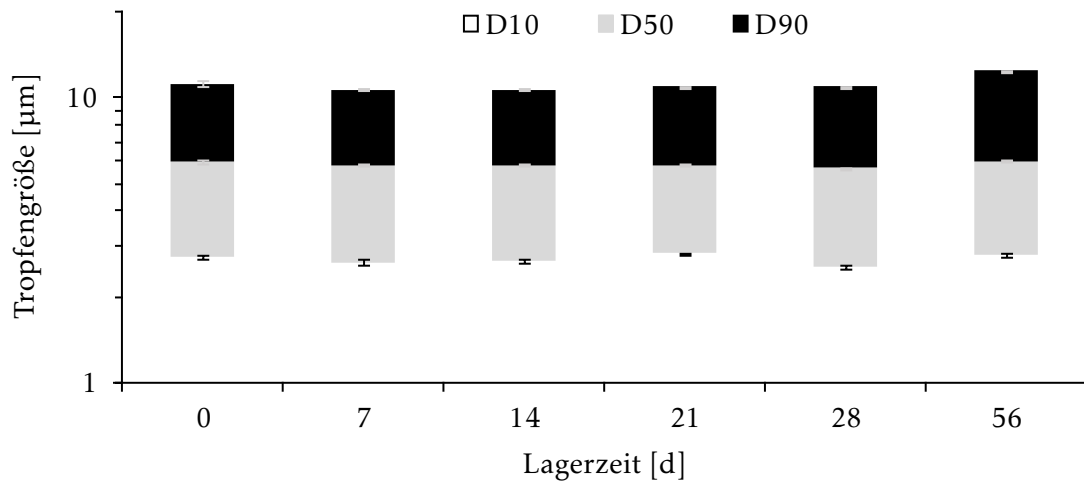
Eine Methylcellulosekonzentration von 1,0 % zeigt ebenfalls sehr konstante Tropfengrößen. Während der ersten vier Wochen ist keine relevante Änderung zu erkennen. Nach acht Wochen zeigt sich eine Zunahme der Tröpfchengröße. So steigt der D90-Wert von anfangs 11,1 μm auf 12,4 μm . Ein merklicher Anstieg für D10 und D50 ist aus den Messwerten nicht ersichtlich.

Eine Emulsion mit 0,5 % Methylcellulose und Macrogol 200 ist in Abbildung 4.45c dargestellt. Hier fällt ein leichter Anstieg des D90-Wertes nach 21 Tagen auf. Nach acht Wochen ist der Wert von 12,0 μm nach der Herstellung auf 14,3 μm angewachsen. D10 und D50 ändern sich über die Beobachtungsdauer nur unwesentlich. Die entsprechende Emulsion mit Macrogol 4000 zeigt nach 21 Tagen einen deutlichen Anstieg des D90-Wertes, der sich nach acht Wochen, bezogen auf den Ausgangswert, mehr als vervierfacht. Die Tropfengröße der Emulsion, die 0,5 % Methylcellulose enthält, ist unter der Verwendung von Macrogol 200 stabiler als wenn Macrogol 4000 eingearbeitet wird.

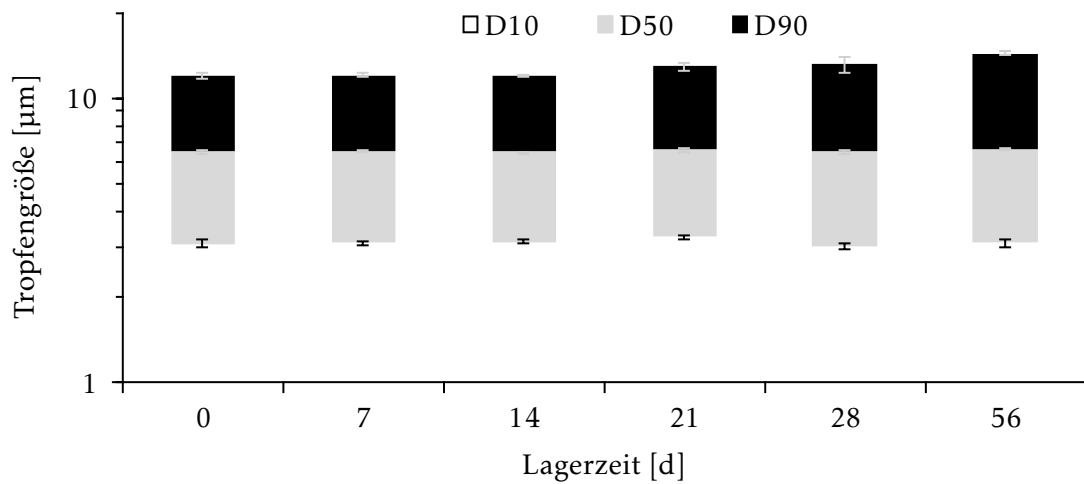
Fasst man die Ergebnisse zusammen, so kann gezeigt werden, dass die Emulsionen mit 4,8 % Methylcellulose und 9 % Ethanol auch bei wechselnden Temperaturbedingungen zwischen -5 und 40 °C über acht Wochen stabil sind. Hier unterscheiden sich die Emulsionen mit Macrogol 4000 nicht von denen, die Macrogol 200 enthalten. Auch eine reduzierte Methylcellulosekonzentration auf 1,0 % zeigt unabhängig vom verwendeten Macrogol stabile Emulsionen ohne merkliche Zunahme der Tropfengröße über den gewählten Zeitraum. Bei einem noch geringeren Methylcelluloseanteil zeigen sich Unterschiede zwischen den beiden Macrogolen. Während das kurzkettige Macrogol zu stabilen Tropfengrößen über die komplette Lagerzeit führt, zeigt sich bei Macrogol 4000 nach drei Wochen bereits ein deutlicher Anstieg im D90-Wert.



(a) #108 Methylcellulosekonzentration: 4,8 %



(b) #109 Methylcellulosekonzentration: 1,0 %



(c) #110 Methylcellulosekonzentration: 0,5 %

Abbildung 4.45: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentrationen und Macrogol 200 über eine Lagerzeit von acht Wochen. Die Emulsionen wurden bei wechselnder Temperatur zwischen -5 um 40 °C gelagert. Alle Abbildungen zeigen den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Abschließende Bewertung der Lagerstabilität

Zusammengefasst können folgende Beobachtungen gemacht werden: Die Zusatzstoffe Propylenglycol und Glycerol verschlechtern die Stabilität verglichen mit der Emulsion ohne Zusatz. Die ethanolhaltigen Emulsionen sind dagegen bei allen Temperaturen über die gesamte Beobachtungsdauer von acht Wochen stabil. Die gewählten Inhaltsstoffe verändern die Dichte der kontinuierlichen Phase und nehmen dadurch Einfluss auf die Stabilität der Emulsion. Während Propylenglycol und Glycerol die Dichte der wässrigen Phase erhöhen und somit auch die Dichtedifferenz zwischen disperser und kontinuierlicher Phase ansteigt, senkt Ethanol die Dichte der wässrigen Phase. Als Folge nähern sich die Dichte der Wasserphase und die der mittelkettigen Triglyceride an. Die Aufrahmggeschwindigkeit wird hierdurch verlangsamt und die Emulsionen bleiben über einen längeren Zeitraum physikalisch stabil.

Verringert man die Konzentration der Methylcellulose von 4,8 % auf 1,0 %, zeigt sich zunächst noch kein Effekt auf die Lagerstabilität der Emulsionen. Bei einer Konzentration von 0,5 % setzt in Kombination mit Macrogol 4000 nach 21 Tagen Tropfengrößenwachstum ein, wobei der D10- und der D50-Wert stabil bleiben. Verwendet man Macrogol 200, kann auch bei einer Methylcellulosekonzentration von 0,5 % bei schwankenden Temperaturbedingungen eine stabile Tropfengröße über acht Wochen erreicht werden. Da kein Effekt des Macrogols auf die Löslichkeit der Methylcellulose gefunden werden kann (s. Abschnitt 4.7), muss hier ein anderer Mechanismus zu Grunde liegen. Denkbar wäre eine verbesserte sterische Stabilisierung durch das Macrogol mit geringerem Molekulargewicht.

Da die verwendeten Alkohole auch über eine Veränderung der Löslichkeit des Polymers die Stabilität der Emulsion beeinflussen, wird im Folgenden der Effekt der Zusatzstoffe Ethanol, Propylenglycol und Glycerol untersucht. Dazu wird die temperaturabhängige Löslichkeit von Methylcellulose in wässriger Lösung durch Trübungspunktmessungen bestimmt.

4.7 Trübungspunktmessungen

Um die Löslichkeit von Methylcellulose zu bestimmen, werden Trübungspunktmessungen durchgeführt. Der Einfluss der verschiedenen Hilfsstoffe auf die Löslichkeit und dadurch auch auf die Eigenschaften der Emulsion kann bestimmt werden.

Die Bestimmung des Trübungspunktes erfolgt in Abhängigkeit von der Temperatur. Dazu wird der in Abschnitt 3.4.15 beschriebene Versuchsaufbau verwendet. Die Vorbereitung der Methylcelluloselösungen und die Auswertung werden ebenfalls in diesem Abschnitt besprochen. Bedingt durch den Versuchsaufbau ist die maximale Methylcellulosekonzentration auf 0,5 % beschränkt.

Wie in Tabelle 4.15 zu sehen ist, beträgt der Trübungspunkt einer 0,5%igen Methylcelluloselösung etwa 68 °C. Durch den Zusatz von Natriumcitrat kann die Temperatur auf 52 °C und damit um 15 °C gesenkt werden. Fügt man einen Zusatzstoff wie Ethanol, Propylenglycol oder Glycerol hinzu, verschiebt sich der Trübungspunkt. Das Verhältnis von Methylcellulose zu Alkohol entspricht dabei nicht der Zusammensetzung der Emulsion. Um einen stärkeren Effekt zu erzeugen, wurde die Menge bewusst höher gewählt, als es in der Emulsion der Fall ist. Durch Ethanolzugabe liegt die ermittelte Temperatur bei 66 °C. Damit ist der Ansatz mit der Methylcelluloselösung ohne Natriumcitrat vergleichbar. Der Ethanolzusatz hebt somit die Wirkung von Natriumcitrat auf. Auch Propylenglycol zeigt verglichen mit der Lösung, die Methylcellulose in Kombination mit Natriumcitrat enthält, einen signifikant höheren Trübungspunkt von 60 °C. Wird Glycerol zugegeben, dann zeigt diese Mischung im Mittel mit 49 °C den niedrigsten gemessenen Trübungspunkt, der mit dem Lösung von Methylcellulose und Natriumcitrat vergleichbar ist.

Tabelle 4.15: Trübungspunkt von Methylcelluloselösungen in Abhängigkeit verschiedener Zusatzstoffe. Die Konzentration des Zusatzes beträgt immer 10 %. Die Lösungen enthalten kein Macrogol. Die Werte sind nach steigendem Trübungspunkt geordnet. Alle Trübungspunkte sind arithmetische Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3

Zusatzstoff	Methylcellulose [%]	Natriumcitrat [%]	Trübungspunkt [°C]
Glycerol	0,5	2,1	48,88 \pm 0,21
Kein Alkohol	0,5	2,1	52,10 \pm 0,21
Propylenglycol	0,5	2,1	60,11 \pm 4,56
Ethanol	0,5	2,1	65,75 \pm 0,62
Kein Alkohol	0,5		67,84 \pm 0,08

In einem nächsten Schritt wird untersucht, inwiefern die Effekte konzentrationsabhängig sind und welchen Effekt Macrogol auf den Trübungspunkt hat. Dazu werden Lösungen mit 20 % Ethanol, Propylenglycol oder Glycerol in Kombination mit jeweils 8 % Macrogol 4000 hergestellt. Das Verhältnis von Zusatzstoff zu Macrogol entspricht dabei dem Verhältnis, wie es auch in der Emulsion vorliegt. Bezogen auf die Methylcellulose ist die Konzentration höher gewählt, um mögliche Effekte besser beobachten zu können. Auf eine Anpassung der Natriumcitratmenge wird an dieser Stelle verzichtet, um Ausfällungen durch den Zusatz von organischen Flüssigkeiten zu verhindern. Ungelöste Partikel würden die Messungen empfindlich stören und die Ergebnisse verfälschen.

Die Ergebnisse der Testreihe sind in Tabelle 4.16 aufgelistet. Zunächst zeigt sich, dass die Lösung mit Ethanol auch in diesem Punkt mit der reinen Methylcelluloselösung vergleichbar ist. Eine Erhöhung der Ethanolmenge von 10 auf 20 % hat somit keinen Einfluss oder wird durch das Macrogol aufgehoben. Dem gegenüber senkt Propylenglycol in höherer Konzentration mit Macrogol den Trübungspunkt auf 46 °C. Damit ist er verglichen mit der Lösung, die Methylcellulose und Natriumcitrat enthält, signifikant niedriger. Hier kann also durch Propylenglycol und Macrogol eine weitere Absenkung erreicht werden, die mit einer Zugabe von 10 % nicht erreicht wird. Vergleichbar ist der Effekt bei einer Verdopplung der Glycerolkonzentration. Bei der Mischung, die 20 % Glycerol enthält, wird mit 35,7 °C ein 13 °C tieferer Trübungspunkt gemessen, als bei der Lösung mit 10 % des Zusatzstoffes. Damit ist er verglichen mit der reinen Methylcelluloselösung um etwa 30 °C abgesenkt.

Tabelle 4.16: Trübungspunkt von Methylcelluloselösungen in Abhängigkeit verschiedener Zusatzstoffe. Die Konzentration des Zusatzes beträgt immer 20 %. Das verwendete Macrogol hat ein mittleres Molekulargewicht von $4000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$. Die Werte sind nach steigendem Trübungspunkt geordnet. Alle Trübungspunkte sind arithmetische Mittelwerte \pm Standardabweichung; $n \geq 3$

Zusatzstoff	Methylcellulose [%]	Natriumcitrat [%]	Macrogol [%]	Trübungspunkt [°C]
Glycerol	0,5	2,1	8,0	35,74 \pm 2,73
Propylenglycol	0,5	2,1	8,0	45,70 \pm 1,62
Kein Alkohol	0,5	2,1		52,10 \pm 0,21
Ethanol	0,5	2,1	8,0	63,77 \pm 4,58
Kein Alkohol	0,5			67,84 \pm 0,08

Die ersten vier Trübungspunkte in Tabelle 4.16 unterscheiden sich alle statistisch signifikant

voneinander. Zwischen der Lösung aus Ethanol, Natriumcitrat und Macrogol sowie der reinen Methylcelluloselösung kann kein statistisch signifikanter Unterschied gefunden werden.

Somit haben sowohl Natriumcitrat als auch die untersuchten Hilfsstoffe Ethanol, Propylenglycol und Glycerol einen Einfluss auf den Trübungspunkt. Der Einfluss vom Macrogol auf den Trübungspunkt kann hier noch nicht abschließend geklärt werden.

Um das Zusammenspiel der einzelnen Komponenten so abzubilden, wie es auch in der Emulsion vorliegt, wird die Zusammensetzung auf die reduzierte Methylcellulosemenge von 0,5 % berechnet. Die Trübungspunkte der vermessenen Ansätze sind in Tabelle 4.17 angegeben.

Tabelle 4.17: Trübungspunkt von Methylcelluloselösungen in Abhängigkeit verschiedener Zusatzstoffe. Die prozentuale Zusammensetzung entspricht der wässrigen Phase der Emulsionen. Der Anteil der einzelnen Inhaltsstoffe wird auf die reduzierte Methylcellulosekonzentration berechnet. Die Trübungspunkte sind nach steigenden Werten sortiert. Aufgelistet ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n \geq 3$

Zusatzstoff	Macrogol [g · mol ⁻¹]	Trübungspunkt [°C]
Glycerol	200	57,85 \pm 3,82
Glycerol	4000	60,50 \pm 2,04
Glycerol	kein Macrogol	61,51 \pm 0,01
Propylenglycol	4000	62,34 \pm 1,86
Propylenglycol	kein Macrogol	63,10 \pm 0,17
Propylenglycol	200	63,22 \pm 0,09
Ethanol	kein Macrogol	64,39 \pm 0,33
Ethanol	200	64,67 \pm 0,42
Ethanol	4000	64,77 \pm 1,82
Kein Alkohol	kein Macrogol	67,84 \pm 0,08

Auch hier kann wie in den bereits beschriebenen Ergebnissen der Einfluss der verschiedenen Hilfsstoffe wie folgt beschrieben werden: Glycerol zeigt den stärksten Effekt auf den Trübungspunkt, gefolgt von Propylenglycol und Ethanol. Auch die Konzentrationsabhängigkeit des Effektes durch die Zusatzstoffe wird bestätigt. Weiterhin kann festgestellt werden, dass die Anwesenheit von Macrogol oder dessen Molekulargewicht auf den Trübungspunkt keinen relevanten Einfluss hat.

Die untersuchten Lösungen spiegeln die Verteilung der einzelnen Hilfsstoffe in der Emulsion

jedoch nicht exakt wieder. Durch entsprechende Verteilungsvorgänge zwischen der kontinuierlichen und der dispersen Phase verändert sich die Konzentration der einzelnen Stoffe in der wässrigen Flüssigkeit. Da Emulsionen allerdings nicht auf eine eintretende Trübung untersucht werden können, wird eine rheologische Messmethode gewählt. Die Methode ist in Abschnitt 3.4.10 beschrieben. Dazu werden zunächst die Lösungen aus Tabelle 4.15 auf ihre maximale Viskositätszunahme untersucht. Die erhaltenen Messwerte sind in Tabelle 4.18 aufgelistet. Trägt man diese Werte der maximalen Viskositätszunahme und die ermittelnden Trübungspunkte gegeneinander auf, so resultiert das Schaubild in Abbildung 4.46.

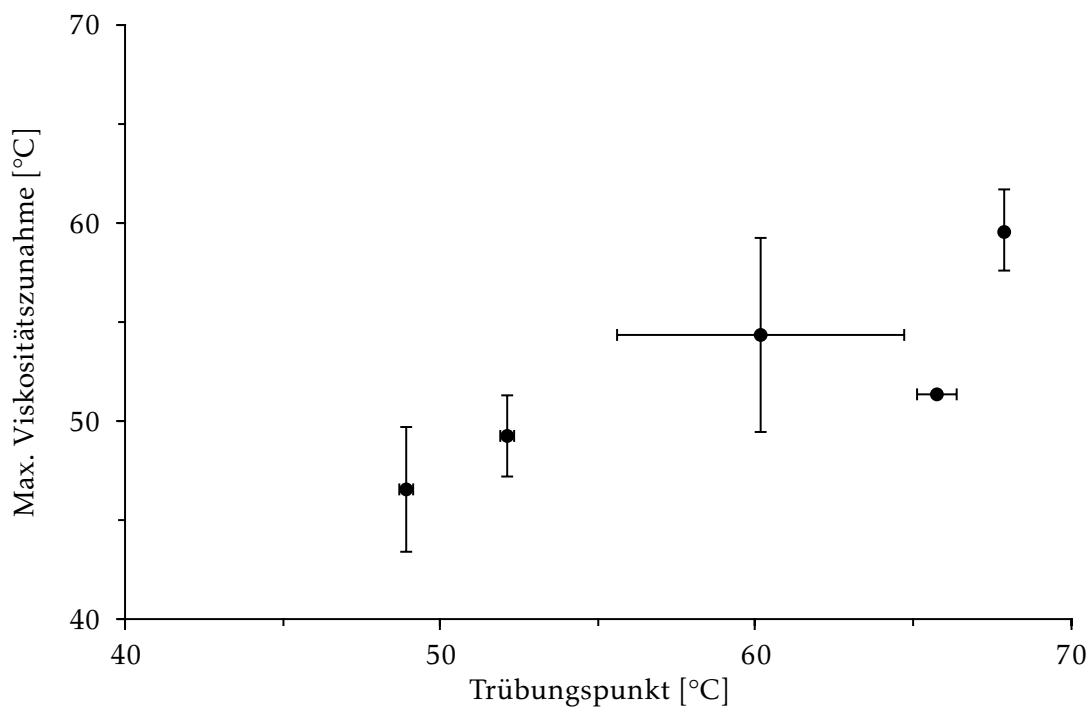


Abbildung 4.46: Korrelation zwischen Trübungspunkt und maximaler Viskositätszunahme. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; $n \geq 3$

Mit Ausnahme der ethanolhaltigen Lösung zeigt sich eine sehr gute Korrelation. Die Werte der maximalen Viskositätszunahme liegen immer wenige Grad unter dem bestimmten Trübungspunkt. Eine mögliche Erklärung, warum bei der ethanolischen Lösung die maximale Viskositätszunahme stärker vom ermittelten Trübungspunkt abweicht, ist der Messaufbau der Viskositätsbestimmung. Zwar handelt es sich wie bei den Trübungspunktmessungen um ein geschlossenes System, jedoch ist das Probenvolumen im Vergleich zum Gasvolumen sehr viel geringer. Kommt es mit steigender Temperatur zu einem deutlichen Verdunsten von Ethanol, konzentriert sich die im Messspalt verbleibende Lösung auf. Als Folge davon liegt die gemessene Temperatur der maximalen Viskositätszunahme niedriger als erwartet. Für Propylenglycol und Glycerol ist dies von

untergeordneter Bedeutung, da diese Stoffe einen sehr viel niedrigeren Dampfdruck aufweisen. Daraus ergibt sich eine geringere Flüchtigkeit.

Da beide Methoden zu vergleichbaren Ergebnissen führen, kann durch die Bestimmung der maximalen Viskositätszunahme der Thermoemulsionen auf deren Trübungspunkt und somit auf die Polymerlöslichkeit im System rückgeschlossen werden.

Tabelle 4.18: Maximale Viskositätszunahme von Methylcelluloselösungen in Abhängigkeit verschiedener Zusatzstoffe. Die Konzentration des Zusatzes beträgt immer 10 %. Die Lösungen enthalten kein Macrogol. Die Werte sind nach steigender Temperatur sortiert. Alle Trübungspunkte sind arithmetische Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3

Zusatzstoff	Methylcellulose [%]	Natriumcitrat [%]	Maximum der Viskositätszunahme [°C]
Glycerol	0,5	2,1	46,64 \pm 3,13
Ohne Alkohol	0,5	2,1	49,37 \pm 2,05
Ethanol	0,5	2,1	51,42 \pm 0,00
Propylenglycol	0,5	2,1	54,50 \pm 4,88
Ohne Alkohol	0,5		59,63 \pm 2,06

Die ermittelten maximalen Viskositätszunahmen sind in Tabelle 4.19 aufgelistet. Die niedrigste Temperatur wird dabei für Glycerol bestimmt, gefolgt von Propylenglycol und Ethanol. Die Emulsion ohne Zusatzstoffe zeigt die maximale Viskositätszunahme bei 61 °C, was den höchsten Wert der untersuchten Emulsionen markiert. Die erhaltene Reihenfolge entspricht den Ergebnissen der Lösungen in Tabelle 4.17.

Tabelle 4.19: Maximale Viskositätszunahme von Thermoemulsionen in Abhängigkeit verschiedener Zusatzstoffe mit einem Anteil von 15 %. Die Werte sind nach steigender Temperatur sortiert. Alle Trübungspunkte sind arithmetische Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3-5.

Zusatzstoff	Methylcellulose [%]	Natriumcitrat [%]	Maximum der Viskositätszunahme [°C]
Glycerol (#120)	4,8	2,1	24,77 \pm 0,00
Propylenglycol (#118)	4,8	2,1	37,07 \pm 3,74
Ethanol (#119)	4,8	2,1	46,50 \pm 11,38
Kein Alkohol (#121)	4,8	2,1	61,00 \pm 4,27

Vergleicht man die Werte für die maximale Viskositätszunahme mit den Ergebnissen der oszillatorischen Messungen, ergibt sich kein einheitliches Bild. Während die Emulsion mit Ethanol einen Speichermodul von 5950 Pa und damit den höchsten Wert aufweist, liegt die glycerolhaltige Emulsion mit 970 Pa in der Mitte. Die Emulsion mit Propylenglycol besitzt den kleinsten Speichermodul in Höhe von 343 Pa (s. Tabelle 4.8 bis 4.10). Die Temperatur der maximalen Viskositätszunahme fällt in der Reihenfolge Ethanol, Propylenglycol, Glycerol ab.

Bei der Interpretation muss jedoch beachtet werden, dass das Maximum der Viskositätszunahme nichts über die absolute Viskosität oder die viskoelastischen Eigenschaften aussagt. Des Weiteren sind aus der maximalen Zunahme der Viskosität keine Rückschlüsse auf die Temperatur, bei der die Gelierung einsetzt, möglich.

Das rheologische Verhalten bei Hautoberflächentemperatur ist somit nicht direkt durch die Löslichkeit der Methylcellulose zu erklären. Die maximale Viskositätszunahme findet mit Ausnahme der Emulsion mit Glycerol erst bei Temperaturen statt, die deutlich über der Hautoberflächentemperatur von 32 °C liegen. Dennoch zeigen alle Emulsionen thermogelierende Eigenschaften. Bei 32 °C müssen also andere Vorgänge über die rheologischen Eigenschaften entscheiden.

Allerdings ist ein Effekt der untersuchten Stoffe auf die Löslichkeit der Methylcellulose nachweisbar. Für Systeme, die sich nicht auf ihren Trübungspunkt hin untersuchen lassen, haben sich rheologische Messungen als geeignete Alternative erwiesen.

4.8 Ex-vivo-Substantivitätsmessungen

Nachdem die Emulsionen charakterisiert und auf Stabilität getestet wurden, wird an vielversprechenden Rezepturen die Substantivität bestimmt. Dazu werden Formulierungen mit drei verschiedenen Methylcellulosekonzentrationen hergestellt. Der geringste Anteil beträgt 0,5 %; außerdem werden solche mit 1,0 und 4,8 % untersucht. Zusätzlich soll der Einfluss zweier verschiedener Macrogole bewertet werden. Ein bei Raum- und Hautoberflächentemperatur flüssiges Macrogol mit einem mittleren Molekulargewicht von $200 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ und Macrogol mit $4000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ werden verwendet. Das letztere schmilzt erst bei Temperaturen oberhalb von $50 \text{ }^\circ\text{C}$ (Caesar & Loretz GmbH, 2018). Sofern es nicht in Lösung geht, liegt es also bei $32 \text{ }^\circ\text{C}$ als Feststoff vor. Somit kann nicht ausgeschlossen, dass sich eine starre, filmähnliche Struktur auf der Haut ausbildet, sobald die flüchtigen Komponenten verdunstet sind. Alle Emulsionen enthalten, mit 9 %, die gleiche Ethanolmenge wie die Hydrophile Nonivamid-Creme. Die Methode zur Bestimmung der Substantivität ist in Abschnitt 3.4.9 im Detail beschrieben. Es werden sowohl Messungen mit simuliertem Haut-Haut-Kontakt als auch mit Haut-Textil-Kontakt durchgeführt. Die Hydrophile Nonivamid-Creme dient dabei immer als Referenzformulierung.

In Abbildung 4.47 sind die Ergebnisse der Emulsionen mit Macrogol 4000 und der Hydrophilen Nonivamid-Creme bei Haut-Haut-Kontakt dargestellt.

Bei der konventionellen Creme wird durch den Kontakt zu einem zweiten Hautstück etwa ein Drittel der aufgetragenen Menge entfernt. Dieses Ergebnis stimmt mit den Resultaten von Herrmann et al. (2016) überein. Betrachtet man die getesteten Emulsionen im Vergleich mit der Creme, ist Folgendes festzustellen: Die Emulsion mit 4,8 % Methylcellulose zeigt die beste Substantivität. Nur etwa 8 % der aufgetragenen Menge werden abgetragen. Wird die Menge an Methylcellulose reduziert, verringert sich auch der Anteil, der am Applikationsort verbleibt. Die Zubereitung mit 1,0 % Methylcellulose weist im Mittel 25 % entfernten Anteil auf. Bei 0,5 % Methylcellulose sind es etwa 28 %. Vergleicht man die einzelnen Ergebnisse, dann unterscheidet sich die Rezeptur mit 4,8 % signifikant von der Hydrophilen Nonivamid-Creme, aber auch von den beiden anderen Emulsionen. Die Zubereitungen mit 0,5 und 1,0 % Methylcellulose sind vergleichbar. Tendenziell zeigen sie eine etwas höhere Substantivität als die Creme. Dieser Unterschied ist jedoch statistisch nicht signifikant.

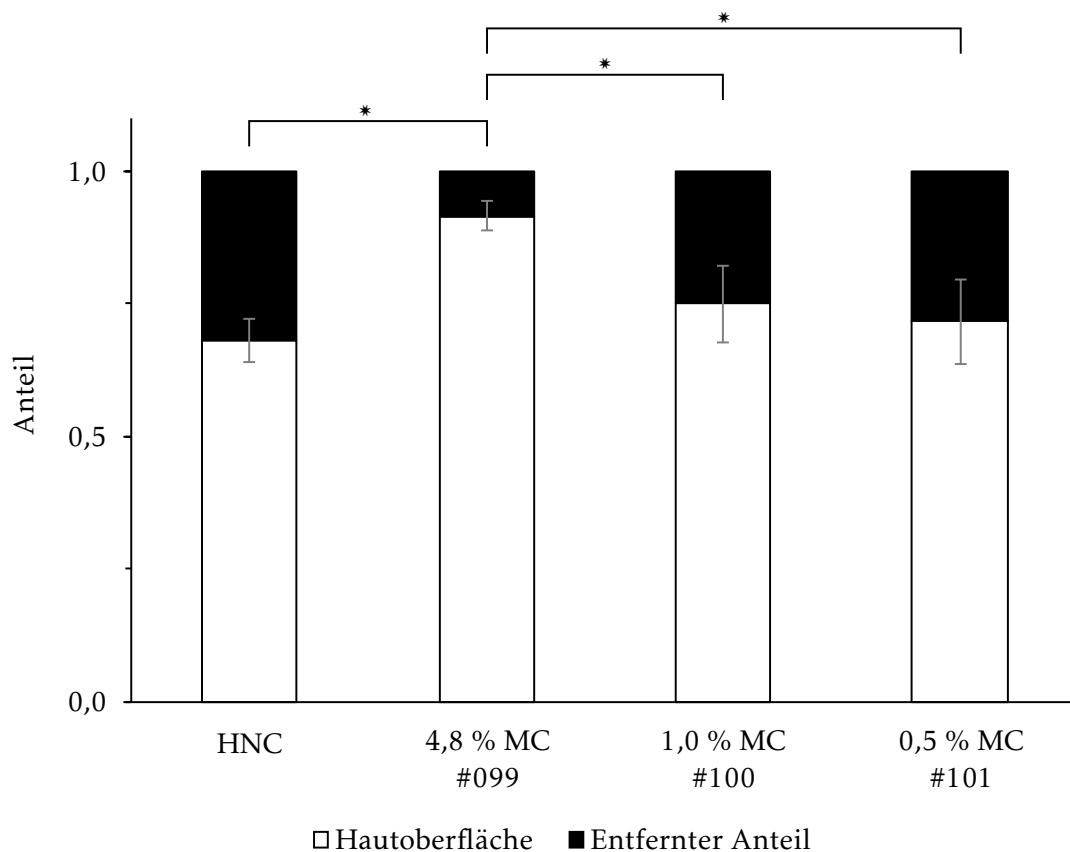


Abbildung 4.47: Ergebnisse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung bei simuliertem Haut-Haut-Kontakt in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration. Alle Emulsionen enthalten Macrogol 4000. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; n = 3-5

Wird Macrogol 4000 durch das kürzerkettige Macrogol 200 ersetzt, erhält man die in Abbildung 4.48 gezeigten Daten. Auch hier wird Haut-Haut-Kontakt simuliert. Die Werte der Hydrophilen Nonivamid-Creme werden bereits oben diskutiert. Die Emulsion mit dem höchsten Methylcelluloseanteil von 4,8 % zeigt auch hier die höchste Substantivität. Nach dem simulierten Kontakt werden im Mittel 14 % vom Applikationsort entfernt. Die beiden Zubereitungen mit 0,5 und 1,0 % Methylcellulose zeigen eine Substantivität von 67 bzw. 72 %. Es unterscheidet sich die Emulsion mit der höchsten Methylcellulosekonzentration signifikant von den zwei anderen Emulsionen und der Hydrophilen Nonivamid-Creme. Bei reduziertem Methylcelluloseanteil sind die Emulsionen mit der Creme vergleichbar.

Die beiden Messreihen mit simuliertem Haut-Haut-Kontakt der unterschiedlichen Macrogolen zeigen ähnliche Ergebnisse. So kann zwischen den Emulsionen mit der gleichen Methylcellulosekonzentration aber unterschiedlichen Macrogolen kein Unterschied gefunden werden. Ein Einfluss des Macrogols kann nicht festgestellt werden. Neben Haut-Haut-Kontakt wird auch Haut-

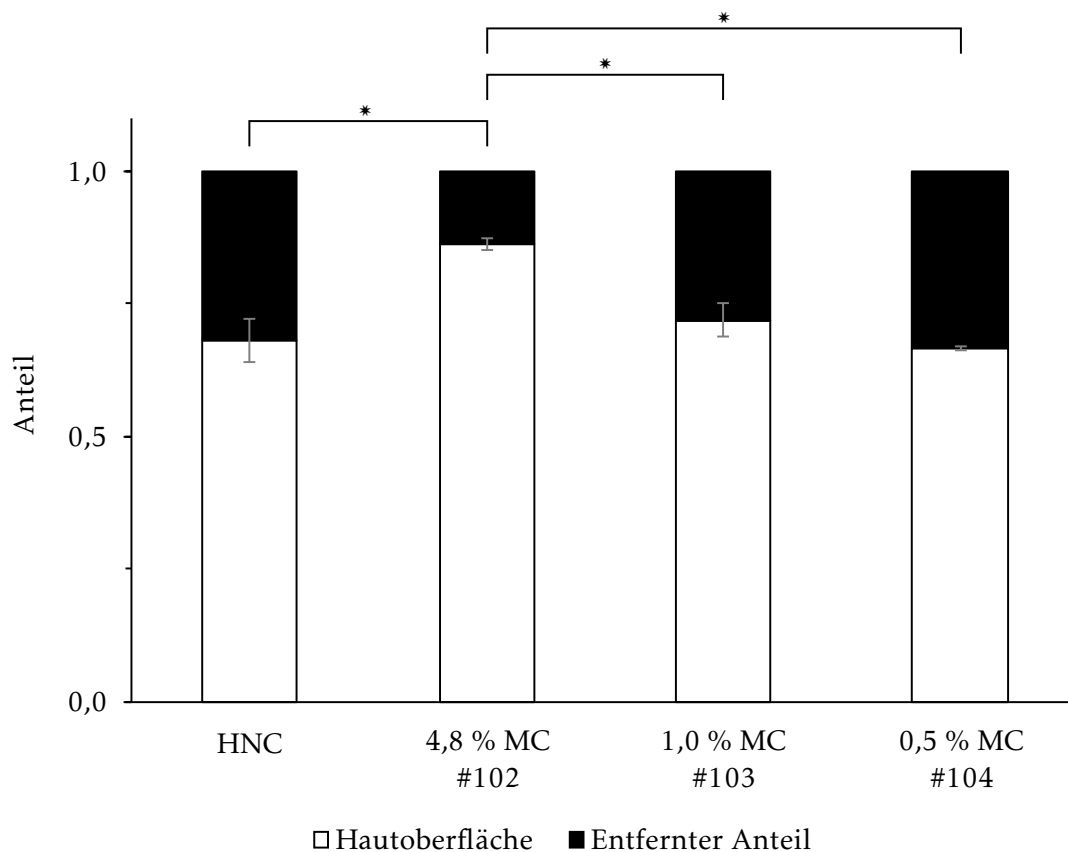


Abbildung 4.48: Ergebnisse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung bei simuliertem Haut-Haut-Kontakt in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration. Alle Emulsionen enthalten Macroglol 200. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; n = 3-5

Textil-Kontakt simuliert. Dazu wird, wie in Abschnitt 3.4.9 beschrieben, statt einem zweiten Hautstück ein Stück naturbelassenen Stoffes auf die Hautstanze mit der aufgetragenen Formulierung gepresst.

Abbildung 4.49 zeigt die Resultate der Emulsionen mit Macroglol 4000 und der Hydrophilen Nonivamid-Creme. Von der Creme werden durchschnittlich 40 % vom Applikationsort entfernt.

Die Emulsion mit 4,8 % Methylcellulose zeigt hingegen eine deutlich höhere Substantivität. Nahezu die komplette Formulierung verbleibt am Applikationsort und wird nicht durch Haut-Textil-Kontakt entfernt. Die Emulsionen, die weniger Methylcellulose enthalten, zeigen geringere Substantivität. Mit einem Gehalt von 1,0 % verbleiben noch 75 % auf der Hautoberfläche, bei 0,5 % sind es 60 %. Hier unterscheidet sich die Emulsion mit 4,8 % Methylcellulose von den drei anderen Zubereitungen signifikant. Auch die Emulsion mit 1,0 % Methylcellulose zeigt eine signifikant höhere Substantivität als die Hydrophile Nonivamid-Creme. Die Rezeptur mit 0,5 % Methylcellulose ist mit der Hydrophilen Nonivamid-Creme vergleichbar.

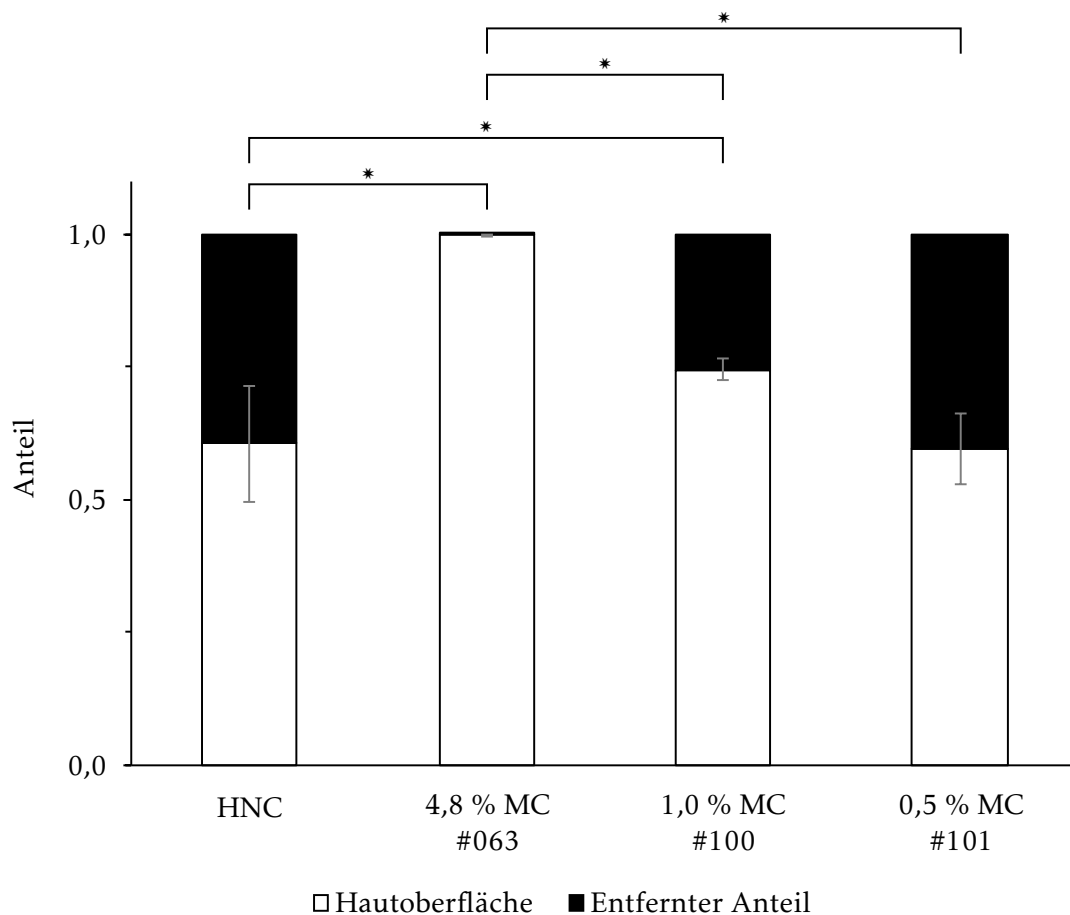


Abbildung 4.49: Ergebnisse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung bei simuliertem Haut-Textil-Kontakt in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration. Alle Emulsionen enthalten Macroglol 4000. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; n = 3-5

Wird Haut-Textil-Kontakt bei Emulsionen mit Macroglol 200 simuliert, erhält man die Ergebnisse aus Abbildung 4.50.

Vergleicht man hier die drei Emulsionen untereinander, so zeigt die Emulsion mit 4,8 % Methylcellulose einen verbleibenden Anteil von 92 % auf der Hautoberfläche. Die Zubereitung mit 1,0 % Methylcellulose weist mit 83 % einen geringeren Wert auf. Senkt man den Methylcelluloseanteil weiter auf 0,5 %, resultiert dies in einer weiteren Abnahme der Substantivität auf 76 %. In dieser Messreihe zeigen alle drei Emulsionen unabhängig von der Methylcellulosekonzentration eine signifikant höhere Substantivität als die Hydrophile Nonivamid-Creme.

Auch bei Haut-Textil-Kontakt kann kein Unterschied zwischen den Emulsionen mit Macroglol 200 und 4000 festgestellt werden.

Eine Verbesserung der Substantivität kann daher nicht aus einer möglichen Filmbildung der Methylcellulose oder durch das bei Hauttemperatur feste Macroglol herrühren. Denn wie die Er-

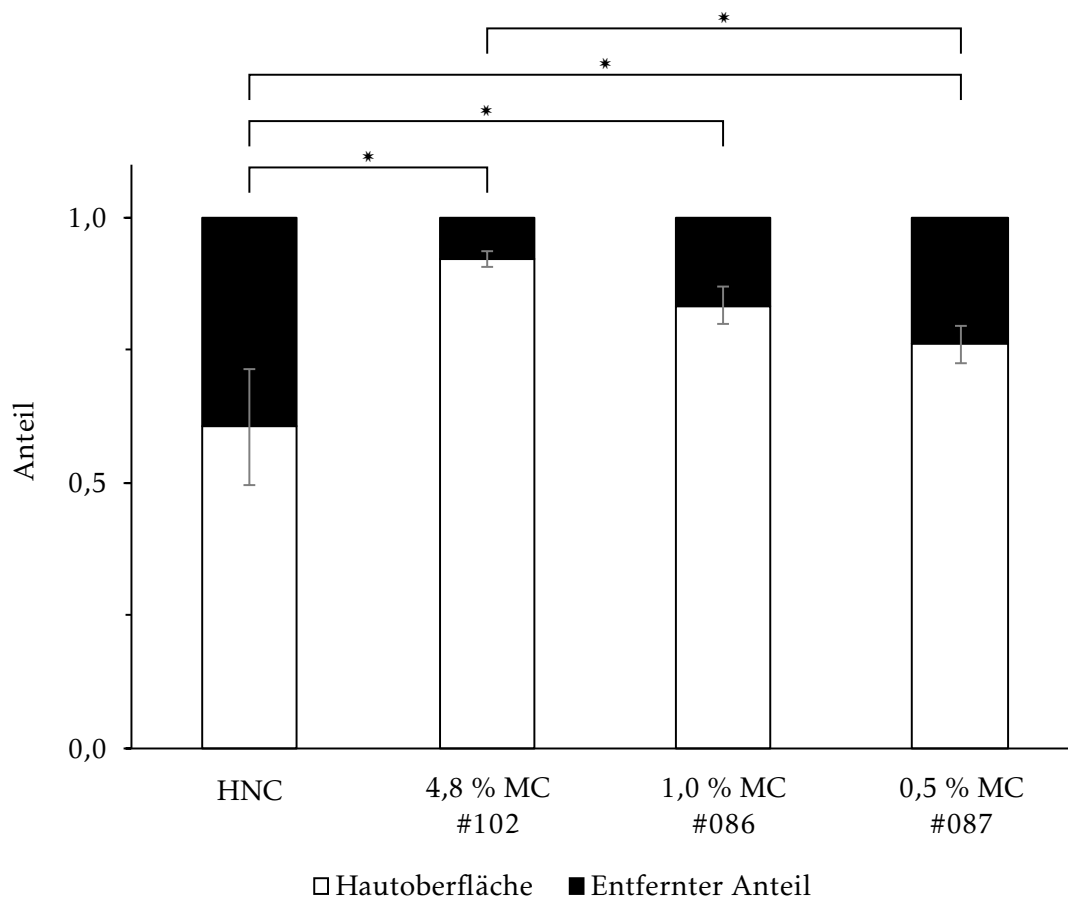


Abbildung 4.50: Ergebnisse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung bei simuliertem Haut-Textil-Kontakt in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration. Alle Emulsionen enthalten Macrogol 200. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; n = 3-5

gebnisse zeigen, kann auch mittels einer reduzierten Methylcellulosekonzentration und eines bei 32 °C flüssigen Macrogols eine Verbesserung der Substantivität erreicht werden. Da die Emulsion mit Ethanol und Wasser flüchtige Substanzen enthält, wird sich nach der Applikation natürlich der Zustand ändern. Um herauszufinden, inwiefern dieser Effekt zur verbesserten Substantivität beiträgt, wird die Zeit zwischen dem Auftragen der Formulierung und dem Messstart verkürzt. Zunächst wird das Intervall auf eine Dauer von 3 min verkürzt und schließlich direkt nach dem Auftragen gemessen. Wobei durch den Experimentaufbau eine kürzere Dauer als 1 min nicht realisierbar ist. Abbildung 4.51 zeigt die Auswirkungen dieser verkürzten Abstände auf die Substantivität einer Emulsion mit 4,8 % Methylcellulose und Macrogol 4000.

Wie man erkennen kann, unterscheiden sich die einzelnen Messungen nicht. Auch bei einer Wartezeit von 3 min wird praktisch nichts vom Applikationsort entfernt. Selbst eine weitere Verkürzung auf 1 min zeigt keine Abnahme der Substantivität. das heißt, dass weder der Flüssig-

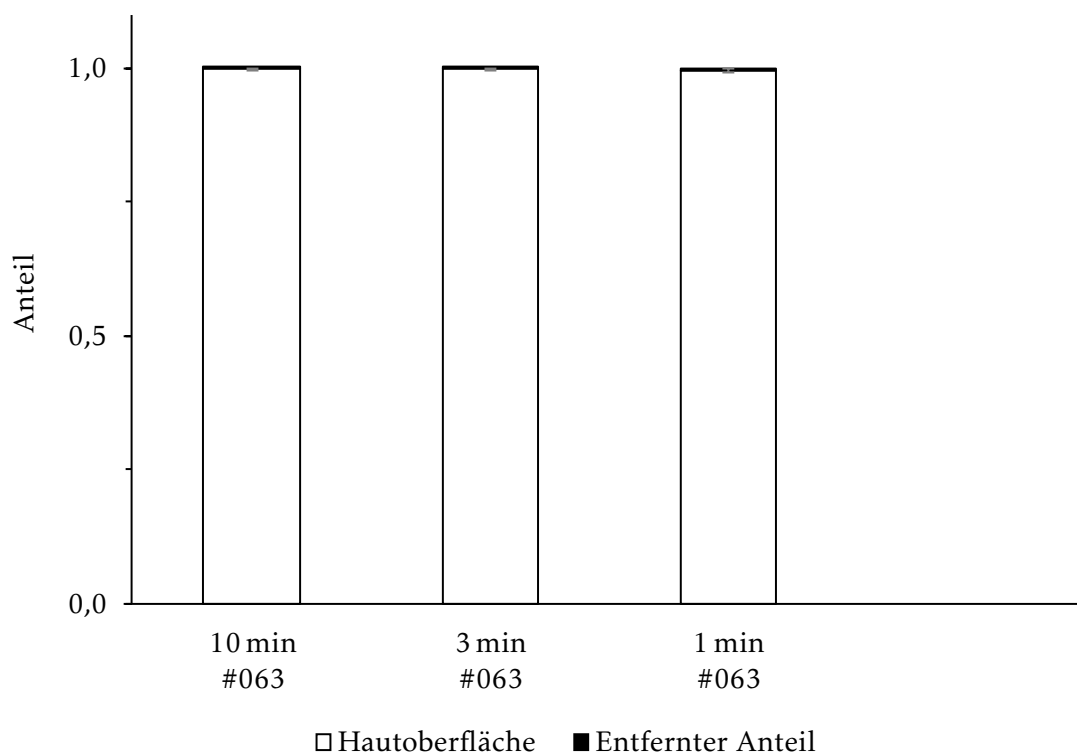


Abbildung 4.51: Ergebnisse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung bei simuliertem Haut-Textil-Kontakt in Abhängigkeit des Intervalls zwischen Applikation und Beginn der Messung, Ergebnisse der Emulsionen #063 mit 4,8 % Methylcellulose und Macrogol 4000. Die Abbildung zeigt den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung; n = 3-4

keitsverlust nach der Applikation noch eine mögliche Filmbildung für die hohe Substantivität verantwortlich sein können. Betrachtet man in diesem Zusammenhang den Verlustfaktor der einzelnen Emulsionen, zeigt sich, dass sich ein geringer Verlustfaktor positiv auf die Substantivität auswirkt. So weisen die Emulsionen mit einer Methylcellulosekonzentration von 0,5 % einen Speichermodul auf, der bis zu 200-fach kleiner ist als bei der Hydrophilen Nonivamid-Creme; jedoch auch einen deutlich kleineren Verlustfaktor. Diese Emulsionen sind in ihrer Substantivität vergleichbar mit der Creme. Wird durch eine Erhöhung der Methylcellulosekonzentration auch der Speichermodul auf einen Wert angehoben, der mit der Hydrophilen Nonivamid-Creme vergleichbar oder sogar größer ist, und gleichzeitig der Verlustfaktor klein gehalten, wird die Substantivität deutlich erhöht. Ein Zusammenspiel aus hohem Speichermodul bei kleinem Verlustfaktor ist eine mögliche Erklärung für die hohe Substantivität der Emulsionen.

Zusammengefasst zeigen die Ergebnisse der Ex-vivo-Substantivitätsmessungen, dass die vorgestellten Emulsionen eine höhere oder zumindest vergleichbare Substantivität aufweisen als die Hydrophile Nonivamid-Creme. Bei einer Methylcellulosekonzentration von 4,8 % wird nur ein geringer Anteil vom Applikationsort entfernt. Eine Filmbildung auf der Haut als mögliche Erklärung

rung kann ausgeschlossen werden, da auch direkt nach der Applikation eine hohe Substantivität gemessen wird.

Alle in diesem Abschnitt diskutierten Ergebnisse sind als numerische Werte in tabellarischer Form im Anhang in Abschnitt 7.2.8 aufgelistet.

4.9 Ex-vivo-Penetrationsuntersuchungen

In Abschnitt 4.8 wird die Substantivität verschiedener Emulsionen untersucht und die Ergebnisse zeigen, dass ein Großteil der aufgetragenen Formulierung auf der Haut verbleibt. Der Wirkort für Nonivamid liegt in den lebenden Schichten der Epidermis. Um die biopharmazeutischen Eigenschaften beurteilen zu können, werden Ex-vivo-Penetrationsuntersuchungen durchgeführt. Die Versuche werden in Franzzellen gemäß der in Abschnitt 3.4.6 beschriebenen Methode durchgeführt. Da die Haut von verschiedenen Individuen Unterschiede im Penetrationsverhalten aufweisen kann, werden nur Ergebnisse, die mittels Hautstücken desselben Individuums erzielt werden, miteinander verglichen. Alle grafisch abgebildeten Daten sind im Anhang in Abschnitt 7.2.9 als numerische Werte aufgelistet.

Einfluss von Propylenglycol und Ethanol

Zunächst wird untersucht, ob Ethanol oder Propylenglycol, einen Einfluss auf die penetrierte Arzneistoffmenge haben. Beide Stoffe sind auch in der Hydrophilen Nonivamid-Creme enthalten. Ethanol zeigte in den Stabilitätsuntersuchungen die besten Ergebnisse, Propylenglycol zeigte zwar keine Verbesserung der Stabilität der Emulsion, ist jedoch ein potentieller Penetrationsbeschleuniger. Glycerol zeigt in den vorangegangenen Untersuchungen keine Vorteile und wird daher bei den Penetrationsversuchen nicht betrachtet. Stattdessen werden Emulsionen mit 9 % Propylenglycol oder Ethanol mit einer Emulsion ohne Alkohol verglichen. Gleichzeitig wird auch die Hydrophile Nonivamid-Creme mit einem Nonivamidgehalt von 0,05 % als Vergleichsformulierung mitgeführt. Für die Creme wird ein geringerer Wirkstoffgehalt gewählt, da die Zubereitung im NRF mit 0,025 bis 0,1 % Capsaicin monografiert ist. Die penetrierte Menge aus dieser Zubereitung wird als therapeutische Dosis angesehen. Für die Emulsion wird eine höhere Nonivamidkonzentration gewählt. Untersuchungen mit Öl-in-Öl-Emulsionen haben gezeigt, dass die Wirkstoffpermeation aus einer einprozentigen Emulsion mit der aus einer Hydrophilen Nonivamid-Creme mit 0,1 % Arzneistoff vergleichbar ist (Lunter, Rottke et al., 2014). Auch aus 0,9%igen filmbildenden Formulierungen war der Wirkstoffspiegel in der lebenden Epidermis mit einer niedriger konzentrierten Creme vergleichbar (Heck, Lukić et al., 2017). Um einen ersten Anhaltspunkt über das biopharmazeutische Verhalten zu haben, werden die Emulsionen zunächst mit 0,9 % Nonivamid hergestellt und untersucht.

Die Ergebnisse in Abbildung 4.52 zeigen, dass die Wirkstoffmenge nach 4 h Inkubationszeit im Stratum corneum, unabhängig von der Zusammensetzung der Emulsionen, im Mittel vergleich-

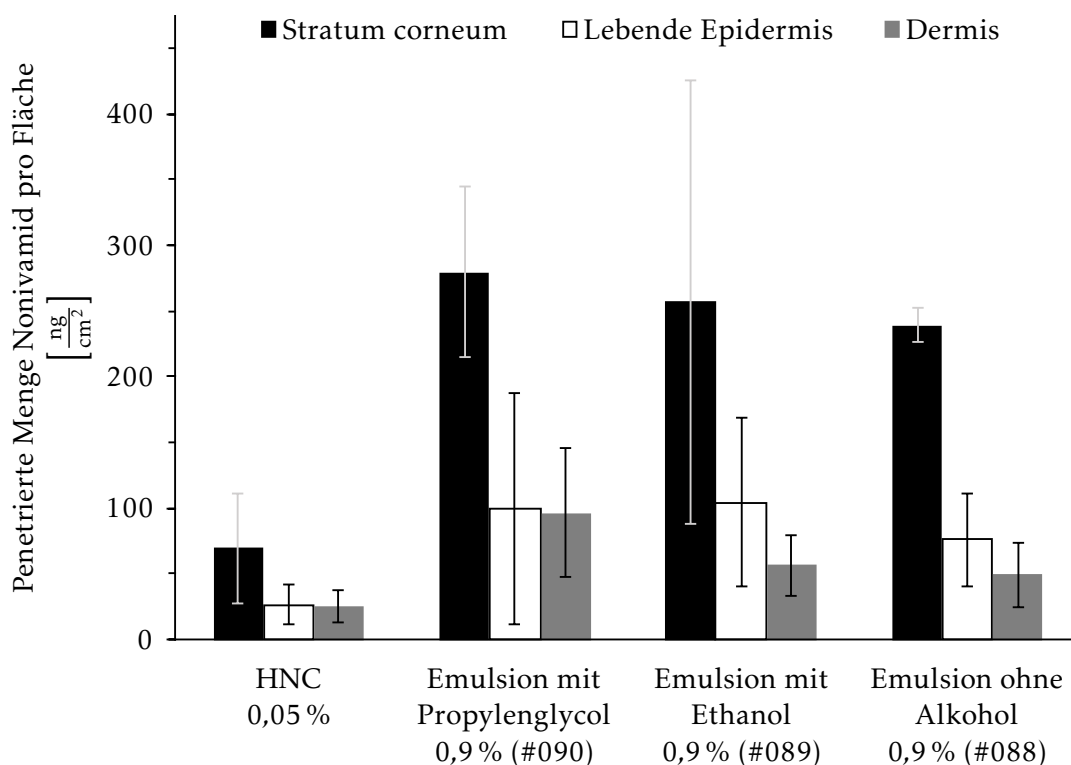


Abbildung 4.52: Wirkstoffmenge in verschiedenen Hautschichten. Gezeigt sind verschiedene Emulsionen mit 0,9 % Nonivamid und 9 % eines Zusatzstoffs: verglichen mit der Hydrophile Nonivamid-Creme 0,05 %. Die Inkubationszeit beträgt 4 h. Dargestellt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; n = 3

bar ist. Tendenziell liegt der Mittelwert der Emulsion mit Propylenglycol am höchsten. Die Wirkstoffmenge in den lebenden Schichten der Epidermis ist im Mittel ebenfalls nahezu identisch. Ethanol und Propylenglycol liegen gleichauf. Die Emulsion ohne Alkohol liegt nur etwas darunter. In der Epidermis zeigt die Emulsion mit Propylenglycol die höchste Arzneistoffmenge. Die ethanolhaltige Zubereitung ist mit der Emulsion ohne Alkohol vergleichbar. Wird der Emulsion Propylenglycol bzw. Ethanol mit einer Konzentration von 9 % zugesetzt, ist nach 4 h kein Effekt auf die Penetration von Nonivamid in Stratum corneum und die lebenden Schichten der Epidermis zu beobachten. In der Dermis zeigt die Emulsion mit Propylenglycol die höchste Wirkstoffmenge, der Unterschied zu den anderen untersuchten Emulsionen ist jedoch nicht signifikant.

Stellt man die Emulsionen der Hydrophilen Nonivamid-Creme gegenüber, zeigen die Emulsionen, unabhängig von deren Zusammensetzung, in allen drei Fraktionen höhere Wirkstoffspiegel. Die lebenden Schichten der Epidermis sind als Wirkort von besonderer Bedeutung. Hier weisen die Zubereitungen mit 0,9 % Nonivamid eine etwa drei- bis vierfach höhere Wirkstoffmenge auf. Daher wird in den nachfolgenden Untersuchungen die Nonivamid-Konzentration variiert, um vergleichbare Wirkstoffmengen am Wirkort zu erhalten, wie mit der therapeutisch genutzten

Hydrophilen Nonivamid-Creme.

Ausgehend von den Ergebnissen in Abbildung 4.52 und den Vorteilen in den Stabilitätsuntersuchungen (s. Abschnitt 4.6), werden im Folgenden nur Emulsionen mit einem Ethanolzusatz von 9 % verwendet.

Einfluss der Wirkstoffkonzentration

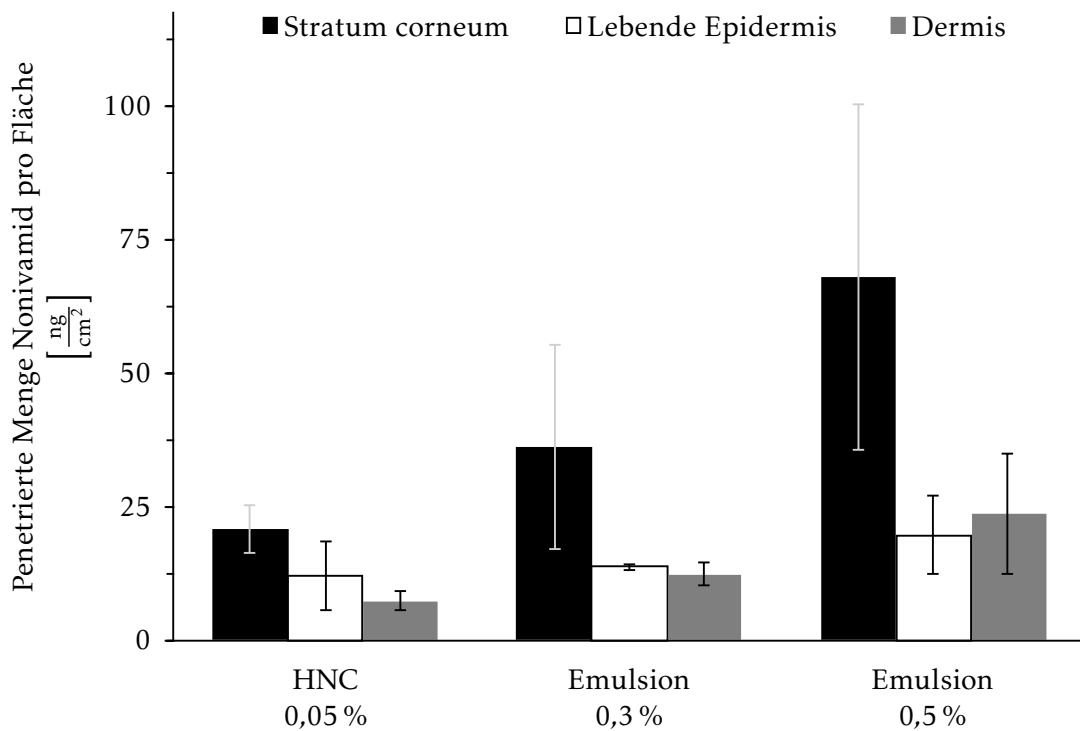


Abbildung 4.53: Wirkstoffmenge in verschiedenen Hautschichten nach 4 h Inkubationszeit. Gezeigt sind Emulsion mit 0,3 (#097) und 0,5 % (#098) Nonivamid sowie die Hydrophile Nonivamid-Creme 0,05 %. Dargestellt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Um die penetrierte Wirkstoffmenge aus der Emulsion in der lebenden Epidermis auf ein therapeutisches Niveau einzustellen, wird die Wirkstoffkonzentration angepasst. Dazu werden Zubereitungen mit 0,3 und 0,5 % Wirkstoff untersucht. Als Vergleich dient erneut die Hydrophile Nonivamid-Creme mit 0,05 %. Wie in Abbildung 4.53 zu sehen ist, zeigen beide Emulsionen im Stratum corneum nach wie vor höhere Nonivamidmengen als die Creme. In den lebenden Schichten der Epidermis ist die Emulsion mit 0,3 % Nonivamid nach 4 h Inkubationszeit mit der Hydrophilen Nonivamid-Creme vergleichbar. Bei einer höheren Wirkstoffkonzentration von 0,5 % steigt die Nonivamidmenge leicht an. Während bei der Creme die Arzneistoffmenge in der Dermis in etwa halb so groß ist wie in der lebenden Epidermis, zeigen die Emulsionen eine gleichgroße oder sogar leicht höhere Wirkstoffmenge in dieser Fraktion. Die Emulsion mit einer Nonivamid-

konzentration von 0,3 % führt in der Haut zu einem Wirkstoffspiegel am Wirkort, der mit der monografierten Hydrophilen Nonivamid-Creme vergleichbar ist. Die penetrierte Wirkstoffmenge liegt somit in einem therapeutischen Bereich. Die folgenden Untersuchungen werden daher mit dieser Emulsion durchgeführt.

24 h-Penetrationsprofil

In den bisherigen Experimenten wurde die penetrierte Wirkstoffmenge immer nur nach einem Zeitpunkt betrachtet. Deshalb wird in einem weiteren Schritt die penetrierte Menge an Nonivamid in Abhängigkeit von der Inkubationszeit untersucht. Dazu wird sowohl von der Hydrophilen Nonivamid-Creme als auch von der Emulsion mit 0,3 % Nonivamid nach verschiedenen Zeitpunkten der Arzneistoffgehalt in den einzelnen Hautschichten bestimmt. Wie in Abbildung 4.54 zu sehen ist, unterscheiden sich die beiden Formulierungen deutlich in ihrem Penetrationsprofil.

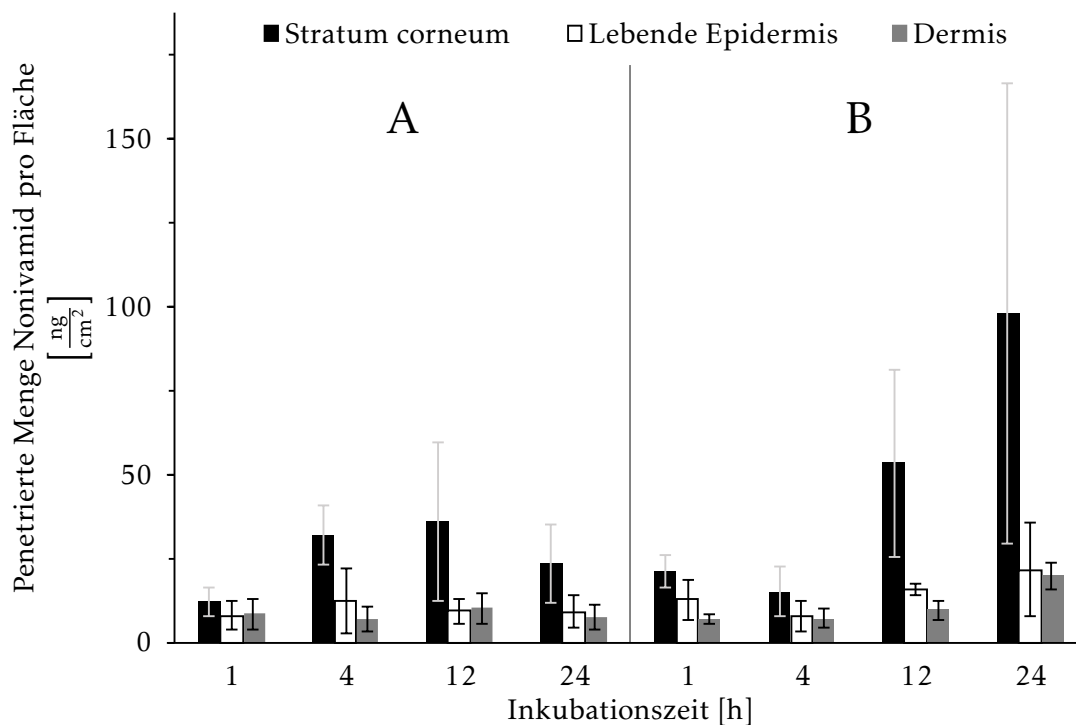


Abbildung 4.54: Penetrationsprofil in verschiedene Hautschichten über 24 h. HNC mit 0,05 % Nonivamid (A) und eine Emulsion mit 0,3 % Nonivamid (#097) (B). Dargestellt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

In der ersten Fraktion, dem Stratum corneum, steigt bei der Creme die Wirkstoffmenge zunächst an, erreicht ein Maximum und fällt zum 24 h-Wert hin wieder ab. Bei der untersuchten Emulsion steigt die Nonivamidmenge in dieser Hautschicht kontinuierlich an und liegt ab 12 h Inkubationszeit deutlich über den Werten der Hydrophilen Nonivamid-Creme. Vergleicht man die lebenden Schichten der Epidermis, zeigen sich ebenfalls Unterschiede. Bei der Creme steigt zunächst die

gefundene Menge an Nonivamid in diesen Schichten an. Der höchste ermittelte Wert wird nach vier Stunden erreicht. Von 12 auf 24h steigt die Wirkstoffmenge nicht mehr an. Bei der Emulsion ist nach einer Stunde Inkubationszeit der Arzneistoffgehalt in den lebenden Schichten der lebenden Epidermis höher als bei der Creme nach derselben Inkubationszeit. Im weiteren Verlauf fällt der Wert ab und nach 4h Inkubationszeit ist die Arzneistoffmenge in der lebenden Epidermis bei beiden Formulierungen vergleichbar. Dies bestätigt die vorherigen Ergebnisse. Mit längerer Inkubationszeit steigt der Nonivamidgehalt in der lebenden Epidermis weiter an. Verglichen mit der Creme werden nach 12 und 24h höhere Wirkstoffspiegel erreicht. Als letzte Fraktion bleiben die Schichten, die der Dermis zugeordnet werden. Bei der Hydrophilen Nonivamid-Creme ist hier keine klare Entwicklung zu erkennen. Die Werte liegen in etwa auf dem Niveau der lebenden Epidermis. Die Emulsion zeigt in den tieferen Schichten während der ersten vier Stunden einen konstanten Wert, der mit dem der Creme vergleichbar ist; erst danach kommt es zu einem merklichen Anstieg. Nach 24h ist aus der Emulsion eine größere Arzneistoffmenge in die Dermis penetriert als aus der Creme.

Das Penetrationsprofil der Emulsion kann über deren Aufbau erklärt werden. Der Wirkstoff wird bei der Herstellung in den mittelkettigen Triglyceriden gelöst und somit in die disperse Phase eingearbeitet. In der äußeren, wässrigen Phase zeigt Nonivamid zwar eine geringe aber doch messbare Löslichkeit. Wird die Emulsion nun auf der Haut appliziert, steht ein Teil des Wirkstoffes sofort zur Verfügung. Das enthaltene Wasser und das Ethanol verdunsten und die Nonivamidkonzentration steigt dadurch an. Eine höhere Konzentration führt wiederum zu einer verstärkten Penetration. Im weiteren Verlauf muss der Wirkstoff dann aus den Öltröpfchen durch Methycellulose und Macrogol diffundieren. Dauert die Einstellung des Gleichgewichts in dieser Matrix länger als die Penetration und Permeation durch die Haut, kommt es zu einem Abfall des Wirkstoffspiegels in der Haut. Dies erklärt den zunächst schnellen Anstieg in der Haut, gefolgt von einem leichten Absinken. Durch die sechsfach höhere Wirkstoffkonzentration verglichen mit der Hydrophilen Nonivamid-Creme bildet die Emulsion ein größeres Wirkstoffdepot auf der Haut. Folglich kommt es im weiteren Verlauf zu höheren Wirkstoffmengen in der Haut.

Einfluss von Haut-Textil-Kontakt

Abschließend wird untersucht, ob bei simuliertem Haut-Textil-Kontakt die Wirkstoffmenge in den verschiedenen Hautschichten abnimmt. Betrachtet man die Ergebnisse der Penetrationen in den Abbildungen 4.52 bis 4.54, dann penetriert nur ein kleiner Teil des aufgetragenen Arznei-

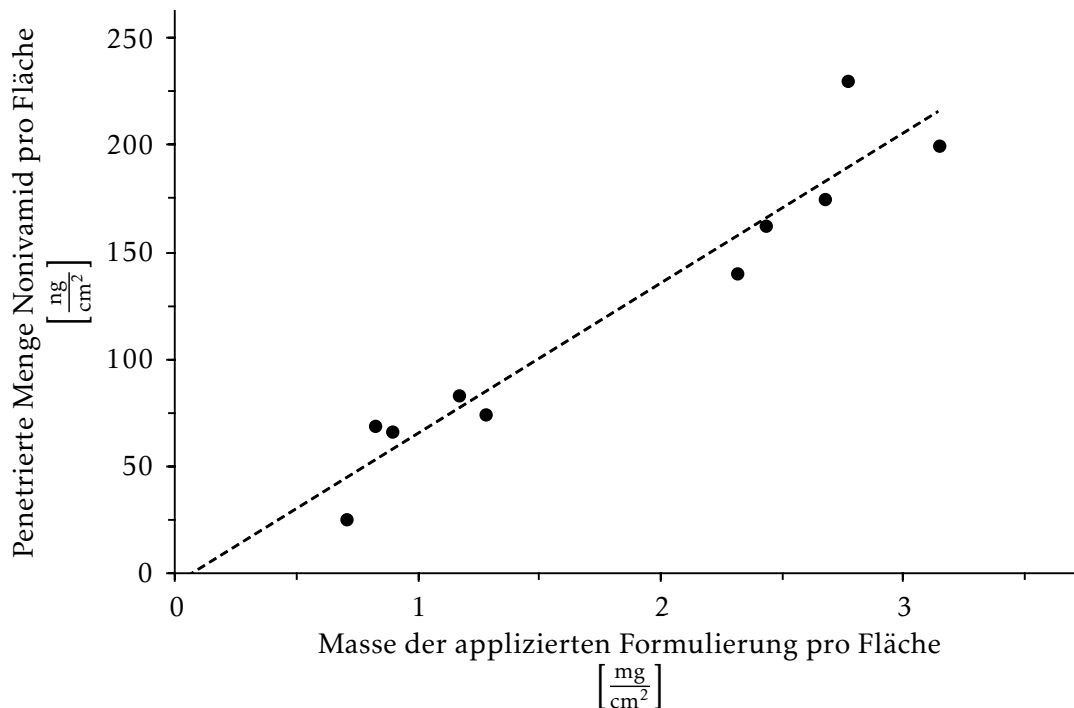


Abbildung 4.55: Korrelation zwischen der aufsummierten penetrierten Wirkstoffmenge aller Hautschichten und der Masse der applizierten Hydrophilen Nonivamid-Creme 0,05 %. Die Inkubationszeit beträgt 4 h. Die gestrichelte Linie bildet die Ausgleichsgerade ab.

stoffs in die Haut. Auch bei schlechter Substantivität verbleibt somit ein verhältnismäßig großes Arzneistoffdepot auf der Haut. Es wird daher zunächst untersucht, ob die applizierte Masse der Formulierung einen Einfluss auf die penetrierte Wirkstoffmenge hat.

Dazu werden zehn Franzzellen mit der Hydrophilen Nonivamid-Creme mit 0,05 % Wirkstoff für 4 h inkubiert. Es wird darauf geachtet, verschiedene Mengen der Formulierung aufzutragen. Die Hautproben werden nach dem üblichen Vorgehen aufbereitet (s. Abschnitt 3.4.16). Im Anschluss wird die penetrierte Masse an Nonivamid auf ein Hautgewicht von 175 mg, jedoch nicht auf eine applizierte Menge von 4 mg Formulierung, normiert.

Wie in Abbildung 4.55 zu sehen ist, verhalten sich applizierte Masse und penetrierte Menge an Nonivamid proportional zueinander. Es wird die Summe der Wirkstoffmenge aus allen drei Fraktionen betrachtet. Schwankungen in der Hautdicke und damit falsch zugeordnete Hautschnitte fallen hier nicht ins Gewicht.

Wird durch die Substantivitätsmessung während eines Penetrationsexperimentes ein Teil der Formulierung vom Applikationsort entfernt, dann sollte sich dies in einer reduzierten Menge in der Haut niederschlagen.

Zunächst wird eine Emulsion, die 0,3 % Nonivamid enthält, mit der Hydrophilen Nonivamid-

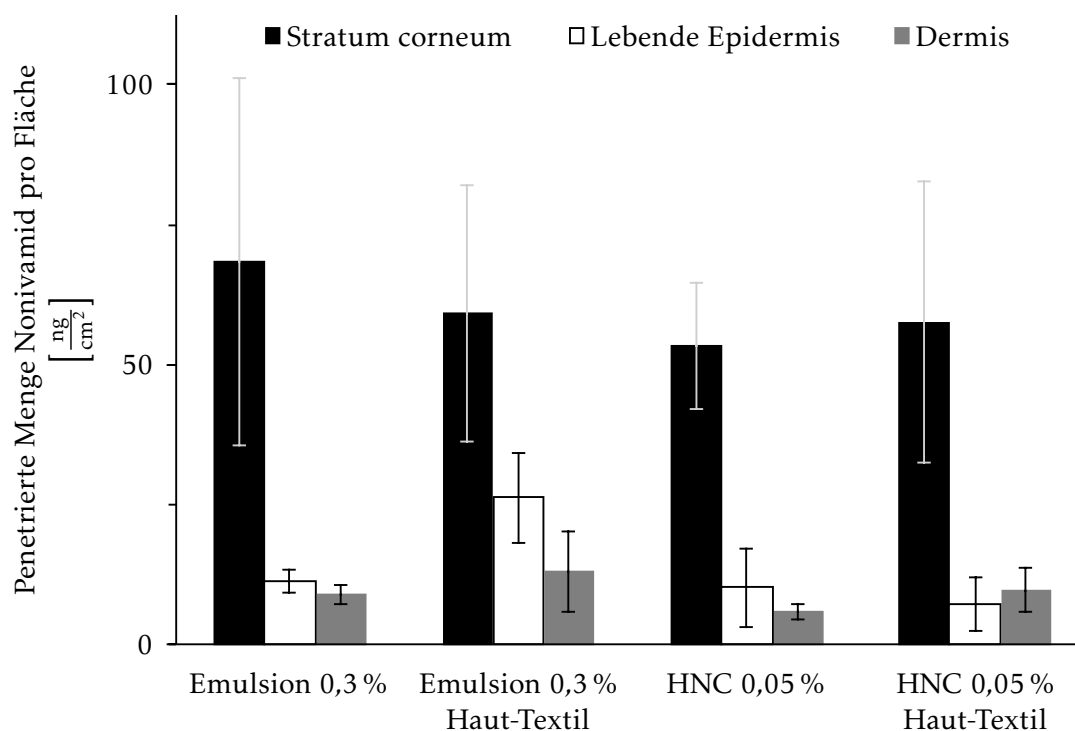


Abbildung 4.56: Penetrierte Wirkstoffmenge in den verschiedenen Hautschichten aus einer Emulsion mit 0,3 % Nonivamid (#097) sowie der Hydrophilen Nonivamid-Creme. Jeweils Kontrolle und simulierter Haut-Textil-Kontakt; 5400 Kontakte mit 130 g. Die Inkubationszeit beträgt 4 h. Dargestellt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n \geq 3$

Creme mit 0,05 % Wirkstoff verglichen und Haut-Textil-Kontakt simuliert. Dabei kommt dieselbe Methode zum Einsatz, die auch bei den Permeationsuntersuchungen verwendet wurde. Innerhalb von drei Stunden werden 5400 Kontakte mit dem 130 g schweren Werkzeug simuliert. Die erzielten Ergebnisse sind in Abbildung 4.56 abgebildet. Vergleicht man die Kontrollgruppen ohne Kontakte der beiden verwendeten Formulierungen, dann wird bestätigt, dass sich nach 4 h Inkubationszeit die Menge an Nonivamid in der lebenden Epidermis zwischen der Emulsion mit 0,3 % Wirkstoff und der Hydrophilen Nonivamid-Creme mit 0,05 % nicht unterscheidet. Betrachtet man die beiden Gruppen der Emulsion, Kontrolle und simulierter Haut-Textil-Kontakt, kann im Stratum corneum kein Unterschied gefunden werden. Bei der lebenden Epidermis zeigen die Hautstücke mit simuliertem Kontakt im Mittel sogar einen höheren Wert als die Kontrollgruppe. In der Dermis wiederum ist kein merklicher Unterschied zu sehen. Ein ähnliches Bild ergibt sich bei der Hydrophilen Nonivamid-Creme: Die gemessenen Wirkstoffmengen in Stratum corneum, lebender Epidermis und Dermis zeigen keinen merklichen Unterschied. Auch wenn man die einzelnen Fraktionen aufsummiert, ist die penetrierte Menge vergleichbar. Entsprechend den vorherigen Ergebnissen hätte man bei simuliertem Haut-Textil-Kontakt eine geringere Menge an

Nonivamid in der Haut erwartet. Auch die relative Menge an Arzneistoff, bezogen auf die aufgetragene Masse, ist bei Kontrolle und simuliertem Haut-Textil-Kontakt vergleichbar. Die in Tabelle 4.20 aufgelisteten Werte veranschaulichen, dass zwischen den Gruppen derselben Formulierung kein relevanter Unterschied besteht. Zu beachten ist, dass sich die Werte aus der tatsächlich penetrierten Menge und der aufgetragenen Masse berechnen, also nicht normiert sind.

Betrachtet man die wiedergefundene Menge an Arzneistoff im Textilstück, beträgt diese bei der Hydrophilen Nonivamid-Creme im Mittel 41 % der aufgetragenen Menge und stimmt mit den Ergebnissen der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung überein (s. Abbildung 4.49). Allerdings schwanken die Werte zwischen 24,3 und 68,4 % wiedergefundenem Wirkstoffanteil im Textilstück. Dem gegenüber werden bei der Emulsion durchschnittlich nur 3 % entfernt. Entsprechend unterscheidet sich das verbleibende Arzneistoffdepot auf der Hautoberfläche am Versuchsende. Nach simuliertem Haut-Textil-Kontakt werden bei der Creme nach 4 h Inkubationszeit nur noch 33 % auf der Hautoberfläche gefunden. Demgegenüber sind es in der Kontrollgruppe 71 %. Bei der Emulsion sind bei der Kontrolle am Ende des Versuchs 91 % des applizierten Wirkstoffs auf der Haut zu finden; bei simuliertem Haut-Textil-Kontakt sind es noch 81 %.

Es kann gezeigt werden, dass durch den simulierten Haut-Textil-Kontakt ein Teil des applizierten Wirkstoffs abgetragen wird und dieser mit den Ergebnissen aus den Ex-vivo-Substantivitätsprüfungen vergleichbar ist. Ein Effekt auf die penetrierte Menge an Nonivamid kann nach 4 h Inkubationszeit nicht gefunden werden; weder in den einzelnen Hautschichten, noch aufsummiert in der gesamten Haut.

Tabelle 4.20: Anteil der penetrierten Wirkstoffmenge bezogen auf die aufgetragene Masse an Nonivamid. Die Inkubationszeit beträgt 4 h. Alle Werte sind arithmetische Mittelwerte \pm Standardabweichung; $n \geq 3$

Kennzeichnung	Stratum corneum [%]	Lebende Epidermis [%]	Dermis [%]	Gesamt [%]
Emulsion 0,3 %	1,48 \pm 0,67	0,25 \pm 0,05	0,20 \pm 0,02	1,92 \pm 0,70
Emulsion 0,3 % H/T	1,38 \pm 0,64	0,61 \pm 0,23	0,31 \pm 0,19	2,31 \pm 1,04
HNC 0,05 %	6,46 \pm 1,07	1,17 \pm 0,64	0,71 \pm 0,20	8,34 \pm 1,31
HNC 0,05 % H/T	6,81 \pm 3,10	0,91 \pm 0,71	1,22 \pm 0,62	8,94 \pm 3,78

Ob sich durch eine Verlängerung der Inkubationszeit auf 24h ein Effekt auf die penetrierte Arzneistoffmenge durch Haut-Textil-Kontakt zeigen lässt, wird im Folgenden untersucht.

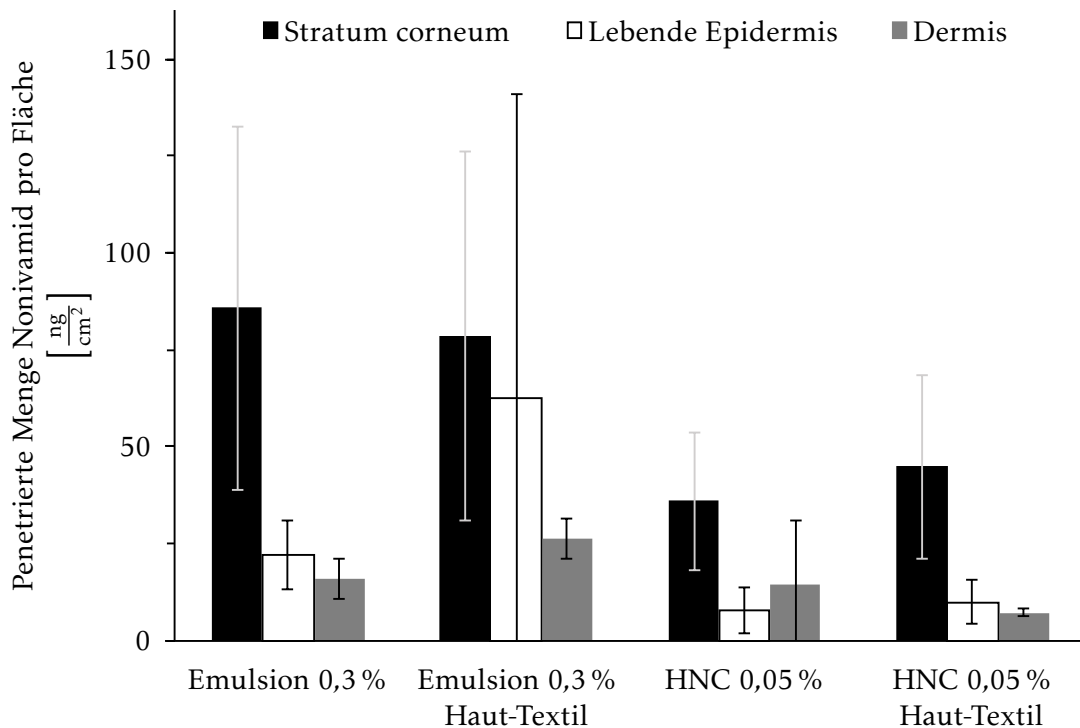


Abbildung 4.57: Penetrierte Wirkstoffmenge in den verschiedenen Hautschichten einer Emulsion mit 0,3 % Nonivamid sowie der Hydrophilen Nonivamid-Creme. Jeweils Kontrolle und simulierter Haut-Textil-Kontakt; 5400 Kontakte mit 130 g. Die Inkubationszeit beträgt 24 h. Dargestellt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3-4$

Die Messparameter entsprechen dabei denen des vorangegangenen Experiments. Die Haut wird mit 5400 Kontakten in 3 h bei einem Werkzeuggewicht von 130 g belastet. Die Ergebnisse der Kontrollgruppen ohne Kontakt in Abbildung 4.57 entsprechen den Ergebnissen des 24 h-Penetrationsprofils in Abbildung 4.54. Die Emulsion zeigt dabei in allen Hautschichten höhere Werte als die Hydrophile Nonivamid-Creme. Vergleicht man die Kontrolle mit der Gruppe, bei der Haut-Textil-Kontakt simuliert wird, zeigt sich auch nach 24 h kein Unterschied. Bei der Emulsion sind die mittleren penetrierten Nonivamidmengen in Stratum corneum und Dermis auf einem vergleichbaren Niveau. Die lebende Epidermis zeigt bei der belasteten Gruppe einen höheren Mittelwert als die Kontrolle. Jedoch schwankt der Wert bei simuliertem Haut-Textil-Kontakt sehr stark. Verantwortlich dafür ist, dass der Wert einer Zelle beinahe um den Faktor zehn von den anderen nach oben hin abweicht. Da die Werte des Stratum corneum vergleichbar sind, kann ausgeschlossen werden, dass Hautschnitte, die zur ersten Fraktion gehören, zur lebenden Epidermis gezählt werden. Allerdings können bereits kleine Verletzungen der Hautoberfläche die Barrierefunktion beeinflussen und zu höheren Wirkstoffspiegeln in den tiefer liegenden Hautschichten führen (Stüttgen, 1990). Führt man einen Ausreißertest nach Grubbs durch, kann der

Wert als Ausreißer identifiziert werden. Wird bei der Berechnung des Mittelwertes der Messwert nicht berücksichtigt, beträgt die penetrierte Menge Nonivamid aus der Emulsion in die lebenden Schichten der Epidermis nach 24 h $18 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$. Damit ist er mit dem Wert vergleichbar, der mit der Kontrollgruppe der Emulsion erhalten wird.

Bei der Hydrophilen Nonivamid-Creme zeigt sich ebenfalls kein Unterschied in der penetrierten Wirkstoffmenge. Die Mittelwerte von Stratum corneum und lebender Epidermis liegen nahezu gleichauf. In der Kontrollgruppe zeigt die Fraktion der Dermis einen höheren Wert als die Vergleichsgruppe, jedoch ebenfalls eine große Schwankung. Auch die relativen Werte in Tabelle 4.21 zeigen, dass sich weder die einzelnen Hautschichten noch die Gesamtmenge zwischen Kontrolle und Haut-Textil-Kontakt unterscheiden. Auch in diesem Versuch wurde die Wirkstoffmenge im Textilstück und der auf der Hautoberfläche verbleibende Anteil quantifiziert. Bei der der Hydrophilen Nonivamid-Creme wurden im Mittel 55 % der aufgetragenen Menge durch die simulierte Belastung entfernt; zum Vergleich sind es bei der Emulsion nur 6 %. Entsprechend sinkt die Wirkstoffmenge der Creme durch den Haut-Textil-Kontakt nach 24 h auf 24 % am Applikationsort ab. Bei der Kontrollgruppe ist der Anteil am Versuchsende mit 46 % doppelt so hoch. Zum Vergleich sind bei der Emulsion nach 24 h noch 82 % der ursprünglich aufgetragenen Menge am Applikationsort. Durch den simulierten Kontakt reduziert sich der Anteil auf 69 %.

Summiert man alle Fraktionen (Stratum corneum, lebende Epidermis, Dermis, Hautoberfläche und Textilstück) auf und vergleicht die Menge mit der applizierten Masse an Nonivamid, entspricht die Differenz, zumindest theoretisch, der permeierten Menge. Bei der Emulsion beläuft sich dieser Wert in der Kontrollgruppe auf 16 % und bei simulierter Belastung auf 22 %. Die Kontrollgruppe der Hydrophilen Nonivamid-Creme zeigt einen theoretisch permeierten Anteil in Höhe von 46 %. Dieser Wert wird durch experimentelle Daten unter den gleichen Bedingungen mit der gleichen Formulierung an anderer Stelle bestätigt (Heck, 2017). Auch in dieser Arbeit wird nach 24 h ein permeierter Anteil gefunden, der in etwa 40 bis 50 % der aufgetragenen Arzneistoffmenge entspricht. Wird ein Teil der Creme durch Haut-Textil-Kontakt entfernt, sinkt der Anteil auf 15 %. Dies ist nur ein Drittel bezogen auf die Kontrollgruppe. Vergleicht man diese Ergebnisse mit den gefundenen Werten der Ex-vivo-Permeationsexperimente in Abschnitt 4.1.6, entspricht es genau den dortigen Befunden. In Tabelle 4.1 sind die permeierten Arzneistoffmengen aufgelistet. Durch Haut-Textil-Kontakt sinkt die Arzneistoffmenge im Akzeptorkompartiment im Mittel auf ein Drittel des Wertes der Kontrollgruppe ab. Es muss jedoch beachtet werden, dass für die Permeationsexperimente ethanolhaltiger Phosphatpuffer als Akzeptormedium verwendet wird.

Der Einfluss durch den Haut-Textil-Kontakt fällt bei Permeationsuntersuchungen stärker ins Gewicht, während der Einfluss auf die penetrierte Menge in den durchgeführten Versuchen zu vernachlässigen ist. Obwohl auch bei den Ex-vivo-Penetrationsexperimenten eine Dosisabhängigkeit vorhanden ist, lässt sich bei simuliertem Haut-Textil-Kontakt kein Unterschied in der penetrierten Arzneistoffmenge finden.

Tabelle 4.21: Anteil der penetrierten Wirkstoffmenge bezogen auf die aufgetragene Masse an Nonivamid. Die Inkubationszeit beträgt 24 h. Alle Werte sind arithmetische Mittelwerte \pm Standardabweichung; $n \geq 3$

Kennzeichnung	Stratum corneum [%]	Lebende Epidermis [%]	Dermis [%]	Gesamt [%]
Emulsion 0,3 %	1,65 \pm 1,05	0,41 \pm 0,16	0,30 \pm 0,09	2,36 \pm 1,09
Emulsion 0,3 % H/T	1,37 \pm 0,73	1,02 \pm 1,15	0,49 \pm 0,14	2,88 \pm 1,50
HNC 0,05 %	4,76 \pm 1,41	1,01 \pm 0,56	2,25 \pm 2,98	8,01 \pm 2,98
HNC 0,05 % H/T	4,93 \pm 2,47	1,09 \pm 0,61	0,79 \pm 0,12	6,81 \pm 3,13

Eine Erklärung für diesen Gegensatz ist vielleicht in der Methode selbst zu suchen. Ein Effekt durch Einmassieren dermal applizierter Darreichungsformen auf die penetrierte Arzneistoffmenge ist bereits an anderer Stelle beschrieben (Hasler-Nguyen und Fotopoulos, 2012; Nguyen et al., 2017). Da auch der simulierte Haut-Textil-Kontakt in gewisser Weise ein Einreiben oder Einmassieren darstellt, kann ein Einfluss der Methode auf die Arzneistoffpenetration nicht vollständig ausgeschlossen werden.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sollte der Einfluss der Substantivität auf die verfügbare Arzneistoffmenge in Ex-vivo-Permeationsexperimenten an unterschiedlichen Formulierungen untersucht werden. Anhand der gewonnenen Informationen sollte dann eine dermale Formulierung mit verbesserter Substantivität entwickelt und charakterisiert werden.

Zusammengefasst liefert die vorliegende Arbeit folgende Erkenntnisse: In einem ersten Teil wird eine Methode entwickelt, die Informationen über den Einfluss der Substantivität auf die permeierte Arzneistoffmenge in Ex-vivo-Experimenten liefert. Dabei nimmt der Einfluss von Haut- oder Textilkontakt mit der aufgetragenen Formulierung in der Reihenfolge Öl-in-Öl-Emulsion, Hydrophile Nonivamid-Creme, filmbildende Formulierung ab. Während bei der konventionellen Creme und der flüssigen Emulsion die permeierte Menge zwischen 60 und 70 % abnimmt, wird die filmbildende Emulsion praktisch nicht beeinflusst. Vergleicht man die Permeationsrate, kann auch eine Abnahme der Geschwindigkeit beobachtet werden.

Dabei wurden unterschiedliche Anpressdrücke, Geschwindigkeiten und Kontakthäufigkeiten betrachtet. Ein Unterschied zwischen den verschiedenen simulierten Szenarien und der Kontaktart kann nicht gefunden werden.

Die Reproduzierbarkeit der Methode wird durch Wiederholungsexperimente geprüft und kann bestätigt werden.

Das Verhalten der Öl-in-Öl-Emulsion und der hydrophilen Creme wird auch in einem In-vivo-Experiment untersucht. Die Ergebnisse des Laborversuchs können dabei größtenteils bestätigt werden. Von der Creme verbleiben etwa ein Drittel der aufgetragenen Formulierung am Applikationsort; von der Emulsion sogar nur knapp fünf Prozent. Damit unterscheiden sich die absoluten Zahlen zwar von den Ex-vivo-Experimenten, die Größenordnung der Resultate ist jedoch vergleichbar.

Die Ergebnisse verdeutlichen, dass ein Großteil der aufgetragenen Arzneistoffmenge durch Kontakt mit anderen Oberflächen von der Haut entfernt wird; das Vehikel spielt dabei die entscheidende Rolle. Die Substantivität ist somit ein wichtiger Qualitätsparameter, der bei der Entwicklung topischer Darreichungsformen beachtet werden muss. Die Arbeit bestätigt Ergebnisse, die

die Substantivität der untersuchten Formulierungen mit einer anderen Methode prüften (Herrmann et al., 2016). Vergleicht man die Ergebnisse mit Wasserresistenzprüfungen von Lunter, Rottke et al. (2014), wird deutlich, dass es nötig ist, zur Beurteilung der Substantivität geeignete Testverfahren heranzuziehen.

Basierend auf den unterschiedlichen rheologischen Eigenschaften der betrachteten Rezepturen und den damit verbundenen Unterschieden in der Substantivität, wird ausgehend von dem monografierten Arzneimittel „Hydrophile Capsaicinoid-Creme“ schrittweise eine neue Formulierung entwickelt und anschließend charakterisiert. Durch den Zusatz der thermogelierenden Methylcellulose wird der Verlustfaktor der Creme verkleinert und schließlich durch weitere Modifikation schlussendlich eine polymerstabilisierte Emulsion erhalten. Der Verlustfaktor dieser Rezeptur ist bei Hautoberflächentemperatur etwa um den Faktor 6 kleiner als der, der Creme. Formulierungen mit thermogelierenden Eigenschaften werden im Zusammenhang mit Ophthalmika und Injektabilia als geeignete Ansätze bezüglich der verlängerten Verweilzeit am Applikationsort diskutiert (Lin et al., 2004; Zhang et al., 2015). Vorteile im Penetrationsverhalten von Wirkstoffen aus derartigen Formulierungen sind ebenfalls beschrieben (Grüning und Müller-Goymann, 2008). Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass Thermoemulsionen auch für die dermale Applikation vielversprechende Zubereitungen sind.

Es wird der Einfluss verschiedener Zusatzstoffe in unterschiedlichen Konzentrationen auf die rheologischen Eigenschaften, die Tropfengröße und die Lagerstabilität untersucht. Dazu zählen neben Ethanol, Propylenglycol und Glycerol auch verschiedene Macrogole. Da Methylcellulose hier als emulsionsstabilisierender Hilfsstoff und zusätzlich für die thermogelierenden Eigenschaften eingesetzt wird, werden auch unterschiedliche Konzentrationen des Polymers betrachtet. Bis auf das verwendete Macrogol zeigen die untersuchten Hilfsstoffe einen konzentrationsabhängigen Einfluss auf die rheologischen Eigenschaften und die Lagerstabilität der Emulsionen. Ein Ethanolzusatz von 9 oder 15 % ist hierbei vor allem bezüglich der Lagerstabilität von Vorteil.

Um den Einfluss der Zusatzstoffe auf die Polymerlöslichkeit zu untersuchen werden, Trübungspunktmessungen durchgeführt. Den niedrigsten Trübungspunkt zeigen Lösungen mit Glycerol, gefolgt von Propylenglycol und Ethanol. Ein Effekt der verwendeten Macrogole kann nicht festgestellt werden. Zwischen dem Trübungspunkt und der maximalen Viskositätszunahme der Lösungen kann ein direkter Zusammenhang gefunden werden. Auf den Speicher- und Verlustmodul der Formulierungen lässt sich der Einfluss der Hilfsstoffe auf den Trübungspunkt jedoch nicht direkt übertragen.

Die entwickelten Emulsionen zeigen, verglichen mit der hydrophilen Creme und der Öl-in-Öl-Emulsion, eine deutlich höhere Substantivität. Im Ex-vivo-Experiment werden bei Emulsionen mit 4,8 % Methylcellulose im Mittel 14 % der aufgetragenen Formulierung entfernt. Es verbleibt ein deutlich höherer Anteil der Formulierung und damit auch des wirksamen Bestandteils am Applikationsort. Vorteile bei der Therapie können angenommen werden; direkt über die höhere Wirkstoffmenge am Applikationsort, aber auch durch verlängerte Applikationsintervalle und der damit verbundenen besseren Compliance der Patienten. Gleichzeitig wird eine Verschmutzung der Umgebung der Patienten und auch der Umwelt verringert.

Durch Penetrationsexperimente wird gezeigt, dass bei einer Wirkstoffkonzentration von 0,3 % die Arzneistoffmenge am Wirkort nach vier Stunden in einem therapeutischen Bereich liegt.

Die penetrierte Menge an Nonivamid wird durch simulierten Haut-Textil-Kontakt nicht beeinflusst, weder bei der entwickelten Emulsion noch bei der Hydrophilen Nonivamid-Creme. Dies ist in sofern beachtlich, da ein Zusammenhang zwischen applizierter und penetrierter Menge gefunden wird und bei der Creme durchschnittlich 40 % der aufgetragenen Formulierung entfernt werden.

Der Einfluss von Haut-Textil-Kontakt auf die permeierte Menge, der im ersten Abschnitt der Arbeit ermittelt wurde, kann durch die berechnete Massenbilanz in den Penetrationsexperimenten bestätigt werden. Durch simulierten Haut-Textil-Kontakt sinkt die permeierte Arzneistoffmenge auf ein Drittel der Kontrollgruppe ohne simulierten Kontakt ab.

Wird ein Teil der applizierten Formulierung von der Hautoberfläche entfernt ist die permeierte Menge davon stärker beeinflusst als die Penetration des Arzneistoffs.

Die Arbeit unterstreicht die Bedeutung der Substantivität als wichtige Eigenschaft und Qualitätsparameter topischer Darreichungsformen. Es kann gezeigt werden, dass es möglich ist, Formulierungen zu entwickeln, die in ihrer Zusammensetzung klassischen Zubereitungen ähneln, die aber resistenter gegenüber Kontakt mit anderen Oberflächen sind und dadurch vermehrt am Applikationsort verbleiben.

6 Verzeichnisse

6.1 Literaturverzeichnis

Abd, E., S. A. Yousef, M. N. Pastore, K. Telaprolu, Y. H. Mohammed, S. Namjoshi, J. E. Grice und M. S. Roberts (2016). „Skin models for the testing of transdermal drugs“. *Clinical pharmacology : advances and applications* 8, S. 163–176.

ABDA, Hrsg. (2013a). *Basiscreme DAC: Neues Rezepturformularium*. 2013/1. Eschborn: Govi Verlag.

ABDA, Hrsg. (2013b). *Hydrophile Capsaicinoid-Creme 0.025%/0.05%/0.1% (NRF 11.125): Neues Rezepturformularium*. 2013/1. Eschborn: Govi Verlag.

Afonso, S., K. Horita, J. P. Sousa e Silva, I. F. Almeida, M. H. Amaral, P. A. Lobão, P. C. Costa, M. S. Miranda, J. C. G. Esteves da Silva und J. M. Sousa Lobo (2014). „Photodegradation of avobenzone: stabilization effect of antioxidants“. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology* 140, S. 36–40.

Andrade, E. N. C. (1930). „The Viscosity of Liquids“. *Nature* 125 (3148), S. 309–310.

Arpe, H.-J. und F. Ullmann, Hrsg. (1985). *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*. 5th, completely rev. ed. Bd. A3. Weinheim.

Athanasίου, A. et al. (2007). „Vanilloid receptor agonists and antagonists are mitochondrial inhibitors: how vanilloids cause non-vanilloid receptor mediated cell death“. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 354 (1), S. 50–55.

Barbero, A. M. und H. F. Frasch (2009). „Pig and guinea pig skin as surrogates for human in vitro penetration studies: a quantitative review“. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA* 23 (1), S. 1–13.

Barry, B. W. (1987). „Mode of action of penetration enhancers in human skin“. *Journal of Controlled Release* 6 (1), S. 85–97.

Bartosova, L. und J. Bajgar (2012). „Transdermal Drug Delivery In Vitro Using Diffusion Cells“. *Current Medicinal Chemistry* 19 (27), S. 4671–4677.

- Behl, C. R., G. L. Flynn, M. Barrett, K. A. Walters, E. E. Linn, Z. Mohamed, T. Kurihara, N. F. Ho, W. I. Higuchi und C. L. Pierson (1981). „Permeability of thermally damaged skin II: immediate influences of branding at 60°C on hairless mouse skin permeability“. *Burns* 7 (6), S. 389–399.
- Bennett, D. J. und G. W. Kirby (1968). „Constitution and biosynthesis of capsaicin“. *Journal of the Chemical Society C: Organic*, S. 442.
- Bernstein, J. E., N. J. Korman, D. R. Bickers, M. v. Dahl und L. E. Millikan (1989). „Topical capsaicin treatment of chronic postherpetic neuralgia“. *Journal of the American Academy of Dermatology* 21 (2), S. 265–270.
- Bevan, S. und J. Szolcsányi (1990). „Sensory neuron-specific actions of capsaicin: mechanisms and applications“. *Trends in Pharmacological Sciences* 11 (8), S. 331–333.
- Binks, B. P. und S. O. Lumsdon (2001). „Pickering Emulsions Stabilized by Monodisperse Latex Particles: Effects of Particle Size“. *Langmuir* 17 (15), S. 4540–4547.
- Blume-Peytavi, U., L. Massoudy, A. Patzelt, J. Lademann, E. Dietz, U. Rasulev und N. Garcia Bartels (2010). „Follicular and percutaneous penetration pathways of topically applied minoxidil foam“. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 76 (3), S. 450–453.
- Borsch, J. (2019). „Schwedische Ärzte warnen: Diclofenac-Gel – kleiner Nutzen für Patienten, großer Schaden für die Umwelt“. *Deutsche Apotheker Zeitung* (3).
- Bronaugh, R. L., R. F. Stewart, R. C. Wester, Bucks, H. I. Maibach und J. Anderson (1985). „Comparison of percutaneous absorption of fragrances by humans and monkeys“. *Food and Chemical Toxicology* 23 (1), S. 111–114.
- Bucks, D. A., J. R. McMaster, H. I. Maibach und R. H. Guy (1988). „Bioavailability of Topically Administered Steroids: A “Mass Balance” Technique“. *Journal of Investigative Dermatology* 91 (1), S. 29–33.
- Caesar & Loretz GmbH, Hrsg. (2018). *Sicherheitsdatenblatt Macrogol 4000 Pulver (überarbeitet 23.11.2018): Gemäß Verordnung (EG) 1907/2006*.
- Caterina, M. J., M. A. Schumacher, M. Tominaga, T. A. Rosen, J. D. Levine und D. Julius (1997). „The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway“. *Nature* 389 (6653), S. 816–824.

- CFR, Hrsg. (2017). *Code Of Federal Regulations: Sunscreen Drug Products For Over-The-Counter Human Use*. Bd. Titel 21, sec 352.76.
- Chanamai, R. und D. J. McClements (2002). „Comparison of Gum Arabic, Modified Starch, and Whey Protein Isolate as Emulsifiers: Influence of pH, CaCl₂ and Temperature“. *Journal of Food Science* 67 (1), S. 120–125.
- Chanamai, R. und D. J. McClements (2000). „Dependence of creaming and rheology of monodisperse oil-in-water emulsions on droplet size and concentration“. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 172 (1-3), S. 79–86.
- Chard, P. S., Bleakman, J. R. Savidge und R. J. Miller (1995). „Capsaicin-induced neurotoxicity in cultured dorsal root ganglion neurons: Involvement of calcium-activated proteases“. *Neuroscience* 65 (4), S. 1099–1108.
- Chatelain, E., B. Gabard und C. Surber (2003). „Skin Penetration and Sun Protection Factor of Five UV Filters: Effect of the Vehicle“. *Skin Pharmacology and Physiology* 16 (1), S. 28–35.
- Chattaraj, S. C. und I. Kanfer (1995). „Release of acyclovir from semi-solid dosage forms: A semi-automated procedure using a simple plexiglass flow-through cell“. *International Journal of Pharmaceutics* 125 (2), S. 215–222.
- Chevalier, Y. und M.-A. Bolzinger (2013). „Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions“. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 439, S. 23–34.
- Chitescu, C. L., E. Oosterink, J. de Jong und A. A. M. Stolker (2012). „Accurate mass screening of pharmaceuticals and fungicides in water by U-HPLC–Exactive Orbitrap MS“. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 403 (10), S. 2997–3011.
- Chung, M.-K., A. D. Güler und M. J. Caterina (2008). „TRPV1 shows dynamic ionic selectivity during agonist stimulation“. *Nature Neuroscience* 11, S. 555–564.
- Clasen, C. und W.-M. Kulicke (2001). „Determination of viscoelastic and rheo-optical material functions of water-soluble cellulose derivatives“. *Progress in Polymer Science* 26 (9), S. 1839–1919.
- Colipa (2005). *Guidelines for Evaluating Sun Product Water Resistance*.
- Cramer, J. A., R. H. Mattson, M. L. Prevey, R. D. Scheyer und V. L. Ouellette (1989). „How often is medication taken as prescribed? A novel assessment technique“. *JAMA* 261 (22), S. 3273–3277.

- Cross, S. E., Y. G. Anissimov, B. M. Magnusson und M. S. Roberts (2003). „Bovine-Serum-Albumin-Containing Receptor Phase Better Predicts Transdermal Absorption Parameters for Lipophilic Compounds“. *Journal of Investigative Dermatology* 120 (4), S. 589–591.
- Daniels, R. und U. Knie (2007). „Galénics of dermal products–vehicles, properties and drug release“. *J Dtsch Dermatol Ges* 5 (5), S. 367–383.
- Daniels, R. (2015). „Aut Idem: Galénische Grenzen“. *Pharmazeutische Zeitung* (15).
- Dedov, V. N., S. Mandadi, P. J. Armati und A. Verkhratsky (2001). „Capsaicin-induced depolarisation of mitochondria in dorsal root ganglion neurons is enhanced by vanilloid receptors“. *Neuroscience* 103 (1), S. 219–226.
- Desbrières, J., M. Hirrien und S. B. Ross-Murphy (2000). „Thermogelation of methylcellulose: rheological considerations“. *Polymer* 41 (7), S. 2451–2461.
- DIMDI (2019). *Arzneimittel-Informationssystem*. URL: <https://www.pharmnet-bund.de/dynamic/de/arzneimittel-informationssystem/index.html> (besucht am 25. 11. 2019).
- DIN, Hrsg. (1994). *Kunststoffe - Polymere/Harze in flüssigem, emulgiertem oder dispergiertem Zustand - Bestimmung der Viskosität mit einem Rotationsviskosimeter bei definiertem Geschwindigkeitsgefälle (ISO 3219:1994)*. Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- DIN, Hrsg. (2008). *Chemische Analytik – Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen – Begriffe, Verfahren, Auswertung (DIN 32645)*. Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- DIN, Hrsg. (2012). *Beschichtungsstoffe - Bestimmung der Auslaufzeit mit Auslaufbechern (DIN EN ISO 2431:2011)*. Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- DIN, Hrsg. (2019). *Viskosimetrie - Messung der Viskosität mit dem Kugelfallviskosimeter nach Höppler (DIN 53015:2019-06)*. Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- Doğan, M. (2011). „Rheological behaviour and physicochemical properties of kefir with honey“. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* 6 (3), S. 327–332.
- Doolittle, A. K. (1951). „Studies in Newtonian Flow. I. The Dependence of the Viscosity of Liquids on Temperature“. *Journal of Applied Physics* 22 (8), S. 1031–1035.
- Elias, P. M. (1983). „Epidermal lipids, barrier function, and desquamation“. *Journal of Investigative Dermatology* 80 (1 Suppl), S. 44–49.

- EMA, Hrsg. (2014). *Guideline on quality of transdermal patches*.
- Epstein, E. H., M. L. Williams und P. M. Elias (1981). „Steroid sulfatase, X-linked ichthyosis, and stratum corneum cell cohesion“. *Archives of dermatology* 117 (12), S. 761–763.
- Fang, J.-Y., P.-C. Wu, Y.-B. Huang und Y.-H. Tsai (1995). „In vitro permeation study of capsaicin and its synthetic derivatives from ointment bases using various skin types“. *International Journal of Pharmaceutics* 126 (1), S. 119–128.
- Feldmann, R. J. und H. I. Maibach (1965). „Penetration of ¹⁴C Hydrocortisone Through Normal Skin: The Effect of Stripping and Occlusion“. *JAMA Dermatology* 91 (6), S. 661–666.
- Fischer, E. K. und C. H. Lindsley (1948). „Pseudoplastic flow properties of lyophilic colloids“. *Journal of Colloid Science* 3 (2), S. 111–128.
- Franz, T. J. (1975). „Percutaneous Absorption. On the Relevance of in Vitro Data“. *Journal of Investigative Dermatology* 64 (3), S. 190–195.
- Freinkel, R. K. und D. T. Woodley, Hrsg. (2001). *The biology of the skin*. New York: Parthenon.
- Fritsch, P. und T. Schwarz (2018). „Aufbau und Funktionen der Haut“. *Dermatologie Venerologie*. Hrsg. von P. Fritsch und T. Schwarz. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, S. 5–68.
- Fujimura, T., Y. Takagi, I. Sugano, Y. Sano, N. Yamaguchi, T. Kitahara, Y. Takema und R. L. Rizer (2011). „Real-life use of underwear treated with fabric softeners improves skin dryness by decreasing the friction of fabrics against the skin“. *Int J Cosmet Sci* 33 (6), S. 566–571.
- Fujiwake, H., T. Suzuki und K. Iwai (1982). „Capsaicinoid formation in the protoplast from the placenta of Capsicum fruits“. *Agricultural and Biological Chemistry* 46 (10), S. 2591–2592.
- Gallego-Sandín, S., A. Rodríguez-García, M. T. Alonso und J. García-Sancho (2009). „The endoplasmic reticulum of dorsal root ganglion neurons contains functional TRPV1 channels“. *The Journal of biological chemistry* 284 (47), S. 32591–32601.
- Gill, H. S. und M. R. Prausnitz (2007). „Coated microneedles for transdermal delivery“. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society* 117 (2), S. 227–237.
- Godin, B. und E. Touitou (2007). „Transdermal skin delivery: Predictions for humans from in vivo, ex vivo and animal models“. *Advanced Drug Delivery Reviews* 59 (11), S. 1152–1161.

- Gomes, S. F. d. O., E. d. A. Nunan und L. A. M. Ferreira (2004). „Influence of the formulation type (o/w, w/o/w emulsions and ointment) on the topical delivery of paromomycin“. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* 40, S. 345–352.
- Goswami, C., H. Schmidt und F. Hucho (2007). „TRPV1 at nerve endings regulates growth cone morphology and movement through cytoskeleton reorganization“. *The FEBS journal* 274 (3), S. 760–772.
- Gray, G. M. und H. J. Yardley (1975). „Lipid compositions of cells isolated from pig, human, and rat epidermis“. *Journal of lipid research* 16 (6), S. 434–440.
- Green, M. R. und J. Sambrook (2012). *Molecular cloning: A laboratory manual*. 4. ed. Cold Spring Harbor, N.Y: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Greiter, F., P. Bilek, S. Doskoczil, J. Washüttl und F. Wurst (1979). „Methods for water resistance testing of sun protection products“. *International Journal of Cosmetic Science* 1 (3), S. 147–157.
- Griffin, W. C. (1949). „Classification of surface-active agents by HLB“. *J. Soc. Cosmet. Chem.* 1, S. 311–326.
- Griffin, W. C. (1954). „Calculation of HLB values of non-ionic surfactants“. *J. Soc. Cosmet. Chem.* 5, S. 249–256.
- Gruetzmann, R. und K. G. Wagner (2005). „Quantification of the leaching of triethyl citrate/polysorbate 80 mixtures from Eudragit RS films by differential scanning calorimetry“. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 60 (1), S. 159–162.
- Grünenthal GmbH, Hrsg. (2017). *Fachinformation: Qutenza 179 mg kutanes Pflaster, Zulassungsnummer: EU/1/09/524/001-002 (Stand: 05/2017)*.
- Grüning, N. und C. C. Müller-Goymann (2008). „Physicochemical characterisation of a novel thermogelling formulation for percutaneous penetration of 5-aminolevulinic acid“. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 97 (6), S. 2311–2323.
- Haake, A., S. A. Glynis und K. A. Holbrook (2001). „Structure and function of the skin: overview of the epidermis and dermis“. *The biology of the skin*. Hrsg. von R. K. Freinkel und D. T. Woodley. New York: Parthenon, S. 19–45.
- Hadgraft, J. (2001). „Skin, the final frontier“. *International Journal of Pharmaceutics* 224 (1-2), S. 1–18.

- Hagemann, I. und E. Proksch (1996). „Topical treatment by urea reduces epidermal hyperproliferation and induces differentiation in psoriasis“. *Acta Derm Venereol* 76 (5), S. 353–356.
- Halprin, K. M. (1972). „Epidermal Turnover Time - A Re-Examination“. *British Journal of Dermatology* 86 (1), S. 14–19.
- Han, P., H. A. McDonald, B. R. Bianchi, R. E. Kouhen, M. H. Vos, M. F. Jarvis, C. R. Faltynek und R. B. Moreland (2007). „Capsaicin causes protein synthesis inhibition and microtubule disassembly through TRPV1 activities both on the plasma membrane and intracellular membranes“. *Biochemical pharmacology* 73 (10), S. 1635–1645.
- Haq, A., B. Goodyear, D. Ameen, V. Joshi und B. Michniak-Kohn (2018). „Strat-M® synthetic membrane: Permeability comparison to human cadaver skin“. *International Journal of Pharmaceutics* 547 (1), S. 432–437.
- Haque, A. und E. R. Morris (1993). „Thermogelation of methylcellulose. Part I: molecular structures and processes“. *Carbohydrate Polymers* 22 (3), S. 161–173.
- Harding, C. R. (2004). „The stratum corneum: structure and function in health and disease“. *Dermatologic Therapy* 17, S. 6–15.
- Hasler-Nguyen, N. und G. Fotopoulos (2012). „Effect of rubbing on the in vitro skin permeation of diclofenac-diethylamine 1.16% gel“. *BMC research notes* 5, S. 321.
- Heck, R., S. Hermann, D. J. Lunter und R. Daniels (2016). „Film-forming formulations containing porous silica for the sustained delivery of actives to the skin“. *Eur J Pharm Biopharm.*
- Heck, R. (2012). „Darstellung von Nonivamid und [²H₃] Nonivamid sowie Untersuchung ihrer Penetration aus halbfesten Arzneiformen in die Haut“. Diplomarbeit. Tübingen: Eberhard Karls Universität.
- Heck, R. (2017). „Poröses Silica als Wirkstoffträger in filmbildenden Dermatika mit retardierter Wirkstoffabgabe zur Therapie des chronischen Pruritus“. Dissertation Dr. rer. nat. Tübingen: Eberhard Karls Universität.
- Heck, R., M. Ž. Lukić, S. D. Savić, R. Daniels und D. J. Lunter (2017). „Ex vivo skin permeation and penetration of nonivamide from and in vivo skin tolerability of film-forming formulations containing porous silica“. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 106, S. 34–40.

- Herrmann, S., R. Daniels und D. J. Lunter (2016). „Methods for the determination of the substantivity of topical formulations“. *Pharmaceutical Development and Technology*, S. 1–5.
- Hoath, S. B. und D. G. Leahy (2003). „The organization of human epidermis: functional epidermal units and phi proportionality“. *Journal of Investigative Dermatology* 121 (6), S. 1440–1446.
- Hotchkiss, S., P. Hewitt, J. Caldwell, W. L. Chen und R. R. Rowe (1992). „Percutaneous absorption of nicotinic acid, phenol, benzoic acid and triclopyr butoxyethyl ester through rat and human skin in vitro: Further validation of an in vitro model by comparison with in vivo data“. *Food and Chemical Toxicology* 30 (10), S. 891–899.
- Huang, W., H. Wang, J. J. Galligan und D. H. Wang (2008). „Transient receptor potential vanilloid subtype 1 channel mediated neuropeptide secretion and depressor effects: role of endoplasmic reticulum associated Ca²⁺ release receptors in rat dorsal root ganglion neurons“. *Journal of hypertension* 26 (10), S. 1966–1975.
- Huang, X.-F., J.-Y. Xue, A.-Q. Jiang und H.-L. Zhu (2013). „Capsaicin and Its Analogues: Structure-Activity Relationship Study“. *Current Medicinal Chemistry* 20 (21), S. 2661–2672.
- Huang, X., Y. Kakuda und W. Cui (2001). „Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity“. *Food Hydrocolloids* 15 (4), S. 533–542.
- Huong, S. P., E. Rocher, J.-D. Fourneron, L. Charles, V. Monnier, H. Bun und V. Andrieu (2008). „Photoreactivity of the sunscreen butylmethoxydibenzoylmethane (DBM) under various experimental conditions“. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 196 (1), S. 106–112.
- Hyde, A. M., S. L. Zultanski, J. H. Waldman, Y.-L. Zhong, M. Shevlin und F. Peng (2017). „General Principles and Strategies for Salting-Out Informed by the Hofmeister Series“. *Organic Process Research & Development* 21 (9), S. 1355–1370.
- Iizuka, H. (1994). „Epidermal turnover time“. *Journal of Dermatological Science* 8 (3), S. 215–217.
- ISO, Hrsg. (2010). *Particle size analysis - Laser diffraction methods BS ISO 13320:2009*.
- IUPAC, Hrsg. (1972). *Manual of Symbols and Terminology for Physicochemical Quantities and Units, Appendix II: Definitions, Terminology and Symbols in Colloid and Surface Chemistry*. Bd. 31.

- Izquierdo, P., J. W. Wiechers, E. Escribano, M. J. García-Celma, T. F. Tadros, J. Esquena, J. C. Dederen und C. Solans (2007). „A study on the influence of emulsion droplet size on the skin penetration of tetracaine“. *Skin Pharmacology and Physiology* 20 (5), S. 263–270.
- Jacobi, U., M. Kaiser, R. Toll, S. Mangelsdorf, H. Audring, N. Otberg, W. Sterry und J. Lademann (2007). „Porcine ear skin: an in vitro model for human skin“. *Skin Research and Technology* 13 (1), S. 19–24.
- Janssens, M. et al. (2012). „Increase in short-chain ceramides correlates with an altered lipid organization and decreased barrier function in atopic eczema patients“. *Journal of lipid research* 53 (12), S. 2755–2766.
- Jia, X., R. Xu, W. Shen, M. Xie, M. Abid, S. Jabbar, P. Wang, X. Zeng und T. Wu (2015). „Stabilizing oil-in-water emulsion with amorphous cellulose“. *Food Hydrocolloids* 43, S. 275–282.
- Jorge, L. L., C. C. Feres und V. E. P. Teles (2011). „Topical preparations for pain relief: efficacy and patient adherence“. *Journal of Pain Research* 4, S. 11–24.
- Julius, D. und A. I. Basbaum (2001). „Molecular mechanisms of nociception“. *Nature* 413 (6852), S. 203–210.
- Jung, E. C. und H. I. Maibach (2015). „Animal models for percutaneous absorption“. *Journal of applied toxicology : JAT* 35 (1), S. 1–10.
- Kanitakis, J. (2002). „Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin“. *European journal of dermatology* 12 (4), S. 390–399.
- Kasting, G. B., W. R. Francis, L. A. Bowman und G. O. Kinnett (1997). „Percutaneous absorption of vanilloids: In vivo and in vitro studies“. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 86 (1), S. 142–146.
- Kestin, J., M. Sokolov und W. A. Wakeham (1978). „Viscosity of liquid water in the range –8 °C to 150 °C“. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 7 (3), S. 941–948.
- Kutz, G., R. Daniels und H. Trommer (2011). *Emulsionen: Entwicklung, Herstellung, Prüfung*. Bd. 3. APVbasics. Aulendorf: ECV Ed.-Cantor-Verl.
- Lademann, J., F. Knorr, H. Richter, U. Blume-Peytavi, A. Vogt, C. Antoniou, W. Sterry und A. Patzelt (2008). „Hair follicles—an efficient storage and penetration pathway for topically applied substances. Summary of recent results obtained at the Center of Experimental and Applied

- Cutaneous Physiology, Charité -Universitätsmedizin Berlin, Germany“. *Skin Pharmacology and Physiology* 21 (3), S. 150–155.
- Lampe, M. A., A. L. Burlingame, J. Whitney, M. L. Williams, B. E. Brown, E. Roitman und P. M. Elias (1983). „Human stratum corneum lipids: characterization and regional variations“. *Journal of lipid research* 24 (2), S. 120–130.
- Lane, M. E. (2013). „Skin penetration enhancers“. *International Journal of Pharmaceutics* 447 (1-2), S. 12–21.
- Leete, E. und M. C. L. Louden (1968). „Biosynthesis of capsaicin and dihydrocapsaicin in *Capsicum frutescens*“. *Journal of the American Chemical Society* 90 (24), S. 6837–6841.
- Leider, M. (1949). „On the Weight of the Skin“. *Journal of Investigative Dermatology* 12 (3), S. 187–191.
- Li, B. S., J. H. Cary und H. I. Maibach (2018). „Stratum corneum substantivity: drug development implications“. *Archives of Dermatological Research* 310 (7), S. 537–549.
- Lin, H.-R., K. C. Sung und W.-J. Vong (2004). „In situ gelling of alginate/pluronic solutions for ophthalmic delivery of pilocarpine“. *Biomacromolecules* 5 (6), S. 2358–2365.
- Lunter, D. J. (2017). „Determination of skin penetration profiles by confocal Raman microscopy: statistical evaluation of optimal microscope configuration“. *Journal of Raman Spectroscopy* 48 (2), S. 152–160.
- Lunter, D. J. und R. Daniels (2012). „New film forming emulsions containing Eudragit(R) NE and/or RS 30D for sustained dermal delivery of nonivamide“. *Eur J Pharm Biopharm* 82 (2), S. 291–298.
- Lunter, D. J. und R. Daniels (2014). „Confocal Raman microscopic investigation of the effectiveness of penetration enhancers for procaine delivery to the skin“. *Journal of biomedical optics* 19 (12), S. 126015.
- Lunter, D. J., M. Rottke und R. Daniels (2014). „Oil-in-Oil-Emulsions with Enhanced Substantivity for the Treatment of Chronic Skin Diseases“. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 103 (5), S. 1515–1519.

- Luyten, H., M. Jonkman, W. Kloek und T. van Vliet (1993). „Creaming Behaviour of Dispersed particles in Dilute Xanthan Solutions“. *Food colloids and polymers: Stability and mechanical properties* 113, S. 224–234.
- Martanto, W., S. P. Davis, N. R. Holiday, J. Wang, H. S. Gill und M. R. Prausnitz (2004). „Transdermal Delivery of Insulin Using Microneedles in Vivo“. *Pharmaceutical Research* 21 (6), S. 947–952.
- Martin, A. N., J. Swarbrick, A. Cammarata und H. Stricker, Hrsg. (1987). *Physikalische Pharmazie: Pharmazeutisch angewandte physikalisch-chemische Grundlagen ; mit 162 Tabellen*. 3., völlig neu bearb. und erw. Aufl. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.
- McGrath, J. A., R. Eady und Pope F.M. (2010). „Anatomy and Organization of Human Skin“. *Rook's textbook of dermatology*. Hrsg. von T. Burns und A. Rook. Malden, Mass.: Blackwell Science, S. 3.1–3.53.
- McNamara, T. F., L. Steinbach und B. S. Schwartz (1965). „Skin Substantivity as a Criterion“. *J. Soc. Cosmetic Chemists* 16 (9), S. 499–506.
- Megrab, N. A., A. C. Williams und B. W. Barry (1995). „Oestradiol permeation through human skin and silastic membrane: effects of propylene glycol and supersaturation“. *Journal of Controlled Release* 36 (3), S. 277–294.
- Melzer, E., J. Kreuter und R. Daniels (2003). „Ethylcellulose: a new type of emulsion stabilizer“. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 56 (1), S. 23–27.
- Meter, D. M. und R. B. Bird (1964). „Tube flow of non-Newtonian polymer solutions: PART I. Laminar flow and rheological models“. *AIChE Journal* 10 (6), S. 878–881.
- Moser, K., K. Kriwet, C. Froehlich, Y. N. Kalia und R. H. Guy (2001). „Supersaturation: Enhancement of Skin Penetration and Permeation of a Lipophilic Drug“. *Pharmaceutical Research* 18 (7), S. 1006–1011.
- Nastasa, K. Samaras, M. L. Pascu und T. D. Karapantsios (2014). „Moderately stable emulsions produced by a double syringe method“. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 460, S. 321–326.
- Nastiti, C. M. R. R., T. Ponto, E. Abd, J. E. Grice, H. A. E. Benson und M. S. Roberts (2017). „Topical Nano and Microemulsions for Skin Delivery“. *Pharmaceutics* 9 (4).

- Nawaz, M., W. Miran, J. Jang und D. S. Lee (2017). „Stabilization of Pickering emulsion with surface-modified titanium dioxide for enhanced photocatalytic degradation of Direct Red 80“. *Catalysis Today* 282, S. 38–47.
- Neubert, R. und R. Wepf (2007). „Stratum corneum: Struktur und Morphologie einer Barriere“. *Pharmazeutische Zeitung* (17).
- Neubert, R., W. A. Wohlrab und W. Marsch (2001). *Dermatopharmazie: Vehikel - Wirkstoffe - Pharmakologie ; mit 29 Tabellen*. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.
- Nguyen, H. X., A. Puri und A. K. Banga (2017). „Methods to simulate rubbing of topical formulation for in vitro skin permeation studies“. *International Journal of Pharmaceutics* 519 (1-2), S. 22–33.
- Ochoa-Andrade, A., M. E. Parente, A. Jimenez-Kairuz, L. Boinbaser und A. Torregrosa (2017). „Study of the Influence of Formulation Variables in Bioadhesive Emulgels Using Response Surface Methodology“. *AAPS PharmSciTech*.
- OECD, Hrsg. (2004). *Test No. 428: Skin Absorption: In Vitro Method*.
- Ota, Y. (1962). „Physiological and genetical studies on the pungency of Capsicum, IV. Secretory organs, receptacles and distribution of capsaicin in the Capsicum fruit“. *Ikushugaku zasshi* 12 (3), S. 179–183.
- Otberg, N., H. Richter, H. Schaefer, U. Blume-Peytavi, W. Sterry und J. Lademann (2004). „Variations of hair follicle size and distribution in different body sites“. *Journal of Investigative Dermatology* 122 (1), S. 14–19.
- Otto, A., J. Du Plessis und J. W. Wiechers (2009). „Formulation effects of topical emulsions on transdermal and dermal delivery“. *International Journal of Cosmetic Science* 31 (1), S. 1–19.
- Özgüney, I. S., H. Y. Karasulu, G. Kantarci, S. Sözer, T. Güneri und G. Ertan (2006). „Transdermal delivery of diclofenac sodium through rat skin from various formulations“. *AAPS PharmSciTech* 7 (4), E39–E45.
- Pal, R. (1995). „Oscillatory, creep and steady flow behavior of Xanthan-thickened oil-in-water emulsions“. *AIChE Journal* 41 (4), S. 783–794.
- Pal, R. (1996). „Effect of droplet size on the rheology of emulsions“. *AIChE Journal* 42 (11), S. 3181–3190.

- Paolino, D., C. A. Ventura, S. Nisticò, G. Puglisi und M. Fresta (2002). „Lecithin microemulsions for the topical administration of ketoprofen: percutaneous adsorption through human skin and in vivo human skin tolerability“. *International Journal of Pharmaceutics* 244 (1-2), S. 21–31.
- Pasquali, R. C., M. P. Taurozzi und C. Bregni (2008). „Some considerations about the hydrophilic-lipophilic balance system“. *International Journal of Pharmaceutics* 356 (1-2), S. 44–51.
- Pellett, M., S. Castellano, J. Hadgraft und A. Davis (1997). „The penetration of supersaturated solutions of piroxicam across silicone membranes and human skin in vitro“. *Journal of Controlled Release* 46 (3), S. 205–214.
- Pereira, M. P. und S. Ständer (2017). „Chronic Pruritus: Current and Emerging Treatment Options“. *Drugs* 77 (9), S. 999–1007.
- Pfeiffer, S., G. Vielhaber, J. P. Vietzke, K. P. Wittern, U. Hintze und R. Wepf (2000). „High-pressure freezing provides new information on human epidermis: simultaneous protein antigen and lamellar lipid structure preservation. Study on human epidermis by cryoimmobilization“. *Journal of Investigative Dermatology* 114 (5), S. 1030–1038.
- Ph. Eur. (2014a). „2.2.9 Kapillarviskosimeter“. *Europäisches Arzneibuch, Amtliche deutsche Ausgabe, 8. Ausgabe*. Stuttgart und Eschborn: Dt. Apotheker-Verl.
- Ph. Eur. (2014b). „2.9.31. Bestimmung der Partikelgröße durch Laserdiffraktometrie“. *Europäisches Arzneibuch, Amtliche deutsche Ausgabe, 8. Ausgabe*. Stuttgart und Eschborn: Dt. Apotheker-Verl.
- Ph. Eur. (2014c). „Isopropylmyristat“. *Europäisches Arzneibuch, Amtliche deutsche Ausgabe, 8. Ausgabe*. Stuttgart und Eschborn: Dt. Apotheker-Verl.
- Ph. Eur. (2014d). „Methylcellulose“. *Europäisches Arzneibuch, Amtliche deutsche Ausgabe, 8. Ausgabe*. Stuttgart und Eschborn: Dt. Apotheker-Verl.
- Ph. Eur. (2014e). „Mittelkettige Triglyceride“. *Europäisches Arzneibuch, Amtliche deutsche Ausgabe, 8. Ausgabe*. Stuttgart und Eschborn: Dt. Apotheker-Verl.
- Ph. Eur. (2014f). „Phosphat-Pufferlösung pH 7,4, natriumchloridhaltige R“. *Europäisches Arzneibuch, Amtliche deutsche Ausgabe, 8. Ausgabe*. Stuttgart und Eschborn: Dt. Apotheker-Verl.
- Ph. Eur. (2014g). „Vaselin, weiß“. *Europäisches Arzneibuch, Amtliche deutsche Ausgabe, 8. Ausgabe*. Stuttgart und Eschborn: Dt. Apotheker-Verl.

- Pickering, S. U. (1907). „Emulsions“. *Journal of the Chemical Society, Transactions* 91, S. 2001–2021.
- Posti, J. und P. P. Speiser (1980). „Sink conditions in the flow-through cell during dissolution“. *International Journal of Pharmaceutics* 5 (2), S. 101–107.
- Prasad, B. C. N., V. Kumar, H. B. Gururaj, R. Parimalan, P. Giridhar und G. A. Ravishankar (2006). „Characterization of capsaicin synthase and identification of its gene (csy1) for pungency factor capsaicin in pepper (*Capsicum* sp.)“ *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (36), S. 13315–13320.
- Proksch, E., R. Fölster-Holst und J.-M. Jensen (2006). „Skin barrier function, epidermal proliferation and differentiation in eczema“. *Journal of Dermatological Science* 43 (3), S. 159–169.
- Rangoonwala, R. (1969). „Zur Biosynthese des Capsaicins“. *Die Pharmazie* 24 (3), S. 177.
- Rege, P. R., V. d. Vilivalam und C. C. Collins (1998). „Development in release testing of topical dosage forms: use of the Enhancer Cell™ with automated sampling“. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 17 (8), S. 1225–1233.
- Robinson, J. P. und W. Michelson (2010). „Sleep as a victim of the “time crunch” – A multinational analysis“. *International Journal of Time Use Research* 7 (1), S. 61–72.
- Rottke, M., D. J. Lunter und R. Daniels (2014). „In vitro studies on release and skin permeation of nonivamide from novel oil-in-oil-emulsions“. *Eur J Pharm Biopharm* 86 (2), S. 260–266.
- Rottke, M. (2012). „Entwicklung und Charakterisierung nonivamidhaltiger Rizinusöl-in-Silikonöl-Emulsionen zur dermalen Anwendung“. Dissertation Dr. rer. nat. Tübingen: Eberhard Karls Universität.
- Rozman, B. und M. Gasperlin (2007). „Stability of vitamins C and E in topical microemulsions for combined antioxidant therapy“. *Drug delivery* 14 (4), S. 235–245.
- Sarkar, N. (1979). „Thermal gelation properties of methyl and hydroxypropyl methylcellulose“. *Journal of Applied Polymer Science* 24 (4), S. 1073–1087.
- Schaefer, H. und J. Lademann (2001). „The Role of Follicular Penetration“. *Skin Pharmacology and Physiology* 14 (Suppl. 1), S. 23–27.
- Schaefer, U. und H. Loth (1996). „An ex-vivo model for the study of drug penetration into human skin“. *Pharm Res* 13 (366), b24.

- Scheuplein, R. J. und I. H. Blank (1971). „Permeability of the skin“. *Physiological reviews* 51 (4), S. 702–747.
- Schmolka, I. R. (1972). „Artificial skin. I. Preparation and properties of pluronic F-127 gels for treatment of burns“. *Journal of biomedical materials research* 6 (6), S. 571–582.
- Schmook, F. P., J. G. Meingassner und A. Billich (2001). „Comparison of human skin or epidermis models with human and animal skin in in-vitro percutaneous absorption“. *International Journal of Pharmaceutics* 215 (1-2), S. 51–56.
- Schulz, M. B. und R. Daniels (2000). „Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) as emulsifier for submicron emulsions: influence of molecular weight and substitution type on the droplet size after high-pressure homogenization“. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 49 (3), S. 231–236.
- Schwarz, J. S., M. R. Weisspapier und D. I. Friedman (1995). „Enhanced Transdermal Delivery of Diazepam by Submicron Emulsion (SME) Creams“. *Pharmaceutical Research* 12 (5), S. 687–692.
- Shah, P., D. Bhalodia und P. Shelat (2010). „Nanoemulsion: A pharmaceutical review“. *Systematic Reviews in Pharmacy* 1 (1), S. 24.
- Silva, H. D., M. A. Cerqueira und A. A. Vicente (2015). „Influence of surfactant and processing conditions in the stability of oil-in-water nanoemulsions“. *Journal of Food Engineering* 167, S. 89–98.
- Sinkó, B., T. M. Garrigues, G. T. Balogh, Z. K. Nagy, O. Tsinman, A. Avdeef und K. Takács-Novák (2012). „Skin-PAMPA: A new method for fast prediction of skin penetration“. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 45 (5), S. 698–707.
- Sivamani, R. K., D. Liepmann und H. I. Maibach (2007). „Microneedles and transdermal applications“. *Expert opinion on drug delivery* 4 (1), S. 19–25.
- Ständer, S., I. Schäfer, N. Q. Phan, C. Blome, K. Herberger, H. Heigel und M. Augustin (2010). „Prevalence of Chronic Pruritus in Germany: Results of a Cross-Sectional Study in a Sample Working Population of 11,730“. *Dermatology* 221 (3), S. 229–235.
- Ständer, S., U. Darsow et al. (2012). „S2k guideline–Chronic Pruritus“. *J Dtsch Dermatol Ges* 10 (Supplement 4), S1–27.

- Ständer, S., C. Moormann et al. (2004). „Expression of vanilloid receptor subtype 1 in cutaneous sensory nerve fibers, mast cells, and epithelial cells of appendage structures“. *Exp Dermatol* 13 (3), S. 129–139.
- Stewart, C., M. Mazourek, G. M. Stellari, M. O’Connell und M. Jahn (2007). „Genetic control of pungency in *C. chinense* via the Pun1 locus“. *Journal of experimental botany* 58 (5), S. 979–991.
- Stokes und Diffey (2000). „A novel ex vivo technique to assess the sand/rub resistance of sunscreen products“. *International Journal of Cosmetic Science* 22 (5), S. 329–334.
- Stüttgen, G. (1990). „Die biologischen Funktionen des Stratum corneum. Pharmakokinetische Bedingungen für die topische Applikation“. *Die Haut als Transportorgan für Arzneistoffe*. Hrsg. von N. Rietbrock. Frankfurter Seminare für Klinische Pharmakologie. Darmstadt: Steinkopff, S. 1–14.
- Stüttgen, G. und H. Schaefer (1974). *Funktionelle Dermatologie: Grundlagen der Morphokinetik Pathophysiologie, Pharmakoanalyse und Therapie von Dermatosen*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Sun, W., D. Sun, Y. Wei, S. Liu und S. Zhang (2007). „Oil-in-water emulsions stabilized by hydrophobically modified hydroxyethyl cellulose: adsorption and thickening effect“. *Journal of colloid and interface science* 311 (1), S. 228–236.
- Suzuki, T., H. Fujiwake und K. Iwai (1980). „Intracellular localization of capsaicin and its analogues, capsaicinoid, in *Capsicum* fruit 1. Microscopic investigation of the structure of the placenta of *Capsicum annuum* var. *annuum* cv. *Karayatsubusa1*“. *Plant and Cell Physiology* 21 (5), S. 839–853.
- Suzuki, T., Kawada Teruo und K. Iwai (1981). „Biosynthesis of Acyl Moieties of Capsaicin and its Analogues from Valine and Leucine in *Capsicum* Fruits“. *Plant and Cell Physiology* 22 (1), S. 23–32.
- Tadros, T. (2016). *Emulsions: Formation, Stability, Industrial Applications*. 1. Aufl. De Gruyter Textbook. s.l.: Walter de Gruyter GmbH Co.KG.
- Tadros, T., P. Izquierdo, J. Esquena und C. Solans (2004). „Formation and stability of nanoemulsions“. *Advances in Colloid and Interface Science* 108-109, S. 303–318.

- Takeuchi, M., S. Kageyama, H. Suzuki, T. Wada, Y. Notsu und F. Ishii (2003). „Rheological properties of reversible thermo-setting in situ gelling solutions with the methylcellulose–polyethylene glycol–citric acid ternary system“. *Colloid and Polymer Science* 281 (12), S. 1178–1183.
- Techniker Krankenkasse, Hrsg. (2013). *Beweg Dich, Deutschland! – TK-Studie zum Bewegungsverhalten der Menschen in Deutschland*. D-Hamburg: Techniker Krankenkasse.
- Thirumala, S., J. M. Gimble und R. V. Devireddy (2013). „Methylcellulose based thermally reversible hydrogel system for tissue engineering applications“. *Cells* 2 (3), S. 460–475.
- Thresh, J. C. (1876). „Capsaicin, the active principle of Capsicum fruits“. *Pharm J Trans* 3 (315), S. 21.
- Trebše, P., O. V. Polyakova, M. Baranova, M. B. Kralj, D. Dolenc, M. Sarakha, A. Kutin und A. T. Lebedev (2016). „Transformation of avobenzone in conditions of aquatic chlorination and UV-irradiation“. *Water research* 101, S. 95–102.
- Treffel, P., P. Muret, P. Muret-D’Aniello, S. Coumes-Marquet und P. Agache (1992). „Effect of Occlusion on in vitro Percutaneous Absorption of Two Compounds with Different Physicochemical Properties“. *Skin Pharmacology and Physiology* 5 (2), S. 108–113.
- Trommer, H. und R. Neubert (2006). „Overcoming the Stratum Corneum: The Modulation of Skin Penetration“. *Skin Pharmacology and Physiology* 19 (2), S. 106–121.
- Umweltbundesamt, Hrsg. (2017). *Gewässer in Deutschland: Zustand und Bewertung*. Dessau-Roßlau.
- Valente, I. M., L. M. Gonçalves und J. A. Rodrigues (2013). „Another glimpse over the salting-out assisted liquid-liquid extraction in acetonitrile/water mixtures“. *Journal of chromatography. A* 1308, S. 58–62.
- Wang, Y.-Y., C.-T. Hong, W.-T. Chiu und J.-Y. Fang (2001). „In vitro and in vivo evaluations of topically applied capsaicin and nonivamide from hydrogels“. *International Journal of Pharmaceutics* 224 (1), S. 89–104.
- Weller, R. P. J. B., H. J. A. Hunter und M. W. Mann (2015). *Clinical dermatology*. Fifth edition. Chichester, West Sussex und Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Ltd.
- Wertz, P. W. und B. van den Bergh (1998). „The physical, chemical and functional properties of lipids in the skin and other biological barriers“. *Chemistry and Physics of Lipids* 91 (2), S. 85–96.

- Wilhelm, K.-P., Hrsg. (2007). *Bioengineering of the skin: Skin imaging and analysis*. 2nd ed. Bd. 31. Dermatology. New York: Informa Healthcare.
- Williams, A. C. und B. W. Barry (1989). „Urea analogues in propylene glycol as penetration enhancers in human skin“. *International Journal of Pharmaceutics* 56 (1), S. 43–50.
- Williams, A. C. und B. W. Barry (2012). „Penetration enhancers“. *Advanced Drug Delivery Reviews* 64, S. 128–137.
- Ya-Xian, Z., T. Suetake und H. Tagami (1999). „Number of cell layers of the stratum corneum in normal skin - relationship to the anatomical location on the body, age, sex and physical parameters“. *Archives of Dermatological Research* 291 (10), S. 555–559.
- Yonekura, K., K. Hayakawa, M. Kawaguchi und T. Kato (1998). „Preparation of Stable Silicone Oil Emulsions in the Presence of Hydroxypropyl Methyl Cellulose“. *Langmuir* 14 (12), S. 3145–3148.
- Zhai, H. und H. I. Maibach (2001). „Effects of skin occlusion on percutaneous absorption: an overview“. *Skin pharmacology and applied skin physiology* 14 (1), S. 1–10.
- Zhang, L., W. Shen, J. Luan, D. Yang, G. Wei, L. Yu, W. Lu und J. Ding (2015). „Sustained intravitreal delivery of dexamethasone using an injectable and biodegradable thermogel“. *Acta biomaterialia* 23, S. 271–281.

6.2 Tabellenverzeichnis

3.1	Verbrauchsmaterialien	40
3.2	Chemikalien, Wirk- und Hilfsstoffe	42
3.3	Verwendete Geräte	44
3.4	Verwendete Software	49
3.5	Zusammensetzung der Basiscreme DAC nach NRF	50
3.6	Zusammensetzung der hydrophilen Creme mit Avobenzen	51
3.7	Zusammensetzung der Hydrophilen Nonivamid-Creme	52
3.8	Zusammensetzung der filmbildenden Formulierung	54
3.9	Zusammensetzung der O/O Emulsionen	54
3.10	Messparameter der oszillatorischen Messungen	67
3.11	Messparameter zur Bestimmung der maximalen Viskositätszunahme	68
4.1	Übersicht über den Einfluss von Haut-Textil-Kontakt auf die HNC 0,9 % auf die Permeationsrate und die permeierte Masse	85
4.2	Übersicht über den Einfluss von Haut-Textil-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion 0,9 % auf die Permeationsrate und die permeierte Masse	87
4.3	Zusammensetzung der Methylcelluloselösung	96
4.4	Zusammensetzung der hydrophilen Creme mit Methylcellulose	96
4.5	Vorläufige qualitative Zusammensetzung der Thermoemulsionen	104
4.6	Viskoelastische Eigenschaften in Abhängigkeit von disperser Phase und Macrogol	105
4.7	Viskoelastische Eigenschaften in Abhängigkeit von disperser Phase und Natriumcitrat	106
4.8	Viskoelastische Eigenschaften in Abhängigkeit von der Ethanolkonzentration	109
4.9	Viskoelastische Eigenschaften in Abhängigkeit von der Propylenglycolkonzentration	110
4.10	Viskoelastische Eigenschaften in Abhängigkeit von der Glycerolkonzentration	112
4.11	Viskoelastische Eigenschaften in Abhängigkeit von der Methylcellulosekonzentration	113
4.12	Einfluss niedermolekularer Macrogole auf die viskoelastische Eigenschaften von Thermoemulsionen	115
4.13	Tropfengrößen der Emulsionen mit verschiedenen Zusatzstoffen	121
4.14	Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration und des verwendeten Macrogols	124

4.15	Trübungspunkt von Methylcelluloselösungen mit einem Anteil von 10 % verschiedener Zusatzstoffe	146
4.16	Trübungspunkt von Methylcelluloselösungen mit einem Anteil von 20 % verschiedener Zusatzstoffe	147
4.17	Trübungspunkt von Methylcelluloselösungen, die in ihrer Zusammensetzung der wässrigen Phase der Emulsionen entsprechen	148
4.18	Maximale Viskositätszunahme von Methylcelluloselösungen	150
4.19	Maximale Viskositätszunahme von Thermoemulsionen	150
4.20	Anteil der penetrierten Wirkstoffmenge bezogen auf die aufgetragene Masse Nonivamid bei 4 h Inkubationszeit	166
4.21	Anteil der penetrierten Wirkstoffmenge bezogen auf die aufgetragene Masse Nonivamid bei 24 h Inkubationszeit	169
7.1	Daten der Kalibrierung von Nonivamid in ethanolischem Phosphatpuffer. Kalibrierungsbereich $0,01 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} - 0,1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	205
7.2	Daten der Kalibrierung von Nonivamid in ethanolischem Phosphatpuffer. Kalibrierungsbereich $0,1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} - 1,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	205
7.3	Daten der Kalibrierung von Nonivamid in ethanolischem Phosphatpuffer. Kalibrierungsbereich $1,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} - 10,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	206
7.4	Daten der Kalibrierung von Nonivamid in methanolischem Phosphatpuffer. Kalibrierungsbereich $0,01 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} - 0,1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	207
7.5	Daten der Kalibrierung von Nonivamid in methanolischem Phosphatpuffer. Kalibrierungsbereich $0,1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} - 1,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	207
7.6	Daten der Kalibrierung von Nonivamid in methanolischem Phosphatpuffer. Kalibrierungsbereich $1,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} - 10,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	207
7.7	Daten der Kalibrierung von Nonivamid in Acetonitril. Kalibrierungsbereich $0,05 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} - 0,50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	208
7.8	Daten der Kalibrierung von Nonivamid in Acetonitril. Kalibrierungsbereich $0,1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} - 1,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	208
7.9	Daten der Kalibrierung von Nonivamid in Acetonitril. Kalibrierungsbereich $1,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} - 10,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	208

7.10	Daten der Kalibrierung von Avobenzon in Acetonitril. Kalibrierungsbereich 0,05 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ – 0,50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	209
7.11	Daten der Kalibrierung von Avobenzon in Acetonitril. Kalibrierungsbereich 0,1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ – 1,0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	209
7.12	Daten der Kalibrierung von Avobenzon in Acetonitril. Kalibrierungsbereich 1,0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ – 10,0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	209
7.13	Peakflächen von Avobenzon und Nonivamid vor und nach dem Ausschütteln mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung	210
7.14	Übersicht über die qualitative und quantitative Zusammensetzung aller in dieser Arbeit untersuchten Formulierungen	211
7.15	Übersicht über den Einfluss von Haut-Haut-Kontakt auf die HNC 0,9 % auf die Permeationsrate und die permeierte Masse	215
7.16	Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses auf die Hautpermeabilität	215
7.17	Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses des Anpressdrucks	216
7.18	Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses der Kontakthäufigkeit und -geschwindigkeit	217
7.19	Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Hydrophile Nonivamid-Creme; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h	218
7.20	Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Hydrophile Nonivamid-Creme; Vergleich der Permeationsrate	218
7.21	Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Hydrophile Nonivamid-Creme; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h	219
7.22	Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Hydrophile Nonivamid-Creme; Vergleich der Permeationsrate	220

7.23 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Hydrophile Nonivamid-Creme; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h	220
7.24 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Hydrophile Nonivamid-Creme; Vergleich der Permeationsrate	221
7.25 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Haut-Kontakt auf die Hydrophile Nonivamid-Creme; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h	221
7.26 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Haut-Kontakt auf die Hydrophile Nonivamid-Creme; Vergleich der Permeationsrate	222
7.27 Übersicht über den Einfluss von Haut-Haut-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion 0,9% auf die Permeationsrate und die permeierte Masse	223
7.28 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Haut-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h	223
7.29 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Haut-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion; Vergleich der Permeationsrate	223
7.30 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h	224
7.31 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion; Vergleich der Permeationsrate	225
7.32 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h	225
7.33 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion; Vergleich der Permeationsrate	226

7.34 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h	227
7.35 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion; Vergleich der Permeationsrate	227
7.36 Übersicht über den Einfluss von Haut-Textil-Kontakt auf die filmbildende Formulierung 0,9 % auf die Permeationsrate und die permeierte Masse	229
7.37 Übersicht über den Einfluss von Haut-Haut-Kontakt auf die filmbildende Formulierung 0,9 % auf die Permeationsrate und die permeierte Masse	229
7.38 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die filmbildende Formulierung; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h	230
7.39 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die filmbildende Formulierung; Vergleich der Permeationsrate	230
7.40 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Haut-Kontakt auf die filmbildende Formulierung; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h	231
7.41 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Haut-Kontakt auf die filmbildende Formulierung; Vergleich der Permeationsrate	232
7.42 Messwerte der In-vivo- und Ex-vivo-Substantivität der Hydrophilen Nonivamid-Creme	233
7.43 Messwerte der In-vivo- und Ex-vivo-Substantivität der Öl-in-Öl Emulsion	233
7.44 Zusammenfassung der statistischen Analyse der oszillatorischen Messungen in Abhängigkeit der dispersen Phase und des verwendeten Macrogols; Vergleich des Speichermoduls	234
7.45 Zusammenfassung der statistischen Analyse der oszillatorischen Messungen in Abhängigkeit der dispersen Phase und des verwendeten Macrogols; Vergleich des Verlustfaktors	234
7.46 Zusammenfassung der statistischen Analyse der oszillatorischen Messungen in Abhängigkeit der dispersen Phase und Natriumcitrat; Vergleich des Speichermoduls . .	235

7.47 Zusammenfassung der statistischen Analyse der oszillatorischen Messungen in Abhängigkeit der dispersen Phase und Natriumcitrat; Vergleich des Verlustfaktors	236
7.48 Zusammenfassung der statistischen Analyse der oszillatorischen Messungen in Abhängigkeit verschiedener Zusatzstoffe; Vergleich des Speichermoduls	237
7.49 Zusammenfassung der statistischen Analyse der oszillatorischen Messungen in Abhängigkeit verschiedener Zusatzstoffe; Vergleich des Verlustfaktors	239
7.50 Zusammenfassung der statistischen Analyse der oszillatorischen Messungen in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration und des verwendeten Macrogols; Vergleich des Speichermoduls	241
7.51 Zusammenfassung der statistischen Analyse der oszillatorischen Messungen in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration und des verwendeten Macrogols; Vergleich des Verlustfaktors	242
7.52 Viskoelastische Eigenschaften der getesteten Formulierungen in Abschnitt 4.3.1	243
7.53 Dynamische Viskosität der Formulierungen aus Abschnitt 4.3.2 bei 32 °C	244
7.54 Viskoelastische Eigenschaften der getesteten Formulierungen bei 5 °C	244
7.55 Leitfähigkeit der Thermoemulsionen	245
7.56 Zusammensetzung der wässrigen Phasen A und B zur Leitfähigkeitsmessung	246
7.57 Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion ohne Alkohol (#067) bei gelagert Raumtemperatur	247
7.58 Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion ohne Alkohol (#065) bei gelagert 40 °C	247
7.59 Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion ohne Alkohol (#066) bei gelagert einem Temperaturgradient zwischen –5 und 40 °C	248
7.60 Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion mit 15 % Ethanol (#070) gelagert bei Raumtemperatur	248
7.61 Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion mit 15 % Ethanol (#069) gelagert bei 40 °C	249
7.62 Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion mit 15 % Ethanol (#068) gelagert bei einem Temperaturgradient zwischen –5 und 40 °C	249
7.63 Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion mit 15 % Propylenglycol (#071) gelagert bei Raumtemperatur	250

7.64	Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion mit 15 % Propylenglycol (#072) gelagert bei 40 °C	250
7.65	Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion mit 15 % Propylenglycol (#073) gelagert bei einem Temperaturgradient zwischen –5 und 40 °C	251
7.66	Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion mit 15 % Glycerol (#074) gelagert bei Raumtemperatur	251
7.67	Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion mit 15 % Glycerol (#075) gelagert bei 40 °C	251
7.68	Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion mit 15 % Glycerol (#076) gelagert bei einem Temperaturgradient zwischen –5 und 40 °C	252
7.69	Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion mit 4,8 % Methylcellulose und Macrogol 4000 (#105) gelagert bei einem Temperaturgradient zwischen –5 und 40 °C	252
7.70	Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion mit 1,0 % Methylcellulose und Macrogol 4000 (#106) gelagert bei einem Temperaturgradient zwischen –5 und 40 °C	252
7.71	Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion mit 0,5 % Methylcellulose und Macrogol 4000 (#107) gelagert bei einem Temperaturgradient zwischen –5 und 40 °C	253
7.72	Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion mit 4,8 % Methylcellulose und Macrogol 200 (#108) gelagert bei einem Temperaturgradient zwischen –5 und 40 °C	253
7.73	Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion mit 1,0 % Methylcellulose und Macrogol 200 (#109) gelagert bei einem Temperaturgradient zwischen –5 und 40 °C	254
7.74	Numerische Auflistung der Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsion mit 0,5 % Methylcellulose und Macrogol 200 (#110) gelagert bei einem Temperaturgradient zwischen –5 und 40 °C	254
7.75	Zusammenfassung der statistischen Analyse des Trübungspunkt 0,5%iger Methylcelluloselösungen mit einem Anteil von 10 % eines Zusatzstoffes und 2,1 % Natriumcitrat	255

7.76 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Trübungspunkt 0,5%iger Methylcelluloselösungen mit einem Anteil von 20 % eines Zusatzstoffes, 2,1 % Natriumcitrat und 8 % Macrogol 4000	257
7.77 Zusammenfassung der statistischen Analyse des Trübungspunkts von 0,5%igen Methylcelluloselösungen in Abhängigkeit verschiedener Zusatzstoffe und verschiedener Macrogole	259
7.78 Zusammenfassung der statistischen Analyse der maximalen Viskositätszunahme von Emulsionen mit einem Anteil von 15 % eines Zusatzstoffes	261
7.79 Ergebnisse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung bei simuliertem Haut-Haut-Kontakt in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration	262
7.80 Zusammenfassung der statistischen Analyse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung der Emulsionen mit Macrogol 4000 und simulierten Haut-Haut-Kontakt	262
7.81 Zusammenfassung der statistischen Analyse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung der Emulsionen mit Macrogol 200 und simulierten Haut-Haut-Kontakt	263
7.82 Ergebnisse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung bei simuliertem Haut-Textil-Kontakt in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration	264
7.83 Zusammenfassung der statistischen Analyse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung der Emulsionen mit Macrogol 4000 und simulierten Haut-Textil-Kontakt	265
7.84 Zusammenfassung der statistischen Analyse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung der Emulsionen mit Macrogol 200 und simulierten Haut-Textil-Kontakt	266
7.85 Einfluss verschiedener Zusatzstoffe auf die penetrierte Wirkstoffmenge in den einzelnen Hautschichten bei 4 h Inkubationszeit	267
7.86 Einfluss der Wirkstoffkonzentration auf die penetrierte Wirkstoffmenge in den einzelnen Hautschichten bei 4 h Inkubationszeit	267
7.87 Penetrierte Wirkstoffmenge in den einzelnen Hautschichten über einen Zeitraum von 24h	267
7.88 Penetrierte Wirkstoffmenge in den einzelnen Hautschichten bei simuliertem Haut-Textil-Kontakt und 4 h Inkubationszeit	268
7.89 Wiedergefundene Arzneistoffmenge am Applikationsort und im Textil bei simulierten Haut-Textil-Kontakt in Ex-vivo-Penetrationsexperimenten, 4 h Inkubationszeit	268
7.90 Penetrierte Wirkstoffmenge in den einzelnen Hautschichten bei simuliertem Haut-Textil-Kontakt und 24 h Inkubationszeit	268

7.91	Wiedergefundene Arzneistoffmenge am Applikationsort und im Textil bei simulierten Haut-Textil-Kontakt in Ex-vivo-Penetrationsexperimenten, 24 h Inkubationszeit . . .	269
7.92	Ausreißertest nach Grubbs für die penetrierte Wirkstoffmenge in den einzelnen Hautschichten bei simuliertem Haut-Textil-Kontakt und 24 h Inkubationszeit	269

6.3 Abbildungsverzeichnis

2.1	Schematische Abbildung des Ziegel-Mörtel-Modell des Stratum corneum	7
2.2	Schematischer Stofftransport durch die Haut	9
2.3	Penetrationswege in die Haut	10
2.4	Schematischer Aufbau einer Franzzelle	14
2.5	Strukturformeln verschiedener natürlich vorkommender Capsaicinoide und des synthetischen Nonivamids	18
2.6	Schematische Darstellung physikalischer Instabilitäten von Emulsionen	23
2.7	Fließkurven in Abhängigkeit des Fließverhaltens	33
2.8	Schematische Darstellung eines Amplitudentests	37
3.1	Schematischer Aufbau des Testsystems für Ex-vivo-Substantivitätsmessungen in Franzzellen, Ausschnitt	62
3.2	Schematischer Aufbau des Testsystems für Ex-vivo-Substantivitätsmessungen in Franzzellen, vollständig	63
3.3	Verlauf des Temperaturgradienten über 24 h	70
3.4	Schematischer Aufbau der Trübungspunktmessung von Methylcellulose-Lösungen .	71
3.5	Strukturformeln von Nonivamid und Avobenzon	75
4.1	Permeierte Menge Nonivamid aus HNC 0,9 % nach 48 h. Einfluss des Anpressdrucks auf die permeierte Masse	79
4.2	Permeation aus HNC 0,9 % über die Zeit. Einfluss der Methode auf die Hautpermeabilität	80
4.3	Schematische Übersicht über verschiedene körperliche Aktivitäten	82
4.4	Permeation aus HNC 0,9 % über die Zeit. Einfluss von Kontakthäufigkeit und Geschwindigkeit	83
4.5	Permeation aus HNC 0,9 % über die Zeit. Einfluss von Haut-Textil-Kontakt auf die permeierte Masse	84
4.6	Permeation aus HNC 0,9 % über die Zeit. Einfluss von Haut-Haut-Kontakt auf die permeierte Masse	85
4.7	Permeation aus der Öl-in-Öl-Emulsion 0,9 % über die Zeit. Einfluss von Haut-Haut-Kontakt auf die permeierte Masse	86

4.8	Permeation aus der Öl-in-Öl-Emulsion 0,9 % über die Zeit. Einfluss von Haut-Textil-Kontakt auf die permeierte Masse	87
4.9	Permeation aus der filmbildenden Formulierung 0,9 % über die Zeit. Einfluss von Haut-Textil-Kontakt auf die permeierte Masse	88
4.10	Permeation aus der filmbildenden Formulierung 0,9 % über die Zeit. Einfluss von Haut-Haut-Kontakt auf die permeierte Masse	89
4.11	Ergebnisse der In-vivo- und Ex-vivo-Substantivität der Hydrophilen Nonivamid-Creme	92
4.12	Ergebnisse der In-vivo- und Ex-vivo-Substantivität der Öl-in-Öl Emulsion	93
4.13	Oszillatorische Messung der Hydrophilen Nonivamid Creme und der Öl-in-Öl-Emulsion bei 32 °C	94
4.14	Oszillatorische Messung der Hydrophilen Nonivamid-Creme und der modifizierten amphiphilen Creme 32 °C	97
4.15	Oszillatorische Messung einer Thermoemulsion (#014) bei 5 und 32 °C	99
4.16	Viskosität gegen die Temperatur einer Emulsion ohne Natriumcitrat sowie mit 2,1 % Natriumcitrat	100
4.17	Viskosität gegen die Temperatur einer Emulsion mit Isopropylmyristat oder mittelket-tigen Triglyceriden	102
4.18	Viskosität gegen die Temperatur einer Emulsion mit Macrogol 4000 oder 8000	103
4.19	Viskosität gegen die Temperatur einer Emulsion mit Macrogol 8000 oder 40000 . . .	104
4.20	Einfluss verschiedener Macrogole auf die viskoelastischen Eigenschaften von Thermoemulsionen	106
4.21	Einfluss verschiedener disperser Phase auf die viskoelastischen Eigenschaften von Thermoemulsionen	107
4.22	Einfluss von Ethanol auf die viskoelastischen Eigenschaften von Thermoemulsionen .	110
4.23	Einfluss von Propylenglycol auf die viskoelastischen Eigenschaften von Thermoemul-sionen	111
4.24	Einfluss von Glycerol auf die viskoelastischen Eigenschaften von Thermoemulsionen	112
4.25	Einfluss der Methylcellulosekonzentration auf die viskoelastischen Eigenschaften von Thermoemulsionen	114
4.26	Einfluss von Macrogol 200 auf die viskoelastischen Eigenschaften von Thermoemulsi-onen	115
4.27	Mikroskopische Aufnahmen von Emulsionen mit Macrogol 4000	118

4.28	Mikroskopische Aufnahmen von Emulsionen mit Macrogol 200	119
4.29	Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit verschiedener Zusatzstoffe . .	120
4.30	Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentra- tion. Emulsionen mit Macrogol 4000.	123
4.31	Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentra- tion. Emulsionen mit Macrogol 200	123
4.32	Ergebnisse der rheologischen Stabilitätsprüfung: Entwicklung der Fließgrenze einer Emulsion ohne Zusatzstoff bei verschiedenen Lagertemperaturen	125
4.33	Ergebnisse der rheologischen Stabilitätsprüfung: Entwicklung des Verlustfaktors einer Emulsion ohne Zusatzstoff bei verschiedenen Lagertemperaturen	126
4.34	Ergebnisse der rheologischen Stabilitätsprüfung: Entwicklung der Fließgrenze einer Emulsion mit Ethanol bei verschiedenen Lagertemperaturen	128
4.35	Ergebnisse der rheologischen Stabilitätsprüfung: Entwicklung des Verlustfaktors einer Emulsion mit Ethanol bei verschiedenen Lagertemperaturen	128
4.36	Ergebnisse der rheologischen Stabilitätsprüfung: Entwicklung der Fließgrenze einer Emulsion mit Propylenglycol bei verschiedenen Lagertemperaturen	129
4.37	Ergebnisse der rheologischen Stabilitätsprüfung: Entwicklung des Verlustfaktors einer Emulsion mit Propylenglycol bei verschiedenen Lagertemperaturen	130
4.38	Ergebnisse der rheologischen Stabilitätsprüfung: Entwicklung der Fließgrenze einer Emulsion mit Glycerol bei verschiedenen Lagertemperaturen	131
4.39	Ergebnisse der rheologischen Stabilitätsprüfung: Entwicklung des Verlustfaktors einer Emulsion mit Glycerol bei verschiedenen Lagertemperaturen.	131
4.40	Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsionen ohne Zusatzstoff bei verschie- denen Lagertemperaturen	135
4.41	Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsionen mit 15 % Ethanol bei verschie- denen Lagertemperaturen	136
4.42	Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsionen mit 15 % Propylenglycol bei verschiedenen Lagertemperaturen	138
4.43	Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsionen mit 15 % Glycerol bei verschie- denen Lagertemperaturen	140
4.44	Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsionen mit Macrogol 4000 mit unter- schiedlichem Methylcellulosekonzentrationen.	142

4.45	Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse der Emulsionen mit Macrogol 200 mit unterschiedlichen Methylcellulosekonzentrationen	144
4.46	Korrelation zwischen Trübungspunkt und maximaler Viscositätszunahme	149
4.47	Ergebnisse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung bei simuliertem Haut-Haut-Kontakt in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration; Emulsionen mit Macrogol 4000 . .	153
4.48	Ergebnisse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung bei simuliertem Haut-Haut-Kontakt in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration; Emulsionen mit Macrogol 200 . . .	154
4.49	Ergebnisse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung bei simuliertem Haut-Textil-Kontakt in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration; Emulsionen mit Macrogol 4000 . .	155
4.50	Ergebnisse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung bei simuliertem Haut-Textil-Kontakt in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration; Emulsionen mit Macrogol 200 . . .	156
4.51	Ergebnisse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung bei simuliertem Haut-Textil-Kontakt in Abhängigkeit des Intervalls zwischen Applikation und Beginn der Messung	157
4.52	Ergebnis der Ex-vivo-Penetration mit Emulsionen mit 0,9 % Nonivamid und verschiedenen Zusatzstoffen, verglichen gegen die HNC 0,05 %. Die Inkubationszeit beträgt 4h	160
4.53	Ergebnis der Ex-vivo-Penetration mit Emulsionen mit 0,3 und 0,5 % Nonivamid, verglichen gegen die HNC 0,05 %. Die Inkubationszeit beträgt 4h	161
4.54	Penetrationsprofil in verschiedene Hautschichten über 24 h einer Emulsion mit 0,3 % Nonivamid und der HNC 0,05 %	162
4.55	Korrelation zwischen applizierten Masse Formulierung und penetrierter Wirkstoffmenge am Beispiel der Hydrophilen Nonivamid-Creme 0,05 %	164
4.56	Penetration aus einer Emulsion mit 0,3 % Nonivamid und der Hydrophilen Nonivamid-Creme 0,05 % und simuliertem Haut-Textil-Kontakt bei 4h Inkubationszeit	165
4.57	Penetration aus einer Emulsion mit 0,3 % Nonivamid und der Hydrophilen Nonivamid-Creme 0,05 % und simuliertem Haut-Textil-Kontakt bei 24h Inkubationszeit	167

7 Anhang

7.1 Zu den Methoden

7.1.1 HPLC-Kalibrierungsdaten

Nonivamid gelöst in ethanolischem Phosphatpuffer

Tabelle 7.1: Kalibrierungsbereich $0,01 - 0,1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Parameter	Wert
Steigung	$3,1728 \text{ mAU} \cdot \text{min} \cdot \text{mL} \cdot \mu\text{g}^{-1}$
Achsenabschnitt	$0,0070 \text{ mAU min}$
Bestimmtheitsmaß	0,9918
Nachweisgrenze nach Gottwald	$0,005 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
Bestimmungsgrenze nach Gottwald	$0,017 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Tabelle 7.2: Kalibrierungsbereich $0,1 - 1,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Parameter	Wert
Steigung	$3,2440 \text{ mAU} \cdot \text{min} \cdot \text{mL} \cdot \mu\text{g}^{-1}$
Achsenabschnitt	$-0,0200 \text{ mAU min}$
Bestimmtheitsmaß	0,9991
Nachweisgrenze nach Gottwald	$0,015 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
Bestimmungsgrenze nach Gottwald	$0,054 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Tabelle 7.3: Kalibrierungsbereich $1,0 - 10,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Parameter	Wert
Steigung	$3,2888 \text{ mAU} \cdot \text{min} \cdot \text{mL} \cdot \mu\text{g}^{-1}$
Achsenabschnitt	$0,0267 \text{ mAU min}$
Bestimmtheitsmaß	0,9993
Nachweisgrenze nach Gottwald	$0,132 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
Bestimmungsgrenze nach Gottwald	$0,437 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Nonivamid gelöst in methanolischem Phosphatpuffer

Tabelle 7.4: Kalibrierungsbereich $0,01 - 0,1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Parameter	Wert
Steigung	$2,9743 \text{ mAU} \cdot \text{min} \cdot \text{mL} \cdot \mu\text{g}^{-1}$
Achsenabschnitt	$0,0084 \text{ mAU min}$
Bestimmtheitsmaß	$0,9868$
Nachweisgrenze nach Gottwald	$0,014 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
Bestimmungsgrenze nach Gottwald	$0,042 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Tabelle 7.5: Kalibrierungsbereich $0,1 - 1,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Parameter	Wert
Steigung	$3,1967 \text{ mAU} \cdot \text{min} \cdot \text{mL} \cdot \mu\text{g}^{-1}$
Achsenabschnitt	$-0,0042 \text{ mAU min}$
Bestimmtheitsmaß	$0,9953$
Nachweisgrenze nach Gottwald	$0,029 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
Bestimmungsgrenze nach Gottwald	$0,103 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Tabelle 7.6: Kalibrierungsbereich $1,0 - 10,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Parameter	Wert
Steigung	$3,0121 \text{ mAU} \cdot \text{min} \cdot \text{mL} \cdot \mu\text{g}^{-1}$
Achsenabschnitt	$0,2193 \text{ mAU min}$
Bestimmtheitsmaß	$0,9949$
Nachweisgrenze nach Gottwald	$0,304 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
Bestimmungsgrenze nach Gottwald	$1,066 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Nonivamid gelöst in Acetonitril

Tabelle 7.7: Kalibrierungsbereich $0,05 - 0,50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Parameter	Wert
Steigung	$1,1233 \text{ mAU} \cdot \text{min} \cdot \text{mL} \cdot \mu\text{g}^{-1}$
Achsenabschnitt	$-0,0370 \text{ mAU min}$
Bestimmtheitsmaß	0,9878
Nachweisgrenze nach Gottwald	$0,023 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
Bestimmungsgrenze nach Gottwald	$0,079 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Tabelle 7.8: Kalibrierungsbereich $0,1 - 1,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Parameter	Wert
Steigung	$1,0023 \text{ mAU} \cdot \text{min} \cdot \text{mL} \cdot \mu\text{g}^{-1}$
Achsenabschnitt	$-0,0150 \text{ mAU min}$
Bestimmtheitsmaß	0,9911
Nachweisgrenze nach Gottwald	$0,042 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
Bestimmungsgrenze nach Gottwald	$0,146 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Tabelle 7.9: Kalibrierungsbereich $1,0 - 10,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Parameter	Wert
Steigung	$1,0228 \text{ mAU} \cdot \text{min} \cdot \text{mL} \cdot \mu\text{g}^{-1}$
Achsenabschnitt	$-0,0150 \text{ mAU min}$
Bestimmtheitsmaß	0,9994
Nachweisgrenze nach Gottwald	$0,109 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
Bestimmungsgrenze nach Gottwald	$0,390 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Avobenzon gelöst in Acetonitril

Tabelle 7.10: Kalibrierungsbereich $0,05 - 0,50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Parameter	Wert
Steigung	$4,9954 \text{ mAU} \cdot \text{min} \cdot \text{mL} \cdot \mu\text{g}^{-1}$
Achsenabschnitt	$-0,0230 \text{ mAU min}$
Bestimmtheitsmaß	0,9971
Nachweisgrenze nach Gottwald	$0,011 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
Bestimmungsgrenze nach Gottwald	$0,040 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Tabelle 7.11: Kalibrierungsbereich $0,1 - 1,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Parameter	Wert
Steigung	$4,9717 \text{ mAU} \cdot \text{min} \cdot \text{mL} \cdot \mu\text{g}^{-1}$
Achsenabschnitt	$0,0026 \text{ mAU min}$
Bestimmtheitsmaß	0,9954
Nachweisgrenze nach Gottwald	$0,031 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
Bestimmungsgrenze nach Gottwald	$0,109 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Tabelle 7.12: Kalibrierungsbereich $1,0 - 10,0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

Parameter	Wert
Steigung	$5,2932 \text{ mAU} \cdot \text{min} \cdot \text{mL} \cdot \mu\text{g}^{-1}$
Achsenabschnitt	$-0,3450 \text{ mAU min}$
Bestimmtheitsmaß	0,9974
Nachweisgrenze nach Gottwald	$0,230 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
Bestimmungsgrenze nach Gottwald	$0,816 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

7.1.2 Flüssig-flüssig-Extraktion

Tabelle 7.13: Ermittelte Peakflächen von Avobenzon und Nonivamid sowie deren Gemisch vor und nach dem Ausschütteln mit gesättigter Magnesiumsulfat-Lösung. Die Konzentration der Lösungen beträgt $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. Alle Werte sind Mittelwerte \pm Standardabweichung, $n = 6$

	Avobenzon	Nonivamid	Avobenzon und Nonivamid
Peakfläche t_0 [mAU/min]	$4,510 \pm 0,019$	$1,301 \pm 0,061$	AVB $4,374 \pm 0,038$ NVA $1,282 \pm 0,025$
Peakfläche t_∞ [mAU/min]	$5,414 \pm 0,080$	$1,562 \pm 0,023$	AVB $5,394 \pm 0,245$ NVA $1,696 \pm 0,105$
Verhältnis $\frac{t_0}{t_\infty}$ [1]	0,833	0,871	AVB 0,811 NVA 0,756
Relative Stabw. [%]	1,5	1,5	AVB 4,5 NVA 6,5

7.2 Zu den Ergebnissen

7.2.1 Übersicht über die untersuchten Formulierungen

Tabelle 7.14: Übersicht über die qualitative und quantitative Zusammensetzung aller in dieser Arbeit untersuchten Formulierungen. Alle Angaben in Massenprozent

Kennzeichnung	Methylcellulose	Natriumcitrat	Macrogol (Typ)	Zusatzstoff	Disperse Phase (Typ)	Nonivamid	Wasser
#014	4,8	2,1	6,0 (8000)		25,0 (IPM)		62,1
#015	4,8	2,1	6,0 (40 000)		25,0 (IPM)		62,1
#023	4,8	2,1	6,0 (8000)		24,9 (IPM)	0,125 ^a	62,1
#025	4,8		6,0 (8000)		24,9 (IPM)	0,125 ^a	64,2
#026	4,8		6,0 (4000)		25,0 (MCT)		64,2
#027	4,8		6,0 (8000)		25,0(MCT)		64,2
#029	4,8	2,1	6,0 (8000)	15,0 ^{PG}	25,0 (MCT)		47,1
#031	4,8	2,1	6,0 (4000)	9,0 ^{PG}	25,0 (MCT)		53,1
#045	4,8	2,1	6,0 (4000)	9,0 ^{GL}	25,0 (MCT)		53,1
#055	4,8	2,1	6,0 (4000)	15,0 ^{GL}	25,0 (MCT)		47,1
#063	4,8	2,1	6,0 (4000)	8,1 ^{EtOH}	25,0 (MCT)	0,9 ^b	53,1
#065	4,8	2,1	6,0 (4000)		25,0 (MCT)		62,1
#066	4,8	2,1	6,0 (4000)		25,0 (MCT)		62,1
#067	4,8	2,1	6,0 (4000)		25,0 (MCT)		62,1
#068	4,8	2,1	6,0 (4000)	15,0 ^{EtOH}	25,0 (MCT)		47,1
#069	4,8	2,1	6,0 (4000)	15,0 ^{EtOH}	25,0 (MCT)		47,1

Tabelle 7.14: Übersicht über die qualitative und quantitative Zusammensetzung aller in dieser Arbeit untersuchten Formulierungen (Fortsetzung)

Kennzeichnung	Methylcellulose	Natriumcitrat	Macrogol (Typ)	Zusatzstoff ^{EtOH, GL, PG}	Disperse Phase (Typ)	Nonivamid ^{a,b}	Wasser
#070	4,8	2,1	6,0 (4000)	15,0 ^{EtOH}	25,0 (MCT)		47,1
#071	4,8	2,1	6,0 (4000)	15,0 ^{PG}	25,0 (MCT)		47,1
#072	4,8	2,1	6,0 (4000)	15,0 ^{PG}	25,0 (MCT)		47,1
#073	4,8	2,1	6,0 (4000)	15,0 ^{PG}	25,0 (MCT)		47,1
#074	4,8	2,1	6,0 (4000)	15,0 ^{GL}	25,0 (MCT)		47,1
#075	4,8	2,1	6,0 (4000)	15,0 ^{GL}	25,0 (MCT)		47,1
#076	4,8	2,1	6,0 (4000)	15,0 ^{GL}	25,0 (MCT)		47,1
#086	1,0	2,1	6,0 (200)	8,1 ^{EtOH}	25,0 (MCT)	0,9 ^a	56,9
#087	0,5	2,1	6,0 (200)	8,1 ^{EtOH}	25,0 (MCT)	0,9 ^a	57,4
#088	4,8	2,1	6,0 (4000)		24,1 (MCT)	0,9 ^a	62,1
#089	4,8	2,1	6,0 (4000)	9,0 ^{EtOH}	24,1 (MCT)	0,9 ^a	53,1
#090	4,8	2,1	6,0 (4000)	9,0 ^{PG}	24,1 (MCT)	0,9 ^a	53,1
#097	4,8	2,1	6,0 (4000)	9,0 ^{EtOH}	24,7 (MCT)	0,3 ^a	53,1
#098	4,8	2,1	6,0 (4000)	9,0 ^{EtOH}	24,5 (MCT)	0,5 ^a	53,1
#099	4,8	2,1	6,0 (4000)	9,0 ^{EtOH}	24,1 (MCT)	0,9 ^a	53,1
#100	1,0	2,1	6,0 (4000)	9,0 ^{EtOH}	24,1 (MCT)	0,9 ^a	56,9
#101	0,5	2,1	6,0 (4000)	9,0 ^{EtOH}	24,1 (MCT)	0,9 ^a	57,4
#102	4,8	2,1	6,0 (200)	9,0 ^{EtOH}	24,1 (MCT)	0,9 ^a	53,1

Tabelle 7.14: Übersicht über die qualitative und quantitative Zusammensetzung aller in dieser Arbeit untersuchten Formulierungen (Fortsetzung)

Kennzeichnung	Methylcellulose	Natriumcitrat	Macrogol (Typ)	Zusatzstoff ^{EtOH, Gl, PG}	Disperse Phase (Typ)	Nonivamid ^{a,b}	Wasser
#103	1,0	2,1	6,0 (200)	9,0 ^{EtOH}	24,1 (MCT)	0,9 ^a	56,9
#104	0,5	2,1	6,0 (200)	9,0 ^{EtOH}	24,1 (MCT)	0,9 ^a	57,4
#105	4,8	2,1	6,0 (4000)	9,0 ^{EtOH}	25,0 (MCT)		53,1
#106	1,0	2,1	6,0 (4000)	9,0 ^{EtOH}	25,0 (MCT)		56,9
#107	0,5	2,1	6,0 (4000)	9,0 ^{EtOH}	25,0 (MCT)		57,4
#108	4,8	2,1	6,0 (200)	9,0 ^{EtOH}	25,0 (MCT)		53,1
#109	1,0	2,1	6,0 (200)	9,0 ^{EtOH}	25,0 (MCT)		56,9
#110	0,5	2,1	6,0 (200)	9,0 ^{EtOH}	25,0 (MCT)		57,4
#111	4,8	2,1	6,0 (4000)	9,0 ^{EtOH}	24,7 (MCT)	0,3 ^a	53,1
#112	4,8	2,1	6,0 (4000)	9,0 ^{EtOH}	25,0 (MCT)		53,1
#113	1,0	2,1	6,0 (4000)	9,0 ^{EtOH}	25,0 (MCT)		56,9
#114	0,5	2,1	6,0 (4000)	9,0 ^{EtOH}	25,0 (MCT)		57,4
#115	4,8	2,1	6,0 (200)	9,0 ^{EtOH}	25,0 (MCT)		53,1
#116	1,0	2,1	6,0 (200)	9,0 ^{EtOH}	25,0 (MCT)		56,9
#117	0,5	2,1	6,0 (200)	9,0 ^{EtOH}	25,0 (MCT)		57,4
#118	4,8	2,1	6,0 (4000)	15,0 ^{PG}	25,0 (MCT)		47,1
#119	4,8	2,1	6,0 (4000)	15,0 ^{EtOH}	25,0 (MCT)		47,1
#120	4,8	2,1	6,0 (4000)	15,0 ^{GL}	25,0 (MCT)		47,1

Tabelle 7.14: Übersicht über die qualitative und quantitative Zusammensetzung aller in dieser Arbeit untersuchten Formulierungen (Fortsetzung)

Kennzeichnung	Methylcellulose	Natriumcitrat	Macrogol (Typ)	Zusatzstoff ^{EtOH, GL, PG}	Disperse Phase (Typ)	Nonivamid ^{a,b}	Wasser
#121	4,8	2,1	6,0 (4000)		25,0 (MCT)		62,1

^a Gelöst in disperser Phase ^b Gelöst in Ethanol ^{EtOH} Ethanol ^{GL} Glycerol ^{PG} Propylenglycol

7.2.2 Ex-vivo-Permeationsuntersuchungen

Hydrophile Nonivamid-Creme

Tabelle 7.15: Übersicht über den Einfluss von Haut-Haut-Kontakt auf die HNC 0,9 %. Aufgelistet sind Permeationsrate und kumulativ permeierte Masse nach 48 h. Es werden 5400 Kontakte mit 30 min^{-1} simuliert. Gezeigt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Permeationsrate [$\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$]		Permeierte Masse [$\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$]	
Kontrolle	H/H	Kontrolle	H/H
$15,93 \pm 1,44$	$8,30 \pm 2,69$	$0,14 \pm 0,15$	$0,09 \pm 0,06$

Tabelle 7.16: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses auf die Hautpermeabilität

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	5	77,43	15,49	1,44
1	Belastete Versuchsreihe	5	68,43	13,69	9,03

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	8,1	1	8,1
Innerhalb der Gruppen	41,9	8	5,2
Gesamt	50,0	9	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
1,55	5,32	0,2486

Tabelle 7.17: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses des Anpressdrucks

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
4	Konrolle	3	51,16	17,05	44,83
3	200 g	4	34,08	8,52	30,71
2	130 g	4	28,12	7,03	39,49
1	65 g	4	28,06	7,01	9,94

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	224,1	3	74,7
Innerhalb der Gruppen	330,1	11	30,0
Gesamt	554,1	14	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
2,49	3,59	0,1147

Tabelle 7.18: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses der Kontakthäufigkeit und -geschwindigkeit

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
3	Kontrolle	4	51,32	12,83	1,84
2	7 UpM	3	19,14	6,38	2,47
1	30 UpM	3	14,95	4,98	0,15

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	125,6	2	62,8
Innerhalb der Gruppen	10,8	7	1,5
Gesamt	136,4	9	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
40,83	4,74	0,0001

Tabelle 7.18: Ergebnis des Student-Newman-Keuls Post-hoc-Tests

Vergleich	Ergebnis	k	q berechnet	q Tabelle	signifikant
3 minus 1	7,85	3	11,72	4,16	ja
3 minus 2	6,45	2	9,63	3,34	ja
2 minus 1	1,40	2	1,95	3,34	nein

Tabelle 7.19: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Hydrophile Nonivamid-Creme; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	3	42,97	14,32	7,84
1	H/T	3	14,58	4,86	0,32

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	134,3	1	134,3
Innerhalb der Gruppen	16,3	4	4,1
Gesamt	150,6	5	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
32,91	7,71	0,0046

Tabelle 7.20: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Hydrophile Nonivamid-Creme; Vergleich der Permeationsrate

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	3	$5,72 \cdot 10^{-1}$	$1,91 \cdot 10^{-1}$	$4,60 \cdot 10^{-3}$
1	H/T	3	$1,53 \cdot 10^{-1}$	$5,10 \cdot 10^{-2}$	$7,37 \cdot 10^{-4}$

Tabelle 7.20: Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	$2,92 \cdot 10^{-2}$	1	$2,92 \cdot 10^{-2}$
Innerhalb der Gruppen	$1,07 \cdot 10^{-2}$	4	$2,67 \cdot 10^{-3}$
Gesamt	$3,99 \cdot 10^{-2}$	5	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
10,96	7,71	0,0296

Tabelle 7.21: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Hydrophile Nonivamid-Creme; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	3	44,04	14,68	2,519
1	H/T	3	12,75	4,25	$3,48 \cdot 10^{-3}$

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	163,2	1	163,2
Innerhalb der Gruppen	5,0	4	1,3
Gesamt	168,3	5	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
129,43	7,71	0,0003

Tabelle 7.22: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Hydrophile Nonivamid-Creme; Vergleich der Permeationsrate

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	3	$4,69 \cdot 10^{-2}$	$1,56 \cdot 10^{-2}$	$3,86 \cdot 10^{-5}$
1	H/T	3	$3,43 \cdot 10^{-2}$	$1,14 \cdot 10^{-2}$	$9,11 \cdot 10^{-5}$

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	$2,63 \cdot 10^{-5}$	1	$2,63 \cdot 10^{-5}$
Innerhalb der Gruppen	$2,60 \cdot 10^{-4}$	4	$6,49 \cdot 10^{-5}$
Gesamt	$2,86 \cdot 10^{-4}$	5	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
0,41	7,71	0,5589

Tabelle 7.23: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Hydrophile Nonivamid-Creme; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	4	51,32	12,83	1,84
1	H/T	3	14,95	4,98	$1,54 \cdot 10^{-1}$

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	105,6	1	105,6
Innerhalb der Gruppen	5,8	5	1,2
Gesamt	111,4	6	

Tabelle 7.23: Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA) (Fortsetzung)

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
90,70	6,61	0,0002

Tabelle 7.24: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Hydrophile Nonivamid-Creme; Vergleich der Permeationsrate

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	4	$7,99 \cdot 10^{-1}$	$2,00 \cdot 10^{-1}$	$1,98 \cdot 10^{-4}$
1	H/T	3	$2,73 \cdot 10^{-1}$	$9,10 \cdot 10^{-2}$	$3,49 \cdot 10^{-5}$

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	$2,03 \cdot 10^{-2}$	1	$2,03 \cdot 10^{-2}$
Innerhalb der Gruppen	$6,62 \cdot 10^{-4}$	5	$1,32 \cdot 10^{-4}$
Gesamt	$2,10 \cdot 10^{-2}$	6	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
153,12	6,61	0,0001

Tabelle 7.25: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Haut-Kontakt auf die Hydrophile Nonivamid-Creme; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	3	47,78	15,93	2,07
1	H/H	3	24,91	8,30	7,22

Tabelle 7.25: Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	87,2	1	87,2
Innerhalb der Gruppen	18,6	4	4,6
Gesamt	105,8	5	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
18,78	7,71	0,0123

Tabelle 7.26: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Haut-Kontakt auf die Hydrophile Nonivamid-Creme; Vergleich der Permeationsrate

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	3	$4,33 \cdot 10^{-1}$	$1,44 \cdot 10^{-1}$	$2,15 \cdot 10^{-2}$
1	H/H	3	$2,85 \cdot 10^{-1}$	$9,48 \cdot 10^{-2}$	$3,13 \cdot 10^{-3}$

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	$3,67 \cdot 10^{-3}$	1	$3,67 \cdot 10^{-3}$
Innerhalb der Gruppen	$4,93 \cdot 10^{-2}$	4	$1,23 \cdot 10^{-2}$
Gesamt	$5,30 \cdot 10^{-2}$	5	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
0,30	7,71	0,6141

Öl-in-Öl-Emulsion

Tabelle 7.27: Übersicht über den Einfluss von Haut-Haut-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion 0,9 %. Aufgelistet sind Permeationsrate und kumulativ permeierte Masse nach 48 h. Es werden 5400 Kontakte mit 30 min^{-1} simuliert. Gezeigt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

		Permeationsrate [$\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$]	Permeierte Masse [$\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$]	
	Kontrolle	H/H	Kontrolle	H/H
	$4,62 \pm 1,18$	$2,01 \pm 0,43$	$0,10 \pm 0,02$	$0,03 \pm 0,00$

Tabelle 7.28: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Haut-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	3	13,87	4,62	1,40
1	H/H	3	6,03	2,01	$1,84 \cdot 10^{-1}$

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	10,2	1	10,2
Innerhalb der Gruppen	3,2	4	$7,93 \cdot 10^{-1}$
Gesamt	13,4	5	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
12,91	7,71	0,0229

Tabelle 7.29: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Haut-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion; Vergleich der Permeationsrate

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	3	$3,04 \cdot 10^{-1}$	$1,01 \cdot 10^{-1}$	$6,11 \cdot 10^{-4}$
1	H/H	3	$8,44 \cdot 10^{-2}$	$2,81 \cdot 10^{-2}$	$8,38 \cdot 10^{-6}$

Tabelle 7.29: Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	$8,02 \cdot 10^{-3}$	1	$8,02 \cdot 10^{-3}$
Innerhalb der Gruppen	$1,24 \cdot 10^{-3}$	4	$3,10 \cdot 10^{-4}$
Gesamt	$9,25 \cdot 10^{-3}$	5	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
25,89	7,71	0,0070

Tabelle 7.30: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	3	8,78	2,93	$6,56 \cdot 10^{-1}$
1	H/T	3	3,75	1,25	$2,83 \cdot 10^{-1}$

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	4,2	1	4,22
Innerhalb der Gruppen	1,9	4	$4,69 \cdot 10^{-1}$
Gesamt	6,1	5	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
8,99	7,71	0,0400

Tabelle 7.31: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion; Vergleich der Permeationsrate

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	3	$1,99 \cdot 10^{-1}$	$6,63 \cdot 10^{-2}$	$5,49 \cdot 10^{-4}$
1	H/T	3	$5,70 \cdot 10^{-2}$	$1,90 \cdot 10^{-2}$	$4,46 \cdot 10^{-5}$

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	$3,35 \cdot 10^{-3}$	1	$3,35 \cdot 10^{-3}$
Innerhalb der Gruppen	$1,19 \cdot 10^{-3}$	4	$2,97 \cdot 10^{-4}$
Gesamt	$4,54 \cdot 10^{-3}$	5	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
11,29	7,71	0,0283

Tabelle 7.32: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	3	8,48	2,83	3,33
1	H/T	3	2,36	0,79	$2,14 \cdot 10^{-2}$

Tabelle 7.32: Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	6,24	1	6,24
Innerhalb der Gruppen	6,71	4	1,68
Gesamt	12,95	5	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
3,72	7,71	0,1260

Tabelle 7.33: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion; Vergleich der Permeationsrate

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	3	$1,82 \cdot 10^{-1}$	$6,07 \cdot 10^{-2}$	$1,75 \cdot 10^{-3}$
1	H/T	3	$4,01 \cdot 10^{-2}$	$1,34 \cdot 10^{-2}$	$3,08 \cdot 10^{-6}$

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	$3,36 \cdot 10^{-3}$	1	$3,36 \cdot 10^{-3}$
Innerhalb der Gruppen	$3,51 \cdot 10^{-3}$	4	$8,78 \cdot 10^{-4}$
Gesamt	$6,87 \cdot 10^{-3}$	5	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
3,82	7,71	0,1222

Tabelle 7.34: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	3	14,56	4,85	$4,07 \cdot 10^{-1}$
1	H/T	3	3,16	1,05	$1,05 \cdot 10^{-1}$

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	21,7	1	21,7
Innerhalb der Gruppen	1,0	4	$2,56 \cdot 10^{-1}$
Gesamt	22,7	5	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
84,69	7,71	0,0008

Tabelle 7.35: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die Öl-in-Öl-Emulsion; Vergleich der Permeationsrate

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	3	$3,44 \cdot 10^{-1}$	$1,15 \cdot 10^{-1}$	$2,42 \cdot 10^{-4}$
1	H/T	3	$5,05 \cdot 10^{-2}$	$1,68 \cdot 10^{-2}$	$2,05 \cdot 10^{-5}$

Tabelle 7.35: Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	$1,43 \cdot 10^{-2}$	1	$1,43 \cdot 10^{-2}$
Innerhalb der Gruppen	$5,24 \cdot 10^{-4}$	4	$1,31 \cdot 10^{-4}$
Gesamt	$1,48 \cdot 10^{-2}$	5	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
109,34	7,71	0,0005

Filmbildende Formulierung

Tabelle 7.36: Übersicht über den Einfluss von Haut-Textil-Kontakt auf die filmbildende Formulierung 0,9%. Aufgelistet sind Permeationsrate und kumulativ permeierte Masse nach 48 h. Es werden 5400 Kontakte mit 30 min^{-1} simuliert. Gezeigt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Permeationsrate [$\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$]		Permeierte Masse [$\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$]	
Kontrolle	H/T	Kontrolle	H/T
$0,848 \pm 0,430$	$0,567 \pm 0,215$	$0,016 \pm 0,008$	$0,011 \pm 0,004$

Tabelle 7.37: Übersicht über den Einfluss von Haut-Haut-Kontakt auf die filmbildende Formulierung 0,9%. Aufgelistet sind Permeationsrate und kumulativ permeierte Masse nach 48 h. Es werden 5400 Kontakte mit 30 min^{-1} simuliert. Gezeigt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung; $n = 3$

Permeationsrate [$\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$]		Permeierte Masse [$\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$]	
Kontrolle	H/H	Kontrolle	H/H
$0,417 \pm 0,190$	$0,465 \pm 0,057$	$0,007 \pm 0,004$	$0,005 \pm 0,003$

Tabelle 7.38: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die filmbildende Formulierung; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	4	3,39	$8,48 \cdot 10^{-1}$	$1,85 \cdot 10^{-1}$
1	H/T	3	1,70	$5,67 \cdot 10^{-1}$	$4,62 \cdot 10^{-2}$

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	$1,35 \cdot 10^{-1}$	1	$1,35 \cdot 10^{-1}$
Innerhalb der Gruppen	$6,48 \cdot 10^{-1}$	5	$1,30 \cdot 10^{-1}$
Gesamt	$7,83 \cdot 10^{-1}$	6	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
1,04	6,61	0,3546

Tabelle 7.39: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Textil-Kontakt auf die filmbildende Formulierung; Vergleich der Permeationsrate

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	4	$6,52 \cdot 10^{-2}$	$1,63 \cdot 10^{-2}$	$6,44 \cdot 10^{-5}$
1	H/T	3	$3,24 \cdot 10^{-2}$	$1,08 \cdot 10^{-2}$	$1,36 \cdot 10^{-5}$

Tabelle 7.39: Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	$5,19 \cdot 10^{-5}$	1	$5,19 \cdot 10^{-5}$
Innerhalb der Gruppen	$2,20 \cdot 10^{-4}$	5	$4,41 \cdot 10^{-5}$
Gesamt	$2,72 \cdot 10^{-4}$	6	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
1,18	6,61	0,3275

Tabelle 7.40: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Haut-Kontakt auf die filmbildende Formulierung; Vergleich der permeierten Menge nach 48 h

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	H/H	3	1,40	$4,65 \cdot 10^{-1}$	$3,23 \cdot 10^{-3}$
1	Kontrolle	3	1,25	$4,17 \cdot 10^{-1}$	$3,63 \cdot 10^{-2}$

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	$3,47 \cdot 10^{-3}$	1	$3,47 \cdot 10^{-3}$
Innerhalb der Gruppen	$7,90 \cdot 10^{-2}$	4	$1,98 \cdot 10^{-2}$
Gesamt	$8,25 \cdot 10^{-2}$	5	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
0,18	7,71	0,6965

Tabelle 7.41: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Permeationsversuchs zur Bestimmung des Einflusses von Haut-Haut-Kontakt auf die filmbildende Formulierung; Vergleich der Permeationsrate

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
2	Kontrolle	3	$1,96 \cdot 10^{-2}$	$6,54 \cdot 10^{-3}$	$1,93 \cdot 10^{-5}$
1	H/H	3	$1,38 \cdot 10^{-2}$	$4,60 \cdot 10^{-3}$	$1,21 \cdot 10^{-5}$

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	$5,66 \cdot 10^{-6}$	1	$5,66 \cdot 10^{-6}$
Innerhalb der Gruppen	$6,27 \cdot 10^{-5}$	4	$1,57 \cdot 10^{-5}$
Gesamt	$6,84 \cdot 10^{-5}$	5	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
0,36	7,71	0,5805

7.2.3 In-vivo-Substantivitätsmessungen

Tabelle 7.42: Vergleich der Substantivität der Hydrophilen Nonivamid-Creme mit 0,9 % Nonivamid. Gezeigt sind die Ergebnisse aus den Ex-vivo-Experimenten und den In-vivo-Untersuchungen. Gezeigt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung

	Ex-vivo- Permeationsexperiment (n = 8)	In-vivo- Substantivitätsmessungen (n = 6)
Entfernter Anteil [%]	53,8 \pm 9,6	72,0 \pm 9,7
Permeierter und penetrierter Anteil [%]	33,7 \pm 9,8	
Hautoberfläche [%]	12,5 \pm 4,8	28,0 \pm 9,7

Tabelle 7.43: Vergleich der Substantivität der O/O-Emulsion mit 0,9 % Nonivamid. Gezeigt sind die Ergebnisse aus den Ex-vivo-Experimenten und den In-vivo-Untersuchungen. Gezeigt ist der arithmetische Mittelwert \pm Standardabweichung

	Ex-vivo- Permeationsexperiment (n = 3)	In-vivo- Substantivitätsmessungen (n = 8)
Entfernter Anteil [%]	72,6 \pm 5,1	94,7 \pm 3,4
Permeierter und penetrierter Anteil [%]	14,5 \pm 2,8	
Hautoberfläche [%]	12,9 \pm 2,9	5,3 \pm 3,4

7.2.4 Rheologische Untersuchungen

Tabelle 7.44: Zusammenfassung der statistischen Analyse der oszillatorischen Messungen in Abhängigkeit der dispersen Phase und des verwendeten Macrogols; Vergleich des Speichermoduls

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
4	#027	3	10 015	3338	573 386
3	#015	3	9477	3159	1756
2	#026	3	8618	2873	287 956
1	#014	3	8551	2850	122 152

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	498 683	3	166 228
Innerhalb der Gruppen	1 970 502	8	246 313
Gesamt	2 469 185	11	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
0,67	4,07	0,5913

Tabelle 7.45: Zusammenfassung der statistischen Analyse der oszillatorischen Messungen in Abhängigkeit der dispersen Phase und des verwendeten Macrogols; Vergleich des Verlustfaktors

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
4	#027	3	$3,00 \cdot 10^{-1}$	$9,99 \cdot 10^{-2}$	$8,32 \cdot 10^{-6}$
3	#026	3	$2,59 \cdot 10^{-1}$	$8,62 \cdot 10^{-2}$	$1,80 \cdot 10^{-4}$
2	#015	3	$2,28 \cdot 10^{-1}$	$7,61 \cdot 10^{-2}$	$5,80 \cdot 10^{-7}$
1	#014	3	$2,20 \cdot 10^{-1}$	$7,34 \cdot 10^{-2}$	$9,60 \cdot 10^{-5}$

Tabelle 7.45: Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	$1,30 \cdot 10^{-3}$	3	$4,34 \cdot 10^{-4}$
Innerhalb der Gruppen	$5,70 \cdot 10^{-4}$	8	$7,13 \cdot 10^{-5}$
Gesamt	$1,87 \cdot 10^{-3}$	11	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
6,09	4,07	0,0184

Ergebnis des Student-Newman-Keuls Post-hoc-Tests, aufgelistet sind nur die paarweisen Vergleiche bis zum ersten nicht signifikanten Ergebnis

Vergleich	Ergebnis	k	q berechnet	q Tabelle	signifikant
4 minus 1	$2,66 \cdot 10^{-2}$	4	5,45	4,53	ja
4 minus 2	$2,38 \cdot 10^{-2}$	3	4,89	4,04	ja
4 minus 3	$1,37 \cdot 10^{-2}$	2	2,81	3,26	nein
3 minus 1	$1,29 \cdot 10^{-2}$	3	2,64	4,04	nein
2 minus 1	$2,73 \cdot 10^{-3}$	2	0,56	3,26	nein

Tabelle 7.46: Zusammenfassung der statistischen Analyse der oszillatorischen Messungen in Abhängigkeit der dispersen Phase und Natriumcitrat; Vergleich des Speichermoduls

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
4	#067	3	13 974	4658	570 076
3	#027	3	10 015	3338	573 386
2	#014	3	8551	2850	122 152
1	#025	3	1658	553	44 112

Tabelle 7.46: Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	26 353 384	3	8 784 461
Innerhalb der Gruppen	2 619 453	8	327 432
Gesamt	28 972 837	11	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
26,83	4,07	0,0002

Ergebnis des Student-Newman-Keuls Post-hoc-Tests, aufgelistet sind nur die paarweisen Vergleiche bis zum ersten nicht signifikanten Ergebnis

Vergleich	Ergebnis	k	q berechnet	q Tabelle	signifikant
4 minus 1	4105	4	12,43	4,53	ja
4 minus 2	1808	3	5,47	4,04	ja
4 minus 3	1320	2	3,99	3,26	ja
3 minus 1	2786	3	8,43	4,04	ja
3 minus 2	488	2	1,48	3,26	nein
2 minus 1	2298	2	6,95	3,26	ja

Tabelle 7.47: Zusammenfassung der statistischen Analyse der oszillatorischen Messungen in Abhängigkeit der dispersen Phase und Natriumcitrat; Vergleich des Verlustfaktors

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
4	#025	3	$5,13 \cdot 10^{-1}$	$1,71 \cdot 10^{-1}$	$8,43 \cdot 10^{-4}$
3	#067	3	$3,15 \cdot 10^{-1}$	$1,05 \cdot 10^{-1}$	$5,22 \cdot 10^{-6}$
2	#027	3	$3,00 \cdot 10^{-1}$	$9,99 \cdot 10^{-2}$	$8,32 \cdot 10^{-6}$
1	#014	3	$2,20 \cdot 10^{-1}$	$7,34 \cdot 10^{-2}$	$9,60 \cdot 10^{-5}$

Tabelle 7.47: Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	$1,55 \cdot 10^{-2}$	3	$5,18 \cdot 10^{-3}$
Innerhalb der Gruppen	$1,90 \cdot 10^{-3}$	8	$2,38 \cdot 10^{-4}$
Gesamt	$1,74 \cdot 10^{-2}$	11	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
21,76	4,07	0,0003

Ergebnis des Student-Newman-Keuls Post-hoc-Tests, aufgelistet sind nur die paarweisen Vergleiche bis zum ersten nicht signifikanten Ergebnis

Vergleich	Ergebnis	k	q berechnet	q Tabelle	signifikant
4 minus 1	$9,77 \cdot 10^{-2}$	4	10,97	4,53	ja
4 minus 2	$7,12 \cdot 10^{-2}$	3	7,99	4,04	ja
4 minus 3	$6,62 \cdot 10^{-2}$	2	7,44	3,26	ja
3 minus 1	$3,15 \cdot 10^{-2}$	3	3,53	4,04	nein
2 minus 1	$2,66 \cdot 10^{-2}$	2	2,98	3,26	nein

Tabelle 7.48: Zusammenfassung der statistischen Analyse der oszillatorischen Messungen in Abhängigkeit verschiedener Zusatzstoffe; Vergleich des Speichermoduls

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
7	9 % Glycerol	4	30 522	7631	$5,38 \cdot 10^6$
6	15 % Ethanol	3	17 851	5950	$3,23 \cdot 10^6$
5	Kein Alkohol	3	13 974	4658	$5,70 \cdot 10^5$
4	9 % Propylenglycol	3	5606	1869	$1,62 \cdot 10^5$
3	15 % Glycerol	4	3881	970	$3,34 \cdot 10^4$
2	15 % Propylenglycol	3	1030	343	$4,62 \cdot 10^3$
1	9 % Ethanol	3	951	317	$2,63 \cdot 10^4$

Tabelle 7.48: Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	182 207 309	6	30 367 885
Innerhalb der Gruppen	24 211 722	16	1 513 233
Gesamt	206 419 031	22	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
20,07	2,74	< 0,0001

Tabelle 7.48: Ergebnis des Student-Newman-Keuls Post-hoc-Tests, aufgelistet sind nur die paarweisen Vergleiche bis zum ersten nicht signifikanten Ergebnis

Vergleich	Ergebnis	k	q berechnet	q Tabelle	signifikant
7 minus 1	7313,5	7	11,01	4,74	ja
7 minus 2	7287,1	6	10,97	4,56	ja
7 minus 3	6660,4	5	10,83	4,33	ja
7 minus 4	5761,8	4	8,67	4,05	ja
7 minus 5	2972,5	3	4,47	3,65	ja
7 minus 6	1680,2	2	2,53	3,00	nein
6 minus 1	5633,3	6	7,93	4,56	ja
6 minus 2	5606,9	5	7,89	4,33	ja
6 minus 3	4980,2	4	7,50	4,05	ja
6 minus 4	4081,7	3	5,75	3,65	ja
6 minus 5	1292,3	2	1,82	3,00	nein
5 minus 1	4341,0	5	6,11	4,33	ja
5 minus 2	4314,6	4	6,07	4,05	ja
5 minus 3	3687,9	3	5,55	3,65	ja
5 minus 4	2789,3	2	3,93	3,00	ja
4 minus 1	1551,7	4	2,18	4,05	nein
3 minus 1	653,1	3	0,98	3,65	nein
2 minus 1	26,4	2	0,04	3,00	nein

Tabelle 7.49: Zusammenfassung der statistischen Analyse der oszillatorischen Messungen in Abhängigkeit verschiedener Zusatzstoffe; Vergleich des Verlustfaktors

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
7	15 % Ethanol	3	$3,90 \cdot 10^{-1}$	$1,30 \cdot 10^{-1}$	$8,78 \cdot 10^{-4}$
6	15 % Glycerol	3	$3,70 \cdot 10^{-1}$	$1,23 \cdot 10^{-1}$	$1,65 \cdot 10^{-4}$
5	15 % Propylenglycol	3	$3,25 \cdot 10^{-1}$	$1,08 \cdot 10^{-1}$	$7,91 \cdot 10^{-5}$
4	Kein Alkohol	3	$3,15 \cdot 10^{-1}$	$1,05 \cdot 10^{-1}$	$5,22 \cdot 10^{-6}$
3	9 % Ethanol	3	$2,80 \cdot 10^{-1}$	$9,33 \cdot 10^{-2}$	$1,52 \cdot 10^{-4}$
2	9 % Glycerol	4	$3,52 \cdot 10^{-1}$	$8,79 \cdot 10^{-2}$	$4,38 \cdot 10^{-5}$
1	9 % Propylenglycol	3	$2,05 \cdot 10^{-1}$	$6,83 \cdot 10^{-2}$	$1,15 \cdot 10^{-5}$

Tabelle 7.49: Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	$8,31 \cdot 10^{-3}$	6	$1,38 \cdot 10^{-3}$
Innerhalb der Gruppen	$2,72 \cdot 10^{-3}$	15	$1,81 \cdot 10^{-4}$
Gesamt	$1,10 \cdot 10^{-2}$	21	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
7,65	2,79	0,0007

Ergebnis des Student-Newman-Keuls Post-hoc-Tests, aufgelistet sind nur die paarweisen Vergleiche bis zum ersten nicht signifikanten Ergebnis

Vergleich	Ergebnis	k	q berechnet	q Tabelle	signifikant
7 minus 1	$6,18 \cdot 10^{-2}$	7	7,95	4,78	ja
7 minus 2	$4,22 \cdot 10^{-2}$	6	5,80	4,59	ja
7 minus 3	$3,68 \cdot 10^{-2}$	5	4,73	4,37	ja
7 minus 4	$2,52 \cdot 10^{-2}$	4	3,25	4,08	nein
6 minus 1	$5,51 \cdot 10^{-2}$	6	7,10	4,59	ja
6 minus 2	$3,55 \cdot 10^{-2}$	5	4,89	4,37	ja
6 minus 3	$3,01 \cdot 10^{-2}$	4	3,87	4,08	nein
5 minus 1	$3,99 \cdot 10^{-2}$	5	5,14	4,37	ja
5 minus 2	$2,03 \cdot 10^{-2}$	4	2,80	4,08	nein
4 minus 1	$3,66 \cdot 10^{-2}$	4	4,71	4,08	ja
4 minus 2	$1,69 \cdot 10^{-2}$	3	2,33	3,67	nein
3 minus 1	$2,50 \cdot 10^{-2}$	3	3,22	3,67	nein
2 minus 1	$1,96 \cdot 10^{-2}$	2	2,70	3,01	nein

Tabelle 7.50: Zusammenfassung der statistischen Analyse der oszillatorischen Messungen in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration und des verwendeten Macrogols; Vergleich des Speichermoduls

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
6	#102	3	7100	2367	4033
5	#099	3	951	317	26 325
4	#100	3	18,9	6,31	$9,40 \cdot 10^{-1}$
3	#101	5	23,2	4,64	4,87
2	#103	3	11,5	3,82	$2,34 \cdot 10^{-1}$
1	#104	3	6,34	2,11	$3,61 \cdot 10^{-2}$

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	13 815 725	5	2 763 145
Innerhalb der Gruppen	60 739	14	4338
Gesamt	13 876 464	19	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
636,89	2,96	< 0,0001

Tabelle 7.50: Ergebnis des Student-Newman-Keuls Post-hoc-Tests, aufgelistet sind nur die paarweisen Vergleiche bis zum ersten nicht signifikanten Ergebnis

Vergleich	Ergebnis	k	Q berechnet	Q Tabelle	signifikant
6 minus 1	2365	6	62,18	4,64	ja
6 minus 2	2363	5	62,13	4,41	ja
6 minus 3	2362	4	69,44	4,11	ja
6 minus 4	2360	3	62,07	3,70	ja
6 minus 5	2050	2	53,90	3,03	ja
5 minus 1	315	5	8,28	4,41	ja
5 minus 2	313	4	8,24	4,11	ja
5 minus 3	312	3	9,18	3,70	ja
5 minus 4	311	2	8,17	3,03	ja
4 minus 1	4,20	4	$1,10 \cdot 10^{-1}$	4,11	nein
3 minus 1	2,52	3	$7,42 \cdot 10^{-2}$	3,70	nein
2 minus 1	1,71	2	$4,50 \cdot 10^{-2}$	3,03	nein

Tabelle 7.51: Zusammenfassung der statistischen Analyse der oszillatorischen Messungen in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration und des verwendeten Macrogols; Vergleich des Verlustfaktors

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
6	#103	3	$5,67 \cdot 10^{-1}$	$1,89 \cdot 10^{-1}$	$8,32 \cdot 10^{-4}$
5	#104	3	$4,18 \cdot 10^{-1}$	$1,39 \cdot 10^{-1}$	$5,80 \cdot 10^{-3}$
4	#101	5	$6,11 \cdot 10^{-1}$	$1,22 \cdot 10^{-1}$	$4,47 \cdot 10^{-3}$
3	#100	3	$3,06 \cdot 10^{-1}$	$1,02 \cdot 10^{-1}$	$3,90 \cdot 10^{-5}$
2	#102	3	$2,89 \cdot 10^{-1}$	$9,64 \cdot 10^{-2}$	$1,76 \cdot 10^{-6}$
1	#099	3	$2,80 \cdot 10^{-1}$	$9,33 \cdot 10^{-2}$	$1,52 \cdot 10^{-4}$

Tabelle 7.51: Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	$2,00 \cdot 10^{-2}$	5	$3,99 \cdot 10^{-3}$
Innerhalb der Gruppen	$3,15 \cdot 10^{-2}$	14	$2,25 \cdot 10^{-3}$
Gesamt	$5,15 \cdot 10^{-2}$	19	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
1,77	2,96	0,1833

Tabelle 7.52: Übersicht der viskoelastische Eigenschaften der getesteten Formulierungen in Abschnitt 4.3.1. Die Werte stellen den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung dar, n = 3-4

Kennzeichnung	G' [Pa]	G'' [Pa]	tan δ [1]
Hydrophile Nonivamid-Creme	396 ± 32	233 ± 17	$0,59 \pm 0,01$
Öl-in-Öl-Emulsion	$1,37 \pm 1,21$	$1,40 \pm 0,19$	$0,98 \pm 0,84$
Modifizierte Hydrophile Nonivamid-Creme	833 ± 186	291 ± 109	$0,34 \pm 0,05$
#014, 5 °C	$1,4 \pm 0,5$	$19,8 \pm 0,3$	$16,6 \pm 7,7$
#014, 32 °C	2850 ± 350	207 ± 17	$0,7 \pm 0,01$

Tabelle 7.53: Dynamische Viskosität der Formulierungen aus Abschnitt 4.3.2 bei 32 °C. Die Werte stellen den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung dar, n = 3

Kennzeichnung	Dynamische Viskosität [Pa · s]
Hydrophile Nonivamid-Creme	40,8 \pm 6,6
#014	114,5 \pm 10,6
#015	35,1 \pm 2,4
#023	56,8 \pm 12,9
#025	9,4 \pm 0,9
#026	111,4 \pm 15,6
#027	85,3 \pm 5,4

Tabelle 7.54: Übersicht der viskoelastischen Eigenschaften in Anhängigkeit der getesteten Formulierungen bei 5 °C. Die Werte stellen den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung dar, n = 3-4

Kennzeichnung	G' [Pa]	G'' [Pa]	tan δ [1]
#014	1,4 \pm 0,5	19,8 \pm 0,3	16,6 \pm 7,7
#015	22,5 \pm 1,9	56,7 \pm 3,8	2,5 \pm 0,2
#025	8,2 \pm 0,7	52,5 \pm 0,4	6,4 \pm 0,6
#026	5,6 \pm 0,3	27,2 \pm 1,8	4,9 \pm 0,6
#027	1,8 \pm 0,7	18,4 \pm 0,9	12,0 \pm 6,5
#029	2,6 \pm 0,8	2,7 \pm 0,4	1,1 \pm 0,4
#031	2,3 \pm 0,8	4,2 \pm 0,3	2,1 \pm 1,1
#045	0,1 \pm 0,0	3,9 \pm 0,1	2,1 \pm 0,2
#055	2,5 \pm 1,1	1,1 \pm 0,2	0,4 \pm 0,1
#099	0,4 \pm 0,5	5,1 \pm 0,6	14,6 \pm 19,1
#100	0,5 \pm 0,5	0,7 \pm 0,3	1,1 \pm 0,8
#101	0,8 \pm 0,6	0,3 \pm 0,0	1,5 \pm 2,3
#102	12,5 \pm 1,4	26,4 \pm 0,9	2,1 \pm 0,2
#103	0,9 \pm 0,3	0,4 \pm 0,1	0,6 \pm 0,2
#104	0,6 \pm 0,7	0,5 \pm 0,6	0,4 \pm 0,4

7.2.5 Leitfähigkeit

Um die Phasenlage der Emulsionen zu bestimmen, wird die Leitfähigkeit der Emulsionen bei Raumtemperatur gemessen. Das genaue Vorgehen ist in Abschnitt 3.4.13 beschrieben. Zum Vergleich wird auch die Leitfähigkeit von mittelkettigen Triglyceriden bestimmt. Außerdem wird auch die wässrige Phase der Emulsionen vermessen.

Die Emulsionen unterscheiden sich nur in der Methylcellulose-Konzentration und im verwendeten Macrogol. Da die Emulsionen Natriumcitrat enthalten, ist keine Elektrolytzugabe zur Erhöhung der Leitfähigkeit nötig. Die Emulsionen werden 24 h nach der Herstellung vermessen. Die Zusammensetzung der wässrigen Phasen ist in Tabelle 7.56 aufgeführt. Da keine mittelkettigen Triglyceride eingearbeitet werden, ändert sich der prozentuale Anteil entsprechend. Da keine quantitative Aussage getroffen werden soll, um die einzelnen Emulsionen zu vergleichen, sondern lediglich zwischen wässriger und öliger Außenphase unterschieden werden soll, wird jeweils eine Einfachbestimmung durchgeführt.

Betrachtet man die Werte in Tabelle 7.55, dann zeigen alle Emulsionen eine merkliche Leitfähigkeit. Dem gegenüber kann bei mittelkettigen Triglyceriden erwartungsgemäß keine Leitfähigkeit detektiert werden. Vergleicht man die Emulsionen mit den wässrigen Phasen, dann sind die Werte in einer vergleichbaren Größenordnung.

Die Messungen zeigen, dass es sich bei den Zubereitungen um Öl-in-Wasser-Emulsionen han-

Tabelle 7.55: Leitfähigkeit der Thermoemulsionen bei einer Temperatur von 22 °C. Die vollständige Zusammensetzung ist in Tabelle 7.14 aufgelistet. Die Werte werden durch eine Einfachbestimmung erhalten.

Kennzeichnung	Leitfähigkeit [mS]
4,8 % Methylcellulose, Macrogol 4000 (#112)	2,37
1,0 % Methylcellulose, Macrogol 4000 (#113)	3,00
0,5 % Methylcellulose, Macrogol 4000 (#114)	3,11
4,8 % Methylcellulose, Macrogol 200 (#115)	2,78
1,0 % Methylcellulose, Macrogol 200 (#116)	3,23
0,5 % Methylcellulose, Macrogol 200 (#117)	3,34
Wässrige Phase A; 6,4 % Methylcellulose, Macrogol 200	3,90
Wässrige Phase B; 6,4 % Methylcellulose, Macrogol 4000	3,86
Mittelkettige Triglyceride	1×10^{-6}

delt.

Tabelle 7.56: Zusammensetzung der wässrigen Phasen A und B zur Leitfähigkeitsmessung

Bestandteil	Wässrige Phase A	Wässrige Phase B
	Anteil [%]	Anteil [%]
Methylcellulose	6,4	6,4
Natriumcitrat	2,8	2,8
Macrogol 4000	8,0	
Macrogol 200		8,0
Ethanol	12,0	12,0
Gereinigtes Wasser	70,8	70,8

7.2.6 Lagerstabilität

Tabelle 7.57: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion ohne Alkohol (#067) bei Raumtemperatur. Die Werte sind arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]
1	1,3	2,4 \pm 0,1	5,1 \pm 0,0	9,6 \pm 0,1
3	-0,4	2,1 \pm 0,1	4,9 \pm 0,0	9,5 \pm 0,0
7	0,9	2,2 \pm 0,0	5,0 \pm 0,0	9,6 \pm 0,1
14	5,6	2,2 \pm 0,2	5,0 \pm 0,1	9,6 \pm 0,1
21	15,2	2,4 \pm 0,1	5,0 \pm 0,1	9,6 \pm 0,1
27	2,9	2,4 \pm 0,0	5,0 \pm 0,0	9,5 \pm 0,0
21	15,1	2,4 \pm 0,0	5,1 \pm 0,0	9,7 \pm 0,0
55	2,6	2,3 \pm 0,1	5,0 \pm 0,0	9,6 \pm 0,1

Tabelle 7.58: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion ohne Alkohol (#065) bei 40 °C. Die Werte sind arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]
1	9,4	1,7 \pm 0,3	3,5 \pm 0,1	6,3 \pm 0,1
3	12,6	1,9 \pm 0,1	3,6 \pm 0,1	6,4 \pm 0,1
7	15,4	1,8 \pm 0,1	3,5 \pm 0,1	6,3 \pm 0,1
14	8,0	1,6 \pm 0,1	3,4 \pm 0,0	6,2 \pm 0,0
21	115,3	1,9 \pm 0,1	3,6 \pm 0,0	6,5 \pm 0,0
27	9,7	2,0 \pm 0,0	3,6 \pm 0,0	6,5 \pm 0,1
41	160,4	1,9 \pm 0,0	3,7 \pm 0,1	29,3 \pm 28,6
55	18,4	1,9 \pm 0,0	3,6 \pm 0,0	6,4 \pm 0,1

Tabelle 7.59: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion ohne Alkohol (#066) bei einem Temperaturgradient zwischen -5 und 40 °C. Die Werte sind arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichung; $n = 3$

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]
1	6,9	$1,7 \pm 0,2$	$3,4 \pm 0,1$	$6,2 \pm 0,1$
3	10,2	$1,9 \pm 0,0$	$3,6 \pm 0,0$	$6,3 \pm 0,0$
7	5,9	$1,8 \pm 0,1$	$3,5 \pm 0,1$	$6,2 \pm 0,1$

Tabelle 7.60: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion mit 15 % Ethanol (#070) bei Raumtemperatur. Die Werte sind arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichung; $n = 3$

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]
1	2,5	$2,6 \pm 0,0$	$3,8 \pm 0,0$	$5,6 \pm 0,0$
3	5,2	$2,6 \pm 0,0$	$3,8 \pm 0,0$	$5,6 \pm 0,0$
7	5,8	$2,6 \pm 0,0$	$3,8 \pm 0,0$	$5,6 \pm 0,0$
14	11,4	$2,6 \pm 0,1$	$3,8 \pm 0,0$	$5,6 \pm 0,1$
21	10,0	$2,7 \pm 0,0$	$3,8 \pm 0,0$	$5,7 \pm 0,0$
27	0,6	$2,7 \pm 0,0$	$3,9 \pm 0,0$	$5,6 \pm 0,1$
21	72,3	$2,7 \pm 0,0$	$3,8 \pm 0,0$	$5,5 \pm 0,1$
55	6,0	$2,8 \pm 0,0$	$3,9 \pm 0,0$	$5,5 \pm 0,0$

Tabelle 7.61: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion mit 15 % Ethanol (#069) bei 40 °C. Die Werte sind arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]
1	16,8	2,7 \pm 0,0	4,0 \pm 0,0	6,0 \pm 0,0
3	19,0	2,8 \pm 0,0	4,0 \pm 0,0	5,8 \pm 0,0
7	11,0	2,9 \pm 0,0	4,1 \pm 0,0	5,9 \pm 0,0
14	15,5	2,9 \pm 0,0	4,1 \pm 0,0	5,9 \pm 0,0
21	306,0	3,0 \pm 0,0	4,2 \pm 0,0	6,1 \pm 0,1
27	12,7	3,0 \pm 0,0	4,2 \pm 0,0	6,1 \pm 0,0
21	273,6	3,0 \pm 0,0	4,2 \pm 0,0	6,2 \pm 0,0
55	17,6	3,0 \pm 0,0	4,3 \pm 0,0	6,3 \pm 0,1

Tabelle 7.62: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion mit 15 % Ethanol (#068) bei einem Temperaturgradient zwischen -5 und 40 °C. Die Werte sind arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]
1	6,9	3,0 \pm 0,1	4,6 \pm 0,0	7,0 \pm 0,2
3	7,2	3,0 \pm 0,0	4,6 \pm 0,1	7,2 \pm 0,3
7	6,4	3,1 \pm 0,0	4,6 \pm 0,0	7,0 \pm 0,0
14	9,8	3,1 \pm 0,1	4,6 \pm 0,1	7,2 \pm 0,2
21	197,3	3,1 \pm 0,0	4,6 \pm 0,0	7,1 \pm 0,1
27	6,7	3,1 \pm 0,0	4,7 \pm 0,1	7,2 \pm 0,1
21	578,9	3,2 \pm 0,1	4,6 \pm 0,0	6,9 \pm 0,1
55	98,4	3,1 \pm 0,0	4,7 \pm 0,0	7,2 \pm 0,1

Tabelle 7.63: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion mit 15 % Propylenglycol (#071) bei Raumtemperatur. Die Werte sind arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]
1	-0,4	2,2 \pm 0,1	3,9 \pm 0,0	6,8 \pm 0,2
3	1,0	2,1 \pm 0,0	3,9 \pm 0,0	6,9 \pm 0,1
7	5,9	2,3 \pm 0,0	3,9 \pm 0,0	6,5 \pm 0,0
14	6,0	2,2 \pm 0,0	4,0 \pm 0,1	7,0 \pm 0,1
21	7,2	2,0 \pm 0,0	3,9 \pm 0,1	6,7 \pm 0,2
27	4,8	2,3 \pm 0,0	3,9 \pm 0,0	6,630 \pm 0,0

Tabelle 7.64: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion mit 15 % Propylenglycol (#072) bei 40 °C. Die Werte sind arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]
1	10,3	2,3 \pm 0,1	4,2 \pm 0,0	7,5 \pm 0,2
3	15,8	2,3 \pm 0,1	4,3 \pm 0,0	7,6 \pm 0,1
7	12,8	2,3 \pm 0,0	4,1 \pm 0,0	7,1 \pm 0,0
14	14,0	2,1 \pm 0,2	4,2 \pm 0,1	7,6 \pm 0,1
21	56,3	2,2 \pm 0,0	4,2 \pm 0,0	7,6 \pm 0,1
27	10,5	2,3 \pm 0,0	4,2 \pm 0,1	7,4 \pm 0,3
21	121,8	2,3 \pm 0,0	4,2 \pm 0,1	7,6 \pm 0,3
55	8,0	2,3 \pm 0,0	4,2 \pm 0,0	7,3 \pm 0,0

Tabelle 7.65: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion mit 15 % Propylenglycol (#073) bei einem Temperaturgradient zwischen -5 und 40 °C. Die Werte sind arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichung; $n = 3$

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]
1	6,1	$2,1 \pm 0,0$	$3,9 \pm 0,1$	$6,9 \pm 0,1$
3	-1,7	$2,1 \pm 0,0$	$3,9 \pm 0,0$	$6,9 \pm 0,1$
7	8,7	$2,3 \pm 0,0$	$3,9 \pm 0,0$	$6,5 \pm 0,0$
14	8,8	$2,2 \pm 0,0$	$3,9 \pm 0,0$	$6,9 \pm 0,1$

Tabelle 7.66: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion mit 15 % Glycerol (#074) bei Raumtemperatur. Die Werte sind arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichung; $n = 3$

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]
1	-0,4	$2,1 \pm 0,1$	$5,2 \pm 0,1$	$10,6 \pm 1,0$
3	0,9	$2,0 \pm 0,2$	$5,1 \pm 0,1$	$10,1 \pm 0,1$
7	2,7	$2,5 \pm 0,1$	$5,5 \pm 0,2$	$11,7 \pm 1,5$
14	5,2	$2,2 \pm 0,1$	$5,3 \pm 0,1$	$10,9 \pm 1,3$
21	3,7	$2,1 \pm 0,1$	$5,2 \pm 0,2$	$11,1 \pm 0,9$
27	1,9	$2,1 \pm 0,0$	$5,1 \pm 0,1$	$10,5 \pm 0,8$

Tabelle 7.67: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion mit 15 % Glycerol (#075) bei 40 °C. Die Werte sind arithmetischen Mittelwerte \pm Standardabweichung; $n = 3$

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]
1	11,1	$2,5 \pm 0,1$	$5,7 \pm 0,0$	$10,9 \pm 0,0$
3	12,5	$2,6 \pm 0,0$	$5,8 \pm 0,0$	$11,0 \pm 0,1$
7	23,8	$2,7 \pm 0,1$	$5,9 \pm 0,1$	$11,7 \pm 0,9$
14	14,8	$2,5 \pm 0,3$	$6,1 \pm 0,2$	$32,4 \pm 24,8$
21	25,9	$2,8 \pm 0,1$	$5,9 \pm 0,1$	$11,6 \pm 0,9$
27	31,2	$2,7 \pm 0,1$	$5,8 \pm 0,1$	$11,4 \pm 1,0$
21	42,3	$2,8 \pm 0,1$	$5,9 \pm 0,1$	$11,1 \pm 0,1$
55	60,5	$2,8 \pm 0,1$	$6,1 \pm 0,0$	$13,3 \pm 0,5$

Tabelle 7.68: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion mit 15 % Glycerol (#076) bei einem Temperaturgradient zwischen -5 und 40 °C. Die Werte sind arithmetischen Mittelwerte ± Standardabweichung; n = 3

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [µm]	D50 [µm]	D90 [µm]
1	6,7	2,1 ± 0,2	5,1 ± 0,1	9,9 ± 0,1
3	21,1	1,7 ± 0,1	5,0 ± 0,1	9,8 ± 0,1
7	12,6	2,3 ± 0,1	5,2 ± 0,0	9,9 ± 0,0
14	9,8	2,0 ± 0,1	5,1 ± 0,0	10,0 ± 0,1

Tabelle 7.69: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion mit 4,8 % Methylcellulose und Macrogol 4000 (#105) bei einem Temperaturgradient zwischen -5 und 40 °C. Die Werte sind arithmetischen Mittelwerte ± Standardabweichung; n = 3

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [µm]	D50 [µm]	D90 [µm]
0		1,3 ± 0,0	2,4 ± 0,0	3,8 ± 0,0
7	0,5	1,4 ± 0,0	2,4 ± 0,0	3,9 ± 0,0
14	1,4	1,4 ± 0,0	2,4 ± 0,0	3,9 ± 0,0
21	1,5	1,5 ± 0,0	2,5 ± 0,0	4,2 ± 0,0
28	0,1	1,4 ± 0,0	2,5 ± 0,0	4,2 ± 0,0
56	3,6	1,4 ± 0,1	2,7 ± 0,0	4,9 ± 0,0

Tabelle 7.70: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion mit 1,0 % Methylcellulose und Macrogol 4000(#106) bei einem Temperaturgradient zwischen -5 und 40 °C. Die Werte sind arithmetischen Mittelwerte ± Standardabweichung; n = 3

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [µm]	D50 [µm]	D90 [µm]
0		1,9 ± 0,0	4,9 ± 0,0	9,3 ± 0,0
7	1,6	2,0 ± 0,0	4,9 ± 0,0	9,3 ± 0,0
14	1,1	2,0 ± 0,0	4,9 ± 0,0	9,3 ± 0,0
21	9,1	2,2 ± 0,1	5,0 ± 0,1	10,3 ± 0,4
28	0,2	2,1 ± 0,2	5,0 ± 0,1	10,5 ± 0,4
56	2,3	2,2 ± 0,1	5,1 ± 0,1	11,0 ± 0,2

Tabelle 7.71: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion mit 0,5 % Methylcellulose und Macrogol 4000 (#107) bei einem Temperaturgradient zwischen –5 und 40 °C. Die Werte sind arithmetischen Mittelwerte ± Standardabweichung; n = 3

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [µm]	D50 [µm]	D90 [µm]
0		3,3 ± 0,0	6,7 ± 0,1	12,4 ± 0,2
7	0,1	3,4 ± 0,1	6,8 ± 0,1	13,0 ± 0,7
14	0,9	3,4 ± 0,1	7,0 ± 0,1	14,5 ± 0,6
21	1,4	3,5 ± 0,0	7,4 ± 0,1	27,3 ± 8,9
28	0,0	3,6 ± 0,1	7,7 ± 0,2	52,4 ± 6,4
56	1,4	3,4 ± 0,1	7,7 ± 0,0	51,8 ± 2,1

Tabelle 7.72: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion mit 4,8 % Methylcellulose und Macrogol 200 (#108) bei einem Temperaturgradient zwischen –5 und 40 °C. Die Werte sind arithmetischen Mittelwerte ± Standardabweichung; n = 3

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [µm]	D50 [µm]	D90 [µm]
0		1,4 ± 0,0	2,3 ± 0,0	3,5 ± 0,0
7	1,3	1,4 ± 0,0	2,3 ± 0,0	3,5 ± 0,0
14	2,2	1,4 ± 0,0	2,3 ± 0,0	3,5 ± 0,1
21	1,6	1,5 ± 0,0	2,3 ± 0,0	3,7 ± 0,1
28	0,3	1,1 ± 0,5	2,2 ± 0,1	3,7 ± 0,1
56	1,5	1,5 ± 0,1	2,4 ± 0,0	3,8 ± 0,1

Tabelle 7.73: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion mit 1,0 % Methylcellulose und Macrogol 200 (#109) bei einem Temperaturgradient zwischen –5 und 40 °C. Die Werte sind arithmetische Mittelwerte ± Standardabweichung; n = 3

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [µm]	D50 [µm]	D90 [µm]
0		2,7 ± 0,1	6,0 ± 0,1	11,1 ± 0,2
7	1,5	2,6 ± 0,1	5,8 ± 0,0	10,6 ± 0,0
14	1,6	2,7 ± 0,0	5,8 ± 0,0	10,6 ± 0,1
21	2,5	2,8 ± 0,0	5,8 ± 0,0	10,9 ± 0,0
28	0,0	2,5 ± 0,0	5,7 ± 0,0	10,9 ± 0,0
56	1,6	2,8 ± 0,0	6,0 ± 0,0	12,4 ± 0,0

Tabelle 7.74: Ergebnisse der Tropfengrößenanalyse in Abhängigkeit der Lagerzeit der Emulsion mit 0,5 % Methylcellulose und Macrogol 200 (#110) bei einem Temperaturgradient zwischen –5 und 40 °C. Die Werte sind arithmetischen Mittelwerte ± Standardabweichung; n = 3

Lagerzeit [d]	Massenverlust [mg]	D10 [µm]	D50 [µm]	D90 [µm]
0		3,1 ± 0,1	6,5 ± 0,1	12,0 ± 0,2
7	1,2	3,1 ± 0,0	6,5 ± 0,1	12,1 ± 0,2
14	0,7	3,1 ± 0,0	6,5 ± 0,0	12,1 ± 0,1
21	3,1	3,3 ± 0,1	6,6 ± 0,1	12,9 ± 0,5
28	0,8	3,0 ± 0,1	6,5 ± 0,1	13,2 ± 0,9
56	1,3	3,1 ± 0,1	6,7 ± 0,1	14,3 ± 0,2

7.2.7 Trübungspunktmessungen

Tabelle 7.75: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Trübungspunkt 0,5%iger Methylcellulose-Lösungen mit einem Anteil von 10 % eines Zusatzstoffes und 2,1 % Natriumcitrat

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
5	Kein Alkohol, kein Na-Citrat	3	203,52	67,84	$6,18 \cdot 10^{-3}$
4	Ethanol	3	197,24	65,75	$3,85 \cdot 10^{-1}$
3	Propylenglycol	3	180,33	60,11	20,81
2	Kein Alkohol	3	156,30	52,10	$4,57 \cdot 10^{-2}$
1	Glycerol	3	146,64	48,88	$4,56 \cdot 10^{-2}$

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	824,7	4	206,2
Innerhalb der Gruppen	42,6	10	4,3
Gesamt	867,3	14	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
48,41	3,48	< 0,0001

Tabelle 7.75: Ergebnis des Student-Newman-Keuls Post-hoc-Tests

Vergleich	Ergebnis	k	q berechnet	q Tabelle	signifikant
5 minus 1	18,96	5	15,91	4,65	ja
5 minus 2	15,74	4	13,21	4,33	ja
5 minus 3	7,73	3	6,49	3,88	ja
5 minus 4	2,09	2	1,76	3,15	nein
4 minus 1	16,87	4	14,15	4,33	ja
4 minus 2	13,65	3	11,45	3,88	ja
4 minus 3	5,64	2	4,73	3,15	ja
3 minus 1	11,23	3	9,43	3,88	ja
3 minus 2	8,01	2	6,72	3,15	ja
2 minus 1	3,22	2	2,70	3,15	nein

Tabelle 7.76: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Trübungspunkt 0,5%iger Methylcellulose-Lösungen mit einem Anteil von 20 % eines Zusatzstoffes, 2,1 % Natriumcitrat und 8 % Macrogol 4000

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
5	Kein Alkohol, kein Na-Citrat, kein Macrogol	3	203,52	67,84	$6,18 \cdot 10^{-3}$
4	Ethanol	3	191,32	63,77	21,01
3	Kein Alkohol, kein Macrogol	3	156,30	52,10	$4,57 \cdot 10^{-2}$
2	Propylenglycol	3	137,11	45,70	2,63
1	Glycerol	3	107,21	35,74	7,47

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	824,7	4	206,2
Innerhalb der Gruppen	42,6	10	4,3
Gesamt	867,3	14	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
48,41	3,48	< 0,0001

Tabelle 7.76: Ergebnis des Student-Newman-Keuls Post-hoc-Tests

Vergleich	Ergebnis	k	q berechnet	q Tabelle	signifikant
5 minus 1	32,10	5	22,27	4,65	ja
5 minus 2	22,14	4	15,36	4,33	ja
5 minus 3	15,74	3	10,92	3,88	ja
5 minus 4	4,07	2	2,82	3,15	nein
4 minus 1	28,04	4	19,45	4,33	ja
4 minus 2	18,07	3	12,54	3,88	ja
4 minus 3	11,68	2	8,10	3,15	ja
3 minus 1	16,36	3	11,35	3,88	ja
3 minus 2	6,39	2	4,44	3,15	ja
2 minus 1	9,97	2	6,92	3,15	ja

Tabelle 7.77: Zusammenfassung der statistischen Analyse des Trübungspunkts von 0,5%igen Methylcelluloselösungen in Abhängigkeit verschiedener Zusatzstoffe und verschiedener Macrogole. Die prozentuale Zusammensetzung entspricht der wässrigen Phase der Emulsionen

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
10	Kein Alkohol, ein Macrogol	3	203,52	67,84	$6,18 \cdot 10^{-3}$
9	Ethanol, Macrogol 4000	3	194,32	64,77	3,31
8	Ethanol, Macrogol 200	4	258,68	64,67	$1,73 \cdot 10^{-1}$
7	Ethanol, kein Macrogol	3	193,18	64,39	$1,06 \cdot 10^{-1}$
6	Propylenglycol, Macrogol 200	3	189,65	63,22	$8,76 \cdot 10^{-3}$
5	Propylenglycol, kein Macrogol	4	252,42	63,10	$2,78 \cdot 10^{-2}$
4	Propylenglycol, Macrogol 4000	3	187,01	62,34	3,46
3	Glycerol, kein Macrogol	4	246,04	61,51	$1,70 \cdot 10^{-4}$
2	Glycerol, Macrogol 4000	3	181,51	60,50	4,16
1	Glycerol, Macrogol 200	4	234,93	58,73	12,84

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	198,6	9	22,1
Innerhalb der Gruppen	61,2	24	2,6
Gesamt	259,8	33	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
8,65	2,30	< 0,0001

Tabelle 7.77: Ergebnis des Student-Newman-Keuls Post-hoc-Tests, aufgelistet sind nur die paarweisen Vergleiche bis zum ersten nicht signifikanten Ergebnis

Vergleich	Ergebnis	k	Q berechnet	Q Tabelle	signifikant
10 minus 1	9,11	10	10,56	4,92	ja
10 minus 2	7,34	9	7,95	4,81	ja
10 minus 3	6,33	8	7,34	4,68	ja
10 minus 4	5,50	7	5,97	4,54	ja
10 minus 5	4,73	6	5,49	4,37	ja
10 minus 6	4,62	5	5,01	4,17	ja
10 minus 7	3,45	4	3,74	3,90	nein
9 minus 1	6,04	9	7,00	4,81	ja
9 minus 2	4,27	8	4,63	4,68	nein
8 minus 1	5,94	8	7,43	4,68	ja
8 minus 2	4,17	7	4,83	4,54	ja
8 minus 3	3,16	6	3,96	4,37	nein
7 minus 1	5,66	7	6,56	4,54	ja
7 minus 2	3,89	6	4,22	4,37	nein
6 minus 1	4,48	6	5,20	4,37	ja
6 minus 2	2,71	5	2,94	4,17	nein
5 minus 1	4,37	5	5,47	4,17	ja
5 minus 2	2,60	4	3,02	3,90	nein
4 minus 1	3,60	4	4,18	3,90	ja
4 minus 2	1,83	3	1,99	3,53	nein
3 minus 1	2,78	3	3,48	3,53	nein
2 minus 1	1,77	2	2,05	2,92	nein

Tabelle 7.78: Zusammenfassung der statistischen Analyse der maximalen Viskositätszunahme von Emulsionen mit einem Anteil von 15 % eines Zusatzstoffes

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
4	#121	3	182,99	61,00	18,21
3	#119	5	232,51	46,50	129,53
2	#118	4	148,28	37,07	14,01
1	#120	3	74,31	24,77	0,00

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	2167,4	3	722,5
Innerhalb der Gruppen	596,6	11	54,2
Gesamt	2764,0	14	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
13,32	3,59	0,0006

Ergebnis des Student-Newman-Keuls Post-hoc-Tests

Vergleich	Ergebnis	k	q berechnet	q Tabelle	signifikant
4 minus 1	36,23	4	8,52	4,26	ja
4 minus 2	23,93	3	6,02	3,82	ja
4 minus 3	14,49	2	3,81	3,11	ja
3 minus 1	21,73	3	5,71	3,82	ja
3 minus 2	9,43	2	2,70	3,11	nein
2 minus 1	12,30	2	3,09	3,11	nein

7.2.8 Ex-vivo-Substantivitätsprüfungen

Tabelle 7.79: Ergebnisse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung bei simuliertem Haut-Haut-Kontakt in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration. Alle Werte sind arithmetische Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3-5.

Kennzeichnung	Methylcellulose [%]	Macrogol [g · mol ⁻¹]	Hautoberfläche [%]
HNC			68,0 \pm 4,1
#099	4,8	4000	91,5 \pm 2,8
#100	1,0	4000	75,0 \pm 7,2
#101	0,5	4000	71,7 \pm 7,9
#102	4,8	200	86,1 \pm 1,1
#103	1,0	200	71,9 \pm 3,1
#104	0,5	200	66,7 \pm 0,3

Tabelle 7.80: Zusammenfassung der statistischen Analyse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung der Emulsionen mit Macrogol 4000 und simulierten Haut-Haut-Kontakt

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
4	#099	4	366,11	91,53	8,12
3	#100	3	224,99	75,00	51,77
2	#101	3	215,23	71,74	62,67
1	HNC	5	340,02	68,00	16,82

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	1338,7	3	446,2
Innerhalb der Gruppen	320,5	11	29,1
Gesamt	1659,3	14	

Tabelle 7.80: Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA) (Fortsetzung)

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
15,31	3,59	0,0003

Ergebnis des Student-Newman-Keuls Post-hoc-Tests

Vergleich	Ergebnis	k	q berechnet	q Tabelle	signifikant
4 minus 1	23,52	4	9,19	4,26	ja
4 minus 2	19,78	3	6,79	3,82	ja
4 minus 3	16,53	2	5,67	3,11	ja
3 minus 1	6,99	3	2,51	3,82	nein
3 minus 2	3,25	2	1,04	3,11	nein
2 minus 1	3,74	2	1,34	3,11	nein

Tabelle 7.81: Zusammenfassung der statistischen Analyse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung der Emulsionen mit Macrogol 200 und simulierten Haut-Haut-Kontakt

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
4	#102	3	258,40	86,13	1,17
3	#103	3	215,76	71,92	9,47
2	HNC	5	340,02	68,00	16,82
1	#104	3	200,07	66,69	0,12

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	760,7	3	253,6
Innerhalb der Gruppen	88,8	10	8,9
Gesamt	849,5	13	

Tabelle 7.81: Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA) (Fortsetzung)

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
28,55	3,71	< 0,0001

Ergebnis des Student-Newman-Keuls Post-hoc-Tests

Vergleich	Ergebnis	k	q berechnet	q Tabelle	signifikant
4 minus 1	19,44	4	11,30	4,33	ja
4 minus 2	18,13	3	11,78	3,88	ja
4 minus 3	14,21	2	8,26	3,15	ja
3 minus 1	5,23	3	3,04	3,88	nein
3 minus 2	3,92	2	2,55	3,15	nein
2 minus 1	1,31	2	0,85	3,15	nein

Tabelle 7.82: Ergebnisse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung bei simuliertem Haut-Textil-Kontakt in Abhängigkeit der Methylcellulosekonzentration. Alle Werte sind Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3-5.

Kennzeichnung	Methylcellulose [%]	Macrogol [g · mol ⁻¹]	Hautoberfläche [%]
HNC			60,5 \pm 10,9
#063	4,8	4000	99,9 \pm 0,1
#100	1,0	4000	74,5 \pm 2,1
#101	0,5	4000	59,6 \pm 6,6
#102	4,8	200	92,2 \pm 1,3
#086	1,0	200	83,4 \pm 3,5
#087	0,5	200	76,2 \pm 3,6

Tabelle 7.83: Zusammenfassung der statistischen Analyse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung der Emulsionen mit Macrogol 4000 und simulierten Haut-Textil-Kontakt

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
4	#063	3	299,66	99,89	0,005
3	#100	3	223,64	74,55	4,55
2	HNC	4	242,03	60,51	118,69
1	#101	3	178,95	59,65	43,29

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	3333,2	3	1111,1
Innerhalb der Gruppen	451,7	9	50,2
Gesamt	3785,0	12	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
22,14	3,86	0,0002

Ergebnis des Student-Newman-Keuls Post-hoc-Tests

Vergleich	Ergebnis	k	q berechnet	q Tabelle	signifikant
4 minus 1	40,24	4	9,84	4,41	ja
4 minus 2	39,38	3	10,29	3,95	ja
4 minus 3	25,34	2	6,20	3,20	ja
3 minus 1	14,90	3	3,64	3,95	nein
3 minus 2	14,04	2	3,67	3,20	ja
2 minus 1	0,86	2	0,22	3,20	nein

Tabelle 7.84: Zusammenfassung der statistischen Analyse der Ex-vivo-Substantivitätsprüfung der Emulsionen mit Macrogol 200 und simulierten Haut-Textil-Kontakt

Nr.	Gruppe	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
4	#102	3	276,49	92,16	1,707
3	#086	3	252,82	84,27	13,86
2	#087	5	380,97	76,19	12,64
1	HNC	4	242,03	60,51	118,69

Ergebnis der Einweg-Varianzanalyse (ANOVA)

Streuungsursache	Quadratsummen	Freiheitsgrade	Mittlere Quadratsummen
Unterschiede zwischen den Gruppen	1939,3	3	646,4
Innerhalb der Gruppen	437,8	11	39,8
Gesamt	2377,0	14	

Prüfgröße F	Kritischer F-Wert	P-Wert
16,24	3,59	0,0002

Ergebnis des Student-Newman-Keuls Post-hoc-Tests

Vergleich	Ergebnis	k	q berechnet	q Tabelle	signifikant
4 minus 1	31,66	4	9,29	4,26	ja
4 minus 2	15,97	3	4,90	3,82	ja
4 minus 3	7,89	2	2,17	3,11	nein
3 minus 1	23,77	3	6,98	3,82	ja
3 minus 2	8,08	2	2,48	3,11	nein
2 minus 1	15,69	2	5,24	3,11	ja

7.2.9 Ex-vivo-Penetrationsuntersuchungen

Tabelle 7.85: Einfluss verschiedener Zusatzstoffe auf die penetrierte Wirkstoffmenge in den einzelnen Hautschichten bei 4 h Inkubationszeit. Alle Werte sind Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3

Kennzeichnung	Stratum corneum [ng]	Lebende Epidermis [ng]	Dermis [ng]
HNC 0,05 %	69,43 \pm 41,87	26,61 \pm 15,00	25,12 \pm 12,43
#090 Propylenglycol	279,76 \pm 65,04	99,19 \pm 87,91	96,65 \pm 48,53
#089 Ethanol	257,33 \pm 169,04	104,27 \pm 64,26	56,86 \pm 23,03
#088 ohne Alkohol	239,21 \pm 13,04	76,21 \pm 35,11	49,15 \pm 25,10

Tabelle 7.86: Einfluss der Konzentration auf die penetrierte Wirkstoffmenge in den einzelnen Hautschichten bei 4 h Inkubationszeit. Alle Werte sind Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3

Kennzeichnung	Stratum corneum [ng]	Lebende Epidermis [ng]	Dermis [ng]
HNC 0,05 %	20,76 \pm 4,51	11,99 \pm 6,38	7,30 \pm 1,70
#097 0,3 %	36,13 \pm 18,94	13,68 \pm 0,59	12,35 \pm 2,13
#098 0,5 %	67,88 \pm 32,21	19,67 \pm 7,29	23,61 \pm 11,16

Tabelle 7.87: Penetrierte Wirkstoffmenge in den einzelnen Hautschichten über einen Zeitraum von 24 h. Alle Werte sind Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3

Kennzeichnung	Inkubationszeit [h]	Stratum corneum [ng]	Lebende Epidermis [ng]	Dermis [ng]
HNC 0,05 %	1	12,04 \pm 4,08	7,92 \pm 4,19	8,56 \pm 4,55
HNC 0,05 %	4	31,90 \pm 8,73	12,26 \pm 9,42	6,87 \pm 3,52
HNC 0,05 %	12	35,67 \pm 23,63	9,40 \pm 3,71	10,13 \pm 4,45
HNC 0,05 %	24	23,44 \pm 11,51	9,05 \pm 4,90	7,34 \pm 3,78
Emulsion 0,3 %	1	20,96 \pm 4,98	12,65 \pm 5,80	6,68 \pm 1,46
Emulsion 0,3 %	4	14,97 \pm 7,54	7,91 \pm 4,59	7,09 \pm 2,85
Emulsion 0,3 %	12	53,40 \pm 27,83	15,68 \pm 1,99	9,50 \pm 2,83
Emulsion 0,3 %	24	98,11 \pm 68,68	21,59 \pm 13,89	19,78 \pm 3,94

Tabelle 7.88: Penetrierte Wirkstoffmenge in den einzelnen Hautschichten. Die Inkubationszeit beträgt 4 h. Alle Werte sind Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3-4.

Kennzeichnung	Stratum corneum [ng]	Lebende Epidermis [ng]	Dermis [ng]	Gesamt [ng]
HNC 0,05 %	53,38 \pm 11,39	10,16 \pm 7,09	5,84 \pm 1,39	69,37 \pm 17,45
HNC 0,05 % H/T	57,62 \pm 25,12	7,20 \pm 4,88	9,71 \pm 3,90	74,53 \pm 26,59
Emulsion 0,3 %	68,38 \pm 32,91	11,32 \pm 2,05	8,92 \pm 1,82	88,62 \pm 35,39
Emulsion 0,3 % H/T	59,13 \pm 23,00	26,21 \pm 8,03	13,00 \pm 7,23	98,34 \pm 36,85

Tabelle 7.89: Wiedergefundene Arzneistoffmenge am Applikationsort und im Textil bei simulierten Haut-Textil-Kontakt in Ex-vivo-Penetrationsexperimenten. Die Inkubationszeit beträgt 4 h. Die Werte stellen den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung dar, n = 3-4

Kennzeichnung	Textil [%]	Applikationsort [%]
HNC 0,05 %		71,4 \pm 2,1
HNC 0,05 %, H/T	41,2 \pm 23,8	33,4 \pm 13,8
Emulsion 0,3 %		91,1 \pm 7,5
Emulsion 0,3 %, H/T	3,2 \pm 2,2	81,4 \pm 10,4

Tabelle 7.90: Penetrierte Wirkstoffmenge in den einzelnen Hautschichten. Die Inkubationszeit beträgt 24 h. Alle Werte sind Mittelwerte \pm Standardabweichung; n = 3-4.

Kennzeichnung	Stratum corneum [ng]	Lebende Epidermis [ng]	Dermis [ng]	Gesamt [ng]
HNC 0,05 %	35,89 \pm 17,91	7,72 \pm 5,82	14,39 \pm 16,60	58,00 \pm 24,25
HNC 0,05 % H/T	44,77 \pm 23,63	9,86 \pm 5,66	7,09 \pm 1,06	61,73 \pm 29,93
Emulsion 0,3 %	85,82 \pm 46,88	22,05 \pm 9,10	15,91 \pm 5,34	123,78 \pm 47,40
Emulsion 0,3 % H/T	78,65 \pm 47,63	62,74 \pm 78,37	26,31 \pm 5,27	167,71 \pm 115,18

Tabelle 7.91: Wiedergefundene Arzneistoffmenge am Applikationsort und im Textil bei simulierten Haut-Textil-Kontakt in Ex-vivo-Penetrationsexperimenten. Die Inkubationszeit beträgt 24h. Die Werte stellen den arithmetischen Mittelwert \pm Standardabweichung dar, n = 3-4

Kennzeichnung	Textil [%]	Applikationsort [%]
HNC 0,05 %		45,8 \pm 11,3
HNC 0,05 % H/T	54,5 \pm 4,2	23,8 \pm 5,1
Emulsion 0,3 %		81,8 \pm 8,6
Emulsion 0,3 % H/T	6,1 \pm 5,9	69,0 \pm 10,2

Tabelle 7.92: Ausreißertest nach Grubbs mit einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ für die penetrierte Wirkstoffmenge aus der Emulsion mit 0,3 % Nonivamid in die lebende Epidermis bei simuliertem Haut-Textil-Kontakt und 24 h Inkubationszeit (vgl. Tabelle 7.90)

Mittelwert \pm Stabw.	$ x_i - MW $	$g_{\text{berechnet}}$	g_{kritisch}	Ausreißer
62,73 \pm 78,36	90,47	1,155	1,543	ja
	43,53			
	46,93			