

# **Entwicklung und Charakterisierung von triterpenhaltigen Schäumen zur Anwendung in der Wundheilung**

**Dissertation**

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

vorgelegt von  
Anna Dangelmayer  
aus Heidenheim an der Brenz

Tübingen

2016

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

Tag der mündlichen Qualifikation:

1. September 2016

Dekan:

Prof. Dr. Wolfgang Rosenstiel

Erster Berichterstatter:

Prof. Dr. Rolf Daniels

Zweiter Berichterstatter:

Prof. Dr. Martin A. Wahl

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

**Artikel in Fachzeitschrift**

Ex-Vivo Skin Permeation of Betulin from Water-in-Oil Foams

Anna Färber, Rolf Daniels

Skin Physiology and Pharmacology, 16;29(5):250-256, September 2016

**Kongressbeiträge - Poster**

Influence of the Viscosity on Water-in-Oil Foams Containing Triterpenes from Outer Bark of Birch

Anna Färber, Rolf Daniels

DPhG Annual Meeting 2013, Freiburg

Permeation Studies on Water-in-Oil Foams Containing Triterpenes from Outer Bark of Birch

Anna Färber, Rolf Daniels

Skin Forum 2014, Prag

Comparison of Different Oils in Permeation Studies on Water-in-Oil Foams Containing Triterpenes from Outer Bark of Birch

Anna Färber, Rolf Daniels

4th Galenus Workshop 2015, Saarbrücken

Permeation of Betulin from Water-in-Oil Foams through Injured Skin

Anna Färber, Rolf Daniels

DPhG-Doktoranden-/Postdoctagung 2015, Biberach

## **Besondere Hinweise**

Gesetzlich geschützte Warenzeichen werden ohne besondere Kennzeichnung verwendet.

Die dem Symbol „±“ nachstehenden Werte sowie die Fehlerbalken aller Diagramme geben stets die Standardabweichungen des Mittelwerts an.

Als Öle werden in dieser Arbeit alle mit Wasser wenig mischbaren und bei Raumtemperatur flüssigen Lipide und Paraffine bezeichnet.

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis .....	VIII
1 Einleitung und Zielsetzung .....	1
1.1 Triterpene aus Birkenkork.....	1
1.1.1 Zusammensetzung der Birkenkorktriterpene.....	1
1.1.2 Eigenschaften der Triterpene .....	2
1.2 Schäume .....	7
1.2.1 Anwendungsbereiche für pharmazeutische Schäume .....	7
1.2.2 Struktur und Stabilität von Schäumen .....	8
1.2.3 Zusammensetzung von Schäumen .....	10
1.2.4 Grenzflächenphänomene .....	12
1.2.5 Vergleich von Öl-in-Wasser- und Wasser-in-Öl-Schäumen .....	16
1.2.6 Schäume aus Bag-on-Valve Systemen.....	18
1.3 Haut und Wundheilung .....	20
1.3.1 Haut .....	20
1.3.2 Biopharmazeutische Charakterisierung.....	24
1.3.3 Wunden .....	30
1.4 Zielsetzung.....	32
2 Materialien und Methoden.....	34
2.1 Verwendete Materialien .....	34
2.2 Geräte .....	36
2.3 Methoden .....	38
2.3.1 Herstellvorgänge.....	38
2.3.2 Charakterisierung von Oleogel, Emulsion und Schaum .....	40
2.3.3 Bestimmung der Grenzflächeneigenschaften.....	43
2.3.4 Freisetzungsuntersuchungen .....	46
2.3.5 Ex-vivo Permeationsstudien .....	47
2.3.6 HPLC-Analytik .....	48
2.3.7 Statistik .....	49

3	Ergebnisse und Diskussion .....	51
3.1	Charakterisierung der Oleogele und Emulsionen .....	51
3.1.1	Oleogele .....	51
3.1.2	Charakterisierung der Emulsionen .....	54
3.1.3	Zusammenfassung und Diskussion .....	62
3.2	Charakterisierung der Schäume .....	71
3.2.1	Optische Beurteilung .....	71
3.2.2	Bestimmung der Volumenzunahme .....	73
3.2.3	Schaumstabilität .....	77
3.2.4	Statistisches Versuchsdesign .....	78
3.2.5	Zusammenfassung und Diskussion .....	81
3.3	Freisetzungsuntersuchungen .....	87
3.3.1	Vergleich der Oleogele .....	88
3.3.2	Vergleich der unterschiedlichen Zubereitungen .....	89
3.3.3	Emulgatorhaltige Schäume .....	95
3.3.4	Zusammenfassung und Diskussion .....	96
3.4	Ex-vivo Permeationsuntersuchungen .....	102
3.4.1	Mikroskopische Untersuchung der verletzten Haut .....	102
3.4.2	Permeation durch unterschiedliche Hautarten .....	103
3.4.3	Vergleich der unterschiedlichen Lipidphasen .....	105
3.4.4	Vergleich unterschiedlicher TE-Konzentrationen .....	106
3.4.5	Vergleich der unterschiedlichen Formulierungen bei gleichbleibendem Oleogel .....	107
3.4.6	Emulgatorhaltige Zubereitungen .....	109
3.4.7	Zusammenfassung und Diskussion .....	110
4	Zusammenfassung der Dissertation .....	114
5	Verzeichnisse .....	117
5.1	Literaturverzeichnis .....	117
5.2	Tabellenverzeichnis .....	124
5.3	Abbildungsverzeichnis .....	127

6	Anhang.....	131
6.1	Zu den Methoden.....	131
6.1.1	Druckabnahme in Aerosoldosen während Befüllung.....	131
6.1.2	Kalibrierung.....	132
6.1.3	H&E-Färbeprotkoll .....	133
6.2	Zu den Ergebnissen.....	134
6.2.1	Viskositäten in Abhängigkeit der Innenphase.....	134
6.2.2	Bestimmung der Sättigungslöslichkeit.....	134
6.2.3	Gemessene Werte und Vorhersagen für CCD .....	135
6.2.4	Freisetzungsuntersuchungen .....	136
6.2.5	Permeationsuntersuchungen.....	138

## Abkürzungsverzeichnis

BOV	Bag-on-Valve
CCD	Zentral zusammengesetztes Design
cm <sup>2</sup>	Quadratcentimeter
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
d. h.	das heißt
EMA	European Medicines Agency
et al.	und andere
FDA	Food and Drug Administration
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
m	Meter
MCT	Mittelkettige Triglyceride
mg	Milligramm
mL	Milliliter
N	Newton
O/W	Öl-in-Wasser Phasenlage
Ph. Eur.	Europäisches Arzneibuch
SBÖ	Sonnenblumenöl
sog.	sogenannte
TE	Triterpenextrakt
u. a.	unter anderem
usw.	und so weiter
vgl.	vergleiche
W/O	Wasser-in-Öl Phasenlage
z. B.	zum Beispiel
µg	Mikrogramm
µm	Mikrometer

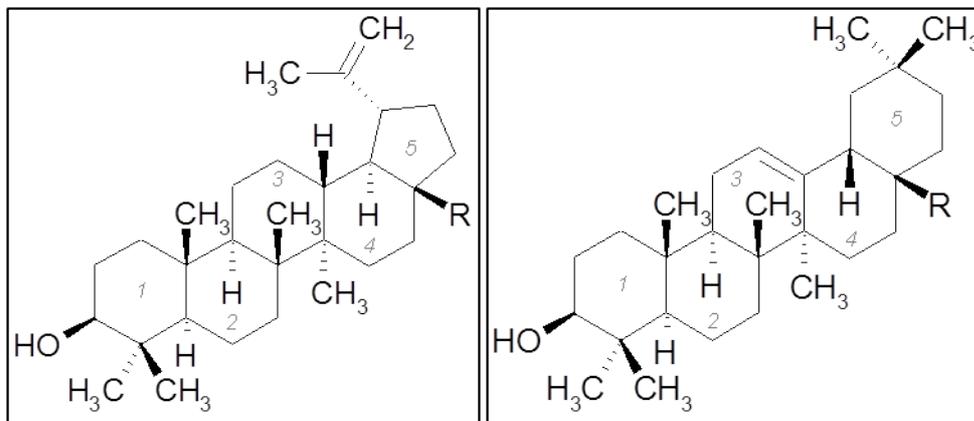
# 1 Einleitung und Zielsetzung

## 1.1 Triterpene aus Birkenkork

Seit im Jahr 1976 eine antitumorale Wirkung von Uvaol, Ursolsäure und Betulinsäure nachgewiesen wurde (Trumbull et al., 1976), stehen die Triterpene aufgrund ihrer interessanten pharmakologischen Eigenschaften im Fokus der Forschung. Auch diese Arbeit basiert auf der Verwendung von Triterpenen, genauer Triterpenen aus Birkenkork.

### 1.1.1 Zusammensetzung der Birkenkorktriterpene

Bei Triterpenen aus Birkenkork handelt es sich um pentazyklische Triterpene, die sich in die zwei folgenden Grundgerüste einteilen lassen: das Lupan- und das Oleanolgrundgerüst. Sie unterscheiden sich im fünften Ring, der beim Lupangrundgerüst ein Fünfring, beim Oleanolgrundgerüst ein Sechsring ist (Abbildung 1-1). Außerdem haben sie unterschiedliche Seitenketten, die in der folgenden Abbildung mit „R“ gekennzeichnet sind.



**Abbildung 1-1: Allgemeine Strukturformel: Lupangrundgerüst (links) und Oleanolgrundgerüst (rechts)**

**Tabelle 1-1: Auflistung der Birkenkorktriterpene nach den unterschiedlichen Seitenketten**

Lupangrundgerüst Seitenkette R	Name des Triterpens	Oleanolgrundgerüst Seitenkette R	Name des Triterpens
CH <sub>3</sub>	Lupeol	CH <sub>2</sub> OH	Erythrodiol
CH <sub>2</sub> OH	Betulin	COOH	Oleanolsäure
COOH	Betulinsäure		
COOCH <sub>3</sub>	Betulinsäuremethylester		

Für diese Arbeit wurden Triterpene in Form eines Extraktes aus der Birkenrinde verwendet. Die enthaltenen Triterpene finden sich in Tabelle 1-1 wieder. Bereitgestellt wurde der verwendete Triterpenextrakt (TE) von der Firma Birken AG. Er wird durch eine standardisierte Lösemittelextraktion mit n-Heptan gewonnen. Über die quantitative Zusammensetzung der Triterpene gibt Tabelle 1-2 Auskunft.

**Tabelle 1-2: Zusammensetzung des Triterpenextraktes**

Substanz	Anteil [% (m/m)]
Betulin	81,6
Betulinsäure	3,84
Lupeol	2,08
Erythrodiol	1,05
Oleanolsäure	0,97
Betulinsäuremethylester	0,52
nicht identifizierte Substanzen	9,94

### 1.1.2 Eigenschaften der Triterpene

#### 1.1.2.1 Allgemein

Der Triterpenextrakt besteht aus kleinen Partikeln mit einem  $d_{50}$  Wert von etwa  $3\ \mu\text{m}$  und einer großen hydrophoben Oberfläche (Laszczyk et al., 2006). Aufgrund der Hydrophobizität lassen sich die Partikel schlecht mit Wasser benetzen.

Die Löslichkeit des Extrakts ist besonders in Wasser (mit etwa  $0,25\ \mu\text{g/mL}$ ) sehr gering, aber auch in Ölen ist der Triterpenextrakt nur in geringen Mengen löslich (Laszczyk, 2007). In der folgenden Tabelle 1-3 werden die Löslichkeiten für verschiedene in der Arbeit verwendete Öle vorgestellt. Durch diese Lösungseigenschaften kommen die galenischen Eigenschaften zur Geltung.

**Tabelle 1-3: Löslichkeit des TE in Ölen (Steinbrenner et al., 2016)**

Öl	Löslichkeit des TE [mg/mL]
Mittelkettige Triglyceride	7,9
Sonnenblumenöl	4,4
Dünnflüssiges Paraffin	0,41

### 1.1.2.2 Galenische Eigenschaften

Bei einer Suspension von Triterpenextrakt in Ölen kommt es zu einer Trübung, die ab etwa 2 % des Extrakts in der Suspension nicht sedimentiert, sondern zur Ausbildung eines Gels führt (R. Daniels, 2008, Grysko et al., 2013). Im Fall der Birkenkorkextraktoleogele handelt es sich um Flüssigkeiten, die durch interpartikuläre Wechselwirkung der TE-Partikel geliert werden (Abbildung 1-2). Damit ähneln sie dem sphärokolloiden Aufbau in lipophilen Siliciumdioxidgelen. Die Wechselwirkungen der einzelnen Partikel erfolgen über Wasserstoffbrückenbindungen durch an der Partikeloberfläche vorhandene polare Gruppen. Das so entstehende Netzwerk immobilisiert die lipophile Flüssigkeit. Es handelt sich bei diesen Oleogelen um thixotrope Systeme (Laszczyk, 2007), die bei Scherbelastung eine Verringerung der Viskosität zeigen.

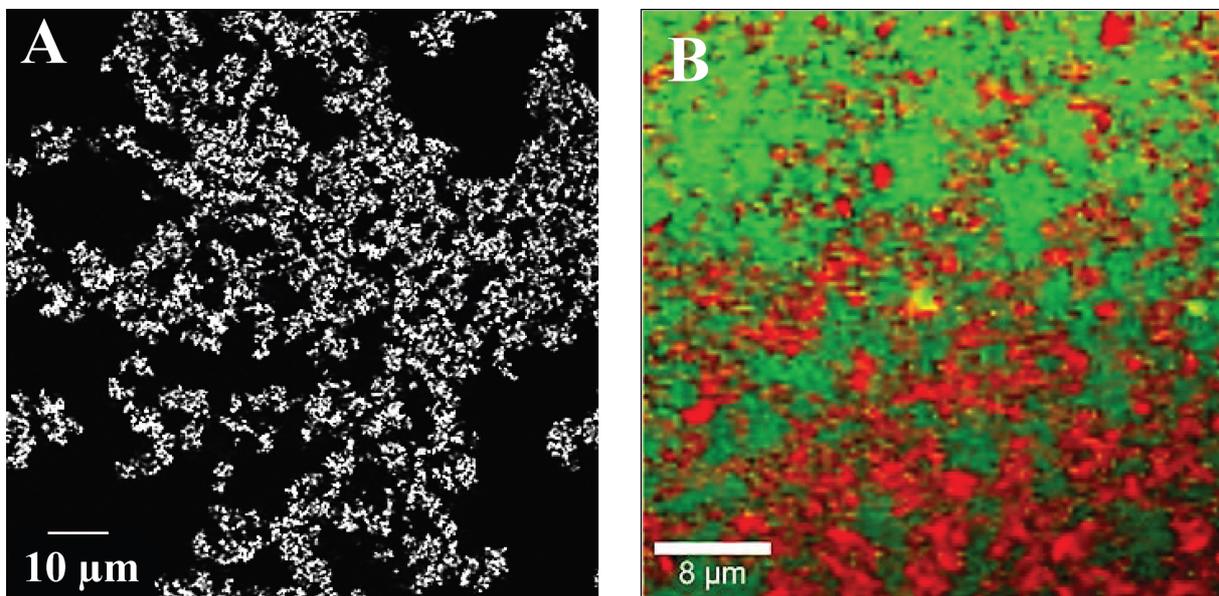
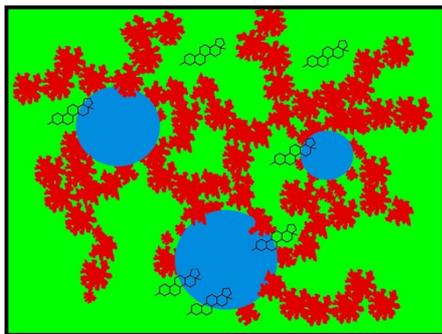


Abbildung 1-2: 6 % (m/m) TE in Jojobaöl: A: fluoreszenzmikroskopische Aufnahme, B: farbkodierte ramanmikroskopische Aufnahme, rot: TE, grün: Jojobaöl (Grysko et al., 2013)

Die Gelstärke der Triterpenoleogele hängt von drei Faktoren ab (Grysko, 2011):

- der TE-Menge: Je größer der Anteil des Gelbildners ist, desto größer ist die Gelstärke.
- der spezifischen Oberfläche der TE-Partikel: Wird die Oberfläche durch andere Extraktionsverfahren oder hohe Temperaturen verkleinert, nimmt die Gelbildungsfähigkeit der Partikel ab.
- der Polarität des Öls: Sind die Öle zu polar, werden die Wasserstoffbrücken von den polaren Gruppen des Öls abgefangen und die Gelbildung wird erschwert. Sind die Öle dagegen nicht polar genug, sind Wechselwirkungen nur über kleine Distanzen möglich, was die Gelbildung ebenfalls verringert.

Eine weitere wichtige Eigenschaft des Gels ist seine Aufnahmefähigkeit von Wasser. Durch die Einarbeitung von Wasser in das Oleogel entstehen Wasser-in-Öl-Emulsionen (W/O-Emulsionen) mit einem Innenphasenanteil bis zu 60 %. In Anlehnung an die Stabilisierung von Pickeringemulsionen durch Partikel, zeigte Grysko im Jahr 2010, dass triterpenstabilisierte W/O-Emulsionen partiell durch TE-Partikel an der Phasengrenze und die Gelbildung in der Außenphase stabilisiert werden (Abbildung 1-3), obwohl diese Partikel sich nur schlecht von Wasser benetzen lassen.



**Abbildung 1-3: Schematische Darstellung der Stabilisierung von Emulsionen; rot = TE; grün = Öl; blau = Wasser; Strukturformeln = gelöste Triterpenmoleküle (Grysko, 2011)**

Die Stabilität der Emulsionen wird außerdem durch die Struktur der Außenphase, also des Oleogels, bedingt. Die Wassertropfen werden im Gelnetzwerk immobilisiert und die Emulsion dadurch stabilisiert.

### 1.1.2.3 Pharmakologische Eigenschaften

In der Heilkunde sind die wundheilungsfördernden Eigenschaften von Birkenkork schon seit langer Zeit sowohl in der Volksheilkunde als auch in der Phytomedizin bekannt. Jedoch wurden im Laufe der Jahre auch andere pharmakologisch interessante Eigenschaften entdeckt, die im Folgenden aufgeschlüsselt sind.

- antitumoral (Fulda et al., 1999, Cichewicz et al., 2004, Eiznhamer et al., 2004, Kessler et al., 2007, Laszczyk, 2009, Pyo et al., 2009, Yan et al., 2010, Pfarr et al., 2015)
- hepatoprotektiv (Szuster-Ciesielska et al., 2005, Oh et al., 2006)
- antiinflammatorisch (Safayhi et al., 1997, Fernández et al., 2001, Altinier et al., 2007, Saleem, 2009)
- antibakteriell (Gu et al., 2004, Fontanay et al., 2008, Shai et al., 2008)
- antiviral (Pavlova et al., 2003, Cichewicz et al., 2004, Gong et al., 2004)
- wundheilungsfördernd (Lee et al., 2006, Moura-Letts et al., 2006, Ebeling et al., 2014)

Da Verletzungen der Haut oft mit Entzündungen und Infektionen einhergehen, sind letztere vier Eigenschaften für die Wundheilung interessant und machen triterpenhaltige Formulierungen zu interessanten Darreichungsformen in der Wundheilung.

### 1.1.2.4 Wundheilungseigenschaften

Auf Grundlage der galenischen Formulierungen als Oleogel und Emulsion wurden in den letzten Jahren vermehrt Formulierungen mit Birkenkorktriterpenen auf ihre Wundheilungsfähigkeiten untersucht. Ex-vivo Studien an Wunden in Schweinehaut zeigten, dass unterschiedliche Öle, als Basis später verwendeter Oleogele, unterschiedliche Auswirkung auf die Wundheilung haben (Steinbrenner et al., 2016). Mittelkettige Triglyceride haben bereits ohne TE einen positiven Einfluss auf die Wundheilung, während Sonnenblumenöl die Wundheilung nur geringfügig beeinflusst. Nach Zugabe von TE zu den Ölen weist das Oleogel mit Sonnenblumenöl die besten Wundheilungseigenschaften unter den Oleogelen in diesem Modell auf. Als unpolare Vergleichsreferenz in dieser Arbeit wurde dünnflüssiges Paraffin verwendet.

Neben ex-vivo Studien an Schweinehaut wurden Studien an Patienten mit unterschiedlichen Hauterkrankungen und Wunden durchgeführt. Das Gebiet der untersuchten Hautkrankheiten und Verletzungen an Patienten erstreckt sich dabei von aktinischer Keratose (Huyke et al., 2006) über Brandwunden (Birken, 2015), chirurgische Wunden (Metelmann et al., 2015, Metelmann et al., 2012) bis hin zu Herpes zoster (Weckesser et al., 2010). Drei der

genannten Studien wurden - aufgrund der erfolgreichen ex-vivo Ergebnisse - mit einem Sonnenblumenöleogel mit 10 % TE durchgeführt. Daher liegt der Fokus in dieser Arbeit ebenfalls auf diesem Gel. Allen Untersuchungen war gemein, dass die Verwendung von triterpenhaltigen Zubereitungen sich positiv auf die Wundheilung auswirkte. Das Erscheinungsbild der Wunden konnte verbessert und die Heilung beschleunigt werden. Eine zusätzliche Studie gibt darüber hinaus Einblick in den Wirkmechanismus auf Molekular- und Zellebene (Ebeling et al., 2014). So beeinflussen Triterpene sowohl die Entzündungsmediatoren der Entzündungsphase der Wundheilung als auch die Zellmigration von Keratinozyten in der Phase des Gewebeaufbaus (vgl. 1.3.3).

Im Januar 2016 wurde das triterpenhaltige Sonnenblumenöleogel unter dem Handelsnamen Episalvan durch die European Medicine Agency zur Behandlung von oberflächlichen Hautwunden (Epidermis und obere Dermis) und Verbrennungswunden der Haut vom Grad IIa bei Erwachsenen zugelassen (EMA, 2016).

## 1.2 Schäume

Schäume sind Dispersionen von Gasen in einer festen oder flüssigen Phase. Sie lassen sich dementsprechend in zwei Gruppen einteilen: feste und flüssige Schäume. Der Anteil der Gasphase beträgt hierbei zwischen 50 % und 90 %. Das Europäische Arzneibuch definiert in der Monographie „Medizinische Schäume“, diese als Formulierungen mit großem Gasanteil in einer flüssigen Phase. Daher beschränken sich die weiteren Ausführungen in dieser Arbeit auf diese Art der Schäume.

### 1.2.1 Anwendungsbereiche für pharmazeutische Schäume

Pharmazeutische Schäume sind Formulierungen von ständig wachsendem Interesse. Die aktuellen Anwendungsgebiete von Schäumen erstrecken sich auf die vaginale, rektale und dermale Anwendung.

Die vaginale Anwendung dient im Besonderen der Empfängnisverhütung. Es handelt sich um Zäpfchen und Tabletten, die den Wirkstoff durch eine in-situ Schaumbildung freisetzen (Higier et al., 1978, Youssef et al., 1987), aber auch klassische Aerosolschäume waren Teil der Forschung in diesem Gebiet (Bushnell, 1965). Des Weiteren gibt es Schäume zur Behandlung vaginaler Infektionen (Egidio et al., 1994).

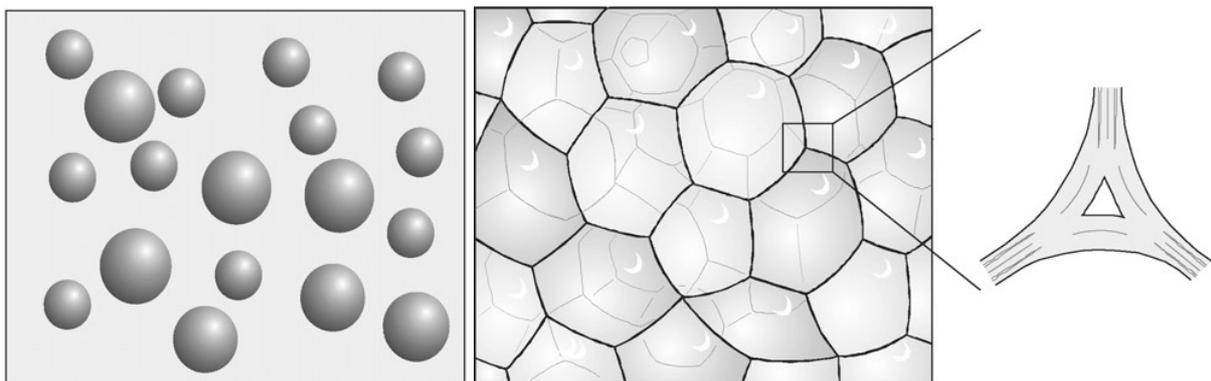
Rektale Schäume sind im Gegensatz zu vaginalen Schäumen Aerosolschäume. Sie dienen der Therapie von Hämorrhoiden, Colitis ulcerosa und Morbus Crohn. Als Wirkstoffe enthalten sie Cortisone und Mesalazin. Für Schäume mit Mesalazin konnte eine mit anderen topischen Formulierungen vergleichbare Wirkung nachgewiesen werden (Ardizzone et al., 1999). Auch Studien mit unterschiedlichen cortisonhaltigen Präparaten zeigten deren Wirksamkeit (Bar-Meir et al., 2003, Gross et al., 2006, Farthing et al., 1979). Eine Behandlung mit hydrocortisonacetathaltigem Klystier oder Schaum führte zu vergleichbaren Ergebnissen. Patienten jedoch bevorzugen die Anwendung der Schäume (Ruddell et al., 1980).

Dermal angewendete Schäume stellen innerhalb der pharmazeutischen Schäume die dritte Gruppe dar. Corticosteroide spielen auch in diesem Anwendungsgebiet eine große Rolle. Behandelt werden Hauterkrankungen wie Ekzeme, Psoriasis (Stein, 2005, Bergstrom et al., 2003) oder Kontaktdermatitis (Sheehan, 2014). Für die Hauterkrankung Dermatitis seborrhica werden ketokonazolhaltige Schäume eingesetzt (Elewski et al., 2007, Rolz-Cruz et al., 2008). Auch ein Schaum zur Aknebehandlung mit Clindamycin ist auf dem Markt (Shalita et al., 2004). Die Wirksamkeit der verfügbaren Schäume wurde in zahlreichen Studien nachgewiesen. Zur Behandlung von Sonnenbrand und leichten Verbrennungen ist außerdem ein dexpanthenolhaltiger Schaum (Bepanthen-Schaum) auf dem Markt.

Wie bereits bei den Schäumen zur rektalen Anwendung spielt auch hier die Compliance der Patienten eine große Rolle. Studien zeigten, dass Patienten die Anwendung von Schäumen bevorzugen (Zeichner, 2010, Feldman et al., 2003, Housman et al., 2002). Schäume lassen sich an schwierig zu erreichenden Stellen leichter auftragen. Die Formulierungen ziehen schnell ein und hinterlassen zumeist kein öliges Gefühl auf der Haut. Diese Vorteile erklären die Bevorzugung von Schäumen gegenüber anderen Formulierungen durch die Patienten.

### 1.2.2 Struktur und Stabilität von Schäumen

Die Struktur eines Schaums wird u.a. von Bikerman (Bikerman, 1973) ausführlich beschrieben und ist von unterschiedlichen Faktoren abhängig. Es handelt sich um Gasblasen, die im Schaum dispergiert sind. Sie weisen abhängig von den grenzflächenaktiven Zusätzen, der Viskosität der Zubereitung, dem pH-Wert, der Temperatur und dem Gasanteil mehr oder weniger die gleiche Größe auf.



**Abbildung 1-4: Form der Gasblasen in Schäumen bei Gasanteilen  $< 0,7$  (links) und  $> 0,7$  (rechts) (Arzhavitina et al., 2010)**

Der Anteil der Gasphase spielt bei flüssigen Schäumen eine entscheidende Rolle. Ist der Anteil nicht zu groß, verteilen sich die Gasblasen homogen in der äußeren, flüssigen Zubereitung. Steigt der Anteil jedoch über 70 % beginnen die Gasblasen sich zu verformen (Yoshimura, 1988) und zeigen eine Polyederstruktur (Abbildung 1-4). In diesem Fall werden die Gasblasen durch Lamellen der flüssigen Phase voneinander getrennt. Die Lamellen bestehen aus zwei Grenzflächen, in welchen sich die Emulgatoren anreichern, und einer wässrigen Lösung derselben in ihrer Mitte. Die Dicke der Lamellen variiert zwischen 10 nm und 1  $\mu\text{m}$ .

Die Stabilität dieser Lamellen kann die Stabilität des Schaums beeinflussen. Die Fixierung der Flüssigkeit innerhalb der Lamelle ist dabei entscheidend. Kommt es zur Drainage, also zum Abfließen der Flüssigkeiten innerhalb der Lamelle zwischen den mit Emulgator besetzten Grenzflächen, so wird die Lamelle kontinuierlich dünner. Sie bildet dann kein stabiles System mehr. Die Filme zwischen den einzelnen Gasblasen reißen und der Schaum kollabiert.

Bevor ein Schaum vollständig kollabiert, zeigen sich jedoch andere Formen der Instabilität. Eine wichtige Rolle für die Stabilität der Schäume spielt die Druckdifferenz. Innerhalb der Gasblase besteht ein deutlich höherer Druck als außerhalb. Er lässt sich durch die Laplace-Gleichung (Gleichung 1-1) beschreiben:

$$\Delta p = \frac{4\gamma}{d}$$

**Gleichung 1-1**

p: Druckdifferenz

$\gamma$ : Grenzflächenspannung

d: Durchmesser der Gasblase

Der Druck innerhalb kleiner Blasen ist größer als bei größeren Blasen. Daher wird auch das Lösen des Gases in der kontinuierlichen Phase verstärkt. Dies wiederum verstärkt den Effekt der Ostwaldreifung.

Andere Instabilitäten sind auch von Emulsionen bekannt. Zu ihnen gehört das Entmischen aufgrund der großen Dichtedifferenz. Hierbei kommt es zum Aufsteigen der Gasphase innerhalb der Flüssigkeit. Auch die Koaleszenz, das Zusammenfließen der Gasblasen, ist zu beobachten. Die beiden letztgenannten sind wie der Vorgang der Ostwald Reifung irreversibel. Zumeist laufen sämtliche der genannten Prozesse parallel zueinander ab.

### 1.2.3 Zusammensetzung von Schäumen

Bei klassischen pharmazeutischen Schäumen handelt es sich um hydrophile Schäume. Sie bestehen aus einer hydrophilen Flüssigkeit, zumeist Wasser, und einer grenzflächenaktiven Substanz. Der grenzflächenaktive Zusatz ist für die Schaumbildung essentiell. Die eingesetzten Substanzen bestehen aus Molekülen mit einem hydrophilen und einem hydrophoben Molekülteil. Der hydrophile Teil des Moleküls ist verantwortlich für die Löslichkeit der Substanzen in Wasser. In Wasser richten sich die Moleküle so aus, dass der Kontakt der hydrophoben Molekülanteile mit Wasser möglichst gering ist. Dazu bilden sie Mizellen und lagern sich an Wasser/Gas- oder Wasser/Öl-Grenzflächen an. Sie senken die Grenzflächenspannung (vgl. 1.2.4), da die Wechselwirkung der hydrophilen Phase mit einer hydrophoben durch die Anlagerung der Moleküle an der Phasengrenze verbessert wird. Auch während des Aufschäumens lagern sich die Substanzen an der Grenzfläche zwischen der hydrophoben Gasphase und der hydrophilen Wasserphase an. Auf diese Weise wird der Schaum stabilisiert. Über die Grenzflächenspannung allein kann jedoch keine Aussage über die Schaumstabilität getroffen werden. Entscheidend dabei ist außerdem die Menge der grenzflächenaktiven Substanz  $\Gamma$  in der Grenzfläche selbst. Sie kann über Gleichung 1-2 nach Gibbs errechnet werden:

$$\Gamma = -\frac{1}{R \cdot T} \cdot \left( \frac{d\gamma}{d \ln c} \right)_T$$

**Gleichung 1-2**

$\Gamma$ : adsorbierte Moleküle an Grenzfläche

c: molare Konzentration

R: allgemeine Gaskonstante

T: Temperatur

$\gamma$ : Grenzflächenspannung

Bei diesen grenzflächenaktiven Substanzen handelt es sich um Tenside, Emulgatoren, aber auch Proteine oder grenzflächenaktive Polymere. Weitere Polymere, wie Cellulosederivate oder Xanthangummi, werden außerdem zur Stabilisierung von Schäumen eingesetzt. Polyacrylsäure bildet zusammen mit nichtionischen Tensiden einen Komplex, der die Schaumstabilität ebenfalls positiv beeinflusst (Zhukov et al., 1987).

Als weitere Inhaltsstoffe sind Öle möglich, die ebenfalls dispergiert in der wässrigen, aufzuschäumenden Zubereitung vorliegen. In solchen Öl-in-Wasser-Emulsionen kann das Treibgas sich teilweise in der Innenphase, dem Öl, lösen.

Weitere essentielle Bestandteile neben grenzflächenaktiven Substanzen, sind Gase, die im Schaum die disperse Phase bilden. Als Treibmittel werden zumeist druckverflüssigbare Gase wie Propan/Butan Mischungen verwendet. Sie liegen unter Druck im Vorratsbehälter als Flüssigkeit vor und expandieren nach Entnahme zum dispers verteilten Gas im Schaum. Vorteil dieser druckverflüssigbaren Gase ist eine konstante Dosierbarkeit aufgrund des gleichbleibenden Drucks innerhalb der Aerosoldose. Aber auch die Verwendung von druckverdichteten Gasen, wie Stickstoff oder CO<sub>2</sub> ist möglich. Des Weiteren ist eine in-situ Schaumbildung sind möglich (Friess et al., 1999). Dabei werden beispielsweise Tabletten durch Kontakt mit Schleimhäuten aufgelöst und setzen durch eine ablaufende chemische Reaktion ein Gas frei.

## 1.2.4 Grenzflächenphänomene

Als Grenzfläche wird die Kontaktfläche zwischen zwei nicht mischbaren Phasen bezeichnet. Handelt es sich bei einer der beiden Phasen um ein Gas, spricht man von einer Oberfläche.

### 1.2.4.1 Grenzflächenspannung

Allgemein gibt die Grenzflächenspannung an, welche Energie aufgewendet werden muss, um die Grenzfläche um einen bestimmten Betrag zu vergrößern (Gleichung 1-3).

$$\gamma = \frac{\Delta W}{\Delta A}$$

Gleichung 1-3

$\gamma$ : Oberflächen-/Grenzflächenspannung

W: Arbeit

A: Fläche

Die Grenzflächenspannung resultiert aus der Tatsache, dass die Wechselwirkungen zwischen zwei Phasen geringer sind, als innerhalb einer Phase. Dies hat eine ins Phaseninnere gerichtete Kraft zur Folge, die der Grenzflächenvergrößerung entgegensteht. Die Grenzflächenspannung ist abhängig von der Art der Flüssigkeiten, die miteinander in Kontakt stehen (Hannisdal et al., 2007, Gaonkar, 1989, Chung et al., 2001, Donahue et al., 1952). Je geringer die Wechselwirkung zwischen den beiden Flüssigkeiten ist, desto größer ist die nach innen gerichtete Kraft innerhalb einer Flüssigkeit und daraus folgend auch die Grenzflächenspannung.

### 1.2.4.2 Emulgatoren an Grenzflächen

Die Grenzflächenspannung ist entscheidend für die Stabilität von Schäumen und Emulsionen. Eine Beeinflussung dieser Größe kann durch den Einsatz grenzflächenaktiver Substanzen, sog. Emulgatoren, erreicht werden. Emulgatoren bestehen aus einem hydrophilen und einem lipophilen Molekülteil und reichern sich aufgrund dieser Eigenschaften an der Grenzfläche an.

Die Anlagerung kann in zwei Vorgänge unterteilt werden: die Diffusion der Moleküle durch die Lösungsphase an die Grenzfläche und die Adsorption an der Grenzfläche. Die beiden Vorgänge sind eng miteinander verknüpft, jedoch ist der langsamere der beiden der geschwindigkeitsbestimmende Schritt. Durch die Anreicherung der Moleküle an der Phasengrenze erhöhen sich die Wechselwirkungen zwischen den beiden nicht mischbaren Phasen. Die Grenzflächenspannung sinkt.

Darüber hinaus sorgt die Bildung eines stabilen Grenzflächenfilms durch Emulgatoren für eine erhöhte Elastizität der Grenzfläche und verhindert so z. B. das Zusammenfließen der Tropfen in einer Emulsion. Grund dafür kann ein sterischer, elektrostatischer oder der Gibbs-Marangoni-Effekt sein.

#### 1.2.4.3 Profiltropfenanalyse

Die Profiltropfenanalyse ermöglicht die indirekte Bestimmung von Grenzflächenspannung und grenzflächenrheologischen Größen.

Diese Analysemethode beruht auf der Erzeugung eines Tropfens einer Flüssigkeit in einer anderen, nicht mischbaren Flüssigkeit. Durch Analyse der Tropfenform können Rückschlüsse auf die Grenzflächenspannung gezogen werden.

Grundlage für die Messung mit diesem System ist die Young-Laplace-Gleichung (Gleichung 1-4). Sie stellt den Zusammenhang zwischen der Krümmung, also der Form eines Tropfens einer Flüssigkeit in einer anderen, nicht mischbaren Flüssigkeit wie folgt her:

$$\gamma \left( \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) = \Delta P_0 + \Delta \rho g h$$

**Gleichung 1-4**

$\gamma$ : Grenzflächenspannung

$R_1, R_2$ : Hautkrümmungsradien

$\Delta P_0$ : Druckdifferenz zur Referenzebene

$\Delta \rho$ : Dichtedifferenz zwischen Tropfen und Außenphase

$g$ : Erdbeschleunigung

$h$ : vertikale Tropfenhöhe

Für den Aufbau der Messung entscheidend ist der Dichteunterschied der beiden nicht mischbaren Flüssigkeiten. Ist die Dichte der Flüssigkeit des Tropfens größer als die Dichte der umgebenden Flüssigkeit, so findet die Messung an einem hängenden Tropfen statt, anderenfalls an einem stehenden (vgl. auch 2.3.3).

Die später durchgeführte Vermessung eines Öltropfens in Wasser entspricht nicht der Phasenlage der TE-haltigen Emulsionen. Der Versuchsaufbau ist aber dennoch sinnvoll, da der Einfluss der Emulgatoren leichter nachzuvollziehen ist. Die Emulgatoren werden in Sonnenblumenöl gelöst. Durch die ungleichen Volumenverhältnisse des Öltropfens im Vergleich zur umgebenden Phase ist die Emulgatormenge, bezogen auf den ganzen Probenraum, in der Küvette geringer als bei anderer Phasenlage. Um eine Veränderung der Grenzflächenspannung zu beobachten, ist Voraussetzung, dass kein Überschuss an Emulgator bezogen auf die Grenzfläche vorliegt. Besonders für die Bestimmung der im folgenden Kapitel beschriebenen Größen, Grenzflächenviskosität und –elastizität, ist es wichtig, dass die Grenzfläche bei Veränderung ihrer Größe an Emulgator verarmen kann. Nur dann ist eine Beurteilung der Emulgatoreigenschaften aufgrund von Diffusion zur und Adsorption an der Grenzfläche möglich. Läge das System in anderer Phasenlage vor, also als Wassertropfen in der öligen Emulgatorlösung, wäre aufgrund des Volumenüberschusses der Außenphase die Anzahl der Emulgatormoleküle in Umgebung der Grenzfläche deutlich größer. Dieser Überschuss an Emulgatoren, verglichen mit der kleinen Grenzfläche, würde eine Bestimmung der untersuchten Eigenschaften erschweren.

### **1.2.4.4 Grenzflächenrheologie**

Die Stabilität der dispersen Phase einer Emulsion ist abhängig von den viskoelastischen Eigenschaften der Grenzfläche des jeweiligen Systems. Diese zu charakterisieren ist Aufgabe der Grenzflächenrheologie.

Die Grenzflächenrheologie lässt sich in zwei Bereiche untergliedern: Die Grenzflächenscherrheologie, bei der die Grenzfläche verändert wird, ohne das Volumen zu verändern, und die Grenzflächendilatationsrheologie, bei der die Grenzflächenveränderung mit einer Veränderung der Grenzflächengröße einhergeht. Im Folgenden wird letzteres genauer beschrieben, da die Untersuchung der Grenzflächenrheologie auf diese Weise durchgeführt wurde.

Durch eine Veränderung des Tropfenvolumens ändert sich auch die Größe der Grenzfläche, an der sich grenzflächenaktive Moleküle befinden. Bei einer sinusförmigen Veränderung des Tropfenvolumens und damit auch der Grenzfläche lässt sich Folgendes beobachten: Verkleinert sich die Grenzfläche, desorbieren Emulgatormoleküle von der Grenzfläche, bei der anschließenden Vergrößerung adsorbieren die Moleküle wieder. Je nach Geschwindigkeit der Vorgänge sind die Schwankungen der Grenzflächenspannung, abhängig von der Art des Emulgators größer oder kleiner. Die Grenzflächenelastizität lässt sich nach Gleichung 1-5 berechnen. Hier zeigt sich, dass sie abhängig von der Grenzflächenspannung und der relativen Änderung der Grenzfläche ist.

$$\epsilon = \frac{d\gamma}{\frac{dA}{A}} = \frac{d\gamma}{d \ln A}$$

**Gleichung 1-5**

$\epsilon$ : Grenzflächenelastizität

$\gamma$ : Grenzflächenspannung

A: Grenzfläche

Aus der Phasenverschiebung des Systems, dem Zeitversatz zwischen Änderung des Volumens und Änderung der Grenzflächenspannung, kann die Grenzflächenviskosität bestimmt werden (Gleichung 1-6).

$$\kappa = \frac{d\gamma}{\frac{d \ln A}{dt}}$$

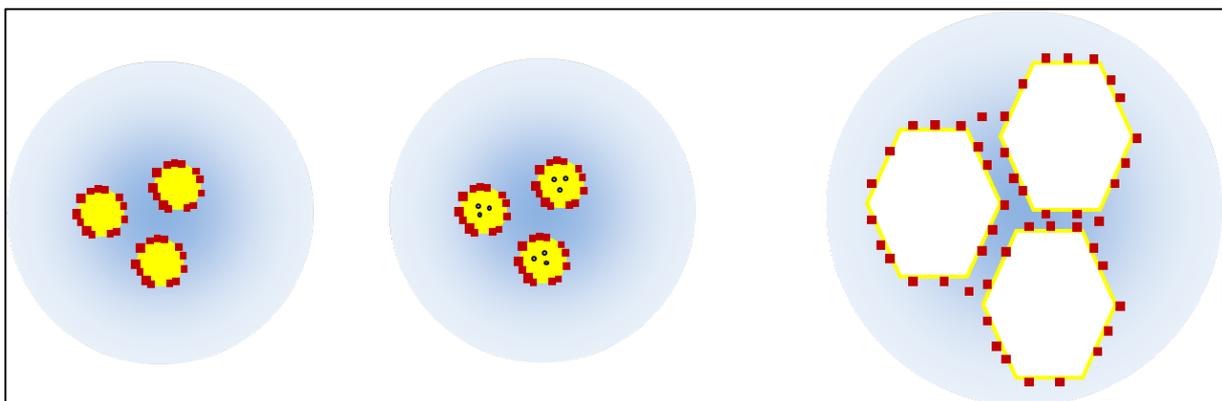
**Gleichung 1-6**

$\kappa$ : Grenzflächenviskosität

### 1.2.5 Vergleich von Öl-in-Wasser- und Wasser-in-Öl-Schäumen

Klassische Schäume bestehen, wie die zuvor vorgestellten Emulsionen, aus mindestens zwei Phasen: einer kontinuierlichen, flüssigen, äußeren Phase und einer dispersen Phase aus Treibmittel. Diese Treibmittel sind zumeist druckverflüssigbare Gase wie z. B. Propan/Butan Mischungen. Sie liegen unter Druck im Vorratsbehälter als Flüssigkeit vor und expandieren nach Entnahme zum dispers verteilten Gas im Schaum. Die kontinuierlichen Phasen dieser Schäume bestehen aus wässrigen Systemen, deren Fähigkeit zur Schaumbildung durch Makromoleküle und Tenside erreicht wird. Eine Einarbeitung lipophiler Phasen in diese Systeme ist möglich. Bei diesen Formulierungen bildet eine Öl-in-Wasser Emulsion die Basis der Formulierung. Das Treibmittel liegt hier gelöst in der lipophilen Innenphase vor.

Eine Skizze des Aufschäumvorganges einer solchen Zubereitung ist in der folgenden Abbildung 1-5 zu sehen.



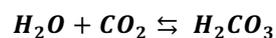
**Abbildung 1-5: Schematische Darstellung des Aufschäumvorganges der O/W-Emulsion:**

**Links: O/W-Emulsion mit wässriger Außenphase (blau), öliger Innenphase (gelb) und Emulgator an Phasengrenze (rot);**

**Mitte: Gelöstes Gas in Innenphase nach Treibmittelzugabe;**

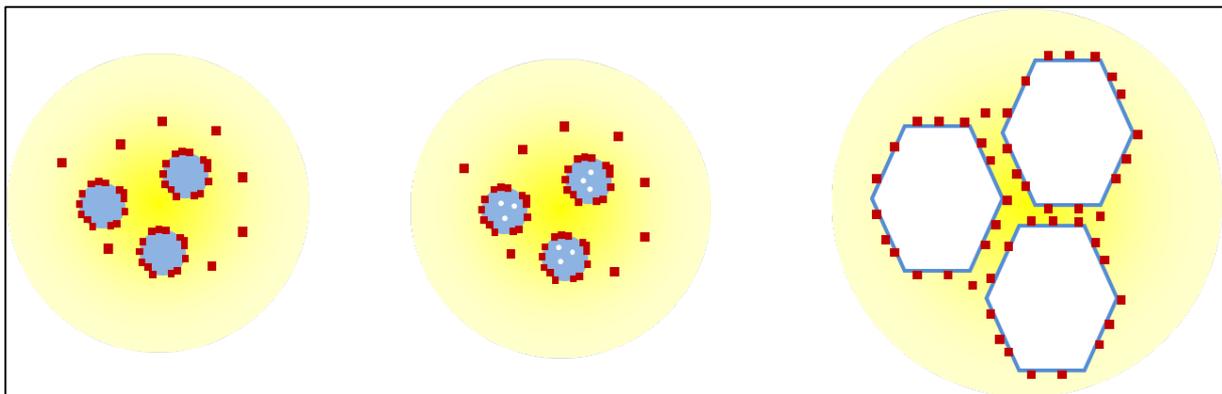
**Rechts: Schaum nach Expansion des Treibgases.**

Im Gegensatz zu klassischen Schäumen liegt den in dieser Arbeit entwickelten und charakterisierten Schäumen eine Wasser-in-Öl Emulsion zugrunde. Die Herausforderung der Formulierung dieser Systeme liegt in der Polarität der einzelnen Phasen. Da es sich bei Treibmitteln um Gase, also unpolare Substanzen, handelt, lösen diese sich bevorzugt im unpolaren Oleogel, d. h. der Außenphase der Formulierung. Um das Aufschäumen der Formulierung durch das Vorliegen des Treibmittels in der Innenphase zu erleichtern, muss ein Gas gewählt werden, das eine hohe Affinität zur polaren, wässrigen Innenphase hat. Hierfür erweist sich  $\text{CO}_2$  als besonders geeignet, da es genau diese Voraussetzung erfüllt (Battino et al., 1968).  $\text{CO}_2$  löst sich aufgrund der folgenden Gleichgewichtsreaktion (Gleichung 1-7) und der Bildung von Kohlensäure verglichen mit anderen Gasen besser in Wasser.



**Gleichung 1-7**

Unter Druck, also im Vorratsbehälter, verlagert sich das Gleichgewicht auf die rechte Seite, wodurch sich vermehrt  $\text{CO}_2$  in Form von Kohlensäure im Wasser löst. Dementsprechend kann beim Aufschäumen von Betulsionen mit  $\text{CO}_2$  ein Aufschäumverhalten wie in Abbildung 1-6 erwartet werden.  $\text{CO}_2$  löst sich unter Druck teilweise in der wässrigen Innenphase der triterpenhaltigen W/O-Emulsion und expandiert von dort aus nach Entnahme der Zubereitung unter Entwicklung eines Schaums.



**Abbildung 1-6: Schematische Darstellung des Aufschäumens einer Betulsion mit  $\text{CO}_2$**

### 1.2.6 Schäume aus Bag-on-Valve Systemen

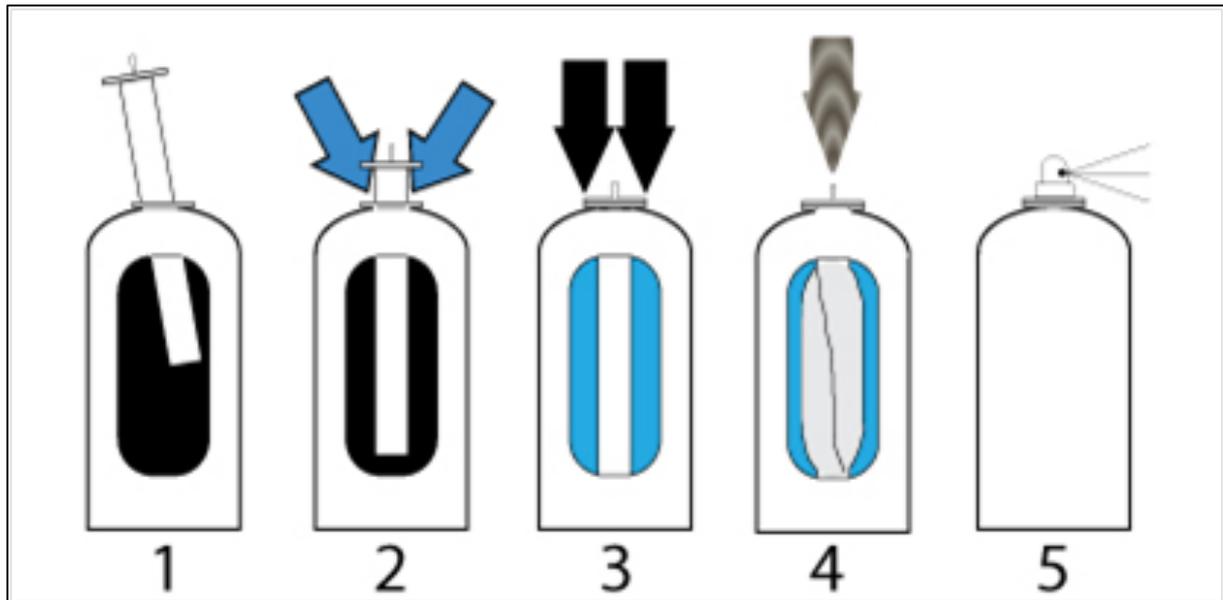
Bag-On-Valve-Systeme (BOV) sind neuartige Verpackungsmöglichkeiten für verschiedene Arten von Zubereitungen. Wie der Name erkennen lässt, handelt es sich um Systeme, bei denen direkt an das Ventil ein Vorratsbeutel für die Zubereitung angebracht ist. Dieser Beutel befindet sich in einer herkömmlichen Aerosoldose, in der ein Druck anliegt, der die Formulierung bei Verwendung aus dem Beutel austreibt.

Ein klassischer Aufbau ist in der folgenden Abbildung 1-7 zu sehen.



**Abbildung 1-7: Bag-on Valve-System, nicht befüllter Beutel (Mitte), befüllter Beutel (rechts) (AurenaLaboratories, 2015)**

Wichtiger Unterschied zur herkömmlichen Aerosoldose ist die räumliche Trennung der Zubereitung im Beutel vom austreibenden Treibgas, das sich in der Kammer zwischen Beutel und Aerosoldose befindet. Diese Art der Aerosoldose erfordert eine besondere Art der Befüllung. Die Befüllung der Bag-on-Valve-Systeme läuft nach folgendem Schema (Abbildung 1-8) ab (PremierFillingCompany, 2016):



**Abbildung 1-8: Befüllungsschema BOV**

In fünf Schritten wird die Aerosoldose mit dem BOV-System befüllt (Abbildung 1-8):

1. Die BOV-Einheit wird in die Aerosoldose eingebracht.
2. Druckluft wird um die BOV-Einheit herum hinzugefügt.
3. Die Aerosoldose wird vercrimpt und die Druckluft somit in der Dose eingeschlossen.
4. Das Produkt wird durch das Ventil in die BOV-Einheit gefüllt. Durch das Ausdehnen der Einheit beim Befüllen verringert sich der Druck der Druckluft zur Verfügung. Der Druck in der Dose erhöht sich weiter.
5. Der Sprühkopf wird aufgesetzt, um die Aerosoldose zu vervollständigen.

Die räumliche Trennung und der direkte Kontakt der Zubereitung im Beutel mit dem Ventil bringen eine Reihe von Vorteilen der BOV-Systeme gegenüber herkömmlichen Systemen mit sich:

- eine leichtere Entnahme auch hochviskoser Zubereitungen;
- keine Kontaminationsgefahr der Zubereitung;
- eine vollständige Trennung zwischen Druckgas und Produkt;
- einer Entleerungsrate bis 99 %;
- eine Nutzbarkeit aus jeder Position.

Diese Verpackungsvorteile sind bei der Anwendung von Schäumen auf der Haut wünschenswert, um das Aufbringen der Formulierung auf der Wunde auch an schwer zu erreichenden Körperteilen zu erleichtern und eine höhere Compliance durch erleichtertes Auftragen zu erreichen.

## 1.3 Haut und Wundheilung

Die Haut ist mit etwa zwei Quadratmetern das größte Organ des Menschen und nimmt vielfältige Aufgaben wahr: Neben der kontrollierten Abgabe von Wasser und Elektrolyten, den Möglichkeiten der Wahrnehmung von Sinnesreizen sowie der Temperaturregelung dient sie vor allem dem Schutz gegen Umwelteinflüsse. Xenobiotika, Mikroorganismen, mechanische Belastung und UV-Strahlen werden an und in der Haut abgehalten.

### 1.3.1 Haut

#### 1.3.1.1 Aufbau der Haut

Der Aufbau der Haut, des äußeren Integuments, lässt sich von außerhalb der Haut kommend in Richtung tieferer Hautschichten gehend folgendermaßen einteilen: Die Cutis, bestehend aus Epidermis und Dermis, und die Subcutis.

#### Die Epidermis

Die Epidermis bildet die äußere Schicht der Haut. Sie hat je nach Körperregion eine Dicke zwischen 40 µm und 1,6 mm. Zu ihr gehört

- das Stratum corneum (Hornschicht);
- das Stratum lucidum (Glanzsicht - nicht immer vorhanden);
- das Stratum granulosum (Körnerzellschicht);
- das Stratum spinosum (Stachelzellschicht); und
- das Stratum basale (Basalschicht).

Für den Schutz nach außen und als Barriere nach innen sorgt das Stratum corneum, eine Schicht aus abgestorbenen, ausdifferenzierten Hautzellen, den Corneozyten. Diese sind eingelagert in eine aus Cholesterol, Cholesterolestern, Ceramiden und Fettsäuren bestehenden Lipidmatrix (Elias, 1983, Lampe et al., 1983).

Das Stratum corneum wird im Modell oft als eine „bricks and mortar“-Struktur (Elias, 1983) dargestellt (Abbildung 1-9). Die ausdifferenzierten Corneozyten stellen dabei die Ziegel, die interzellulären Lipide den Mörtel dar. Desweiteren beinhaltet der Aufbau Corneodesmosome, die eine laterale Verschiebung der Zellen verhindern, sowie hooks, hakenähnliche Strukturen, die für weitere Verbindungen sorgen.

Die Basalschicht ist für das Nachbilden der Zellen verantwortlich. Durch diese ständige Neubildung erneuert sich die Haut etwa alle 28 Tage (Iizuka, 1994, Harding, 2004).

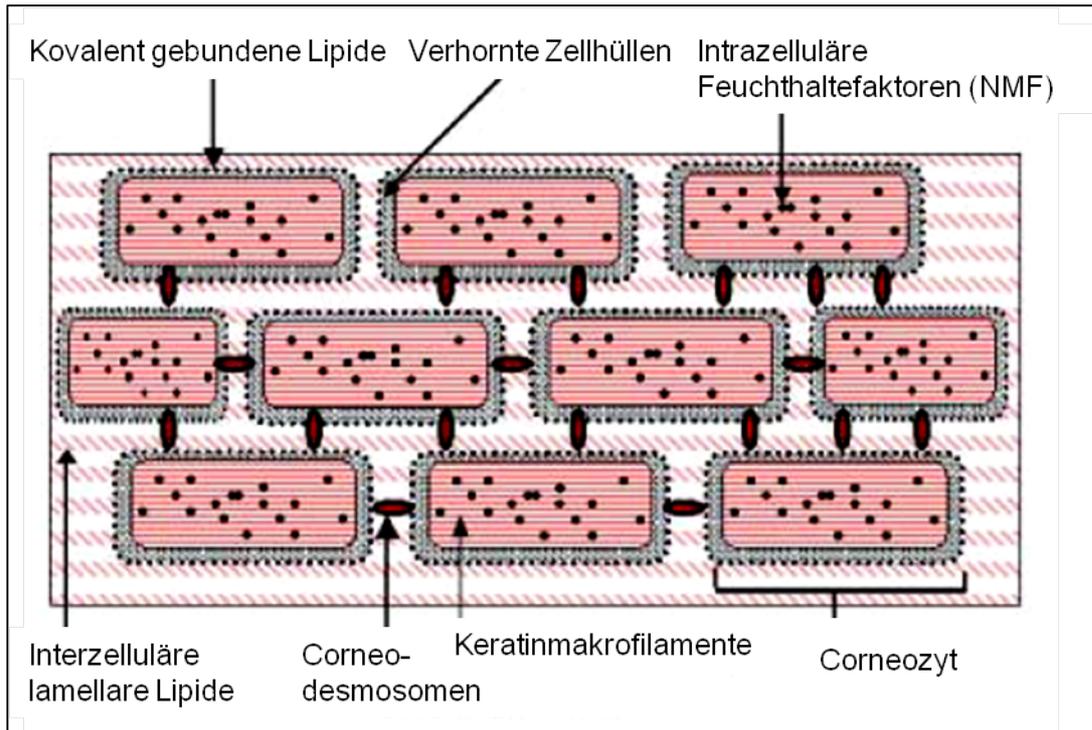


Abbildung 1-9: „Bricks and Mortar“ Schema nach Harding (Harding, 2004)

## Dermis

In die Dermis sind die Hautanhangsgebilde, wie Schweiß- und Talgdrüsen, Haare und Nägel eingebettet. Sie übernimmt außerdem die Aufgabe der Versorgung der Epidermis durch Kapillaren mit z. B. Nährstoffen. Zusammen werden die Epidermis und die Dermis der sog. Cutis zugeordnet, welche oberhalb der Subcutis liegt.

## Subcutis

Sie besteht aus lockerem Bindegewebe und Fettzellen und enthält größere Blutgefäße und Nervenzellen zur Versorgung der Haut.

### 1.3.1.2 Schweinehaut als Modell

Der in dieser Arbeit vorgestellte Schaum wird für die Anwendung auf menschlicher, verletzter Haut entwickelt. Da diese für Permeationsstudien jedoch oft nicht oder nicht in ausreichenden Mengen zur Verfügung steht, werden oftmals Tierhäute als Modell verwendet. Besonders häufig wird in solchen Fällen Schweinehaut verwendet, da diese der menschlichen Haut sehr ähnlich ist. Dies gilt sowohl für die Zusammensetzung der Zellinhalte, wie Lipide der Haut, (Gray et al., 1975) als auch für die Dicke der Haut, die Behaarung und das Permeationsverhalten (Dick et al., 1992, Jacobi et al., 2007, Schwarz et al., 2013). Daher wird in den Permeationsstudien dieser Arbeit Haut von Schweineohren der deutschen Landrasse verwendet.

### 1.3.1.3 Arzneistofftransport durch die Haut

Für den Weg eines Arzneistoffs in und durch die Haut unterscheidet man grundsätzlich drei verschiedene Vorgänge (Abbildung 1-10):

- die Penetration: das Eindringen des Arzneistoffes in die Haut;
- die Permeation: das Durchdringen der Haut;
- die Absorption: die Aufnahme des Arzneistoffes nach Durchdringen der Haut in den Blutkreislauf, also das systemische Zirkulat.

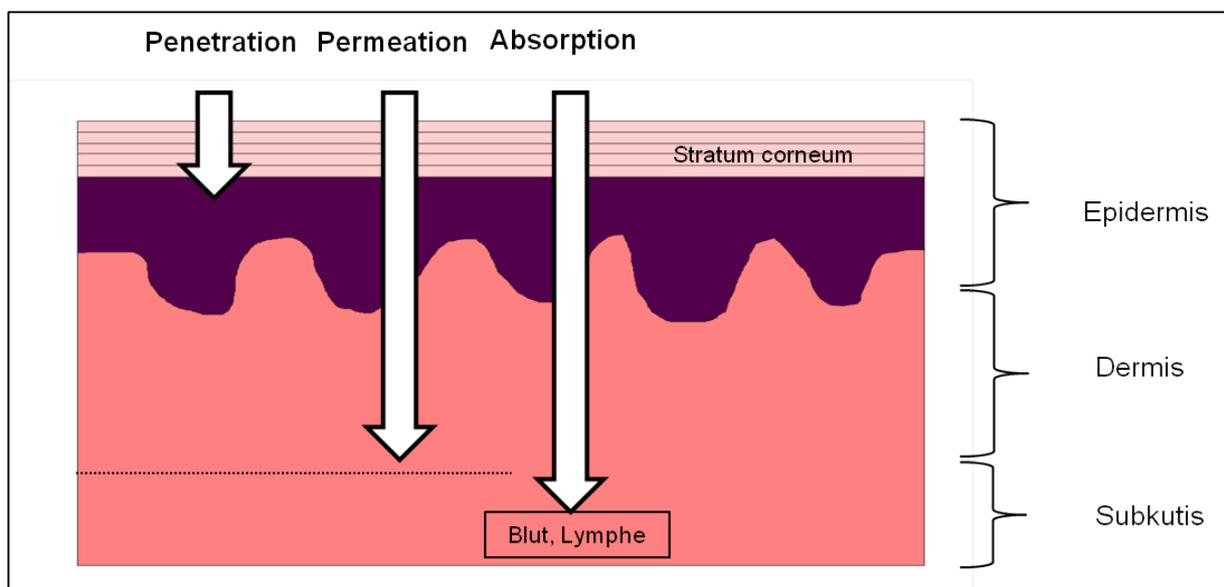


Abbildung 1-10: Arzneistoffaufnahme in die Haut

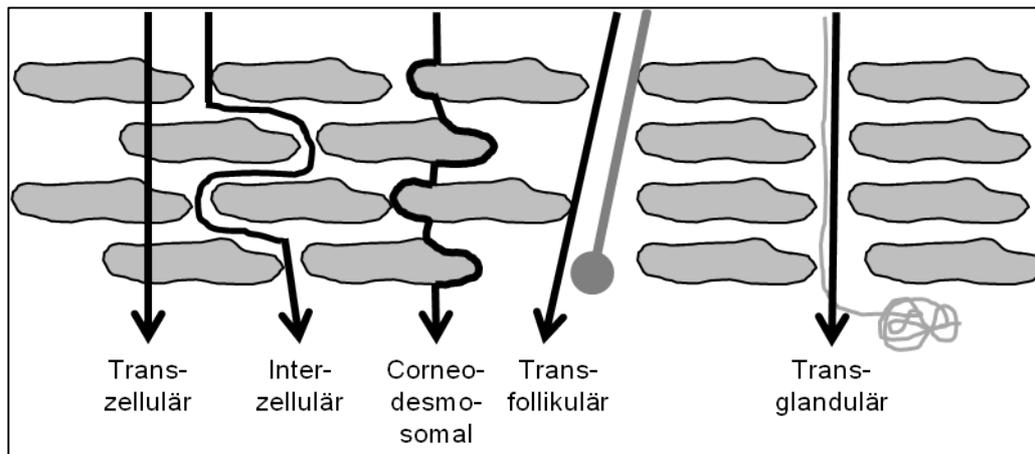
Der Arzneistofftransport durch die Haut kann auf unterschiedliche Weisen erfolgen. Die größte Barriere stellt dabei das Stratum corneum dar, das seine kompakten Zellschichten der Aufnahme stets entgegensetzt. Im nächsten Kapitel werden die einzelnen Wege, die der Stoff durch die Haut nehmen kann, beschrieben.

### 1.3.1.4 Penetrationswege durch die Haut

Generell hat ein Wirkstoff drei Möglichkeiten die Haut zu penetrieren:

- Transglandulär: durch Eindringen und Aufnahme über die Schweißdrüsen;
- Transfollikulär: durch Eindringen und Aufnahme über die Haarfollikel;
- Transepidermal.

Letzterer Weg durch die Epidermis kann nochmals in drei theoretische Untergruppen unterteilt werden (Abbildung 1-11). Man unterscheidet hier anhand des Wegs, den der Arzneistoff nimmt, in transzellulär, den direkten Weg durch die Haut, interzellulär, durch die Lipidmatrix, und corneodesmosomal, hier führt der Weg über die Corneodesmosomen (cornified envelop) von Corneozyt zu Corneozyt (Hadgraft et al., 2005, Hadgraft, 2001).



**Abbildung 1-11: Penetrationswege durch das Stratum corneum**

Bereits im Jahr 1975 wurde von Elias und Friend postuliert, dass dem interzellulären Weg eine große Bedeutung zukommt (Elias et al., 1975). Dies lässt sich besonders für hydrophobe Wirkstoffe leicht erklären, da es hier zu keinem Wechsel zwischen hydrophilen und lipophilen Eigenschaften im Fortbewegungsmedium kommt. Diese Tatsache spricht auch gegen einen Transport auf transzellulärem Weg. Er ist daher für den Arzneistofftransport nicht von Bedeutung. Obwohl der Interzellularanteil des Stratum corneums nur ein geringer ist, findet hier der Arzneistofftransport statt. Dies erklärt auch die

große Hürde, die die Hornschicht darstellt und die Langsamkeit des Prozesses, da der Weg der Permeation deutlich länger ist als die Schichtdicke der Haut (Hadgraft, 2001).

Der transfollikuläre Weg wurde aufgrund seiner geringeren Aufnahme­fläche von 0,1 % der gesamten Haut oft vernachlässigt, findet nun aber vermehrt Beachtung für die Permeation hydrophiler Wirkstoffe, von Makromolekülen und Partikeln (Lademann et al., 2008, Knorr et al., 2009). Der transglanduläre Weg spielt eine lediglich untergeordnete Rolle, da er vor allem dem Transport von Stoffen aus dem Körper dient.

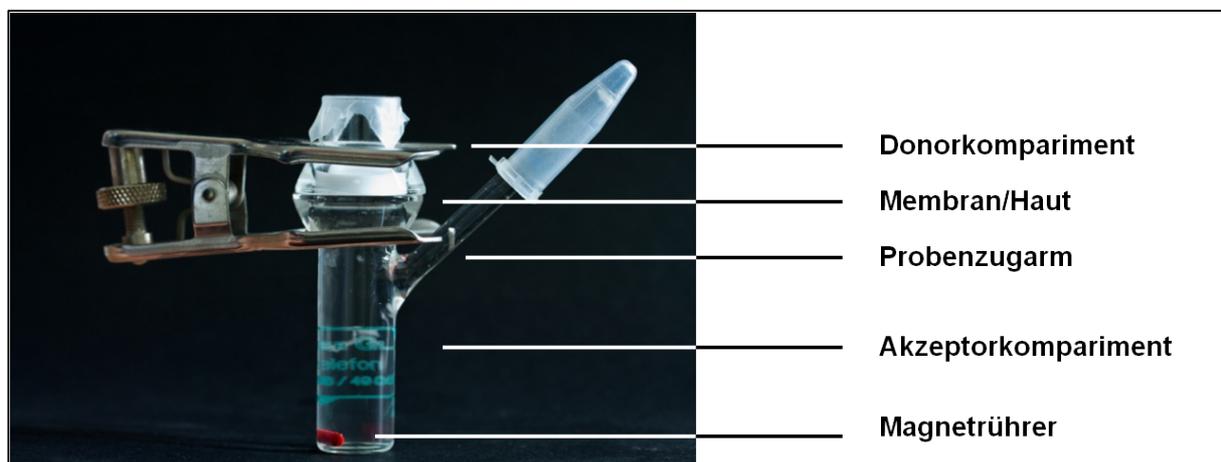
### 1.3.2 Biopharmazeutische Charakterisierung

Für die biopharmazeutische Charakterisierung von dermalen Zubereitungen stehen Freisetzungs-, Permeations- und Penetrationsuntersuchungen zur Verfügung.

In dieser Arbeit wurden Freisetzungs- und Permeationsuntersuchungen durchgeführt. Diese werden im Folgenden beschrieben.

#### 1.3.2.1 Franz-Diffusionszelle

Für beide Methoden zur biopharmazeutischen Charakterisierung wird die Diffusionszelle nach Franz verwendet. Sie wurde erstmals im Jahr 1975 von Thomas Franz beschrieben (Franz, 1975).



**Abbildung 1-12: Allgemeiner Aufbau der Franz-Diffusionzelle (Foto (Lunter, 2012))**

Die Diffusionszelle nach Franz besteht, wie in Abbildung 1-12 in einem klassischen Aufbau zu sehen, aus einem Donor- und einem Akzeptorkompartiment. In das Donorkompartiment wird die zu untersuchende, wirkstoffhaltige Zubereitung eingebracht und durch Abdecken vor möglicher Verdunstung geschützt. Das Akzeptorkompartiment beinhaltet eine stark gerührte Flüssigkeit, in der der Wirkstoff gut löslich ist. Wichtig für den Versuchsaufbau ist, dass im

Akzeptormedium stets Sinkbedingungen herrschen. Der Wirkstoff permeiert nun durch das trennende Element, das je nach Versuchsaufbau eine Membran (Freisetzungsuntersuchung) oder Haut (Permeationsuntersuchung) ist, vom Donor- ins Akzeptorkompartiment. Dort können über den Probenzugarm Proben zu gewählten Zeiten entnommen und die Wirkstoffkonzentration im Medium bestimmt werden. Das entnommene Medium wird ergänzt. Während der Versuchsdurchführung werden die Diffusionszellen auf 32 °C temperiert. Dies entspricht der Oberflächentemperatur der Haut.

Neben den im folgenden Kapitel 1.3.2.2 erwähnten Behörden thematisiert auch die OECD die Verwendung von Diffusionszellen nach Franz (OECD, 2004, OECD, 2011).

### **1.3.2.2 Freisetzungsuntersuchungen**

Freisetzungsuntersuchungen dienen der Bestimmung der intrinsischen, also der wahren, Freisetzungsgeschwindigkeit aus Formulierungen. Ziel dieser Versuche ist es nicht, physiologische Bedingungen zu simulieren. Sie verhelfen vielmehr zu einem ersten Verständnis der Zubereitung und ermöglichen die Untersuchung des Einflusses verschiedener Parameter in der Forschung, z. B. von Herstellparametern, Konzentration von Wirk- und Hilfsstoffen, Löslichkeiten usw. In der Industrie werden sie ähnlich den Dissolutiontests verwendet, um eine gleichbleibende Qualität der Produkte sicherzustellen. So erwähnt das Europäische Arzneibuch diese Methode auch als mögliche Qualitätskontrolle für halbfeste Zubereitungen zur kutanen Anwendung (Ph.Eur.8, 2015a). Freisetzungsuntersuchungen können u. a. mit Franz-Diffusionszellen durchgeführt werden. Dies wird auch von der US-amerikanischen Zulassungsbehörde (Food and Drug Administration: FDA) beschrieben (FDA, 1997).

Für Freisetzungsuntersuchungen wird, wie bereits in 1.3.2.1 beschrieben, in Franz-Diffusionszellen eine Membran als trennendes Element verwendet. Grundvoraussetzung ist es, die Membran so zu wählen, dass deren alleinige Funktion eine räumliche Trennung von Donor- und Akzeptormedium ist, um ein Durchmischen der beiden zu verhindern und eine definierte Freisetzungsfläche zu schaffen. Um die Bestimmung der intrinsischen Wirkstofffreisetzung zu gewährleisten, darf die Membran die Freisetzung nicht beeinflussen (Zatz, 1995). Nur, wenn die Diffusion des Wirkstoffes durch die Membran schnell und ungehindert abläuft, ist die Freisetzung aus der Formulierung der geschwindigkeitsbestimmende Schritt.

Den in dieser Arbeit untersuchten dermalen Zubereitungen liegt eine Suspension des Wirkstoffes (TE) im jeweiligen Öl zu Grunde. Für die Freisetzungskinetik derartiger Zubereitungen gilt das Quadratwurzelgesetz nach Higuchi (Higuchi, 1961). Dieses ist im Folgenden (Gleichung 1-8) unter der Annahme vereinfacht, dass die Sättigungslöslichkeit des Wirkstoffes sehr viel kleiner ist als die Konzentration suspendierter Teilchen:

$$Q = \sqrt{2 \cdot c_0 \cdot D \cdot c_s \cdot t}$$

**Gleichung 1-8**

Q: freigesetzte Arzneistoffmenge/Zeit

$c_0$ : Konzentration der suspendierten Teilchen zum Zeitpunkt  $t = 0$

D: Diffusionskoeffizient des Wirkstoffs in der Zubereitung

$c_s$ : Sättigungskonzentration des Wirkstoffs in der Zubereitung

t: Zeit

Da  $c_0$ ,  $c_s$  und D während eines normalen Versuchsablaufs konstant sind, ergibt sich eine Abhängigkeit der freigesetzten Wirkstoffmenge von der Quadratwurzel der Zeit. Diese Gesetzmäßigkeit gilt, solange nicht mehr als 30 % der in der Zubereitung vorhandenen Wirkstoffmenge freigesetzt sind (Thakker et al., 2003).

### 1.3.2.3 Ex-vivo Permeationsstudien

Für die Permeationsstudien wird im Gegensatz zu den Freisetzungsuntersuchungen Haut, in dieser Arbeit Schweinehaut, als Barriere zwischen Donor- und Akzeptormedium in der Diffusionszelle verwendet.

Die Permeation des Wirkstoffes durch die Haut ist ein passiver Prozess. Daher lässt sich auch auf ihn das folgende Gesetz (Gleichung 1-9) anwenden (Higuchi, 1961).

$$J = \frac{D \cdot VK \cdot \Delta c}{h}$$

**Gleichung 1-9**

J: permeierte Menge/Fläche, Flux

D: Diffusionskoeffizient

VK: Verteilungskoeffizient des Wirkstoffs Haut/Formulierung

$\Delta c$ : Konzentrationsdifferenz durch die Haut

h: Dicke der Hautschicht

Gleichung 1-9 zeigt die Abhängigkeit der Permeation von der Art und Dicke der Haut und von der Menge und Art des Wirkstoffs. Die Art der Haut findet sich im Verteilungskoeffizienten wieder. Die Dicke der Haut ist besonders in der praktischen Anwendung interessant, da sie sich von Körperregion zu Körperregion unterscheidet.

Für die Aufnahme des Arzneistoffes in und den Transport durch die Haut spielen nicht nur die physikochemischen Eigenschaften des Wirkstoffes eine Rolle. Auch die Formulierung, in der sich der Wirkstoff befindet, hat Einfluss auf die Permeationsrate (Flux). Diese unterscheidet sich z. B. abhängig davon, ob der Wirkstoff gelöst oder suspendiert, in einer Innenphase oder Außenphase der Formulierung anwesend ist. Zusätzlich hat die Formulierung die Möglichkeit, die Haut zu beeinflussen.

Die Permeationsrate kann über den Arzneistoff selbst, d. h. durch seine Konzentration in der Formulierung beeinflusst werden. Durch die thermodynamische Aktivität lässt sich folgendes erklären: Je höher die Konzentration ist, desto höher ist der Flux. Dies gilt bis zum Erreichen der Sättigungslöslichkeit in der Formulierung. Hier wird ein Maximum der Permeationsrate erreicht, das sich nur durch Übersättigung des Wirkstoffes in der Formulierung noch weiter steigern lässt.

Zeigen lässt sich dies an Gleichung 1-10, die im Jahr 1998 aus dem Diffusionsgesetz weiterentwickelt wurde (Bach et al., 1998):

$$J = \frac{D_B \cdot c_{sB}}{l} \cdot \frac{c_V}{c_{sV}}$$

**Gleichung 1-10**

J: Permeationsrate

$D_B$ : Diffusionskoeffizient im Stratum corneum

$c_{sB}$ : Sättigungslöslichkeit in Stratum corneum

l: Dicke des Stratum corneums

$c_V$ : Konzentration des gelösten Wirkstoffs in der Zubereitung

$c_{sV}$ : Sättigungskonzentration des Wirkstoffs im Vehikel

Gleichung 1-10 zeigt, dass bei Erreichen der Sättigungslöslichkeit  $c_V = c_{sV}$  der Bruch aus beiden Variablen 1 und damit konstant wird. Außerdem zeigt die Gleichung, dass die Permeationsrate mit zunehmender Löslichkeit des Wirkstoffes –  $c_{sV}$  wird größer – bei ansonsten gleichbleibenden Bedingungen in der Formulierung sinkt. Als drittes lässt sich festhalten, dass innerhalb der Haut das Stratum corneum die geschwindigkeitsbestimmende Barriere darstellt. Durch seinen Aufbau aus dicht gepackten, verhornten Zellen ist die Diffusion von Wirkstoffen hier erschwert.

Für die praktische Untersuchung der Permeation durch Haut wird meist Gleichung 1-8 herangezogen. Hierbei werden zur Vereinfachung von Gleichung 1-10 alle Konstanten zum Permeabilitätskoeffizient zusammengefasst. Die applizierte Konzentration kann anstatt der Differenz herangezogen werden, die meist sehr viel größer ist als jene unter der Haut.

$$J = k_p \cdot c_{app}$$

**Gleichung 1-11**

J: permeierte Menge/Fläche, Flux

$k_p$ : Permeabilitätskoeffizient

$c_{app}$ : applizierte Menge

Für die in diesem Kapitel beschriebenen Permeationsstudien wird vorzugsweise intakte Haut verwendet. Dem steht die Tatsache entgegen, dass viele dermal verwendete Zubereitungen als vorgesehener Wirkort Haut haben, die mit Hautkrankheiten verbunden ist. In der hier vorliegenden Arbeit wird die intakte Haut daher nur als Referenz zur verletzten Haut verwendet. Verletzte Haut weist eine geringere Barriere auf als intakte Haut. Außerdem sind die Eigenschaften der Haut an der Kontaktstelle verändert. Fehlt beispielsweise das Stratum corneum ist die Kontaktstelle aufgrund des Fehlens der abgestorbenen Corneozyten hydrophiler. Außerdem kommt es zur Exudation, also zur Absonderung Flüssigkeit, die ebenfalls hydrophil ist.

### **1.3.3 Wunden**

#### **1.3.3.1 Wundheilung**

Betrachtet man die natürliche, physiologische Wundheilung direkt nach Entstehung der Wunde, so lässt sie sich in drei einander überlagernde Phasen einteilen (Kirsner et al., 1993, Broughton 2nd et al., 2006). Die Entzündungsphase bildet den Anfang. In ihr findet durch Wundsekret ausgelöst eine Reinigung der Wunde statt. Gefolgt wird sie von der Regenerationsphase, die aus Reepithelialisierung, dem Schluss der Oberfläche der Wunde durch Hautzellen, und Granulationsgewebebildung, der Bildung von Bindegewebe im Inneren der Wunde, besteht. Die letzte Phase ist schließlich die Remodelierung. In dieser bildet sich das Narbengewebe um, wodurch u. a. die Verfestigung des Narbengewebes beeinflusst wird.

#### **1.3.3.2 Künstliche Verletzung/Barrierschädigung der Haut**

Um die normale, unveränderte Haut mit verwundeter Haut, die stets eine geringere Barriere aufweist, vergleichen zu können, haben sich im Laufe der Jahre einige Methoden zur künstlichen Verletzung der Haut etabliert. Sie unterscheiden sich besonders im Schweregrad der Verletzung.

Beim Tape Stripping wird das Stratum corneum entfernt (Dreher et al., 1998, Bashir et al., 2001). Es gibt die Möglichkeit der Haarrasur oder der Haarentfernung (Bronaugh et al., 1985). Ferner können Mikronadeln die Hautbarriere durch kleine Löcher schädigen (Gupta et al., 2011, Badran et al., 2009). Dieses Prinzip verwendet auch der Dermaroller, der durch Nadeln die Haut minimal invasiv schädigt, um Wirkstoffe in die Haut einzuschleusen.

Für diese Arbeit wurden zwei Verletzungsarten der Haut gewählt. Zum einen die Verletzung mittels Tape Stripping, zum anderen eine schwerwiegendere Verletzung durch Entfernung der obersten Hautschicht mit einem Dermatom, was der Verletzung in den Studien von Metelmann (Metelmann et al., 2012, Metelmann et al., 2015) zum Vergleich dient. In diesen Arbeiten wurde die Wundheilung von Entnahmestellen für Hauttransplantationen untersucht. Es handelt sich hierbei um zwei Barrierschädigungen, die zu Hautarten führen, welche sich zum einen stark von Haut mit intakter Barriere, aber auch untereinander in der Schwere der Verletzung unterscheiden (vgl. 3.4.1).

### 1.3.3.3 Behandlungsmöglichkeiten von Wunden

Ziel der Behandlung von Wunden ist es, einen raschen Wundschluss zu erreichen, um zu verhindern, dass die Wunde chronisch wird. Eingesetzt werden vor allem Wundauflagen ohne Wirkstoffe, die die Reepithelialisierung durch Schaffung eines feuchten Milieus positiv beeinflussen oder überschüssiges Sekret absorbieren. Die Heilung wird in diesen Fällen jedoch nur durch eine Optimierung der Heilungsmilieus erreicht und nicht durch die pharmakologische Wirkung eines Arzneistoffes. Im Bereich zwischen den klassischen Arzneimitteln und wirkstofffreien Wundauflagen liegen Wundauflagen mit Silber wie Silvercel, Promogran oder Askina. Sie schützen die Wunde durch Abgabe von Silberionen vor mikrobiellem Befall. Sie beugen der Infektion von Wunden vor und sind ohne signifikante Nebenwirkungen. Jedoch besitzen sie keine Wirkstoffe, die die Wundheilung aktiv fördern.

Prontosan ist eine Wundspüllösung bzw. ein Gel, welches das Tensid Betain und Polyhexamethylenbiguanid als antimikrobiellen Wirkstoff enthält. Sie dient ebenfalls der Verhinderung von mikrobiellen Infektionen. Einen Schritt weiter geht das Arzneimittel Bepanthen als antiseptische Wundcreme. Sie enthält neben Chlorhexidin, einem Antiseptikum, Dexpanthenol, welches die Hautregeneration unterstützt. Beiden Formulierungen ist jedoch gemein, dass sie Tenside enthalten, die zu Unverträglichkeiten führen können und vor allem, dass sie nicht berührungsfrei auftragbar sind. Durch das Auftragen kann durch mechanische Belastung und Druck Stress in der Wunde entstehen, der der Wundheilung entgegensteht. Bepanthen als Schaumspray lässt sich berührungsfrei auftragen und bringt die dadurch entstehenden Vorteile mit sich. Es ist allerdings nur für leichte Verbrennungen und leichten Sonnenbrand geeignet und deckt daher nur ein sehr begrenztes Feld der Wundheilung ab.

Ein weiteres Medikament namens Regranex Gel war in der Heilung diabetischer Wunden im Einsatz. Dieses hat durch Wachstumsfaktoren zwar eine wundheilungsfördernde Wirkung, sein Vertrieb wurde jedoch eingestellt. Als Mittel der letzten Wahl bei chronischen Wunden gilt Apligraf. Hierbei handelt es sich um einen Hautersatz auf Basis lebender Zellen. Die Nebenwirkungen und Gegenanzeigen sind erheblich. So kann es beispielsweise nicht bei entzündeter Haut oder bei Allergien gegen Rinderkollagen angewendet werden. Seine Anwendung kann darüber hinaus nur von geschulten Experten durchgeführt werden.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass auf dem Markt nur eine sehr begrenzte Anzahl an Formulierungen erhältlich ist, die die Wundheilung aktiv fördern. Nur eines berücksichtigt dabei auch die Vorteile einer berührungsfreien Auftragung durch einen Schaum. Es ist daher dringend erforderlich die Forschung in diesem Gebiet weiter zu vertiefen.

## 1.4 Zielsetzung

In Deutschland leiden etwa zwei bis vier Millionen Personen an sogenannten chronischen Wunden. Als chronische Wunden werden Wunden definiert, die innerhalb eines bestimmten Zeitraums, etwa acht Wochen, nicht abheilen (Rüttermann et al., 2013). Bekannte Beispiele sind ein Ulcus cruris, das „offene Bein“, der Dekubitus sowie der diabetische Fuß.

Chronische Wunden sind für die betroffenen Patienten mit einem großen Leidensdruck und einer deutlichen Verringerung der Lebensqualität verbunden (Persoon et al., 2004, Do et al., 2015, Parker, 2012). Um zu verhindern, dass akute Wunden chronisch werden, bedarf es bei akuten Wunden einer besonderen und oftmals sehr aufwändigen Pflege.

Seit jeher werden halbfesten Zubereitungen, Salben, Cremes, Lotionen und Pasten angewendet, um die Heilung von Hauterkrankungen wie Ekzemen, Infektionen oder Pilzbefall zu verbessern. Wunden werden jedoch selten mit halbfesten Zubereitungen therapiert (Versorgungsleitlinie, 2006, Phlebologie, 2008). Ein Grund hierfür sind die folgenden Faktoren, die im Falle der Nichtberücksichtigung zu einer Reihe von Nachteilen in der Wundheilung führen können. Die mit der Behandlung durch halbfeste Zubereitungen einhergehenden Probleme können in zwei Gruppen unterteilt werden.

(1) Enthaltene Hilfsstoffe: Bereits bei unbeschädigter Haut besteht ein Allergierisiko bei Zusatz bestimmter Konservierungsmittel oder Emulgatoren, wie z. B. Wollwachs (Erdmann et al., 2003, Skinner et al., 1998). Die Schädigung der Haut kann durch Symptome der Allergie noch verstärkt werden. Bei den Emulgatoren, die für die physikalische Stabilisierung der Zubereitungen benötigt werden, handelt es sich um waschaktive Tenside. Diese Tenside binden die Lipide der Haut, was zu einer Störung der Hautbarrierefunktion und dadurch zum Austrocknen der Haut führt (Buraczewska et al., 2007).

(2) Art des Aufbringens der Zubereitung: Durch das manuelle Auftragen der Zubereitung wird die Wunde mechanischer Belastung und Druck ausgesetzt, was zu einer Störung der Reepithelisierung und dadurch einer Verzögerung der Heilung führen kann. Darüber hinaus kann es durch die Berührung zur Übertragung von Bakterien kommen, die die Wundheilung ebenfalls negativ beeinflussen (Edwards et al., 2004, Bjarnsholt et al., 2008). Für Patienten ist das Auftragen dieser Zubereitungen schmerzhaft, weshalb Schäume in der Therapie von Hautkrankheiten von Patienten bevorzugt werden (Housman et al., 2002, Bergstrom et al., 2003, Stein, 2005).

Um den Einsatz halbfester Zubereitungen zur Anwendung auf Wunden zu fördern und damit ein breiteres Spektrum an Therapiemöglichkeiten für eine Vielzahl von Patienten anzubieten, ist es daher geboten, die Forschung in diesem Gebiet auszuweiten. Aufgrund der oben genannten Nachteile halbfester Zubereitungen auf die Wundheilung sollte der Schwerpunkt hierbei auf der Entwicklung einer berührungsfrei auftragbaren Zubereitung mit möglichst wenigen Hilfsstoffen liegen.

Eine bereits auf dem Markt befindliche halbfeste Zubereitung zur Behandlung von Wunden ist Episalvan (Birken AG). Dieses Gel setzt sich aus nur zwei Bestandteilen zusammen: Sonnenblumenöl als lipophiler Komponente und einem pflanzlichen Triterpenextrakt aus der Birkenrinde (Hauptbestandteil: Betulin), als Wirkstoff und Stabilisator des Gels.

Mit einem Gehalt von 18,7 % an Triterpenen stellt Birkenkork das triterpenreichste Ausgangsmaterial der Natur dar und eignet sich daher besonders für die Extraktion der Triterpene (Hayek et al., 1989). Nach der Extraktion enthält der Extrakt etwa 80 % Betulin, 4 % Betulinsäure und in geringen Mengen andere Triterpene wie Ursolsäure, Erythrodiol und Lupeol. Zwei Besonderheiten des Extrakts sind hervorzuheben:

(1) Der Triterpentrockenextrakt (TE) weist eine interessante galenische Eigenschaft auf, die eine Anwendung auf der Haut ermöglicht. Er ist in der Lage mit Ölen ein Gel, ein sog. Oleogel, zu bilden, das bis zu 50 % (m/m) Wasser aufnehmen kann (R. Daniels, 2008, Grysko et al., 2013). Die Einarbeitung des Wassers führt zu physikalisch stabilen und aufgrund der antimikrobiellen Wirkung der Triterpene mikrobiologisch stabilen Wasser-in-Öl-Cremes. Diese Entdeckung führte zur Formulierung der medizinischen Hautpflege (Imlan).

(2) Eine weitere bedeutende Eigenschaft des Extraktes ist seine pharmakologische Wirkung. Triterpene aus der Birkenrinde fördern die Wundheilung. Der Einfluss triterpenhaltiger Zubereitungen auf Wunden und unterschiedlich verletzte Hautarten - aktinische Keratose, chirurgische Wunden und nekrotisierenden Herpes zoster - wurde bereits untersucht (Huyke et al., 2006, Metelmann et al., 2015, Metelmann et al., 2012, Weckesser et al., 2010, Birken, 2015). Dabei konnte der positive Einfluss von TE stets deutlich nachgewiesen werden. Außerdem untersucht wurden der molekulare Mechanismus und ein ex-vivo Wundheilungsmodell (Ebeling et al., 2014).

Ziel der Arbeit ist es, die Vorteile einer berührungsfreien Auftragung mit denen des positiven Einflusses der Triterpene auf Wunden zu kombinieren und folglich einen triterpenhaltigen Schaum zur Anwendung auf Wunden zu entwickeln und zu charakterisieren.

## 2 Materialien und Methoden

### 2.1 Verwendete Materialien

**Tabelle 2-1: Chemikalien und Hilfsstoffe**

Verwendete Chemikalien (Handelsname)	Hersteller
Acetonitril	VWR International GmbH, Darmstadt
CO <sub>2</sub>	Westfalen, Münster
Dinatriumhydrogenphosphat	Merck KGaA, Darmstadt
Dünnflüssiges Paraffin	Hansen & Rosenthal KG, Hamburg
Hydrophobes Basisgel	Caesar & Loretz GmbH, Hilden
Kaliumdihydrogenphosphat	Fluka Chemie GmbH, Buchs
Methylenblau	Merck KGaA, Darmstadt
Mittelkettige Triglyceride (Myritol 318)	BASF SE, Ludwigshafen
Natriumchlorid	Caesar & Loretz GmbH, Hilden
NEG 50	Richard-Allan Scientific, Kalamazoo
PEG-22-dodecylglycol-Copolymer (ELFACOS® ST 37)	Akzo Nobel N.V. Amsterdam
PEG-45/Dodecyl Glycol Copolymer (Elfacos ST9)	Akzo Nobel N.V. Amsterdam
Phosphatidylcholin (Phospholipon H 80)	Phospholipid GmbH, Köln
Phosphorsäure	Merck KGaA, Darmstadt
Polyglyceryl-2 Sesquioleat (Dermofeel GO soft)	Dr. Staetmans GmbH, Hamburg
Polyglyceryl-3 Diisostearat (Lameform TGI)	BASF SE, Ludwigshafen
Polyglyceryl-3 Methylglucose Distearat (Tego Care 450)	Evonik Industries AG, Essen
Polyglyceryl-3 Polyricinoleat (Dermofeel PR)	Dr. Staetmans GmbH, Hamburg
Polysorbat 80 (Tween 80)	Croda GmbH, Nettetal
Sonnenblumenöl	Caesar & Loretz GmbH, Hilden
Sorbitantrioleat (Span 85)	Croda GmbH, Nettetal
Sudanrot	Alfa Aesar GmbH & Co. KG, Karlsruhe
TE	Birken AG, Niefern-Öschelbronn
β-Hydroxypropylcyclodextrin (Kleptose HP oral Grade)	Roquette, Lestrem

**Tabelle 2-2: Verbrauchsmaterialien**

<b>Verbrauchsmaterial</b>	<b>Hersteller</b>
Alufolie	handelsüblich
Aluminium-Aerosoldosen	Tubex GmbH, Rangendingen
Aluminiumaußenkammern für Bag-on-Valve	institutseigene Werkstatt, Tübingen
Bag-on-Valve Beutel 50 mL	Lindal Dispenser GmbH, Schönberg
Deckgläser	VWR International GmbH, Darmstadt
Dermatomklingen GB228R	Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen
Einmalspritzen 1 mL – 30 mL	B. Braun Melsungen AG, Melsungen
Glasobjektträger	VWR International GmbH, Darmstadt
HPLC-Säule Nucleosil 100-5 C18 EC 125/4	Macherey-Nagel, Düren
HPLC-Vials	Macherey-Nagel, Düren
Kanülen Sterican 0,8x120	B. Braun Melsungen AG, Melsungen
Laborfett	Borer Chemie AG, Zuchwil
Parafilm M	Company Inc., Oshkosh
Schlingazetupfer	Fuhrmann GmbH, Much
Skalpellklingen, steril #22	Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen
Teflonfilter 5 µm	Satorius Stedim Biotech, Göttingen
Tesa No 4142	Beiersdorf, Hamburg
Vorsäule Universal RP EC 4/3	Macherey-Nagel, Düren
w/w-Adapter aus Aluminium und Kunststoff	institutseigene Werkstatt, Tübingen
Zentrifugenröhrchen 15 mL und 50 mL	VWR International GmbH, Darmstadt

## 2.2 Geräte

**Tabelle 2-3: Übersicht über die verwendeten Geräte**

Gerät	Typenbezeichnung	Hersteller
Analysenwaage	CP 244 S	Satorius AG, Göttingen
Becomix	RW 2,5	A. Berents GmbH & Co. KG, Stuhr
CO <sub>2</sub> -Abfüllanlage		k. A.
Dermatom	GA 630	Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen
Dichtemessgerät	DMA 4500	Anton Paar, Graz
Einhängethermostat	Lauda alpha	Thermo Fisher Scientific Inc., Langenselbold
Franzzellen, modifiziert 12 mL		Gauer Glas, Püttlingen
HPLC	LC-20A prominence Module: Entgaser DGK-20A5, Pumpe LC-20AT, Autosampler SIL-20A, Kommunikationsmodul CBM-20A, UV/Vis-Detektor SPC-20A, Säulen-Ofen CTO-10ASVP	Shimadzu, Duisburg
Kryotom	HM 560 Cryo-Star	Thermo Fisher Scientific Inc., Langenselbold
Küvette für PAT-1		Hellma GmbH & Co. KG, Müllheim
Magnetrührer mit Heizplatte	MR 3001 K	Heidoph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach
Mehrstellenrührplatte	Poly 15	Thermo Fisher Scientific Inc., Langenselbold
Mikroskop	Axio Imager Z1	Carl Zeiss Jena
pH-Meter	SevenEasy	Mettler Toledo, Gießen
Profilanalyse-Tensiometer	PAT1	Sinterface, Berlin

Gerät	Typenbezeichnung	Hersteller
Rheometer	Physica MCR 501	Anton Paar, Graz
Skalpellhalter		Aesculap AG & Co. KG, Tuttlingen
Speedmixer	DAC 150.1 FVZ	Hausschild & Co. KG, Hamm
Stereolupe	STEMI SV8	Carl Zeiss Jena
Ultra-Turrax	T25	IKA, Staufen
Verkrimpmaschine		k. A.
Waage	Excellence	Sartorius AG; Göttingen
Wasserbad	Lauda 020T	Thermo Fisher Scientific Inc., Langenselbold

**Tabelle 2-4: Verwendete Software**

Artikel	Hersteller
Axiovision 4.6.3	Carl Zeiss Jena GmbH, Jena
EndNote X5	Thompson Reuters, New York
GIMP2	GIMP Team
LC Solution 1.21 SP1	Shimadzu, Duisburg
JMP 11	SAS Corporation, Cary
Microsoft Excel 2007	Microsoft Corporation, Redmond
Microsoft Word 2007	Microsoft Corporation, Redmond
PAT1 Version 5.03.1	Sinterface, Berlin
Rheoplus/32 V3.40	Anton Paar, Graz

## **2.3 Methoden**

### **2.3.1 Herstellvorgänge**

#### **2.3.1.1 Vorbereitung des Extraktes**

Für die Herstellung der Oleogele wird der Triterpenextrakt durch ein Sieb der Maschenweite 315 µm gesiebt und in ein Probengefäß überführt.

#### **2.3.1.2 Herstellung der Oleogele**

Dem vorbereiteten Trockenextrakt wird eine definierte Menge Öl hinzugefügt und die Mischung mit Hilfe des Ultra-Turrax 3 min bei 8000 rpm dispergiert. Vor Verwendung bzw. Weiterverarbeitung werden die Gele 24 h gelagert.

Für die Herstellung emulgatorhaltiger Emulsionen werden ausgehend von 10%igem Oleogel 2 % TE durch Emulgator ersetzt. Also werden 2 % Emulgator und 8 % TE mit Sonnenblumenöl wie oben beschrieben verarbeitet. Emulgatoren im festen Aggregatzustand (Polyglyceryl-3 Methylglucose Distearat, Phosphatidylcholin) werden vor der Herstellung des Gels in Sonnenblumenöl aufgeschmolzen. Anschließend erfolgen die Zugabe des TE und die Dispergierung mit dem Ultra-Turrax. Diese Oleogele werden sofort im warmen Zustand zu Emulsionen weiterverarbeitet, um ein erneutes Auskristallisieren des Emulgators ohne die Einarbeitung von Wasser zu verhindern.

Für die Vermessung der Viskosität der emulgatorhaltigen Oleogele wird ein 10%iges Stammoleogel in der Becomix bei 30 °C, 1 h mit einer Umfangsgeschwindigkeit von 10 m/s hergestellt und anschließend im Speedmixer 10 min bei 3500 Upm mit Sonnenblumenöl und den Emulgatoren zur bekannten Zusammensetzung von 8 % TE und 2 % Emulgator weiterverarbeitet. Anschließend werden die Gele zwei Monate gelagert.

#### **2.3.1.3 Herstellung der Emulsionen**

Die Emulsionen werden mittels Spritze-zu-Spritze Verfahren hergestellt. Die entsprechenden Volumina werden in Spritzen aufgezogen und über einen weiblich/weiblich-Adapter verbunden. Die Emulsion wird bis zur vollständigen Homogenität durch Hin- und Herbewegen der Kolben gemischt.

### 2.3.1.4 Herstellung der Schäume

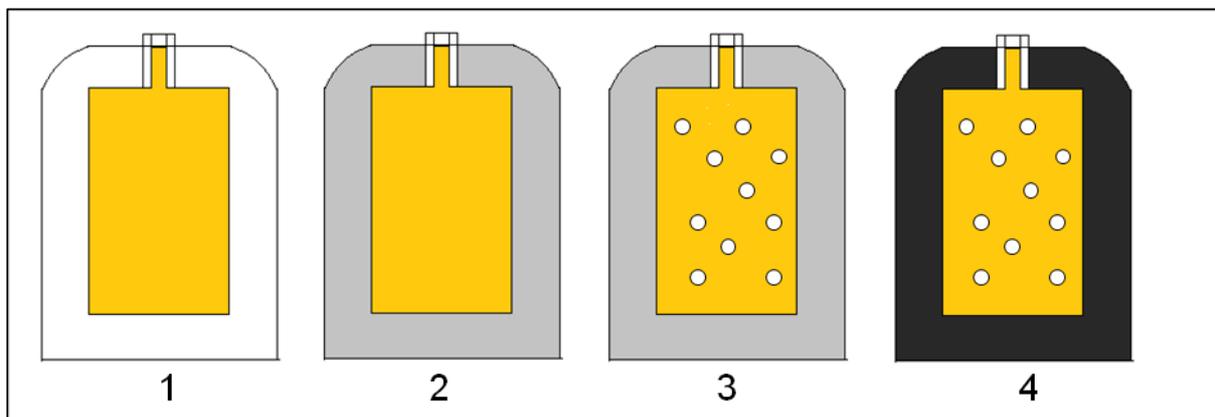
Sofern nicht anders beschrieben, werden in den Ergebnissen Schäume aus Aluminiumaerosoldosen vorgestellt. Schäume aus Bag-on-Valve-Systemen sind als solche gekennzeichnet.

#### 2.3.1.4.1 Aerosoldosen

Für die Herstellung von Schäumen aus Aerosoldosen werden 50 mL der jeweiligen Zubereitung abgefüllt und die Dose anschließend mit einem Ventil mit Steigrohr verschlossen. Die Aerosoldose wird über fünf Tage mit CO<sub>2</sub> auf einen Enddruck von 5 bar befüllt, da in einem Vorversuch gezeigt werden konnte, dass nach dieser Zeit der Druck konstant bleibt.

#### 2.3.1.4.2 Bag-on-Valve

Für die Untersuchung der Schäume aus dem Bag-on-Valve-System werden die 50 mL Ventilbeutel in Aluminiumaußenkammern gesteckt. Die Zubereitungen werden über eine Spritze mittels eines Adapters in die Ventilbeutel gefüllt. In der Außenkammer wird nun ein Stützdruck von 4 bar angelegt und gegen diesen Druck der Innenbeutel anschließend mit CO<sub>2</sub> (5 bar) befüllt. Nach dem Befüllen mit CO<sub>2</sub> wird der Stützdruck auf 5 bar erhöht (Abbildung 2-1).



**Abbildung 2-1: Befüllung des BOV-Systems**

**1 – Befüllung mit Zubereitung; 2 – Anlegen des Außendrucks; 3 – Zugabe von CO<sub>2</sub>;  
4 – Erhöhung des Stützdrucks**

Die Beutel werden sowohl hälftig als auch vollständig mit der Zubereitung befüllt, um die Auswirkung des für die Gasphase verbleibenden Volumens zu untersuchen.

## 2.3.2 Charakterisierung von Oleogel, Emulsion und Schaum

### 2.3.2.1 Bestimmung der Viskosität

Die Viskosität der Zubereitungen wird mit Hilfe eines Rheometers mit Kegel-Platte-Messkörper nach folgenden Spezifikationen (Tabelle 2-5) untersucht:

**Tabelle 2-5: Parameter des Messwerkzeugs**

Messwerkzeug/Parameter	Spezifikation
Geometrie	Kegel-Platte
Durchmesser	25 mm
Spalt	0,048 mm
Öffnungswinkel	1 °
Temperatur	25 °C

Für alle rheologischen Untersuchungen werden je drei Messungen mit den Messparametern nach der folgenden Tabelle 2-6 durchgeführt:

**Tabelle 2-6: Messparameter für Viskositätsmessung**

Parameter	Vorscherung	Ruhephase	Messung
D [1/s]	5		2 - 100
Messpunktanzahl	2	5	50
Messungspunkt-dauer [s]	10	60	5

Verglichen wird anschließend jeweils der Mittelwert der Messpunkte bei einer Scherrate von 100/s.

### 2.3.2.2 Bestimmung der Diffusionsstrecke

Neben der Bestimmung der Makroviskosität (2.3.2.1) gibt auch die Bestimmung der Diffusionsgeschwindigkeit eines Wirkstoffes Aufschluss über das Verhalten der Oleogele und die Mikroviskosität der Formulierungen.

Als Modellwirkstoff wird zur Visualisierung für diesen Versuch Sudanrot gewählt. Dieses wird in den Ölen vor Herstellung der Gele gelöst. Die Oleogele werden wie bereits beschrieben hergestellt, wobei jeweils die Hälfte davon mit sudanrothaltigem Öl versetzt wird. Die Oleogele werden anschließend in Zentrifugenröhrchen gefüllt (Abbildung 2-2) und drei Monate bei 20 °C gelagert. Eine der Stichproben wird dann homogenisiert, um als Vergleichsfarbe zu dienen. Die Diffusionsstrecke der drei verbleibenden Proben wird anschließend von acht unabhängigen Testpersonen dokumentiert.

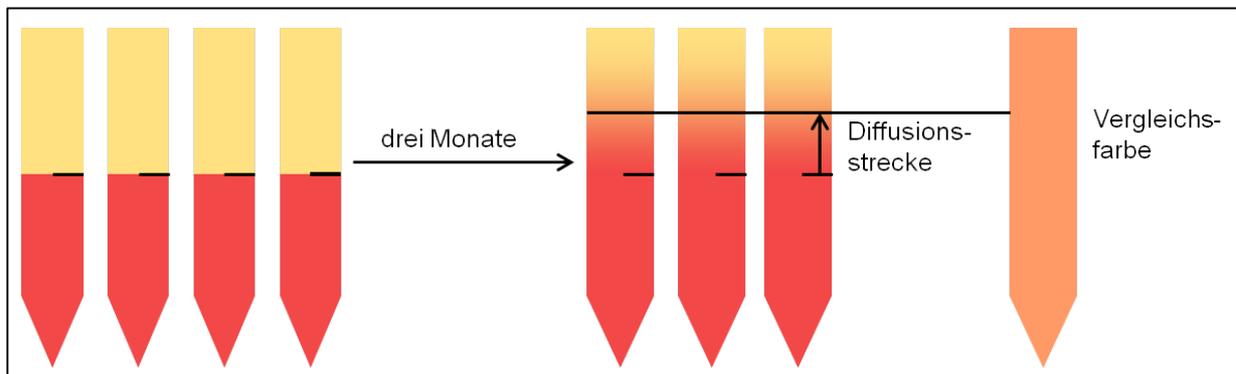


Abbildung 2-2: Versuchsaufbau für die Bestimmung der Diffusionstrecke

### 2.3.2.3 Aufnahmen mit der Stereolupe

Eine erste Begutachtung der Schaumqualität findet durch genauere Aufsicht mit der Stereolupe statt. Hier können Unterschiede der Schaumstruktur und der Gasblasenform sichtbar gemacht werden. Zur genauen Betrachtung wird der Schaum hierbei auf einen Objektträger aufgebracht. Um eine plane Betrachtungsfläche zu erreichen wird anschließend ein zweiter Objektträger aufgelegt. Ein Abstandshalter zwischen den beiden Gläsern verhindert dabei eine mechanische Belastung des Schaums, die zu einer Veränderung des Erscheinungsbildes führen könnte.

#### **2.3.2.4 Bestimmung der Volumenzunahme**

Die Volumenzunahme ist angelehnt an die Bestimmung der relativen Schaumdichte im Europäischen Arzneibuch (Ph.Eur.8, 2015b). Hier wird für ein definiertes Volumen die Masse des Schaums mit der Masse für Wasser verglichen. Da es sich bei den hier untersuchten Schäumen im Gegensatz zu normalen pharmazeutisch genutzten Schäumen um Wasser-in-Öl-Schäume handelt, wird die Masse der jeweiligen Emulsion mit der des Schaums je bei einem definierten Volumen ins Verhältnis gesetzt. Aus dem Kehrwert der Dichte kann so die Volumenzunahme des Schaums im Vergleich zur Emulsion berechnet werden (Gleichung 2-1). Sie wird im Folgenden als Foaming Index (FI) bezeichnet.

$$FI = \frac{m(\text{Emulsion})}{m(\text{Schaum})}$$

**Gleichung 2-1**

#### **2.3.2.5 Bestimmung der Schaumstabilität**

Zur Bestimmung der Schaumstabilität werden je 25 mL des Schaums in ein Falcontube gefüllt und die Stabilität über einen Zeitraum von 5 min beobachtet. Für MCT-haltige paraffinhaltige Schäume wird das Volumen nach 30 s, 1 min, 3 min und 5 min abgelesen. Für Sonnenblumenölschäume wird die Auswertung als Teil der statistischen Versuchsplanung mit dem Endvolumen nach fünf Minuten dargestellt.

#### **2.3.2.6 Bestimmung der Dichte**

Die für die Bestimmung der Grenzflächenspannung benötigte Dichte der Flüssigkeiten, wird mit dem Biegeschwinger-Dichtemessgerät bestimmt. Die Temperatur für die Bestimmung entspricht der Temperatur bei der Messung der Grenzflächenspannung, da die Daten der Dichtebestimmung für diese Messung benötigt werden. Die Temperatur beträgt 25 °C.

### 2.3.3 Bestimmung der Grenzflächeneigenschaften

Die Bestimmung von Grenzflächenspannung und rheologischen Grenzflächeneigenschaften wird mit der Tropfenkonturanalyse durchgeführt. Es wird dazu das PAT1 verwendet. Der Aufbau des Geräts ist in Abbildung 2-3 dargestellt.

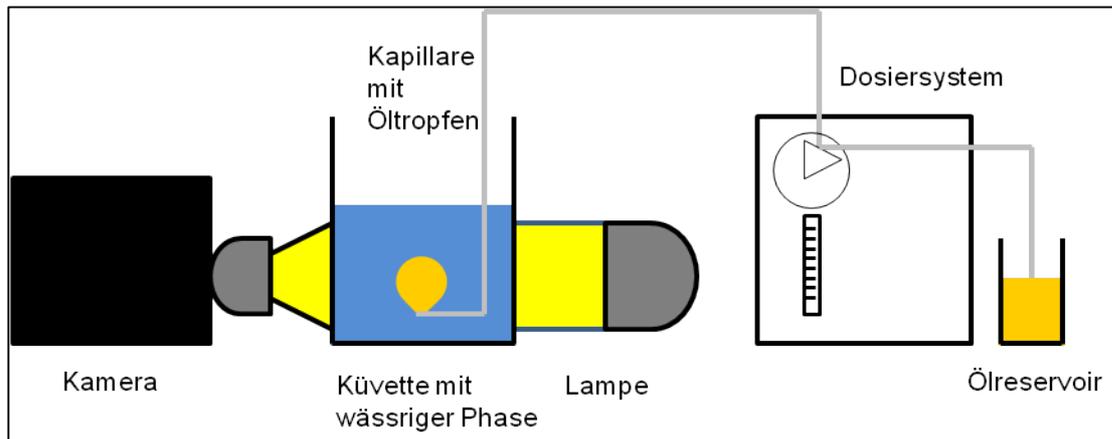


Abbildung 2-3: Aufbau des Profiltropfentensiometers

#### 2.3.3.1 Vorbereitung

Zur Vorbereitung der Messungen werden alle Bestandteile mit Aceton und Isopropanol für Analysezwecke gespült, um vorhandene Tensidreste, die die Messung beeinträchtigen könnten, zu entfernen. Die Kapillare wird in den Fokus der CCD-Kamera gebracht und mit einer Metallkugel mit 2 mm Durchmesser kalibriert, wobei auf die Vertikalität und Helligkeitseinstellung zu achten ist.

Anschließend wird die Küvette mit Aqua purificata befüllt und der Schlauch und die Kapillare werden gründlich mit dem zu untersuchenden Öl gespült. Daraufhin wird das gesamte System auf 25 °C temperiert.

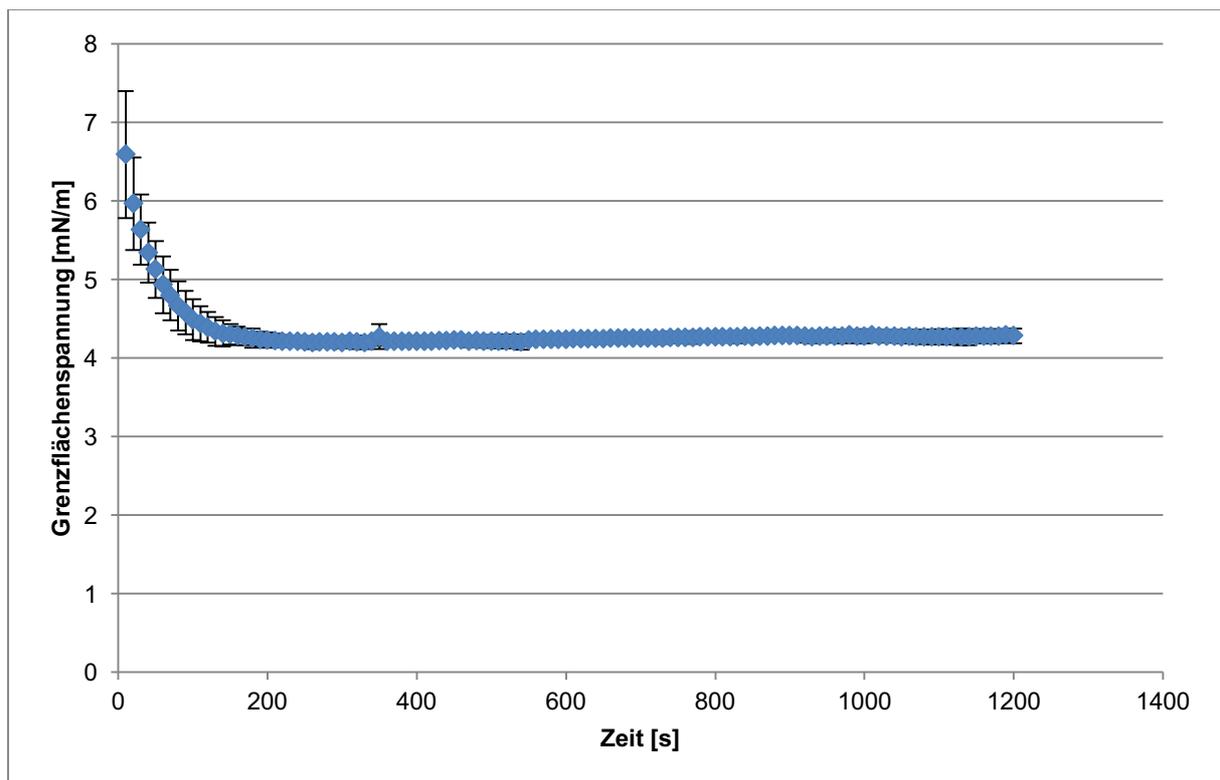
#### 2.3.3.2 Vermessene Lösungen

Alle Messungen werden an einem stehenden Öltropfen in Wasser durchgeführt. Folgende Lösungen werden untersucht:

- Sonnenblumenöl;
- Sonnenblumenöl mit 0,1 % TE;
- Sonnenblumenöl mit 0,1 % Emulgator; und
- Sonnenblumenöl mit 0,1 % TE und 0,1 % Emulgator.

### 2.3.3.3 Grenzflächenspannung

Die Bestimmung der Grenzflächenspannung erfolgt mithilfe des PAT1, zusammen mit der zugehörigen Software 5.03.1. Die Messungen werden mit konstantem Tropfen von 15  $\mu\text{l}$  (SBÖ mit und ohne TE) bzw. 7  $\mu\text{l}$  (SBÖ mit weiteren Emulgatoren) durchgeführt. Gemessen wird bei 25 °C über einen Zeitraum von 20 min, wobei alle zehn Sekunden ein Messpunkt bestimmt wird. Es ergibt sich wie in Abbildung 2-4 beispielhaft dargestellter Kurvenverlauf mit Annäherung der Daten an einen Grenzwert.



**Abbildung 2-4: Verlauf der Grenzflächenspannung über die Zeit mit Annäherung an einen Grenzwert, hier am Beispiel SBÖ mit 0,1 % Polyglyceryl-3 Methylglucose Distearat; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung**

Anschließend werden die Daten mit dem Fitting Programm nach der im allgemeinen Teil beschriebenen Gleichung 1-4 dem Tropfenprofil angepasst und daraus die Grenzflächenspannung berechnet. Verglichen werden für die Auswertung die Werte nach 20 min.

#### **2.3.3.4 Grenzflächenelastizität und -viskosität**

Für die Bestimmung der rheologischen Grenzflächendaten wird das Volumen des Tropfens sinusförmig über die Zeit verändert:  $15 \mu\text{l} \pm 1 \mu\text{l}$  bzw.  $7 \mu\text{l} \pm 0,5 \mu\text{l}$ . Vor Beginn der Messung ermöglicht eine Wartezeit die erste Anreicherung der Emulgatoren an der Grenzfläche. Die Messungen erfolgen bei  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  und einer Frequenz von  $0,1 \text{ Hz}$  über einen Zeitraum von  $10 \text{ min}$ . Anschließend werden die Daten wie in 2.3.3.3 gefittet.

Zur Berechnung der Elastizität und Viskosität wird anschließend eine Fourier-Transformation mit der zugehörigen Software durchgeführt. Wichtig für die Auswertung ist eine Bereinigung der Daten von Ausreißern, die während der Messung entstehen können. Diese stark abweichenden Daten entstehen durch Schwingungen des gesamten Messsystems.

### 2.3.4 Freisetzungsuntersuchungen

Die Freisetzungsuntersuchungen werden in Diffusionszellen nach Franz durchgeführt. Die Schliffe der Kompartimente werden mit Schliiffett versehen, die PTFE-Filter mit einer Porenweite von 5  $\mu\text{m}$  aufgebracht und die Zelle daraufhin mit einer Klemme fixiert. Da bereits in einer früheren Arbeit gezeigt werden konnte, dass sich der Zusatz von  $\beta$ -Hydroxypropyl-Cyclodextrin für die Löslichkeitsverbesserung von TE im wässrigen Medium eignet (Steinbrenner, 2011), wird es auch in dieser Arbeit als 10%iger Zusatz zu folgendem Medium verwendet: isotoner natriumchloridhaltiger Phosphatpuffer pH7,4 nach Ph.Eur. 8. Das Medium wird vorgewärmt in die Franz-Diffusionszellen gefüllt und die Zelle anschließend 30 min bei 32 °C im Wasserbad temperiert. Das Akzeptormedium wird mit 500 UpM gerührt. Nach der Temperierung wird je 1 g der zu untersuchenden Formulierung in das Donorkompartiment eingebracht und das Kompartiment mit Parafilm verschlossen, um die Zubereitungen vor Wasserverlust durch Verdunsten zu schützen. Proben von 0,5 mL werden nach 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, und 16 h gezogen und das entnommene Volumen durch frisches Medium ersetzt. Die Proben werden mithilfe der HPLC-Analytik (2.3.6) quantifiziert.

## **2.3.5 Ex-vivo Permeationsstudien**

### **2.3.5.1 Hautpräparation**

Die von Schweineohren stammende Haut wird von der Abteilung „Experimentelle Medizin“ der Universität Tübingen zur Verfügung gestellt. Größe, Behaarungsgrad und sonstige Merkmale werden festgehalten und die Ohren bis zur Präparation der Haut bei 3 – 4 °C gelagert.

Die Ohren werden in isotoner Kochsalzlösung gewaschen und die Haut anschließend mit Schlinggazetupfern von Schmutz und Blut befreit. Die Haut der Rückseite der Ohren wird mit einem Skalpell abgetrennt und in Alufolie eingeschlagen. Sie wird bis zum Tag der Verwendung bei -30 °C gelagert.

### **2.3.5.2 Präparation der Spalthaut**

Die eingefrorene Schweinehaut wird über etwa 30 min bei Raumtemperatur aufgetaut und anschließend auf einem mit Alufolie überzogenen Styroporblock fixiert. Mit dem Dermatome werden Schichtdicken von 0,8 mm in Wuchsrichtung der Haare von der Hautoberfläche entfernt und anschließend mit einer Stanze mit 2,5 cm Durchmesser weiterbearbeitet. Die kreisrunden Hautstanzen sowie die zuvor generierte Spalthaut werden durch Lagerung auf in Phosphatpuffer getränkten Tüchern vor dem Austrocknen bis zur Verwendung geschützt.

### **2.3.5.3 Künstliche Erzeugung der Barrierestörung**

#### **2.3.5.3.1 Tape Stripping**

Wie in 2.3.5.2 bereits beschrieben, wird die Haut mit Stecknadeln auf dem Styroporblock fixiert. Zum Tape Stripping wird die Haut anschließend fest auf das ausgelegte Klebeband (Tape) auf eine unbenutzte Stelle angedrückt. Darauf folgend wird das Tape wieder abgezogen. Dieser Vorgang wird 20mal durchgeführt. Anschließend wird mit der Haut wie im vorhergehenden Kapitel verfahren.

#### **2.3.5.3.2 Entfernen der obersten Hautschicht.**

Wie in 2.3.5.2 bereits beschrieben, wird die Haut mit Stecknadeln auf dem Styroporblock fixiert. Das Dermatome wird angesetzt und gegen die Haarwuchsrichtung die oberste Schicht von 0,2 mm entfernt. Anschließend wird mit der Haut wie im vorhergehenden Kapitel verfahren.

#### **2.3.5.4 Hautcharakterisierung mittels Lichtmikroskopie**

Zur Kontrolle der Hautverletzung werden von den unterschiedlich verwundeten Hautstücken Stanzen von 2,5 cm angefertigt. Diese werden in Aluminiumbehältnissen (Eigenanfertigung) in flüssigem Stickstoff gefroren und anschließend in einem Einbettmedium aus Polyvinylalkohol (NEG 50) auf die Schnitte vorbereitet. Nach Fixierung auf dem Objektträger des Kryostats werden Querschnitte der Haut mit Schichtdicken von 20 µm und 50 µm angefertigt. Diese werden anschließend direkt oder nach einer Behandlung mit Hämatoxylin und Eosin (H&E-Färbeprotokoll unter 6.1.3) lichtmikroskopisch untersucht.

Die lichtmikroskopischen Bilder der Haut werden mit dem Mikroskop Axio Imager Z1 aufgenommen.

#### **2.3.5.5 Permeationsuntersuchung**

Die Hautstanzen werden als trennendes Element in die Diffusionszellen nach Franz zwischen die gefetteten Schliffe von Donor- und Akzeptorkompartiment eingebracht und durch eine Klemme fixiert. Das vorgewärmte Akzeptormedium (vgl. 2.3.4) wird in das entsprechende Kompartiment gefüllt und das ganze System danach im Wasserbad für 30 min auf 32 °C temperiert. Je 1 g der zu untersuchenden Zubereitung wird in das Donorkompartiment eingebracht. Das Kompartiment wird mit Parafilm verschlossen um Verdunstung aus den Zubereitungen zu verhindern. Proben von 0,5 mL werden nach 2 h, 5 h, 8 h, 21 h, 24 h und 27 h gezogen und das entnommene Volumen durch frisches Medium ersetzt. Die Proben werden mithilfe der HPLC-Analytik (2.3.6) quantifiziert. Der Permeationsflux und die berechnete lag-Time werden aus den 8 h bis 27 h Werten berechnet, da der Flux erst in diesem Bereich über die Zeit konstant ist.

#### **2.3.6 HPLC-Analytik**

Die Betulinbestimmung erfolgt unter Verwendung des LC-20A prominence HPLC Systems. Die Säulentemperatur wird auf 40 °C festgesetzt. Die Flussrate liegt bei 1,5 ml/min. Die mobile Phase setzt sich für die Analytik der Freisetzungsversuche aus 80 % Acetonitril und 20 % Wasser und für die Permeationsversuche aus 70 % Acetonitril und 30 % Wasser zusammen. Ein Probenvolumen von 20 µl wird verwendet und die UV-Absorption bei 210 nm gemessen. Die Retentionszeit beträgt für Betulin je nach Zusammensetzung des Fließmittels etwa 5,5 min (bei Zusammensetzung 80/20) bzw. 10,3 min (bei Zusammensetzung 70/30). Die jeweils zugehörigen Ergebnisse der Kalibrierungen finden sich unter 6.1.2.

### **2.3.7 Statistik**

Alle in der Arbeit gezeigten Daten stammen aus den jeweils im Kapitel genannten Wiederholungsmessungen. In den Abbildungen und Tabellen werden sie als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Die Anzahl der Wiederholungen ist dort ebenfalls zu finden.

#### **2.3.7.1 Prüfung auf signifikante Unterschiede**

Die statistische Signifikanz wird mit der einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA), gefolgt von einem Posttest nach Student Newman Keuls geprüft. Als signifikant gewertet werden P-Werte kleiner 0,05. Die signifikant unterschiedlichen Werte werden in den Diagrammen mit einem \* gekennzeichnet. Die Daten von ANOVA und Student Newman Keuls Test befinden sich im Anhang.

#### **2.3.7.2 Statistisches Versuchsdesign**

Das statistische Versuchsdesign wird mithilfe des Programms JMP 11 erstellt. Es handelt sich um ein zentral zusammengesetztes Versuchsdesign. Es werden in Tabelle 2-7 folgende Vorgaben gemacht:

**Tabelle 2-7: Ziel- und Steuergrößendefinition für das CCD**

Zielgrößenname	Ziel	Steuergrößen	Grenzwerte der Steuergrößen
Volumenzunahme (FI)	maximieren	TE-Gehalt	4 % - 10 %
Viskosität	bestimmen	Wassergehalt	1 % - 50 %
Schaumstabilität	bestimmen		

Als Designart wird das orthogonale Versuchsdesign gewählt, das zur Durchführung von acht Mittelpunktsversuchen führt. Außerdem werden die Grenzwerte der Steuergrößen als Grenzwerte für die  $\alpha$ -Level festgelegt. Es ergibt sich der in Tabelle 2-8 dargestellte Versuchsplan.

**Tabelle 2-8: Durchzuführende Versuche für das zentral zusammengesetzte Versuchsdesign**

Punkt (Level) des Versuchsplans	Wassergehalt [%]	TE-Gehalt im Oleogel [%]
00	25.50	7.00
--	8.18	9.12
++	42.82	9.12
00	25.50	7.00
00	25.50	7.00
00	25.50	7.00
--	8.18	4.88
00	25.50	7.00
00	25.50	7.00
00	25.50	7.00
0 $\alpha$	25.50	4.00
0A	25.50	10.00
$\alpha$ 0	1.00	7.00
A0	50.00	7.00
00	25.50	7.00
+--	42.82	4.88

## **3 Ergebnisse und Diskussion**

### **3.1 Charakterisierung der Oleogele und Emulsionen**

#### **3.1.1 Oleogele**

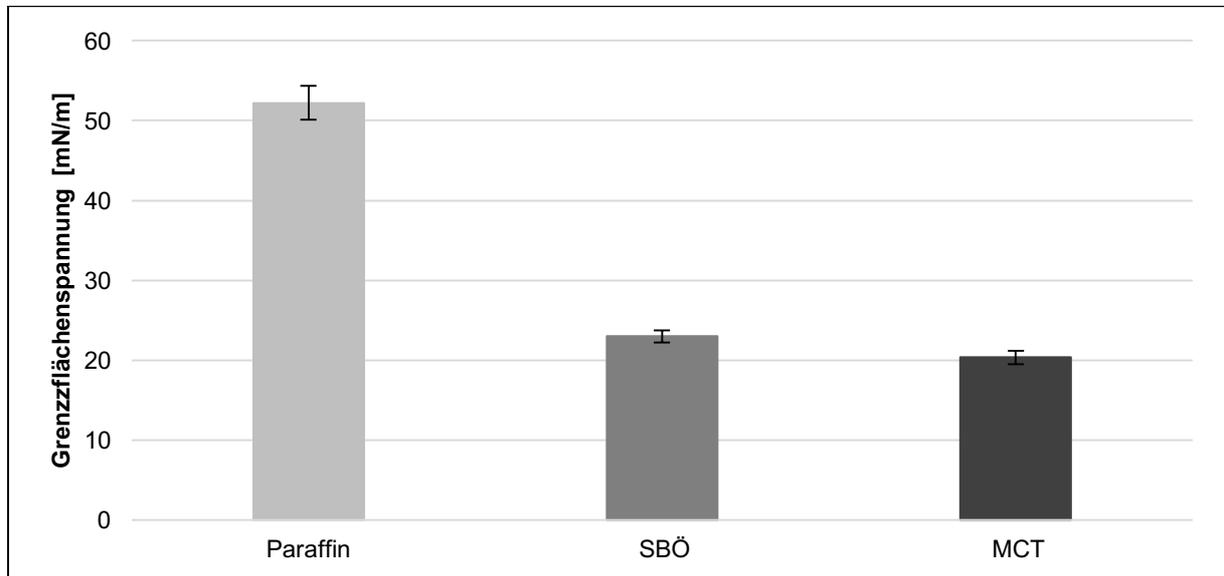
Ziel dieser Arbeit ist die Herstellung eines triterpenhaltigen Wasser-in-Öl-Schaums zur Behandlung von Wunden. Durch das Aufschäumen soll das Aufbringen auf die Wunde erleichtert werden. Im Gegensatz zu herkömmlichen Salben, Cremes und Gelen kann bei Schäumen der physikalische Stress durch das Aufbringen der Zubereitung auf die verletzte Haut sowie die Kontamination von Wunde und Zubereitung minimiert werden.

Triterpene aus Birkenkorkrinde sind in der Lage durch Einarbeitung von Ölen und anderen hydrophoben Phasen Oleogele zu bilden. Unter anschließender Einarbeitung von Wasser entstehen W/O-Emulsionen, die dann folglich nur aus drei Komponenten, Triterpenextrakt, Öl und Wasser, bestehen.

Wie bereits in 1.1.2.4 erwähnt, weisen mittelkettige Triglyceride, Sonnenblumenöl und dünnflüssiges Paraffin unterschiedliche Wundheilungseigenschaften auf. Oleogele aus Triterpenen und unterschiedlichen Ölen bilden die Grundlage für die später verwendeten Emulsionen und Schäume. Sie werden daher in diesem Abschnitt charakterisiert.

### 3.1.1.1 Polarität der Ölphasen

Als Maß für die Polarität der Ölphasen wird die Grenzflächenspannung zwischen Wasser und dem jeweiligen Öl herangezogen. Die Grenzflächenspannungen sind in der folgenden Abbildung 3-1 dargestellt.



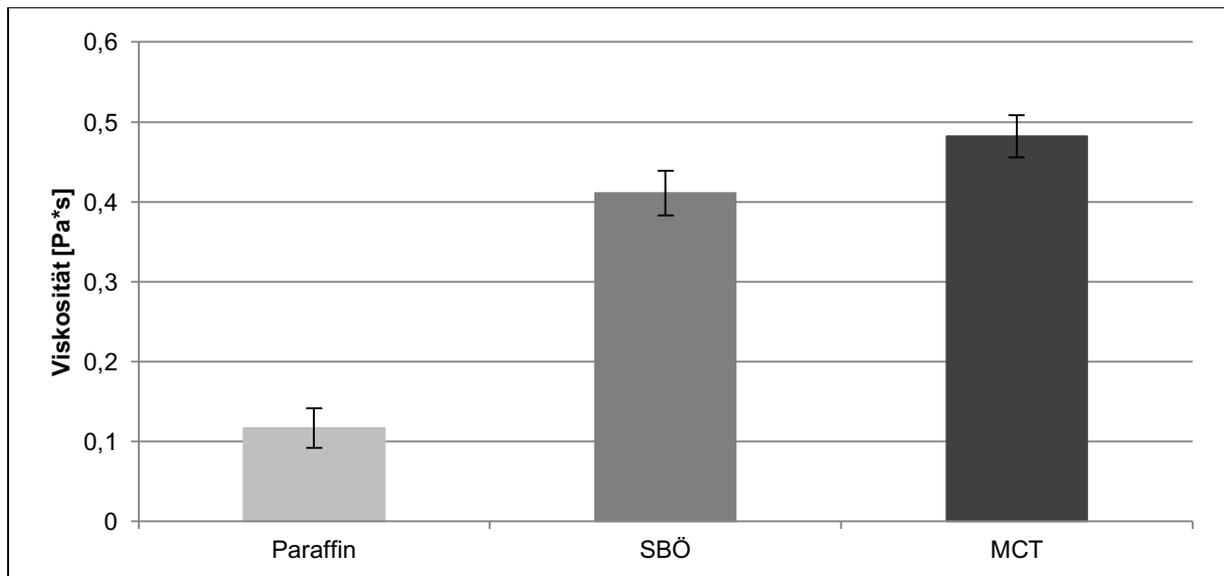
**Abbildung 3-1: Grenzflächenspannung verschiedener Öle als Maß ihrer Polarität; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung**

Der Wert der Grenzflächenspannung von Paraffin ist höher als die Werte von Sonnenblumenöl und MCT. MCT nimmt den niedrigsten Wert der drei Öle an. Je polarer ein Öl ist, desto größer ist auch die Wechselwirkung mit einer Wasserphase und entsprechend geringer der Wert für die Grenzflächenspannung. Paraffin hat demgemäß mit der größten Grenzflächenspannung die geringste, MCT die höchste Polarität.

### 3.1.1.2 Viskosität

Die Viskositäten der Gele haben Einfluss auf das Verhalten der Schäume bei der Aufschäumbarkeit, also der Volumenzunahme, und ihrer Stabilität. Die im Folgenden dargestellten Viskositätsdaten sind daher Grundlage für die spätere Interpretation der Daten zur Schaumcharakterisierung.

Voraussetzung einer Beurteilung der Viskositäten der Emulsionen ist die Kenntnis der Viskositäten der Oleogele, aus denen sie hergestellt werden.



**Abbildung 3-2: Vergleich der Viskositäten der Oleogele mit 10 % TE nach 24 h bei einer Scherrate von  $100 \text{ s}^{-1}$ ;  $n = 3$ ; Fehlerbalken: Standardabweichung**

Die Viskositäten der untersuchten Oleogele werden in Abbildung 3-2 dargestellt. Sie steigen nach Art des verwendeten Öls von Paraffin ( $0,12 \pm 0,025 \text{ Pa*s}$ ) über Sonnenblumenöl ( $0,41 \pm 0,028 \text{ Pa*s}$ ) hin zu mittelkettigen Triglyceriden ( $0,48 \pm 0,026 \text{ Pa*s}$ ). Damit zeigt sich eine gleichbleibende Reihenfolge der Werte, wenn auch in umgekehrter Abfolge, verglichen mit den Daten der Grenzflächenspannung.

### 3.1.2 Charakterisierung der Emulsionen

#### 3.1.2.1 Emulsionen ohne Zusätze

Da sich, wie oben beschrieben, Emulsionen bereits aus den drei Komponenten Wasser, Öl und TE herstellen lassen, werden zunächst diese Zubereitungen ohne Einarbeitung weiterer Hilfsstoffe untersucht.

##### 3.1.2.1.1 Untersuchung auf Kompatibilität und Eignung der Emulsionen

Wichtigste Voraussetzung für die Herstellung von Schäumen aus Emulsionen ist die Stabilität dieser Emulsionen nicht nur nach Herstellung, sondern auch nach Beaufschlagen der Zubereitungen mit dem gewünschten Treibgas sowie nach der Entnahme aus dem Druckbehältnis. In der folgenden Tabelle 3-1 sind die Ergebnisse der Kompatibilitätsprüfungen für Emulsionen ohne weitere Zusätze dargestellt.

**Tabelle 3-1: Kompatibilitätsprüfung der Emulsionen für Schaumherstellung, n = 3, +: stabile Emulsion**

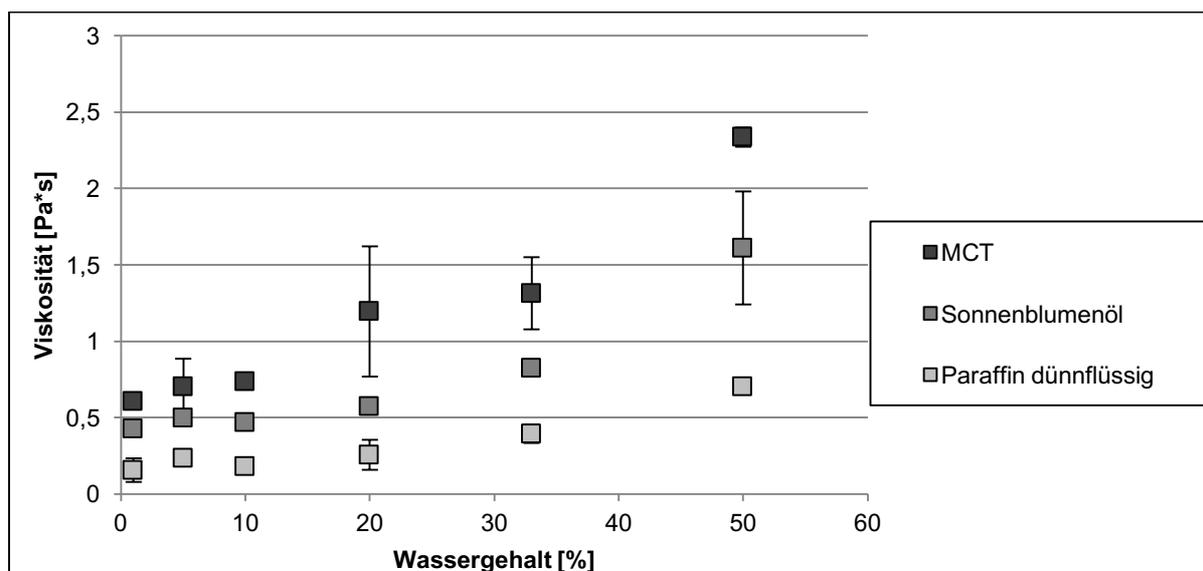
Art der hydrophoben Phase	Zusammensetzung		Kompatibilität		
	TE-Anteil in Oleogel [%]	Wasseranteil in Emulsion [%]	Nach Herstellung	Nach Beaufschlagen mit CO <sub>2</sub>	Nach Entnahme aus der Aerosoldose
Paraffin	10	1	+	+	+
	10	50	+	+	+
MCT	10	1	+	+	+
	10	50	+	+	+
SBÖ	4	1	+	+	+
	4	50	+	+	+
	6	1	+	+	+
	6	50	+	+	+
	8	1	+	+	+
	8	50	+	+	+
	10	1	+	+	+
	10	50	+	+	+

Alle Emulsionen aus 10%igen Oleogelen mit Paraffin, Sonnenblumenöl und MCT sowie alle sonnenblumenöhlhaltigen Emulsionen mit 4 %, 6 % 8 % und 10 % TE im Oleogel sind stabil. Für die Wasseranteile sind lediglich die jeweiligen Extremwerte von 1 % und 50 % dargestellt. Die in späteren Kapiteln verwendeten zwischen diesen Werten liegenden Wasseranteile sind ebenfalls stabil.

Die beschriebenen triterpenhaltige Oleogele führen also mit Zusatz von Wasser zwischen 1 % und 50 % zu Emulsionen, die der Druckbelastung durch Treibgas und der Scherung bei der Entnahme aus den Aerosoldosen standhalten. Sie sind daher mit dem verwendeten System kompatibel und eignen sich für die Schaumherstellung.

### 3.1.2.1.2 Viskositäten

Im Folgenden lassen sich nun angelehnt an die Viskositätsbestimmung der Oleogele die Daten der Viskositätsbestimmung der Emulsionen entsprechend betrachten.



**Abbildung 3-3: Viskositäten der Emulsionen unterschiedlicher Lipidphasen und unterschiedlichen Wassergehalts; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung**

Die hier dargestellten Ergebnisse (Abbildung 3-3) zeigen, dass Zubereitungen mit Paraffin im Vergleich mit den beiden anderen Ölen stets die niedrigsten Werte einnehmen. Wie schon bei den Oleogelen steigt die Viskosität von den Paraffin- über die Sonnenblumenöl- zu den MCT-Emulsionen. Außerdem zeigt sich eine steigende Viskosität mit zunehmendem Wasserphasenanteil der Emulsionen, also ihrem Innenphasenanteil.

### 3.1.2.2 Emulsionen mit Emulgatoren

In den bereits genannten Emulsionen ist zur Stabilisierung des Systems nur TE als Gelbildner und Emulgator enthalten. Außerdem werden Emulsionen untersucht, die zusätzlich zum Triterpenextrakt einen weiteren Emulgator enthalten. Die Stabilität dieser Emulsionen ist Voraussetzung für die Beantwortung der Frage in Kapitel 3.2.2.2, die darauf abzielt, ob der Zusatz eines Emulgators zu einer Verbesserung des Aufschäumverhaltens führt.

#### 3.1.2.2.1 Untersuchung auf Kompatibilität und Eignung der Emulsionen

In Tabelle 3-2 werden, wie schon im vorhergehenden Kapitel, Emulsionen auf ihre Kompatibilität nach Herstellung, Beaufschlagen mit Gas und Entnahme untersucht.

**Tabelle 3-2: Kompatibilitätsprüfung der SBÖ-Emulsionen mit Emulgatorzusatz für Schaumherstellung, n = 3, -: nicht stabil, +: stabil**

Zusammensetzung			Kompatibilität		
Anteil TE in Oleogel [%]	Zugesetzter Emulgator (2 % im Oleogel)	Wasser- phasenanteil [%]	Nach Herstellung	Nach Beaufschlagen mit CO <sub>2</sub>	Nach Entnahme
8	PEG-22/Dodecyl Glycol Copolymer	50	+	-	-
8	PEG-45/Dodecyl Glycol Copolymer	50	+	-	-
8	Polyglyceryl-3-Diisostearat	50	-	-	-
8	Polyglyceryl-3-Methylglucose Distearat (PGMD)	50	+	+	+
8	Polyglyceryl-3-Polyricinoleat	50	+	+	+
8	Polyglyceryl-2-Sesquioleat	50	-	-	-
8	Phosphatidylcholin	50	+	+	+
8	Sorbitantrioleat	50	+	+	+

Es ist zu sehen, dass sich nur vier der acht untersuchten Emulsionen, nämlich solche mit Polyglyceryl-3 Methylglucosedistearat, Polyglyceryl-3 Polyricinoleat, Phosphatidylcholin und Sorbitantrioleat, zur Herstellung von Schäumen eignen. Alle weiteren verwendeten Emulgatoren (Methoxy PEG-22/Dodecyl Glycol Copolymer, PEG-22/Dodecyl Glycol Copolymer, PEG-45/Dodecyl Glycol Copolymer, Polyglyceryl-3 Diisostearat) führen in Kombination mit TE-haltigen Emulsionen spätestens nach der Beaufschlagung mit dem Treibgas CO<sub>2</sub> zu instabilen, also inkompatiblen Systemen. Die Emulsionen mit diesen Emulgatoren brechen.

Für eine differenziertere Betrachtung der Emulgatormischungen der obigen Tabelle und ein Verständnis der Stabilität bzw. Instabilität der Emulsionen werden die Mischungen im Folgenden untersucht.

Für diese Untersuchung eignet sich die Bestimmung von Grenzflächengrößen (der Grenzflächenspannung, der Grenzflächenelastizität und –viskosität) sowie die Bestimmung der Viskosität der emulgatorhaltigen Oleogele, wie sie bereits für Oleogele ohne Emulgatoren erfolgte.

### **3.1.2.2.2 Profilanalysetensiometrie**

Als erster Schritt zur Erklärung der Daten aus der Stabilitätsuntersuchung bietet es sich an, die Grenzflächeneigenschaften zwischen den beiden Phasen der Emulsion zu betrachten. Hier zeigt sich der Einfluss der unterschiedlichen Emulgatoren auf das Gesamtsystem.

#### **3.1.2.2.2.1 Grenzflächenspannungsmessung**

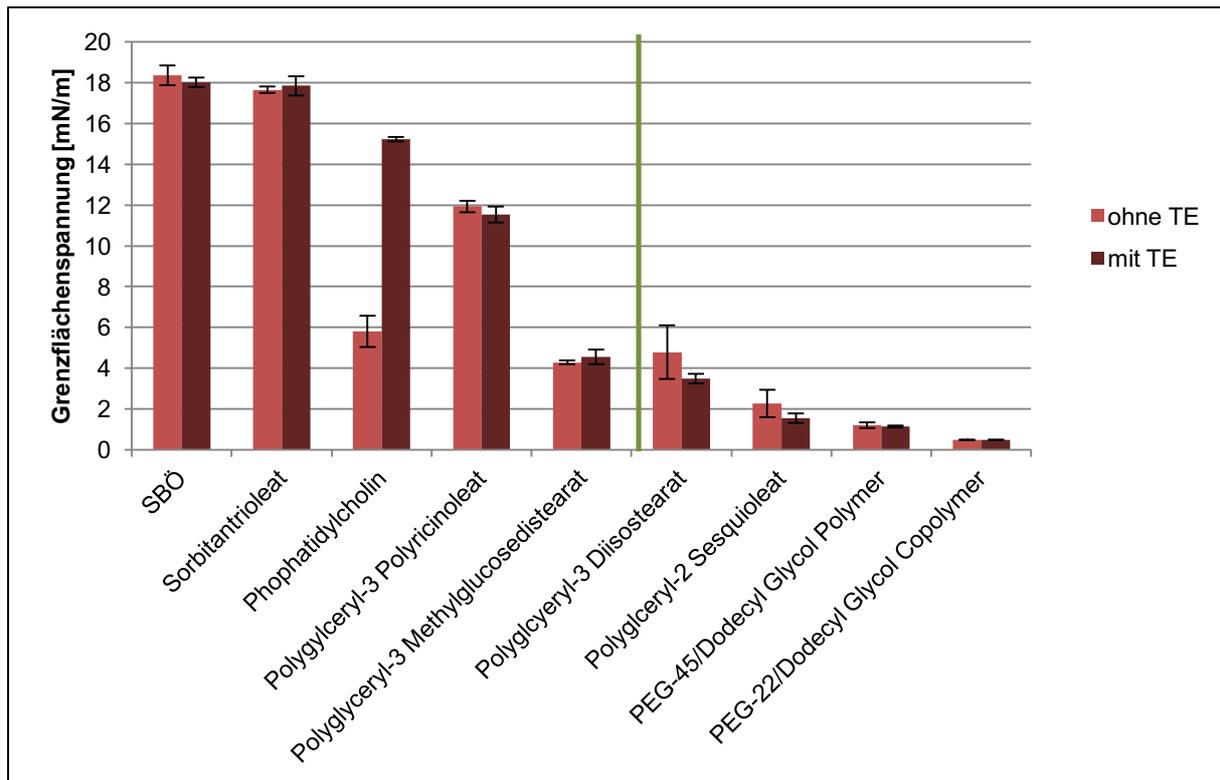
Die Messung der Grenzflächenspannung gibt Aufschluss über die verwendeten Emulgatoren und deren Interaktion mit TE. Untersucht werden die folgenden Systeme:

- Sonnenblumenöl;
- Sonnenblumenöl mit 0,1 % TE;
- Sonnenblumenöl mit 0,1 % Emulgator;
- Sonnenblumenöl mit 0,1 % Emulgator und 0,1 % TE.

Die Analyse der Grenzflächenspannung erfolgt jeweils als Vermessung des entsprechenden Öltropfens in Wasser mit dem PAT1.

In Abbildung 3-4 sind die Grenzflächenspannungen der Systeme nach 20 min dargestellt. Zuerst fällt bei der Analyse der Werte auf, dass sich die Werte von TE in Sonnenblumenöl nicht von den Werten von reinem Sonnenblumenöl unterscheiden. Dies gilt bis auf eine Ausnahme auch für alle anderen Messungen. Während bei allen anderen vermessenen Systemen kein Unterschied in der Grenzflächenspannung nach Zugabe von TE zu sehen ist, steigt die Grenzflächenspannung bei Lösungen, die Phosphatidylcholin enthalten, unter Verwendung des Extraktes stark an.

Zusätzlich ist zu erkennen, dass die Grenzflächenspannung aller Systeme, die einen Emulgator enthalten, niedriger ist als die von reinem Sonnenblumenöl. Dies ist zu erwarten, da es sich bei Emulgatoren um grenzflächenaktive Substanzen handelt, die die Grenzflächenspannung herabsetzen.

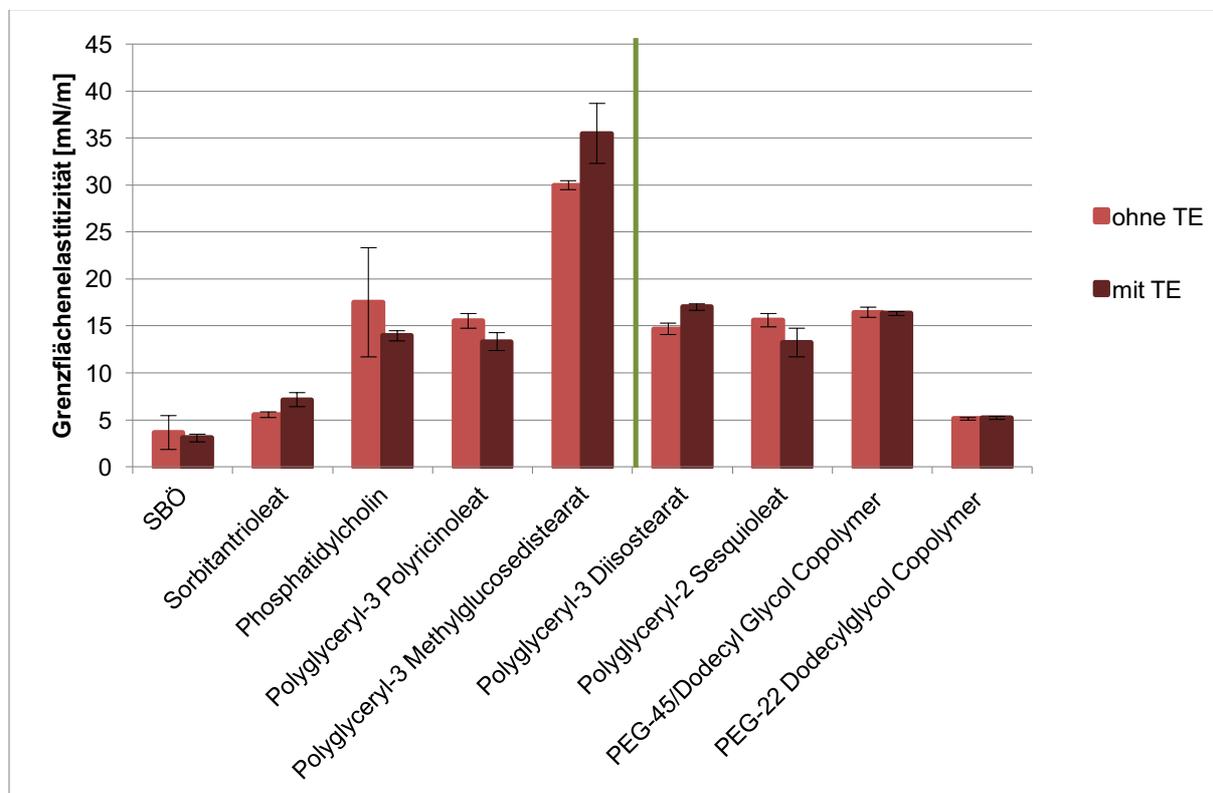


**Abbildung 3-4: Grenzflächenspannung nach 20 min; Markierung: Grenze zwischen stabilen Emulsionen (linke Seite) und nicht stabilen Emulsionen (rechte Seite); n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung**

Betrachtet man das Schaubild überdies im Hinblick auf die Eignung der Emulsionen zur Schaumherstellung ist zu sehen, dass alle gemessenen Grenzflächenspannungen der Emulgatoren mit TE, die kompatible Emulsionen bilden, höhere Werte aufweisen als bei instabilen Emulsionen. Die Markierung im Schaubild verdeutlicht diese Trennung. Sinkt die Grenzflächenspannung in den Emulsionen unter einen kritischen Wert von etwa 4 mN/m, brechen die Emulsionen. Die Werte der Grenzflächenspannung für den jeweiligen Emulgator mit und ohne TE unterscheiden sich kaum. Einzige Ausnahme hierbei stellt Phosphatidylcholin dar. Es weist ohne TE eine deutlich niedrigere Grenzflächenspannung auf als mit TE.

### 3.1.2.2.2 Grenzflächenelastizität

Die Grenzflächenelastizität ist in der Betrachtung von Emulsionen ein wichtiges Maß zur Beurteilung der Verformbarkeit von Emulsionstropfen und damit deren Stabilität.



**Abbildung 3-5: Grenzflächenelastizität; Markierung: Grenze zwischen stabilen Emulsionen (linke Seite) und nicht stabilen Emulsionen (rechte Seite); n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung**

Die Betrachtung der Grenzflächenelastizität ergibt ein sehr heterogenes Bild (Abbildung 3-5). Folgende Aussagen lassen sich dennoch aus den generierten Werten ableiten:

Erstens gilt für alle Zubereitungen, dass der Zusatz eines Emulgators zur TE-haltigen Lösung zu einer Zunahme der Grenzflächenelastizität führt. Dies ist zu erwarten, da dies ein typisches Verhalten für Emulgatoren ist und sich die Funktion und der Grund für den Einsatz von Emulgatoren zur Emulsionsstabilisierung hieraus ableiten lassen.

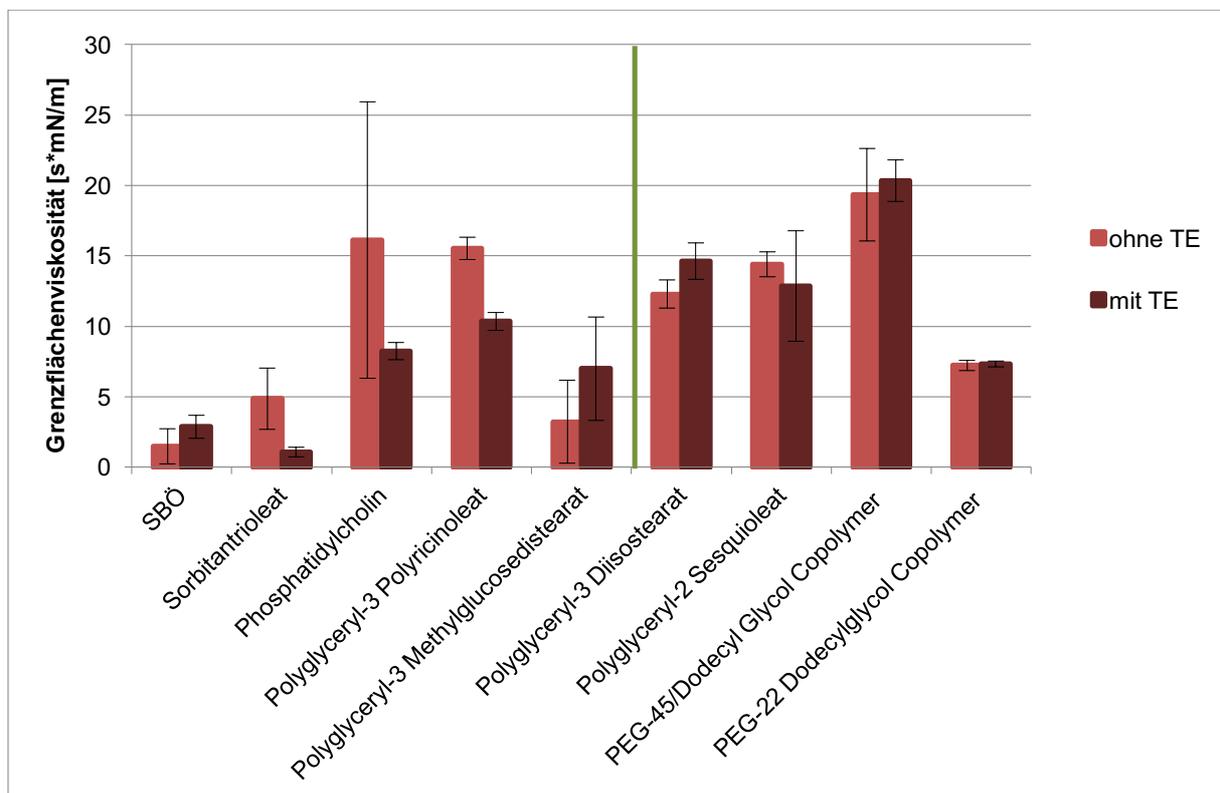
Alle TE-haltigen Emulgatorlösungen bewegen sich in einem Bereich zwischen etwa 5 mN/m und 17 mN/m. Einzige Ausnahme ist Sonnenblumenöl mit TE und Polyglyceryl-3 Methylglucosdistearat. Mit einem Wert von etwa 35 mN/m liegt die Grenzflächenelastizität hier deutlich höher als bei allen anderen vermessenen Lösungen.

Zweitens ist für die Systeme, die zu für die Schaumherstellung kompatiblen Emulsionen führen (in der Abbildung links der Markierung), im Vergleich zu den Grenzflächenspannungen des vorhergegangenen Kapitels folgender Zusammenhang ersichtlich: Je kleiner die Grenzflächenspannung der Systeme ist, desto größer ist ihre Elastizität.

Dagegen lässt sich zwischen den Werten der Elastizität von stabilen und nicht stabilen Emulsionen kein Zusammenhang herstellen. Die Werte lassen keinen Trend erkennen, so dass auf diese Weise kein weiterer Einblick in die Systeme gewonnen werden kann.

### 3.1.2.2.2.3 Grenzflächenviskosität

Die zweite grenzflächenrheologische Größe ist die Grenzflächenviskosität. Die Ergebnisse der Bestimmung dieser Größe sind in Abbildung 3-6 dargestellt.

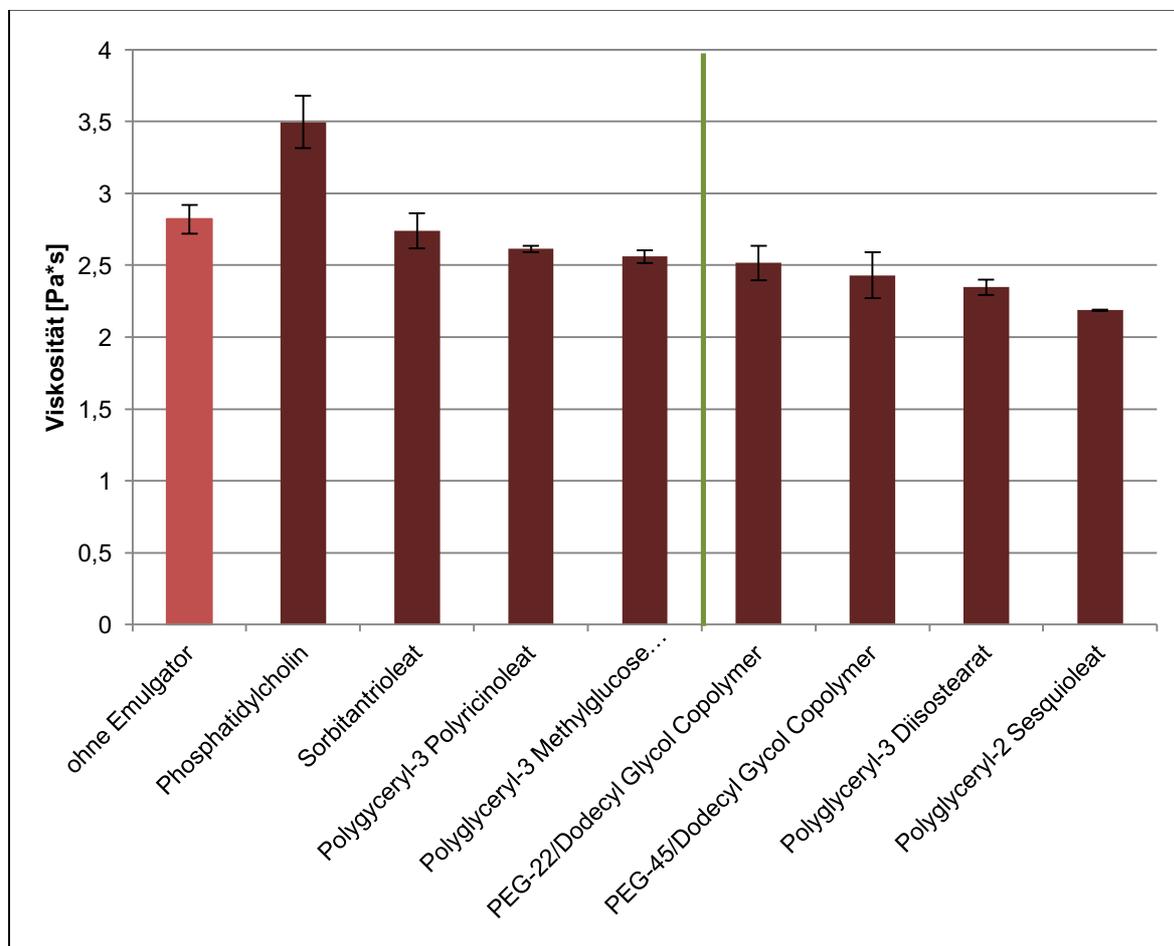


**Abbildung 3-6: Grenzflächenviskosität; Markierung: Grenze zwischen stabilen Emulsionen (linke Seite) und nicht stabilen Emulsionen (rechte Seite); n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung**

Die Werte der Grenzflächenviskosität variieren stark. Es lässt sich weder ein Zusammenhang zwischen der Viskosität und der Grenzflächenspannung oder –elastizität noch ein Trend innerhalb der Emulgatoren für stabile bzw. nicht stabile Emulsionen erkennen.

### 3.1.2.2.3 Viskosität

Da die Untersuchung der Grenzflächenviskosität keinen Aufschluss gibt, werden im Folgenden die Werte der Makroviskositäten der Oleogele (Abbildung 3-7) analysiert.



**Abbildung 3-7: Viskosität der Oleogele mit 2 % Emulgator und 8 % TE; Markierung: Grenze zwischen stabilen Emulsionen (linke Seite) und nicht stabilen Emulsionen (rechte Seite); n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung**

Für das 8%ige Oleogel ohne weiteren Zusatz ergibt sich ein Wert von  $2,82 \pm 0,10 \text{ Pa}^*\text{s}$ . Gleich zu Beginn zeigt sich, dass alle anderen Oleogele, bis auf eine Ausnahme, das Oleogel mit Phosphatidylcholin, niedrigere Werte als dieses Gel ( $2,74 \pm 0,12 \text{ Pa}^*\text{s}$  bis  $2,19 \pm 0,01 \text{ Pa}^*\text{s}$ ) aufweisen.

Des Weiteren lässt sich wie bereits bei der Grenzflächenspannung auch bei den Werten der Viskosität ein Trend erkennen: Die Werte der Oleogele, die zu kompatiblen Emulsionen führen, liegen tendenziell höher als diejenigen Werte der Oleogele, die nicht zu stabilen Emulsionen führen.

### **3.1.3 Zusammenfassung und Diskussion**

#### **3.1.3.1 Oleogele**

##### **3.1.3.1.1 Zusammenfassung**

Die Charakterisierung der Oleogele zeigte, dass ihre Eigenschaften von der Polarität der Öle abhängen. Paraffin zeigt eine hohe Grenzflächenspannung gegenüber Wasser. Die Grenzflächenspannung von Sonnenblumenöl und MCT ist dagegen deutlich niedriger. Entsprechendes Verhalten zeigen die Messungen der Viskosität der Oleogele. Diese steigt für 10%ige Öle von Paraffin über Sonnenblumenöl hin zu MCT.

##### **3.1.3.1.2 Diskussion**

Bei Paraffin handelt es sich um eine Mischung flüssiger, gesättigter Kohlenwasserstoffe ohne polare Anteile. Entsprechend gering ist die Wechselwirkung mit Wasser. Dies wiederum führt zu einem hohen Grenzflächenspannungswert, der somit die Apolarität von Paraffin zum Ausdruck bringt. Anders verhält es sich bei Sonnenblumenöl und MCT, die deutlich niedrigere Werte, also eine höhere Polarität zeigen. Beide verwendeten Öle sind Triglyceride und ihre Wechselwirkung mit Wasser ist aufgrund dieser Molekularstruktur verglichen mit Paraffin deutlich größer.

Grysko (2011) zeigte, dass die Polarität des Dispersionsmittels die Viskosität und Gelstärke von TE-haltigen Oleogelen beeinflusst. Die Ausbildung der Gelstruktur und deren Stabilisierung erfolgt durch die Wechselwirkung von Wasserstoffbrücken. In apolaren Dispersionsmedien, wie Paraffin, sind die beschriebenen Wechselwirkungen nur auf kleine Distanzen möglich. Bei Dispersionsmitteln wie Sonnenblumenöl und MCT wird die Ausbildung dieser Wechselwirkung durch die Polarität der Öle unterstützt. Dies lässt sich durch den Anteil des gelösten TE begründen. Je höher die gelöste Menge des TE, desto mehr TE-Moleküle tragen in gelöster Form durch Wechselwirkungen zur Stabilisierung des TE-Gerüsts bei. Bei gleichbleibender Menge an TE als Gelbildner ist die Viskosität der Gele mit Ölen höherer Polarität also größer als bei Oleogelen mit Paraffin.

### **3.1.3.2 Emulsionen ohne Emulgator**

#### **3.1.3.2.1 Zusammenfassung**

Zusammenfassen lassen sich die Ergebnisse der Stabilität und der Viskosität der Emulsionen ohne Emulgatoren wie folgt:

Die Emulsionen erweisen sich für alle drei verwendeten Öle auf der Grundlage 10%iger Oleogele, für Sonnenblumenöl zusätzlich auf der Grundlage von 4%igen bis 10%igen Oleogelen, als stabil und halten Druck und Scherbelastung bei der Entnahme aus normalen Aerosoldosen stand.

Für die Viskosität gilt: Die Oleogele mit Paraffin sind weniger viskos als solche mit Sonnenblumenöl oder MCT, welches Grundlage für die Zubereitungen mit der höchsten Viskosität ist. Dementsprechend verhalten sich auch die Emulsionen. Die Viskosität der untersuchten Emulsionen nimmt außerdem mit steigendem Wassergehalt zu.

#### **3.1.3.2.2 Diskussion**

Die Begründung der Stabilität der Emulsionen liegt in der gewählten Menge des Trockenextraktes. Wie in 1.1.2.2 erläutert liegt der Grenzwert für die Bildung von TE-haltigen Gelen bei etwa 2 %. Die gewählten Konzentrationen von 4 % bis 10 % liegen deutlich über diesem Wert. Daher liegt in allen gezeigten Fällen ein Überschuss an TE für die Bildung eines Gels vor. Dieses Gel stabilisiert bei der anschließenden Herstellung die TE-haltigen W/O-Emulsionen, indem es die Wassertropfen im Gel immobilisiert. Die Emulsionen sind mit dem verwendeten System der Schaumherstellung kompatibel, da der Überschuss an TE-Partikeln und die dadurch bedingte Viskosität die Emulsionen ausreichend stabilisieren.

### **Einfluss der Innenphase auf die Viskosität**

Der Anteil einer Innenphase hat Auswirkung auf die Viskosität einer Dispersion. Mit dieser Tatsache beschäftigte sich bereits Einstein zu Beginn des 20. Jahrhunderts (Einstein, 1906a, Einstein, 1906b, Einstein, 1911). Der von ihm hergestellte Zusammenhang gilt in der praktischen Anwendung für Dispersionen bis 2 % Innenphasenanteil und ist in Gleichung 3-1 dargestellt:

$$\eta = \eta_c(1 + 2,5V)$$

**Gleichung 3-1**

$\eta$ : Viskosität

$\eta_c$ : Viskosität der kontinuierlichen Phase

V: Volumenanteil der Innenphase

In vielen der später verwendeten Ansätze und gefundenen Zusammenhänge wurde von Einsteins Forschung ausgegangen. Dessen Formel entwickelten auch Taylor im Jahr 1932 und Brinkman im Jahr 1952 weiter.

Die von Taylor vorgestellte Gleichung 3-2 gilt ebenfalls nur für niederkonzentrierte Systeme. Sie berücksichtigt sowohl die Viskosität der Innen- als auch der Außenphase als Quotienten k.

$$\eta = \eta_c \left( 1 + \left( 2,5 \cdot \frac{k + 0,4}{k + 1} \right) V \right)$$

**Gleichung 3-2**

k: Quotient: Viskosität der disperse Phase/Viskosität der kontinuierlichen Phase

Erst Brinkmans Gleichung 3-3 gilt auch für höher konzentrierte Systeme (Brinkman, 1952) und ist daher auch auf Emulsionen mit höherem Innenphasenanteil, wie sie in dieser Arbeit verwendet werden, anwendbar.

$$\eta = \eta_c(1 - V)^{-2,5}$$

**Gleichung 3-3**

Krieger und Dougherty stellten 1959 eine weitere Gleichung zur Erfassung von Viskositäten mit unterschiedlichen Innenphasenanteilen vor (Krieger et al., 1959). Hierbei berücksichtigten sie erstmals den maximalen Volumenanteil der Innenphase. Für die hier verwendeten Emulsionen gilt dabei ein Wert von 60 %. Die intrinsische Viskosität findet sich bereits bei Einstein in Form des Wertes 2,5, der hier als Wert für Kugeln mit festem Aggregatzustand angenommen wird.

$$\eta = \eta_c \left(1 - \frac{V}{V_m}\right)^{-[\eta] \cdot V_m}$$

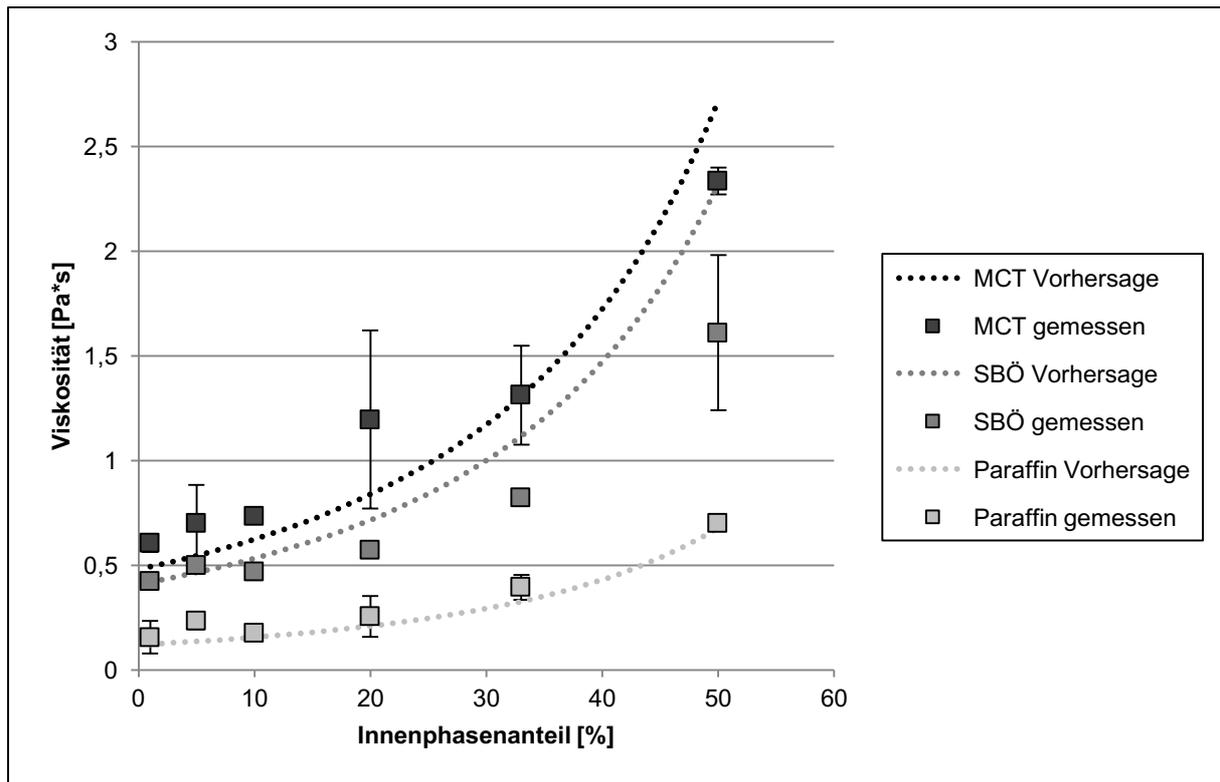
**Gleichung 3-4**

$V_m$ : maximaler Volumenanteil der Innenphase

$[\eta]$ : intrinsische Viskosität

Die Abhängigkeit der Viskositäten von der Innenphase der Emulsionen dieser Arbeit zeigt sich bereits in Abbildung 3-3. Um zu untersuchen, welches der vorgestellten Modelle sich zur Erklärung der untersuchten Systeme eignet, wurden theoretische Viskositätswerte für alle Modelle errechnet (vgl. Tabelle 6-7). Die Basis  $\eta_c$  bildet dabei die erhobene Viskosität der jeweiligen Oleogele.

In der folgenden Abbildung 3-8 werden die gemessenen Werte mit der Funktion nach Brinkman verglichen, da dieses Modell die größte Übereinstimmung mit den erhobenen Daten zeigt. Dies gilt insbesondere für die paraffinhaltigen Emulsionen, bei denen die Werte über den ganzen Bereich des Innenphasenanteils übereinanderliegen.



**Abbildung 3-8: Vergleich der gemessenen Viskositätswerte mit dem Modell nach Brinkman**

Bei den Emulsionen mit Sonnenblumenöl und MCT kommt es ab einem Innenphasenanteil von 33 % zu größeren Abweichungen vom Brinkman-Modell. Dies lässt sich vor allem durch die höhere Viskosität der kontinuierlichen Phase, also der Oleogele, begründen. Das Vorliegen einer halbfesten Zubereitung als Außenphase ist bei Brinkman nicht vorgesehen und wird daher in der Formel nicht verstärkt berücksichtigt. Dennoch bietet das Modell eine gute Annäherung und Erklärung für die Veränderung der Viskosität bei zunehmender Innenphase.

Die Unterschiede der Viskosität lassen sich durch die Polarität der lipophilen Phasen und den Wasserphasenanteil erklären: Die Ausbildung der Gelstärke und somit die Viskosität der Oleogele wird durch unterschiedlich starke Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen den Partikeln beeinflusst. Die Emulsionen mit Paraffin sind daher weniger viskos als solche mit Sonnenblumenöl oder MCT, welches die Zubereitungen mit der höchsten Viskosität aufweist.

### **3.1.3.3 Emulsionen mit Emulgatoren**

#### **3.1.3.3.1 Zusammenfassung**

Die Verwendung zusätzlicher Emulgatoren in den Emulsionen führt zu folgenden Ergebnissen: In den Stabilitätstests zeigt sich, dass nur vier der acht untersuchten Mischungen, nämlich solche mit Phosphatidylcholin, Sorbitantrioleat, Polyglyceryl-3 Polyrizinoleat und -Methylglucose Distearat, den durch die Schaumerzeugung entstehenden Belastungen standhalten.

Um einen weiteren Einblick in die Systeme zu erlangen, werden Grenzflächenspannung, -viskosität, -elastizität und die Viskosität der emulgatorhaltigen Oleogele bestimmt. Von diesen vier Analysen liefern nur die Vermessung der Grenzflächenspannung sowie der Viskosität der Oleogele erste Anhaltspunkte für das Verhalten der Emulsionen.

Betrachtet man zuerst die Grenzflächenspannung, zeigt sich kein Einfluss von TE auf die Systeme, während alle anderen Emulgatoren die Grenzflächenspannung senken. Die Analyse ergibt zudem eine Zweiteilung der Ergebnisse: Die Emulgatoren, die nicht zu stabilen Emulsionen führen, verringern die Grenzflächenspannung in größerem Maße als solche Emulgatoren, die zu stabilen Emulsionen führen.

Die anschließende Viskositätsbestimmung zeigt das gleiche Bild: Die Viskositäten sinken bei Zusatz von Emulgatoren; die Werte der Oleogele für stabile Emulsionen liegen auch hier stets höher als die der instabilen.

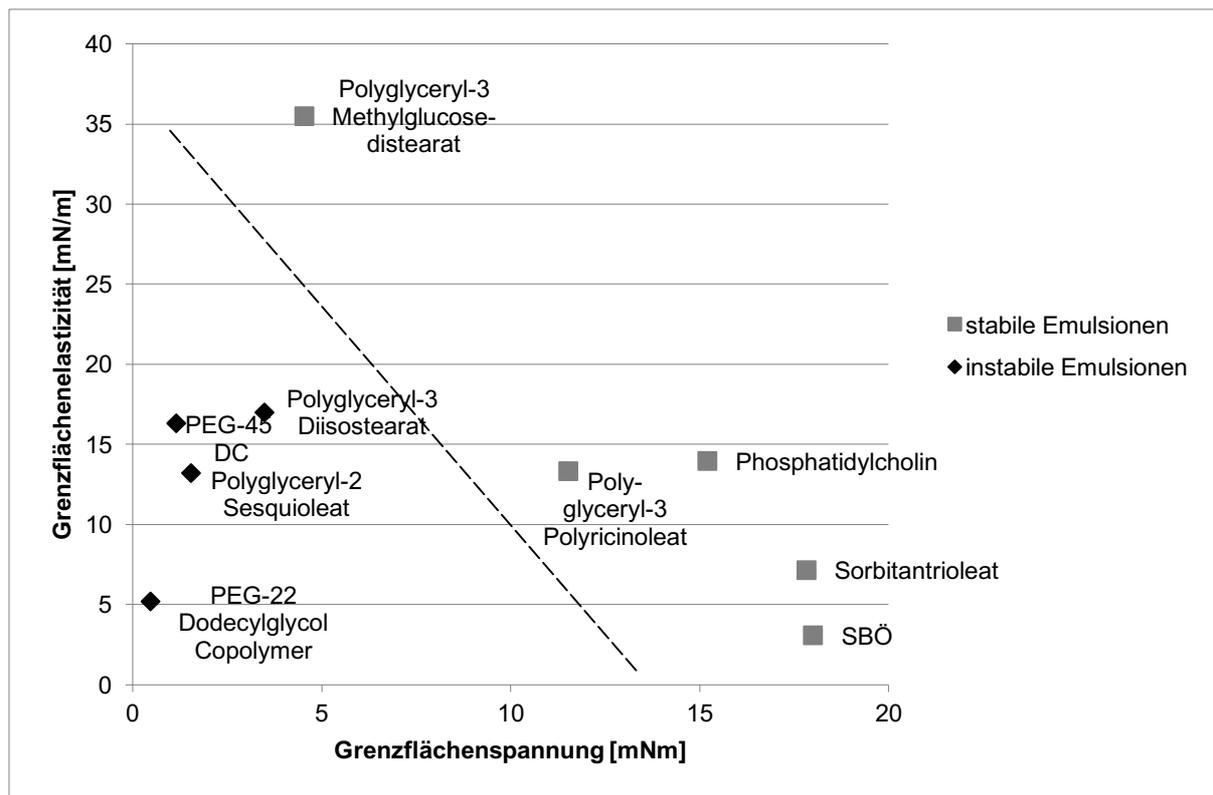
#### **3.1.3.3.2 Diskussion**

Erklären lassen sich die Daten der Grenzflächenspannung folgendermaßen: Bereits bekannt ist (Grysko, 2011), dass Lösungen von TE im Öl nur sehr begrenzte Emulgierfähigkeiten haben. Triterpene sind keine klassischen Emulgatoren. Das bedeutet, die gelöste Menge TE verursacht auch keine Veränderung der Grenzflächenspannung im Vergleich zu TE-freien Lösungen. Dies stimmt mit Grysko (2011) überein, dass es sich bei TE-haltigen Emulsionen um Emulsionen handelt, die durch die Feststoffpartikel und das bestehende Gelgerüst stabilisiert werden. Die anderen verwendeten Emulgatoren setzen dagegen, wie für ihre Substanzklasse üblich, die Grenzflächenspannung herab. Die Grenzflächenspannung ist daher bei gleichbleibender Konzentration der Emulgatoren allein von der Art des Emulgators abhängig.

Die einzige Ausnahme ist Phosphatidylcholin als Emulgator in Kombination mit TE. Bereits in diesen Konzentrationen lässt sich makroskopisch eine Veränderung der Lösung bei Zugabe von TE erkennen. Die Viskosität der Lösung steigt an, die Form des Tropfens verändert sich im Vergleich zur reinen Phosphatidylcholinlösung. Dadurch kann auch die deutliche Veränderung der Grenzflächenspannung erklärt werden. Mögliche Erklärung für dieses Phänomen ist die Ausbildung einer Membran aus Phosphatidylcholin und TE an der Grenzfläche und dadurch verstärkte Veränderung der Grenzflächeneigenschaften.

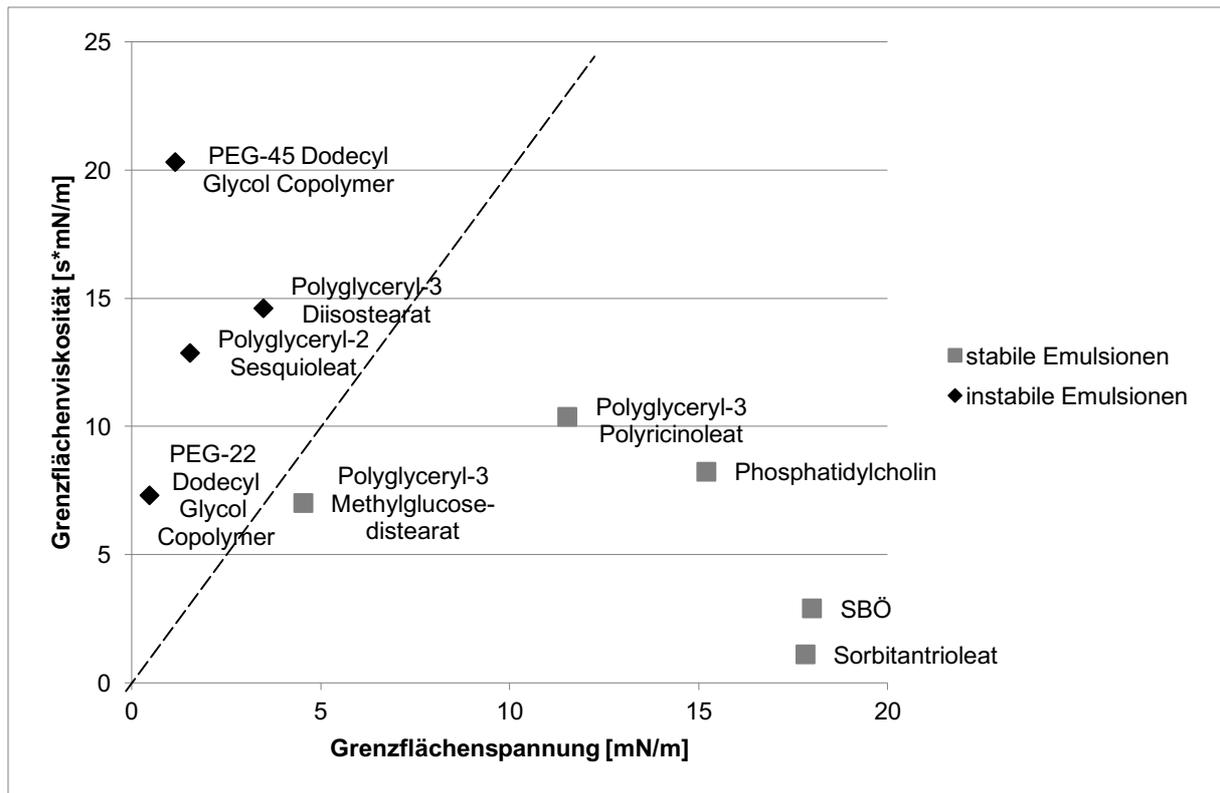
Für die Bestimmung der Größen der Grenzflächenelastizität werden die folgenden Ergebnisse erwartet: Bei Zugabe eines Emulgators zu Sonnenblumenöl lagert sich dieser an der Grenzfläche an. Die Grenzflächenspannung sinkt dadurch. Wird nun die Größe der Grenzfläche variiert, desorbieren und adsorbieren die Emulgatormoleküle. Durch diesen Effekt kommt es zu Schwankungen der Grenzflächenspannung. Nach Gleichung 1-5 steigt die Elastizität der Grenzfläche daher durch die Zugabe des Emulgators an.

Für alle verwendeten Emulgatoren trifft diese Erwartung insofern zu, als die Grenzflächenelastizität bei allen Lösungen mit Emulgator größer ist als bei reinem Sonnenblumenöl (auch mit TE). Setzt man im Folgenden die gemessenen Werte der Grenzflächenspannung in Relation zu den Werten der Grenzflächenelastizität, zeigt sich, dass nur in begrenztem Maß ein Zusammenhang zwischen diesen Größen hergestellt werden kann. In Abbildung 3-9 ist zu sehen, dass die Ergebnisse sich in zwei Gruppen einteilen lassen. Für Messungen mit Emulgatoren, die zu instabilen Emulsionen führen, lässt sich festhalten, dass der Wert für die Grenzflächenspannung stets kleiner 5 mN/m und für die Grenzflächenelastizität kleiner 20 mN/m ist. Bei den Ergebnissen der Messungen mit den Emulgatoren für stabile Emulsionen liegt stets einer der beiden Werte über den zuvor genannten Grenzen.



**Abbildung 3-9: Abhängigkeit der Grenzflächenelastizität von der Grenzflächenspannung für Lösungen von Emulgatoren mit TE**

Gleiches gilt für das Verhältnis der Grenzflächenspannung mit der Grenzflächenviskosität (Abbildung 3-10). Hier gibt das Verhältnis von Grenzflächenviskosität zu Grenzflächenspannung den Ausschlag. Ist dieses größer 2 sind die Emulsionen instabil, ist es kleiner bilden sich für die untersuchten Emulgatoren stabile Emulsionen aus.



**Abbildung 3-10: Abhängigkeit der Grenzflächenviskosität von der Grenzflächenspannung für Lösungen von Emulgatoren mit TE, gestrichelte Gerade:  $y = 2x$**

Aus den vorgestellten Ergebnissen der Grenzflächengrößen lässt sich daher folgern, dass über die Bestimmung der Grenzflächenspannung eine Vorhersage über die Kompatibilität und Eignung der Emulsionen zur Schaumherstellung möglich ist.

Auch die Bestimmung der Viskositäten der Oleogele mit Emulgator ermöglicht eine Erklärung der Kompatibilität der Emulsionen mit dem System der Schaumherstellung. Die Oleogele der kompatiblen Emulsionen zeigen stets höhere Werte als solche der inkompatiblen Emulsionen. Daraus lässt sich folgern, dass die Wechselwirkungen innerhalb des Gelgerüsts durch Einlagerung der Emulgatoren herabgesetzt werden. Das Gel aber ist verantwortlich für die Stabilisierung des Wassers in der Emulsion. Durch die Herabsetzung der Viskosität scheint diese Stabilisierung nicht mehr ausreichend zu sein. Die Emulsion hält den Anforderungen der Schaumherstellung aufgrund der verringerten Wechselwirkungen innerhalb des Gels nicht mehr stand. Die Tatsache, dass es sich bei den Emulgatoren um Substanzen handelt, die ebenfalls in der Lage sind, Emulsionen zu stabilisieren, scheint sich hier auf die Kompatibilität nicht positiv auszuwirken.

Durch die Charakterisierung der Emulsionen ist so eine wichtige Grundlage für die Charakterisierung der zugehörigen Schäume geschaffen.

## 3.2 Charakterisierung der Schäume

### 3.2.1 Optische Beurteilung

Für eine erste Aussage über die hergestellten Schäume werden Aufnahmen mit der Stereolupe ausgewertet.

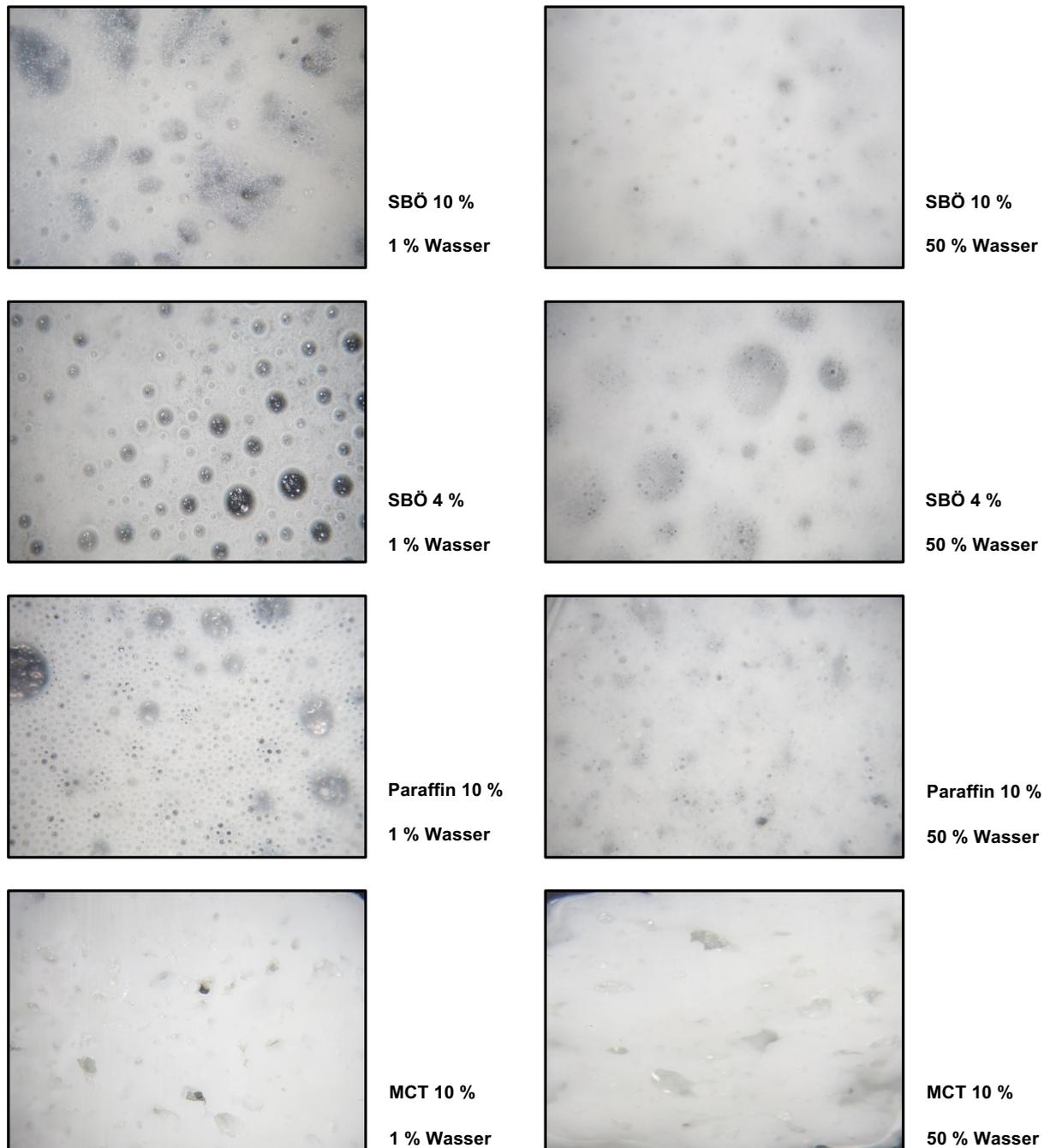


Abbildung 3-11: Stereolupenaufnahmen der Schäume von oben nach unten auf Grundlage folgender Oleogele: SBÖ 10 % TE, SBÖ 4 % TE, Paraffin 10 % TE, MCT 10 % TE, linke Spalte: Emulsionen mit 1 % Wasser, rechts: 50 % Wasser

In Abbildung 3-11 lassen sich die Unterschiede in der Struktur der Schäume erkennen:

Insgesamt fällt auf, dass es sich bei den Schäumen um Kugelschäume handelt, die meist mousseartigen Zubereitungen ähneln. Bei keinem der untersuchten Schäume ist eine Polyederstruktur zu erkennen.

Vergleicht man zuerst bei gleichbleibendem Oleogel die Emulsionen mit 1 % und 50 % Wasser, zeigt sich für alle Schäume, dass die Struktur der 1%igen Schäume weniger kompakt ist. Dies lässt sich vor allem an der Transparenz des Schaums vor dunklem Hintergrund erkennen.

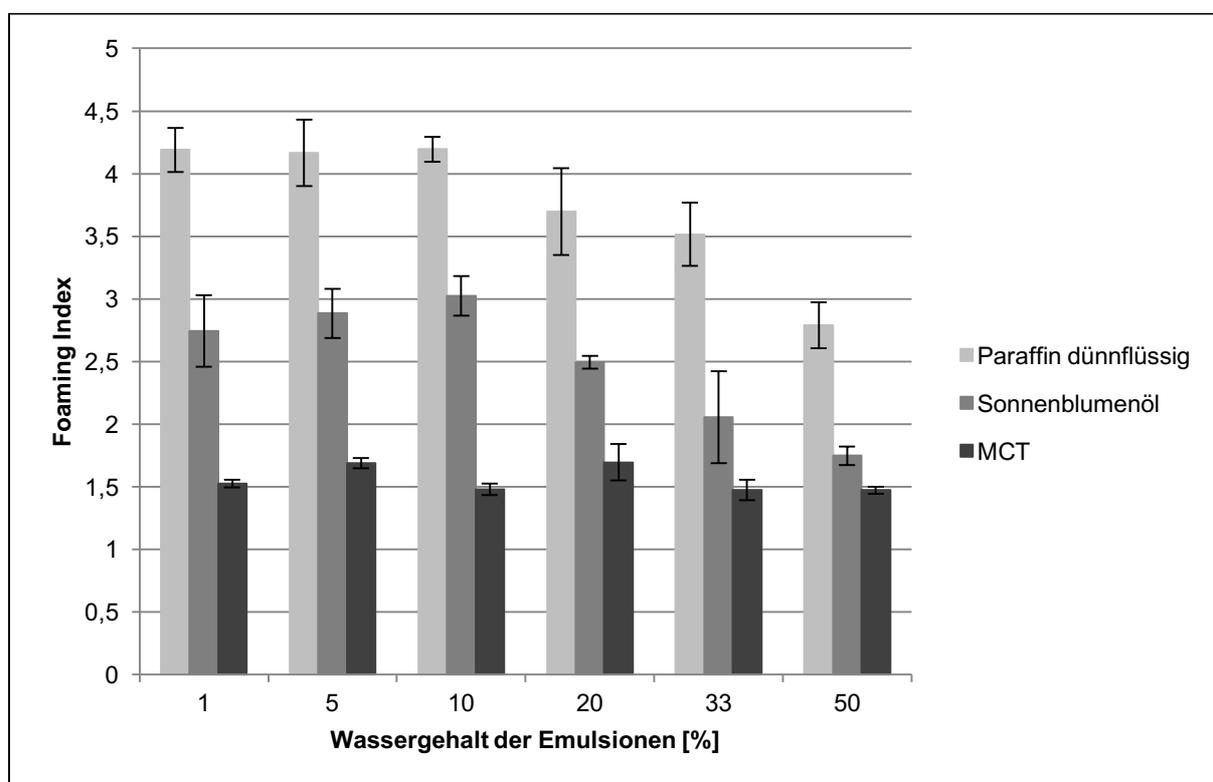
Bei einem genaueren Blick auf die einzelnen Grundlagen kann außerdem Folgendes festgehalten werden:

- Die Schäume mit den Zusammensetzungen 4 % TE, 50 % Wasser und 10 % TE, 1 % Wasser ähneln sich bei makroskopischer Ansicht.
- Die Form der Gaseinschlüsse verändert sich bei Zunahme des Wassergehalts. Dies zeigt sich deutlich bei paraffinhaltigen Grundlagen und Emulsionen aus Oleogelen mit 4 % TE. Bei Zubereitungen mit 1 % Wasser sind die Gaseinschlüsse kugelförmig. Bei anderen Zubereitungen ist die Form dagegen unregelmäßig.
- Die Schäume der MCT-haltigen Emulsionen unterscheiden sich dagegen unabhängig vom Wassergehalt kaum.

### 3.2.2 Bestimmung der Volumenzunahme

#### 3.2.2.1 Unterschiedliche Lipidphasen

Um den Einfluss der Lipid- und der Wasserphase zu untersuchen, wird im Folgenden (Abbildung 3-12) die Volumenzunahme (Foaming Index) der Schäume der drei unterschiedlichen eingesetzten Öle verglichen. Grundlage für die in dieser Abbildung vorgestellten Schäume ist jeweils ein Gel im 10 % TE, das mit unterschiedlichen Wassermengen zu Emulsionen weiterverarbeitet wird. Die Emulsionen wurden anschließend über 5 Tage mit 5 bar CO<sub>2</sub> beaufschlagt.



**Abbildung 3-12: Volumenzunahme der Schäume im Vergleich unterschiedlicher Lipidphasen; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung**

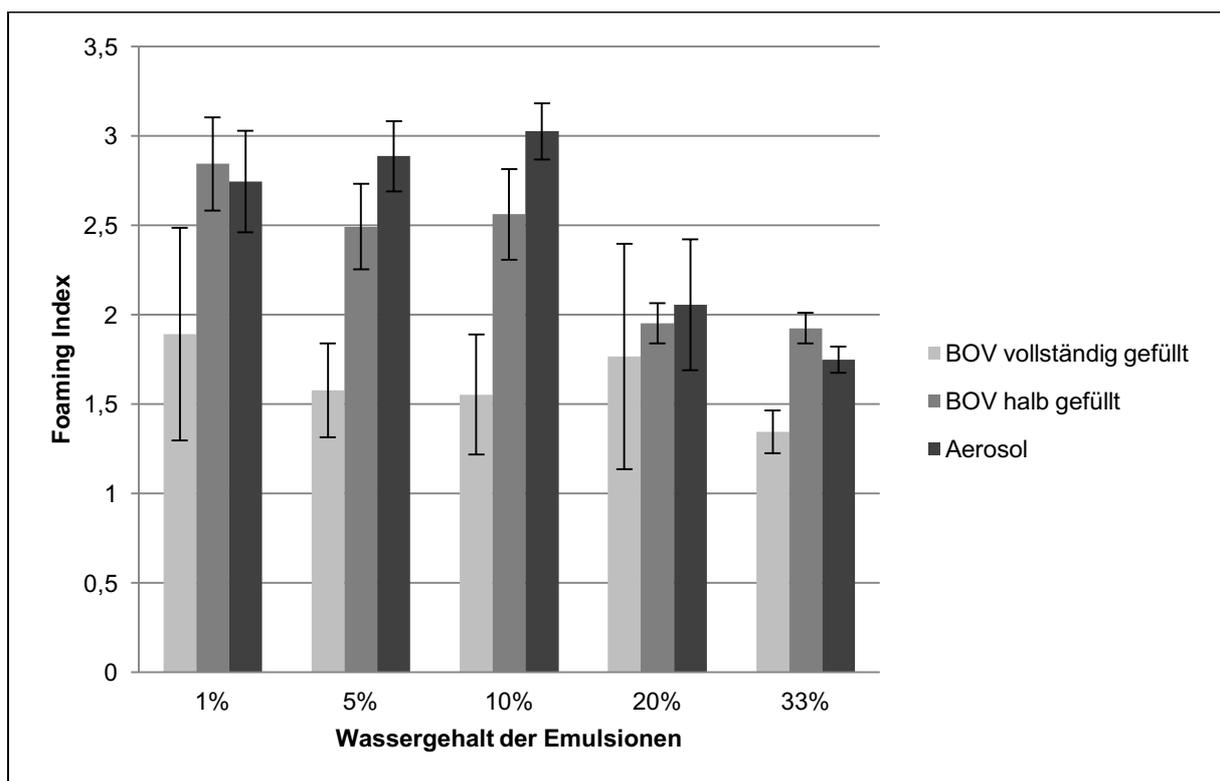
Deutlich zu erkennen ist der Unterschied der einzelnen Lipidphasen. Mit einer Volumenzunahme auf das etwa Drei- bis Vierfache (FI  $2,79 \pm 0,18$  bis  $4,19 \pm 0,18$ ) erreicht die Paraffingrundlage hier die höchsten Werte. Die zweithöchsten Werte erreichen Sonnenblumenölemulsionen mit einem FI von  $1,75 \pm 0,07$  bis  $2,74 \pm 0,28$  und MCT-Emulsionen mit einem FI von  $1,47 \pm 0,03$  bis  $1,69 \pm 0,15$ .

Zudem lassen die Emulsionen mit Paraffin und Sonnenblumenöl den folgenden Trend erkennen: Bei hohen Wasserphasenanteilen sinkt das Schaumvolumen. Dagegen haben MCT-haltige Zubereitungen eine gleichbleibend geringe Volumenzunahme auf etwa das Eineinhalbfache ihres Ausgangsvolumens.

### 3.2.2.2 Schäume aus Bag-on-Valve

Im Folgenden wird mit dem Bag-on-Valve-System eine weitere Primärverpackungsmöglichkeit der Zubereitung und deren Auswirkung auf die Verwendung der Zubereitung vorgestellt.

Verglichen werden die Ergebnisse (Abbildung 3-13) der Schäume aus dem BOV mit Schäumen aus herkömmlichen Aerosoldosen. Es werden keine Ergebnisse für Emulsionen mit 50 % Wasser dargestellt, da nur Schäume mit einem Wassergehalt bis zu 33 % nach Entnahme aus dem BOV stabil sind.



**Abbildung 3-13: Vergleich der Volumenzunahme für Schäume aus herkömmlichen Aerosoldosen mit dem BOV-System; n = 3-5; Fehlerbalken: Standardabweichung**

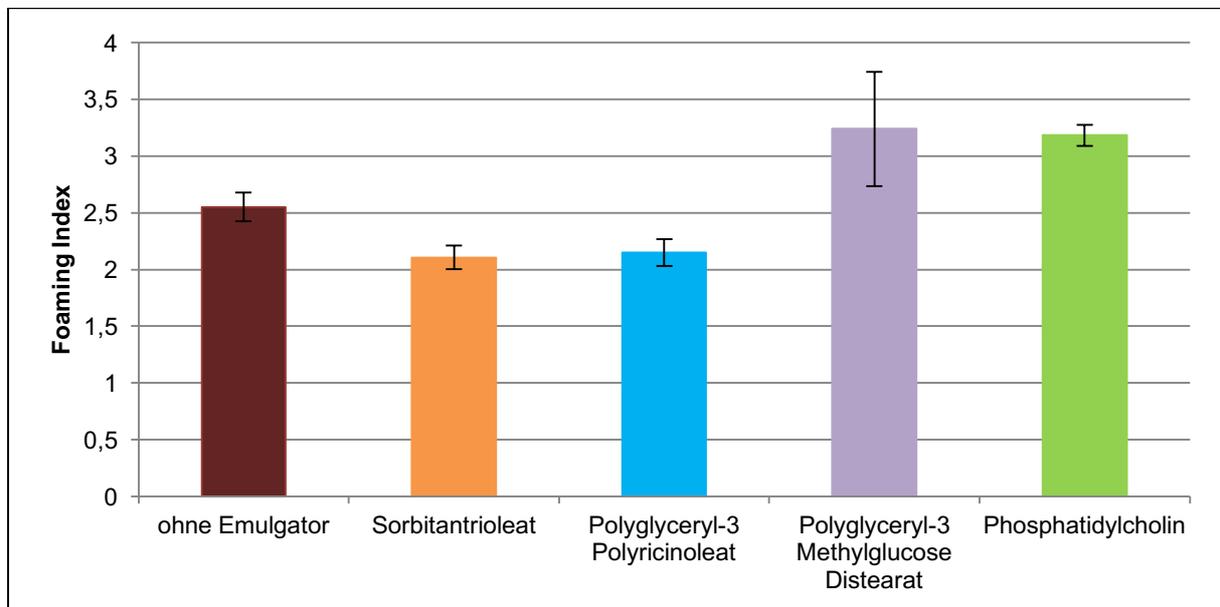
Betrachtet man zuerst die Volumenzunahme der Schäume aus den vollständig gefüllten BOV, zeigt sich, dass die Volumenzunahme großen Schwankungen unterliegt, erkenntlich an den großen Standardabweichungen. Im Vergleich zu Schäumen aus normalen Aerosoldosen fällt der FI deutlich geringer aus.

Bezieht man im zweiten Schritt die hälftig gefüllten BOV mit ein, kann eine Verbesserung der Ergebnisse gegenüber den vollständig gefüllten BOV beobachtet werden. Die Volumenzunahme unterliegt kleineren Schwankungen und ist mit der aus normalen Aerosoldosen vergleichbar.

Mit hälftig gefüllten BOV-Systemen lassen sich also gleiche Schaumcharakteristika erreichen wie mit normalen Aerosoldosen.

### 3.2.2.3 Schäume mit Emulgatorzusatz

Um die Aufschäumfähigkeit der Emulsionen zu verbessern, werden, ausgehend vom 10%igen Oleogel, 2 % des Extraktes durch Emulgatoren ersetzt und die Volumenzunahme der Emulsionen mit einem Wassergehalt von 50 % verglichen (Abbildung 3-14).



**Abbildung 3-14: Einfluss von Emulgatoren auf die Volumenzunahme von sonnenblumenöhlhaltigen Emulsionen mit 50 % Innenphasenanteil; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung**

Die Werte für die Volumenzunahme liegen für die gezeigten Emulsionen im Bereich zwischen 2,11 (Emulsionen mit Sorbitantrioleat) und 3,24 (Emulsionen mit Polyglyceryl-3 Methylglucose Distearat). Generell lassen sich die Ergebnisse in zwei Gruppen unterteilen:

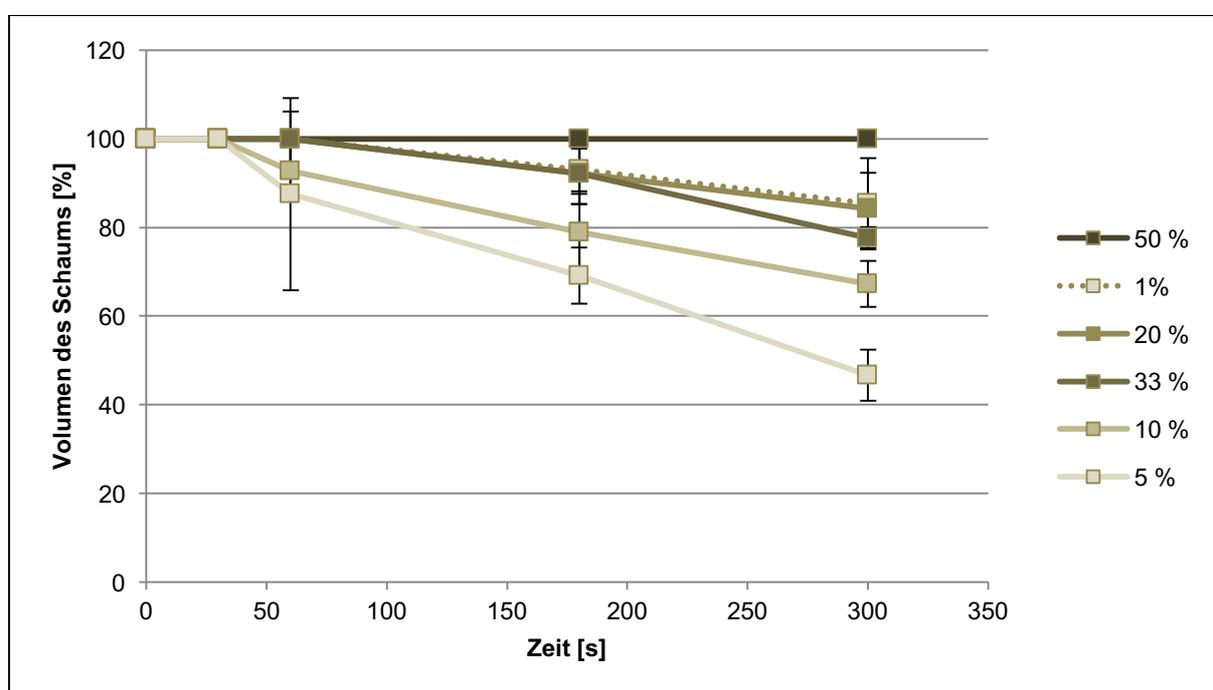
Zum einen zeigt der Zusatz von Sorbitantrioleat und Polyglyceryl-3 Polyricinoleat im Vergleich zur gleichen Emulsion ohne Emulgatorzusatz ein geringfügig verringertes Aufschäumvermögen. Bei der zweiten Gruppe erhöht sich im Gegensatz dazu die Volumenzunahme unter Verwendung von Polyglyceryl-3 Methylglucose Distearat und Phosphatidylcholin. Für die Verwendung von Emulgatoren kann also keine allgemein gültige Aussage für die Volumenzunahme des Schaums getroffen werden. Sie ist von der Art des Emulgators abhängig.

### 3.2.3 Schaumstabilität

Für die Charakterisierung von Schäumen ist neben der Volumenzunahme auch die Schaumstabilität von Interesse.

Für Schäume auf der Grundlage von mittelkettigen Triglyceriden lässt sich bei dem untersuchten TE-Gehalt von 10 % im Oleogel keinerlei Veränderung des Volumens in einem Zeitraum von 5 min beobachten. Diese Beobachtung ist vom Wassergehalt der Emulsion unabhängig.

Paraffinhaltige Schäume sind dagegen, wie in Abbildung 3-15 gezeigt, die Stabilität betreffend sensibel für unterschiedliche Wassermengen.

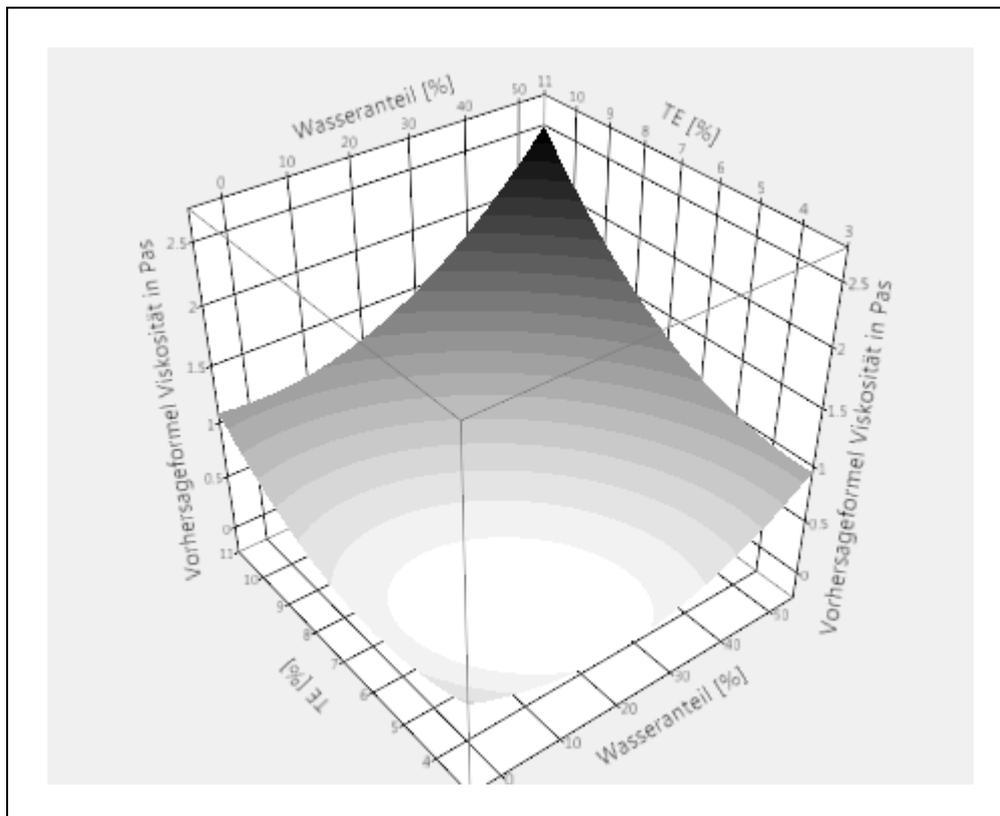


**Abbildung 3-15: Stabilität der Paraffinschäume mit unterschiedlichem Wassergehalt; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung**

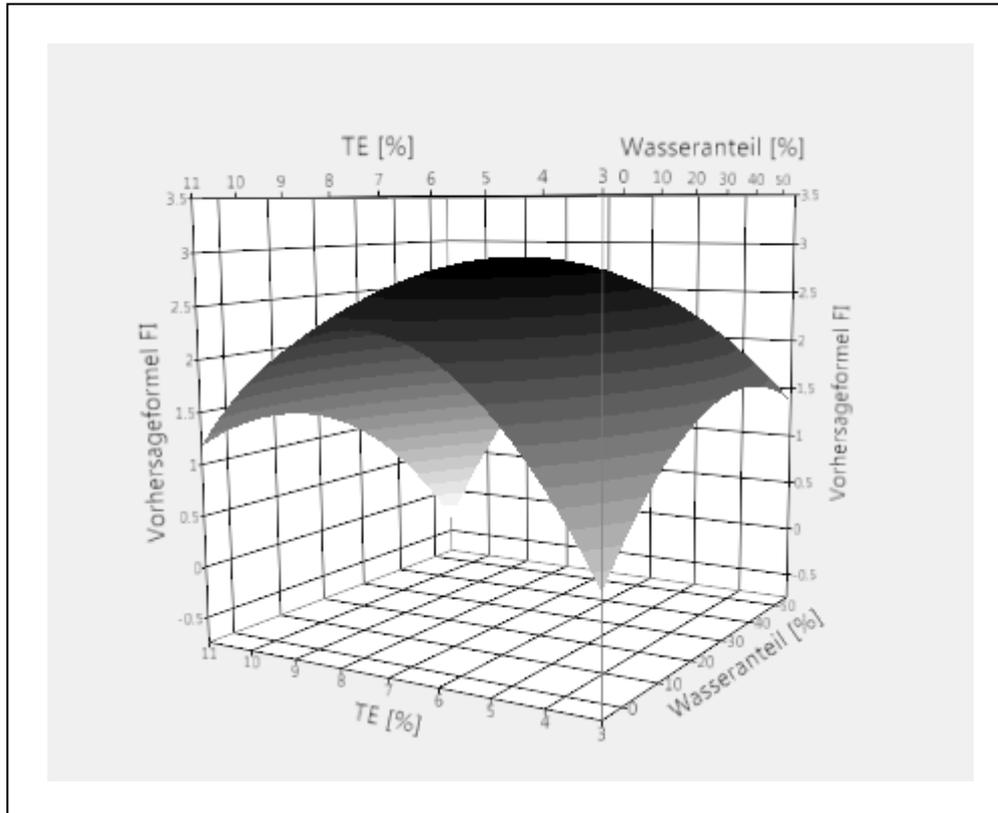
Das Volumen der Paraffinschäume nimmt im Laufe von 5 min ab. Einzig die Zubereitung mit 50 % Wasseranteil bleibt über den gesamten Zeitraum volumenstabil. Bei den Paraffinschäumen mit einem Wassergehalt von 1 % bis 33 % ist zu sehen, dass die Abnahme sich abhängig vom Wassergehalt unterscheidet. Die Zubereitung mit einem Wassergehalt von 33 % bzw. 20 % weist nach 5 min noch ein Restvolumen von etwa 80 % des Ausgangsvolumens auf, während die Emulsionen mit 5 % Wassergehalt auf 40 % ihres Ausgangsvolumens sinken. Einzig die Emulsion mit nur 1 % Wasser lässt sich nicht in diese Reihe einordnen.

### 3.2.4 Statistisches Versuchsdesign

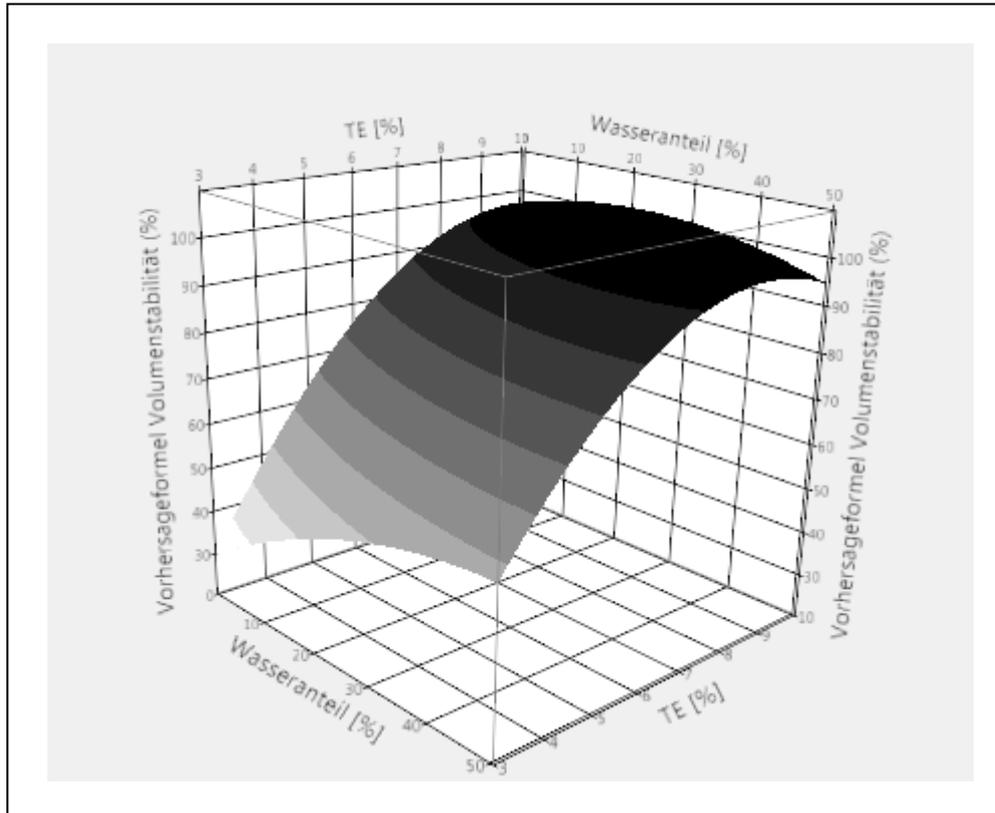
Mittels statistischen Versuchsdesigns werden in diesem Abschnitt die Auswirkungen von Wasser- und TE-Anteil des Schaums auf die Viskosität (Abbildung 3-16) sowie die Volumenzunahme (Abbildung 3-17) und die Schaumstabilität (Abbildung 3-18) in Form von Wirkungsflächendiagrammen dargestellt.



**Abbildung 3-16: Wirkungsflächenanalyse der Viskosität der Schäume mit Sonnenblumenöl bezogen auf TE- und Wassergehalt**



**Abbildung 3-17: Wirkungsflächenanalyse der Volumenzunahme (FI) der Schäume mit Sonnenblumenöl bezogen auf TE- und Wassergehalt**



**Abbildung 3-18: Wirkungsflächenanalyse der Volumenstabilität der Schäume mit Sonnenblumenöl bezogen auf TE- und Wassergehalt**

Das Wirkungsflächendiagramm der Viskosität verdeutlicht noch einmal die Untersuchungen aus 3.1.1.2. Es kann über den gesamten vom Design erfassten Bereich gezeigt werden, dass steigender TE- und Wasseranteil zu einer Erhöhung der Viskosität führen.

Die in Abbildung 3-17 dargestellte Wirkungsflächenanalyse ergibt für die Volumenzunahme bei Variation des TE- und Wasseranteils ein Maximum. Dieses liegt in der Mitte der gewählten Parameter bei etwa 7 % TE und 25,5 % Wasser und zeigt eine Volumenzunahme um etwa den Faktor drei. Vergleicht man dieses Ergebnis mit den ermittelten Viskositäten, so fällt auf, dass es sich bei den Emulsionen der maximalen Volumenzunahme um Zubereitungen mittlerer Viskositäten handelt.

Für die Volumenstabilität der Schäume (Abbildung 3-18) zeigt sich eine starke Abhängigkeit vom TE-Gehalt: Je höher der Gehalt des TE im zugehörigen Oleogel ist, desto stabiler ist der Schaum. Bei niedrigen TE-Konzentrationen hat der Wassergehalt ebenfalls einen Einfluss. Auch hier gilt, dass der zunehmende Wassergehalt zu einer höheren Stabilität führt.

### 3.2.5 Zusammenfassung und Diskussion

#### 3.2.5.1 Zusammenfassung

Die Charakterisierung der TE-haltigen Schäume lässt sich für die einzelnen Grundlagen (MCT, Paraffin und Sonnenblumenöl) wie folgt zusammenfassen:

MCT-haltige Schäume zeigen die geringste Volumenzunahme (FI 1,5), sind aber über einen Zeitraum von 5 min volumenstabil. Beide untersuchten Parameter sind vom Innenphasenanteil unabhängig.

Schäume aus Paraffinemulsionen erreichen dagegen mit einem FI bis zu 4 den höchsten Wert aller untersuchten Zubereitungen. Sie sind allerdings abhängig vom Anteil der Wasserphase nicht volumenstabil. Eine Zunahme des Wasserphasenanteils führt zu einer Verbesserung der Stabilität, vermindert aber gleichzeitig die Volumenzunahme.

Für Schäume mit Sonnenblumenöl lassen sich die Ergebnisse in weitere drei Teile untergliedern.

Ohne Emulgator: Im statistischen Versuchsdesign zeigt sich ein FI Optimum von 3 für die folgende Zusammensetzung: TE im Oleogel 7 %, Wasser in der Emulsion 25,5 %. Höhere und niedrigere TE- und Wasserkonzentrationen führen jeweils zu geringeren FI-Werten. Die Volumenstabilität wird hauptsächlich durch den TE-Anteil, aber auch durch den Wasseranteil beeinflusst: Je höher dieser ist, desto stabiler ist der Schaum.

BOV: Für die Schäume aus BOV-Systemen lassen sich bei nur hälftig gefüllten Beuteln vergleichbare FI-Werte erreichen wie aus normalen Aerosoldosen.

Mit Emulgatoren: Nur zwei der vier Emulgatoren, die zu stabilen Emulsionen führen, verbessern das Aufschäumvermögen der Zubereitungen. Diese sind Phosphatidylcholin und Polyglyceryl-3 Methylglucose Distearat.

### 3.2.5.2 Diskussion

#### 3.2.5.2.1 Einfluss der Viskosität

Wie für pharmazeutische Schäume im Allgemeinen gültig, hat auch bei TE-haltigen Schäumen die Viskosität Einfluss auf die Charakteristika eines Schaums. Bei klassischen pharmazeutischen Schäumen werden viskositätserhöhende Polymere wie Polyacrylsäure oder Cellulosederivate eingesetzt, um die Dispersion des Gases zu stabilisieren und eine Drainage zu verhindern (Bikerman, 1973, Zhukov et al., 1987). Zu hohe Polymerkonzentrationen führen dagegen zu einem verminderten Aufschäumen, da die Tenside der Zubereitung durch die erhöhte Viskosität langsamer an die Grenzfläche gelangen und diese somit schlechter stabilisieren.

Die Schäume dieser Arbeit zeigen eine große Abhängigkeit von der Viskosität ihrer korrespondierenden Emulsionen. Diese steht hier der Expansion des Treibgases entgegen. Entsprechend gering fällt die Volumenzunahme der hochviskosen MCT-haltigen Schäume im Vergleich zu Paraffinschäumen aus, deren Emulsionen eine deutlich niedrigere Viskosität aufweisen.

Da sowohl der TE-Anteil im Oleogel als auch der Wasseranteil der Emulsion die Viskosität beeinflussen, ist die im Wirkungsflächendiagramm (Abbildung 3-17) gezeigte Abhängigkeit der Volumenzunahme auch für beide sich ändernden Anteile zu erwarten. Das Maximum der Volumenzunahme lässt sich folgendermaßen erklären: Ist die Viskosität zu groß, erschwert sie die Volumenzunahme, ist sie hingegen kleiner, vermag der entstehende Schaum nicht ausreichend stabilisiert zu werden und kollabiert umgehend. Das ermittelte Maximum liegt dann mittig in den für TE und Wasser gewählten Bereichen.

Die Abhängigkeit der Schaumstabilität von der Viskosität zeigt sich außerhalb des statistischen Versuchsdesigns auch für Zubereitungen mit MCT und Paraffin. Während hochviskose MCT-Emulsionen zu volumenstabilen Schäumen führen, kollabieren Schäume aus Emulsionen niedriger Viskositäten. Das Volumen sinkt über die Zeit. Für Schäume mit Paraffin und unterschiedlichen Wasseranteilen zeigt sich: Je höher die Viskosität ist, desto höher ist auch die Stabilität der paraffinhaltigen Emulsionen. Die Abweichung der 1%igen Emulsion lässt sich dagegen nicht auf diesen Zusammenhang zurückführen. Durch den sehr niedrigen Wassergehalt ist davon auszugehen, dass die Stabilität nicht von der Innenphase gesteuert, sondern nur von der Gelstruktur beeinflusst wird. Dadurch weist die Emulsion mit 1 % Wasser eine größere Stabilität auf.

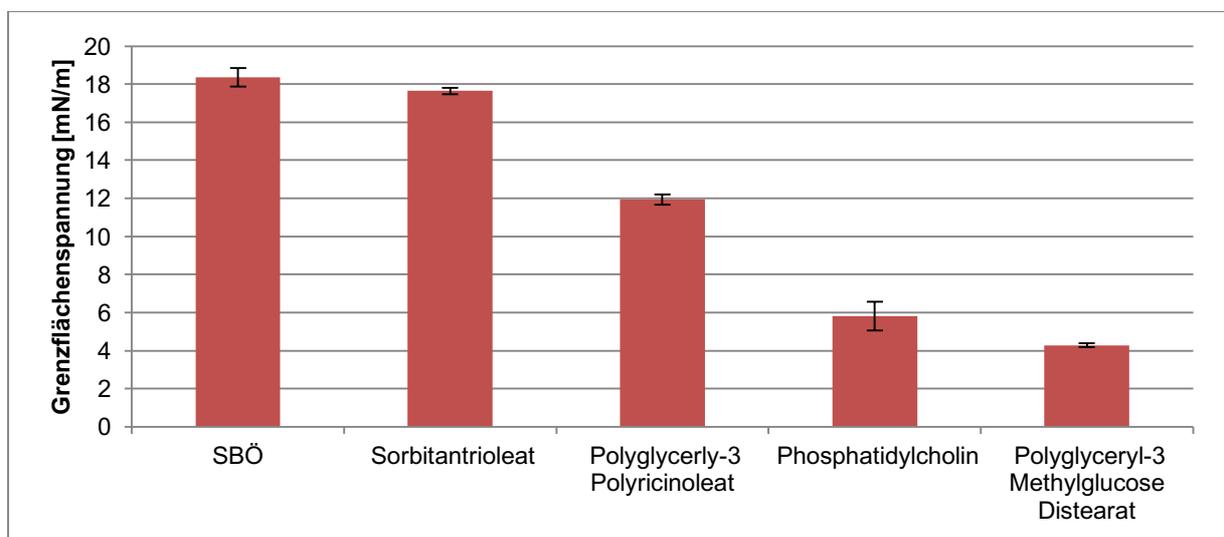
### 3.2.5.2.2 Einfluss der Primärpackmittels

BOV-Systeme bringen wie einleitend beschrieben viele Vorteile mit sich. Neben den bereits bekannten ist für die Verwendung von BOV mit triterpenhaltigen Schäumen folgender methodische Aspekt wichtig: Die kontinuierliche Entnahme, wie sie im Arzneibuch (Ph.Eur.8, 2015b) für die Charakterisierung der Schäume gefordert wird, ist bei hochviskosen Formulierungen nur aus dem BOV-System möglich. Hierfür verantwortlich ist die Trennung von Formulierung und dem außenanliegenden Stützdruck, der unabhängig von der Raumlage der Aerosoldose die Zubereitung stets zum Ventil befördert.

Die zwei unterschiedlichen Befüllungsarten führen zu unterschiedlichen Ergebnissen: Aufgrund des räumlich getrennt angelegten Austreibedrucks, kann der Beutel vollständig mit der Zubereitung befüllt werden. Allerdings ist in diesem Fall kein freier Raum mehr vorhanden, der für das zum Aufschäumen benötigte Treibgas als Reservoir zur Verfügung steht. Aus diesem Reservoir geht das Treibgas in der Zubereitung in Lösung. Das Ausmaß der Volumenzunahme ist also von einem Reservoir abhängig. Außerdem zeigen die kleineren Schwankungen der Werte, dass es bei hälftig gefüllten BOV zu einer besseren Durchmischung des Gases mit der Zubereitung im BOV kommt. Normale Aerosoldosen und hälftig befüllte BOV verfügen beide über das erforderliche Reservoir für Treibgas und führen daher zu vergleichbaren Ergebnissen.

### 3.2.5.2.3 Einfluss von Emulgatoren

Die eingesetzten Emulgatoren zeigen unterschiedliche Effekte auf die Volumenzunahme. Sorbitantrioleat und Polyglyceryl-3 Polyricinoleat verbessern die Aufschäumbarkeit nicht, während Phosphatidylcholin und Polyglyceryl-3 Methylglucosdistearat einen positiven Effekt zeigen. Für eine Erklärung lässt sich nochmals die Grenzflächenspannungsmessung aus 3.1.2.2.2.1 (Ergebnisse ohne TE) heranziehen. Im Falle der Schäume mit Emulgatoren ist das Ausmaß der Beeinflussung der Grenzflächenspannung entscheidend. Es lässt sich ein Zusammenhang zwischen der Senkung der Grenzflächenspannung und der Verbesserung des Aufschäumverhaltens herstellen.



**Abbildung 3-19: Grenzflächenspannung ohne TE nach 20 min; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung**

Die beiden Emulgatoren, die zu verbesserten Volumenzunahmen im Vergleich zu Schäumen ohne Zusatz führen, setzen die Grenzflächenspannung weiter herab. Sie haben folglich mehr Einfluss auf die Grenzfläche und begünstigen dadurch das Aufschäumen der Emulsion.

### 3.2.5.2.4 Einfluss der Phasenlage auf die Schäume

Vergleicht man die Volumenzunahme der Schäume mit anderen pharmazeutischen Schäumen, ist festzustellen, dass diese bei TE-haltigen Schäumen deutlich geringer ausfällt. Herkömmliche Schäume weisen eine Volumenzunahme um den Faktor 10 auf. In diesem Fall ist indessen zu beachten, dass es sich bei diesen herkömmlichen Schäumen um wässrige Systeme bzw. O/W-Emulsionen handelt.

Zum einen liegt das Treibgas bei herkömmlichen Schäumen vollständig in der Innenphase des Systems vor. Mit der Wahl von CO<sub>2</sub> wird auch in den hier untersuchten Emulsionen erreicht, dass sich das Treibgas teilweise in der Innenphase löst, jedoch werden auf Grund der Phasenlage immer Teile des Gases gelöst in der Außenphase vorliegen.

Des Weiteren ist zu beachten, dass es sich bei den triterpenhaltigen W/O-Schäumen um halb feste Zubereitungen handelt, die an sich schon eine höhere Viskosität aufweisen. Die hohe Viskosität der Zubereitungen wird auch durch das in der Außenphase vorliegende Gel beeinflusst und steht dem Aufschäumprozess entgegen.

Beachtet man diese beiden Parameter, wird deutlich, dass sich ein Vergleich der triterpenhaltigen W/O-Emulsionen mit anderen W/O-Cremes anbieten, um die Ergebnisse besser einordnen zu können. In Abbildung 3-20 werden daher weitere FI-Ergebnisse dargestellt. Sie stammen von pharmazeutisch genutzten W/O-Cremes, die ebenfalls mit CO<sub>2</sub> aufgeschäumt wurden.

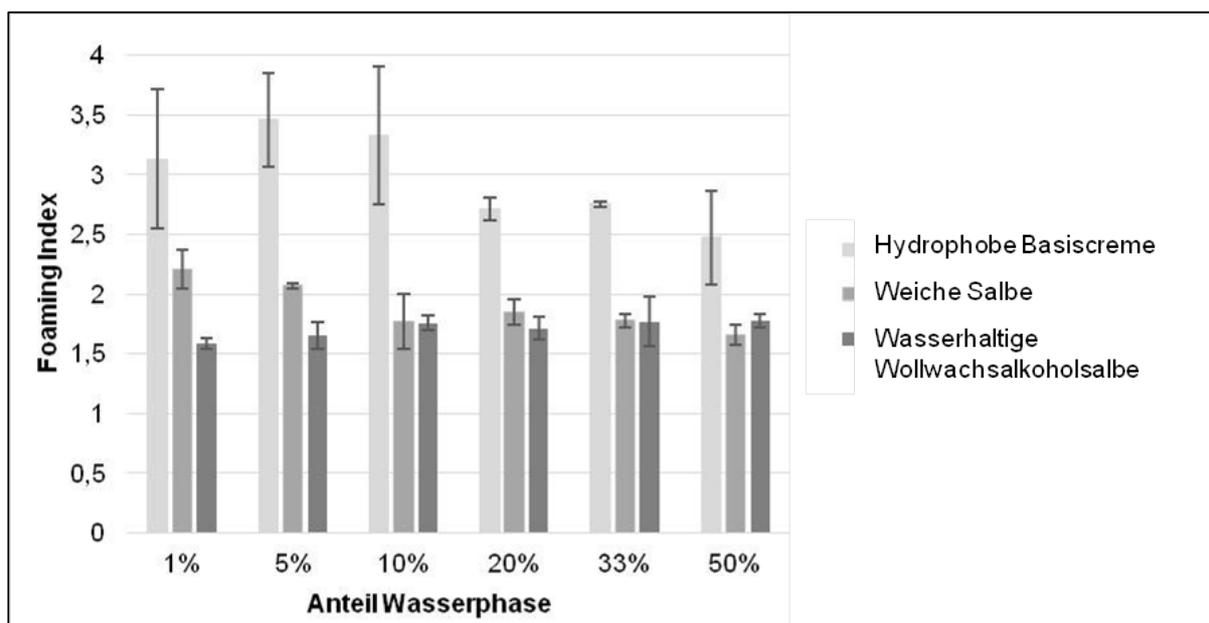


Abbildung 3-20: FI anderer W/O-Cremes mit unterschiedlichem Wassergehalt; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung (Mitterwald, 2013)

Es zeigt sich, dass sich der Faktor der Volumenzunahme der Zubereitungen aus dem Schaubild mit den triterpenhaltigen Zubereitungen vergleichen lässt. Für die Hydrophobe Basiscreme, die die größte Volumenzunahme aufweist, zeigt sich außerdem ebenfalls eine Abhängigkeit des FI vom Wasserphasenanteil.

Grund für die Entwicklung eines Schaumes mit Triterpenen ist, wie bereits einleitend erwähnt, die berührungsfreie Auftragung und damit die Verhinderung von mechanischer Belastung und Kontamination der Wunde. Für die spätere Anwendung der Schäume auf Wunden ist die Volumenzunahme der entwickelten Schäume ausreichend. Zu beachten ist hierbei vor allem die Volumenzunahme der Zubereitungen mit Sonnenblumenöl, da das Sonnenblumenöleogel bereits als Arzneimittel zugelassen ist.

### 3.3 Freisetzungsuntersuchungen

Im folgenden Kapitel werden die Freisetzungsuntersuchungen vorgestellt. Durch die Freisetzungsuntersuchungen können die unterschiedlichen Zubereitungen weiter pharmazeutisch charakterisiert und miteinander verglichen werden.

Der Triterpenextrakt durchläuft bei der Freisetzung des Wirkstoffes auf der Zubereitung drei unterschiedliche Phasen: Erstens das Lösen des Trockenextraktes im Öl der Zubereitung, zweitens die Diffusion der gelösten Triterpene zur Phasengrenze und drittens die Freisetzung des Wirkstoffes in das Akzeptormedium. Da Betulin mit über 80 % die Leitsubstanz des Trockenextraktes darstellt, wird in den folgenden Untersuchungen die Freisetzung von Betulin stellvertretend für die Gesamtheit der Triterpene untersucht.

Sofern nicht anders beschrieben, handelt es sich bei den verwendeten Zubereitungen um 10%ige Oleogele und Emulsionen sowie Schäume mit je 50 % Wasseranteil.

### 3.3.1 Vergleich der Oleogele

Zuerst wird das Freisetzungsverhalten der Oleogele verglichen. Es zeigen sich Unterschiede zwischen allen drei 10%igen Oleogelen (Abbildung 3-21). Auffallend ist die große Differenz der freigesetzten Menge nach 16 h. Sie ist bei Sonnenblumenöloleogelen ( $19,83 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) deutlich geringer im Vergleich zu den anderen Oleogelen, Paraffin ( $157 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) und MCT ( $126,79 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Doch auch die Freisetzungverläufe zeigen Unterschiede. Die Freisetzungskurve aus MCT-haltigen Oleogelen verläuft nicht linear und weicht damit wesentlich von den beiden anderen ab, die einen linearen Verlauf aufweisen.

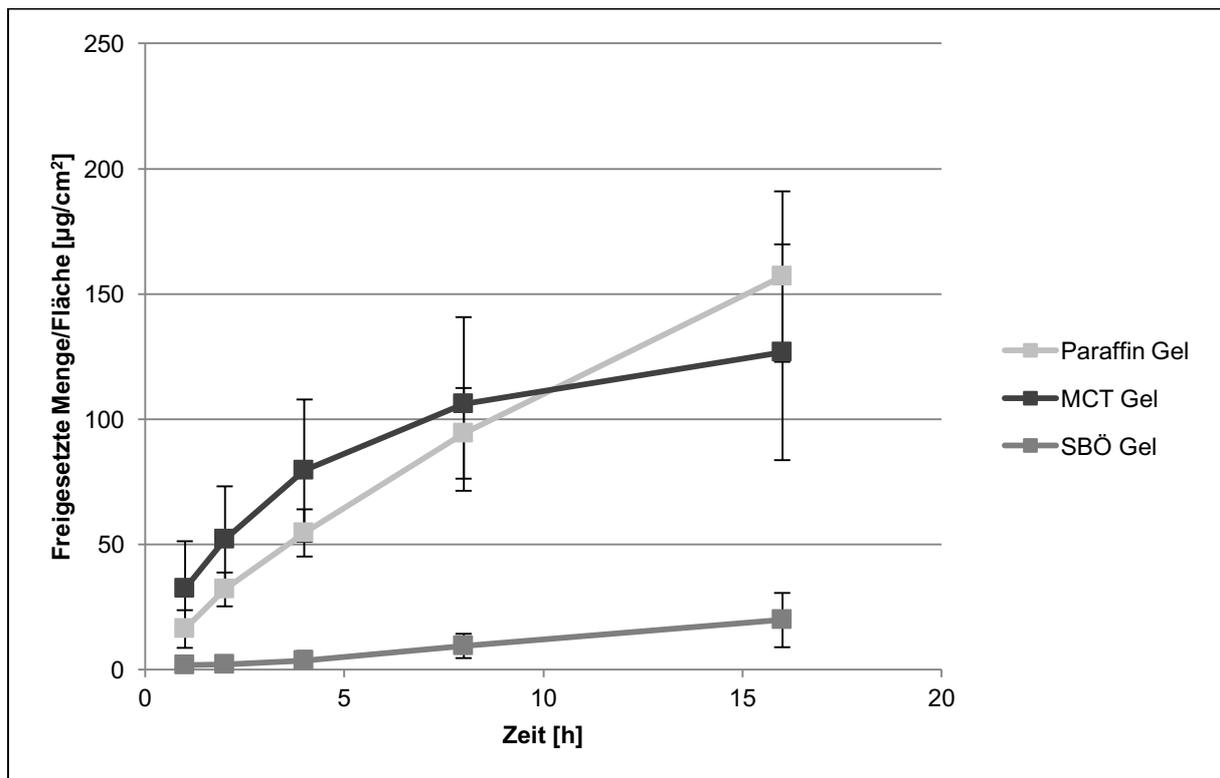
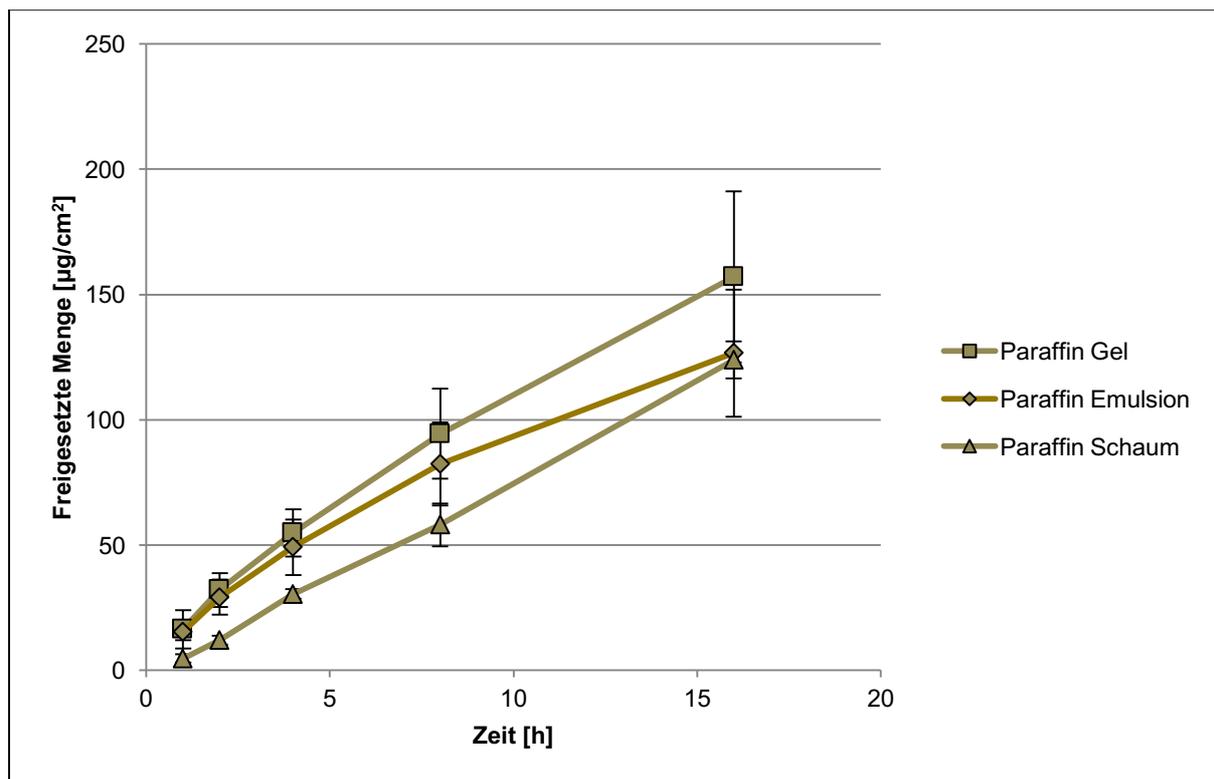


Abbildung 3-21: Freisetzung aus unterschiedlichen 10%igen Oleogelen;  $n = 3$ ; Fehlerbalken: Standardabweichung

### 3.3.2 Vergleich der unterschiedlichen Zubereitungen

#### Paraffin

In diesem Kapitel wird die Auswirkung der unterschiedlichen Zubereitungen auf die Freisetzung dargestellt. Verglichen werden jeweils Oleogel, Emulsion und Schaum für die einzelnen Ölphasen beginnend mit Paraffin.



**Abbildung 3-22: Freisetzung aus unterschiedlichen Zubereitungen mit Paraffin, Emulsion und Schaum enthalten je 50 % Wasserphasenanteil; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung**

Abbildung 3-22 zeigt ein vergleichbares Freisetzungsverhalten für alle drei Zubereitungen mit Paraffin. Die Zunahme der freigesetzten Menge verläuft linear und liegt nach 16 h zwischen  $123,84 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  und  $157,03 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

### Sonnenblumenöl

Für Sonnenblumenöl werden Freisetzungsforschungen für Schaum und Emulsion basierend auf 10 %igem Oleogel analysiert. Darüber hinaus wird die Menge an TE im Oleogel variiert und der Einfluss dieser Änderung untersucht.

Für alle Zubereitungen auf Basis des 10%igen Oleogels zeigt sich ein ähnliches Freisetzungsverhalten. Der Verlauf ist weitgehend linear (Abbildung 3-23).

Es kann jedoch ein Einfluss des TE-Gehaltes gezeigt werden. So ist in Abbildung 3-23 ebenfalls zu sehen, dass das Oleogel mit 4 %TE eine raschere Wirkstofffreisetzung aufweist.

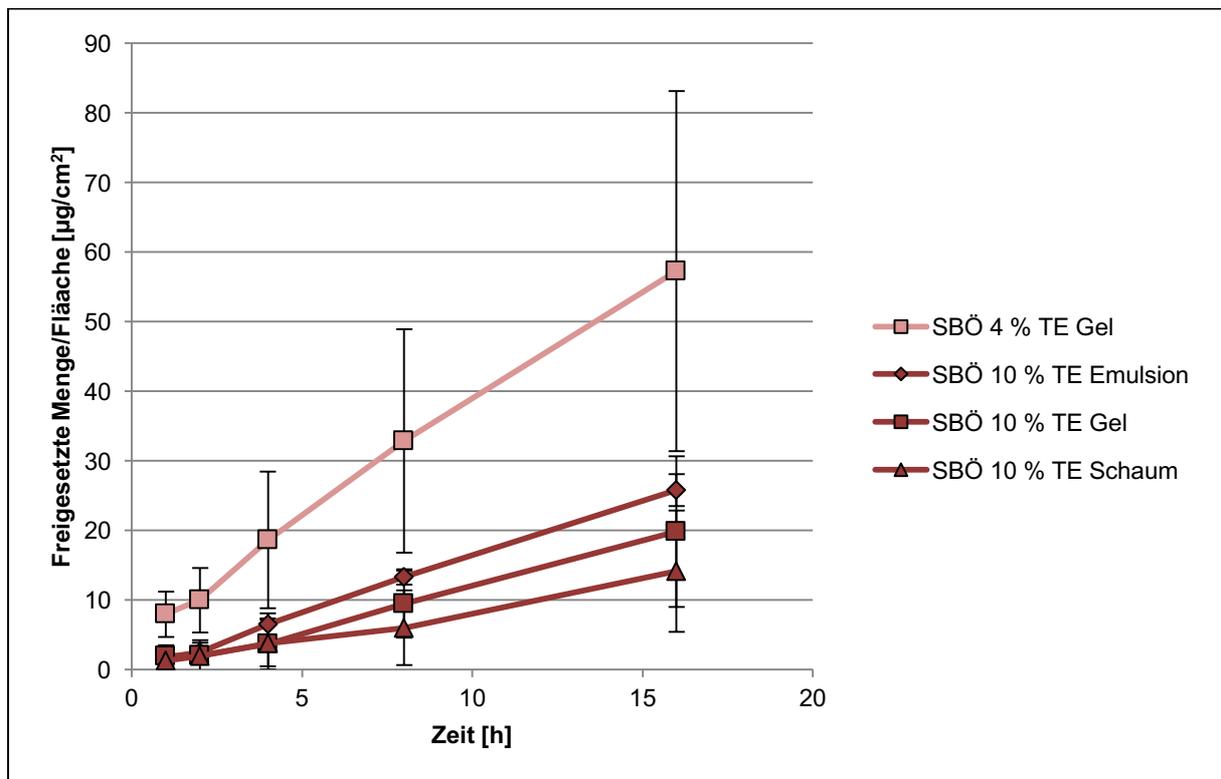
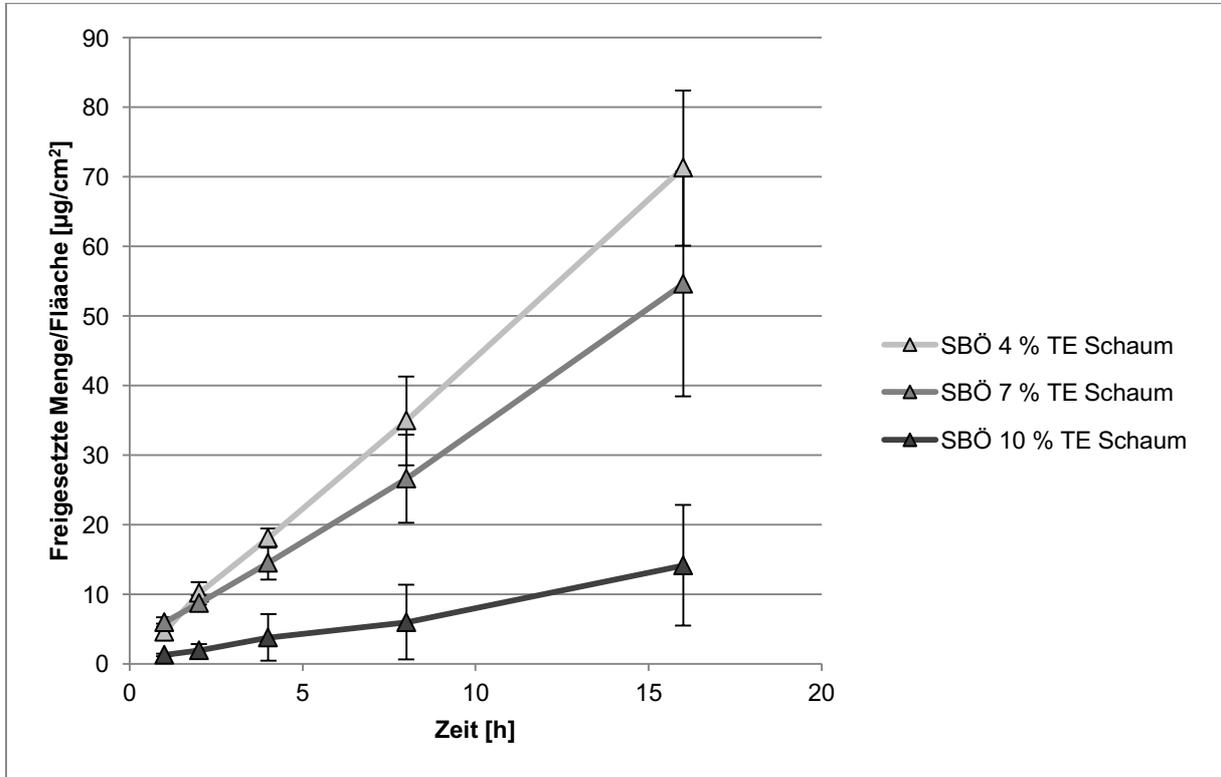


Abbildung 3-23: Freisetzung aus unterschiedlichen Zubereitungen mit Sonnenblumenöl, Emulsion und Schaum enthalten je 50 % Wasserphasenanteil; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung

Dies gilt ebenfalls für den Vergleich der Schäume mit 4 %, 7 % und 10 % TE (Abbildung 3-24). Trotz der Verringerung des Wirkstoffgehalts zeigt sich ein Anstieg der freigesetzten Menge von  $19,83 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  auf  $57,31 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Der nahezu lineare Verlauf der Freisetzung findet sich auch bei diesen Schäumen wieder.



**Abbildung 3-24: Freisetzung aus Schäumen unterschiedlichen TE-Gehalts mit Sonnenblumenöl und je 50 % Wasserphasenanteil; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung**

## MCT

Ein ganz anderes Bild zeigt sich für die Freisetzungsuntersuchungen von MCT-haltigen Zubereitungen. Die bisher vorgestellten Ergebnisse der Freisetzung von Schaum, Emulsion und Gel variierten bei gleichbleibender TE-Menge kaum. Anders verhält es sich bei der Einarbeitung von Wasser in das 10%ige MCT-Oleogel. Alle wasserhaltigen MCT-Zubereitungen zeigen eine starke Zunahme der freigesetzten Menge gegenüber derjenigen des Oleogels, aus dem sie hergestellt werden. So wird aus dem Gel ( $126,79 \pm 43,13 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) innerhalb von 16 h eine deutlich geringere Menge freigesetzt als aus der Emulsionen ( $315 \pm 93,63 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  bis  $372,29 \pm 31,08 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) und dem Schaum ( $336,14 \pm 12,61 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) mit 50 % Wasser. Eine Verringerung des Innenphasenanteils auf 10 % bzw. 20 % verändert dabei die Freisetzung aus den Emulsionen nicht. Es gilt für die Freisetzung aus MCT-haltigen Zubereitungen folglich zwischen wasserhaltigen und wasserfreien Formulierungen zu unterscheiden.

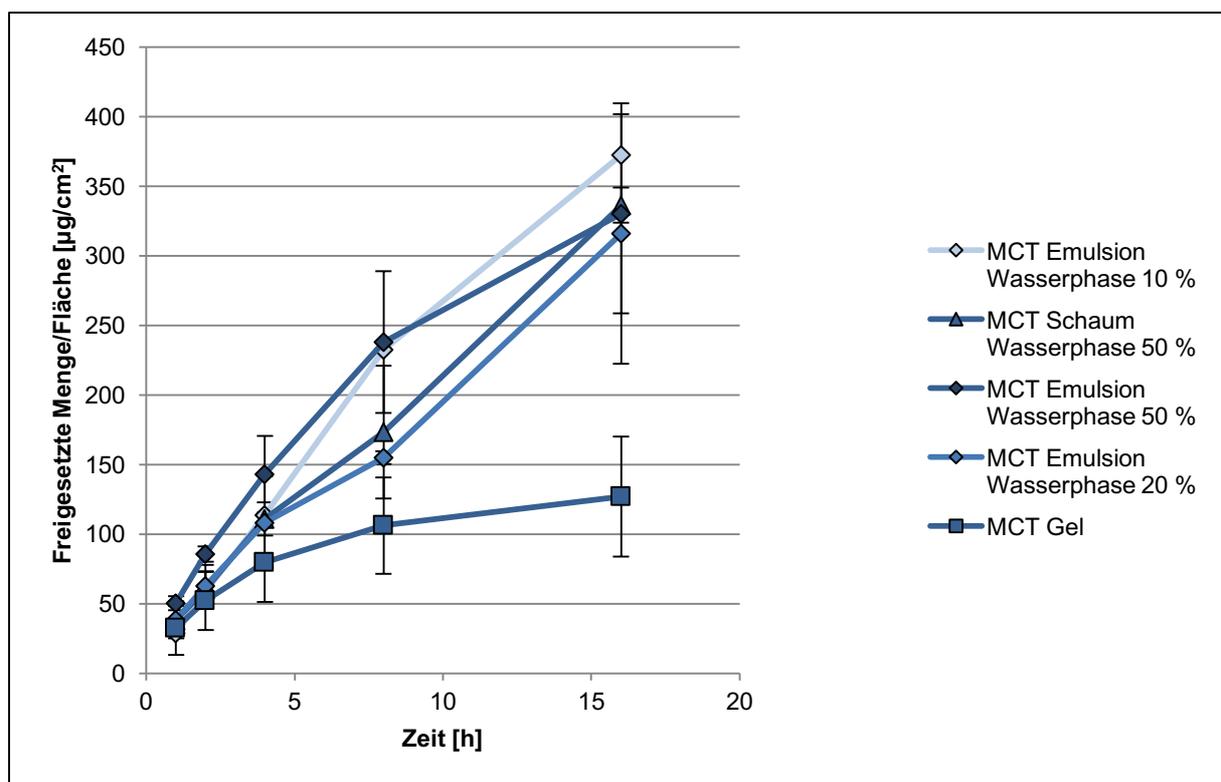


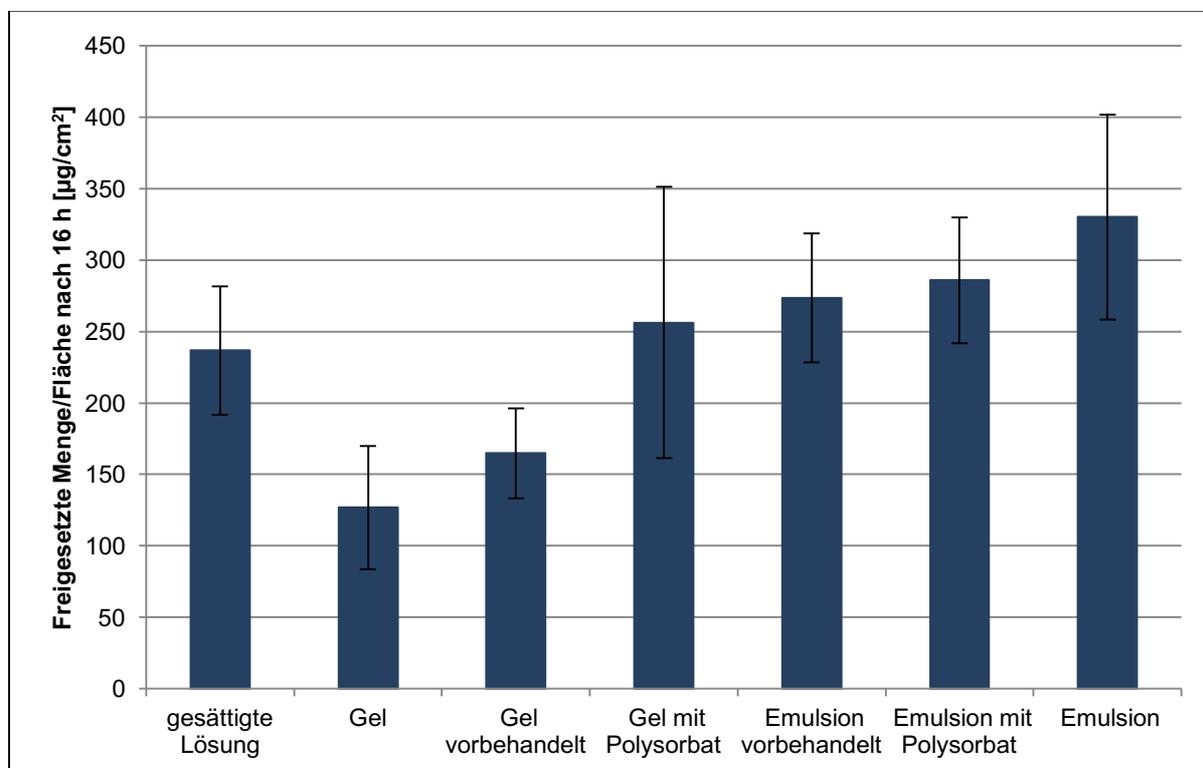
Abbildung 3-25: Freisetzung aus unterschiedlichen Zubereitungen mit MCT; Grundlage für alle Zubereitungen MCT-Oleogel mit 10 % TE; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung

Um die Ursache dieser Divergenz zu erforschen, werden folgende Veränderungen an der Versuchsdurchführung vorgenommen:

- (1) Vorbehandlung des Filter für 14 h mit 0,1 mL MCT;
- (2) Zusatz von Polysorbat 80 0,05 % zum Akzeptormedium;
- (3) Untersuchung einer mit TE gesättigten MCT-Lösung.

Die Zusätze geben Auskunft über die Benetzung des Filters durch die Zubereitung (1), die Benetzung des Filters durch das Akzeptormedium (2) und den Einfluss der Gelstruktur auf die Freisetzung (3).

Untersucht wurden jeweils die 10%igen Gele und deren Emulsionen mit 50 % Wasserphase (Abbildung 3-26).



**Abbildung 3-26: Vergleich der freigesetzten Betulinmengen aus MCT-Zubereitungen nach 16 h; n = 3; Fehlerbalken: Standardbalken, (Erklärung siehe Text)**

Ein allgemeiner Überblick über die Ergebnisse zeigt, dass die Veränderungen des Versuchs keinen Einfluss auf die freigesetzte Menge TE aus Emulsionen haben. Eine Vergrößerung der freigesetzten Menge kann dagegen bei den Versuchen mit dem MCT-Oleogel festgestellt werden.

Folgende Trends lassen sich aus den drei untersuchten Veränderungen der Freisetzungen ableiten:

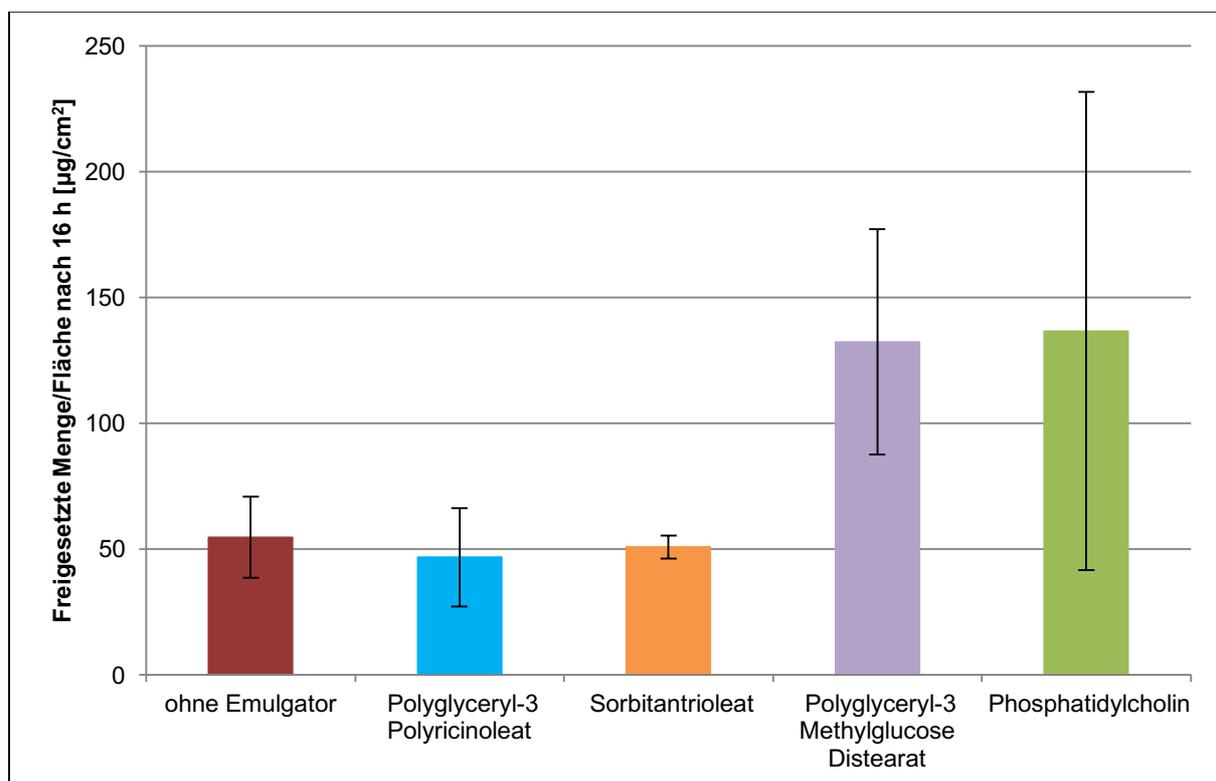
(1) Die Vorbehandlung des Filters mit MCT zeigt nur eine geringfügige Verbesserung der Betulinfreisetzung aus den Oleogelen. Dies ist ein Anzeichen für einen Einfluss des Filters auf die Freisetzung.

(2) Verstärkt wird dieses Anzeichen bei anschließender Betrachtung der freigesetzten Menge im Versuch, in dem das Akzeptormedium einen Zusatz von Polysorbat enthielt. Hier führt die Verbesserung der Benetzung des Filters zu einer verbesserten Freisetzung aus den Oleogelen.

(3) Aus gesättigten Lösungen wird im Vergleich zum Gel eine deutlich höhere Menge an Betulin freigesetzt.

### 3.3.3 Emulgatorhaltige Schäume

Nach den Freisetzungsforschungen der emulgatorfreien Schäume werden im Folgenden die Schäume mit Emulgatoren dargestellt (Abbildung 3-27). Verglichen werden hier die Schäume mit einem Wasseranteil von 50 %, der Oleogele, die 8 % TE und wahlweise 2 % Emulgator enthalten.



**Abbildung 3-27: Freigesetzte Menge aus Schäumen mit und ohne Emulgator nach 16 h; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung**

Die Zugabe von Emulgatoren bewirkt im Fall von Polyglyceryl-3 Polyricinoleat und Sorbitantrioleat keine Veränderung des Freisetzungsverhaltens. Einen Trend zu höheren freigesetzten Mengen lassen dagegen Formulierungen mit den beiden anderen Emulgatoren erkennen. Phosphatidylcholin und Polyglyceryl-3 Methylglucose Distearat führen zu einer Erhöhung der freigesetzten Menge nach 16 h um das Zweieinhalbfache.

### **3.3.4 Zusammenfassung und Diskussion**

#### **3.3.4.1 Zusammenfassung**

Die Ergebnisse zeigen, dass die Freisetzung von Betulin vom verwendeten Öl, der verwendeten TE-Konzentration und der Anwesenheit von Wasser abhängen kann.

Formulierungen mit Paraffin zeigen eine konstante Freisetzungsrates über den Zeitraum von 16 h. Die Einarbeitung von Wasser und CO<sub>2</sub> ins Oleogel, also die Weiterentwicklung des Gels zu Emulsion und Schaum, zieht keine Änderung des Freisetzungsverhaltens nach sich.

Formulierungen mit Sonnenblumenöl weisen deutlich geringere Freisetzungsrates als paraffinhaltige Zubereitungen auf. Gemein ist ihnen dagegen die konstante Freisetzungsrates und das gleichbleibende Freisetzungsverhalten von Oleogelen, Emulsionen und Schäumen. Des Weiteren konnte die Charakterisierung weiterer Zubereitungen mit Sonnenblumenöl einen Einfluss der suspendierten TE Menge auf die Freisetzung zeigen. Je mehr TE in den Oleogelen enthalten ist, desto geringer ist die freigesetzte Menge. Zwei der vier eingesetzten Emulgatoren (Polyglyceryl-3 Methylglucose Distearat und Phosphatidylcholin) erhöhen die Freisetzungsrates von Betulin aus Schäumen gegenüber dem emulgatorfreien Schaum.

Oleogele mit MCT setzen im Zeitraum von 16 h die gleiche Menge Betulin frei wie paraffinhaltige Oleogele. Die Freisetzungskinetik ist in diesem Fall allerdings nicht linear. Die Einarbeitung von Wasser ins Oleogel, erhöht die Freisetzungsgeschwindigkeit deutlich. Dies gilt für alle wasserhaltigen Zubereitungen ebenso, wie für die wasserfreie, gesättigte Lösung von TE in MCT. Eine Verbesserung der Benetzung des Filters durch Tenside kann die Freisetzung aus MCT-Oleogelen deutlich steigern.

### 3.3.4.2 Diskussion

Freisetzungsuntersuchungen dienen dazu, pharmazeutische Unterschiede in den Formulierungen aufzuzeigen und eine geeignete Auswahl an Formulierungen für Permeationsuntersuchungen zu treffen.

Für die vorgestellten Zubereitungen ist ausgehend von der Literatur eine Freisetzung nach Higuchi (Higuchi, 1961) zu erwarten. Dies bedeutet eine lineare Abhängigkeit der Freisetzung von der Wurzel der Zeit in der Annahme, dass das Gel über die Versuchsdauer hinweg an gelöstem Wirkstoff verarmt und die Freisetzungsrates daher mit fortschreitender Zeit abnimmt. Betrachtet man jedoch die Ergebnisse aus 3.3.1 bis 3.3.3 zeigt sich für Zubereitungen mit Paraffin und Sonnenblumenöl eine lineare Abhängigkeit von der Zeit. Einzig die Oleogele mit MCT zeigen einen nichtlinearen Verlauf der Freisetzung. Die Auftragung der Werte gegen die Wurzel der Zeit, wie in Abbildung 3-28 dargestellt, zeigt für die Oleogele mit Sonnenblumenöl und Paraffin ebenfalls einen annähernd linearen Verlauf. Dagegen ist auch durch Auftragung der freigesetzten Menge pro Fläche gegen die Wurzel der Zeit keine Linearisierung der Daten für das MCT-Oleogel möglich.

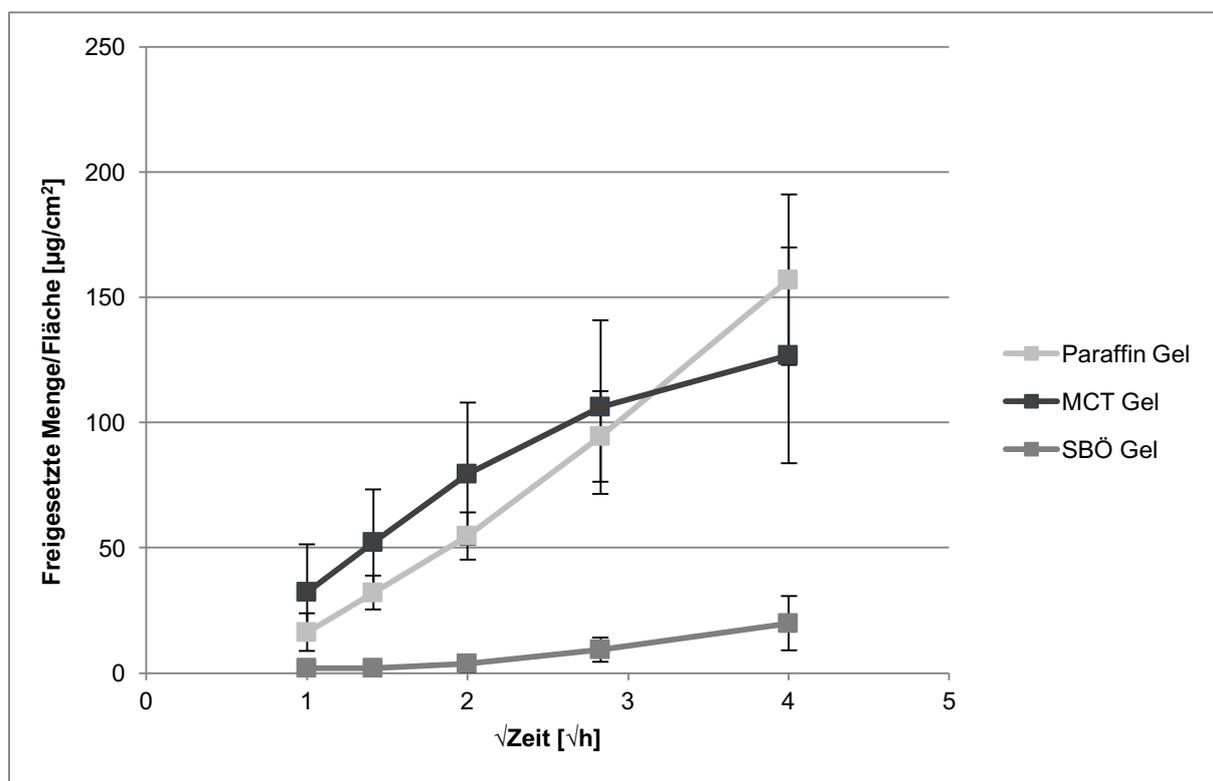


Abbildung 3-28: Auftragung nach Higuchi: Freisetzung aus unterschiedlichen 10%igen Oleogelen; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung

Um zu untersuchen, ob die gelöste Menge das Freisetzungsverhalten der Oleogele tatsächlich beeinflusst, wird in der folgenden Tabelle 3-3 die Sättigungslöslichkeit ins Verhältnis zu freigesetzter Menge gesetzt.

**Tabelle 3-3: Sättigungslöslichkeiten von Betulin (Steinbrenner, 2011, Steinbrenner, 2013, Steinbrenner et al., 2016)**

Art des Öles	Sättigungs- löslichkeit [ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ]	In Oleogel gelöste Menge Betulin [ $\mu\text{g}$ ]	Freigesetzte Menge Betulin in Akzeptormedium [ $\mu\text{g}$ ]	Anteil an freigesetzten Betulin aus Öl
MCT	5147,92	4914,85	253,58	5,2 %
Sonnenblumenöl	2836,00	2803,20	39,66	1,4 %
Paraffin	189,56	201,52	314,06	155,8 %

Die Tabelle zeigt, dass aus dem Paraffinoleogel mehr Betulin freigesetzt wird, als in gelöster Form vorhanden ist. Es löst sich also im Verlauf des Versuchs ständig Betulin nach. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist allerdings die Freisetzung und nicht das Nachlösen des Betulins oder die Diffusion, was an der unveränderten Freisetzungsgeschwindigkeit über den beobachteten Zeitraum zu erkennen ist.

Dagegen wird sowohl bei Sonnenblumenöl- als auch bei MCT-Oleogelen nur ein geringer Teil des bereits gelösten TE freigesetzt. Daraus lässt sich folgendes Verhalten für die beiden Gele ableiten: Aus Sonnenblumenöleogelen wird zwar deutlich weniger Betulin freigesetzt als aus MCT-Oleogelen, doch ist in beiden Fällen bereits ausreichend Betulin im jeweiligen Öl gelöst, dass davon ausgegangen werden kann, dass der Nachlösegeschwindigkeit des Betulins keine Bedeutung zukommt. Ein weiterer Unterschied der beiden Oleogele ist die Diffusion des Betulins zur Kontaktfläche mit dem Akzeptormedium. Im Falle des Sonnenblumenöls ist die Diffusion ungehindert und das Freisetzungsverhalten linear. In MCT-Oleogelen läuft die Diffusion durch die hohen Wechselwirkungen im Gel verlangsamt ab. Verarmt das Gel an der Kontaktfläche an Betulin, verringert sich durch die verlangsamte Diffusion auch die Freisetzungsgeschwindigkeit. Dies geschieht jedoch nicht in einem Ausmaß, das mit der Theorie nach Higuchi übereinstimmt, so dass andere Einflussfaktoren auf die Freisetzungsgeschwindigkeit an dieser Stelle nicht ausgeschlossen werden können.

Einfluss auf die Diffusionsrate eines Arzneistoffes kann neben der Makroviskosität auch die Mikroviskosität einer Zubereitung haben (Alvarez-Lorenzo et al., 1999). Der Vergleich von Makroviskositäten zum einen und Mikroviskositäten zum anderen beruht auf den folgenden Beobachtungen wässriger, halbfester Zubereitungen: Die Diffusionsrate von Arzneistoffen durch halbfeste Systeme wird von Polymeren durch die Veränderung des freien Volumens oder die Vergrößerung der Viskosität des Dispersionsmittels beeinflusst (Kumar et al., 1995, Suh et al., 1996). Diese Systeme zeigen oft einen umgekehrten Zusammenhang zwischen Gelstärke und Diffusionsrate (Nelson et al., 1987, Shah et al., 1987), daher wird die Makroviskosität oft zur Erklärung herangezogen. Auf der anderen Seite weisen weitere Studien (de Smidt et al., 1991, Suh et al., 1996) darauf hin, dass sich die Diffusionsrate von Arzneistoffen in anderen Systemen über einen weiten Polymerkonzentrationsbereich nicht ändert. In diesen Fällen ist die Diffusion verstärkt vom Dispersionsmittel abhängig. Um eine Aussage zu den Freisetzungverhalten treffen zu können, müssen demnach sowohl Makro- als auch Mikroviskosität herangezogen werden.

Ein Zusammenhang der Freisetzung mit den bereits beschriebenen Makroviskositäten lässt sich nicht herstellen (Tabelle 3-4). Die Oleogele mit der niedrigsten und der höchsten Viskosität setzten in 16 h die gleiche Menge an Betulin frei. Während das Oleogel mit einer Viskosität zwischen den beiden, also Sonnenblumenöl, eine deutlich niedrigere Freisetzungsrate aufzeigt.

**Tabelle 3-4: Vergleich der Viskosität (n = 3) und Diffusionsstrecke (n = 24) für Oleogele aus der Freisetzung; Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung**

Oleogel	Viskosität [Pas]	Diffusionsstrecke [cm]
Sonnenblumenöl 4 %TE	0,12 $\pm$ 0,008	0,54 $\pm$ 0,359
Sonnenblumenöl 10 % TE	0,41 $\pm$ 0,028	0,60 $\pm$ 0,360
Paraffin 10 % TE	0,12 $\pm$ 0,025	0,94 $\pm$ 0,450
MCT 10 % TE	0,48 $\pm$ 0,026	1,63 $\pm$ 0,472

Tabelle 3-4 zeigt die den Oleogelen zugehörigen Mikroviskositäten. Mikroviskositäten beschreiben die Viskosität innerhalb einer Zubereitung. In diesem Fall die Viskosität, die der Diffusion von Wirkstoffmolekülen entgegensteht. In diesem Versuch wurde die Diffusion von Farbstoffmolekülen innerhalb der Gele untersucht. Je größer die gemessene Diffusionsstrecke ist, desto geringer ist die Mikroviskosität. Auch die Mikroviskositäten, die als Diffusionsstrecke eingetragen sind, lassen keinen klaren Schluss über das Freisetzungverhalten zu. Es zeigt sich lediglich, dass Mikroviskositäten von Paraffin- und

MCT-Oleogelen sich näher liegen als beide SBÖ-Oleogele. Ist die Diffusionsgeschwindigkeit höher, wirkt dies dem Verarmen der Zubereitung von gelösten Betulin am Filter entgegen und sollte somit eine höhere Freisetzungsrates über einen längeren Zeitraum ermöglichen.

Es lässt sich in Tabelle 3-4 eine Diskrepanz zwischen Makroviskosität und Mikroviskosität erkennen. Diese ist auf die innere Struktur der Gele zurückzuführen. Die TE-Partikel führen bei gleichen Konzentrationen in den Gelen zu anderen Strukturen und damit verbundenen Mikroviskositäten, als die Makroviskositäten nach außen zeigen. Innerhalb der gleichen Ölgrundlage lässt sich dagegen der folgende Trend für die Makroviskositäten deutlich erkennen: Über die geringer werdende Viskosität lässt sich die zunehmende Freisetzungsgeschwindigkeit bei Sonnenblumenölzubereitungen mit niedrigerem TE-Anteil erklären. Daher ist die Reihenfolgen der Freisetzungsgeschwindigkeit für Schäume aus Sonnenblumenöl: 4 % TE > 7 % TE > 10 % TE.

Während die Absolutwerte der Oleogele in Bezug auf die unterschiedlichen Öle schwer einzuordnen sind, lässt sich das gleichbleibende Freisetzungsverhalten für Oleogel, Emulsion und Schaum durch die gleichbleibende Außenphase aller Zubereitungen erklären. Die äußere Phase, das Oleogel, steht in allen drei Formulierungen mit dem Akzeptormedium in Kontakt. Das Freisetzungsverhalten ändert sich durch die Einarbeitung von Wasser und CO<sub>2</sub> nicht.

Bereits angesprochen wurde die Tatsache, dass ein weiterer bislang unbekannter Faktor Einfluss auf die Freisetzung haben muss. Bei der Analyse der MCT-Zubereitungen und der emulgatorhaltigen SBÖ-Schäume wird deutlich, dass der Filter zumindest teilweise Einfluss auf die Freisetzung nimmt. Der Versuchsaufbau mit der Diffusionszelle nach Franz sowie die Auswertung gehen von der Annahme aus, dass sowohl die Zubereitung von oben als auch das Akzeptormedium von unten den Filter vollständig benetzen und dessen Poren ohne Lufteinschlüsse vollständig gefüllt sind. Die Vorbehandlung der Filter mit MCT ermöglicht ein Eindringen des Öls in die Poren innerhalb der Wartezeit bis zum Versuchsstart. Ein Lufteinschluss innerhalb des Filters durch das hochviskose MCT-Oleogel auf der einen und Wasser auf der anderen Seite, kann durch diese Vorbehandlung verhindert werden. Es zeigt sich in diesem Versuch ein Trend zur Verbesserung der Freisetzung aus dem Oleogel. Die Benetzung des Filters mit Wasser ist aufgrund der Hydrophobizität des Filters noch kritischer als die Benetzung durch das Gel. Entsprechend verbessert sich die Freisetzung durch den Zusatz von Polysorbat zum Akzeptormedium, obwohl mit  $\beta$ -Hydroxypropylcyclodextrin bereits ein grenzflächenaktiver Bestandteil (Yoshida et al., 1988, Ishiguro et al., 2011) im Akzeptormedium enthalten ist. Auch das Freisetzungsverhalten der emulgatorhaltigen Schäume lässt sich durch die Senkung der Grenzflächenspannung und damit die bessere

Benetzung des Filters erklären. Emulgatoren, die die Grenzflächenspannung stärker senken, sind diejenigen, die eine höhere freigesetzte Menge an Betulin aufweisen.

Der Einfluss des Filters auf das Freisetzungsverhalten ist nicht erwünscht. Der Filter sollte in diesem Versuchsaufbau nur als Trennmedium mit konstanter Freisetzungsfläche zwischen den beiden Kompartimenten dienen. Grund dafür, dass diese Filter dennoch für die Versuche eingesetzt werden, ist die Inkompatibilität hydrophilerer Filter (Polyester, Polycarbonat, Celluloseacetat) mit dem Akzeptormedium, die ein Durchdringen des Filters mit Akzeptormedium zur Folge haben.

### 3.4 Ex-vivo Permeationsuntersuchungen

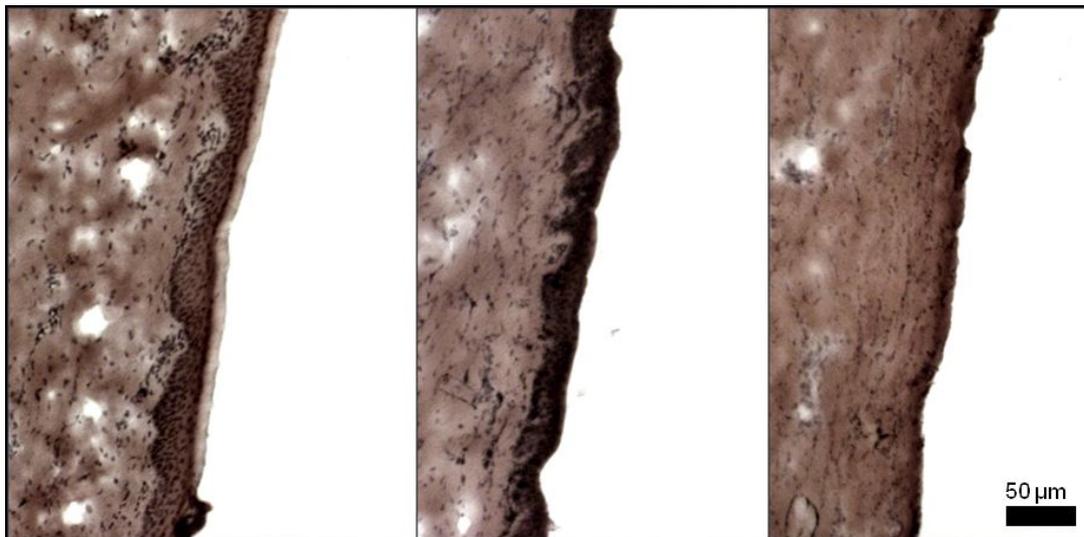
Ex-vivo Permeationsuntersuchungen werden durchgeführt, um das Verhalten von Wirkstoffen bei Anwendung auf der Haut zu bestimmen. In der vorliegenden Arbeit ist insbesondere die Anwendung auf verletzter Haut von Interesse, da der Triterpenextrakt wundheilungsfördernde Eigenschaften aufweist und der Schaum einer späteren Anwendung auf Wunden dienen soll.

#### 3.4.1 Mikroskopische Untersuchung der verletzten Haut

Um verletzte Haut zu simulieren, wird die für die Durchführung der Versuche verwendete Schweinehaut auf zwei unterschiedliche Arten künstlich verletzt:

1. Entfernung des Stratum corneum durch Tape Stripping;
2. Entfernung von 0,2 mm der Haut durch ein Dermatome.

Im Folgenden sind die mikroskopischen Aufnahmen der unbehandelten Haut, der gestrippten Haut und der Haut nach dem Dermatomisieren dargestellt:

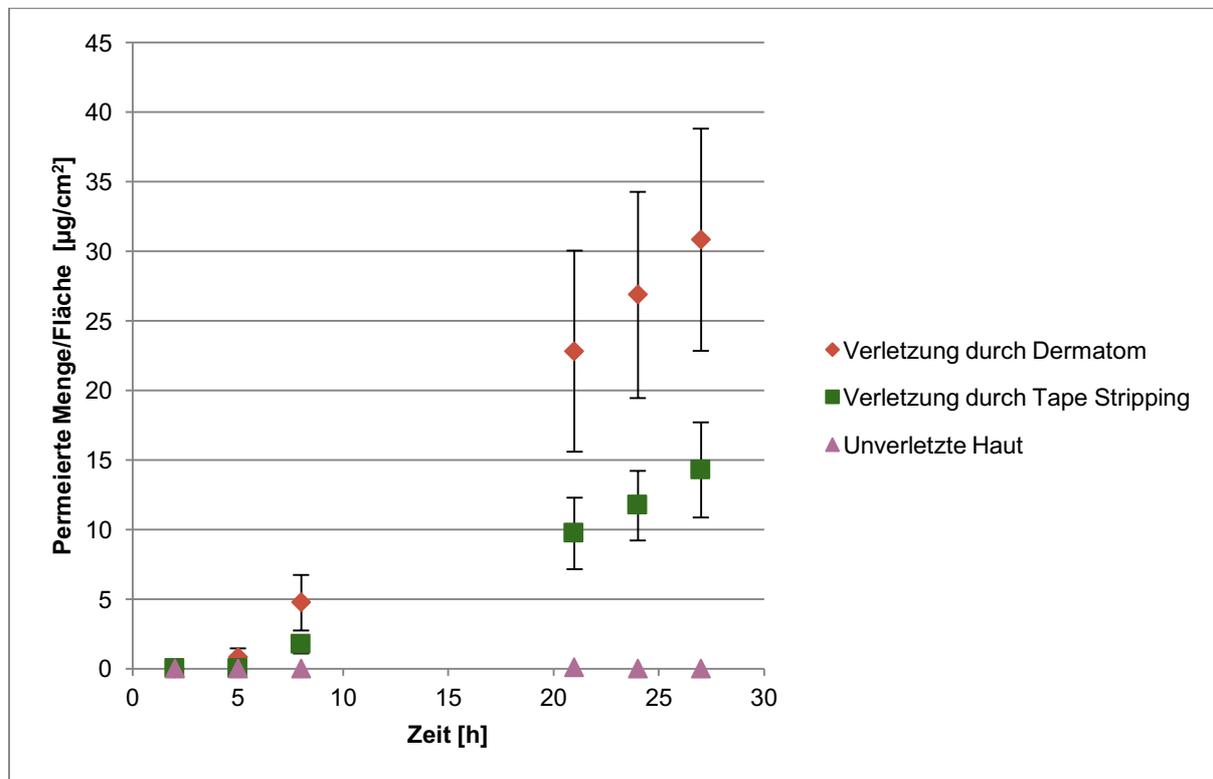


**Abbildung 3-29: Nach HE-Färbung: Schweinehaut unverletzte (links), nach Tape Stripping (Mitte), nach Dermatomisieren (rechts)**

In Abbildung 3-29 ist zu erkennen, dass die verschiedenen Hauttypen deutliche morphologische Unterschiede aufweisen. Die unverletzte Haut zeigt den klassischen Aufbau von außen nach innen (in der Abbildung von rechts nach links) mit Stratum corneum, Epidermis und Dermis. Die Tape Stripping Methode löst das Stratum corneum von der Haut, während die Verletzung mit dem Dermatome bis weit in die lebende Dermis fortschreitet. Die Verletzung mit dem Dermatome ist damit die schwerwiegendere Verletzung der beiden.

### 3.4.2 Permeation durch unterschiedliche Hautarten

Zuerst wird die Permeation durch die unterschiedlich verletzte oder nicht verletzte Haut im Vergleich untersucht (Abbildung 3-30). Als Zubereitung für diesen Vergleich wird 10%iges Sonnenblumenöleogel verwendet.



**Abbildung 3-30: Permeation aus SBÖ-Oleogelen durch unterschiedlich verletzte Haut; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung**

Die Abbildung 3-30 zeigt, dass die Permeabilität von unverletzter Haut, über Haut nach Tape Stripping bis hin zu Haut nach Dermatomisieren zunimmt. Weiter veranschaulicht wird dieses Ergebnis in Tabelle 3-5. Hier sind die zugehörigen Werte der Permeationsraten und Verzögerungszeiten dargestellt. Die Permeationsrate wurde aus den Daten im Zeitraum einer linear verlaufenden Permeation zwischen 8 h und 32 h errechnet, die Verzögerungszeit aus der Interpolation dieser Gerade auf die x-Achse.

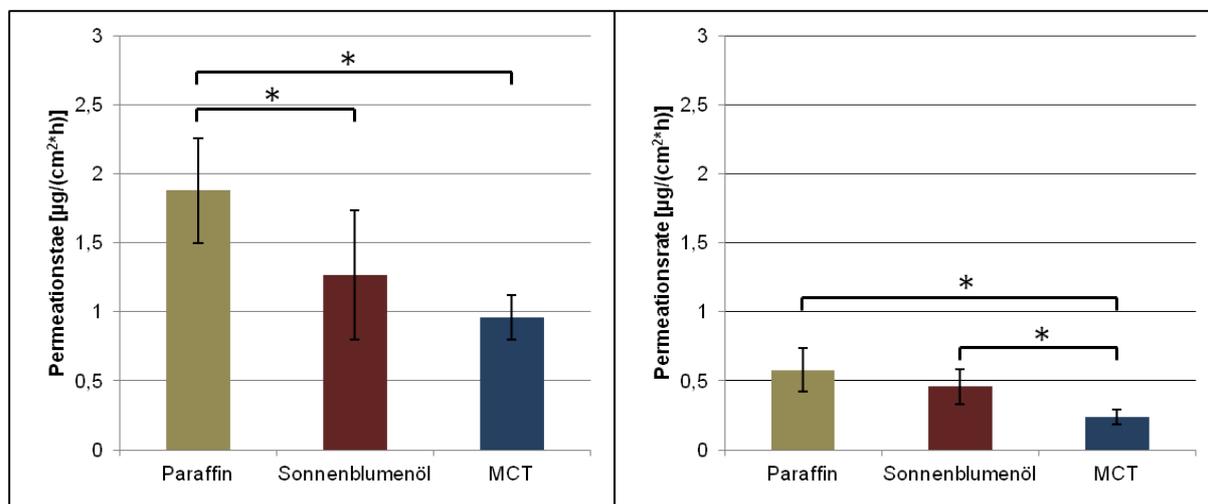
**Tabelle 3-5: Permeationsrate und Verzögerungszeit unterschiedlich verletzter Haut im Vergleich, n = 5, Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung**

Art der Hautverletzung	Permeationsrate [ $\mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$ ]	Verzögerungszeit [h]
Unverletzte Haut	< LOQ	< LOQ
Verletzung durch Tape Stripping	0,44 $\pm$ 0,11	6,51 $\pm$ 1,48
Verletzung durch Dermatom	1,13 $\pm$ 0,15	4,02 $\pm$ 1,02

Die permeierte Menge von Betulin durch unverletzte Haut liegt unterhalb der Bestimmungsgrenze (LOQ) von 0,15  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Daher können für diesen Versuchsteil keine Permeationsrate und keine Verzögerungszeit bestimmt werden. Die Werte der Permeationsrate für Betulin durch Haut nach Verletzung durch ein Dermatom sind im Vergleich zur Haut nach Tape Stripping etwa doppelt so hoch. Die Verzögerungszeit durch Haut nach Tape Stripping ist um 2,5 h länger. Betulin permeiert also durch die stärker verletzte Haut schneller und stärker, als durch die Haut nach Tape Stripping.

### 3.4.3 Vergleich der unterschiedlichen Lipidphasen

Die folgende Abbildung 3-31 dient dem Vergleich der Betulinpermeationen aus Oleogelen unterschiedlicher Lipidbasis:

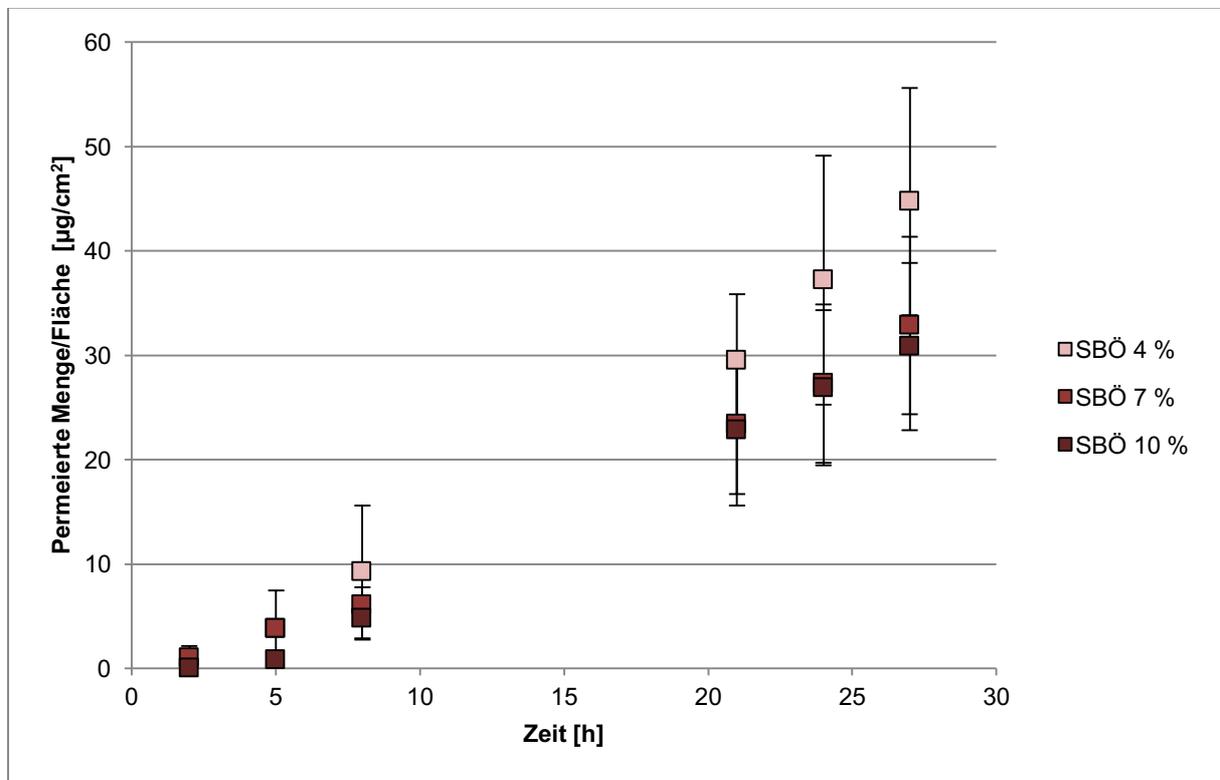


**Abbildung 3-31: Permeationrate dreier unterschiedlicher Oleogele durch dermatomisierte Haut (links) und Haut nach Tape Stripping (rechts); n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung; \* p < 0.05**

Die Graphen zeigen Unterschiede für die Permeationsraten von Betulin aus den einzelnen Oleogelen. Da die Oleogele alle die gleiche TE-Konzentration von 10 % aufweisen, bedeutet dies, dass die Permeation vom jeweils verwendeten Öl abhängig ist. Die Permeationsraten von Betulin aus Oleogelen, die unterschiedliche Öle beinhalten, zeigen den folgenden Trend: Paraffin > Sonnenblumenöl > MCT. Diese Reihenfolge lässt sich bei Permeationsraten sowohl durch dermatomisierte Haut als auch durch Haut nach Tape Stripping beobachten.

### 3.4.4 Vergleich unterschiedlicher TE-Konzentrationen

In der folgenden Abbildung 3-32 werden nun Oleogele aus Sonnenblumenöl mit unterschiedlichen TE-Konzentrationen miteinander verglichen.



**Abbildung 3-32: Vergleich der Permeation von Sonnenblumenöleogelen mit 4 %, 7 % und 10 % TE durch dermatomisierte Haut; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung**

Bei diesen Oleogelen handelt es sich um Gele der gleichen Ölbasis mit 4 %, 7 % und 10 % TE. Der Vergleich der unterschiedlichen TE-Konzentrationen zeigt keinen statistisch signifikanten Unterschied im Permeationsverhalten der drei Gele. Die Permeationsraten aus 4%igen Gelen tendieren jedoch, wie in der Abbildung zu sehen ist, zu höheren Werten.

### 3.4.5 Vergleich der unterschiedlichen Formulierungen bei gleichbleibendem Oleogel

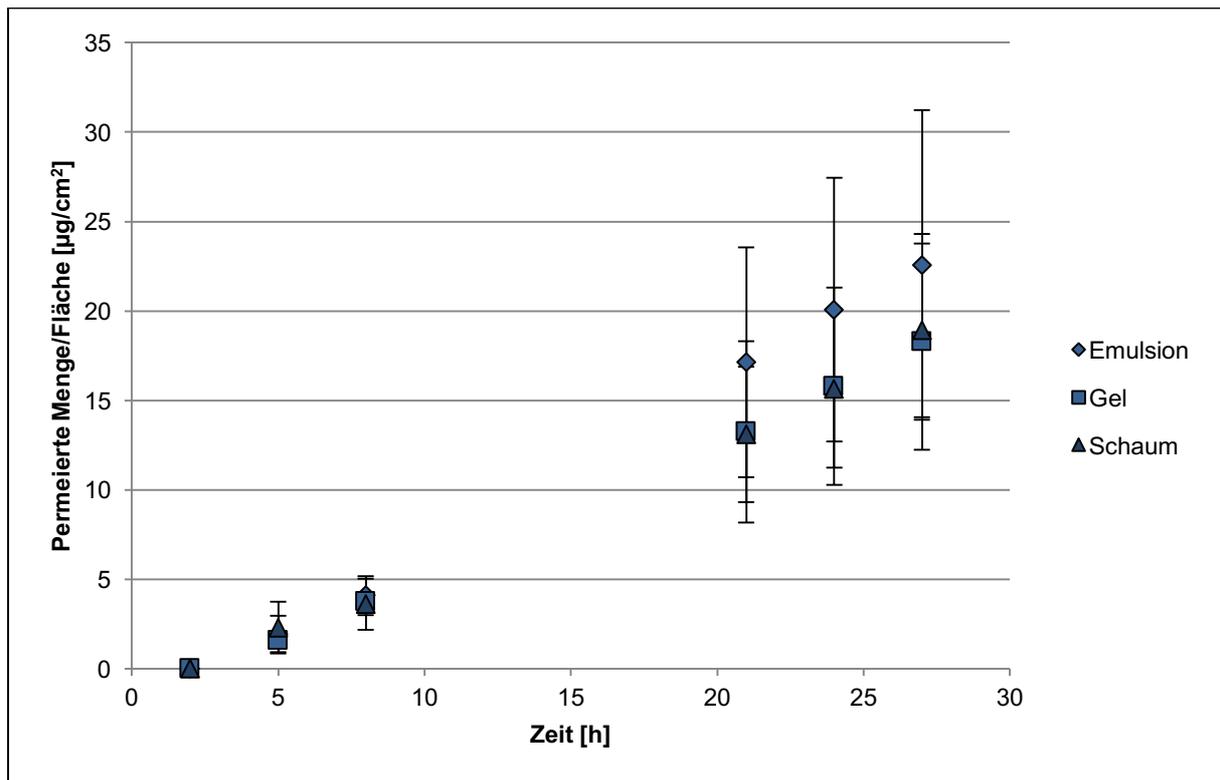
In diesem Abschnitt werden die unterschiedlichen Formulierungsarten (Oleogel, Emulsion mit 50 % Wasser, Schaum mit 50 % Wasser) basierend auf dem gleichen Öl und aufgetragen auf die gleiche Hautart miteinander verglichen. In Tabelle 3-6 sind die Permeationsraten und Verzögerungszeiten für alle Formulierungen sowohl nach Auftragen auf dermatomisierte Haut als auch auf Haut nach Tape Stripping dargestellt.

**Tabelle 3-6: Zusammenfassung der Permeationsrate von Betulin und Verzögerungszeit aus unterschiedlichen Formulierungen; n = 4-5; Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung**

Ölphase	Art der Verletzung	Formulierung	Permeationsrate [ $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ ]	Verzögerungszeit [h]
Sonnenblumenöl	Tape Stripping	Gel	0,44 $\pm$ 0,11	6,51 $\pm$ 1,48
		Emulsion	0,36 $\pm$ 0,11	5,70 $\pm$ 2,18
		Schaum	0,43 $\pm$ 0,14	4,34 $\pm$ 2,24
Sonnenblumenöl	Dermatom	Gel	1,13 $\pm$ 0,15	4,02 $\pm$ 1,02
		Emulsion	1,15 $\pm$ 0,13	3,37 $\pm$ 0,64
		Schaum	1,29 $\pm$ 0,25	3,32 $\pm$ 1,15
Paraffin	Tape Stripping	Gel	1,02 $\pm$ 0,17	4,01 $\pm$ 2,07
		Emulsion	0,87 $\pm$ 0,42	3,21 $\pm$ 3,11
		Schaum	0,98 $\pm$ 0,31	2,46 $\pm$ 2,29
Paraffin	Dermatom	Gel	1,95 $\pm$ 0,39	4,06 $\pm$ 1,29
		Emulsion	1,67 $\pm$ 0,45	4,82 $\pm$ 1,28
		Schaum	1,45 $\pm$ 0,50	5,02 $\pm$ 1,88
MCT	Tape Stripping	Gel	0,58 $\pm$ 0,17	7,47 $\pm$ 0,79
		Emulsion	0,76 $\pm$ 0,22	6,38 $\pm$ 1,97
		Schaum	0,65 $\pm$ 0,22	6,49 $\pm$ 1,07
MCT	Dermatom	Gel	0,76 $\pm$ 0,34	2,72 $\pm$ 2,03
		Emulsion	0,98 $\pm$ 0,47	3,51 $\pm$ 2,05
		Schaum	0,78 $\pm$ 0,20	3,69 $\pm$ 1,72

*Anmerkung: Die Werte der Permeationsraten und der Verzögerungszeiten der Oleogele, Emulsionen und Schäume können nur für das jeweils gleiche Öl und die gleiche Verletzungsart verglichen werden (vgl. 3.4.7.2.1).*

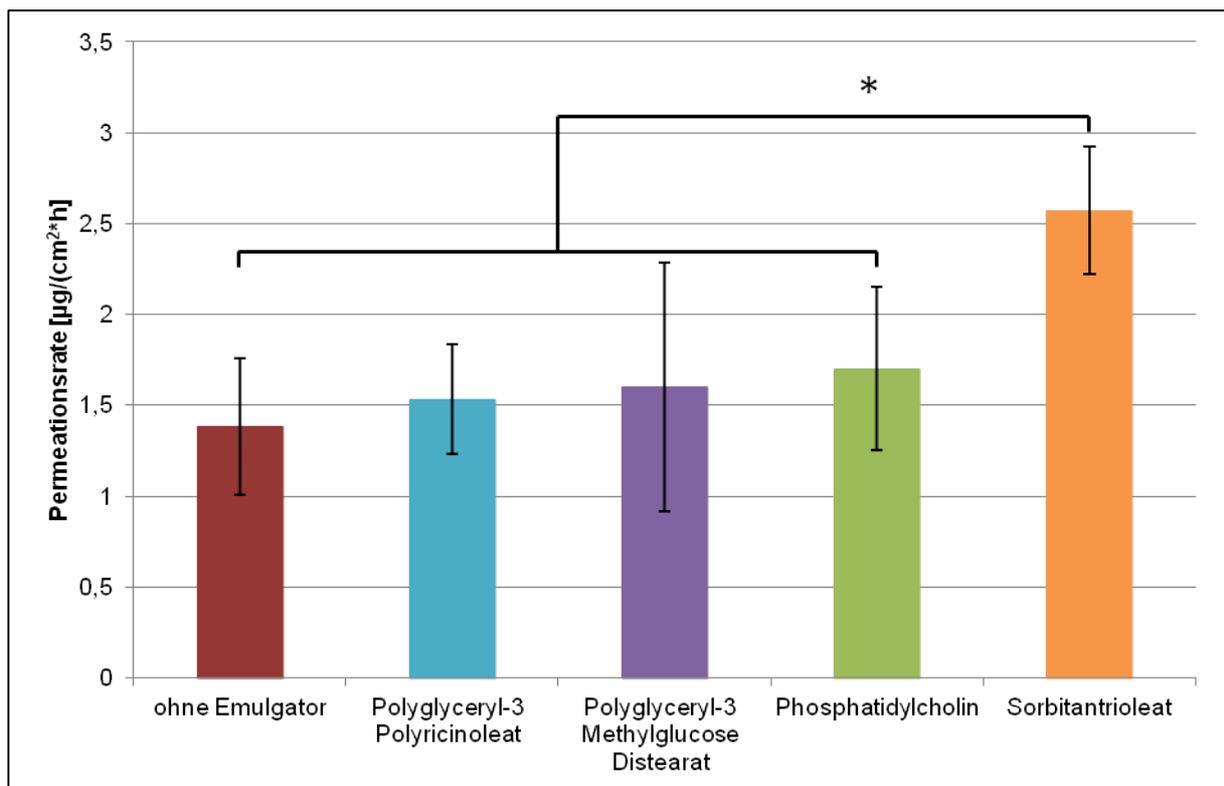
Für alle Formulierungen und alle Verletzungsarten zeigt sich in der vorausgegangenen Tabelle dasselbe Bild. Die Permeationsraten und die Verzögerungszeiten von Betulin aus Oleogel, Emulsion und Schaum unterscheiden sich nicht statistisch signifikant. Aus den Werten geht hervor, dass sich die Formulierungen auf Basis desselben Öls appliziert auf den gleichen Hauttyp in ihrer Permeationskinetik formulierungsunabhängig zu den gleichen Ergebnissen führen. Beispielhaft ist dies auch in Abbildung 3-33 verdeutlicht.



**Abbildung 3-33: Vergleich der Betulinpermeation aus MCT-haltigen Schaum, Emulsion und Oleogel durch dermatomisierte Haut; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung**

### 3.4.6 Emulgatorhaltige Zubereitungen

In diesem letzten Abschnitt werden die Permeabilitätsraten der emulgatorhaltigen Schäume mit Sonnenblumenöl mit einem Schaum ohne Emulgator verglichen. Alle verwendeten Schäume basieren auf einem Oleogel mit 8 % TE und beinhalten 50 % Wasser. Abbildung 3-34 zeigt eine Tendenz zu höheren Permeationsraten für alle emulgatorhaltigen Schäume. Jedoch ist die Erhöhung der Permeationsrate nur in einem Fall, bei Verwendung von Sorbitantrioleat, statistisch signifikant.



**Abbildung 3-34: Permeationsrate aus emulgatorhaltigen Sonnenblumenölschäumen durch dermatomisierte Haut; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung; \* p < 0.05**

### **3.4.7 Zusammenfassung und Diskussion**

#### **3.4.7.1 Zusammenfassung**

Es lassen sich folgende Ergebnisse zusammenfassen:

Die permeierte Menge pro Zeit ist durch dermatomisierte Haut größer als durch Haut nach Tape Stripping. Für unverletzte Haut liegt die permeierte Menge unterhalb der Bestimmungsgrenze.

Es lässt sich ferner zeigen, dass die permeierte Menge sich abhängig vom verwendeten Öl unterscheidet. Es ist folgender Trend der Permeationsraten der Oleogele zu erkennen: MCT < Sonnenblumenöl < Paraffin.

Die Permeation von Betulin aus 4%igen, 7%igen und 10%igen Sonnenblumenöloleogelen unterscheidet sich nicht statistisch signifikant.

Vergleicht man zudem unterschiedliche Formulierungen, die auf dem gleichen Oleogel basieren, so zeigen Oleogel, Emulsion und Schaum die gleiche Permeationsrate.

Schließlich führt der Zusatz von Emulgatoren nur im Falle von Sorbitantrioleat zu einer signifikanten Verbesserung der Permeationsrate.

#### **3.4.7.2 Diskussion**

##### **3.4.7.2.1 Einfluss der Haut**

Die Haut dient dem Körper nach außen zum Schutz vor Fremdstoffen. Ist sie intakt, ist es für Arzneistoffe schwer, diese Barriere zu überwinden. Dies gilt auch in den hier gezeigten Versuchen. Unverletzte Haut verfügt über ein intaktes Stratum corneum, das der Betulinpermeation durch die Haut entgegensteht. Folglich ist die permeierte Menge an Betulin so gering, dass sie unterhalb der Bestimmungsgrenze liegt. Verändert sich die Barriere der Haut jedoch durch eine Verletzung nimmt die Permeabilität der Haut zu. Da die Permeationsrate umgekehrt proportional zur Dicke der Haut ist, wurde diese Variable für alle Experimente konstant bei 0,8 mm gehalten. Daher wird die Permeationsrate nur vom Diffusionskoeffizienten abhängig, der wiederum von der Art des zu permeierenden Gewebes beeinflusst wird. Obwohl durch Tape Stripping als auch durch das Dermatomisieren das Stratum corneum, also die Barriere gegen die Permeation, entfernt wird unterscheiden sich die Permeationsergebnisse der unterschiedlichen Verletzungsarten. Eine mögliche Erklärung liegt darin, dass Tape Stripping der Haut nur das Stratum corneum entfernt. Die Verletzung der Haut durch ein Dermatom verursacht dagegen eine tiefere Wunde bis in die lebenden

Teile der Epidermis. Dies öffnet zusätzliche Permeationswege für Triterpene durch die Haut. Die dermatomisierte Haut hat somit eine geringere Barriere. Daher ist im Vergleich zur Haut nach Tape Stripping, unabhängig von der Art der Zubereitung und Art der lipophilen Grundlage, die permeierende Menge pro Zeit stets größer und die Verzögerungszeit stets kürzer. Im Kontext der Wundheilung bedeutet dies, dass in tiefere Wunden mehr Betulin pro Zeiteinheit penetriert und eine stärkere Wundheilungsförderung in mit zunehmender Wundtiefe erwartet werden kann.

Aus methodischer Sicht ist zu berücksichtigen, dass es möglich ist, unterschiedliche Zubereitungen an der Haut des gleichen Schweins zu untersuchen. Ein Vergleich über die Haut unterschiedlicher Schweine hinweg ist jedoch schwierig. Die Haut verschiedener Schweine zeigt - wie zu erwarten - individuelle Schwankungen, die einen Vergleich der Absolutwerte erschweren. So zeigen beispielsweise die Vergleiche der Oleogele vom gleichen Schwein aus 3.4.3. einen statistisch signifikanten Unterschied und eine höhere Permeationsrate für Sonnenblumenöleogele im Vergleich zu MCT-Oleogelen. Tabelle 3-6 zeigt hingegen für die Permeationsrate der beiden Oleogele auf Haut nach Tape Stripping die folgende Werte: SBÖ  $0,44 \pm 0,11 \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$  und MCT  $0,58 \pm 0,17 \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ . Diese Werte können allerdings nicht miteinander verglichen werden, da sie an der Haut unterschiedlicher Schweine durchgeführt wurden. Da der Fokus der Arbeit auf dem Vergleich der schon bekannten Oleogele mit den neu entwickelten Schäumen lag, wurde auf überlappende Versuche und weitere Vergleiche verzichtet.

#### **3.4.7.2.2 Einfluss der Öle**

Ausgehend von den Oleogelen auf Basis unterschiedlicher Öle wäre für die Betulinpermeation das Folgende zu erwarten: Bei allen verwendeten Oleogelen liegt TE im Überschuss vor, daher handelt es sich bei den Ölen um gesättigte TE-Lösungen, deren Aktivitätskoeffizient somit 1 ist. In diesem Falle sollte sich an der Kontaktfläche innerhalb der Haut nach Einstellung eines Gleichgewichtes ebenfalls eine gesättigte TE-Lösung in der Haut ergeben. Innerhalb der Haut ist die Betulinpermeation wiederum allein vom Konzentrationsgradienten innerhalb der Haut abhängig. Nach dieser Hypothese sollten sich die Permeationsraten der unterschiedlichen Oleogele, bezogen auf den selben Hauttypen, nicht unterscheiden.

Jedoch ist die Permeation ein dynamischer Prozess, der nicht nur von TE, sondern auch vom Dispersionsmedium abhängig ist. So zeigen die Ergebnisse aus 3.4.3 statistisch signifikante Unterschiede zwischen der Oleogelen. Dabei zeigt sich, dass für Haut nach

Tape Stripping als auch für dermatomisierte Haut die gleiche Reihenfolge für eine zunehmende Permeationsrate gilt: MCT < Sonnenblumenöl < Paraffin.

Es kann ein Zusammenhang zwischen der Polarität der Öle und den Permeationsraten hergestellt werden. Betulin permeiert aus der Zubereitung auf Grundlage von Paraffin am schnellsten. Paraffin ist das Öl der niedrigsten Polarität, in welchem Betulin die schlechteste Löslichkeit aufweist. Die Löslichkeit und Affinität von Betulin zu MCT ist dagegen deutlich höher, das Bestreben die Zubereitung zu verlassen und in die Haut zu permeieren daher deutlich geringer. Des Weiteren lässt sich das beobachtete Verhalten auch über die Makroviskositäten erklären: Je größer die Viskosität ist umso geringer ist die permeierende Menge. Dass hierbei kein linearer Zusammenhang besteht, lässt sich wiederum über die Mikroviskosität begründen, die die Freisetzung beeinflusst. Dass unterschiedliche Gelbildnerkonzentrationen (Attia et al., 2004) sowie die Grundlage die Permeation von Wirkstoffen beeinflussen können, ist auch für andere dermale Zubereitungen bereits bekannt.

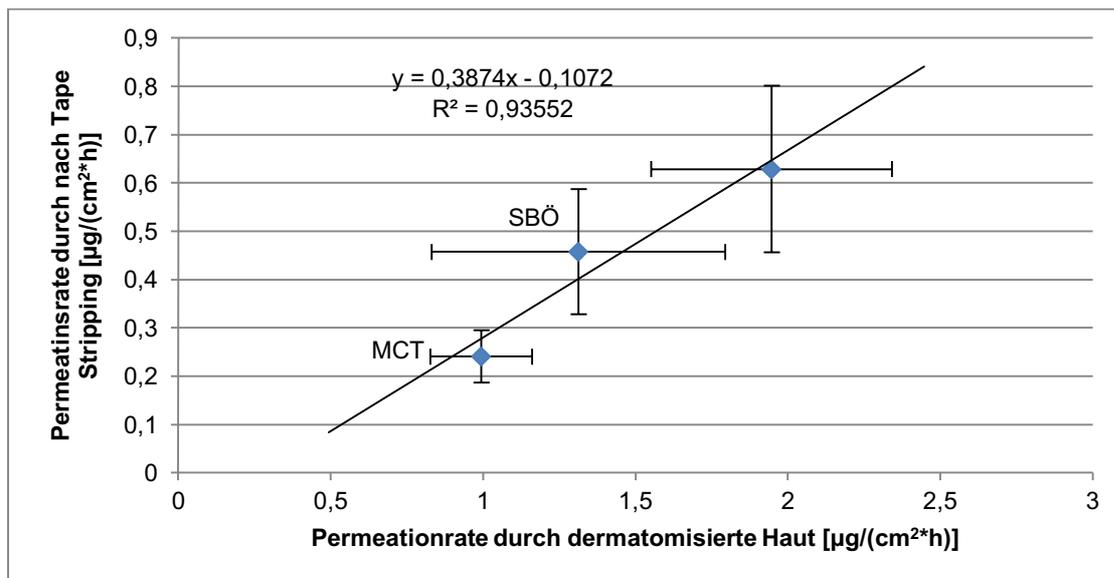


Abbildung 3-35: Verhältnis der Permeationsraten

Abbildung 3-35 zeigt, dass zwischen den Permeationsraten ein linearer Zusammenhang besteht. Das bedeutet, dass die Faktoren, um die sich die Raten zwischen den einzelnen Oleogelen ändern, für beide Hautarten ähnlich sind.

### 3.4.7.2.3 Einfluss der Formulierung

Wie bereits in den Ergebnissen der Freisetzungsuntersuchungen kann das Ergebnis der gleichbleibenden Permeationsrate zwischen Oleogel, dessen korrespondierender Emulsion

sowie Schaum durch die gleichbleibende, mit der Haut in Kontakt stehende Außenphase, erklärt werden. Die Außenphase, das Oleogel, steht in allen drei Formulierungen (Oleogel, Emulsion und Schaum) mit der Haut in Kontakt. Das Permeationsverhalten ändert sich durch die Einarbeitung von Wasser und CO<sub>2</sub> nicht.

#### **3.4.7.2.4 Einfluss der Emulgatoren**

Der Trend zu erhöhten Werten mit Emulgatoren erklärt sich durch die bessere Benetzung der Haut. Die Aufnahme des Wirkstoffes in die Haut wird so erleichtert. Indem sich die Wechselwirkung der TE-Partikel im Gel durch den Einsatz von Emulgatoren verringert, wird die Diffusion des Betulin an und in die Haut erleichtert. Die Verbesserung der Hautpermeation durch Emulgatoren ist auch aus anderen Studien bekannt (Aungst et al., 1986, Shin et al., 2001, Sarpotdar et al., 1986, Park et al., 2000). So zeigte beispielsweise Park (2000), dass Ibuprofen aus wässrigen Lösungen in vitro einen stark variierenden transdermalen Flux durch Haut von Ratten zeigte. Dieser war vom jeweils zugegebenen Polyoxyethylenalkylether abhängig.

## 4 Zusammenfassung der Dissertation

Ziel der Arbeit war die Entwicklung und Charakterisierung von triterpenhaltigen W/O-Schäumen zur Anwendung in der Wundheilung.

Für die Entwicklung der Schäume werden Paraffin, Sonnenblumenöl und mittelkettige Triglyceride als Grundlage der Oleogele verwendet. Die Auswahl dieser Öle begründet sich für Sonnenblumenöl und MCT in ihrem positiven Einfluss auf die Wundheilung. Paraffin dient dagegen als unpolare Referenz. Die TE-Konzentration der Gele liegt für Paraffin und MCT bei 10 %, für Sonnenblumenöl zwischen 4 % und 10 %. Als Grundlage für die Schäume werden Emulsionen mit einem Wassergehalt zwischen 1 % und 50 % hergestellt. Die entwickelten Schäume ähneln, abhängig vom verwendeten Öl, in ihrem Aussehen und ihrer Art einem Kugelschaum oder Mousse.

Die Viskosität der Emulsionen, aus denen Schäume hergestellt werden, wird durch das verwendete Öl, die TE-Konzentration im Oleogel und den Wasseranteil in der Emulsion beeinflusst. Eine genaue Kenntnis der Viskositäten ist für das Verständnis der Schäume elementar.

Die Viskosität selbst nimmt Einfluss auf das Aufschäumvermögen, also die Volumenzunahme, und die Volumenstabilität. Ist die Viskosität zu groß, erschwert dies die Volumenzunahme, ist sie zu klein, vermag der entstehende Schaum nicht stabilisiert zu werden und kollabiert umgehend. Eine Emulsion mittlerer Viskosität ist daher für die Schaumbildung optimal geeignet.

Die Volumenzunahme liegt bei einem Faktor von 1,5 bis 4 verglichen mit der jeweils korrespondierenden Emulsion. MCT-haltige Schäume zeigen die niedrigsten, paraffinhalte Schäume die höchsten Werte der Volumenzunahme. Die Werte liegen bedingt durch die Tatsache, dass es sich um W/O-Schäume handelt, unterhalb der Werte, die für klassische Schäume zu erwarten wären. Berücksichtigt man allerdings die spätere Anwendung auf Wunden, so wäre eine größere Volumenzunahme weder nützlich noch erforderlich.

Schäume aus Bag-on-Valve-Systemen zeigen ein Verhalten, das bei hälftiger Befüllung der Beutel den Schäumen aus normalen Aerosoldosen gleicht. Diese Art des Primärpackmittels hat also die verpackungsabhängigen Vorteile und nimmt auf die Entwicklung des Schaums keinen weiteren Einfluss.

Der Einsatz von Emulgatoren in triterpenhaltigen W/O-Schäumen ist bedingt möglich. Um einen Zusammenhang zwischen der Stabilität des Schaums und dem jeweiligen Emulgator abzuschätzen, eignen sich vor allem die Bestimmung der Grenzflächenspannung und der Viskosität der Oleogele. Als möglicher Zusatz erweisen sich diejenigen Emulgatoren, die die Grenzflächenspannung wenig beeinflussen und die Viskosität der Oleogele geringfügig herabsetzen. Es lassen sich jedoch nur geringfügige Verbesserungen der Schaumparameter nachweisen.

Schließlich sind die Ergebnisse der Permeationsuntersuchungen hervorzuheben. Durch diese Untersuchungen unter der Verwendung verletzter Haut kann das Verhalten der triterpenhaltigen Zubereitungen im Anwendungsgebiet der Wundheilung analysiert werden. Dabei erweisen sich die folgenden Vergleiche als besonders zielführend:

Zuerst werden unter Verwendung der gleichen Zubereitung die unterschiedlichen Hautarten verglichen. Die Permeationsrate steigt ausgehend von unverletzter Haut, die keine Permeation von Betulin ermöglicht, über Haut nach Tape Stripping bis hin zu Haut nach Verletzung mit dem Dermatom mit zunehmender Schwere der Verletzung an, während sich die Verzögerungszeit entsprechend verkürzt.

Zweitens zeigt der Vergleich der Oleogele einen deutlichen Einfluss des gewählten Öls auf die Permeationsrate. Bei gleichbleibendem TE-Gehalt zeigt sich die folgende Abstufung der Permeationsraten: MCT < SBÖ < Paraffin. Diese Abstufung ist viskositätsabhängig, d. h. je höher die Viskosität ist, umso geringer ist die permeierende Menge.

Der dritte Vergleich untersucht die Permeation abhängig von der Art der Formulierung. Wie sich bereits in den Untersuchungen der Freisetzung andeutet, ändert die Einarbeitung von Wasser und CO<sub>2</sub> in die Innenphase das Verhalten nicht. Emulsion und Schaum zeigen daher das gleiche Permeationsverhalten wie das Gel, aus dem sie hergestellt werden und aus dem ihre äußere Phase besteht. Diese Phase tritt in allen Formulierungen mit der Haut in Kontakt. Da das Permeationsverhalten für alle Zubereitungen konstant bleibt, kann an dieser Stelle auf ein ebenfalls gleichbleibendes Verhalten von Oleogel, Emulsion und Schaum in der Wundheilung rückgeschlossen werden.

Eine Schaumformulierung auf 7%iger SBÖ-Oleogelbasis mit 25 % Wasser in BOV ist am Ende der Untersuchungen die optimale Zusammensetzung eines triterpenhaltigen Schaums. Sonnenblumenöl ist aufgrund der besten wundheilungsfördernden Eigenschaften, das BOV-System aufgrund der Anwendungsvorteile durch den Patienten zu wählen. Da der Wasser- und der TE-Anteil keinen signifikanten Einfluss auf die Permeation haben, kann die Zusammensetzung mit der größten Volumenzunahme als optimale Schaumformulierung gewählt werden.

Ziel dieser Arbeit war es, Schäume aus Birkenkorkextrakt für die Anwendung auf Wunden zu entwickeln. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass es in Zukunft möglich ist, die Vorteile der berührungsfreien Applikation eines Schaums mit den wundheilungsfördernden Eigenschaften des Extrakts zu kombinieren. Damit kann die Behandlung von Wunden für Patienten weiter verbessert werden.

## 5 Verzeichnisse

### 5.1 Literaturverzeichnis

- ALTINIER, G., SOSA, S., AQUINO, R. P., MENCHERINI, T., LOGGIA, R. D. & TUBARO, A. 2007. Characterization of topical antiinflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55, 1718-1723.
- ALVAREZ-LORENZO, C., GÓMEZ-AMOZA, J. L., MARTÍNEZ-PACHECO, R., SOUTO, C. & CONCHEIRO, A. 1999. Microviscosity of hydroxypropylcellulose gels as a basis for prediction of drug diffusion rates. *International Journal of Pharmaceutics*, 180, 91-103.
- ARDIZZONE, S., DOLDO, P., RANZI, T., STURNIOLO, G., GIGLIO, L., ANNESE, V., D'ARIENZO, A., GAIA, E., GULLINI, S. & RIEGLER, G. 1999. Mesalazine foam (Salofalk foam) in the treatment of active distal ulcerative colitis. A comparative trial vs Salofalk enema. The SAF-3 study group. *Italian journal of gastroenterology and hepatology*, 31, 677-684.
- ARZHAVITINA, A. & STECKEL, H. 2010. Foams for pharmaceutical and cosmetic application. *International Journal of Pharmaceutics*, 394, 1-17.
- ATTIA, M., EL-GIBALY, I., SHALTOUT, S. & FETIH, G. 2004. Transbuccal permeation, anti-inflammatory activity and clinical efficacy of piroxicam formulated in different gels. *International Journal of Pharmaceutics*, 276, 11-28.
- AUNGST, B. J., J. ROGERS, N. & SHEFTER, E. 1986. Enhancement of naloxone penetration through human skin in vitro using fatty acids, fatty alcohols, surfactants, sulfoxides and amides. *International Journal of Pharmaceutics*, 33, 225-234.
- AURENLABORTORIES. 2015. <http://bagonvalve.com/wp-content/uploads/2014/05/BOV-white-cans-1024x990.jpg> [Online]. [Accessed 11.12.2015 2015].
- BACH, M. & LIPPOLD, B. C. 1998. Percutaneous penetration enhancement and its quantification. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 46, 1-13.
- BADRAN, M. M., KUNTSCHKE, J. & FAHR, A. 2009. Skin penetration enhancement by a microneedle device (Dermaroller®) in vitro: Dependency on needle size and applied formulation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 36, 511-523.
- BAR-MEIR, S., FIDDER, H. H., FASZCZYK, M., PORRO, G. B., STURNIOLO, G. C., MICKISCH, O., MÜLLER, R., GREINWALD, R., CHOWERS, Y. & GROB, V. 2003. Budesonide foam vs. hydrocortisone acetate foam in the treatment of active ulcerative proctosigmoiditis. *Diseases of the colon & rectum*, 46, 929-936.
- BASHIR, S. J., CHEW, A.-L., ANIGBOGU, A., DREHER, F. & MAIBACH, H. I. 2001. Physical and physiological effects of stratum corneum tape stripping. *Skin Research and Technology*, 7, 40-48.
- BATTINO, R., EVANS, F. D. & DANFORTH, W. F. 1968. The solubilities of seven gases in olive oil with references to theories of transport through the cell membrane. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 45, 830-833.
- BERGSTROM, K. G., ARAMBULA, K. & KIMBALL, A. B. 2003. Medication formulation affects quality of life: a randomized single-blind study of clobetasol propionate foam 0.05% compared with a combined program of clobetasol cream 0.05% and solution 0.05% for the treatment of psoriasis. *Cutis*, 72, 407-411.
- BIKERMAN, J. 1973. Foams. Springer-Verlag, New York.
- BIRKEN, A. 2015. Oleogel-S10 Versus Standard of Care in Healing of Grade 2a Burn Wounds. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01657292.
- BJARNSHOLT, T., KIRKETERP-MØLLER, K., JENSEN, P. Ø., MADSEN, K. G., PHIPPS, R., KROGFELT, K., HØIBY, N. & GIVSKOV, M. 2008. Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis. *Wound Repair and Regeneration*, 16, 2-10.

- BRINKMAN, H. 1952. The viscosity of concentrated suspensions and solutions. *The Journal of Chemical Physics*, 20, 571-571.
- BRONAUGH, R. L. & STEWART, R. F. 1985. Methods for in vitro percutaneous absorption studies V: Permeation through damaged skin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 74, 1062-1066.
- BROUGHTON 2ND, G., JANIS, J. E. & ATTINGER, C. E. 2006. The basic science of wound healing. *Plastic and reconstructive surgery*, 117, 12S-34S.
- BURACZEWSKA, I., BERNE, B., LINDBERG, M., TÖRMÄ, H. & LODÉN, M. 2007. Changes in skin barrier function following long-term treatment with moisturizers, a randomized controlled trial. *British Journal of Dermatology*, 156, 492-498.
- BUSHNELL, L. F. 1965. Aerosol foam: a practical and effective method of contraception. *Pacific medicine and surgery*, 73, 353-5.
- CHUNG, H., KIM, T. W., KWON, M., KWON, I. C. & JEONG, S. Y. 2001. Oil components modulate physical characteristics and function of the natural oil emulsions as drug or gene delivery system. *Journal of Controlled Release*, 71, 339-350.
- CICHEWICZ, R. H. & KOUZI, S. A. 2004. Chemistry, biological activity, and chemotherapeutic potential of betulinic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection. *Medicinal Research Reviews*, 24, 90-114.
- DE SMIDT, J. H. & CROMMELIN, D. J. A. 1991. Viscosity measurement in aqueous polymer solutions by dynamic light scattering. *International Journal of Pharmaceutics*, 77, 261-264.
- DICK, I. P. & SCOTT, R. C. 1992. Pig Ear Skin as an In-vitro Model for Human Skin Permeability. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 44, 640-645.
- DO, H. T. T., EDWARDS, H. & FINLAYSON, K. 2015. Identifying relationships between symptom clusters and quality of life in adults with chronic mixed venous and arterial leg ulcers. *International Wound Journal*, n/a-n/a.
- DONAHUE, D. J. & BARTELL, F. 1952. The boundary tension at water-organic liquid interfaces. *The Journal of Physical Chemistry*, 56, 480-484.
- DREHER, F., ARENS, A., HOSTYNEK, J., MUDUMBA, S., ADEMOLA, J. & MAIBACH, H. 1998. Colorimetric method for quantifying human stratum corneum removed by adhesive-tape-stripping. *ACTA DERMATOVENEREOLOGICA-STOCKHOLM-*, 78, 186-189.
- EBELING, S., NAUMANN, K., POLLOK, S., WARDECKI, T., VIDAL-Y-SY, S., NASCIMENTO, J. M., BOERRIES, M., SCHMIDT, G., BRANDNER, J. M. & MERFORT, I. 2014. From a Traditional Medicinal Plant to a Rational Drug: Understanding the Clinically Proven Wound Healing Efficacy of Birch Bark Extract. *PLoS ONE*, 9, e86147.
- EDWARDS, R. & HARDING, K. G. 2004. Bacteria and wound healing. *Current opinion in infectious diseases*, 17, 91-96.
- EGIDIO, M., GABRIELE, R. L., SUBHASH, D. & MASSIMO, G. 1994. Pharmaceutical compositions containing rifaximin for treatment of vaginal infections. Google Patents.
- EINSTEIN, A. 1906a. Eine neue Bestimmung der Moleküldimensionen. . *Annalen der Physik*, IV, 289-306.
- EINSTEIN, A. 1906b. Zur Theorie der Brownschen Bewegung (On the theory of Brownian motion). *Ann. Phys*, 19, 371-381.
- EINSTEIN, A. 1911. Berichtigung zu meiner Arbeit: „Eine neue Bestimmung der Moleküldimensionen“ □. *Annalen der Physik*, 339, 591-592.
- EIZNHAMER, D. & XU, Z. 2004. Betulinic acid: a promising anticancer candidate. *IDrugs: the investigational drugs journal*, 7, 359-373.
- ELEWSKI, B. E., ABRAMOVITS, W., KEMPERS, S., SCHLESSINGER, J., ROSEN, T., GUPTA, A. K., ABRAHAM, S. & ROWELL, R. 2007. A novel foam formulation of ketoconazole 2% for the treatment of seborrheic dermatitis on multiple body regions. *Journal of drugs in dermatology: JDD*, 6, 1001-1008.

- ELIAS, P. M. 1983. Epidermal Lipids, Barrier Function, and Desquamation. *J Invest Dermatol*, 80, 44s-49s.
- ELIAS, P. M. & FRIEND, D. S. 1975. The permeability barrier in mammalian epidermis. *The Journal of Cell Biology*, 65, 180-191.
- EMA. 2016. *Marketing authorisation Episalvan* [Online]. Available: [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/003938/human\\_med\\_001956.jsp&mid=WC0b01ac058001d124](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/003938/human_med_001956.jsp&mid=WC0b01ac058001d124) [Accessed 07. 04. 2016].
- ERDMANN, S. M. & MERK, H. F. 2003. Kontaktsensibilisierungen auf Externa. *Der Hautarzt*, 54, 331-337.
- FARTHING, M., RUTLAND, M. & CLARK, M. 1979. Retrograde spread of hydrocortisone containing foam given intrarectally in ulcerative colitis. *Br Med J*, 2, 822-824.
- FDA 1997. SUPAC-SS.
- FELDMAN, S. R. & HOUSMAN, T. S. 2003. Patients' Vehicle Preference for Corticosteroid Treatments of Scalp Psoriasis. *American Journal of Clinical Dermatology*, 4, 221-224.
- FERNÁNDEZ, M. A., DE LAS HERAS, B., GARCIA, M. D., SÁENZ, M. T. & VILLAR, A. 2001. New insights into the mechanism of action of the anti-inflammatory triterpene lupeol. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53, 1533-1539.
- FONTANAY, S., GRARE, M., MAYER, J., FINANCE, C. & DUVAL, R. E. 2008. Ursolic, oleanolic and betulinic acids: antibacterial spectra and selectivity indexes. *Journal of ethnopharmacology*, 120, 272-276.
- FRANZ, T. J. 1975. PERCUTANEOUS ABSORPTION. ON THE RELEVANCE OF IN VITRO DATA. *J Investig Dermatol*, 64, 190-195.
- FRIESS, S., HECKENMULLER, H., KUBLIK, H. & SZAMBIEN, O. 1999. New foam-forming pharmaceutical composition for rectal or vaginal administration. *PCT Int. Appl., Patent WO*, 9912521, A1.
- FULDA, S., JEREMIAS, I., STEINER, H. H., PIETSCH, T. & DEBATIN, K.-M. 1999. Betulinic acid: A new cytotoxic agent against malignant brain-tumor cells. *International Journal of Cancer*, 82, 435-441.
- GAONKAR, A. G. 1989. Interfacial tensions of vegetable oil/water systems: effect of oil purification. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 66, 1090-1092.
- GONG, Y., RAJ, K. M., LUSCOMBE, C. A., GADAWSKI, I., TAM, T., CHU, J., GIBSON, D., CARLSON, R. & SACKS, S. L. 2004. The synergistic effects of betulin with acyclovir against herpes simplex viruses. *Antiviral Research*, 64, 127-130.
- GRAY, G. M. & YARDLEY, H. J. 1975. Lipid compositions of cells isolated from pig, human, and rat epidermis. *Journal of Lipid Research*, 16, 434-40.
- GROSS, V., BAR-MEIR, S., LAVY, A., MICKISCH, O., TULASSAY, Z., PRONAI, L., KUPCINSKAS, L., KIUDELIS, G., POKROTNIKES, J., KOVÁCS, Á., FASZCZYK, M., RAZBADAUSKAS, A., MARGUS, B., STOLTE, M., MÜLLER, R., GREINWALD, R. & THE INTERNATIONAL BUDESONIDE FOAM STUDY, G. 2006. Budesonide foam versus budesonide enema in active ulcerative proctitis and proctosigmoiditis. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 23, 303-312.
- GRYSKO, M. 2011. Herstellung und Charakterisierung von halbfesten Systemen auf Basis von Triterpenextrakt aus Birkenkork.
- GRYSKO, M. & DANIELS, R. 2013. Evaluation of the mechanism of gelation of an oleogel based on a triterpene extract from the outer bark of birch. *Die Pharmazie - An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68, 572-577.
- GU, J.-Q., WANG, Y., FRANZBLAU, S. G., MONTENEGRO, G., YANG, D. & TIMMERMANN, B. N. 2004. Antitubercular Constituents of *Valeriana laxiflora*. *Planta Med*, 70, 509-514.
- GUPTA, J., GILL, H. S., ANDREWS, S. N. & PRAUSNITZ, M. R. 2011. Kinetics of skin resealing after insertion of microneedles in human subjects. *Journal of Controlled Release*, 154, 148-155.

- HADGRAFT, J. 2001. Skin, the final frontier. *International Journal of Pharmaceutics*, 224, 1-18.
- HADGRAFT, J. & LANE, M. E. 2005. Skin permeation: The years of enlightenment. *International Journal of Pharmaceutics*, 305, 2-12.
- HANNISDAL, A., ORR, R. & SJÖBLOM, J. 2007. Viscoelastic Properties of Crude Oil Components at Oil-Water Interfaces. 2: Comparison of 30 Oils. *Journal of Dispersion Science & Technology*, 28, 361-369.
- HARDING, C. R. 2004. The stratum corneum: structure and function in health and disease. *Dermatologic Therapy*, 17, 6-15.
- HAYEK, E. W. H., JORDIS, U., MOCHE, W. & SAUTER, F. 1989. A bicentennial of betulin. *Phytochemistry*, 28, 2229-2242.
- HIGIER, J., PETEREK, J. & HOROSZKO, B. 1978. [Patentex-Oval: a contraceptive agent for topical use]. *WIADOMOSCI LEKARSKIE*, 31, 1349-51.
- HIGUCHI, T. 1961. Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50, 874-875.
- HOUSMAN, T. S., MELLEN, B. G., RAPP, S. R., FLEISCHER, A. B., JR. & FELDMAN, S. R. 2002. Patients with psoriasis prefer solution and foam vehicles: a quantitative assessment of vehicle preference. *Cutis*, 70, 327-32.
- HUYKE, C., LASZCZYK, M., SCHEFFLER, A., ERNST, R. & SCHEMPP, C. M. 2006. Treatment of actinic keratoses with birch bark extract: a pilot study. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 4, 132-136.
- IIZUKA, H. 1994. Epidermal turnover time. *Journal of Dermatological Science*, 8, 215-217.
- ISHIGURO, T., MORISHITA, E., IOHARA, D., HIRAYAMA, F., WADA, K., MOTOYAMA, K., ARIMA, H. & UEKAMA, K. 2011. Some pharmaceutical and inclusion properties of 2-hydroxybutyl- $\beta$ -cyclodextrin derivative. *International Journal of Pharmaceutics*, 419, 161-169.
- JACOBI, U., KAISER, M., TOLL, R., MANGELSDORF, S., AUDRING, H., OTBERG, N., STERRY, W. & LADEMANN, J. 2007. Porcine ear skin: an in vitro model for human skin. *Skin Research and Technology*, 13, 19-24.
- KESSLER, J. H., MULLAUER, F. B., DE ROO, G. M. & MEDEMA, J. P. 2007. Broad in vitro efficacy of plant-derived betulinic acid against cell lines derived from the most prevalent human cancer types. *Cancer Letters*, 251, 132-145.
- KIRSNER, R. S. & EAGLSTEIN, W. H. 1993. The wound healing process. *Dermatologic clinics*, 11, 629-640.
- KNORR, F., LADEMANN, J., PATZELT, A., STERRY, W., BLUME-PEYTAVI, U. & VOGT, A. 2009. Follicular transport route – Research progress and future perspectives. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 71, 173-180.
- KRIEGER, I. M. & DOUGHERTY, T. J. 1959. A Mechanism for Non-Newtonian Flow in Suspensions of Rigid Spheres. *Transactions of The Society of Rheology*, 3, 137-152.
- KUMAR, S. & HIMMELSTEIN, K. J. 1995. Modification of in situ gelling behavior of carbopol solutions by hydroxypropyl methylcellulose. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 84, 344-348.
- LADEMANN, J., KNORR, F., RICHTER, H., BLUME-PEYTAVI, U., VOGT, A., ANTONIOU, C., STERRY, W. & PATZELT, A. 2008. Hair Follicles – An Efficient Storage and Penetration Pathway for Topically Applied Substances. *Skin Pharmacology and Physiology*, 21, 150-155.
- LAMPE, M. A., BURLINGAME, A., WHITNEY, J., WILLIAMS, M. L., BROWN, B. E., ROITMAN, E. & ELIAS, P. M. 1983. Human stratum corneum lipids: characterization and regional variations. *Journal of Lipid Research*, 24, 120-130.
- LASZCZYK, M. 2007. *Triterpentrockenextrakt aus Birkenkork (Betula alba cotex) - Untersuchungen zur chemischen Zusammensetzung, Galenik, Penetration und pharmakologisch-biologischen Wirkung*. Dissertation.
- LASZCZYK, M. 2009. Pentacyclic Triterpenes of the Lupane, Oleanane and Ursane Group as Tools in Cancer Therapy. *Planta Medica*, 75.

- LASZCZYK, M., JÄGER, S., SIMON-HAARHAUS, B., SCHEFFLER, A. & SCHEMP, C. M. 2006. Physical, Chemical and Pharmacological Characterization of a New Oleogel-Forming Triterpene Extract from the Outer Bark of Birch (*Betulae Cortex*). *Planta Med*, 72, 1389-1395.
- LEE, H. K., NAM, G. W., KIM, S. H. & LEE, S. H. 2006. Phytocomponents of triterpenoids, oleanolic acid and ursolic acid, regulated differently the processing of epidermal keratinocytes via PPAR- $\alpha$  pathway. *Experimental Dermatology*, 15, 66-73.
- LUNTER, D. 2012. *Filmbildende Emulsionen zur Retardierung der Wirkstoffpermeation*. Dissertation.
- METELMANN, H. R., BRANDNER, J., SCHUMANN, H., BROSS, F., HOFFMANN, M. & PODMELLE, F. 2012. Accelerating the aesthetic benefit of wound healing by triterpene. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 40, e150-e154.
- METELMANN, H. R., BRANDNER, J. M., SCHUMANN, H., BROSS, F., FIMMERS, R., BFTTGER, K., SCHEFFLER, A. & PODMELLE, F. 2015. Accelerated Reepithelialization by Triterpenes: Proof of Concept in the Healing of Surgical Skin Lesions. *Skin Pharmacology and Physiology*, 28, 1-11.
- MITTERWALD, A. 2013. Aufschäumbarkeit von lipophilen Cremes Wahlpflichtfacharbeit.
- MOURA-LETTIS, G., VILLEGAS, L. F., MARÇALO, A., VAISBERG, A. J. & HAMMOND, G. B. 2006. In Vivo Wound-Healing Activity of Oleanolic Acid Derived from the Acid Hydrolysis of *Anredera diffusa*. *Journal of natural products*, 69, 978-979.
- NELSON, K. & SHAH, A. 1987. Mass transport in dissolution kinetics I: Convective diffusion to assess the role of fluid viscosity under forced flow conditions. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 76, 799-802.
- OECD, O. F. E. C.-O. A. D. 2004. OECD Guideline for Testing of Chemicals.
- OECD, O. F. E. C.-O. A. D. 2011. OECD Guidance Notes on Dermal Absorption.
- OH, S.-H., CHOI, J.-E. & LIM, S.-C. 2006. Protection of betulin against cadmium-induced apoptosis in hepatoma cells. *Toxicology*, 220, 1-12.
- PARK, E.-S., CHANG, S.-Y., HAHN, M. & CHI, S.-C. 2000. Enhancing effect of polyoxyethylene alkyl ethers on the skin permeation of ibuprofen. *International Journal of Pharmaceutics*, 209, 109-119.
- PARKER, K. 2012. Psychosocial effects of living with a leg ulcer. *Nursing Standard*, 26, 52-62.
- PAVLOVA, N., SAVINOVA, O., NIKOLAEVA, S., BOREKO, E. & FLEKHTER, O. 2003. Antiviral activity of betulin, betulinic and betulonic acids against some enveloped and non-enveloped viruses. *Fitoterapia*, 74, 489-492.
- PERSOON, A., HEINEN, M. M., VAN DER VLEUTEN, C. J. M., DE ROOIJ, M. J., VAN DE KERKHOF, P. C. M. & VAN ACHTERBERG, T. 2004. Leg ulcers: a review of their impact on daily life. *Journal of Clinical Nursing*, 13, 341-354.
- PFARR, K., DANCIU, C., ARLT, O., NESKE, C., DEHELEAN, C., PFEILSCHIFTER, J. M. & RADEKE, H. H. 2015. Simultaneous and dose dependent melanoma cytotoxic and immune stimulatory activity of betulin. *PLoS ONE*, 10, e0118802.
- PH.EUR.8 2015a. Halbfeste Zubereitungen zur kutanen Anwendung.
- PH.EUR.8 2015b. Medizinische Schäume.
- PHLEBOLOGIE, D. G. F. 2008. Diagnostik und Therapie des Ulcus cruris venosum.
- PREMIERFILLINGCOMPANY. 2016. <http://www.premierfilling.com/Bag-on-Valve.php> [Online]. [Accessed 29.06.2016 2016].
- PYO, J. S., ROH, S. H., KIM, D. K., LEE, J. G., LEE, Y. Y., HONG, S. S., KWON, S. W. & PARK, J. H. 2009. Anti-Cancer Effect of Betulin on a Human Lung Cancer Cell Line: A Pharmacoproteomic Approach Using 2D SDS PAGE Coupled with Nano-HPLC Tandem Mass Spectrometry. *Planta Med*, 75, 127-131.
- R. DANIELS, M. L. 2008. Betulin für tensidfreie Emulsionen. *Pharmazeutische Zeitung*, 11.
- ROLZ-CRUZ, G. & KIMBALL, A. B. 2008. Ketoconazole 2% foam for treatment of seborrheic dermatitis. *Expert Review of Dermatology*, 3, 15-21.

- RUDELLE, W., DICKINSON, R., DIXON, M. & AXON, A. 1980. Treatment of distal ulcerative colitis (proctosigmoiditis) in relapse: comparison of hydrocortisone enemas and rectal hydrocortisone foam. *Gut*, 21, 885-889.
- RÜTTERMANN, M., MAIER-HASSELMANN, A., NINK-GREBE, B. & BURCKHARDT, M. 2013. Local Treatment of Chronic Wounds. In Patients With Peripheral Vascular Disease, Chronic Venous Insufficiency, and Diabetes. *Dtsch Arztebl International*, 110, 25-31.
- SAFAYHI, H. & SAILER, E. R. 1997. Anti-Inflammatory Actions of Pentacyclic Triterpenes. *Planta Med*, 63, 487-493.
- SALEEM, M. 2009. Lupeol, a novel anti-inflammatory and anti-cancer dietary triterpene. *Cancer Letters*, 285, 109-115.
- SARPOTDAR, P. P. & ZATZ, J. L. 1986. Percutaneous Absorption Enhancement by Nonionic Surfactants. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 12, 1625-1647.
- SCHWARZ, J. C., PAGITSCH, E. & VALENTA, C. 2013. Comparison of ATR–FTIR spectra of porcine vaginal and buccal mucosa with ear skin and penetration analysis of drug and vehicle components into pig ear. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50, 595-600.
- SHAH, A. & NELSON, K. 1987. Mass transport in dissolution kinetics II: Convective diffusion to assess role of viscosity under conditions of gravitational flow. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 76, 910-913.
- SHAI, L. J., MCGAW, L. J., ADEROGBA, M. A., MDEE, L. K. & ELOFF, J. N. 2008. Four pentacyclic triterpenoids with antifungal and antibacterial activity from *Curtisia dentata* (Burm.f) C.A. Sm. leaves. *Journal of ethnopharmacology*, 119, 238-244.
- SHALITA, A., MYERS, J., KROCHMAL, L. & YAROSHINSKY, A. 2004. The safety and efficacy of clindamycin phosphate foam 1% versus clindamycin phosphate topical gel 1% for the treatment of acne vulgaris. *Journal of drugs in dermatology: JDD*, 4, 48-56.
- SHEEHAN, M. P. 2014. Therapeutics in allergic contact dermatitis, when avoidance fails. *Current Treatment Options in Allergy*, 1, 337-347.
- SHIN, S.-C., CHO, C.-W. & OH, I.-J. 2001. Effects of non-ionic surfactants as permeation enhancers towards piroxicam from the poloxamer gel through rat skins. *International Journal of Pharmaceutics*, 222, 199-203.
- SKINNER, S. L. & MARKS, J. G. 1998. Allergic contact dermatitis to preservatives in topical medicaments. *American Journal of Contact Dermatitis*, 9, 199-201.
- STEIN, L. 2005. Clinical studies of a new vehicle formulation for topical corticosteroids in the treatment of psoriasis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 53, S39-S49.
- STEINBRENNER, I. 2011. *Wirkstofffreisetzung und Permeation aus einer Birkenkork-Trockenextrakt-Wirkstoffformulierung*. Diplomarbeit, Eberhard Karls Universität Tübingen.
- STEINBRENNER, I. 2013. *RE: Sättigungslöslichkeit Betulin in dünnflüssigem Paraffin*.
- STEINBRENNER, I., HOUDEK, P., POLLOK, S., BRANDNER, J. M. & DANIELS, R. 2016. Influence of the oil phase and topical formulation on the wound healing ability of a birch bark dry extract. *PLoS ONE*; <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0155582>; May 24.
- SUH, H. & JUN, H. W. 1996. Physicochemical and release studies of naproxen in poloxamer gels. *International Journal of Pharmaceutics*, 129, 13-20.
- SZUSTER-CIESIELSKA, A. & KANDEFER-SZERSZEŃ, M. 2005. Protective effects of betulin and betulinic acid against ethanol-induced cytotoxicity in HepG2 cells. *Pharmacol Rep*, 57, 588.
- THAKKER, K. D. & CHERN, W. H. 2003. Development and validation of in vitro release tests for semisolid dosage forms-case study. *Dissolution Technologies*, 10, 10-16.
- TRUMBULL, E. R., BIANCHI, E., ECKERT, D. J., WIEDHOPF, R. M. & COLE, J. R. 1976. Tumor inhibitory agents from *Vauquelinia corymbosa* (rosaceae). *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 65, 1407-1408.

- VERSORGUNGSLEITLINIE, N. 2006. Typ-2-Diabetes: Prävention- und Behandlungsstrategien für Fußkomplikationen.
- WECKESSER, S., LASZCZYK, M. N., MÜLLER, M. L., SCHEMPP, C. M. & SCHUMANN, H. 2010. Topical Treatment of Necrotising Herpes Zoster with Betulin from Birch Bark. *Forschende Komplementärmedizin / Research in Complementary Medicine*, 17, 271-273.
- YAN, S.-L., HUANG, C.-Y., WU, S.-T. & YIN, M.-C. 2010. Oleanolic acid and ursolic acid induce apoptosis in four human liver cancer cell lines. *Toxicology in Vitro*, 24, 842-848.
- YOSHIDA, A., ARIMA, H., UEKAMA, K. & PITHA, J. 1988. Pharmaceutical evaluation of hydroxyalkyl ethers of  $\beta$ -cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics*, 46, 217-222.
- YOSHIMURA, A. S. 1988. *Foam and emulsion rheology*. Ph. D Thesis, Princeton University, USA.
- YOUSSEF, H., CROFTON, V. A., SMITH, S. C. & SIEMENS, A. J. 1987. A clinical trial of Neo Sampoo vaginal tablets and Emko foam in Alexandria, Egypt. *Contraception*, 35, 101-110.
- ZATZ, J. 1995. Drug Release from Semisolids: Effect of Membrane Permeability on Sensitivity to Product Parameters. *Pharmaceutical Research*, 12, 787-789.
- ZEICHNER, J. A. 2010. Use of Topical Coal Tar Foam for the Treatment of Psoriasis in Difficult-to-treat Areas. *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*, 3, 37-40.
- ZHUKOV, I., POLOZOVA, T. & SHATAVA, O. 1987. Study of surfactant foam-forming capacity in the presence of polyacrylic acid. *Kolloid. Z*, 49, 758-762.

## 5.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1-1: Auflistung der Birkenkorktritperpene nach den unterschiedlichen Seitenketten ..	1
Tabelle 1-2: Zusammensetzung des Triterpenextraktes .....	2
Tabelle 1-3: Löslichkeit des TE in Ölen (Steinbrenner et al., 2016) .....	2
Tabelle 2-1: Chemikalien und Hilfsstoffe .....	34
Tabelle 2-2: Verbrauchsmaterialien .....	35
Tabelle 2-3: Übersicht über die verwendeten Geräte.....	36
Tabelle 2-4: Verwendete Software .....	37
Tabelle 2-5: Parameter des Messwerkzeugs .....	40
Tabelle 2-6: Messparameter für Viskositätsmessung .....	40
Tabelle 2-7: Ziel- und Steuergrößendefinition für das CCD .....	50
Tabelle 2-8: Durchzuführende Versuche für das zentral zusammengesetzte Versuchsdesign .....	50
Tabelle 3-1: Kompatibilitätsprüfung der Emulsionen für Schaumherstellung, n = 3, +: stabile Emulsion.....	54
Tabelle 3-2: Kompatibilitätsprüfung der SBÖ-Emulsionen mit Emulgatorzusatz für Schaumherstellung, n = 3, -: nicht stabil, +: stabil.....	56
Tabelle 3-3: Sättigungslöslichkeiten von Betulin (Steinbrenner, 2011, Steinbrenner, 2013, Steinbrenner et al., 2016).....	98
Tabelle 3-4: Vergleich der Viskosität (n = 3) und Diffusionsstecke (n = 24) für Oleogele aus der Freisetzung; Mittelwert ± Standardabweichung .....	99
Tabelle 3-5: Permeationsrate und Verzögerungszeit unterschiedlich verletzter Haut im Vergleich, n = 5, Mittelwert ± Standardabweichung .....	104
Tabelle 3-6: Zusammenfassung der Permeationsrate von Betulin und Verzögerungszeit aus unterschiedlichen Formulierungen; n = 4-5; Mittelwert ± Standardabweichung.....	107
Tabelle 6-1: Daten der Kalibrierung von Betulin Acetonitril/Wasser (70/30) 0,2 µl/mL – 0,8 µg/mL .....	132
Tabelle 6-2: Daten der Kalibrierung von Betulin Acetonitril/Wasser (70/30) 0,8 µl/mL – 8 µg/mL .....	132

---

Tabelle 6-3: Daten der Kalibrierung von Betulin Acetonitril/Wasser (80/20) 0,9 µg/mL – 5 µg/mL .....	132
Tabelle 6-4: Daten der Kalibrierung von Betulin Acetonitril/Wasser (80/20) 5 µg/mL – 20 µg/mL .....	132
Tabelle 6-5: Daten der Kalibrierung von Betulin Acetonitril/Wasser (80/20) 20 µg/mL – 50 µg/mL .....	132
Tabelle 6-6: Daten der Kalibrierung von Betulin Acetonitril/Wasser (80/20) für Sättigungslöslichkeit.....	133
Tabelle 6-7: Errechnete Viskositäten der Emulsionen für unterschiedliche Modelle.....	134
Tabelle 6-8: Sättigungslöslichkeit von Betulin im Akzeptormedium .....	134
Tabelle 6-9: Gemessene Werte und Vorhersage für CCD .....	135
Tabelle 6-10: Zusammenfassung: Permeationsraten von 10%igen Oleogelen durch dermatomisierte Haut .....	138
Tabelle 6-11: Anova: Permeationsraten von 10%igen Oleogelen durch dermatomisierte Haut .....	139
Tabelle 6-12: Student-Newman-Keuls-Test 1: Permeationsraten von 10%igen Oleogelen durch dermatomisierte Haut .....	139
Tabelle 6-13: Student-Newman-Keuls-Test 2: Permeationsraten von 10%igen Oleogelen durch dermatomisierte Haut .....	139
Tabelle 6-14: Zusammenfassung: Permeationsraten von 10%igen Oleogelen durch Haut nach Tape Stripping .....	141
Tabelle 6-15: Anova: Permeationsraten von 10%igen Oleogelen durch Haut nach Tape Stripping .....	141
Tabelle 6-16: Student-Newman-Keuls-Test 1: Permeationsraten von 10%igen Oleogelen durch Haut nach Tape Stripping.....	141
Tabelle 6-17: Student-Newman-Keuls-Test 2: Permeationsraten von 10%igen Oleogelen durch Haut nach Tape Stripping.....	141
Tabelle 6-18: Zusammenfassung der Permeationsrate emulgatorhaltigen Schäume durch dermatomisierte Haut .....	142
Tabelle 6-19: Anova: Permeationsrate der emulgatorhaltigen Schäume durch dermatomisierte Haut .....	143

## Verzeichnisse

---

Tabelle 6-20: Student-Newman-Keuls-Test 1: Permeationsrate der emulgatorhaltigen Schäume durch dermatomisierte Haut.....	143
Tabelle 6-21: Student-Newman-Keuls-Test 2: Permeationsrate der emulgatorhaltigen Schäume durch dermatomisierte Haut.....	143

### 5.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1-1: Allgemeine Strukturformel: Lupangrundgerüst (links) und Oleanolgrundgerüst (rechts) .....	1
Abbildung 1-2: 6 % (m/m) TE in Jojobaöl: A: fluoreszenzmikroskopische Aufnahme, B: farbkodierte ramanmikroskopische Aufnahme, rot: TE, grün: Jojobaöl (Grysko et al., 2013) .....	3
Abbildung 1-3: Schematische Darstellung der Stabilisierung von Betulsionen; rot = TE; grün = Öl; blau = Wasser; Strukturformeln = gelöste Triterpenmoleküle (Grysko, 2011).....	4
Abbildung 1-4: Form der Gasblasen in Schäumen bei Gasanteilen < 0,7 (links) und > 0,7 (rechts) (Arzhavitina et al., 2010) .....	8
Abbildung 1-5: Schematische Darstellung des Aufschäumvorganges der O/W-Emulsion: ...	16
Abbildung 1-6: Schematische Darstellung des Aufschäumens einer Betulsion mit CO <sub>2</sub> .....	17
Abbildung 1-7: Bag-on Valve-System, nicht befüllter Beutel (Mitte), befüllter Beutel (rechts) (AurenaLaboratories, 2015) .....	18
Abbildung 1-8: Befüllungsschema BOV .....	19
Abbildung 1-9: „Bricks and Mortar“ Schema nach Harding (Harding, 2004) .....	21
Abbildung 1-10: Arzneistoffaufnahme in die Haut .....	22
Abbildung 1-11: Penetrationswege durch das Stratum corneum .....	23
Abbildung 1-12: Allgemeiner Aufbau der Franz-Diffusionzelle (Foto (Lunter, 2012)).....	24
Abbildung 2-1: Befüllung des BOV-Systems .....	39
Abbildung 2-2: Versuchsaufbau für die Bestimmung der Diffusionstrecke .....	41
Abbildung 2-3: Aufbau des Profiltropfentensiometers .....	43
Abbildung 2-4: Verlauf der Grenzflächenspannung über die Zeit mit Annäherung an einen Grenzwert, hier am Beispiel SBÖ mit 0,1 % Polyglyceryl-3 Methylglucose Distearat; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung .....	44
Abbildung 3-1: Grenzflächenspannung verschiedener Öle als Maß ihrer Polarität; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung .....	52
Abbildung 3-2: Vergleich der Viskositäten der Oleogele mit 10 % TE nach 24 h bei einer Scherrate von 100 s <sup>-1</sup> ; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung.....	53

Abbildung 3-3: Viskositäten der Emulsionen unterschiedlicher Lipidphasen und unterschiedlichen Wassergehalts; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung .....	55
Abbildung 3-4: Grenzflächenspannung nach 20 min; Markierung: Grenze zwischen stabilen Emulsionen (linke Seite) und nicht stabilen Emulsionen (rechte Seite); n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung.....	58
Abbildung 3-5: Grenzflächenelastizität; Markierung: Grenze zwischen stabilen Emulsionen (linke Seite) und nicht stabilen Emulsionen (rechte Seite); n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung.....	59
Abbildung 3-6: Grenzflächenviskosität; Markierung: Grenze zwischen stabilen Emulsionen (linke Seite) und nicht stabilen Emulsionen (rechte Seite); n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung.....	60
Abbildung 3-7: Viskosität der Oleogele mit 2 % Emulgator und 8 % TE; Markierung: Grenze zwischen stabilen Emulsionen (linke Seite) und nicht stabilen Emulsionen (rechte Seite); n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung.....	61
Abbildung 3-8: Vergleich der gemessenen Viskositätswerte mit dem Modell nach Brinkman .....	66
Abbildung 3-9: Abhängigkeit der Grenzflächenelastizität von der Grenzflächenspannung für Lösungen von Emulgatoren mit TE .....	69
Abbildung 3-10: Abhängigkeit der Grenzflächenviskosität von der Grenzflächenspannung für Lösungen von Emulgatoren mit TE, gestrichelte Gerade: $y = 2x$ .....	70
Abbildung 3-11: Stereolupenaufnahmen der Schäume von oben nach unten auf Grundlage folgender Oleogele: SBÖ 10 % TE, SBÖ 4 % TE, Paraffin 10 % TE, MCT 10 % TE, linke Spalte: Emulsionen mit 1 % Wasser, rechts: 50 % Wasser .....	71
Abbildung 3-12: Volumenzunahme der Schäume im Vergleich unterschiedlicher Lipidphasen; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung.....	73
Abbildung 3-13: Vergleich der Volumenzunahme für Schäume aus herkömmlichen Aerosoldosen mit dem BOV-System; n = 3-5; Fehlerbalken: Standardabweichung .....	74
Abbildung 3-14: Einfluss von Emulgatoren auf die Volumenzunahme von sonnenblumenöhlhaltigen Emulsionen mit 50 % Innenphasenanteil; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung.....	76
Abbildung 3-15: Stabilität der Paraffinschäume mit unterschiedlichem Wassergehalt; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung .....	77

---

Abbildung 3-16: Wirkungsflächenanalyse der Viskosität der Schäume mit Sonnenblumenöl bezogen auf TE- und Wassergehalt.....	78
Abbildung 3-17: Wirkungsflächenanalyse der Volumenzunahme (FI) der Schäume mit Sonnenblumenöl bezogen auf TE- und Wassergehalt.....	79
Abbildung 3-18: Wirkungsflächenanalyse der Volumenstabilität der Schäume mit Sonnenblumenöl bezogen auf TE- und Wassergehalt.....	80
Abbildung 3-19: Grenzflächenspannung ohne TE nach 20 min; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung.....	84
Abbildung 3-20: FI anderer W/O-Cremes mit unterschiedlichem Wassergehalt; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung (Mitterwald, 2013).....	85
Abbildung 3-21: Freisetzung aus unterschiedlichen 10%igen Oleogelen; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung.....	88
Abbildung 3-22: Freisetzung aus unterschiedlichen Zubereitungen mit Paraffin, Emulsion und Schaum enthalten je 50 % Wasserphasenanteil; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung.....	89
Abbildung 3-23: Freisetzung aus unterschiedlichen Zubereitungen mit Sonnenblumenöl, Emulsion und Schaum enthalten je 50 % Wasserphasenanteil; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung.....	90
Abbildung 3-24: Freisetzung aus Schäumen unterschiedlichen TE-Gehalts mit Sonnenblumenöl und je 50 % Wasserphasenanteil; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung.....	91
Abbildung 3-25: Freisetzung aus unterschiedlichen Zubereitungen mit MCT; Grundlage für alle Zubereitungen MCT-Oleogel mit 10 % TE; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung ..	92
Abbildung 3-26: Vergleich der freigesetzten Betulinmengen aus MCT-Zubereitungen nach 16 h; n = 3; Fehlerbalken: Standardbalken, (Erklärung siehe Text).....	93
Abbildung 3-27: Freigesetzte Menge aus Schäumen mit und ohne Emulgator nach 16 h; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung.....	95
Abbildung 3-28: Auftragung nach Higuchi: Freisetzung aus unterschiedlichen 10%igen Oleogelen; n = 3; Fehlerbalken: Standardabweichung .....	97
Abbildung 3-29: Nach HE-Färbung: Schweinehaut unverletzte (links), nach Tape Stripping (Mitte), nach Dermatomisieren (rechts).....	102
Abbildung 3-30: Permeation aus SBÖ-Oleogelen durch unterschiedlich verletzte Haut; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung.....	103

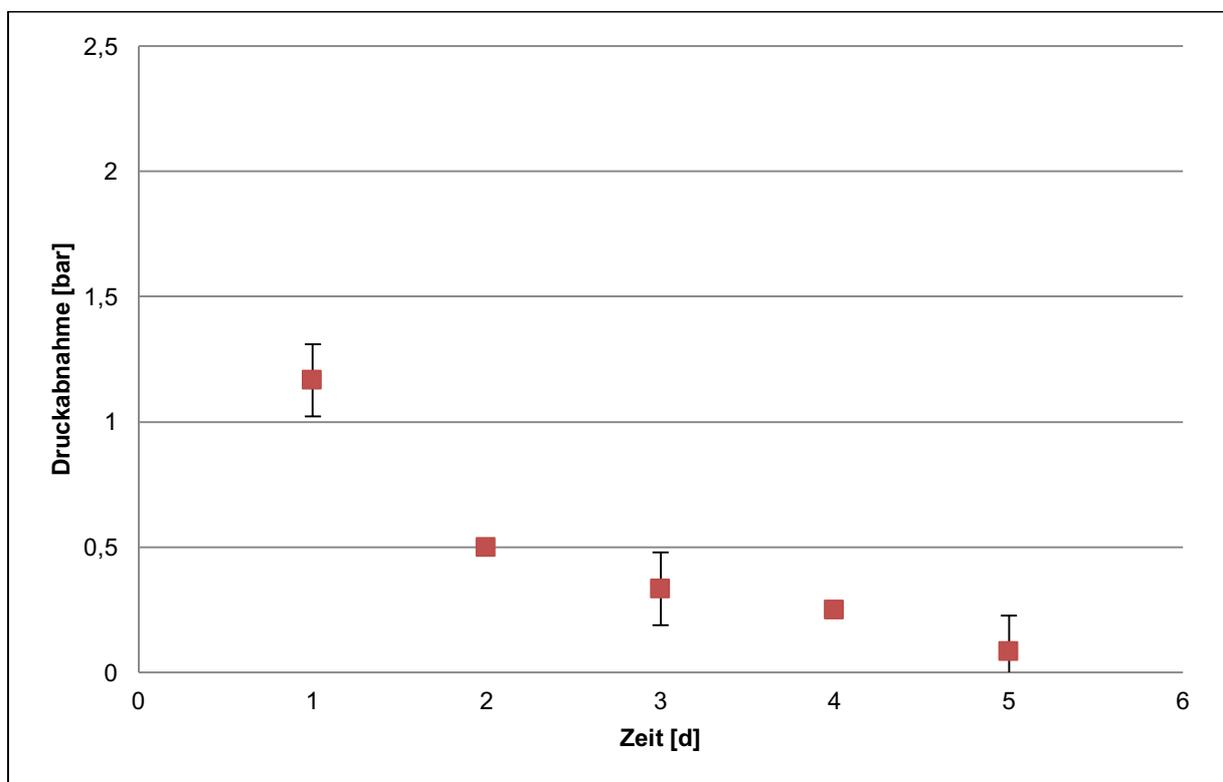
Abbildung 3-31: Permeationrate dreier unterschiedlicher Oleogele durch dermatomisierte Haut (links) und Haut nach Tape Stripping (rechts); n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung; * p < 0.05 .....	105
Abbildung 3-32: Vergleich der Permeation von Sonnenblumenöleogelen mit 4 %, 7 % und 10 % TE durch dermatomisierte Haut; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung.....	106
Abbildung 3-33: Vergleich der Betulinpermeation aus MCT-haltigen Schaum, Emulsion und Oleogel durch dermatomisierte Haut; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung .....	108
Abbildung 3-34: Permeationsrate aus emulgatorhaltigen Sonnenblumenölschäumen durch dermatomisierte Haut; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung; * p < 0.05.....	109
Abbildung 3-35: Verhältnis der Permeationsraten.....	112
Abbildung 6-1: Druckabnahme in den Aerosoldosen innerhalb von 24 h am Beispiel von Sonnenblumenemulsion mit 50 % Wasser nach täglicher Befüllung mit CO <sub>2</sub> ; n = 3, Fehlerbalken: Standardabweichung .....	131
Abbildung 6-2: Freisetzung der MCT-Zubereitungen mit veränderten Versuchsbedingungen, n = 3, Fehlerbalken: Standardabweichung.....	136
Abbildung 6-3: Freisetzung der anderer Oleogel mit veränderten Versuchsbedingungen, n = 3, Fehlerbalken: Standardabweichung.....	137
Abbildung 6-4: Freisetzung der Schäume mit und ohne Emulgator, n = 3, Fehlerbalken: Standardabweichung.....	137
Abbildung 6-5: Vergleich der Permeation von 10%igen Oleogelen durch dermatomisierte Haut; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung .....	138
Abbildung 6-6: Vergleich der Permeation von 10%igen Oleogelen durch Haut nach Tape Stripping; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung.....	140
Abbildung 6-7: Vergleich der Permeation von Schäumen mit Emulgatoren durch dermatomisierte Haut; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung .....	142

## 6 Anhang

### 6.1 Zu den Methoden

#### 6.1.1 Druckabnahme in Aerosoldosen während Befüllung

Abbildung 6-1 zeigt den Druckabfall innerhalb von 24 h gemessen in einem Zeitraum von fünf Tagen. Dieser Wert wird jeweils vor dem erneuten Auffüllen auf einen Druck von 5 bar bestimmt. Auf dieser Messung beruht die Befüllung der Aerosoldosen über fünf Tage.



**Abbildung 6-1: Druckabnahme in den Aerosoldosen innerhalb von 24 h am Beispiel von Sonnenblumenemulsion mit 50 % Wasser nach täglicher Befüllung mit CO<sub>2</sub>; n = 3, Fehlerbalken: Standardabweichung**

### 6.1.2 Kalibrierung

In den folgenden Tabellen (Tabelle 6-1 bis Tabelle 6-6) sind die Kalibrierungsdaten für alle verwendeten Bereiche beider Methoden dargestellt.

**Tabelle 6-1: Daten der Kalibrierung von Betulin Acetonitril/Wasser (70/30) 0,2 µl/mL – 0,8 µg/mL**

Steigung [µg/mL/FE]	Achsenabschnitt [FE]	Bestimmtheitsmaß	Nachweisgrenze [µg/mL]	Bestimmungsgrenze [µg/mL]
4988,72026	129,650099	0,99735313	0,04910907	0,14732722

**Tabelle 6-2: Daten der Kalibrierung von Betulin Acetonitril/Wasser (70/30) 0,8 µl/mL – 8 µg/mL**

Steigung [µg/mL/FE]	Achsenabschnitt [FE]	Bestimmtheitsmaß	Nachweisgrenze [µg/mL]	Bestimmungsgrenze [µg/mL]
5480,58	-146,44	0,9993	0,26	0,77

**Tabelle 6-3: Daten der Kalibrierung von Betulin Acetonitril/Wasser (80/20) 0,9 µg/mL – 5 µg/mL**

Steigung [µg/mL/FE]	Achsenabschnitt [FE]	Bestimmtheitsmaß	Nachweisgrenze [µg/mL]	Bestimmungsgrenze [µg/mL]
5483,57	164,25	0,9977	0,30	0,89

**Tabelle 6-4: Daten der Kalibrierung von Betulin Acetonitril/Wasser (80/20) 5 µg/mL – 20 µg/mL**

Steigung [µg/mL/FE]	Achsenabschnitt [FE]	Bestimmtheitsmaß	Nachweisgrenze [µg/mL]	Bestimmungsgrenze [µg/mL]
4937,22	1024,22	0,9984	0,95	2,85

**Tabelle 6-5: Daten der Kalibrierung von Betulin Acetonitril/Wasser (80/20) 20 µg/mL – 50 µg/mL**

Steigung [µg/mL/FE]	Achsenabschnitt [FE]	Bestimmtheitsmaß	Nachweisgrenze [µg/mL]	Bestimmungsgrenze [µg/mL]
5247,55	560,10	0,9986	3,62	10,85

**Tabelle 6-6: Daten der Kalibrierung von Betulin Acetonitril/Wasser (80/20) für Sättigungslöslichkeit**

Steigung [µg/mL/FE]	Achsenabschnitt [FE]	Bestimmtheitsmaß	Nachweisgrenze [µg/mL]	Bestimmungsgrenze [µg/mL]
5664,82	6845,89	0,9999	4,96	14,89

### 6.1.3 H&E-Färbeprotkoll

- Auftauen der Kryotomschnitte über 30 min auf Raumtemperatur
- Waschen der Objektträger 2 min in Ethanol 50 %
- Waschen der Objektträger 2 min in Ethanol 70 %
- Waschen der Objektträger 2 min in Ethanol 90 %
- Waschen der Objektträger 2 min in Ethanol 100 %
- Waschen der Objektträger dreimal 2 min in RO-Wasser
- Eintauchen der Objektträger für 5 s in Hämatoxylin nach Harris
- Waschen der Objektträger zweimal 2 min in Leitungswasser
- Kurzes Eintauchen der Objektträger in Ammoniaklösung 0,1 %
- Waschen der Objektträger 5 min in Leitungswasser
- Inkubation der Schnitte für 10 min in saurer Eosin-Y-Lösung
- Waschen der Objektträger fünfmal 2 min in Leitungswasser
- Differenzieren der Farbe für 2 min in Ethanol 80 %
- Dehydrieren der Schnitte für 3 min mit Ethanol 100 %
- Dehydrieren der Schnitte für 5 min mit Toluol
- Die gefärbten Schnitte werden in DePex eingebettet

## 6.2 Zu den Ergebnissen

### 6.2.1 Viskositäten in Abhängigkeit der Innenphase

Tabelle 6-7: Errechnete Viskositäten der Emulsionen für unterschiedliche Modelle

Innen- phase [%]	Viskosität [Pas]											
	Einstein			Taylor			Brinkman			Krieger Doughthery		
	Paraffin	SBÖ	MCT	Paraffin	SBÖ	MCT	Paraffin	SBÖ	MCT	Paraffin	SBÖ	MCT
1	0,12	0,42	0,49	0,12	0,42	0,49	0,12	0,42	0,49	0,12	0,42	0,49
5	0,14	0,46	0,54	0,13	0,45	0,53	0,14	0,47	0,22	0,14	0,47	0,55
10	0,15	0,51	0,60	0,15	0,49	0,57	0,16	0,53	0,62	0,16	0,54	0,63
20	0,18	0,62	0,72	0,18	0,58	0,67	0,21	0,72	0,84	0,22	0,75	0,88
33	0,22	0,75	0,88	0,21	0,68	0,79	0,33	1,12	1,31	0,40	1,36	1,59
50	0,27	0,92	1,08	0,26	0,83	0,95	0,68	2,32	2,72	1,76	6,03	7,05

### 6.2.2 Bestimmung der Sättigungslöslichkeit

Tabelle 6-8: Sättigungslöslichkeit von Betulin im Akzeptormedium

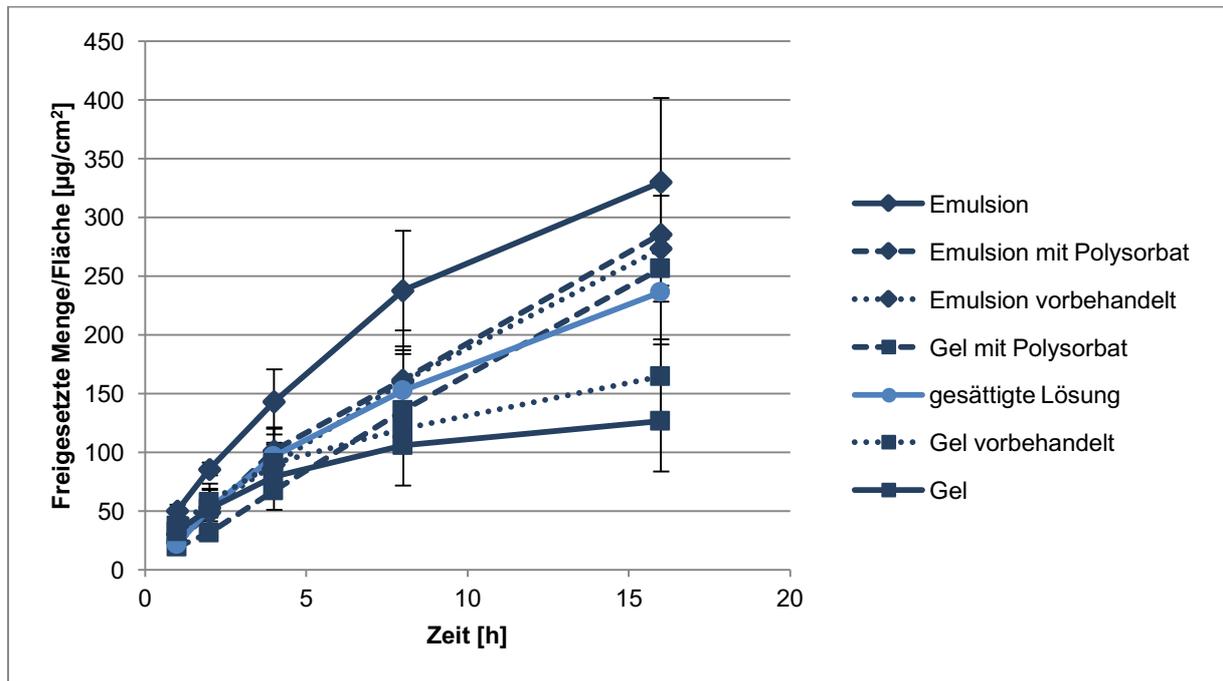
Bestimmung 1 [µg/mL]	Bestimmung 2 [µg/mL]	Bestimmung 3 [µg/mL]	Mittelwert [µg/mL]	Standardabweichung [µg/mL]
716,25	556,25	604,73	625,75	82,05

### 6.2.3 Gemessene Werte und Vorhersagen für CCD

Tabelle 6-9: Gemessene Werte und Vorhersagen für CCD

Level	Wassergehalt [%]	TE-Gehalt im Oleogel [%]	FI	Viskosität [Pas]	Volumenstabilität [%]	Vorhersageformel FI	Vorhersageformel Viskosität [Pas]	Vorhersageformel Volumenstabilität [%]
0	25,50	7,00	2,85	0,42	95	2,91	0,42	96,25
--+	8,18	9,12	2,40	0,65	100	2,39	0,61	99,78
++	42,82	9,12	1,85	1,29	100	1,84	1,30	100,31
0	25,50	7,00	2,75	0,36	95	2,91	0,42	96,25
0	25,50	7,00	3,06	0,43	95	2,91	0,42	96,25
0	25,50	7,00	3,01	0,41	90	2,91	0,42	96,25
--	8,18	4,88	2,47	0,25	60	2,24	0,23	67,94
0	25,50	7,00	2,88	0,36	100	2,91	0,42	96,25
0	25,50	7,00	3,06	0,43	100	2,91	0,42	96,25
0	25,50	7,00	2,65	0,47	95	2,91	0,42	96,25
0a	25,50	4,00	1,92	0,28	75	2,20	0,27	65,10
0A	25,50	10,00	1,90	1,02	100	1,86	1,04	101,65
a0	1,00	7,00	2,44	0,31	90	2,56	0,35	86,25
A0	50,00	7,00	2,20	1,12	100	2,32	1,09	95,50
0	25,50	7,00	3,05	0,43	100	2,91	0,42	96,25
+--	42,82	4,88	2,70	0,57	72	2,47	0,59	80,47

## 6.2.4 Freisetzungsuntersuchungen



**Abbildung 6-2: Freisetzung aus MCT-Zubereitungen mit veränderten Versuchsbedingungen, n = 3, Fehlerbalken: Standardabweichung**

In Abbildung 6-2 und Abbildung 6-3 sind die Freisetzungsdaten mit veränderten Versuchsbedingungen dargestellt. Während sich das Freisetzungsverhalten des MCT Oleogels bei Zusatz von Polysorbat im Akzeptormedium ändert, bleibt die Freisetzung von Betulin aus Sonnenblumenöl- und Paraffinoleogelen konstant.

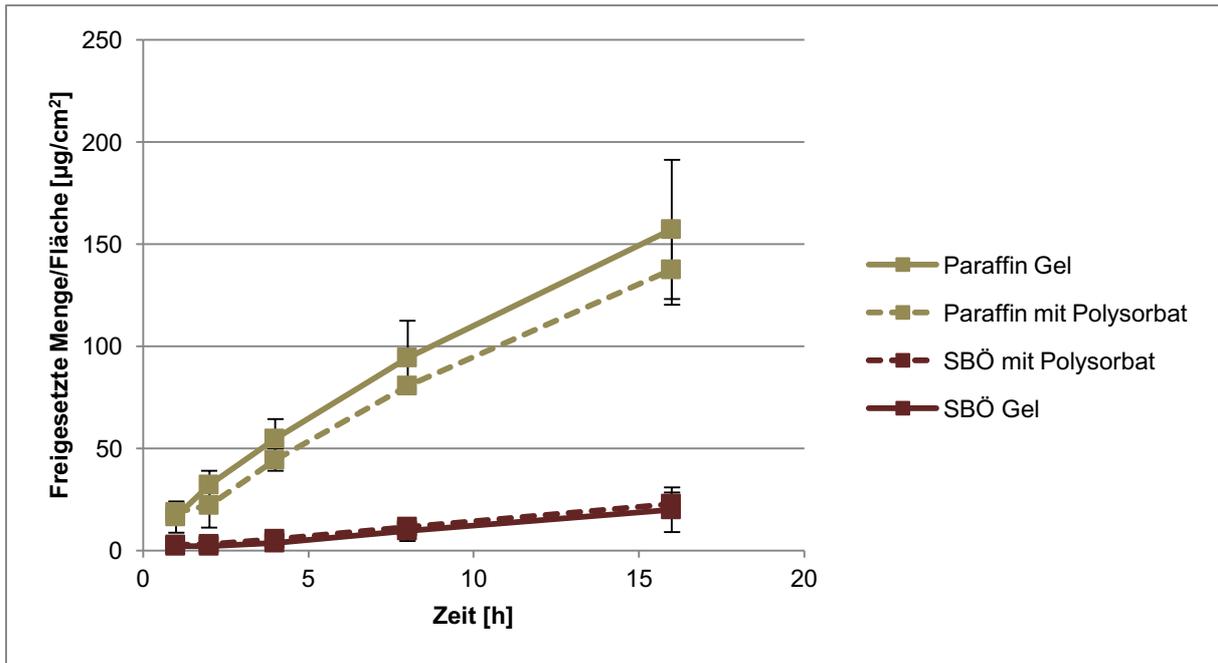


Abbildung 6-3: Freisetzung aus anderen Oleogelen mit veränderten Versuchsbedingungen, n = 3, Fehlerbalken: Standardabweichung

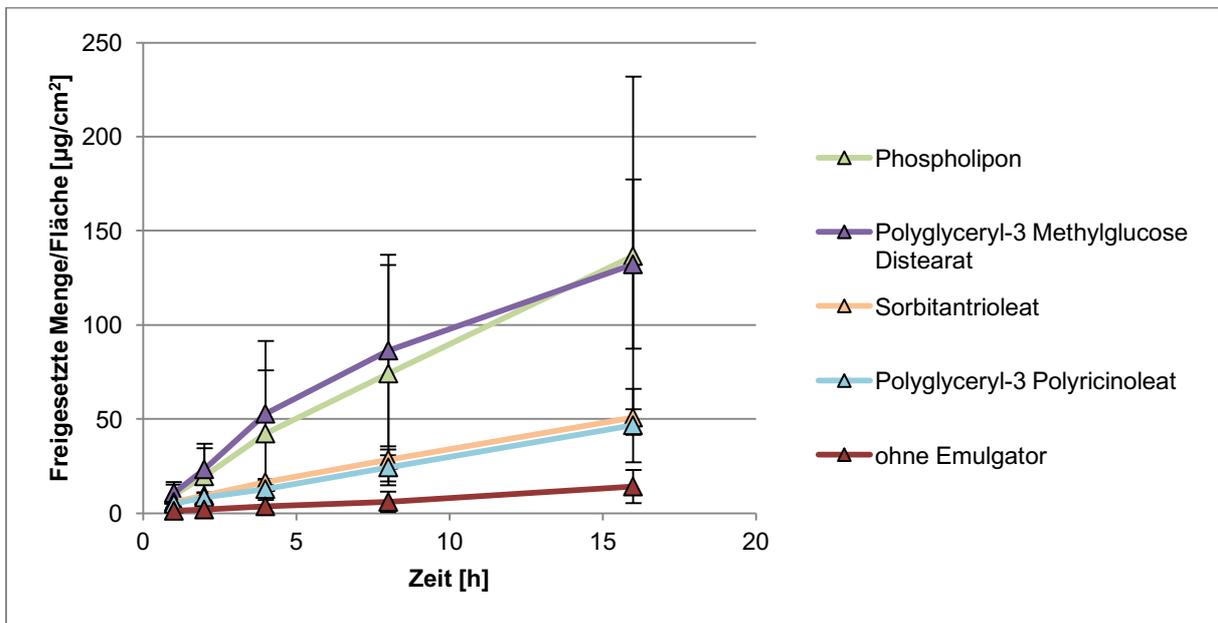


Abbildung 6-4: Freisetzung der Schäume mit und ohne Emulgator, n = 3, Fehlerbalken: Standardabweichung

### 6.2.5 Permeationsuntersuchungen

Für die statistisch signifikant unterschiedlichen Permeationsraten werden im Folgenden die Abbildungen der Permeation und die statistischen Tests gezeigt.

#### 6.2.5.1 Vergleich der unterschiedlichen Lipidphasen

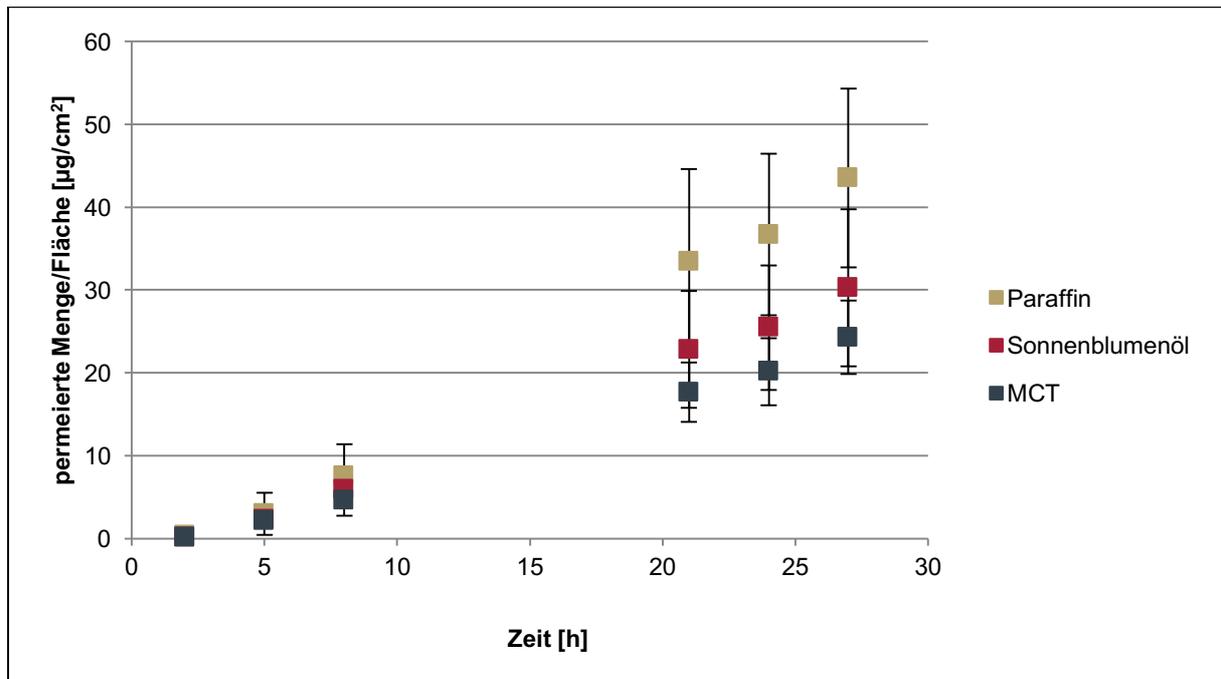


Abbildung 6-5: Vergleich der Permeation von 10%igen Oleogelen durch dermatomisierte Haut; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung

Tabelle 6-10: Zusammenfassung: Permeationsraten von 10%igen Oleogelen durch dermatomisierte Haut

Gruppen (Nummerierung Student-Newman-Keuls)	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
Paraffin (1)	5	9,71	1,94	0,11
Sonnenblumenöl (2)	5	7,03	1,41	0,11
MCT (3)	5	5,28	1,06	0,02

**Tabelle 6-11: Anova: Permeationsraten von 10%igen Oleogelen durch dermatomisierte Haut**

Streuungsursache	Quadratsummen (SS)	Freiheitsgrade (df)	Quadratsumme (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	2,00	2	1,00	12,47	0,0012	3,89
Innerhalb der Gruppen	0,96	12	0,08			
Gesamt	2,96	14				

**Tabelle 6-12: Student-Newman-Keuls-Test 1: Permeationsraten von 10%igen Oleogelen durch dermatomisierte Haut**

Anzahl Ergebnisse	Gruppen	Wiederholungen	Freiheitsgrade (FG)	Sin2
15	3	5	12	0,80

**Tabelle 6-13: Student-Newman-Keuls-Test 2: Permeationsraten von 10%igen Oleogelen durch dermatomisierte Haut**

Vergleich	Ergebnis	k	q	D	signifikant
3 minus 2	0,54	2	3,08	0,39	ja
3 minus 1	0,89	3	3,77	0,48	ja
2 minus 1	0,35	2	3,08	0,39	nein

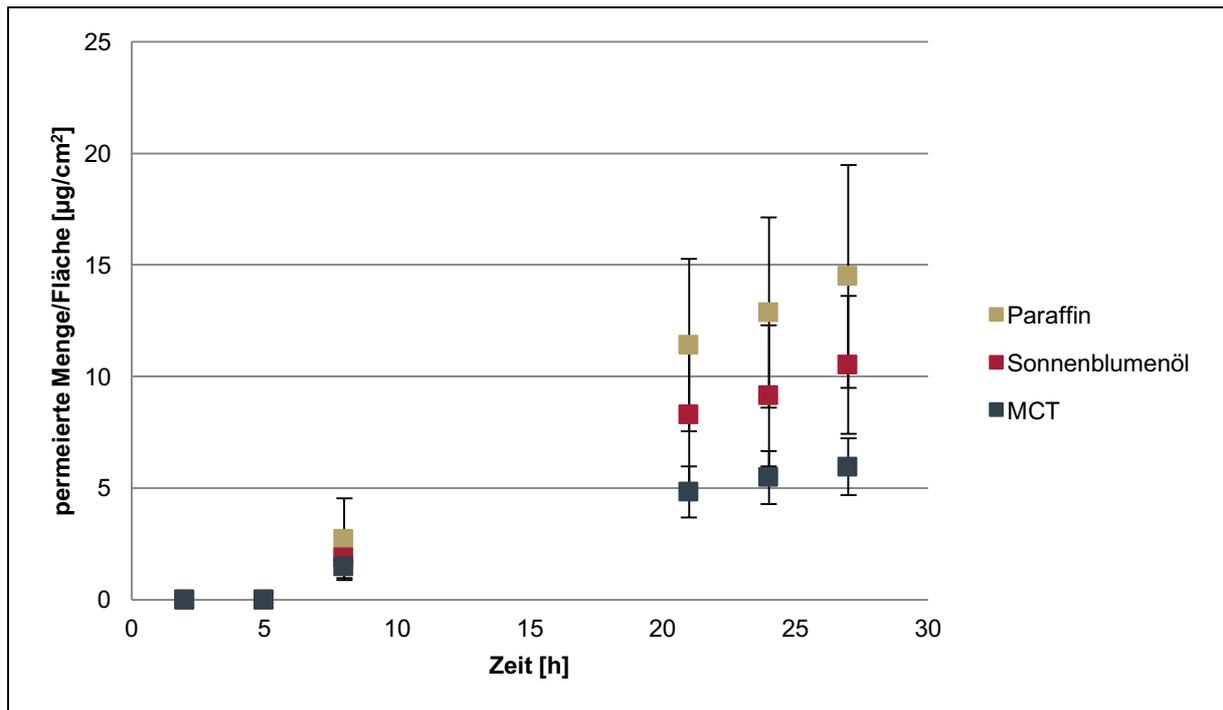


Abbildung 6-6: Vergleich der Permeation von 10%igen Oleogelen durch Haut nach Tape Stripping; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung

**Tabelle 6-14: Zusammenfassung: Permeationsraten von 10%igen Oleogelen durch Haut nach Tape Stripping**

Gruppen (Nummerierung Student-Newman-Keuls)	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
Sonnenblumenöl (2)	5	2,29	0,4563	0,02
Paraffin (1)	5	3,14	0,63	0,03
MCT (3)	5	1,20	0,24	0,003

**Tabelle 6-15: Avova: Permeationsraten von 10%igen Oleogelen durch Haut nach Tape Stripping**

Streuungs- ursache	Quadrat- summen (SS)	Freiheits- grade (df)	Mittlere Quadrat- summe (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	0,38	2,00	0,19	11,45	0,0017	3,89
Innerhalb der Gruppen	0,20	12,00	0,02			
Gesamt	0,58	14,00				

**Tabelle 6-16: Student-Newman-Keuls-Test 1: Permeationsraten von 10%igen Oleogelen durch Haut nach Tape Stripping**

Anzahl Ergebnisse	Gruppen	Wiederholungen	Freiheitsgrade (FG)	Sin2
15	3	5	12	0,016

**Tabelle 6-17: Student-Newman-Keuls-Test 2: Permeationsraten von 10%igen Oleogelen durch Haut nach Tape Stripping**

Vergleich	Ergebnis	k	q	D	signifikant
3 minus 2	0,17	2	3,08	0,18	nein
3 minus 1	0,22	3	3,77	0,22	ja
2 minus 1	0,39	2	3,08	0,18	ja

## 6.2.5.2 Emulgatorhaltige Zubereitungen

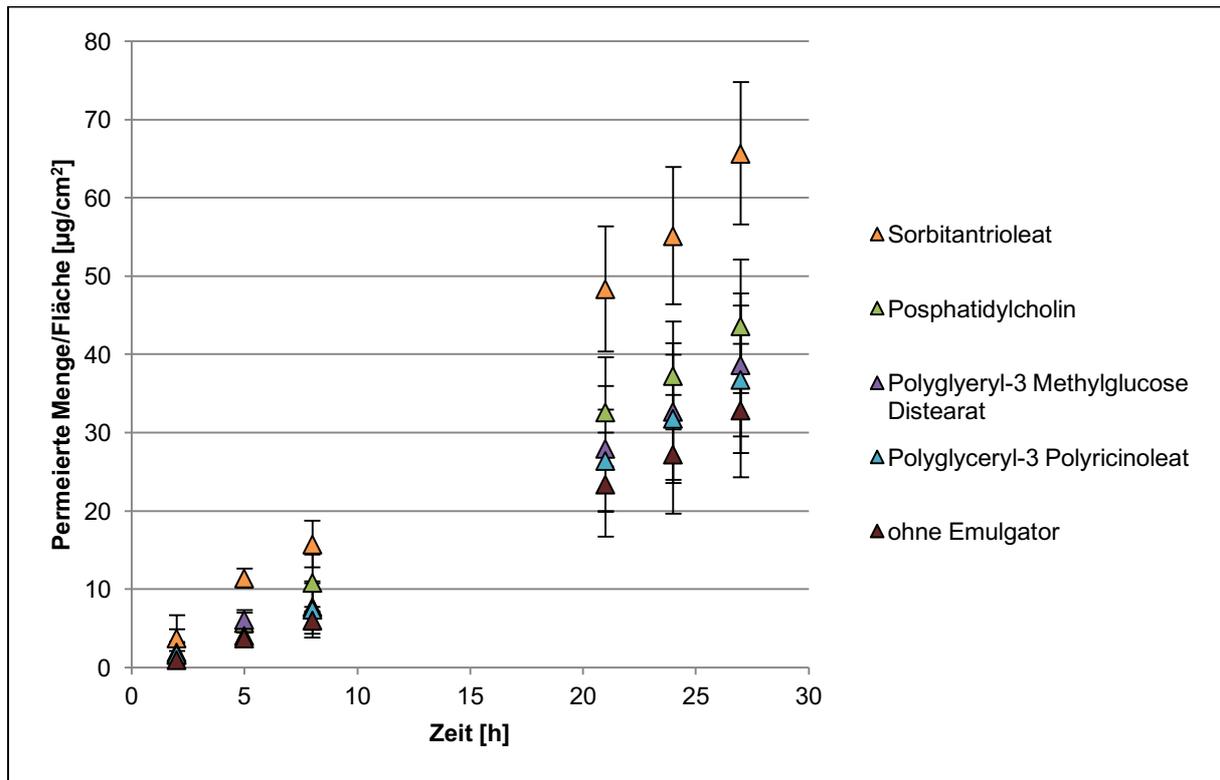


Abbildung 6-7: Vergleich der Permeation von Schäumen mit Emulgatoren durch dermatomisierte Haut; n = 5; Fehlerbalken: Standardabweichung

Tabelle 6-18: Zusammenfassung der Permeationsraten emulgatorhaltiger Schäume durch dermatomisierte Haut

Gruppen (Nummerierung Anova)	Anzahl	Summe	Mittelwert	Varianz
SBÖ (5)	5	6,90	1,38	0,14
Polyglyceryl-3 Polyricinoleat (4)	5	7,67	1,53	0,09
Phosphatidylcholin (2)	5	8,51	1,70	0,20
Sorbitantriöleat (1)	5	12,85	2,57	0,12
Polyglyceryl-3 Methylglucose Distearat (3)	5	8,00	1,60	0,46

**Tabelle 6-19: Anova: Permeationsrate der emulgatorhaltigen Schäume durch dermatomisierte Haut**

Streuungsursache	Quadratsummen (SS)	Freiheitsgrade (df)	Mittlere Quadratsumme (MS)	Prüfgröße (F)	P-Wert	kritischer F-Wert
Unterschiede zwischen den Gruppen	4,41	4	1,10	5,38	0,0041	2,87
Innerhalb der Gruppen	4,09	20	0,20			
Gesamt	8,50	24				

**Tabelle 6-20: Student-Newman-Keuls-Test 1: Permeationsrate der emulgatorhaltigen Schäume durch dermatomisierte Haut**

Anzahl Ergebnisse	Gruppen	Wiederholungen	Freiheitsgrade (FG)	Sin2
25	5	5	20	0,20

**Tabelle 6-21: Student-Newman-Keuls-Test 2: Permeationsrate der emulgatorhaltigen Schäume durch dermatomisierte Haut**

Vergleich	Ergebnis	k	q	D	signifikant
5 minus 4	0,87	2	2,95	0,60	ja
5 minus 3	0,97	3	3,58	0,72	ja
5 minus 2	1,04	4	3,96	0,80	ja
5 minus 1	1,19	5	4,23	0,86	ja
4 minus 3	0,10	2	2,95	0,60	nein
4 minus 2	0,17	3	3,58	0,72	nein
4 minus 1	0,32	4	3,96	0,80	nein
3 minus 2	0,07	2	2,95	0,60	nein
3 minus 1	0,22	3	3,58	0,72	nein
2 minus 1	0,15	2	2,95	0,60	nein