



universität  
wien

# DIPLOMARBEIT

Einfluss von Phytosphingosin in Lecithin- Nanoemulsionen auf das physikalisch-chemische Verhalten und die Haut-Diffusion von Fluconazol und Flumethasonpivalat

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Verfasserin / Verfasser: Marie-Therese Mangold  
Matrikel-Nummer: 0203464  
Studienrichtung /Studienzweig Pharmazie  
(lt. Studienblatt):  
Betreuerin / Betreuer: Ao.Univ.-Prof.Dr.Claudia Valenta

Wien, im

11. Mai 2009



## Danksagung

Ich möchte mich bei Herrn O.Univ.-Prof.Mag.Pharm.Dr. Helmut Viernstein bedanken für das Ermöglichen meiner Arbeit am Department für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie.

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Betreuerin Ao. Univ. – Prof. Mag. Pharm. Dr. Claudia Valenta bedanken, die mir eine hervorragende Unterstützung während der gesamten Arbeit geboten hat, und mit der ich viele anregende Gespräche führen durfte.

Weiters möchte ich mich auch bei Dr. Mag.Pharm. Sonja Höller bedanken, die mir oft mit Tipps zur Seite gestanden und mir Mut gemacht hat, und die mich mit Schokolade als Nervennahrung gestärkt hat!

Ein großes Dankeschön gilt auch Mag.Pharm. Amra Hasanovic und Mag.Pharm. Victoria Klang, die mir oft wertvolle Ratschläge gaben und mit denen ich in unzähligen Kaffee-und Mittagspausen viel Spaß hatte.

Ich möchte mich auch bei meinen Studienkollegen und Freunden bedanken, die mich immer aufgeheitert haben und mir mit Witz und Sarkasmus über manche schwere Stunden geholfen haben. Ganz besonders gilt das auch für meinen Freund Hermann, der mich mit gutem Essen versorgt hat und mir so manche Probleme mit Excel lösen konnte.

Schliesslich möchte ich mich noch bei meiner Familie, besonders meinen Eltern bedanken, die immer an mich geglaubt haben und mich mein ganzes Studium lang unterstützt haben.



# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Allgemeiner Teil.....</b>	<b>3</b>
2.1. Die Haut.....	3
2.2. Nanoemulsionen.....	5
2.3. Tenside.....	8
2.3.1. Polysorbate.....	11
2.3.2. Saccharoselaurat.....	13
2.3.3. Lecithine.....	15
2.4. Penetrationsfördernde Substanzen.....	16
2.5. Phytosphingosin.....	17
2.6. Fluconazol.....	19
2.7. Flumethasonpivalat.....	21
<b>3. Methoden.....</b>	<b>24</b>
3.1. Rezeptur und Herstellung der Nanoemulsion.....	24
3.2. Physikalisch- chemische Parameter.....	30
3.2.1. Teilchengröße.....	30
3.2.2. Zetapotential.....	32
3.2.3. PH Wert.....	34
3.3. In-vitro Permeationsversuche.....	35
3.3.1. Die Franz Zelle.....	35
3.3.2. Versuchsanordnung.....	37
3.3.3. HPLC Analytik.....	39
3.3.3.1. Fluconazol.....	40
3.3.3.2. Flumethasonpivalat.....	43
<b>4. Ergebnisse.....</b>	<b>46</b>
4.1. Ergebnisse der physikalisch-chemischen Charakterisierung.....	46
4.1.1. Fluconazolhaltige Nanoemulsionen.....	46
4.1.2. Flumethasonpivalathaltige Nanoemulsionen.....	53

4.2. Hautpermeation.....	62
4.2.1. Fluconazolhaltige Nanoemulsionen.....	62
4.2.2. Flumethasonpivalathaltige Nanoemulsionen.....	63
<b>5. Diskussion.....</b>	<b>66</b>
<b>6. Zusammenfassung.....</b>	<b>69</b>
<b>7. Anhang.....</b>	<b>71</b>
<b>8. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>83</b>
<b>9. Lebenslauf.....</b>	<b>86</b>



## 1. Einleitung

Schon seit frühen Zeiten spielen topische Zubereitungen zur Anwendung auf der Haut eine wichtige Rolle bei der Behandlung verschiedener Erkrankungen. Der entsprechende Wirkstoff kann dabei lediglich in den oberen Hautschichten verbleiben oder aber in tiefere Hautschichten eindringen und dann eine systemische Wirkung erzielen. Generell kann eine große Anzahl von Arzneistoffen nur in ungenügendem Ausmaß die Hautbarrieren, insbesondere das Stratum corneum, durchdringen (1).

Als vielversprechende neue Darreichungsform hat sich in der letzten Zeit die Nanoemulsion herauskristallisiert. Aufgrund ihrer Eigenschaft über sehr kleine Partikel zu verfügen, kann die Hautpenetration bestimmter Wirkstoffe in tiefere Hautschichten entscheidend verbessert werden. Dabei ist es auch besonders wichtig, eine gute Hautverträglichkeit der Zubereitungen zu erzielen (2).

In zahlreichen Untersuchungen und Studien konnte bereits nachgewiesen werden, dass geladene Nanoemulsionen eine verstärkte Hautpermeation bewirken können (2, 3, 4). Insbesondere positiv geladene Nanoemulsionen können dabei die Wirkstoffaufnahme durch vermehrte Wechselwirkungen mit der negativ geladenen Haut erhöhen.

Zur Einbringung einer positiven Ladung hat sich das in der Haut physiologisch vorkommende Phytosphingosin als erfolgreich erwiesen. Für die topische Anwendung besonders interessant ist Phytosphingosin auch aufgrund seiner antiinflammatorischen und antimikrobiellen Eigenschaften (4).

Ziel unserer Arbeit war es nun einerseits, aufbauend auf vorangegangene Untersuchungen, den Einfluss von Phytosphingosin auf die physikalisch-chemische Stabilität von Nanoemulsionen zu untersuchen, andererseits einen möglichen Einfluss der Sphingoidbase auf die Hautpermeation ausgewählter Arzneistoffe zu überprüfen.

Hierfür verwendeten wir eine Lecithin-Nanoemulsion, deren Rezeptur sich in einer vorangegangenen Untersuchung bereits als günstig und stabil erwiesen hat. Lecithin erfüllt dabei die Anforderungen einer guten Hautverträglichkeit und geringen Toxizität, die für topische Zubereitungen sehr wichtig sind (2).

Anschliessend wurde Phytosphingosin in unterschiedlicher Konzentration inkorporiert.

Als Modellarzneistoffe wählten wir das hydrophile Fluconazol und das eher lipophile Flumethasonpivalat, um einen möglichen Einfluss von Phytosphingosin in Abhängigkeit von ausgewählten Arzneistoffen auf die Hautpermeation und die Stabilität der Zubereitung zu untersuchen.

Abschließend wollten wir noch untersuchen, wie weit die physikalisch-chemische Stabilität der Nanoemulsion durch die Verwendung unterschiedlicher Emulgatoren in Kombination mit Fluconazol bzw. Flumethasonpivalat und Phytosphingosin beeinflusst wird.

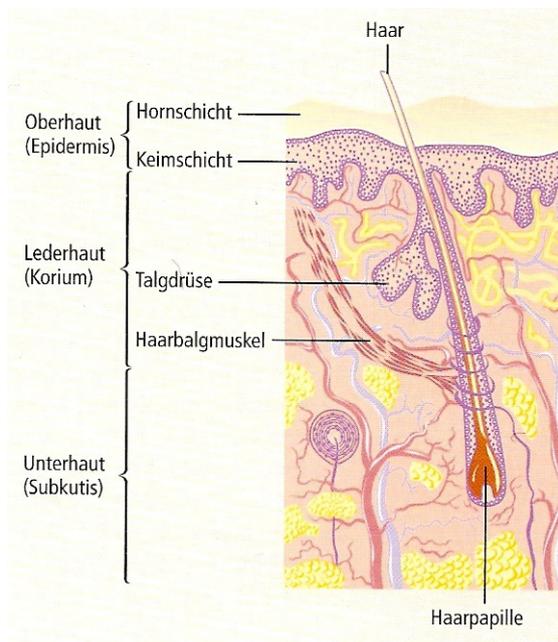
## 2. Allgemeiner Teil

### 2.1 Die Haut

Die Haut als das größte menschliche Organ besitzt eine Dicke von 1- 4 mm und eine Fläche von 1,6- 2,0 m<sup>2</sup>. Sie wird unterteilt in die Epidermis, Dermis und Subcutis.

Hauptaufgabe der Haut ist es eine schützende Schranke zwischen Umwelt und innerem Milieu zu bilden und dabei das Eindringen von Mikroorganismen zu verhindern, und die Gewebe vor chemischen, physikalischen oder mechanischen Schädigungen zu bewahren. Gleichzeitig steuert die Haut den Verlust von Wasser und fungiert als Wärmeregulator (1, 5).

Abb. 1: senkrechter Schnitt durch die Haut (5)



Hauptverantwortlich als Barriere und Speichersystem ist das Stratum corneum, eine aus abgeplatteten, vollständig verhornten, kernlosen Zellen bestehende Schicht der Epidermis.

Das Stratum corneum verhindert die Aufnahme von Fremdstoffen, kann aber andererseits zahlreiche Stoffe binden, die dann nur langsam wieder freigesetzt werden (5).

Die Eindringfähigkeit von Fremdstoffen über das Stratum corneum in die intakte Haut ist sehr gering, Grund hierfür liegt im Aufbau der Hornschicht, dem sogenannten „Ziegel-Mörtel Prinzip“.

Bis zu 20 Schichten Korneozyten sind eingebettet als hydrophile Barrieren in einem Lipidgemisch, das hauptsächlich aus Ceramiden, Cholesterol und Cholesterolestern besteht, damit wird eine recht undurchdringliche Barriere für viele Stoffe gebildet (1).

Die Aufnahme von Stoffen durch die Hornschicht erfolgt mittels passiver Diffusion entlang eines Konzentrationsgefälles. Dabei gibt es prinzipiell 2 Möglichkeiten. Einerseits den interzellularen Weg durch die lipidreichen Interzellularräume der Hornschicht, den vor allem lipophile Stoffe verwenden können, andererseits den transzellularen Weg, der abwechselnd durch die Korneozyten und die Lipidmatrix verläuft. Der transzelluläre Weg spielt nach neuesten Erkenntnissen eine untergeordnete Rolle, ebenso wie der Transport entlang von Schweißdrüsen und Haarfolikeln (1).

Faktoren, die die Permeation eines Arzneistoffes aus einer Arzneiform in die Haut beeinflussen können, sind unter anderem: die Beschaffenheit der Haut, Eigenschaften des Arzneistoffes - wie Molekülgröße und Diffusionsvermögen, sowie Vehikeleigenschaften der Arzneiform selbst.

Die besten Voraussetzungen für die Penetration in das Stratum corneum und die Permeation dieser Barriere sind gegeben, wenn es sich bei dem Arzneistoff um einen lipophilen mit einer gewissen Wasserlöslichkeit handelt. Die Permeation von Fetten und fetten Ölen, wie auch von stark hydrophilen Stoffen ist hingegen gering (1, 6).

Neue Transportmöglichkeiten für gerade solche Arzneistoffe sind daher ein beliebtes Forschungsgebiet.

## 2.2 Die Nanoemulsion

Die Nanotechnologie gilt als die Zukunftstechnologie schlechthin. Sie beschäftigt sich mit kleinsten Strukturen, ein Nanometer ist ein millionstel Millimeter (7).

Als Nanoemulsionen bezeichnet man Emulsionen mit einer durchschnittlichen Partikelgröße von 50- 200 nm. Manchmal werden sie auch mit dem Namen „Miniemulsionen“ benannt.

Nanoemulsionen sind nur kinetisch stabil, im Gegensatz zu Mikroemulsionen, die auch thermodynamisch stabil sind.

Die physikalische Stabilität von Nanoemulsionen, die über einen sehr langen Zeitraum bestehen kann, ohne sichtbare Anzeichen von Koagulation, macht sie als Zubereitung einzigartig, so dass sie manchmal auch als „annähernd thermodynamisch stabil“ bezeichnet werden (8).

Ein weiterer Unterschied zur Mikroemulsion ist, dass die Nanoemulsion durch Verdünnung mit Wasser keine Veränderung der Teilchengrößenverteilung erfährt (9).

Im Unterschied zur Mikroemulsion entsteht die Nanoemulsion nicht spontan sondern erfordert den Einsatz hoher Energie und/oder Emulgatoren. Trotzdem ist die benötigte Menge an Emulgatoren für Nanoemulsionen weitaus geringer als für Mikroemulsionen, die Emulgatorkonzentrationen von bis zu 20% enthalten können (8).

Der hohe Energieeinsatz bei der Herstellung von Nanoemulsionen kann durch den Laplace'schen Druck verstanden werden. Dieser steigt an, wenn die einzelnen Tröpfchen durch starke Deformationskräfte in kleinere zerteilt werden.

Je kleiner der erwünschte Teilchendurchmesser daher ist, desto mehr Energie wird für seine Herstellung benötigt (8).

Es gibt nun drei geläufige Methoden um Nanoemulsionen herzustellen. Die Verwendung von Hochdruckhomogenisatoren zusammen mit einer entsprechenden Menge an Emulgatoren, weiters gibt es die sogenannte

„Niedrig-Energiemethode bei konstanter Temperatur“, sowie das „Phasen-Inversions-Temperaturkonzept“.

Die verschiedenen Methoden liefern auch unterschiedliche Resultate (8).

In unserer Arbeit wurde mit einem Hochdruckhomogenisator gearbeitet.

Die Vorteile der Nanoemulsionen als Arzneistoffträgersysteme lassen sich schon aus ihrer Struktur erklären.

Man kann dabei zwischen O/W und W/O Emulsionssystemen unterscheiden, in dieser Arbeit wurde mit O/W Nanoemulsionen gearbeitet.

Die untersuchten O/W Nanoemulsionen bestehen aus einer Phospholipidschicht mit einem nach innen gerichteten lipophilen flüssigen Kern. Daher sind sie vorzüglich zum Einarbeiten von lipophilen Arzneistoffen geeignet (6).

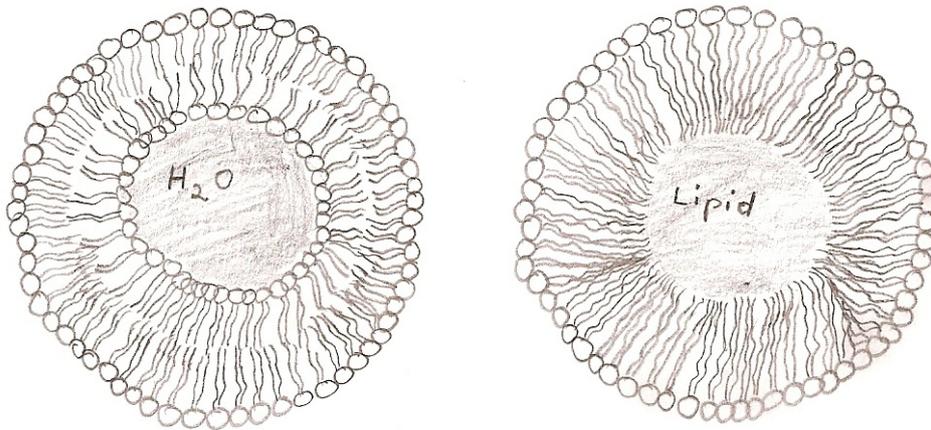
Weiters können Nanoemulsionen, so wie auch Liposomen, aufgrund ihrer Phospholipidschicht mit der lamellaren Lipidstruktur der Hornhaut interagieren und damit zu einer erhöhten Arzneistoffpermeation in der Haut führen.

Vor allem die Penetration schwer wasserlöslicher Arzneistoffe kann durch Nanoemulsionen entscheidend verbessert werden (6).

Obwohl die Nanoemulsionen ähnlich wie die Liposomen mit dem Stratum corneum interagieren, zeigen sie doch einen anderen Aufbau. Liposomen bestehen aus einer Phospholipid-Doppelschicht, die einen wässrigen Innenraum von einem wässrigen Aussenmilieu abschliesst. Der Phospholipidaufbau gleicht dabei jenem der Haut.

Aufgrund des hydrophilen Zentrums können Liposomen aber deutlich schlechter lipophile Arzneistoffe aufnehmen als Nanoemulsionen (6).

Abb. 2: schematische Struktur von Liposom (links) und Nanoemulsion (rechts)



Unter den medizinischen Anwendungsmöglichkeiten für Nanoemulsionen finden sich neben topischen auch parenterale Zubereitungen, um Nebenwirkungen stark wirksamer Arzneistoffe zu reduzieren. Weiters werden sie auch für orale Zubereitungen eingesetzt um die Bioverfügbarkeit zu erhöhen, und schliesslich finden sie auch Anwendung in der Augenheilkunde (3).

Ebenso können Nanoemulsionen den kosmetischen Markt erobern. In einer Studie an Probanden hat sich gezeigt, dass eine Nanoemulsion, im Vergleich mit einer Körpermilch und einem Körperwasser, eine wesentlich bessere Hydratation der Haut bewirken konnte. Auch fühlte sich für über 80 % der getesteten Personen die Nanozubereitung wesentlich angenehmer und sanfter auf der Haut an (10).

Auch bei Anwendungen auf der Haut kann jedoch bei der Verwendung von Nanoemulsionen nicht auf den Einsatz von Tensiden verzichtet werden, um ausreichende Stabilität für eine großindustrielle Nutzung zu erreichen.

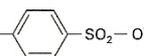
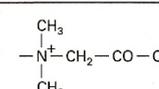
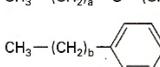
## 2.3 Tenside

Bei den Tensiden handelt es sich um grenzflächenaktive Substanzen. Sie verfügen sowohl über hydrophile als auch lipophile Molekülteile und haben daher einen amphiphilen Charakter (1). Sie sind in der Lage heterogene Mischungen zu stabilisieren, in dem Zusammenhang werden sie häufig auch als Emulgatoren bezeichnet.

Hydrophile Gruppenteile sind meist geladene Verbindungen, wie z.B. Carboxylate, Sulfonate oder Sulfate. Bei den hydrophoben Bestandteilen handelt es sich häufig um Kohlenwasserstoffketten. Wichtig ist hierbei auch, dass ein Stoff nur dann eine stärkere Tensidwirkung haben kann, wenn der hydrophobe Molekülbereich eine gewisse Mindestgröße von 8 Kohlenwasserstoffatomen überschreitet (11).

Nach Art der hydrophilen Kopfgruppe kann man zwischen anionischen, kationischen, amphoteren und nichtionischen Tensiden unterscheiden (1).

Abb. 3: Übersicht der Tenside (12)

Typ	hydrophiler Rest	bestimmendes Element	Name
Anion-tenside	$-\text{COO}^-$	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_a-\text{COO}^-$	$\text{Na}^+$ Seifen, Na-Salze von Fettsäuren
	$-\text{O}-\text{SO}_2-\text{O}^-$	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{SO}_2-\text{O}^-$	$\text{Na}^+$ Fettalkohol-sulfate
	$-\text{SO}_2-\text{O}^-$	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_a-\text{SO}_2-\text{O}^-$	$\text{Na}^+$ Alkylsulfonate
		$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_b-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_2-\text{O}^-$	$\text{Na}^+$ Alkylbenzol-sulfonate
	$-\text{CO}-\text{N}(\text{R})-(\text{CH}_2)_2-\text{SO}_2-\text{O}^-$	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_a-\text{CO}-\text{N}(\text{R})-(\text{CH}_2)_2-\text{SO}_2-\text{O}^-$	$\text{Na}^+$ fettsäure-acylierte Aminoethyl-sulfonate
Kation-tenside		$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_a-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$	$\text{Cl}^-$ Tetraalkyl-ammonium-chlorid (Invertseifen)
Ampho-tenside, zwitter-ionisch		$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_a-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{O}^-$	N-Alkylbetain
nicht-ionogene Tenside (Nonionics)	$-\text{O}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_c-\text{H}$	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_c-\text{H}$	Alkohol-ethoxylierte
			Alkylphenol-ethoxylierte
(Wasserstoffbrückenbrückenaktivität)	$-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_a-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$	Fettsäure-ethanolamid

Die Wirkung der Tenside beruht darauf die Oberflächenspannung von Flüssigkeiten herabzusetzen. Löst man eine minimale Menge von Tensiden in Wasser auf, so werden die hydrophilen Teile des Tensidmoleküls mit dem Wassermolekül H- Brücken ausbilden. Der hydrophobe Molekülteil wird aus dem Wasser herausgedrängt, und die Oberfläche des Wassers wird mit einem dünnen Tensidfilm überzogen. Das Wasser bekommt so eine neue Grenzfläche aus Tensiden, und die Oberflächenspannung und Grenzflächenspannung wird stark reduziert (11).

Die Oberflächenspannung verringert sich etwa proportional zur gelösten Menge an Tensid. Ab einer gewissen Konzentration ändert sich die Oberflächenspannung aber kaum noch, zusätzliches Tensid löst sich nicht mehr sondern bildet Mizellen aus. Dieser Vorgang wird als „kritische Mizellenbildungskonzentration“ bezeichnet.

In einer Emulsion lagert sich das Tensidmolekül dabei mit seinen hydrophoben Bereichen an die Fetttropfchen an, die im Wasser dispergiert worden sind (11).

#### Anionenaktive Tenside:

Hierbei handelt es sich um Salze eines amphiphilen Anions und eines anorganischen oder organischen Kations. In wässriger Lösung sind sie dissoziiert, verantwortlich für die Emulgatorwirkung ist das Anion.

Klassische Vertreter sind die sogenannten Alkaliseifen, wie z.B. Salze der Palmitinsäure und Stearinsäure.

Nachteilig ist, dass sie oft eine gewisse Empfindlichkeit gegenüber Wasserhärte zeigen (1).

#### Kationenaktive Tenside:

Sie sind Salze aus einem amphiphilen Kation und einem organischen oder anorganischen Anion. Die Emulgatorwirkung geht hierbei von dem Kation aus. Oft handelt es sich um quartäre Ammoniumverbindungen, bei denen Wasserstoffatome durch organische Reste ersetzt sind.

Sie wirken meist hautreizend und werden häufig als Konservierungsmittel und Desinfektionsmittel eingesetzt (1).

### Amphotere Tenside:

Es handelt sich hierbei um chemische Verbindungen, die sowohl anionisch, als auch kationische Gruppen in ihrer Struktur aufweisen, und je nach Bedingungen des Mediums in anionischer, kationischer oder neutraler Form vorliegen können. Wichtigste Vertreter sind die Phospholipide (1).

### Nichtionogene Tenside:

Nichtionische Tenside unterscheiden sich von den ionischen Tensiden durch die Abwesenheit einer Ladung an ihrem Molekül. Sie reagieren neutral, ausserdem werden sie weniger durch Elektrolyte beeinflusst und verhalten sich indifferent gegenüber chemischen Einflüssen (1).

Sie verursachen oft deutlich weniger Irritationen als anionische oder kationische Emulgatoren.

Hydrophile Bestandteile sind häufig Polyoxyethylengruppen oder Polyoxypropylene, als hydrophober Molekülteil fungieren Kohlenwasserstoffketten oder Ringsysteme.

Durch Variierung der Anzahl der hydrophilen Moleküle oder durch Änderung der Kettenlängen erreicht man eine große Bandbreite an hydrophilen – lipophilen Eigenschaften.

Dargestellt wird das mit dem HLB Wert ( hydrophilic-lipophilic balance).

Diese Skala geht von 0 bis 20, wobei ein Emulgator, der sich dem Wert 0 annähert, eine verstärkte Lipophilie aufweist, gegenüber einem, der bei 20 liegt und damit das Maximum an Hydrophilie belegt.

Nichtionische Emulgatoren wurden in den letzten Jahren in der Pharmazie immer wichtiger, da sie schlecht lösliche Substanzen löslich machen können (13).

### 2.3.1. Polysorbate

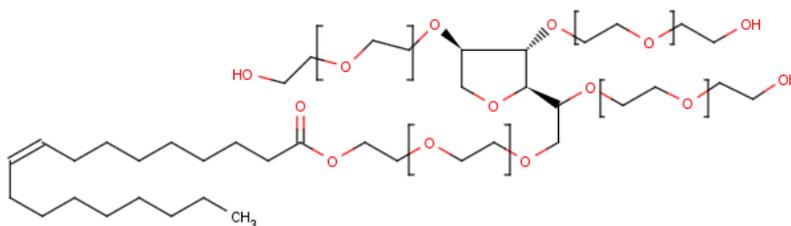
Diese Gruppe der Emulgatoren gehört zu den nichtionogenen Tensiden. Es handelt sich dabei um Partialfettsäureester des Polyoxyethylensorbitans (1). Die Laurin-, Palmitin-, Stearin- und Ölsäureester werden als Span® gehandelt. Die Span® Reihe ist sehr lipophil, diese werden daher als W/O Emulgatoren eingesetzt.

Durch Wahl verschiedener Fettsäuren, mit denen Polyoxyethylensorbitane verestert werden können, lässt sich die Hydrophilie (HLB Wert) der Polysorbate steuern (13).

Als Firmenbezeichnungen der Polysorbate wird Tween® verwendet.

Die gängigsten Typen sind Tween® 20, Tween® 40, Tween®60 und Tween® 80, wobei diese Zahlen willkürlich gewählt wurden.

Abb. 4: Struktur des Polysorbat 80



Im Arzneibuch (Ph.Eur.6.3) werden Tween® als Polysorbate bezeichnet.

Sie werden sehr weitläufig in der Pharmazie und kosmetischen Industrie eingesetzt. Unter anderem werden sie zur Herstellung von Emulsionen, Zubereitung von Suspensionen zur oralen und parenteralen Anwendung, und als Lösungsvermittler verwendet. Zum Beispiel in Canesten® oder Ketoderm® 2% kommen Polysorbate 60 und 80 zur Anwendung.

Auch Hormone, wie Progesteron oder Corticoide, sowie eine große weitere Anzahl lipophiler Arzneistoffe, werden in Lösungen oder Emulsionen mit Hilfe der Polysorbate dispergiert oder gelöst (13).

Auch eine verbesserte Hautpenetration kann mit Hilfe von Polysorbaten erreicht werden. Dies gelingt ihnen einerseits durch eine Penetration in die Hornhaut, wodurch es zu einer erhöhten Flexibilität kommt und Lipidteile herausgelöst werden, andererseits durch eine Anbindung und Interaktion mit Keratinfilamenten innerhalb der Korneozyten (2).

Folgende Polysorbate sind bekannt:

Polysorbat 20: mit Laurinsäure verestert, praktisch unlöslich in fetten Ölen, mischbar mit Wasser. HLB Wert : 16,7  
geführt im Ph.Eur. 6.3 als Mischung aus Partialestern von Fettsäuren (hauptsächlich Laurinsäure) mit Sorbitolanhydrid und ethoxyliert mit etwa 20 mol Ethylenoxid.

Polysorbat 40 : mit Palmitinsäure verestert, HLB Wert: 15,6;  
nicht geführt im Ph.Eur. 6.3

Polysorbat 60: mit Stearinsäure verestert, halbflüssig, HLB Wert: 14,9;  
nicht geführt im Ph.Eur. 6.3

Polysorbat 80: mit Ölsäure verestert, Löslichkeiten ähnlich Polysorbat 20, HLB Wert: 15;  
geführt im Ph.Eur. 6.3 als Mischung aus Partialestern von Fettsäuren (hauptsächlich Ölsäure) mit Sorbitolanhydrid und ethoxyliert mit etwa 20 mol Ethylenoxid (12).

In der vorliegenden Arbeit wurde mit Polysorbat 80 gearbeitet.

### **2.3.2. Saccharoselaurat**

Auch bei Saccharoselaurat handelt es sich um ein nichtionisches Tensid. Es wird zur Gruppe der Zuckertenside gezählt, da es eine Zuckerverbindung enthält (1).

Häufig handelt es sich dabei um Saccharose oder Glucose. Die Hydroxylgruppen des Zuckermoleküls werden partiell mit Fettsäuren (C12- C18) verestert (13).

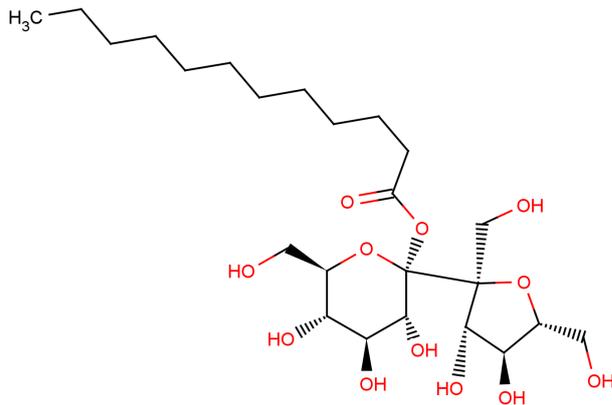
Dabei kann es zur Bildung von Mono- bis Octa- Saccharosefettsäureestern kommen, da ein Saccharosemolekül 8 Hydroxylgruppen für eine mögliche Veresterung zur Verfügung hat.

Entsprechend dem unterschiedlichen Veresterungsgrad und der Art der Fettsäure, die verwendet wurde, können Saccharosefettsäureester sehr unterschiedliche HLB Werte besitzen (14).

Als positive Eigenschaften gelten bei den Zuckertensiden ihre geringe Toxizität sowie eine Geruchs- und Geschmacksneutralität, wodurch sie häufig in Nahrungsmitteln zum Einsatz kommen. In der pharmazeutischen Industrie und Kosmetik werden sie oft eingesetzt, da sie als wenig, bis gar nicht irritierend für Augen und Haut gelten. Weiters verfügen Saccharosefettsäureester über ein antibakterielles Potential, und Emulsionen erhalten durch ihren Einsatz auf der Haut eine angenehme Weichheit (13, 14).

Am gebräuchlichsten werden Saccharosepalmitat, Saccharosestereat, oder Saccharoselaurat verwendet. Bei der vorliegenden Arbeit wurde mit einem Saccharoselaurat gearbeitet, das sich laut Herstellerinformation aus über 80 % Mono, Di und Triestern zusammensetzt (15).

Abb. 5: Struktur des Saccharoseesters Saccharoselaurat



Saccharoselaurat verfügt über einen HLB Wert von 13 und wird daher vor allem für O/W Emulsionen verwendet. Saccharosemonolaurat ist bis 30 % löslich in Wasser und besitzt ein weissliches Aussehen. Die meisten anderen Zuckerester sind hingegen wasserunlöslich, aber dispergierbar und teilweise in Ethanol löslich (1).

In verschiedenen Untersuchungen wurde die Steigerung der Permeation und Penetration von Arzneistoffen durch die Haut mit Hilfe von Saccharoseestern untersucht. Besonders Saccharoselaurat zeigte in 2 Studien eine deutliche Permeationssteigerung verschiedener Arzneistoffe und eine bessere Wirkung als Saccharoseoleat (16, 17, 18).

Diese Wirkung ist zurückzuführen auf die langen Hydrocarbonketten der Zuckerester, die sich in die lipophilen Ceramidschichten der Haut drängen, und dadurch dem Saccharosering eine Interaktionsmöglichkeit mit den polaren Lipidköpfen ermöglichen (16).

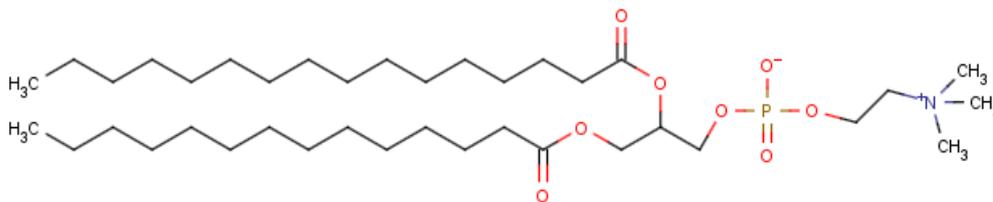
### 2.3.3. Lecithine

Lecithine werden zu der Gruppe der amphoteren Tenside gezählt und gelten als natürliche Emulgatoren.

Chemisch gesehen handelt es sich bei den Lecithinen um Phospholipide, die auch Phosphatide genannt werden. Phospholipide sind Ester, bestehend aus Glycerol in Kombination mit Fettsäuren, Phosphorsäure und einer N-hältigen Komponente, und sie sind essentieller Bestandteil tierischer und pflanzlicher Zellen (1, 13).

Bei Lecithin handelt es sich bei der N-hältigen Komponente um Cholin, weshalb es auch Phosphatidylcholin genannt wird (1).

Abb. 6: Struktur des Lecithin



Lecithin wird als fette bis wachsähnliche, bräunliche und hygroskopische Substanz beschrieben, die hauptsächlich aus Pflanzensamen oder Eigelb gewonnen wird. Während Lecithine in Wasser nur aufquellen, sind sie in Ether, Chloroform, Ethanol und fetten Ölen löslich (12).

Generell spricht man in der Industrie von Lecithin als ein Gemisch aus Phosphatidylcholinen, Phosphatidylethanolaminen, Phosphatidylserinen und Phosphatidylinositol sowie einigen Glycolipiden und Triglyceriden (13).

Das sehr häufig verwendete Sojalecithin besteht zu 50% aus Phosphatidylcholin, zu 10% aus Phosphatidylethanolamin, zu 5% aus Phosphatidylinositol und zu 1-2% aus Serinkephalin (12).

Lecithine gelten als nicht toxisch und verursachen keine Hautirritationen und werden daher in Pharmazie und Kosmetik eingesetzt (2).

In der pharmazeutischen Industrie werden sie bevorzugt als Emulgatoren in intravenösen Emulsionszubereitungen verwendet (13).

Es zeigte sich auch in Studien, dass Lecithinprodukte mit einem hohen Phosphatidylcholinanteil von bis zu 90% ( zb. Lipoid S 100®) sehr stabile Nanoemulsionen bilden (6).

Bei Anwendung auf der Haut können Lecithine durch ihre große Affinität zu Zellmembranen eine verstärkte Absorption bestimmter Arzneistoffe bewirken (2).

## **2.4. Penetrationsfördernde Substanzen**

Unter penetrationsfördernden Substanzen, die auch „Enhancer“ genannt werden, versteht man Stoffe, die den Widerstand des Stratum corneum gegenüber dem Eindringen von Arzneistoffen senken. Klassische Vertreter sind Ethanol, Propylenglykol oder Dimethylsulfoxid (1).

Diese Penetrationserhöhung kann auf verschiedene Weise erreicht werden. Entweder durch Veränderungen der Lipidbereiche des Stratum corneum, oder durch entsprechende Modifizierung der Proteinbestandteile (19). Auch eine Beeinflussung der Wirkstoffverteilung in der Hornschicht kann penetrationsfördernd wirken.

Die Aufnahme polarer Arzneistoffe wird vor allem durch Wechselwirkung des „Enhancers“ mit den polaren Kopfgruppen der Lipidschicht verstärkt. Demgegenüber wird die Diffusion von unpolaren Verbindungen durch Einschieben zwischen die Kohlenstoffgruppen erhöht (19).

Das Stratum corneum erholt sich aber sehr schnell wieder von dieser Änderung, so dass ein neuer Ansatzpunkt in der verbesserten Wirkung von „Enhancern“ darin bestehen könnte Substanzen beizufügen, die diese Regeneration verzögern.

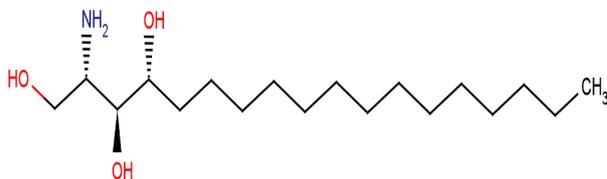
Ein großes Problem beim Einsatz von penetrationsfördernden Substanzen ist ihre Hautverträglichkeit. Da sie meist in sehr hohen Konzentrationen einer Mischung zugegeben werden müssen ( oft bis zu 50% ), verursachen sie häufig Hautirritationen (1).

Es ist daher wichtig Stoffe zu finden, die eine hohe Wirksamkeit mit einer guten Hautverträglichkeit kombinieren.

## 2.5. Phytosphingosin

Phytosphingosin ist eine freie ambiphile Sphingoidbase (2S-amino-1, 3S, 4R-octadecanetriol) mit einem  $pK_b$  Wert von 9, die bei physiologischem pH Wert der Haut in vorwiegend protonierter Form vorliegt (4).

Abb. 7: Struktur des Phytosphingosin



Phytosphingosin findet sich natürlicherweise im menschlichen Körper, besonders stark kommt es im Stratum corneum vor, wo es über eine Amidbindung mit Fettsäuren die Ceramide 3 und 6 bildet (20).

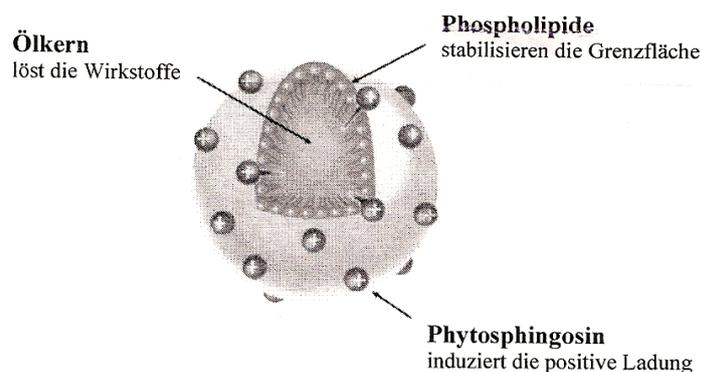
Die Sphingoidbase hat eine starke antimikrobielle und antiinflammatorische Aktivität und spielt deswegen eine wesentliche Rolle im hauteigenem Abwehrsystem. Phytosphingosin soll auch, zusammen mit weiteren Ceramidderivaten wie Sphingosin und 6-Hydroxysphingosin, epidermale Zelldifferenzierung als Zellsignalmediator in die Wege leiten (4, 21).

Topische Zubereitungen mit Phytosphingosin führen ausserdem laut einer aktuellen Studie zu einer Erhöhung der Hornhautceramide in der Haut und verbessern so insgesamt die Schutzwirkung des Stratum corneum (20).

Es ist bekannt, dass durch Ceramidmangel in der Haut Erkrankungen wie Psoriasis oder Ichtyosen auftreten können (6).

Darüber hinaus konnte bewiesen werden, dass mit Phytosphingosin eine Nanoemulsion positiv geladen werden kann, und dass die Hautpermeation bestimmter Arzneistoffe dadurch gesteigert werden kann (2, 4, 20).

*Abb. 8: Aufbau eines durch Phytosphingosin positiv geladenen Nanoemulsionsteilchens (6).*



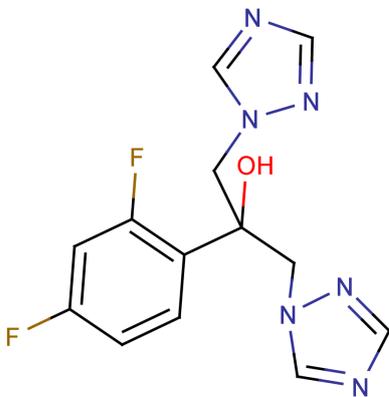
Das Phytosphingosinmolekül besetzt in einer Nanoemulsion die O/W Grenzfläche und durch Bildung einer positiven Ladung kommt es zwischen den Nanoemulsionsteilchen zu einer verstärkten Abstoßung. Das erhöht in wesentlichem Ausmaß die Stabilität der Zubereitung (6).

Augenscheinlich vereinigt Phytosphingosin eine gute Hautverträglichkeit, mit penetrationsfördernder Wirkung und kann dabei gleichzeitig als stabilisierender Faktor in Nanoemulsionen eingesetzt werden.

## 2.6. Fluconazol

Fluconazol ist ein Breitbandantimykotikum, das zur Gruppe der Azolderivate gehört. Die chemische Bezeichnung lautet 2-(2,4-Difluorphenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)-propan-2-ol. Das Molekulargewicht beträgt 306,3 . Das Aussehen der Substanz wird als weiß und kristallin bezeichnet, Fluconazol ist wasserlöslich (12, 22).

Abb. 9: Struktur des Fluconazol



Üblicherweise wird Fluconazol oral oder intravenös verwendet, die Bioverfügbarkeit beträgt bei oraler Anwendung 90%. Die maximale Plasmakonzentration wird nach 1 bis 2 Stunden erreicht, die Halbwertszeit beträgt etwa 30 Stunden. Primär wird Fluconazol über die Niere ausgeschieden. Wechselwirkungen treten mit sehr vielen Arzneistoffen auf, unter anderem Warfarin, Phenytoin und Cyclosporin (22).

Alle Azolderivate erhalten ihre fungistatische Wirkung durch Hemmung der Ergosterol Biosynthese. Ergosterol spielt eine wesentliche Rolle in der Zellmembran von Pilzen, wo es für die Fluidität, Struktur und Funktionalität der Phospholipid-Bilayer verantwortlich ist. Essentiell für die Wirkung der Azolverbindungen ist ihr Imidazol - bzw Triazolring. Dieser hat eine hohe Affinität zur Cytochrom P450 abhängigen Monooxygenase, die wiederum an der Ergosterolbiosynthese beteiligt ist.

Durch Verarmung an Ergosterol geht der Pilz letztendlich zu Grunde (6).

Fluconazol hat, wie alle Azolderivate, vor allem Nebenwirkungen auf den Verdauungstrakt, hier kommt es häufig zu Krämpfen, Durchfall und Übelkeit. Aber auch Kopfschmerzen und Hautausschläge werden häufig bei der Einnahme gemeldet. Selten kann es durch Fluconazol zu Hepatotoxizität kommen (22).

Wie schon erwähnt ist die Hauptanwendung für Fluconazol oral oder intravenös. Azolderivate, die topisch verwendet werden, bilden meist ein Reservoir in der Hornschicht der Haut, manche Verbindungen können dann in tiefe Epidermisschichten eindringen und so eine systemische Wirkung zeigen (19).

Oft ist die Bioverfügbarkeit über die Haut aber sehr eingeschränkt, und es können nicht die therapeutisch relevanten Dosen zur Behandlung schwerer Mykosen erzielt werden(6).

Fluconazol wurde nun in einer Studie auch auf eine topische Wirkung untersucht zur Behandlung von Keratomykosis, einer Pilzinfektion der Hornhaut. Dabei zeigte sich, dass Fluconazol bei einer Konzentration von 0,2% eine gute topische Wirkung hat (23).

In der vorliegenden Arbeit wurde Fluconazol verwendet, da es aufgrund seiner Struktur eine gute Löslichkeit in der verwendeten Nanoemulsion zeigte und sich dadurch als hydrophiler Modellarzneistoff eignete.

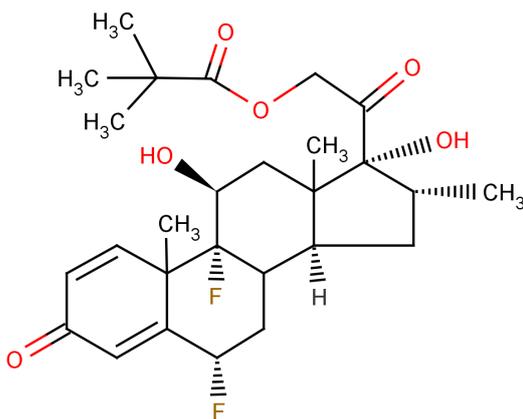


Wie schon erwähnt handelt es sich bei Flumethasonpivalat um ein Glukocorticoid und es wird zur topischen Behandlung von Hautentzündungen eingesetzt. Flumethasonpivalat besitzt wie alle Corticosteroide eine Steroidgrundstruktur.

Seine vollständige chemische Bezeichnung lautet  $6\alpha,9$ -Difluor- $11\beta,17,21$ -trihydroxy- $16\alpha$ -methyl- $3,20$ -dioxopregna- $1,4$ -dien (12).

Es wird als weißes, kristallines Pulver beschrieben, seine Löslichkeit in Wasser ist sehr eingeschränkt, als schwerlöslich gilt es auch in Ethanol und Ether, leichtlöslich hingegen in Aceton und Dioxan (12).

Abb. 10: Struktur des Flumethasonpivalat



Als Steroid kann sich Flumethasonpivalat im Stratum corneum ansammeln und ein Reservoir ausbilden. Oft reicht daher eine einmalige Applikation am Tag aus. Flumethasonpivalat wird zur Klasse 2 der topisch anwendbaren Glukocorticosteroide gezählt, das heißt, es gilt als mittelstark wirksam, wobei die Skala von 1 (schwach wirksam) bis zu 4 (sehr stark wirksam) geht.

Wirksam ist Flumethasonpivalat, wie alle Steroide, vor allem bei Ekzemen und Hautentzündungen, wenig wirksam bei viralen Hauterkrankungen (24).

Üblicherweise wird es in einer Konzentration von 0,02% in Salben eingesetzt (z.B. Locacorten®). Wichtig ist, dass man bei erwünschter Beendigung der Behandlung die Anwendung auslaufend reduzieren muss, um einen Reboundeffekt zu verhindern (24).

Wir wählten Flumethasonpivalat für die vorliegende Arbeit als lipophilen Modellarzneistoff, da zu erwarten war, dass dieses sich gut in die zu untersuchende Nanoemulsion einarbeiten lässt.

### 3. Methoden

#### 3.1. Rezeptur und Herstellung der Nanoemulsion

Aufgrund von Voruntersuchungen ergab sich eine Basisrezeptur einer Lecithin-Nanoemulsion (2).

Tab. 1: Basisrezeptur

Cetearyl- Ethylhexanoat <sup>1</sup>	6
Lecithin <sup>2</sup>	1,2
Vitamin E <sup>3</sup>	0,3
Modellarzneistoff	0,3
Hydrophiler Emulgator	0,3
Wasser	ad 30

Der Modellarzneistoff wurde jeweils in 1%iger Konzentration eingearbeitet. Als hydrophilen Arzneistoff wählten wir Fluconazol<sup>4</sup>, als lipophilen Flumethasonpivalat<sup>5</sup>.

Als hydrophilen Emulgator verwendeten wir zu Beginn Polysorbat 80<sup>6</sup>, später wurde der Versuchsaufbau mit Saccharoselaurat<sup>7</sup> wiederholt. Von Polysorbat 80 erwarteten wir eine verstärkte stabilisierende Wirkung aufgrund seiner Struktur mit langen Hydrocarbonketten und den Ethylenoxidgruppen.

---

<sup>1</sup> Purcellinöl, W.Pauli Cosmetics, PCL Liquid

<sup>2</sup> Lipoid S75, Lipoid GMBH, Chargennr: 776113-1/941

<sup>3</sup> Tocopherolacetat, Dr.Temt, Chargennr: 59328524UO

<sup>4</sup> Fluconazol(CAS 86386-73-4), Kemprotec

<sup>5</sup> Flumethasonpivalat(CAS 2002-29-1), Kemprotec

<sup>6</sup> Polysorbat 80, Pauli GMBH

<sup>7</sup> L1695 Ryoto Sugarester, Chargennr: 6605911A, Mitsubishi Kagaku Food Corporation

Um die Nanoemulsion positiv aufzuladen und um auszutesten welchen Einfluss Phytosphingosin auf die Zubereitung bezüglich Stabilität und Permeationsvermögen haben würde, setzten wir es der Nanoemulsion in unterschiedlicher Konzentration zu.

Getestet wurde der Zusatz von Phytosphingosin<sup>8</sup> in 0,4%iger Konzentration und in 0,6%iger Konzentration.

Von allen Zubereitungen wurden jeweils mindestens 2 Chargen hergestellt.

Im Folgenden werden die Abkürzungen der Nanoemulsionszubereitungen mit dem Modellarzneistoff Fluconazol erklärt:

*Tab. 2: Abkürzungen der Nanoemulsion mit Fluconazol+ Polysorbat 80*

<b>Zubereitung</b>	<b>Abkürzung</b>
Basisrezeptur, Polysorbat 80, ohne Phytosphingosin	NTF-0PS
Basisrezeptur, Polysorbat 80, Phytosphingosin 0,4%	NTF-0,4PS
Basisrezeptur, Polysorbat 80, Phytosphingosin 0,6%	NTF-0,6PS

*Tab. 3: Abkürzungen der Nanoemulsion mit Fluconazol+ Saccharoselaurat*

<b>Zubereitung</b>	<b>Abkürzung</b>
Basisrezeptur, Saccharoselaurat, ohne Phytosphingosin	NLF-0PS
Basisrezeptur, Saccharoselaurat, Phytosphingosin 0,4%	NLF-0,4PS
Basisrezeptur, Saccharoselaurat, Phytosphingosin 0,6%	NLF-0,6PS

<sup>8</sup> Phytosphingosin, Degussa, Chargennr: 62630037

Als Kennzeichnung für die Nanoemulsionszubereitung mit Flumethasonpivalat wurden folgende Bezeichnungen gewählt:

*Tab. 4: Abkürzungen der Nanoemulsion mit Flumethasonpivalat+ Polysorbat 80*

<b>Zubereitung</b>	<b>Abkürzung</b>
Basisrezeptur, Polysorbat 80, ohne Phytosphingosin	NTFM-0PS
Basisrezeptur, Polysorbat 80, Phytosphingosin 0,4%	NTFM-0,4PS
Basisrezeptur, Polysorbat 80, Phytosphingosin 0,6%	NTFM-0,6PS

*Tab. 5: Abkürzungen der Nanoemulsion mit Flumethasonpivalat+ Saccharoselaurat*

<b>Zubereitung</b>	<b>Abkürzung</b>
Basisrezeptur, Saccharoselaurat, ohne Phytosphingosin	NLFM-0PS
Basisrezeptur, Saccharoselaurat, Phytosphingosin 0,4%	NLFM-0,4PS
Basisrezeptur, Saccharoselaurat, Phytosphingosin 0,6%	NLFM-0,6PS

### **Herstellung:**

Alle Mischungen wurden jeweils auf die gleiche Art und Weise hergestellt, um eine gute Reproduzierbarkeit zu gewährleisten. Der Herstellungsvorgang wurde entsprechend einer vorangegangenen Untersuchung durchgeführt (2).

Wasser und Ölphase wurden dabei getrennt zubereitet und später vereinigt.

Zur Herstellung der Ölphase wird das Lecithin auf einer Analysenwaage eingewogen und in ein Becherglas gegeben. Anschließend wird das Cetearyl-Ethylhexanoat direkt in das Becherglas dazu eingewogen.

Nach Zugabe eines Magnetrührstäbchens wird das Becherglas mit einem Parafilm und einer Alufolie verschlossen und bei 50° C auf einer Magnetrührplatte bei 700 Umdrehungen pro Minute gerührt. Sobald das Lecithin gelöst ist, fügt man das Vitamin E dazu und lässt alles nochmals 10 Minuten lang rühren.

Parallel dazu wird die Wasserphase hergestellt.

Dazu wird der hydrophile Emulgator in ein zweites Becherglas eingewogen und dann die entsprechende Menge frisch destilliertes Wasser dazu gegeben. Wieder wird das Becherglas nach Zugabe eines Magnetrührers mit Parafilm und Alufolie verschlossen und anschließend bei 50° C gerührt.

#### Zugabe des Phytosphingosin:

Phytosphingosin wurde in die Ölphase dazugegeben, nachdem das Lecithin vollständig gelöst war . Da sich die Sphingoidbase bei 50° C nicht lösen ließ, wurde die Temperatur auf 90° C erhöht. Im Zuge des Lösungsvorganges wurde die Ölphase zunächst trüb, klärte sich dann aber wieder.

#### Zugabe des Modellarzneistoffes:

Da der Modellarzneistoff Flumethasonpivalat eine lipophile Struktur aufweist, wurde er in der lipophilen Phase gelöst . Nachdem das Phytosphingosin vollständig gelöst war, wurde Flumethasonpivalat beigefügt, davor musste die Mischung allerdings wieder auf 50° C abgekühlt werden um den Arzneistoff nicht thermisch zu belasten.

Da Flumethasonpivalat sich nicht vollständig in der Ölphase löste, wurde es dispergiert. Dann wurde die Mischung eine halbe Stunde lang gerührt und anschließend Vitamin E hinzugefügt, danach wurde nochmals 10 Minuten lang gerührt.

Fluconazol wurde aufgrund seiner hydrophilen Struktur in der Wasserphase gelöst. Die Ölphase wurde hierfür, wie schon oben beschrieben, hergestellt, nach Auflösung des Phytosphingosin wurde auf 50° C abgekühlt .

Fluconazol wurde nach Zugabe des hydrophilen Emulgators in der Wasserphase gelöst. Sehr rasch kam es zu einer Klärung der Zubereitung, eine Folge der sehr guten Wasserlöslichkeit des Azolderivates.

Nach Einarbeitung von Modellarzneistoff und eventuell Phytosphingosin vereinigt man die Öl - und Wasserphase miteinander, es ist hierbei besonders wichtig, dass beide Phasen die gleiche Temperatur von 50° C aufweisen. Es ist empfehlenswert die Temperatur mit einem Thermometer zu überprüfen. Starke Temperaturunterschiede können zu einem Brechen der erwünschten Emulsion führen. Um möglichst wenig Arzneistoff zu verlieren, fügt man der Phase, in der der Arzneistoff gelöst ist, die jeweils andere Phase hinzu.

Entgegen der Herstellungsempfehlung einer vorangegangenen Untersuchung (2) ließen wir die Emulsionszubereitung nicht über Nacht rühren, sondern arbeiteten am gleichen Tag weiter, da es mit den verwendeten Arzneistoffen über Nacht mehrmals zu einer starken Viskositätszunahme gekommen war.

Nach Vereinigung der Phasen lässt man die Zubereitung 5 Minuten lang weiter rühren, anschliessend wird sie mit einem Ultra Turrax<sup>9</sup> 6 Minuten lang bei 2500 rpm vorhomogenisiert.

---

<sup>9</sup> Ultraturax Omni 5000 international

Abb. 11: Ultra Turrax



Die Emulsion wird danach mit Hilfe eines Hochdruckhomogenisators<sup>10</sup> 12 Minuten lang bei einem Druck von 600 bar homogenisiert und dadurch zu einer Nanoemulsion.

Die optimalen Bedingungen zur Herstellung der Nanoemulsion, d.h. Druck und Homogenisationszyklen, übernahmen wir aus der vorangegangenen Untersuchung (2).

Der Hochdruckhomogenisator kann stufenlos von 30- 2000 bar reguliert werden.

Ein kontinuierlicher, gleichbleibender Druck während des Homogenisierens ist äußerst wichtig für eine reproduzierbare Teilchengrößenverteilung der Nanoemulsion.

---

<sup>10</sup> Emulsiflex C3, Avestin

Abb. 12: Hochdruckhomogenisator



## 3.2. Physikalisch-chemische Parameter

Um die Nanoemulsion und ihr Verhalten hinsichtlich Stabilität zu untersuchen, wurden drei physikalisch-chemische Parameter, die zum Teil über einen Zeitraum von 8 Wochen gemessen wurden, bestimmt.

### 3.2.1. Teilchengröße

Zur Bestimmung der Teilchengröße der Zubereitung wurde die Photonenkorrelationsspektroskopie, die auch „Dynamic-Light-Scattering“ genannt wird, verwendet. Dabei handelt es sich um eine nicht invasive und häufig angewandte Methode um die Größe von Partikeln und Teilchen im Nanobereich zu vermessen (25).

Sie ist besonders geeignet zur Bestimmung der Größenverteilung von Partikeln in Emulsionssystemen, wie zum Beispiel in Nanoemulsionen.

Das Messprinzip der Methode beruht auf der Brownschen Molekularbewegung, die dadurch entsteht, dass Teilchen in einem Dispersionsmedium eine Stoßwirkung erhalten. Als Folge dieser Stoßwirkung kommt es zu einer ungeordneten Bewegung der Partikel (25).

Werden diese Partikel nun mit einem Laser angeleuchtet, kommt es zur Streuung des Lichtes, wobei die Stärke dieser Streuung von der Teilchengröße abhängt, da ein kleineres Molekül weiter und stärker gestoßen werden kann. Über die Streuungsintensität des Laserlichtes kann man auf die Geschwindigkeit der Brownschen Molekularbewegung schließen, und über die sogenannte „Stokes- Einstein Beziehung“ auf die Teilchengröße (25).

In der vorliegenden Arbeit kam ein Malvern Zetasizer Nano ZS, der neben der Teilchengröße auch das Zetapotential messen kann, zum Einsatz.

Als Ergebnis liefert das Gerät einerseits den mittleren Teilchendurchmesser andererseits den Polydispersitätsindex (PDI).

Der PDI spiegelt die Größenverteilung der Partikel wider, je kleiner dieser Wert ist, desto enger ist die Größe der Partikel verteilt. Meist gilt ein PDI der kleiner als 0,25 ist, als ein Zeichen, dass eine Nanoemulsion als ausreichend stabil angesehen werden kann, da die Ostwald Reifung reduziert ist (4).

Abb. 13: Malvern Zetasizer Nano ZS



Um Mehrfachstreuungen zu vermeiden kamen Verdünnungen der Nanoemulsion von 1:100 bei den Messungen zum Einsatz. Dabei wurden 100  $\mu\text{l}$  der Probe mit 10 ml destilliertem Wasser, das unmittelbar davor frisch keimfiltriert worden war, verdünnt. Anschließend wurden die Proben unverzüglich vermessen.

### 3.2.2. Zetapotential

Das Zetapotential ist ein wichtiger Parameter, um die Ladungsstabilität einer Dispersion zu bestimmen.

Die meisten Partikel, die in einem wässrigen Medium dispergiert sind, haben eine Oberflächenladung.

Diese Oberflächenladungen modifizieren die Verteilung der umgebenden Ionen, sodass sich eine Schicht um die Teilchen ausbildet. Bewegt sich so ein Teilchen nun zum Beispiel aufgrund der Brownschen Molekularbewegung, ist auch diese elektrische Doppelschicht in Bewegung (26).

Die Potentialdifferenz, die sich zwischen dieser Doppelschicht und dem Inneren der Lösung bildet, nennt man Zetapotential.

Unterschreitet das Zetapotential einen bestimmten Wert wird das System instabil und das kolloid dispergierte Teilchen flockt aus (12). Je größer das Zetapotential, desto stärker stoßen sich die Partikel in der Dispersion voneinander ab und das führt zu einer erhöhten physikalischen Stabilität.

Üblicherweise sollte das Zetapotential einen Wert von über 30 mV ( positiv oder negativ ) betragen, damit man ein System als ausreichend stabil bezeichnen kann. Werte von 0 bis 3 mV zeigen maximale Agglomeration und Sedimentation (27).

Zur Messung des Zetapotentials legt man ein elektrisches Feld in der Dispersion an. Die Partikel innerhalb der Dispersion mit einem Zetapotential wandern nun in Richtung der gegensätzlich geladenen Elektrode mit einer Geschwindigkeit, die direkt proportional zu ihrem Zetapotential ist (26).

Diese Geschwindigkeit wird mit Hilfe des „Laser Doppler Anemometrie Verfahrens“ bestimmt. Ein dabei verwendeter Laserstrahl wird auf die Partikel gestrahlt, die das Licht mit einer gewissen Frequenz streuen. Aufgrund des Doppler Effekts kommt es zu einer Frequenzverschiebung, die abhängig ist von der Mobilität der Teilchen. Mit der Mobilität der Teilchen kann man nun das Zetapotential errechnen (26).

Die Probenvorbereitung für die Messung des Zetapotentials wurde in derselben Weise durchgeführt wie für die Teilchengrößenbestimmung. Wieder verdünnten wir die Probe 1:100 mit frisch destilliertem und keimfiltriertem Wasser, und führten die Messung anschließend unverzüglich mit dem Malvern Zetasizer Nano ZS durch.

Mithilfe der Messung des Zetapotentials, der Teilchengrößenverteilung und dem Teilchendurchmesser untersuchten wir die Zubereitungen auf ihre Langzeitstabilität.

Bei der Bestimmung des Zetapotentials wurde jede Probe 3 mal hintereinander vermessen, zu Beginn täglich, später einmal pro Woche, sofern sich keine starken Schwankungen der Werte zeigten. Auch die Teilchengröße wurde zu Beginn täglich vermessen, innerhalb eines Durchganges mehrmals hintereinander. Später wurde sie ebenso wie das Zetapotential einmal pro Woche überprüft.

Der Beobachtungszeitraum betrug 8 Wochen.

Von jeder Zubereitung wurden mindestens 2 Chargen hergestellt.

### **3.2.3. PH Wert**

Von jeder unserer Proben wurde der pH Wert mit Hilfe einer herkömmlichen pH Elektrode<sup>11</sup> bestimmt.

Dies sollte einerseits dazu dienen die Einheitlichkeit der hergestellten Chargen zu überprüfen, andererseits sollte auch untersucht werden, ob die Zubereitungen sich innerhalb eines hautfreundlichen pH Milieus bewegten.

---

<sup>11</sup> pH Elektrode Orion Bartelt, Modell 420A

Abb. 14: pH Elektrode



### 3.3. In-vitro Permeationsversuche

#### 3.3.1. Die Franz Zelle

Um die Arzneistoffdiffusion aus einer topischen Zubereitung zu untersuchen, benötigt man validierte und allgemein akzeptierte in-vitro Methoden.

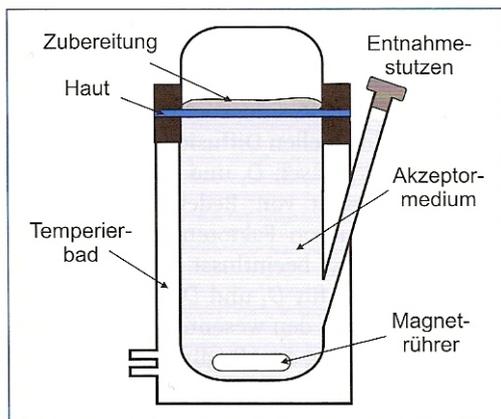
Das gebräuchlichste in-vitro Modell zur Untersuchung des dermalen Wirkstofftransportes ist die Diffusionszelle nach Franz.

Die Anwendung der Franz Zelle beruht auf der Annahme, dass die Barriereigenschaften der Hornschicht von exzidierte Haut den in-vivo Verhältnissen ähnlich sind (19).

Es handelt sich um ein 2-Kompartimentmodell.

Die Diffusionszelle besteht aus einer Glaskammer mit einem Glasaufsatz, in der unteren Kammer befindet sich das ständig gerührte Akzeptormedium (1).

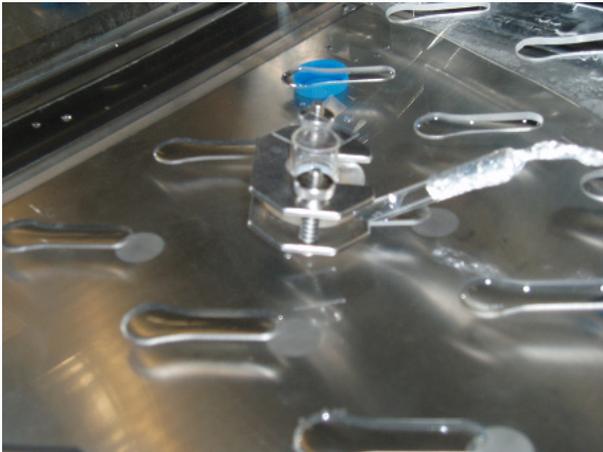
Abb. 15: Die Franz Zelle (1)



Auf der Glasöffnung wird ein Hautstück, das mit der Unterseite in direktem Kontakt mit dem Akzeptormedium ist, fixiert, indem es mit einer Metallklammer zwischen die beiden Glasteile gespannt wird. Auf der Hautoberseite, innerhalb der oberen Glaskammer, wird die Probezubereitung aufgetragen. Um Verdunstung zu vermeiden verwendet man eine Glasabdeckung. Probeziehungen werden aus dem Akzeptormedium durch eine lange Glasöffnung entnommen (1, 19).

In der Franz Zelle werden in-vivo analoge und therapeutisch relevante experimentelle Bedingungen geschaffen. Die hier verwendete Haut besitzt keine funktionsgestörte Hornschicht und weist keinen optimalen Hydratisierungszustand auf, sondern sie wird mit der epidermalen Seite in trockene Umgebung gerichtet (19).

Abb. 16: Franz Zelle im Temperierbad



### 3.3.2. Versuchsanordnung

Aus allen Nanoemulsionen wurde mit Hilfe der Franz Zelle die Wirkstofffreisetzung gemessen. Als Akzeptormedium verwendeten wir einen frisch hergestellten Phosphatpuffer mit einem pH Wert von 7,4.

Bei der verwendeten Haut handelte es sich um Schweinehaut, die mit einem Dermatome<sup>12</sup> auf eine Dicke von 1,1 mm zugeschnitten wurde. Störende Haare wurden vorher entfernt.

Unmittelbar nach Herstellung wurden die Hautstücke eingefroren und jeweils kurz vor dem Versuch wieder aufgetaut.

Schweinehaut gilt der menschlichen Haut als besonders ähnlich, die Zusammensetzung der Hornschicht betreffend (19).

Getestet wurden pro Versuchsdurchgang jeweils die Zubereitungen mit dem gleichen Arzneistoff und dem gleichen hydrophilen Emulgator, jedoch mit unterschiedlicher Phytosphingosinkonzentration.

---

<sup>12</sup> Dermatome Aesculap, GB 228R

Auf diese Weise sollte der Einfluss der Sphingoidbase in den jeweiligen Nanoemulsionen auf die Hautpermeation der Wirkstoffe untersucht werden.

Für jede Zubereitung wurden je vier Zellen vorbereitet, um eine statistisch relevante Aussage treffen zu können.

#### Ablauf des Versuches:

Zunächst werden die Hautstücke mit einem Skalpell in die passende Größe geschnitten, die bei ca 1,1 cm<sup>2</sup> liegt.

Wichtig ist, dass die Hautstücke ebenmäßig dick sind, da es sonst zu einem Austritt von Pufferlösung aus der unteren Glaskammer kommen kann.

Anschließend wird um die untere Glaskammeröffnung Vaseline gestrichen, und das Hautstück wird so eingelegt, dass die epidermale Seite nach oben zeigt.

Zuvor wird ein kleiner Magnetrührer in die untere Glaskammer hinzugefügt. Mit einer Metallklammer wird die Haut nun zwischen den Kammern fixiert.

Mit einer Pasteurpipette werden 2 ml der Pufferlösung vorsichtig über die Glasöffnung luftblasenfrei in die untere Kammer eingefüllt.

Wenn es zu keinem Absinken des Flüssigkeitsspiegels in der unteren Glaskammer kommt, wird die Franz Zelle als dicht bezeichnet, und die Probelösung kann aufgetragen werden.

Hierzu wird in die obere Glaskammer mit Hilfe einer Analysenwaage 0,6 g der Nanoemulsion genau eingewogen.

Danach wird die Zelle mit einem Deckglas abgedeckt.

Die nun fertige Franz Zelle wird in einem auf 32° C temperierten Wasserbad mit einem Magnetrührer gerührt.

Um eine Probe zu entnehmen, werden 200 µl des Akzeptormediums in ein Eppendorfgefäß pipettiert und sofort durch 200 µl frische und temperierte Pufferlösung ersetzt.

Bei den Nanoemulsionszubereitungen mit Flumethasonpivalat wurden über einen Zeitraum von 48 Stunden, jeweils nach 2, 4, 6, 8, 24, 28, 32, und 48 Stunden Proben gezogen.

Bei den Zubereitungen mit Fluconazol führten wir den Versuch nur über einen Zeitraum von 8 Stunden durch, da aufgrund der Struktur des Azolderivates eine sehr rasche Permeation durch die Haut innerhalb der ersten 8 Stunden festgestellt wurde.

Alle entnommenen Proben wurden dann mit einer Zentrifuge bei 13000 rpm 6 Minuten lang zentrifugiert und anschließend einer HPLC Analyse unterzogen.

### **3.3.3. HPLC Analytik**

Bei der HPLC Analyse handelt es sich um ein chromatographisches Standardverfahren, mit dessen Hilfe geringe Arzneistoffmengen in einer Lösung neben Abbauprodukten und Verunreinigungen analysiert werden können.

Folgende Geräte standen bei der Arbeit zur Verfügung:

Gerät: Perkin Elmer Serie 200 mit einem Säulenofen und einer Zweikanalpumpe.

Detektor: Perkin Elmer Diode Array Detektor 235 C.

Autosampler: Perkin Elmer 200 Series.

Säule: Nukleosil 100-5 C18 von der Firma Macherey Nagel

Vorsäule: CC8/4 Nukleosil 100-5 C18.

Analysesoftware: Totalchrom Version 6.2.0.

Abb. 17: HPLC



### 3.3.3.1. Fluconazol

Zur Quantifizierung von Fluconazol wurde auf eine in der Arbeitsgruppe entwickelten Methode zurückgegriffen.

#### Chromatographische Parameter:

Mobile Phase: Mischung aus 550 ml Phosphatpuffer pH 7 + 450 ml Methanol<sup>13</sup>  
+ 1 mmol Octansulfonsäure

Der Phosphatpuffer wurde aus einer Mischung von Dinatriumhydrogenphosphat<sup>14</sup> und Kaliumdihydrogenphosphat<sup>15</sup> hergestellt.

Die Einstellung des pH Wertes erfolgte mit einer pH Elektrode und verdünnter Phosphorsäure, bzw. Natronlauge.

---

<sup>13</sup> Methanol für HPLC, Acros Organics

<sup>14</sup> Dinatriumhydrogenphosphat Acros Organics, Chargennr: 424375000

<sup>15</sup> Kaliumdihydrogenphosphat Merck KgaA Darmstadt, Chargennr: K23827271738

Ofentemperatur: 50° C

Flussrate: 1 ml/min

Injektionsvolumen: 20 µl

Druck: ca. 3000 PSI

Wellenlänge: 260 nm.

Retentionszeit : etwa 4 Minuten

Der Kalibrierungsbereich der Säule lag zwischen 3,47 µg/ml – 111,1 µg/ml.

Die Nachweisgrenze betrug etwa 3,47 µg/ml.

Zur quantitativen Bestimmung von Fluconazol erstellten wir zunächst eine Eichgerade.

Dazu wurde Fluconazol in Methanol gelöst und Verdünnungsreihen wie folgt hergestellt:

Zuerst wurde eine Stammlösung mit einer Konzentration von 1,1 mg/ml Fluconazol hergestellt (V0).

Diese Stammlösung wurde anschließend 1:10 mit Methanol verdünnt (V1).

Alle weiteren Verdünnungen wurden jeweils im Verhältnis 1:2 erstellt.

Folgende Konzentrationen ergeben sich für die Eichlösungen:

V0: 1,1 mg/ml = 1111 µg/ml

V1: 111,1 µg/ml

V2: 55,55 µg/ml

V3: 27,775 µg/ml

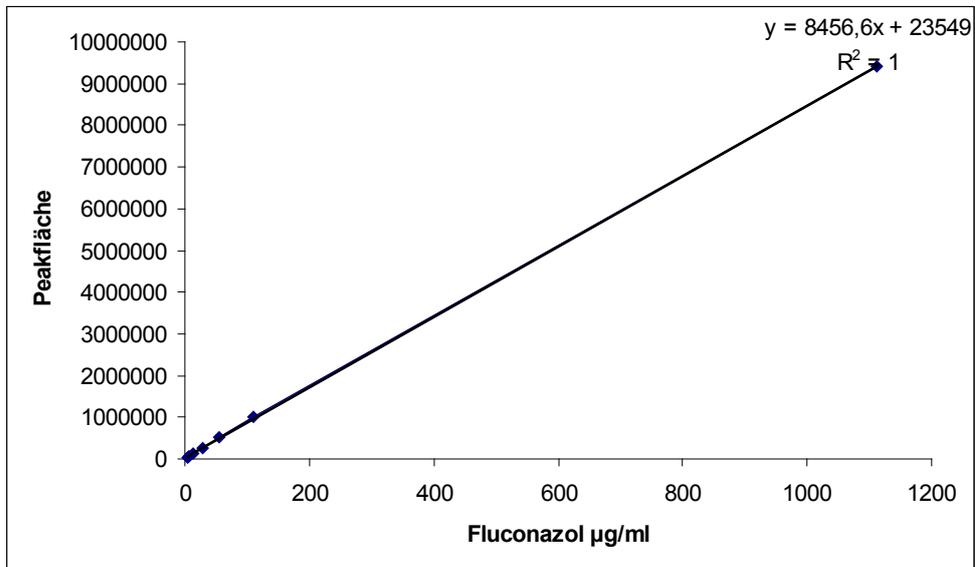
V4: 13,8875 µg/ml

V5: 6,94375 µg/ml

V6: 3,4718 µg/ml

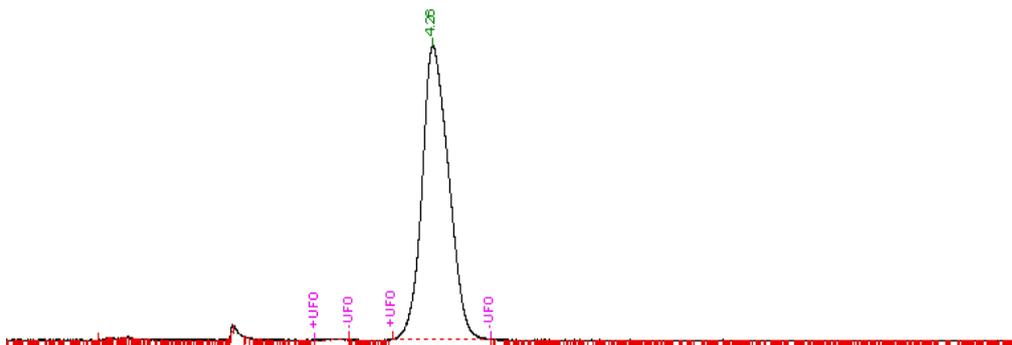
Wie in der folgenden Abbildung ersichtlich, ergab sich eine lineare Korrelation.

Abb. 18: Eichgerade für Fluconazol mit Geradengleichung und Varianz



In der folgenden Abbildung wird ein charakteristisches Chromatogramm von Fluconazol in Methanol gezeigt.

Abb. 19: HPLC Chromatogramm für Fluconazol in Methanol



### 3.3.3.2. Flumethasonpivalat

Auch bei der Quantifizierung von Flumethasonpivalat wurde eine in der Arbeitsgruppe entwickelte Methode verwendet (28).

#### Chromatographische Parameter:

Mobile Phase: Mischung aus Acetonitril<sup>16</sup> und Wasser (40:60 v/v).

Ofentemperatur: 50° C

Flussrate: 1 ml/min.

Injektionsvolumen: 20 µl.

Druck: ca. 2500 PSI

Wellenlänge: 240 nm.

Retentionszeit: ca. 4-5 Minuten

Der Kalibrierungsbereich der Säule lag zwischen 1,73 µg/ml – 55,45 µg/ml

Die Nachweisgrenze betrug etwa 1,73 µg/ml.

Zur Erstellung einer Eichgerade wurde eine Stammlösung mit 1,1 mg/ml Flumethasonpivalat in Methanol hergestellt. Von dieser Stammlösung ausgehend wurde eine 1:10 Verdünnung mit Methanol durchgeführt. Alle weiteren Verdünnungen wurden im Verhältnis 1:2 ausgeführt.

Ausgewertet wurden die Verdünnungen V2 - V7.

Folgende Konzentrationen ergaben sich für die Eichlösungen von Flumethasonpivalat:

V0: 11,09 mg = 1109 µg/ml

V1: 110,9 µg/ml

V2: 55,45 µg/ml

V3: 27,725 µg/ml

V4: 13,86 µg/ml

---

<sup>16</sup> Acetonitril für HPLC, Acros Organics

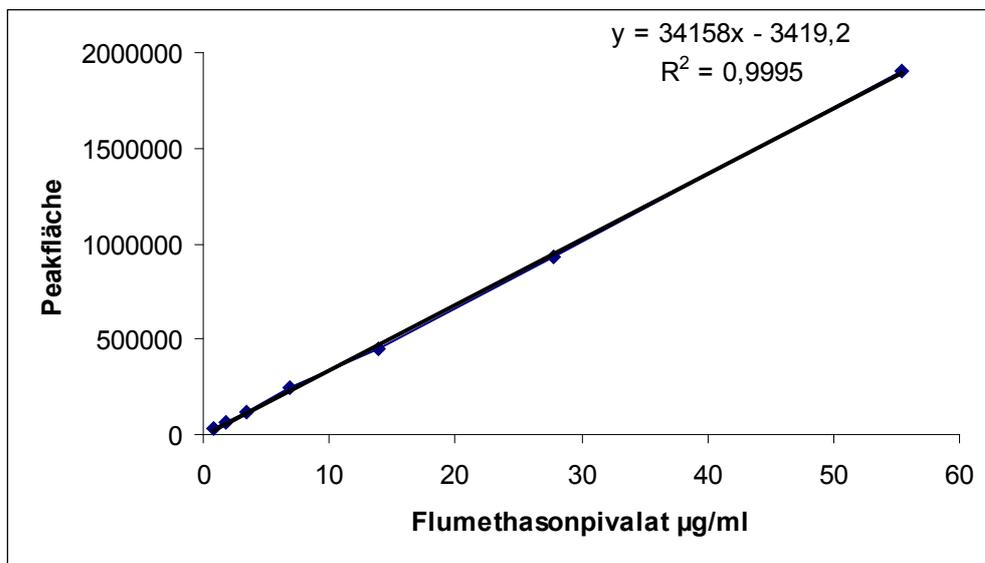
V5: 6,931 µg/ml

V6: 3,465 µg/ml

V7: 1,732 µg/ml

Wie in Abb. 20 gezeigt, ergab sich eine lineare Korrelation zwischen der Peakfläche und der Flumethasonpivalatkonzentration.

Abb. 20: Eichgerade 1 von Flumethasonpivalat mit Geradengleichung und Varianz



Da es zu Problemen mit der Säule gekommen war, musste diese gewechselt werden und in weiterer Folge wurde eine neue Eichgerade erstellt, die in Abb. 21 wiedergegeben ist.

Abb. 21: Eichgerade 2 von Flumethasonpivalat mit Geradengleichung und Varianz

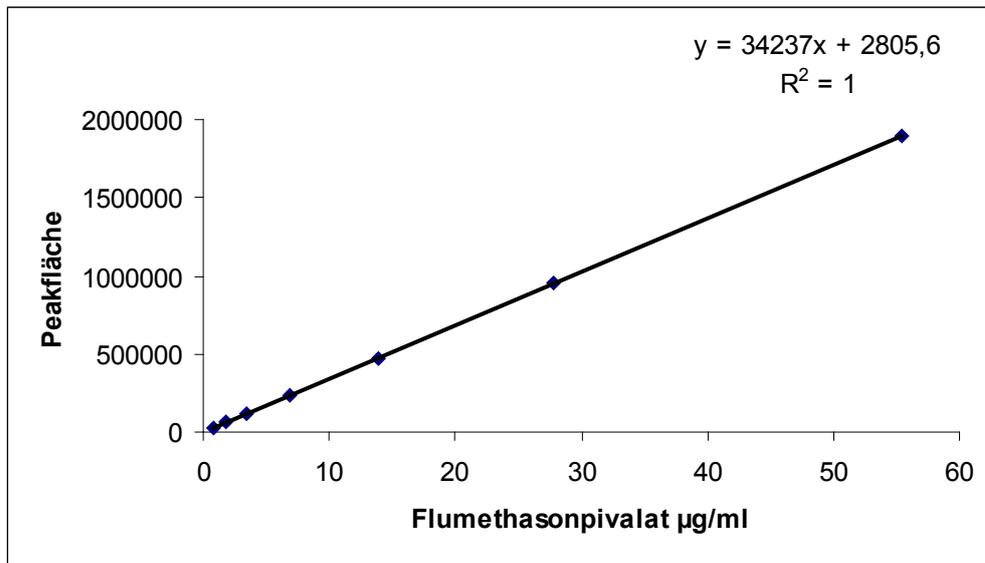
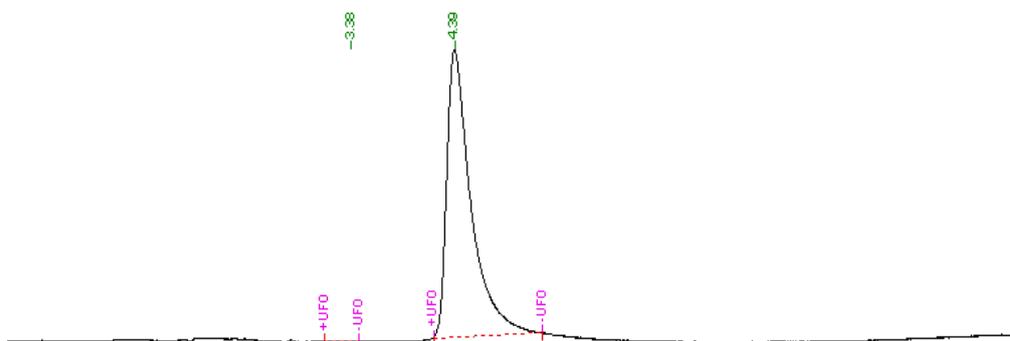


Abb. 22 zeigt ein typisches Chromatogramm von Flumethasonpivalat in Methanol. Die Retentionszeit lag jeweils bei 4,3 Minuten.

Abb. 22: HPLC-Chromatogramm von Flumethasonpivalat



## **4. Ergebnisse**

### **4.1. Ergebnisse der physikalisch-chemischen Charakterisierung**

Alle hergestellten Nanoemulsionen wurden 8 Wochen lang auf ihre physikalische Stabilität geprüft. Dabei wurden Teilchengröße, Zetapotential und PDI gemessen.

Die Abkürzungen, die in den folgenden Erläuterungen verwendet werden, finden sich in Tabelle 2 und 3 (S. 25).

Die Zubereitungen, in denen wir Phytosphingosin einarbeiteten, zeigten bei der Herstellung eine stärkere Instabilität als die Emulsionen ohne Sphingoidbase. Oftmals kam es zu einem Brechen der Emulsion, sodass eine Weiterverarbeitung zur Nanoemulsion mittels Hochdruckhomogenisator nicht mehr möglich war.

Dennoch konnten wir mit Zuhilfenahme eines Thermometers, um die Temperatur genau einzustellen, Phytosphingosin mit sowohl Fluconazol als auch Flumethasonpivalat in unsere Nanoemulsion einarbeiten.

Makroskopisch waren alle Zubereitungen unmittelbar nach Herstellung von weißlichem Aussehen und homogen.

#### **4.1.1. Fluconazolhältige Nanoemulsionen**

##### *NTF Zubereitungen:*

Bei den Zubereitungen von Fluconazol mit Polysorbat 80 war die NTF-0PS Nanoemulsion über einen Zeitraum von 8 Wochen stabil. Es traten keinerlei Anzeichen einer Agglomeration auf, und sowohl Teilchengröße als auch PDI blieben weitgehend konstant. Der PDI bewegte sich um einen Wert von 0,1 und zeigte daher eine unimodale Größenverteilung der Zubereitung.

Auch das gemessene Zetapotential spiegelte diese Stabilität wider, da die Werte über einen Zeitraum von 8 Wochen zwischen - 60 und – 50 mV lagen.

Bei der Zubereitung NTF-0,4PS konnten zu Beginn sehr gute Zetapotentialwerte erreicht werden. Durch die Einarbeitung von Phytosphingosin kam es zu der erwarteten positiven Ladung der Nanoemulsion, die zu Beginn bei über 40 mV lag.

Mit der Zeit sank das Zetapotential immer weiter ab und nach 8 Wochen lag es bei 17 mV.

In diesem Zeitraum nahm auch die Teilchengröße von 127 nm auf 197 nm zu. Obwohl das Zetapotential sehr stark abnahm, nahm die Teilchengröße nicht so stark zu, wie zu erwarten gewesen wäre, möglicherweise ist das auf die sterische Stabilisierung durch Polysorbat 80 zurückzuführen.

Es war zu beobachten, dass sich die Werte, nach anfänglicher Teilchenagglomeration, über 8 Wochen stabil zeigten.

Dasselbe Phänomen ereignete sich auch bei der Zubereitung NTF-0,6PS.

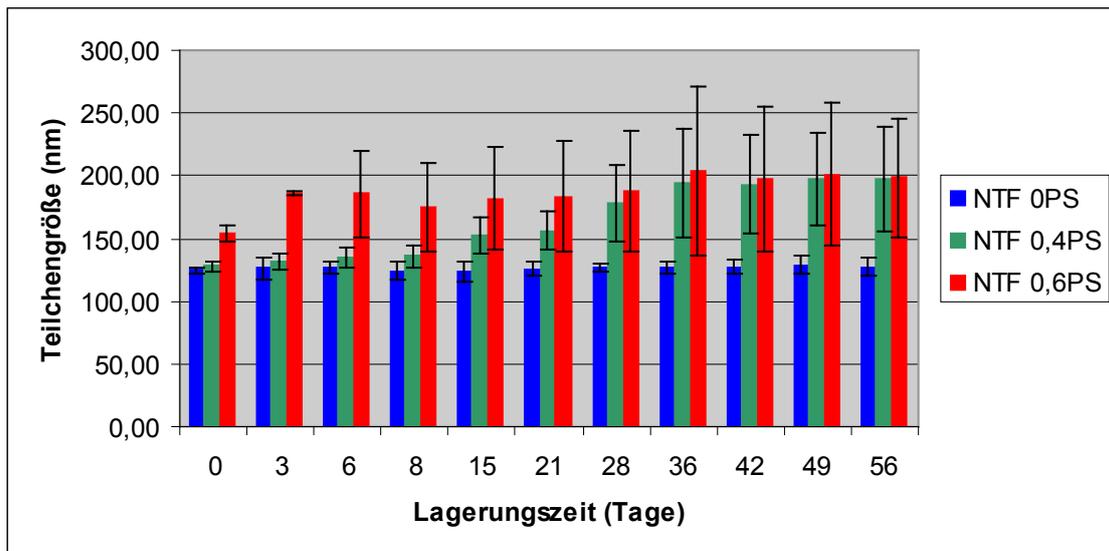
Die erhöhte Phytosphingosinkonzentration führte zu einer Teilchengröße von 154 nm zu Beginn und nach 8 Wochen schließlich zu einer Größe von 198 nm. Wieder war das Zetapotential zu Beginn vielversprechend hoch mit 50 mV, innerhalb von 8 Wochen sank es aber auf 22 mV ab.

Dadurch dass die Teilchengrößen bei den Zubereitungen NTF-0,4PS und NTF-0,6PS zwar zunächst eine Zunahme zeigten, sich aber dann auf diesem Niveau wieder stabilisierten, kann man von einer guten physikalischen Stabilität ausgehen. Das zeigte sich auch in den PDI Messungen der Nanoemulsionen. Die PDI Werte der Zubereitung NTF-0,4PS lagen über den Zeitraum von 8 Wochen zwischen 0,06 – 0,15 und wiesen daher auf eine unimodale Größenverteilung hin. Ähnliches gilt auch für NTF-0,6PS .

In den folgenden Abbildungen sind die Teilchengröße und die Zetapotentiale der Zubereitungen dargestellt.

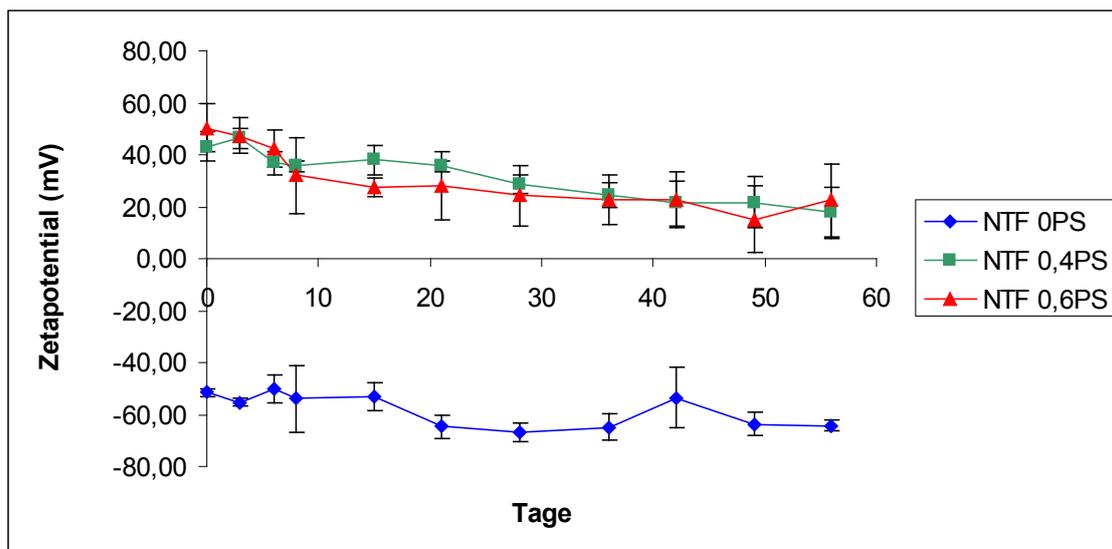
Tab. 6 und Abb. 23: Teilchengröße in nm der fluconazolhaltigen Nanoemulsion mit Polysorbat 80 über einen Zeitraum von 8 Wochen, n=6

Tage	0PS	Stabw	0,4PS	Stabw	0,6PS	Stabw
0	124,48	2,25	127,72	3,92	154,03	5,73
3	126,62	8,73	131,68	6,68	186,73	1,60
6	127,02	4,44	134,23	7,78	185,52	33,97
8	124,12	7,80	135,92	9,13	174,82	35,69
15	122,82	8,01	152,12	14,60	182,07	40,52
21	125,35	5,62	156,18	14,83	183,47	44,19
28	127,00	3,14	178,30	30,89	188,28	48,15
36	126,28	5,08	193,93	43,04	203,82	66,83
42	127,25	5,38	193,30	39,54	197,18	57,49
49	129,13	7,12	197,42	37,32	200,78	56,86
56	127,52	6,56	197,77	42,04	198,68	47,14



Tab. 7 und Abb. 24: Zetapotential in mV der fluconazolhaltigen Nanoemulsion mit Polysorbat 80 über einen Zeitraum von 8 Wochen; n= 6

Tage	0PS	Stabw	0,4PS	Stabw	0,6PS	Stabw
0	-51,52	1,54	43,19	5,57	50,17	9,25
3	-55,23	1,72	46,32	3,92	47,22	6,88
6	-50,22	5,46	36,92	4,52	42,54	7,21
8	-53,93	12,95	35,65	1,98	32,08	14,50
15	-53,08	5,19	37,92	5,62	27,49	3,73
21	-64,77	4,41	35,72	2,07	28,18	12,96
28	-66,93	3,77	28,48	3,65	24,23	11,78
36	-64,88	5,16	24,50	4,61	22,46	9,49
42	-53,45	11,43	21,22	8,85	22,59	10,88
49	-63,78	4,46	21,70	9,68	15,02	12,90
56	-64,18	2,32	17,67	9,88	22,49	13,87



### NLF Zubereitungen

Es wurden die gleichen Nanoemulsionen auch mit Saccharoselaurat stabilisiert und deren Langzeitstabilitäten über einen Zeitraum von 8 Wochen beobachtet. Saccharoselaurat ließ sich genauso leicht einarbeiten wie Polysorbat 80. Jedoch waren Teilchengröße und PDI deutlich größer als bei den NTF Zubereitungen und zwar bereits unmittelbar nach Herstellung.

Bei NLF-0PS war der Teilchendurchmesser bei ca.160 nm mit einem PDI von 0,08 – 0,14. Im Vergleich dazu lag der durchschnittliche Durchmesser der Teilchen bei den NTF Zubereitungen bei knapp über 120 nm.

Eine hinreichende physikalische Stabilität konnte aber auch bei NLF-0PS über 8 Wochen nachgewiesen werden.

Beide Zubereitungen, in denen Phytosphingosin eingearbeitet wurde, zeigten aber, wie schon bei den fluconazolhaltigen Zubereitungen mit Polysorbat 80, eine erhöhte Instabilität.

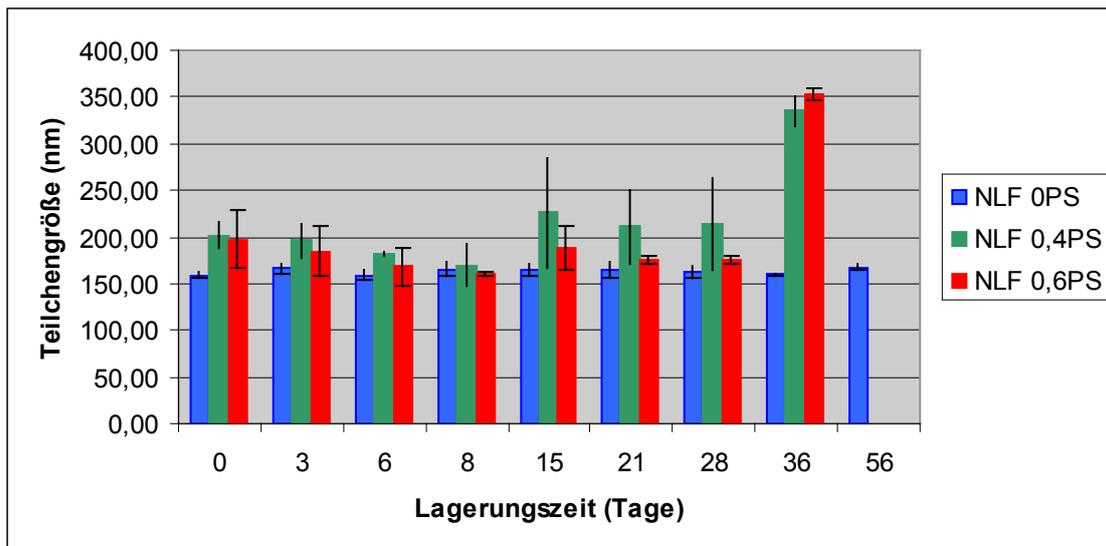
Der durchschnittliche Teilchendurchmesser war sowohl bei NLF-0,4PS als auch bei NLF-0,6PS bei ca. 200 nm und damit deutlich größer als bei den Formulierungen mit Polysorbat 80.

Der PDI von NLF-0,4PS war schon zu Beginn mit 0,20 – 0,33 deutlich höher als der PDI von NTF-0,4PS, ähnlich hohe Werte zeigten sich auch bei den PDI Messungen von NLF-0,6PS.

Tabelle 8 und Abbildung 25 zeigen den Verlauf der Zunahme der durchschnittlichen Teilchengröße der Zubereitungen mit Phytosphingosin im Vergleich mit der Zubereitung ohne Sphingoidbase.

*Tab. 8 und Abb. 25: Teilchengröße in nm der fluconazolhaltigen Nanoemulsion mit Saccharoselaurat über einen Zeitraum von 8 Wochen; n=6; agg. = Agglomeration*

<b>Tage</b>	<b>0PS</b>	<b>Stabw</b>	<b>0,4PS</b>	<b>Stabw</b>	<b>0,6PS</b>	<b>Stabw</b>
<b>0</b>	159,30	2,80	201,45	13,80	197,25	30,69
<b>3</b>	166,37	5,59	196,62	18,24	184,55	26,76
<b>6</b>	159,02	5,33	181,25	2,59	168,02	21,01
<b>8</b>	165,43	7,85	169,98	22,67	160,48	2,04
<b>15</b>	164,50	6,56	226,13	59,09	188,27	22,55
<b>21</b>	163,82	8,60	210,70	39,77	174,82	4,58
<b>28</b>	162,82	5,91	213,25	49,55	175,45	4,83
<b>36</b>	159,88	1,25	334,88	15,38	353,57	6,52
<b>56</b>	167,42	3,27	agg.	agg.	agg.	agg.



Auffallend war, dass bei NLF-0,4PS und bei NLF-0,6PS die Teilchengrößen zunächst nach einer Woche im Abnehmen begriffen waren, ehe sie dann bei beiden Zubereitungen sprunghaft anstiegen.

Dementsprechend konnten beide Formulierungen nur über einen Zeitraum von 5 Wochen vermessen werden, ehe sie auch makroskopisch deutliche Anzeichen von Instabilität zeigten.

Die Farbe, der zunächst weißen Nanoemulsionen wurde in diesem Zeitraum gelblich, und man konnte große Lufteinschlüsse bemerken.

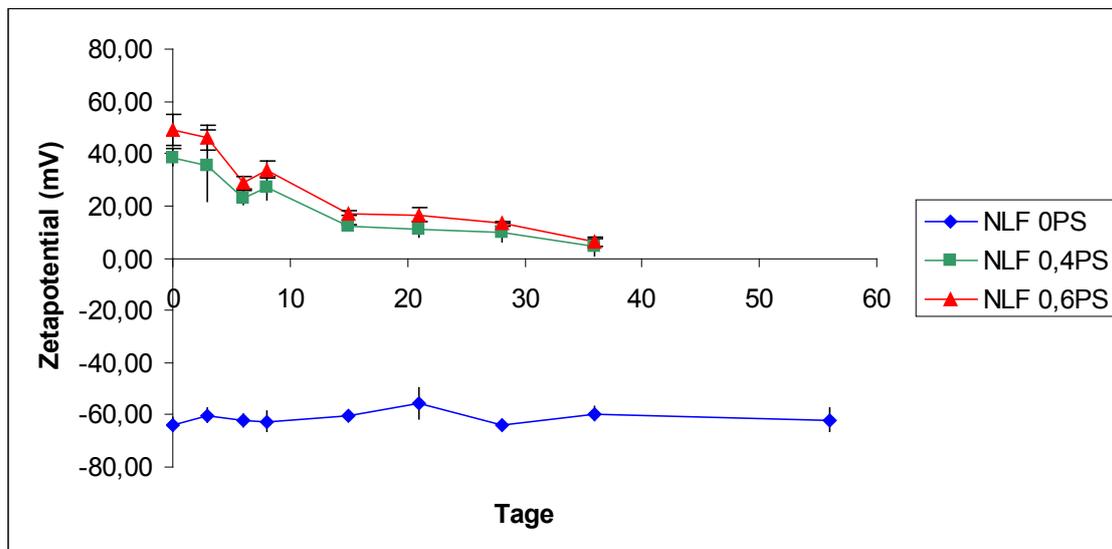
Auch bei Betrachtung der Zetapotentiale fällt die Abnahme der Stabilität in den fluconazolhaltigen Zubereitungen mit Saccharoselaurat und Phytosphingosin auf. So konnte bei NLF-0,4PS zu Beginn lediglich ein positives Zetapotential von 38 mV erreicht werden, das auch innerhalb von einer Woche unter 30 mV absank, und damit keine ausreichende Höhe mehr für einen stabilisierenden Effekt besaß. Das zeigte sich auch im Vergleich mit dem durchschnittlichen Teilchendurchmesser, der im selben Ausmaß in dem das Zetapotential abnahm, an Größe zunahm.

Ähnliches zeigte sich auch bei der NLF-0,6PS Zubereitung. Hier konnte zwar zu Beginn ein Zetapotential von knapp 50 mV erreicht werden, dennoch nahm es innerhalb einer Woche sehr stark ab, und war nach 5 Wochen schließlich nur mehr bei 6 mV zu finden.

Der Verlauf des Zetapotentials ist in der folgenden Tabelle und Abbildung dargestellt.

Tab. 9 und Abb. 26: Zetapotential in mV der fluconazolhaltigen Nanoemulsion mit Saccharoselaurat über einen Zeitraum von 8 Wochen; n=6; agg= Agglomeration

Tage	0PS	Stabw	0,4PS	Stabw	0,6PS	Stabw
0	-63,65	2,54	38,52	3,20	49,18	5,98
3	-60,22	2,83	35,38	13,94	46,27	4,79
6	-62,38	2,39	23,03	2,69	29,10	2,42
8	-62,53	3,69	26,88	4,57	33,89	3,40
15	-60,45	0,75	12,07	0,52	17,17	0,99
21	-55,40	5,91	10,85	2,89	16,63	2,53
28	-63,90	1,64	9,85	3,36	13,18	0,75
36	-59,60	2,53	4,38	3,68	6,03	1,57
56	-61,87	4,43	agg.	agg.	agg.	agg.



Es zeigte sich also eine deutlich verringerte Stabilität der fluconazolhaltigen Zubereitungen mit Saccharoselaurat und Phytosphingosin gegenüber den Zubereitungen mit Polysorbat 80.

Fluconazol ließ sich in die Nanoemulsion sehr gut einarbeiten, und sowohl mit Polysorbat 80 als auch mit Sucroselaurat konnten Zubereitungen hergestellt werden, die über 8 Wochen stabil waren.

Die Einarbeitung des Phytosphingosin erbrachte zwar die gewünschte positive Ladung, aber bewirkte eine verringerte physikalische Stabilität.

#### **4.1.2. Flumethasonpivalathältige Nanoemulsionen**

Um zu testen ob es einen Unterschied in der Einarbeitung eines hydrophilen zu einem lipophilen Arzneistoff geben würde, stellten wir neben Nanoemulsionen mit Fluconazol auch Zubereitungen mit Flumethasonpivalat her.

Die Einarbeitung von Flumethasonpivalat in die Formulierung wurde erfolgreich durchgeführt. Danach wurde die Sphingoidbase dazugegeben. Hier zeigte sich eine gewisse Schwierigkeit, mit steigender Phytosphingosin Konzentration kam es öfter zu einem Brechen der Emulsion während des Herstellens. Das Problem konnte durch Einhaltung einer Temperatur von genau 50° C unter Verwendung eines Thermometers behoben werden, weiters ließen wir die Zubereitung nicht über Nacht rühren, sondern arbeiteten sofort weiter. Schlussendlich gelang es sowohl 0,4% Phytosphingosin als auch 0,6% Phytosphingosin einzuarbeiten, und physikalisch einwandfreie Nanoemulsionen zu erhalten.

##### NTFM Zubereitungen:

Die flumethasonpivalathältige Zubereitung mit Polysorbat 80 NTFM-0PS hatte eine etwas größere Teilchengröße gegenüber der fluconazolhaltigen Zubereitung, so lag der durchschnittliche Teilchendurchmesser bei 140 nm. Wieder konnten Teilchengröße, Zetapotential und PDI der Zubereitung über 8 Wochen vermessen werden und es zeigten sich keine Anzeichen von Instabilität. Auch das Zetapotential wies auf eine stabile Nanoemulsion hin, so konnten Werte von ca. -60 mV erreicht werden.

Die Zubereitungen mit Phytosphingosin NTFM-0,4PS und NTFM-0,6PS zeigten ebenfalls größere Teilchendurchmesser gegenüber den fluconazolhaltigen Zubereitungen. NTFM-0,4PS zeigte zu Beginn Teilchengrößen von 142 nm, während die Teilchengröße von NTFM-0,6PS bei ca. 170 nm lag. Die PDI Werte beider Zubereitungen wiesen zunächst auf eine enge Größenverteilung

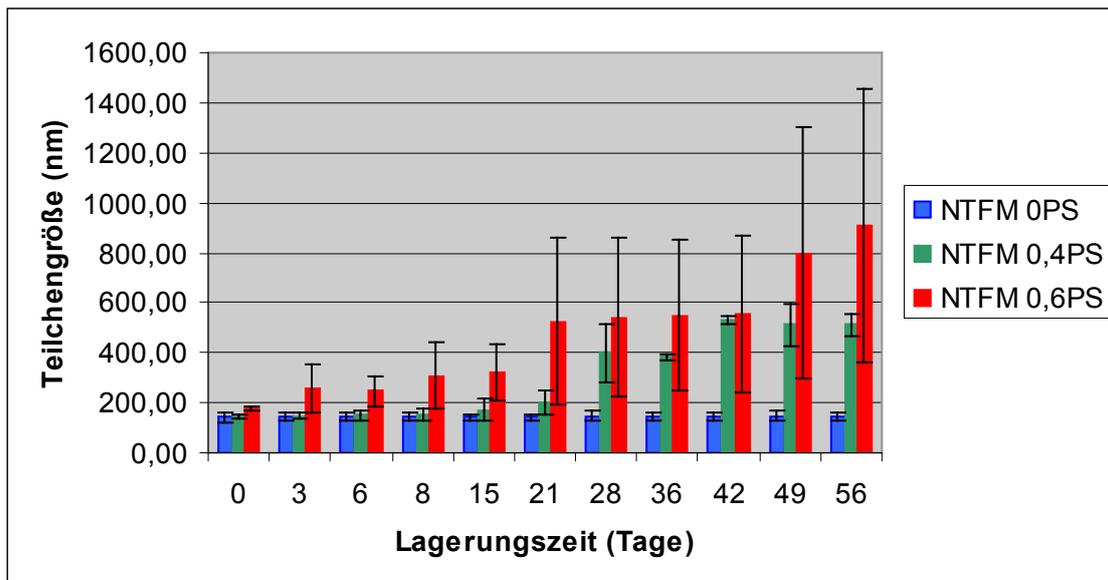
hin, bei NTFM-0,4PS lag der PDI zu Beginn bei 0,08 - 0,13, bei NTFM-0,6PS bei 0,09 – 0,13.

Es zeigte sich jedoch, dass die Zubereitungen mit Phytosphingosin weniger lang physikalisch stabil waren als die phytosphingosinfreien Zubereitungen. Nach 8 Wochen lag die durchschnittliche Teilchengröße der NTFM-0,6PS Zubereitung bei 908 nm.

Auch bei der Zubereitung NTFM-0,4PS erhöhte sich die Teilchengröße nach 8 Wochen auf 500 nm.

*Tab. 10 und Abb. 27: Teilchengröße in nm der flumethasonpivalathältigen Nanoemulsion mit Polysorbat 80 über einen Zeitraum von 8 Wochen; n= 6*

<b>Tage</b>	<b>0PS</b>	<b>Stabw</b>	<b>0,4PS</b>	<b>Stabw</b>	<b>0,6PS</b>	<b>Stabw</b>
<b>0</b>	142,37	19,89	142,25	6,82	175,20	6,41
<b>3</b>	142,22	16,95	147,97	15,23	260,45	95,77
<b>6</b>	143,35	16,99	150,33	17,91	247,32	58,71
<b>8</b>	145,17	13,81	153,25	22,75	307,48	134,04
<b>15</b>	141,08	14,59	171,45	44,85	320,50	114,50
<b>21</b>	141,90	13,48	201,28	49,05	525,03	332,95
<b>28</b>	147,75	21,47	400,50	117,14	541,48	315,16
<b>36</b>	145,53	15,93	382,70	10,75	550,12	304,83
<b>42</b>	145,68	18,13	529,32	16,95	556,83	313,39
<b>49</b>	146,22	19,12	513,33	84,99	798,33	503,51
<b>56</b>	143,23	14,66	513,27	43,77	908,27	548,48



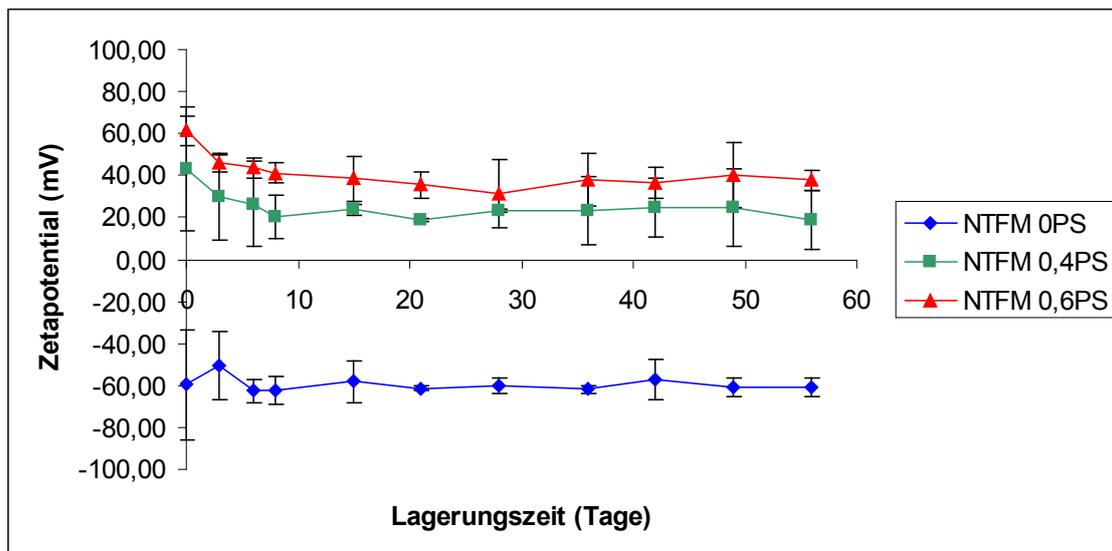
Die Zetapotentiale der Zubereitungen mit Phytosphingosin waren zu Beginn vielversprechend groß, NTFM-0,4PS hatte Werte von 42 mV, NTFM-0,6PS zeigte sogar Zetapotentiale von 61 mV.

Trotz dieser hohen Werte, nahm die Stabilität aber ab, wieder sank das Zetapotential im gleichen Ausmaß in dem die Teilchengröße anstieg.

Der Verlauf des Zetopotentials lässt sich aus folgender Grafik ablesen.

Tab. 11 und Abb. 28: Zetapotential in mV der flumethasonpivalathältigen Nanoemulsion mit Polysorbat 80 über einen Zeitraum von 8 Wochen; n= 6

Tage	0PS	Stabw	0,4PS	Stabw	0,6PS	Stabw
0	-59,77	26,21	43,08	29,53	61,27	6,69
3	-50,63	16,36	29,90	20,65	45,82	3,84
6	-62,60	5,42	26,47	20,46	43,60	4,62
8	-62,60	6,55	20,45	10,25	41,17	4,67
15	-58,25	10,21	23,65	2,76	38,45	10,96
21	-61,40	1,32	18,68	0,59	35,50	6,13
28	-60,33	3,82	23,35	0,97	31,30	16,36
36	-61,82	2,00	23,46	16,37	37,78	12,61
42	-57,27	9,57	24,87	13,91	36,55	7,14
49	-60,78	4,45	24,55	18,36	39,95	15,44
56	-60,92	4,27	18,76	13,96	37,73	4,71



Bemerkenswert ist allerdings die Tatsache, dass die Zubereitung NTFM-0,6PS nach 8 Wochen zwar ein Zetapotential von 37 mV aufwies und es aber dennoch zur Agglomeration gekommen war.

Die Zubereitung NTFM-0,4PS zeigte eine geringe Zunahme des durchschnittlichen Teilchendurchmessers, wies aber deutlich niedrigere Zetapotentialwerte auf.

#### NLFM Zubereitungen:

Im Vergleich zu den NTFM Zubereitungen konnten in den mit Saccharoselaurat hergestellten Nanoemulsionen ähnliche physikalische Eigenschaften beobachtet werden wie in den NLF Zubereitungen.

Wie bei den fluconazolhaltigen Nanoemulsionen waren jene mit Saccharoselaurat deutlich physikalisch instabiler, die durchschnittliche Teilchengröße von NLFM Zubereitungen war deutlich größer als die der NTFM Zubereitungen.

NLFM-0PS hatte einen durchschnittlichen Teilchendurchmesser von ca. 170 nm, NLFM-0,4PS wies eine Teilchengröße von 187 nm unmittelbar nach Herstellung auf.

NLFM-0,6PS hatte zu Beginn sogar einen Teilchendurchmesser von 215 nm. Auch die PDI Werte der phytosphingosinhaltigen Formulierungen wiesen auf

eine weite Größenverteilung hin, NLFM-0,4PS hatte schon zu Beginn einen PDI von 0,18 – 0,23.

Sehr rasch kam es innerhalb von 4 Wochen zu einer starken Teilchengrößenzunahme, einhergehend mit einer deutlichen Zunahme der PDI Werte bei der NLFM-0,4PS Zubereitung.

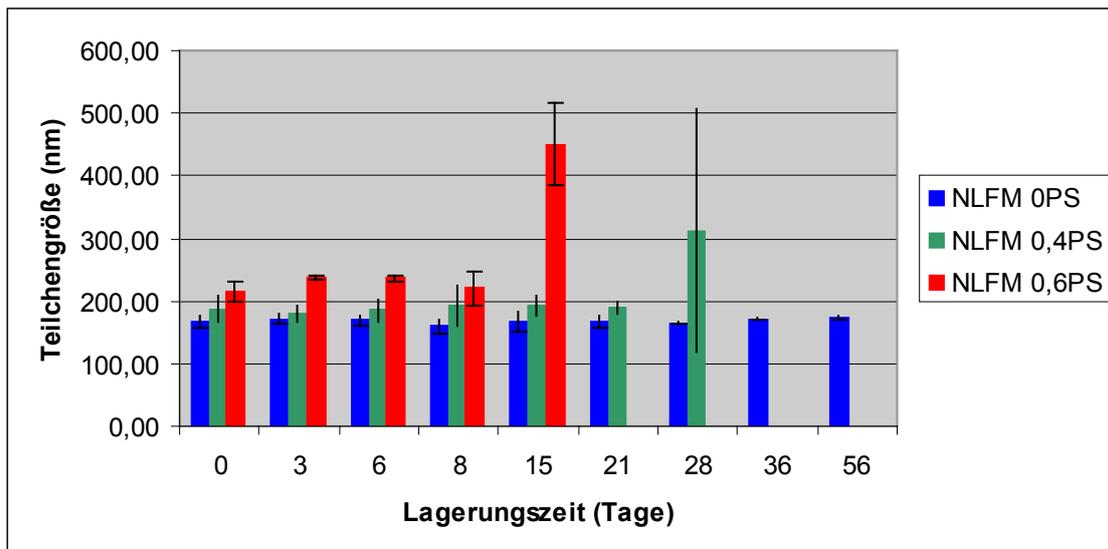
Die NLFM-0,6PS Zubereitung war sogar nur knapp 2 Wochen stabil, mit zuletzt gemessenen PDI `s von 0,42 – 0,52.

Auch makroskopisch zeigte die NLFM-0,6PS Zubereitung relativ früh Luftfeinschlüsse und eine deutliche Gelbfärbung.

Die folgende Darstellung zeigt den Verlauf der Teilchengröße über 8 Wochen, sofern sie solange vermessen werden konnte.

*Tab. 12 und Abb. 29: Teilchengröße in nm der flumethasonpivalathältigen Nanoemulsion mit Saccharoselaurat über einen Zeitraum von 8 Wochen; n= 6, agg.= Agglomeration*

<b>Tage</b>	<b>0PS</b>	<b>Stabw</b>	<b>0,4PS</b>	<b>Stabw</b>	<b>0,6PS</b>	<b>Stabw</b>
<b>0</b>	167,62	9,07	187,18	20,01	215,55	16,10
<b>3</b>	170,85	7,61	179,72	13,55	237,83	2,55
<b>6</b>	168,52	8,18	184,67	18,86	236,18	4,74
<b>8</b>	158,85	11,53	191,25	32,03	220,77	27,20
<b>15</b>	166,25	15,77	193,22	15,30	450,67	65,86
<b>21</b>	166,07	9,52	190,87	9,66	agg.	agg.
<b>28</b>	164,80	1,60	312,33	193,75	agg.	agg.
<b>36</b>	170,78	2,33	agg.	agg.	agg.	agg.
<b>56</b>	174,07	3,96	agg.	agg.	agg.	agg.



Einzig die NLFM-0PS Nanoemulsion konnte über 8 Wochen als stabil gemessen werden.

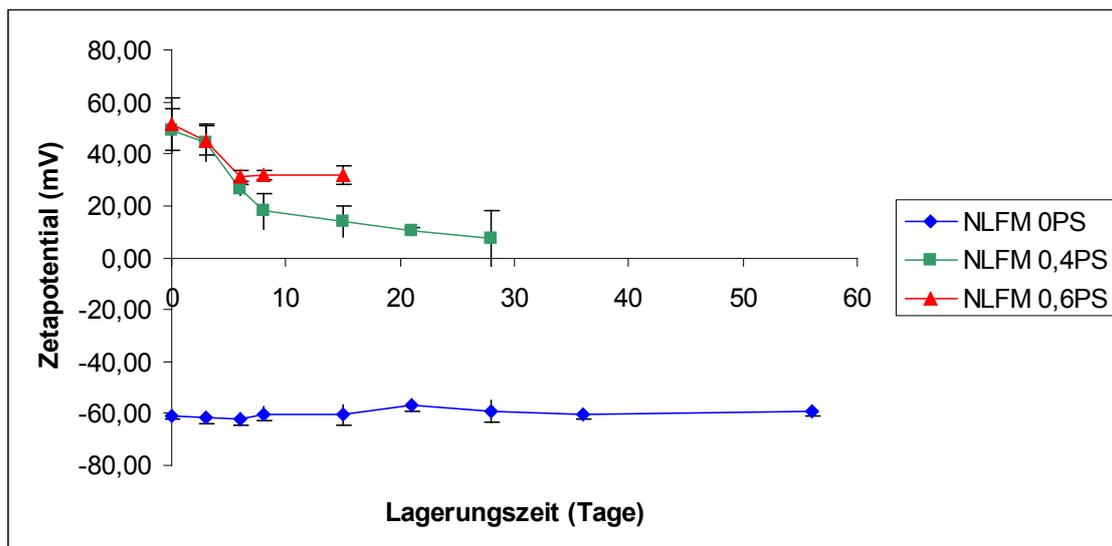
Sie hatte auch ein Zetapotential von -61 mV, das über den gesamten Beobachtungszeitraum erhalten blieb.

Die Zetapotentiale der Zubereitungen mit Phytosphingosin waren wieder zu Beginn hoch, NLFM-0,4PS hatte ein Potential von ca. 48 mV; NLFM-0,6PS besaß ein Zetapotential von sogar 51 mV.

Wieder konnten diese Werte aber nicht lange gehalten werden, und die Instabilität beider Zubereitungen zeigte sich in einer Abnahme des Potentials bei gleichzeitiger Teilchengrößenzunahme.

Tab. 13 und Abb. 30: Zetapotential in mV der flumethasonpivalathältigen Nanoemulsion mit Saccharoselaurat über einen Zeitraum von 8 Wochen; n= 6; agg.= Agglomeration

Tage	0PS	Stabw	0,4PS	Stabw	0,6PS	Stabw
0	-61,08	1,01	48,93	8,72	51,58	10,25
3	-61,73	2,03	44,50	7,12	45,18	5,59
6	-62,18	2,62	26,22	2,00	31,40	2,22
8	-60,32	2,66	17,85	7,05	31,87	1,56
15	-60,53	3,72	13,84	5,98	31,70	3,44
21	-56,75	2,29	10,14	1,26	agg.	agg.
28	-59,17	4,15	7,54	10,65	agg.	agg.
36	-60,37	1,56	agg.	agg.	agg.	agg.
56	-59,20	2,03	agg.	agg.	agg.	agg.



Bei einem Vergleich aller hergestellten Zubereitungen fällt auf, dass alle mit Phytosphingosin versetzten Zubereitungen eine verringerte physikalische Stabilität aufwiesen, unabhängig von den verwendeten Arzneistoffen.

Dennoch zeigten alle fluconazolhaltigen Formulierungen eine höhere physikalische Stabilität als die entsprechenden Zubereitungen mit Flumethasonpivalat.

Am schlechtesten schnitt die flumethasonpivalathältige Nanoemulsion NLFM-0,6PS ab. Sie konnte nur über einen Zeitraum von knapp 2 Wochen als physikalisch stabil bezeichnet werden.

Generell waren die Zubereitungen mit 0,4% PS stabiler als jene mit 0,6% PS. Beide Zubereitungen, sowohl jene mit Fluconazol als auch mit Flumethasonpivalat und 0% Phytosphingosin konnten unabhängig vom verwendeten Emulgator als stabil ermittelt werden.

Neben der Langzeitstabilität wurden auch die pH Werte der Zubereitungen gemessen.

Hierfür wurde jede Probe dreimal mit einer pH Elektrode vermessen. Von jeder Nanoemulsion wurden mindestens 2 Chargen hergestellt.

Durch die pH Wertmessungen sollte überprüft werden, ob die Zubereitungen pH hautneutral sein würden und ob eine Reproduzierbarkeit der Chargen gegeben wäre.

In den folgenden Tabellen sind die pH Werte der Zubereitungen aufgelistet.

*Tab. 14: pH Werte der fluconazolhaltigen Nanoemulsion mit Saccharoselaurat; n= 6*

<b>NLF 0PS</b>	<b>NLF 0,4PS</b>	<b>NLF 0,6PS</b>
5,95±0,07	7,47±0,18	7,43±0,4
5,91±0,03	7,49±0,15	7,44±0,36
5,91±0,11	7,53±0,14	7,44±0,4

*Tab. 15: pH Werte der fluconazolhaltigen Nanoemulsion mit Polysorbat 80; n= 6*

<b>NTF 0PS</b>	<b>NTF 0,4PS</b>	<b>NTF 0,6PS</b>
5,49±0,44	7,88±0,01	7,78±0,04
5,06±0,04	7,77±0,05	7,61±0,25
5,31±0,03	7,88±0,07	7,80±0,04

Tab. 16: pH Werte der flumethasonpivalathältigen Nanoemulsion mit Saccharoselaurat;  
n= 6

<b>NLFM 0PS</b>	<b>NLFM 0,4PS</b>	<b>NLFM 0,6PS</b>
5,86±0,11	7,30±0,13	7,33±0,28
5,85±0,16	7,27±0,09	7,35±0,22
5,85±0,11	7,32±0,09	7,36±0,29

Tab. 17: pH Werte der flumethasonpivalathältigen Nanoemulsion mit Polysorbat 80;  
n= 6

<b>NTFM 0PS</b>	<b>NTFM 0,4PS</b>	<b>NTFM 0,6PS</b>
4,40±0,27	7,37±0,55	7,50±0,13
4,39±0,08	7,39±0,42	7,49±0,06
4,35±0,17	7,47±0,34	7,48±0,01

Es zeigte sich, dass die Chargen untereinander reproduzierbare pH Werte aufwiesen.

Alle Zubereitungen ohne Phytosphingosin hatten pH Werte um 5, also physiologische pH Werte der Haut. Während bei den Nanoemulsionen mit Fluconazol die pH Werte der Zubereitungen mit Polysorbat 80 und mit Saccharoselaurat in etwa gleich blieben, zeigte sich bei den Zubereitungen mit Flumethasonpivalat und Polysorbat 80 ein pH Wert von ca. 4, während er mit Saccharoselaurat bei 5 lag.

Durch die Einarbeitung von Phytosphingosin kam es bei allen hergestellten Nanoemulsionen zu einer Erhöhung der pH Werte auf ca. 7, dieser Effekt trat unabhängig von den verwendeten Arzneistoffen oder Emulgatoren ein.

## 4.2. Hautpermeation

Mit jeder hergestellten Nanoemulsionen wurden Permeationsversuche durchgeführt und die Arzneistoffdiffusion gemessen.

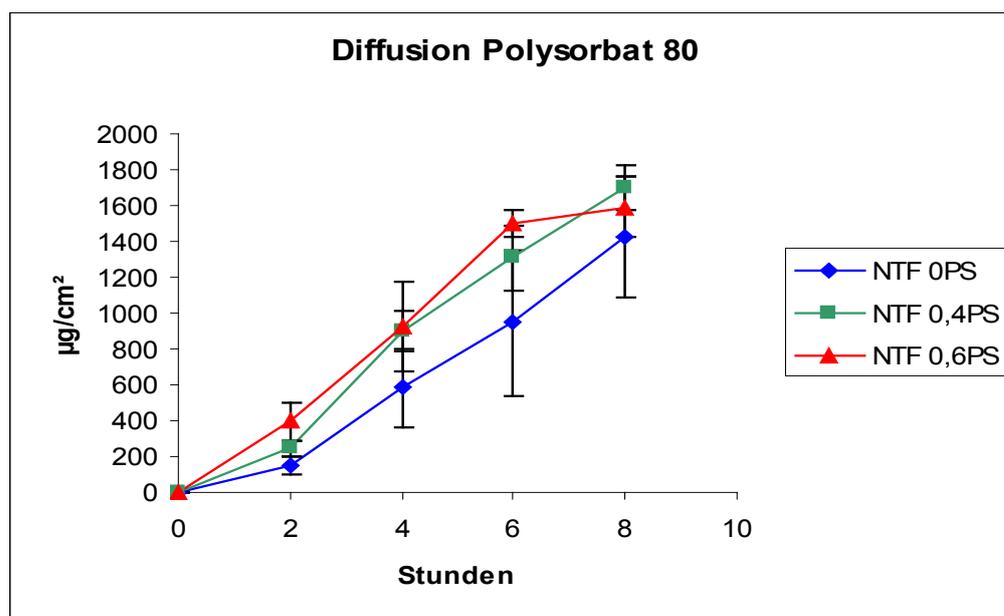
### 4.2.1. Fluconazolhältige Nanoemulsionen

Bei den Zubereitungen mit Fluconazol wurde der Versuch über 8 Stunden durchgeführt, da aufgrund der Struktur des Azolderivates eine sehr rasche Hautpermeation innerhalb der ersten Stunden zu erwarten war.

Sowohl in der NTF Zubereitung als auch in der NLF Zubereitung konnte durch Phytosphingosin eine Permeationssteigerung von Fluconazol gemessen werden.

Die Fluconazolpermeation aus NTF-0,4PS wurde um das 1,19 fache gesteigert und jene aus NTF-0,6PS um das 1,12 fache, im Vergleich zu NTF-0PS.

Abb. 31: Einfluss von PS auf die Hautpermeation von Fluconazol in Polysorbat 80 Nanoemulsion; n=3

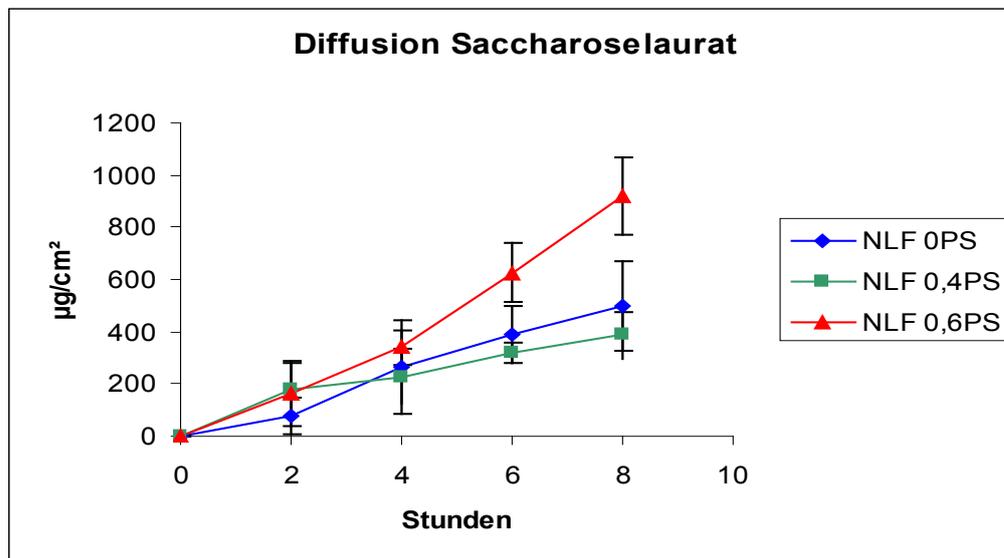


Bei den fluconazolhaltigen Zubereitungen mit Saccharoselaurat zeigte die NLF-0,6PS Zubereitung die höchste Fluconazolpermeationsrate. Der Zusatz von 0,6% Phytosphingosin bewirkte eine Steigerung um das 1,84 fache gegenüber NLF-0PS.

Die NLF-0,4PS Nanoemulsion zeigte nur in den ersten drei Stunden eine erhöhte Fluconazoldiffusion verglichen mit NLF-0PS. Danach erkennt man (Abb. 32) sogar eine Abnahme der Fluconazolpermeation pro Zeiteinheit.

Der Grund für dieses Ergebnis ist zur Zeit unklar.

Abb. 32: Einfluss von PS auf die Hautpermeation von Fluconazol in Saccharoselaurat Nanoemulsion; n=3



#### 4.2.2. Flumethasonpivalathältige Nanoemulsionen

Die Diffusionsuntersuchungen mit Flumethasonpivalat wurden 48 Stunden lang durchgeführt.

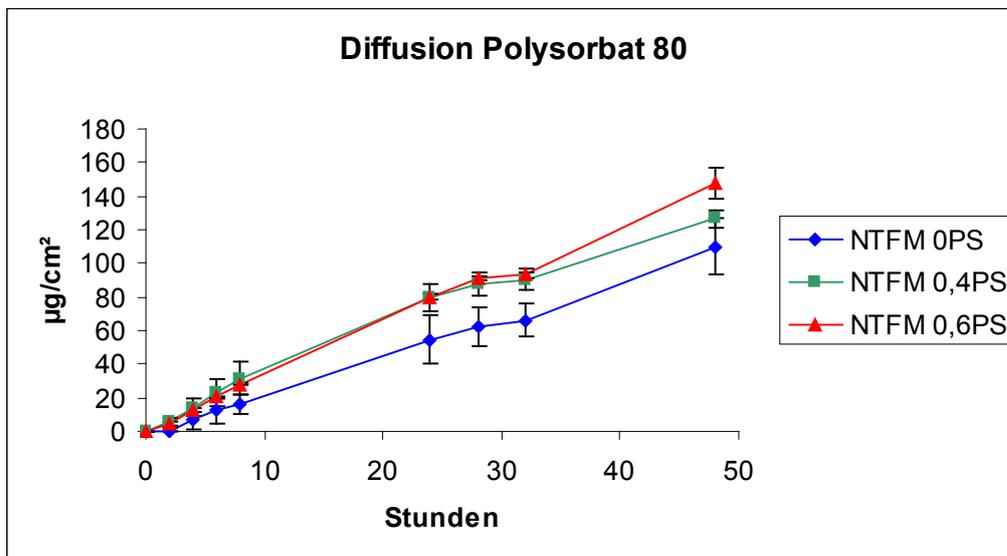
Die Phytosphingosinzugabe bewirkte eine Erhöhung der Flumethasonpivalatdiffusion

In Abbildung 33 ist deutlich erkennbar, dass die freigegebene Menge an Flumethasonpivalat pro Zeiteinheit für die Zubereitung NTFM-0,6PS und NTFM-0,4PS etwa bis zur 30. Stunde gleich hoch ist und nur die diffundierte

Arzneistoffmenge nach 48 Stunden nach Zusatz von 0,6% Phytosphingosin höher ist als mit 0,4% Phytosphingosin.

NTFM-0,4PS zeigte eine Permeationssteigerung von Flumethasonpivalat um das 1,15 fache gegenüber NTFM-0PS, NTFM-0,6PS sogar um das 1,34 fache.

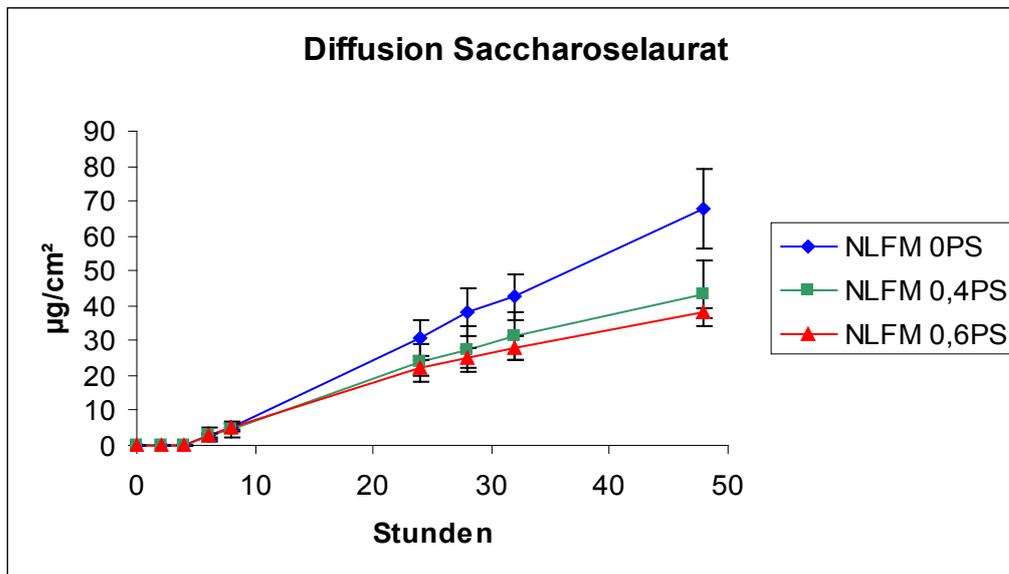
Abb. 33: Einfluss von PS auf die Hautpermeation von Flumethasonpivalat in Polysorbat 80 Nanoemulsion; n=3



Interessanterweise konnten bei den Nanoemulsionen mit Flumethasonpivalat und Saccharoselaurat die höchsten Flumethasonpivalathautpermeationen aus den Zubereitungen ohne Phytosphingosin gemessen werden. Ein Zusatz von 0,4% Phytosphingosin bzw. 0,6% Phytosphingosin bewirkte sogar eine Verringerung der Arzneistoffdiffusion. NTFM-0PS hatte eine 1,55 fache höhere Arzneistoffpermeation durch die Haut als NTFM-0,4PS und sogar eine 1,78 fache höhere als NTFM-0,6PS.

Generell zeigten die Nanoemulsionen mit Saccharoselaurat geringere Arzneistoffdiffusionen durch die Haut als jene Zubereitungen mit Polysorbat 80.

Abb. 34: Einfluss von PS auf die Hautpermeation von Flumethasonpivalat in Saccharoselaurat Nanoemulsion; n=3.



Im Anhang ab Tab. 30 finden sich die einzelnen Daten aller Permeationsversuche.

## 5. Diskussion

Die Einarbeitung der Sphingoidbase Phytosphingosin hatte einen deutlichen Einfluss auf die physikalisch chemischen Eigenschaften der Nanoemulsionen. Wie zu erwarten war, kam es dabei in allen mit Phytosphingosin versetzten Zubereitungen zu einer positiven Oberflächenladung.

Trotz der zu Beginn sehr hohen Zetapotentialwerte von weit über 30 mV, waren die phytosphingosinhaltigen Nanoemulsionen weniger lange stabil als jene Formulierungen ohne Sphingoidbase.

Einen wesentlichen Einfluss auf die Stabilität der Zubereitungen hatte auch der verwendete hydrophile Emulgator. Alle Nanoemulsionen, die mit Polysorbat 80 hergestellt worden waren, konnten über einen Zeitraum von 8 Wochen vermessen werden. Jene Formulierungen mit Saccharoselaurat zeigten oft nach nur wenigen Tagen erste Anzeichen von sichtbarer Instabilität. Polysorbat 80 erhöhte die physikalisch chemische Stabilität. Dieses Ergebnis könnte durch die Ethylenoxidgruppen und die langen Hydrocarbonketten bewirkt worden sein, Ähnliches konnte bereits in anderen Untersuchungen belegt werden (2).

Auch die zu Beginn erreichten Teilchengrößen waren durch die Einarbeitung von Polysorbat 80 deutlich geringer als durch Saccharoselaurat.

Weiters zeigte die Einarbeitung unterschiedlicher Arzneistoffe Einflüsse auf die Nanoemulsion.

Schon zu Beginn ließ sich Fluconazol leichter in die Zubereitung einarbeiten als Flumethasonpivalat.

Mit beiden Arzneistoffen konnten stabile Nanoemulsionen hergestellt werden, bei der Einarbeitung von Phytosphingosin zeigte sich aber eine höhere Stabilität der Zubereitungen mit Fluconazol gegenüber jenen mit Flumethasonpivalat.

Bestimmte Wechselwirkungen zwischen der Struktur des Arzneistoffes und den Bestandteilen der Nanoemulsion scheinen dafür verantwortlich zu sein.

Bei Betrachtung der Permeationsstudien zeigt sich, dass bei den fluconazolhaltigen Zubereitungen durch Phytosphingosin eine gesteigerte Permeation nachgewiesen werden konnte. Das ist wohl zurückzuführen auf eine verstärkte Interaktion der positiv geladenen Nanoemulsion mit der negativ geladenen Haut.

Die unterschiedlichen Effekte von Phytosphingosin im Hinblick auf die Hautpermeation der eingearbeiteten Arzneistoffe könnten darauf zurückzuführen sein, dass Phytosphingosin einen negativen Einfluss auf deren physikalische Stabilität zeigte.

Genauere Untersuchungen, vor allem eine Aufklärung der Struktur, zum Beispiel mittels Elektronenmikroskopie, wären hier sicher sehr interessant.

Die Hautpermeationssteigerung der Arzneistoffe hängt einerseits von den verwendeten Emulgatoren, andererseits von den eingearbeiteten Arzneistoffen ab. So konnte eine größere Menge Arzneistoff aus einer Polysorbat 80 haltigen Nanoemulsion durch die Haut diffundieren, als aus einer Saccharoselaurat haltigen Zubereitung. Grund hierfür dürfte in der Fähigkeit des Polysorbates 80 liegen mit Keratinfilamenten in der Haut zu interagieren und dadurch die Korneozyten in ihrer Funktion zu stören (2).

Eine weitere Austestung verschiedener Formulierungen könnte hierfür in der Zukunft wichtige Erkenntnisse über bestimmte molekulare Wechselwirkungen bringen.

Für eine großtechnische Herstellung und Nutzung von Nanoemulsionen stellt die eventuelle physikalische Instabilität ein wesentliches Problem dar. Ein wichtiges Forschungsgebiet wird wohl in Zukunft sein, wie Nanoemulsionen stabiler gemacht werden können und unter welchen Bedingungen sie zur Instabilität neigen.

Als Hauptgrund für die Zunahme der Teilchengröße von Nanoemulsionen ist hier die Ostwald Reifung zu nennen (8, 10), diese Ostwald Reifung dürfte auch verantwortlich für die Instabilität der untersuchten Zubereitungen sein.

Und obwohl Zetapotentialwerte von über 30 mV einen stabilisierenden Effekt, durch Verringerung der Ostwald Reifung, haben sollten, genügten jene hohen Werte von über 40 mV nicht, um eine Agglomeration zu verhindern.

Eventuell könnte durch Einarbeitung einer geringeren Menge an Phytosphingosin eine höhere Stabilität erreicht werden, ohne auf den Effekt der verbesserten Hautpermeation verzichten zu müssen.

Abschließend bleibt festzustellen, dass die Nanoemulsion sehr vielversprechend für die Zukunft ist, manche Punkte aber noch einer genaueren Untersuchung bedürfen. Neben dem Problem der Instabilität stellt sich auch die Frage der Umweltverträglichkeit. Und gerade bei Anwendungen auf der Haut wird es besonders wichtig sein zu untersuchen, welchen Einfluss Nanoemulsionen oder Nanopartikel im menschlichen Körper haben.

In einer Studie wurde anhand von Zellversuchen schon festgestellt, dass Nanopartikel ähnlich wie ein trojanisches Pferd Stoffe durch die Zellmembran schmuggeln können und dann in den Zellen erhöhten oxidativen Stress verursachen können. Auf den Menschen übertragen könnte es ein Hinweis darauf sein, dass Nanopartikel, wenn sie zum Beispiel eingeatmet werden, in der Lunge zu schweren Entzündungen oder sogar zu Krebs führen können (29, 30).

Eine schon oft untersuchte Fragestellung ist die Gefährlichkeit von Zinkoxid in Sonnenschutzcremen. In verschiedenen Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass Nanopartikel mit Zinkoxid größtenteils auf der Hautoberfläche verbleiben. Ein Eindringen in tiefere Hautschichten ist zwar über Haarfollikel möglich, durch das Haarwachstum werden sie aber wieder an die Hautoberfläche befördert. Bei Hautverletzungen allerdings kann schon ein tieferes Eindringen von Nanopartikeln beobachtet werden (31).

Weitere Forschungen auf dem Gebiet sind also unbedingt nötig.

## 6. Zusammenfassung

Aufbauend auf vorangegangene Untersuchungen wurden Nanoemulsionen mit Phytosphingosin entwickelt. Während eine Gruppe mit Polysorbat 80 stabilisiert wurde, wurde eine zweite Gruppe mit dem Zuckertensid Saccharoselaurat stabilisiert. Als Modellwirkstoff wurde das hydrophile Fluconazol und das lipophile Flumethasonpivalat eingearbeitet.

Wir konnten feststellen, dass die Sphingoidbase Phytosphingosin einen deutlichen Einfluss auf das physikalisch-chemische Verhalten und die Hautpermeation der Zubereitungen hatte.

Durch Einarbeitung von 0,4% und 0,6% Phytosphingosin verringerte sich die Stabilität, aber bei manchen Formulierungen ließ sich die Hautpermeation des Arzneistoffes erhöhen. Nicht immer bedeutete jedoch eine höhere Konzentration an Sphingoidbase eine bessere Hautpermeation. Offensichtlich hat der verwendete Arzneistoff einen Einfluss auf die Stabilität und die Erhöhung der Hautpermeation in einer phytosphingosinhaltigen Nanoemulsion. So konnte bei den Zubereitungen mit Fluconazol durch Einarbeitung der Sphingoidbase immer eine Permeationssteigerung beobachtet werden, während dieser Effekt bei Flumethasonpivalat nur bei den Formulierungen mit Polysorbat 80 eintrat.

Fluconazolhaltige Nanoemulsionen mit Phytosphingosin waren auch etwas stabiler als jene mit Flumethasonpivalat.

Auch der verwendete Emulgator, Polysorbat 80 oder Saccharoselaurat, zeigte einen deutlichen Einfluss auf sowohl Stabilität und Hautpermeation der Zubereitungen. Alle Zubereitungen mit Polysorbat 80 waren stabiler und zeigten generell eine höhere Arzneistoffdiffusion durch die Haut. Weiters konnten durch Verwendung von Polysorbat 80 auch kleinere Teilchengrößen bei der Herstellung der Nanoemulsion erzielt werden, als das durch Verwendung von Saccharoselaurat der Fall war.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass es uns gelungen ist eine stabile, pH-hautverträgliche Nanoemulsionzubereitung mit sowohl darin eingearbeiteten Fluconazol als auch Flumethasonpivalat herzustellen.

Phytosphingosin bleibt ein sehr interessanter Kandidat um die Hautpermeation bestimmter Arzneistoffe zu erhöhen. Es scheint aber gewisse molekulare Wechselwirkungen in einer Nanoemulsionzubereitung zu geben, die dazu führen, dass der Effekt der Permeationssteigerung nicht mit jedem Arzneistoff in jeder Zubereitung möglich ist. Hierfür lohnt es sich weitere Untersuchungen durchzuführen und auch eine Strukturanalyse zu machen.

Das Problem der verringerten Stabilität einer phytosphingosinhaltigen Zubereitung mit Arzneistoff muss ebenfalls noch weiter erforscht werden. Schon in einer anderen Untersuchung konnte ein ebensolcher Effekt bemerkt werden (32).

Abschließend bleibt festzuhalten, dass Phytosphingosin unter bestimmten Voraussetzungen die Wirkstoffdiffusion durch die Haut beeinflussen kann, jedoch eine große Abhängigkeit von den physikalisch chemischen Eigenschaften des verwendeten Arzneistoffes besteht.

Ausserdem führte die Einarbeitung der Sphingoidbase zu einer erhöhten Instabilität der vorliegenden hydrophilen Nanoemulsionen.

Daher wäre es interessant in zukünftigen Untersuchungen Phytosphingosin in lipophile Zubereitungen einzuarbeiten und die Wechselwirkungen zu untersuchen.

## 7. Anhang

Im Folgenden finden sich aufgelistet die Tabellen mit den Messungen von PDI und Teilchengröße der jeweiligen Zubereitungen:

*Tab. 18: Teilchengröße in nm und PDI von NTF-0PS über einen Zeitraum von 8 Wochen; n=6*

<b>Tage</b>	<b>TG</b>	<b>PDI</b>
<b>0</b>	124,48±2,85	0,09-0,19
<b>3</b>	126,62±11,05	0,092-0,14
<b>6</b>	127,02±5,49	0,096-0,16
<b>8</b>	124,12±10,04	0,08-0,15
<b>15</b>	122,82±10,25	0,09-0,16
<b>21</b>	125,35±7,19	0,12-0,16
<b>28</b>	127,00±3,35	0,09-0,16
<b>36</b>	126,28±6,43	0,11-0,15
<b>42</b>	127,25±6,91	0,12-0,16
<b>49</b>	129,13±8,30	0,11-0,16
<b>56</b>	127,52±8,37	0,10-0,15

Tab. 19: Teilchengröße in nm und PDI von NTF-0,4PS über einen Zeitraum von 8 Wochen; n=6

<b>Tage</b>	<b>TG</b>	<b>PDI</b>
<b>0</b>	127,71± 5,02	0,08-0,10
<b>3</b>	131,68± 8,46	0,07-0,11
<b>6</b>	134,23± 9,99	0,08-0,11
<b>8</b>	135,91±11,71	0,08-0,09
<b>15</b>	152,12±18,69	0,06-0,15
<b>21</b>	156,18±19,12	0,08-0,11
<b>28</b>	178,30±39,83	0,07-0,11
<b>36</b>	193,93±55,53	0,06-0,10
<b>42</b>	193,30±50,96	0,06-0,12
<b>49</b>	197,42±48,11	0,07-0,11
<b>56</b>	197,77±54,21	0,08-0,13

Tab. 20: Teilchengröße in nm und PDI von NTF-0,6PS über einen Zeitraum von 8 Wochen; n=6

<b>Tage</b>	<b>TG</b>	<b>PDI</b>
<b>0</b>	154,02±7,28	0,08-0,10
<b>3</b>	186,73±1,72	0,05-0,24
<b>6</b>	185,52±43,82	0,05-0,12
<b>8</b>	174,82±46,03	0,07-0,10
<b>15</b>	182,07±52,28	0,05-0,09
<b>21</b>	183,47±90,21	0,07-0,12
<b>28</b>	188,28±62,06	0,07-0,16
<b>36</b>	203,82±86,24	0,06-0,21
<b>42</b>	197,18±74,18	0,06-0,19
<b>49</b>	200,78±73,37	0,08-0,18
<b>56</b>	198,68±60,60	0,08-0,20

Tab. 21: Teilchengröße in nm und PDI von NLF-0PS über einen Zeitraum von 8 Wochen; n=6

<b>Tage</b>	<b>TG</b>	<b>PDI</b>
<b>0</b>	159,30±3,02	0,08-0,14
<b>3</b>	166,37±7,02	0,09-0,19
<b>6</b>	159,02±6,62	0,09-0,15
<b>8</b>	165,43±9,95	0,10-0,19
<b>15</b>	164,50±8,39	0,11-0,16
<b>21</b>	163,82±10,96	0,10-0,20
<b>28</b>	162,82±6,34	0,08-0,15
<b>36</b>	159,88±1,44	0,09-0,20
<b>56</b>	167,42±1,91	0,11-0,17

Tab. 22: Teilchengröße in nm und PDI von NLF-0,4PS über einen Zeitraum von 8 Wochen; n=6

<b>Tage</b>	<b>TG</b>	<b>PDI</b>
<b>0</b>	201,45±13,80	0,20-0,33
<b>3</b>	196,62±18,24	0,24-0,39
<b>6</b>	181,25±2,59	0,28-0,39
<b>8</b>	169,98±22,67	0,09-0,25
<b>15</b>	226,13±59,09	0,20-0,34
<b>21</b>	210,70±39,77	0,22-0,34
<b>28</b>	213,25±49,55	0,20-0,40
<b>36</b>	334,88±15,38	0,35-0,73

Tab. 23: Teilchengröße in nm und PDI von NLF-0,6PS über einen Zeitraum von 8 Wochen; n=6

<b>Tage</b>	<b>TG</b>	<b>PDI</b>
<b>0</b>	197,25±30,69	0,13-0,36
<b>3</b>	184,55±26,76	0,23-0,37
<b>6</b>	168,02±21,01	0,07-0,38
<b>8</b>	160,48±2,04	0,10-0,13
<b>15</b>	188,27±22,55	0,34-0,46
<b>21</b>	174,82±4,58	0,30-0,39
<b>28</b>	175,45±4,83	0,22-0,34
<b>36</b>	353,57±6,52	0,45-0,59

Tab. 24: Teilchengröße in nm und PDI von NTFM-0PS über einen Zeitraum von 8 Wochen; n=6

<b>Tage</b>	<b>TG</b>	<b>PDI</b>
<b>0</b>	142,37±15,43	0,11-0,15
<b>3</b>	142,22±13,19	0,08-0,13
<b>6</b>	143,35±13,18	0,11-0,15
<b>8</b>	145,17±10,97	0,09-0,14
<b>15</b>	141,08±11,36	0,08-0,14
<b>21</b>	141,90±10,45	0,09-0,13
<b>28</b>	147,75±16,74	0,12-0,19
<b>36</b>	145,53±12,43	0,09-0,15
<b>42</b>	145,68±14,27	0,11-0,15
<b>49</b>	146,22±15,07	0,10-0,13
<b>56</b>	143,23±14,66	0,11-0,16

Tab. 25: Teilchengröße in nm und PDI von NTFM-0,4PS über einen Zeitraum von 8 Wochen; n=6

<b>Tage</b>	<b>TG</b>	<b>PDI</b>
<b>0</b>	142,25±6,82	0,08-0,13
<b>3</b>	147,97±11,81	0,10-0,14
<b>6</b>	150,33±13,92	0,07-0,12
<b>8</b>	153,25±17,69	0,08-0,12
<b>15</b>	171,45±34,75	0,07-0,12
<b>21</b>	201,28±38,07	0,09-0,29
<b>28</b>	400,50±90,87	0,24-0,32
<b>36</b>	382,70±8,70	0,21-0,39
<b>42</b>	529,32±22,45	0,29-0,38
<b>49</b>	513,33±67,89	0,22-0,31
<b>56</b>	513,27±63,81	0,29-0,46

Tab. 26: Teilchengröße in nm und PDI von NTFM-0,6PS über einen Zeitraum von 8 Wochen; n=6

<b>Tage</b>	<b>TG</b>	<b>PDI</b>
<b>0</b>	175,20±5,30	0,09-0,13
<b>3</b>	260,45±74,19	0,07-0,29
<b>6</b>	247,32±45,92	0,07-0,17
<b>8</b>	307,48±104,48	0,07-0,28
<b>15</b>	320,50±88,83	0,12-0,26
<b>21</b>	525,03±258,36	0,11-0,39
<b>28</b>	541,48±244,30	0,19-0,38
<b>36</b>	550,12±236,40	0,16-0,43
<b>42</b>	556,83±242,77	0,19-0,39
<b>49</b>	798,33±402,24	0,19-0,47
<b>56</b>	908,27±428,53	0,20-0,59

Tab. 27: Teilchengröße in nm und PDI von NLFM-0PS über einen Zeitraum von 8 Wochen; n=6

<b>Tage</b>	<b>TG</b>	<b>PDI</b>
<b>0</b>	167,62±7,80	0,09-0,15
<b>3</b>	170,85±6,27	0,13-0,17
<b>6</b>	168,52±6,57	0,06-0,18
<b>8</b>	158,85±9,38	0,05-0,09
<b>15</b>	166,25±12,88	0,13-0,20
<b>21</b>	166,07±7,69	0,12-0,17
<b>28</b>	164,80±3,20	0,11-0,19
<b>36</b>	170,78±4,02	0,11-0,15
<b>56</b>	174,07±3,83	0,13-0,18

Tab. 28: Teilchengröße in nm und PDI von NLFM-0,4PS über einen Zeitraum von 8 Wochen; n=6

<b>Tage</b>	<b>TG</b>	<b>PDI</b>
<b>0</b>	187,18±20,01	0,18-0,23
<b>3</b>	179,72±13,55	0,10-0,23
<b>6</b>	184,67±18,86	0,20-0,25
<b>8</b>	191,25±32,03	0,24-0,30
<b>15</b>	193,22±15,30	0,23-0,30
<b>21</b>	190,87±9,66	0,13-0,36
<b>28</b>	312,33±193,75	0,33-1,00

Tab. 29: Teilchengröße in nm und PDI von NLFM-0,6PS über einen Zeitraum von 8 Wochen; n=6

<b>Tage</b>	<b>TG</b>	<b>PDI</b>
<b>0</b>	215,55±16.10	0,18-0,28
<b>3</b>	237,83±2,55	0,23-0,40
<b>6</b>	236,18±4,74	0,30-0,38
<b>8</b>	220,77±27,20	0,19-0,25
<b>15</b>	450,67±65,86	0,42-0,52

Im weiteren aufgelistet finden sich die Ergebnisse der einzelnen Zellen der Hautpermeation aller Zubereitungen.

Tab. 30: Ergebnisse der Hautpermeation von Fluconazol aus NTF-0PS; n.d.= nicht detektierbar

Stunden	Zelle 1 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Zelle 2 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Zelle 3 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	209,73	131,34	115,59	152,22	50,42
4	807,52	565,68	373,05	582,08	217,70
6	1415,92	672,06	761,40	949,79	406,14
8	1812,21	1284,30	1187,78	1428,09	336,13

Tab. 31: Ergebnisse der Hautpermeation von Fluconazol aus NTF-0,4PS; n.d.= nicht detektierbar

Stunden	Zelle 1 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Zelle 2 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Zelle 3 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	265,47	199,74	281,15	248,79	43,19
4	926,90	781,23	995,28	901,14	109,33
6	1435,22	1092,10	1391,76	1306,36	186,82
8	1818,93	1560,58	1719,17	1699,56	130,28

Tab. 32: Ergebnisse der Hautpermeation von Fluconazol aus NTF-0,6PS; n.d.= nicht detektierbar

Stunden	Zelle 1 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Zelle 2 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Zelle 3 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	343,77	324,67	521,08	396,51	108,30
4	1054,88	643,12	1083,05	927,02	246,26
6	1414,22	1520,96	1563,81	1499,66	77,04
8	1662,98	1402,66	1714,90	1593,52	167,31

Tab. 33: Ergebnisse der Hautpermeation von Fluconazol aus NLF-0PS; n.d.= nicht detektierbar

Stunden	Zelle 1 (µg/cm <sup>2</sup> )	Zelle 2 (µg/cm <sup>2</sup> )	Zelle 3 (µg/cm <sup>2</sup> )	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	153,31	51,67	18,65	74,54	70,18
4	456,80	230,73	101,75	263,09	179,73
6	500,89	375,30	286,74	387,64	107,61
8	690,07	440,74	367,65	499,49	169,05

Tab. 34: Ergebnisse der Hautpermeation von Fluconazol aus NLF-0,4PS; n.d.= nicht detektierbar

Stunden	Zelle 1 (µg/cm <sup>2</sup> )	Zelle 2 (µg/cm <sup>2</sup> )	Zelle 3 (µg/cm <sup>2</sup> )	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	62,46	199,74	265,47	175,89	103,58
4	114,42	323,23	247,19	228,28	105,68
6	313,82	359,62	278,57	317,34	40,64
8	340,23	486,54	331,01	385,93	87,26

Tab. 35: Ergebnisse der Hautpermeation von Fluconazol aus NLF-0,6PS; n.d.= nicht detektierbar

Stunden	Zelle 1 (µg/cm <sup>2</sup> )	Zelle 2 (µg/cm <sup>2</sup> )	Zelle 3 (µg/cm <sup>2</sup> )	Zelle 4 (µg/cm <sup>2</sup> )	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	343,77	93,11	66,62	144,08	161,89	125,44
4	349,64	357,48	246,69	407,72	340,38	67,56
6	506,42	602,70	620,08	778,87	627,02	112,90
8	830,76	758,63	1080,16	1006,96	919,13	149,68

Tab. 36: Ergebnisse der Hautpermeation von Flumethasonpivalat aus NTFM-0PS;  
n.d.= nicht detektierbar

Stunden	Zelle 1 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Zelle 2 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Zelle 3 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0,46	0,32	0,52	0,43	0,10
4	4,43	3,04	11,74	6,40	4,67
6	9,43	6,86	21,11	12,47	7,60
8	14,96	11,10	22,99	16,35	6,07
24	54,58	39,81	68,92	54,43	14,56
28	62,53	51,33	73,95	62,61	11,31
32	67,91	55,25	75,34	66,17	10,15
48	106,25	95,43	128,10	109,93	16,64

Tab. 37: Ergebnisse der Hautpermeation von Flumethasonpivalat aus NTFM-0,4PS;  
n.d.= nicht detektierbar

Stunden	Zelle 1 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Zelle 2 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Zelle 3 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	4,28	2,87	8,86	5,34	3,14
4	12,60	10,41	20,08	14,37	5,07
6	19,91	16,70	31,98	22,86	8,06
8	28,30	23,59	42,96	31,62	10,10
24	77,82	71,75	87,78	79,12	8,09
28	82,96	85,25	95,60	87,94	6,73
32	84,58	89,90	97,13	90,54	6,30
48	121,32	131,49	126,48	126,43	5,09

Tab. 38: Ergebnisse der Hautpermeation von Flumethasonpivalat aus NTFM-0,6PS;  
n.d.= nicht detektierbar

Stunden	Zelle 1 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Zelle 2 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	5,33	3,55	4,44	1,26
4	13,74	11,76	12,75	1,40
6	20,80	20,30	20,55	0,36
8	27,64	28,76	28,20	0,79
24	80,99	78,71	79,85	1,61
28	90,80	92,32	91,56	1,07
32	91,56	94,55	93,06	2,12
48	154,63	141,04	147,83	9,61

Tab. 39: Ergebnisse der Hautpermeation von Flumethasonpivalat aus NLFM-0PS;  
n.d.= nicht detektierbar

Stunden	Zelle 1 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Zelle 2 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Zelle 3 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Zelle 4 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
6	2,65	1,54	3,65	2,57	2,60	0,86
8	5,42	4,34	5,69	5,95	5,35	0,70
24	29,25	24,14	36,44	32,90	30,68	5,26
28	35,84	29,79	43,37	43,70	38,17	6,67
32	39,62	34,85	47,86	47,76	42,52	6,41
48	60,63	55,13	77,73	76,67	67,54	11,38

Tab. 40: Ergebnisse der Hautpermeation von Flumethasonpivalat aus NLFM-0,4PS;  
n.d.= nicht detektierbar

Stunden	Zelle 1 (µg/cm <sup>2</sup> )	Zelle 2 (µg/cm <sup>2</sup> )	Zelle 3 (µg/cm <sup>2</sup> )	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
6	3,17	0,83	4,79	2,93	1,99
8	5,34	2,16	6,39	4,63	2,20
24	27,19	17,13	26,68	23,66	5,67
28	31,89	19,96	31,01	27,62	6,65
32	37,14	23,64	33,36	31,38	6,97
48	50,64	32,60	47,21	43,49	9,58

Tab. 41: Ergebnisse der Hautpermeation von Flumethasonpivalat aus NLFM-0,6PS;  
n.d.= nicht detektierbar

Stunden	Zelle 1 (µg/cm <sup>2</sup> )	Zelle 2 (µg/cm <sup>2</sup> )	Zelle 3 (µg/cm <sup>2</sup> )	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
6	3,13	3,13	1,96	2,74	0,68
8	5,55	5,86	3,67	5,03	1,19
24	23,15	23,73	19,74	22,21	2,16
28	25,54	27,91	22,29	25,25	2,82
32	28,18	30,98	24,58	27,91	3,21
48	36,65	39,75	37,29	37,90	1,64

## 8. Literaturverzeichnis

- (1) R. Voigt, A. Fahr, Pharmazeutische Technologie für Studium und Beruf, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart, 10. Auflage, 2006
- (2) S. Hoeller, A. Sperger, C. Valenta, Lecithin based nanoemulsions: A comparative study of the influence of non-ionic surfactants and the cationic phytosphingosine on physicochemical behaviour and skin permeation, Int. J. Pharm. 370, 181-186, 2009
- (3) M. P. Y. Piemi, D. Korner, S. Benita, J. P. Marty, Positively and negatively charged submicron emulsions for enhanced topical delivery of antifungal drugs, J. Contr. Release, 58, 177-187, 1999
- (4) E. Yilmaz, H. B. Borchert, Design of a phytosphingosine-containing, positively- charged nanoemulsion as a colloidal carrier system for dermal application of ceramides, Eur. J. Pharm. Biopharm., 60, 91-98, 2005
- (5) G. Thews, E. Mutschler, P. Vaupel, Anatomie Physiologie Pathophysiologie des Menschen, 5 Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1999
- (6) E. Yilmaz, Development of phytosphingosine – containing positively charged nanoemulsions for dermal application, Digitale Dissertation, FU Berlin (2005), <http://www.diss.fu-berlin.de/2005/98/>, Stand Juli 2008
- (7) Bundesministerium für Bildung und Forschung, Nanotechnologie- eine Zukunftstechnologie mit Visionen <http://www.bmbf.de/de/nanotechnologie.php> , Stand März 2009
- (8) T. Tadros, P. Izquierdo, J. Esquena, C. Solans, Formation and stability of nano-emulsions, Advances in colloid and interface Science 108-109, 303-318, 2004
- (9) P. Fernandez, V. Andre, J. Rieger, A. Kühnle, Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion, Colloids and surfaces A, 251, 53-58, 2004
- (10) O. Sonnevile-Aubrun, J.T. Simonnet, F. L`Alloret, Nanoemulsions a new vehicle for skincare products, Advances in colloid and interface Science 108-109, 145-149, 2004
- (11) E. Heymann, Haut Haar und Kosmetik- Handbuch für Körperpflegeberufe, Apotheker, und Dermatologen, Verlag Hans Huber, Bern, 2. Auflage, 2002

- (12) H.P.T. Ammon, Hunnius, Pharmazeutisches Wörterbuch, Verlag Walter de Gruyter, Berlin, 9.Auflage, 2004
- (13) F. Nielloud, G. Marti-Mestres, Pharmaceutical Emulsions and Suspensions, Verlag Marcel Dekker, 2. Auflage, 2000
- (14) Mitsubishi- Kagaku Foods Corporation, Ryoto® Sugar Ester Technical Information, 2004
- (15) Mitsubishi- Kagaku Foods Corporation, Certificate of analysis of Ryoto® Sugar Ester L1695 for food, 2006
- (16) H. A. Ayala-Bravo, D. Quintanar- Guerrero, A. Naik, Y. N. Kalia, J. M. Cornejo-Bravo, A. Ganem-Quintanar, Effects of Sucrose Oleate and Sucrose Laureate on in vivo Human Stratum Corneum Permeability, Pharm. Research, 20, 1267-1273, 2003
- (17) J. Cazares-Delgadillo, A. Naik, Y.N. Kalia, D. Quintanar-Guerrero, A. Ganem-Quintanar, Skin permeation enhancement by sucrose esters: A pH-dependent phenomenon, Int. J. Pharm. 297, 204-212, 2005
- (18) S. B. Calderilla- Fajardo, J. Cazares- Delgadillo, R. Villalobos- Garcia, D. Quintanar- Guerrero, A. Ganem- Quintanar, Influence of Sucrose Esters on the In Vivo Percutaneous Penetration of Octyl Methoxycinnamate Formulated in Nanocapsules, Nanoemulsion, and Emulsion, Drug Development and Ind. Pharm 32, 107-113, 2006
- (19) R. H. H. Neubert, W. A. Wohlrab, W. Ch. Marsch, Dermatopharmazie: Vehikel- Wirkstoffe- Pharmakologie, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 2001
- (20) E. Yilmaz, H. Borchert, Effect of lipid- containing, positively charged nanoemulsions on skin hydration, elasticity and erythema - An in vivo study, Int. J. Pharm. 307, 232-238, 2006
- (21) M. Farwick, R. E. B. Watson, A. V. Rawlings, U. Wollenweber, P. Lersch, J. J. Bowden, J. Y. Bastrilles, C. E. M. Griffiths, Salicyl- phytosphingosine: a novel agent for the repair of photoaged skin, Int. J. Cosm. Science 29, 319-329, 2007
- (22) Pfizer Produktinformation, [http://media.pfizer.com/files/products/uspi\\_diffucan.pdf](http://media.pfizer.com/files/products/uspi_diffucan.pdf) , Stand Februar 2009

- (23) S. Sonego Krone, D. Sanchez- Dimartino, R. Ayala- Lugo, G. Torres- Alvariza, C. N. Ta, L. Barbosa, H. Mino de Kaspar, Clinical results of topical fluconazole for the treatment of filamentous fungal keratitis, Graefe`s Archive for clinical and experimental ophthalmology 244, No.7, 2006, edited by Springer Berlin, <http://www.springerlink.com/content/u28735j5m78k3283/> , Stand Februar 2009
- (24) Artikel über Glukocorticosteroide in der Dermatologie [www.aerzteblatt.de/pdf/93/44/a2868\\_2.pdf](http://www.aerzteblatt.de/pdf/93/44/a2868_2.pdf) , Stand Februar 2009
- (25) Produktinformation von Malvern Instruments Ltd., [www.malvern.co.uk/LabEng/technology/dynamic\\_light\\_scattering/dynamic\\_light\\_scattering.htm](http://www.malvern.co.uk/LabEng/technology/dynamic_light_scattering/dynamic_light_scattering.htm) , Stand Februar 2009
- (26) Produktinformation von Malvern Instruments Ltd., [www.malvern.co.uk/LabEng/technology/zeta\\_potential/zeta\\_potential\\_LDE.htm](http://www.malvern.co.uk/LabEng/technology/zeta_potential/zeta_potential_LDE.htm) , Stand Februar 2009
- (27) R. H. Müller, Zetapotential und Partikelladung in der Laborpraxis, Band 37, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1996
- (28) S. Höller, C. Valenta, Effect of selected fluorinated drugs in a “ringing” gel on rheological behaviour and skin permeation, Eur. J. Biopharm. 66, 120-126, 2007
- (29) scinexx – das Wissensmagazin, Nanopartikel machen Zellen Stress, <http://www.scinexx.de/wissen-aktuell-8023-2008-04-01.html> , Stand Februar 2009
- (30) Green Facts, Facts on health and environment, <http://copublications.greenfacts.org/de/nanotechnologien/#6> , Stand Februar 2009
- (31) Bundesinstitut für Risikobewertung, <http://www.bfr.bund.de/cd/7720> , Stand Februar 2009
- (32) A. Sperger, Einfluss verschiedener Zuckertenside in Lecithin Nanoemulsionen auf das physikalisch chemische Verhalten und die Hautdiffusion von Fludrocortisonacetat, Diplomarbeit Universität Wien, 2008

## 9. Lebenslauf

Name: Marie-Therese Mangold  
Adresse: Canongasse 14/13, 1180 Wien

### PERSÖNLICHE DATEN:

Geburtsort: Wien  
Geburtsdatum: 8.Juni 1984  
Nationalität: Österreich  
Familienstand: ledig

### AUSBILDUNG:

1990-1994 Volksschule Albertus Magnus Schule,  
Wien  
1994-2002 AHS Albertus Magnus Schule, 1180 Wien  
Sommer 2002 ehrenamtliches Praktikum an einer  
Blindenschule  
Praktikum in einer öffentlichen Bücherei  
Seit Wintersemester 2002 Pharmazie Studium an der Universität Wien  
März 2008-Juni 2009 Tutorin in den Übungen der Magistralen  
Arzneimittelherstellung am Department  
Pharmazeutische Technologie und  
Biopharmazie

### KENNTNISSE:

EDV: Word  
Excel  
Powerpoint  
Sprachen: Deutsch (muttersprachlich)  
Englisch  
Spanisch  
Französisch