



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Natürliche Mikroemulsionen zur dermalen Applikation:
Entwicklung, Charakterisierung und Hautpenetration

Verfasserin

Magdalena Hoppel

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag. pharm.)

Wien, Jänner 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A449

Studienrichtung lt. Studienblatt: Diplomstudium Pharmazie

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

DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank geht an Ao. Univ.-Prof. Dr. Claudia Valenta für die kompetente Betreuung und das angenehme Arbeitsklima.

An dieser Stelle möchte ich mich auch bei O. Univ.-Prof. Mag. Dr. Helmut Viernstein für das Ermöglichen meiner Arbeit am Department für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie bedanken.

Außerdem möchte ich mich auch bei Ass. Prof. Dr. Hanspeter Kählig für die NMR-Analytik danken.

Großer Dank gebührt Mag. pharm. Julia Schwarz für die ausgezeichnete Unterstützung und sehr gute Zusammenarbeit während des praktischen Teils meiner Diplomarbeit.

Auch bei Mag. pharm. Victoria Klang, die mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand, möchte ich mich herzlich bedanken.

Auch meinem Bruder, Florian Hoppel, und seiner Freundin, Martina Masek, möchte ich ein Dankeschön für ihre Unterstützung und aufbauenden Worte in schlechten Zeiten aussprechen.

Mein größter Dank gilt abschließend meinen Eltern, Monika und Herbert Hoppel, für die immerwährende finanzielle als auch moralische Unterstützung, sowie für ihr Verständnis und ihre Geduld während meiner gesamten Ausbildung.

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	1
2. ALLGEMEINER TEIL	3
2.1. Die Haut	3
2.1.1. Histologischer Aufbau.....	3
2.1.2. Transport von Arzneistoffen	5
2.2. Mikroemulsionen	8
2.2.1. Definition und Eigenschaften	8
2.2.2. Einsatzgebiete	10
2.3. Phasendiagramme	11
2.3.1. Dreiecksdiagramm und pseudoternäres Phasendiagramm.....	11
2.4. Tenside	12
2.4.1. Lezithin	14
2.4.2. Saccharoseester.....	15
2.4.3. Alkylpolyglykoside	16
2.5. Isopropylmyristat	18
2.5.1. Eigenschaften.....	18
2.6. Fluconazol	19
2.6.1. Eigenschaften.....	19
2.6.2. Pharmakologische Wirkung und Anwendung	19
2.7. Flufenaminsäure	20
2.7.1. Eigenschaften.....	20
2.7.3. Pharmakologische Wirkung und Anwendung	21
3. METHODEN	23
3.1. Rezeptur und Herstellung der Mikroemulsionen	23
3.1.1. Herstellung ternärer Mischungen zur Erstellung des Phasendiagramms	23
3.1.2. Herstellung von Mikroemulsionen mit Fluconazol und Flufenaminsäure	26
3.2. Erstellung des Phasendiagramms	27
3.2.1. Charakterisierung der Mikroemulsionen	28
3.2.1.1. Makroskopische Untersuchung.....	28
3.2.1.2. Mikroskopische Untersuchung.....	28
3.2.2. Phasendiagramme	28

3.3. in-vitro Hautstudien	29
3.3.1. Franz-Zell Versuche	29
3.3.1.1. <i>Versuchsanordnung</i>	30
3.3.2. Tape Stripping	31
3.3.2.1. <i>Versuchsanordnung</i>	32
3.3.3. HPLC – Analytik	35
3.3.3.1. <i>Bestimmung von Fluconazol</i>	35
3.3.3.2. <i>Bestimmung von Flufenaminsäure</i>	37
3.3.4. NMR-Analytik.....	39
4. ERGEBNISSE	40
4.1. Makroskopische und mikroskopische Charakterisierung der Mikroemulsionen	40
4.2. Phasendiagramme der Mikroemulsionen	42
4.3. In-vitro Hautstudien	44
4.3.1. Franz-Zell Versuche	44
4.3.1.1. <i>Fluconazolhaltige Mikroemulsionen</i>	44
4.3.1.2. <i>Flufenaminsäurehaltige Mikroemulsionen</i>	45
4.3.2. Tape Stripping	47
4.3.2.1. <i>Fluconazolhaltige Mikroemulsionen</i>	47
4.3.2.2. <i>Flufenaminsäurehaltige Mikroemulsionen</i>	50
5. DISKUSSION	54
6. ZUSAMMENFASSUNG.....	57
7. ANHANG	59
8. LITERATURVERZEICHNIS.....	87
9. ABSTRACT	95
10. LEBENS LAUF	97

1. EINLEITUNG

Die Aufnahme von Arzneistoffen über die Haut wird schon seit langem durch bewährte Arzneiformen geleistet. Bereits im Altertum versuchten die Menschen sich die heilende Kraft von Pflanzen und anderen Drogen in Form von Umschlägen oder Salben aus tierischen Fetten nutzbar zu machen [1, 2].

Seit einiger Zeit gewinnen neben der Anwendung herkömmlicher Grundlagen wie Salben, Cremes oder Emulsionen, kolloidale Trägersysteme immer mehr an Bedeutung. Zu diesen Systemen zählen Liposomen, Nanoemulsionen und Mikroemulsionen [1, 3].

Die einfache Herstellung, das hervorragende Solubilisierungsvermögen und die hohe Stabilität sind klare Vorteile von Mikroemulsionen gegenüber anderen Vehikeln. Darüber hinaus sind sie in der Lage die Barrierefunktion der Haut reversibel herabzusetzen und somit die Penetration von Arzneistoffen durch die Haut zu fördern [1, 3].

Nachteil ist der oft sehr hohe Tensidgehalt der Mikroemulsionen und somit die Gefahr des Auftretens von Hautirritationen. Deswegen ist die Minimierung des Tensidgehalts sowie die Auswahl gut hautverträglicher Komponenten das Ziel bei der Entwicklung neuer Mikroemulsionssysteme [3].

Für diese Arbeit wurden natürliche, gut hautverträgliche und biologisch abbaubare Tenside verwendet. Schonende Herstellungsverfahren und gute Umweltverträglichkeit sind weitere Vorteile gegenüber synthetischen Substanzen. In vorangegangenen Studien wurde bereits die Eignung von Lezithin, Zuckerestern und Alkylpolyglykosiden Mikroemulsionen zu bilden untersucht [4, 5, 6, 7, 8].

Aus diesem Grund wurde jeweils ein Tensid aus diesen drei Gruppen gewählt. Es handelte sich hierbei um das Lezithin Lipoid S75, den Zuckerester Saccharoselaurat L-1695 und das Alkylpolyglykosid Montanov S.

Ziel dieser Arbeit war es Mikroemulsionen auf Basis natürlicher Tenside herzustellen und in Hautpermeations- und Hautpenetrationsstudien deren Eignung als Trägersysteme für Arzneistoffe zu untersuchen.

Um die Fähigkeit der Tenside Mikroemulsionen zu bilden genauer zu charakterisieren, wurden pseudoternäre Phasendiagramme für Lezithin, Saccharoselaurat und Alkylpolyglykosid als Einzeltenside erstellt. Außerdem wurde sowohl eine Kombination aus Lezithin und Saccharoselaurat als auch eine Kombination von Lezithin und Alkylpolyglykosid verwendet. Diese Mischungen wurden gewählt, weil es bei Verwendung von Tensiden mit unterschiedlichen HLB-Werten zu einer Vergrößerung des isotropen Gebietes kommen kann [9, 10].

Aus den erarbeiteten Phasendiagrammen wurde eine Mischung ausgewählt, die bei allen verwendeten Tensiden eine klare, isotrope Lösung bildete und somit der Definition einer Mikroemulsion entsprach.

Als Modellarzneistoffe wurden Flufenaminsäure und Fluconazol ausgewählt. Es handelt sich bei beiden um fluoridierte Arzneistoffe wodurch sie auch für die Analytik mittels ^{19}F -NMR geeignet sind. Auf der anderen Seite finden Flufenaminsäure als schmerzlindernder Wirkstoff, und Fluconazol als Wirkstoff gegen Pilzinfektionen, in topischen Arzneiformen in der Praxis Anwendung.

Mit diesen Formulierungen wurden in-vitro Hautstudien durchgeführt. Die Franz-Zell Versuche sollten Aufschluss geben, ob die unterschiedlichen Tenside Einfluss auf die Freisetzungsrates des eingearbeiteten Arzneistoffes haben. Mittels Tape Stripping sollte das Penetrationsverhalten der Modellarzneistoffe untersucht werden.

Da die Proben des Tape Strippings sowohl mittels HPLC als auch mittels ^{19}F -NMR vermessen wurden, konnte ein Vergleich dieser analytischen Methoden erarbeitet werden.

Ziel war es die Eignung der NMR-Analytik neben der bereits etablierten Analytik mittels HPLC für quantitative Untersuchungen zu zeigen.

2. ALLGEMEINER TEIL

2.1. Die Haut

2.1.1. Histologischer Aufbau

Die Haut ist das größte Organ des menschlichen Körpers und bildet die Barriere zwischen der Umwelt und dem Inneren des Organismus. Sie übt somit eine wichtige Kontaktfunktion aus, schützt den Körper vor chemischen, physikalischen und mechanischen Schädigungen und fungiert als wichtiger Wärmeregulator.

Von außen nach innen betrachtet gliedert sich die Haut in die Epidermis (Oberhaut), Dermis (Korium, Lederhaut) und Subcutis (Unterhaut). In diese Strukturen sind verschiedene Hautanhangsgebilde wie Haare, Talg- und Schweißdrüsen eingebettet [11, 12]

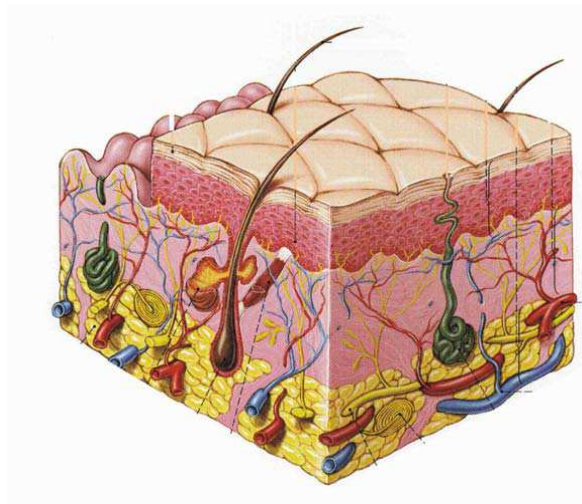


Abb. 1: Aufbau der Haut [1]

Bei der Subkutis handelt es sich um ein Fettgewebe, das die Haut mit der darunter liegenden Muskulatur oder Knochenhaut verbindet. Die Dermis ist ein Stütz- und Bindegewebe mit hoher mechanischer Festigkeit. Sie steht über Schmerz-, Berührungs- und Thermorezeptoren an den vielen freien Nervenendigungen in Kontakt mit der Umwelt [11, 13].

Die Epidermis besteht aus verhorntem Plattenepithel, das sich in mehrere Schichten unterteilen lässt [11].

Diese Schichten lassen sich in Abbildung 2 erkennen.

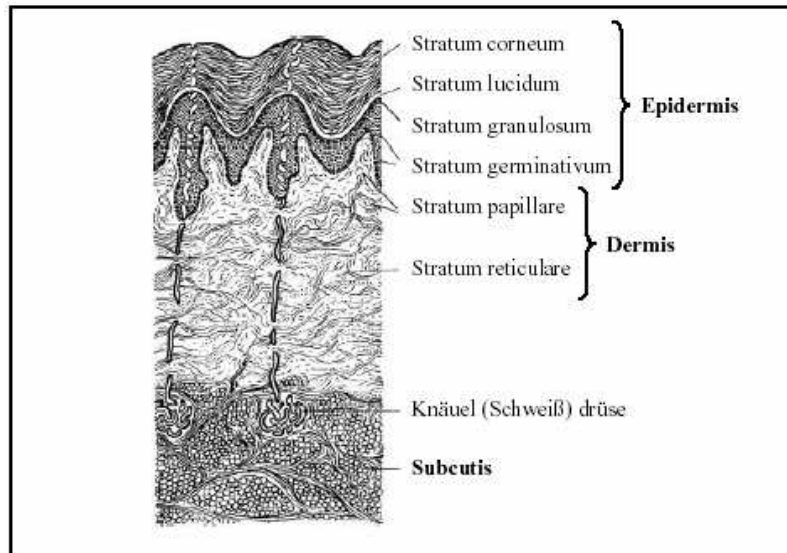


Abb. 2: Querschnitt durch die menschliche Haut [14]

Die Epidermis besteht zu 90% aus Keratinozyten. Sie entstehen durch Zellproliferation im Stratum basale und gelangen unter zunehmender Differenzierung und Keratinisierung bis zum Stratum corneum. Dort werden die inzwischen kernlosen Korneozyten als Hornhautschuppen abgestoßen [11, 13].

Obwohl das Stratum corneum nur eine Dicke von rund 20 μm aufweist, schützt es den Körper sowohl vor massivem Wasserverlust, als auch vor Umwelteinflüssen. Diese Schicht erneuert sich alle 14 Tage. Kommt es zu einer Störung dieses empfindlichen Gleichgewichts, äußert sich dies in Hauterkrankungen wie Ekzemen und Psoriasis [15].

Das Ziegel und Mörtel Modell nach Elias ist eine vereinfachte Darstellung des Stratum corneum [16].

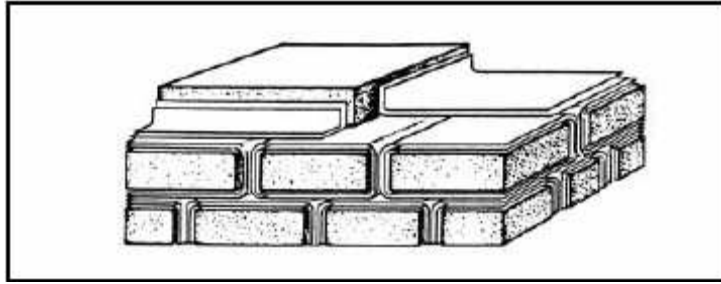


Abb. 3: Ziegel und Mörtel Modell [14]

Die Kerneozyten fungieren als Ziegel und sind für die chemische und mechanische Stabilität der Haut verantwortlich [17].

Der Mörtel ist ein komplexes Lipidgemisch. Dieses Gemisch beinhaltet Ceramide, freie Fettsäuren und deren Ester, Cholesterol und Cholesterolsulfat. Im Gegensatz zu den anderen biologischen Membranen beinhaltet das Stratum corneum jedoch keine Phospholipide. Da dieser Mörtel aus Doppelschichten aus abwechselnd hydrophilen und lipophilen Schichten aufgebaut ist, muss ein Wassermolekül erst viele hydrophobe Regionen passieren, bevor es an die Oberfläche gelangt. Somit wird auch klar, warum die Haut eine so exzellente Barriere gegen den Wasserverlust des Körpers darstellt [15].

Die Epidermis ist von einem dünnen Oberflächenfilm bedeckt, der aus einer wässrigen Lösung niedermolekularer Zellbestandteile und aus Lipiden besteht. Der pH-Wert beträgt 4,2 bis 5,6. Der Oberflächenfilm übt eine Schutzfunktion, insbesondere gegenüber dem Befall von Mikroorganismen, aus [18].

2.1.2. Transport von Arzneistoffen

Insgesamt stellt die Haut für das Eindringen der meisten Wirkstoffe eine beachtliche Barriere dar. Dies ist bei einer Behandlung mit einem Dermatikum zu berücksichtigen und wirft Probleme bei beabsichtigter systemischer Wirkung auf [18].

Prinzipiell können Stoffe über zwei Wege über die Haut aufgenommen werden. Sie können entweder durch Diffusion oder durch Poren ins Innere gelangen. Meist spielt der Transport durch Poren aufgrund des insgesamt geringen Anteils an Haarfollikeln, Talg- und Schweißdrüsen eine untergeordnete Rolle [19].

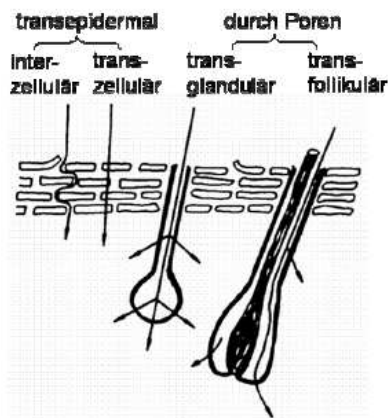


Abb. 4: Transportwege eines Stoffes durch die Haut [20]

Der wichtigste Transportweg für Stoffe durch die Haut ist die interzelluläre Route [15].

Für hydrophile Stoffe wurde zunächst ein transzellulärer Transport vermutet. Die Diffusion durch die dichtgepackten, keratinreichen Zellen und Lipidschichten gilt aber als unwahrscheinlich [21].

Verschiedene Untersuchungen belegen, dass die interzelluläre Route durch die Lipidmatrix für Arzneistoffe von größerer Bedeutung ist [22].

Der Wirkstofftransport läuft als passiver Transport ab und unterliegt dem 1. Fick'schen Diffusionsgesetz [3].

$$J = \frac{dM}{A \cdot dt} = -D \cdot \frac{dC}{dx}$$

Abb. 5: 1. Fick'sches Diffusionsgesetz [20]

Der Flux J wird auch Massestrom genannt. Er gibt Auskunft über die Masse M, die in einer bestimmten Zeiteinheit t eine definierte Fläche A durchwandert. Der Flux ist direkt proportional zu der Konzentrationsdifferenz dC entlang der Diffusionsstrecke x. Der Diffusionskoeffizient D ist als stoffspezifische Konstante von den Eigenschaften der diffundierenden Substanz abhängig [20].

Da das Stratum corneum sowohl lipophile als auch hydrophile Bereiche aufweist, spielt neben dem Konzentrationsgradienten und dem Diffusionskoeffizienten auch

der Verteilungskoeffizient des Stoffes zwischen den Grenzphasen, häufig durch den Verteilungskoeffizienten von Öl in Wasser ausgedrückt, eine wichtige Rolle [3, 14].

Neben den Eigenschaften des Arzneistoffes beeinflussen physiologische Faktoren wie Hautzustand, Applikationsort und Alter und vor allem die Wahl des Vehikels das Ausmaß der Arzneistoffpenetration bzw. -permeation [14].

2.1.3. Penetrationsfördernde Substanzen

Viele Arzneistoffe, die dermal angewendet werden sollen, haben keine ausreichenden Permeationseigenschaften. Das Vordringen dieser Stoffe in tiefere Hautschichten kann durch eine Verringerung der Barriereigenschaften des Stratum corneums ermöglicht werden [24].

Der ideale Enhancer sollte pharmakologisch inert, nicht toxisch oder allergen, kompatibel mit anderen Inhaltsstoffen und ästhetisch akzeptabel sein. Die Veränderungen der Eigenschaften des Stratum corneums sollten reversibel sein, wobei der Influx, jedoch nicht der Efflux, von Stoffen begünstigt werden sollte [15].

Mehrere Strukturen der Hornschicht stehen zur Auswahl, die zur Verbesserung der Permeationseigenschaften verändert werden können.

Polare Substanzen können mit den polaren Kopfgruppen der Doppelschichten durch Wasserstoffbrückenbindungen oder ionische Wechselwirkungen interagieren und damit für eine Fluidisierung dieser Schicht sorgen.

Die Fluidität der lipophilen Bereiche der Doppelschicht kann durch sehr lipophile Verbindungen, wie Azone, oder ungesättigte langkettige Fettsäuren erhöht werden. Diese Stoffe werden im Bereich der Lipidketten interkalierend eingebaut. Die Vergrößerung des lateralen Abstandes führt zu einer besseren Beweglichkeit der Lipidketten und damit zu größerer Durchlässigkeit.

Ein weiterer guter Permeationsförderer ist Wasser. Die Ordnung der Lipide wird bei hohem Wassergehalt verringert. Durch Okklusion kann eine erhöhte Permeabilität der Hornschicht für hydrophile und lipophile Substanzen erreicht werden [25].

Weitere Enhancer sind Alkohole, Tenside und Dimethylsulfoxid [1].

Isopropylmyristat besitzt ebenfalls penetrationssteigernde Effekte für verschiedene Arzneistoffe. Es konnten Wechselwirkungen mit Lipiden des Stratum corneums nachgewiesen werden [3].

Obwohl die Suche nach idealen Enhancern Gegenstand vieler Studien ist, gibt es nur wenige Fortschritte auf diesem Forschungsgebiet. Grund dafür ist das hohe allergene und irritierende Potential, wodurch die meisten Stoffe klinisch nicht angewendet werden können [15].

Auf Grund der permeationsfördernden Eigenschaften von Wasser, bestimmten Ölen, Alkoholen und Tensiden, stellen Mikroemulsionen diesbezüglich sehr interessante Vehikel dar.

2.2. Mikroemulsionen

2.2.1. Definition und Eigenschaften

Schon 1943 beschrieben Hoar und Schulman die Bildung stabiler, optisch klarer, flüssiger Systeme nach Zugabe eines Alkohols zu einer definierten Mischung aus Wasser, Öl und einer Seife [3].

Aus der Vorstellung, dass es sich hierbei um feinste Dispersionen von Öl in Wasser oder Wasser in Öl handeln muss, wurde die Bezeichnung Mikroemulsion geprägt. Diese Bezeichnung ist irreführend, da es sich hierbei nicht um einen Emulsionszustand handeln kann. Man versteht unter einer Emulsion grundsätzlich ein Mehrphasen-System, während in diesem Zustand eine kolloidale Lösung vorliegt. Dementsprechend ist für die Dispergierung der beiden Phasen bei einer Emulsion eine entsprechende Grenzflächenenergie aufzuwenden, während sich der kolloidale Lösungszustand der Mikroemulsion ohne Energieaufwand von selbst einstellt [18].

Mikroemulsionen sind homogene, thermodynamisch stabile Mischungen von Wasser und Öl. Zu ihren weiteren charakteristischen Eigenschaften zählen Isotropie, Transparenz oder schwache Opaleszenz und niedrige Viskosität [3, 26].

Stabilisiert werden sie durch ein Tensid, für gewöhnlich in Kombination mit einem Kotensid, bei welchem es sich meist um einen kurzkettigen Alkohol handelt [26].

Nur wenige Tenside sind alleine in der Lage die Grenzflächenspannung auf das zur Mikroemulsionsbildung notwendige Minimum abzusenken. Deshalb ist oft die Zugabe eines Kotensids nötig, welches sich vom ersten im HLB-Wert¹ unterscheidet [3].

Eine der wichtigsten Eigenschaften von Mikroemulsionen ist ihre thermodynamische Stabilität. Diese Eigenschaft unterscheidet sie von echten Emulsionen, die metastabil sind [2].

Die Struktur von Mikroemulsionen ist noch nicht endgültig geklärt. Die anfängliche Theorie, dass Mikroemulsionen ähnlich einer Emulsion feinste Tröpfchen mit einem Durchmesser von 5-150 nm bilden, steht im Widerspruch zu der Tatsache, dass Mikroemulsionen thermodynamisch stabil sind.

Ein besserer Ansatz ist die Definition als „kritische Lösung“. Hierbei geht man davon aus, dass durch lösungsvermittelnde Eigenschaften der Tenside die wässrige Phase im Öl löslich ist, wie auch umgekehrt [2].

Bereits sehr früh wurden bikontinuierliche Strukturen diskutiert. Hierbei handelt es sich auch um ein dynamisches System, bei dem sich, über die ständige Umwandlung von O/W in W/O Tröpfchen hinaus, der Tensidfilm zu röhrenförmigen Strukturen zusammenlagert [2].

In Abhängigkeit vom Verhältnis der Wasser- zur Ölphase kann eine Einteilung in O/W oder W/O-Mikroemulsionen erfolgen [27].

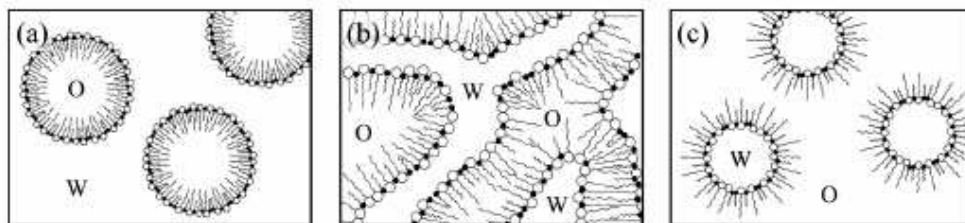


Abb. 6: Strukturen der Mikroemulsionen; a) O/W Mikroemulsion, b) bikontinuierliche Strukturen, c) W/O Mikroemulsion [1]

Die bikontinuierlichen Strukturen lassen sich mit einem Schwamm vergleichen. Der Schwammkörper stellt die Wasserphase und die Luft im Schwamm die Ölphase dar [27].

¹ HLB = Hydrophilic-lipophilic-balance

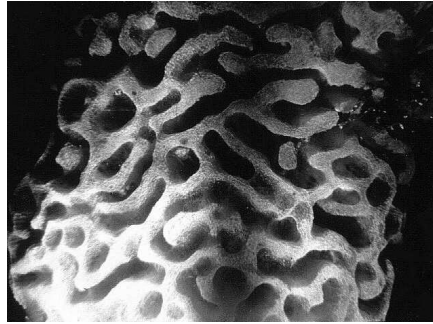


Abb. 7: Schematische Abbildung eines bikontinuierlichen Systems [27]

2.2.2. Einsatzgebiete

Mikroemulsionen zeichnen sich durch eine Reihe günstiger Eigenschaften aus. Da sie sowohl Öl als auch Wasser als Komponente enthalten, besitzen sie sowohl für polare als auch für unpolare Substanzen sehr gute Lösungseigenschaften [27].

In der pharmazeutischen und kosmetischen Industrie spielen sie eine wichtige Rolle. Sie zeichnen sich durch hervorragende Benetzungseigenschaften und damit verbundener guter Penetration in die Hautschichten aus. Im Gegensatz zu Emulsionen, bei deren Herstellung Eintrag von Energie durch geeignete Apparate notwendig ist, sind Mikroemulsionen sehr einfach durch Mischen der Komponenten herstellbar. Da sie thermodynamisch stabil sind, sind sie auch lange haltbar [27].

Ursprünglich wurden Mikroemulsionen für technische Zwecke, wie für die Autopflege und in der Erdölindustrie, eingesetzt [2].

In der Pharmazie wird vor allem an Mikroemulsionen für orale, parenterale, ophthalmologische und dermale Anwendungen geforscht. Sehr gute Ergebnisse konnten bisher beim Einsatz von Mikroemulsionen zur Verbesserung der oralen Bioverfügbarkeit von Peptiden erzielt werden [3].

Trotz Verwendung gut verträglicher nichtionischer Tenside stellt die große Menge an Tensiden und die damit verbundene Schädigung der Haut bei dermalen Applikation ein Problem für pharmazeutische Anwendungen dar [2].

Bei Untersuchungen an humaner Haut zeigten Mikroemulsionen mit Sojalezithin sehr gute Ergebnisse hinsichtlich dermalen Toxizität [3].

2.3. Phasendiagramme

2.3.1. Dreiecksdiagramm und pseudoternäres Phasendiagramm

Als Phasendiagramm bezeichnet man das Zustandsdiagramm eines Stoffes [28].

Für die drei Massenkomponenten Öl, Wasser und Tensid hat sich die Darstellung in einem Dreikomponentendreieck etabliert [2].

Ein Dreiecksdiagramm gilt jeweils nur bei gleichen äußeren Bedingungen, wie z.B. Temperatur oder Druck [29].

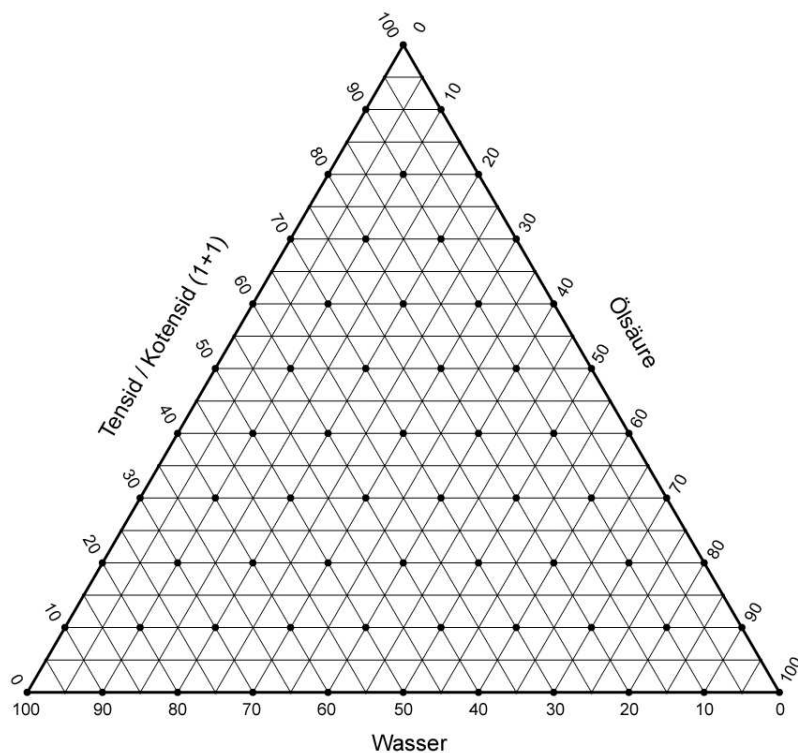


Abb. 8: Dreiecksdiagramm ©Arvid Staub

Die Ecken des Diagramms bezeichnen jeweils die drei reinen Komponenten, die binären Mischungen werden auf den Schenkeln und die ternären Mischungen innerhalb des Dreiecks gezeichnet. So können unterschiedliche Phasenbereiche, die in bestimmten Mischungsbereichen auftreten, dargestellt werden. Die Linien gleich bleibender Konzentration einer bestimmten Komponente sind im Dreiecksdiagramm jeweils Parallelen zu der Ecke der Komponente am gegenüberliegenden Schenkel des Dreiecks. Eine bestimmte ternäre Mischung lässt sich durch den Schnittpunkt dieser drei Konzentrationslinien darstellen [29].

Jeder Schnittpunkt der eingezeichneten Linien innerhalb des Dreiecks weist eine Abweichung von 5% (m/m) in zwei der Komponenten von jedem seiner Nachbarpunkte auf [2].

Streng genommen reicht ein solches Dreikomponentendiagramm zur Charakterisierung von Mikroemulsionen nicht aus. Eigentlich resultiert aus der Mischung von Tensid und Kotensid in diesem Falle ein Vierkomponentengemisch. Verwendet man jedoch eine festgesetzte Zusammensetzung des Tensidgemisches, wie in diesem Fall im Verhältnis 1:1, so kann man das Phasenverhalten von Mikroemulsionen in einem Dreieck darstellen [2].

Eine solche Darstellung von Mischungen aus vier Komponenten nennt man Pseudoternärdiagramm [29].

2.4. Tenside

Bei Tensiden handelt es sich um amphiphile Stoffe. Sie bestehen aus hydrophilen und lipophilen Molekülteilen und reichern sich bevorzugt an den Grenzflächen zwischen den unterschiedlichen Phasen an. Dort entfalten sie ihre Grenzflächenaktivitäten und reduzieren die Oberflächenspannung [18].

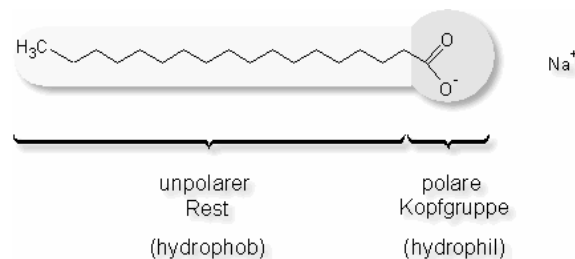


Abb. 9: Tensidmolekül [30]

Tenside werden in ionische, hier wiederum in anionische und kationische, nichtionische und amphotere Verbindungen unterteilt. Kationische Tenside werden in der Pharmazie nur als Konservierungsmittel oder Desinfektionsmittel eingesetzt.

Als polare Kopfgruppe fungieren bei den anionischen Tensiden zum Beispiel Carboxylat- und Sulfatgruppen. Beispiele für ungeladene Kopfgruppen sind Ester, Ether und Alkohole [18].

Zur Charakterisierung von nichtionischen Tensiden wurden die HLB-Werte eingeführt. Diese Werte sollten in etwa das Verhältnis von hydrophilen und lipophilen Gruppen in einem Tensidmolekül angeben [18].

Es kann damit eine Aussage getroffen werden, ob ein Tensid als O/W oder W/O Emulgator eingesetzt werden kann oder auch für welche anderen Verwendungszwecke das Tensid geeignet ist [28].

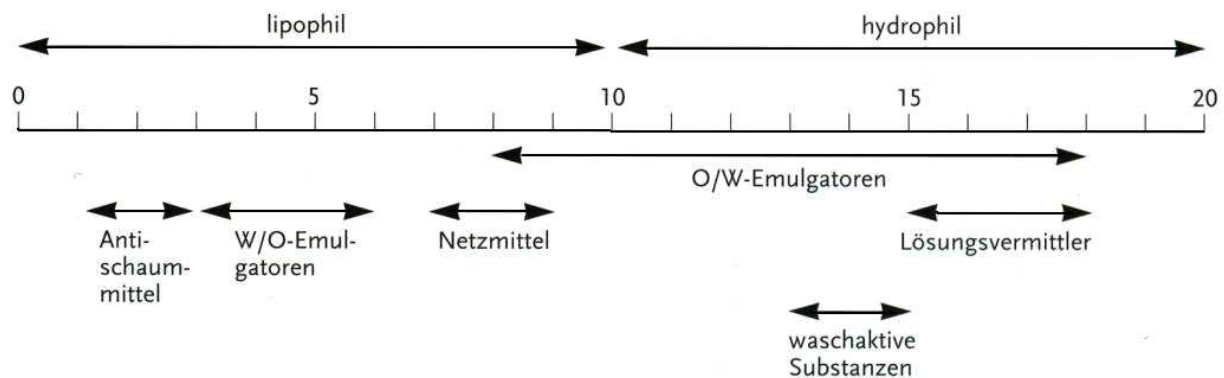


Abb. 10: HLB-System [29]

Die Entwicklung von Tensiden auf der Basis von Kohlenhydraten und Pflanzenölen ist das Resultat eines neuen Produktkonzepts, das aus der Verwendung erneuerbarer Ressourcen besteht. Es wurden Zuckerester und Alkylpolyglykoside entwickelt, deren Ausgangsstoffe zu einem günstigen Preis auf dem Weltmarkt erhältlich sind [31].

Diese Tenside sind hautverträglich und gut biologisch abbaubar [1].

Eine weitere in der Natur vorkommende Substanz ist das Lecithin. Lecithine kommen sowohl im Pflanzen- als auch im Tierreich vor und zeichnen sich durch eine hohe dermale Verträglichkeit und geringe Toxizität aus [1].

Die Heterogenität der verschiedenen Chargen stellt jedoch ein Problem bei der Verwendung natürlicher Tenside dar. Bereits kleine Veränderungen in der Zusammensetzung können zu einer Verschiebung der Mikroemulsionsgebiete im Phasendiagramm führen [3].

2.4.1. Lezithin

Lezithin bezeichnet eine Mischung von Glycerophospholipiden natürlichen Ursprungs, die aus Eigelb oder der Sojabohne gewonnen werden [32].

Phospholipide sind amphiphile Moleküle mit einem Glycerolgrundgerüst, welche mit zwei Fettsäuren, die sich in Kettenlänge und Sättigungsgrad unterscheiden, verestert und an der verbleibenden Hydroxylgruppe über eine Phosphatbrücke an eine Kopfgruppe gekoppelt sind [32].

Hauptbestandteile des Soja-Lezithins sind Phosphatidylcholin (50-90%), Phosphatidylethanolamin (5-10%) und Phosphatidylinositol [33].

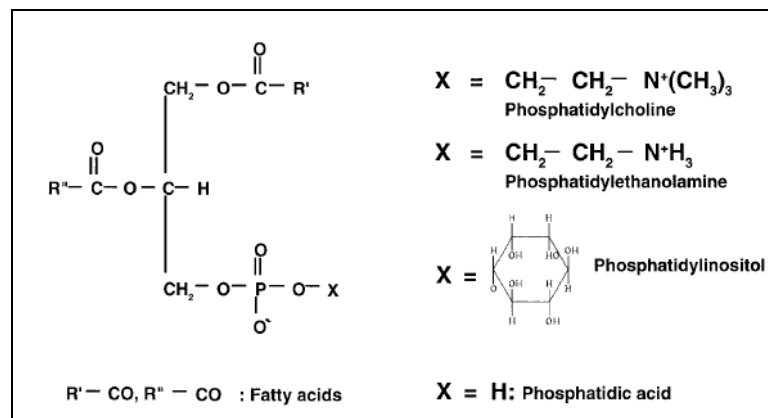


Abb. 11: Strukturen der Phospholipide [1]

Je nach Herkunft des Lezithins, also entweder aus Ei oder Sojabohne, findet man Unterschiede in der Fettsäurezusammensetzung. So dominieren im Ei-Lezithin einfach ungesättigte Fettsäuren, wie die Ölsäure, wohingegen das Soja-Lezithin reich an mehrfach ungesättigten Fettsäuren, wie Linolsäure und Linolensäure ist [32].

In dieser Arbeit wurde Lipoid[®] S75 der Firma Lipoid verwendet. Die Zusammensetzung dieses Lezithins ist in der Tabelle 1 angeführt.

Phosphatidylcholin	68 - 73%
Phosphatidylethanolamin	7 - 10%
Lysophosphatidylcholin	Max. 3%
Sonstige Bestandteile	17 – 25%

Tab. 1: Zusammensetzung Lipoid® S75²

Lezithin ist eine gelblich wachsartige Substanz. Es ist dispergier- und quellbar in Wasser und sehr gut löslich in Alkohol. Es kann sowohl O/W als auch W/O Emulsionen stabilisieren [28].

Phospholipide sind am Aufbau der Zellmembranen beteiligt und kommen somit in tierischen, pflanzlichen und menschlichen Organismen häufig vor [3].

Durch ihre große Affinität zu Zellmembranen kann eine verstärkte Absorption bestimmter Arzneistoffe bewirkt werden [34].

2.4.2. Saccharoseester

Saccharoseester zählen zu den nichtionogenen Tensiden [29].

Sie sind biologisch abbaubar und sehr billig herzustellen. Sowohl Saccharose, als auch Fettsäuren sind kostengünstige Ausgangsmaterialien für die Synthese von diesen Tensiden. Sie werden in verschiedensten Industrien wie z.B. der Pharmazie, Lebensmittelherstellung, als Waschmittel oder in der Landwirtschaft verwendet [35].

Zuckerester sind von großem Interesse, weil sie einerseits Eigenschaften besitzen, die sie deutlich von traditionellen nichtionischen Tensiden vom Alkylethoxylat-Typ unterscheiden, und andererseits aus nachwachsenden Rohstoffen gewonnen werden können und gut hautverträglich sind [36].

Anders als andere Alkylethoxylate verändern Saccharoseester ihren HLB Wert nicht mit steigender Temperatur und führen somit zu keiner Phasenumkehr.

² Lipoid S75, Ch-Nr.: 776138-11/901, Lipoid GmbH, Germany

Saccharose besitzt acht freie Hydroxylgruppen, die verestert werden können. Je mehr mit einer Fettsäure verestert werden, desto lipophiler ist das Produkt. Daher sind Zuckerester mit verschiedensten HLB Werten verfügbar [37]

Bei Saccharosefettsäureestern fungiert Saccharose als hydrophile und eine Fettsäure als lipophile Gruppe. In der Gruppe der Zuckerester zählt Saccharoselaurat zu den besten Penetrationsförderern [38].

Dieses Tensid kann sich mit der langen Hydrocarbonkette an die lipophilen Ceramidschichten der Haut anlagern und dadurch dem Saccharosering eine Interaktionsmöglichkeit mit den polaren Lipidköpfen ermöglichen [39].

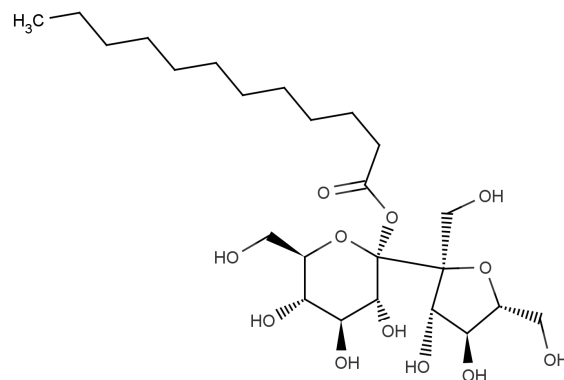


Abb. 12: Struktur des Saccharoselaurats

Bei der vorliegenden Arbeit wurde mit einem Saccharoselaurat gearbeitet, das sich aus 80% Monoestern und 20% Di-, Tri- und Polyestern zusammensetzte. Der HLB-Wert lag bei etwa 16 [40].

Aufgrund des HLB Wertes eignet sich Saccharoselaurat für die Herstellung von O/W Emulsionen [29].

2.4.3. Alkylpolyglykoside

Basierend auf dem Konzept erneuerbarer Ressourcen wurden Alkylpolyglykoside (APG) entwickelt. Als Kohlenhydrate fungieren Saccharose, Glucose oder Sorbitol [31].

Die APG's sind seit über 100 Jahren als Verbindungsklasse bekannt, allerdings werden sie erst seit einigen Jahren großtechnisch hergestellt und vermarktet.

Strukturell handelt es sich meist um ein Glucosid, also ein Glucosemolekül, das mit einer zweiten Verbindung, einem Fettalkohol verethert ist. Die Glucose bildet den

hydrophilen und die Alkylkette den hydrophoben Teil. Da diese Tenside keine Ladung nach außen tragen, gehören sie zu den Niotensiden oder nichtionischen Tensiden.

Alkypolyglykoside bezeichnen lediglich Moleküle, die einen beliebigen Glucosidzucker enthalten. Die Alkylpolyglucoside sind dagegen Verbindungen mit Glucose als Zuckerkomponente [41].

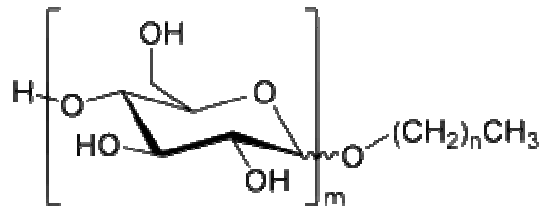


Abb. 13: Beispiel eines APG's auf Glucose basierend [24]

APG's werden sowohl in kosmetischen Produkten als auch in industriellen Reinigungsmitteln, Geschirrspülmitteln und Waschmitteln verwendet.

APG's reagieren ähnlichen wie anionische Tenside auf die Zugabe eines Kotionensids. In einem Decan/Wasser/APG-System kommt es, unter der Zugabe von Isobutanol, zu einer Verminderung der Grenzflächenspannung und zur Bildung von Mikroemulsionen [31].

Kurzkettige APG's sind erst bei relativ hoher Konzentration in der Lage Mizellen zu bilden. Längerkettige können in einem sehr viel niedrigeren Konzentrationsbereich diese Wirkung erzielen. Die Viskosität ist von der Länge der Fettalkoholkette abhängig. Während langkettige APG's bei Raumtemperatur eher zäh sind, sind kurzkettige hingegen dünnflüssig. Die Wasserlöslichkeit ist stark von der Länge der C-Kette beziehungsweise vom Polymerisierungsgrad abhängig. APG's zeigen mit anderen Tensiden synergistische Effekte.

Sie sind nur gering toxisch, nicht hautreizend, nicht sensibilisierend und haben keine mutagenen Eigenschaften [41].

In dieser Arbeit wurde ein APG aus Kokosglucosiden und Kokosalkohol verwendet, das sich aus 60-70% Alkylpolyglucosiden mit C₁₂₋₁₈ und 30-40% Alkoholen mit C₁₂₋₁₈ zusammensetzt [42].

2.5. Isopropylmyristat

2.5.1. Eigenschaften

Isopropylmyristat (IPM) ist der Ester von Isopropanol und Myristinsäure und wird häufig in topischen Formulierungen und der Kosmetik verwendet.

IPM ist ein farbloses, niedrigviskoses Öl, das praktisch unlöslich in Wasser oder Glycerol und löslich in Ethanol ist. Es ist mischbar mit Ether, Chloroform, Petrolether, flüssigem Paraffin und fetten Ölen [28].

Strukturformel von Isopropylmyristat:

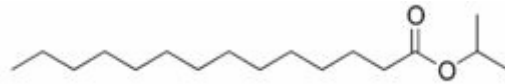


Abb. 14: Strukturformel von Isopropylmyristat

Summenformel: $C_{17}H_{34}O_2$

Erstarrungspunkt: $5^{\circ}C$

Siedepunkt: $300^{\circ}C$

Angewendet wird IPM in Salben und Emulsionen als hautverträgliches, toxikologisch unbedenkliches Lösungsmittel. Es besitzt ein gutes Spreitungsvermögen und verbessert die Resorption durch die Haut [28].

Auf Grund der guten topischen Verträglichkeit wurden in den letzten Jahren viele Studien mit IPM als Penetrationsförderer durchgeführt [43, 44].

Forscher berichteten, dass aus der Eingliederung von IPM in das Stratum corneum ein Verlust der Ordnung der Korneozyten-umgebenden Lipide, resultiert.

Außerdem ist IPM ein idealer Weichmacher der Haut. Es bildet eine dünne Schicht und hält den Feuchtigkeitsgehalt aufrecht [45].

2.6. Fluconazol

2.6.1. Eigenschaften

Fluconazol zählt zu den Triazolen, einer Untergruppe der Azolantimykotika. Diese bilden die größte Gruppe der Antimykotika. Wichtig für die antimykotische Wirkung ist der Triazol-Substituent [46].

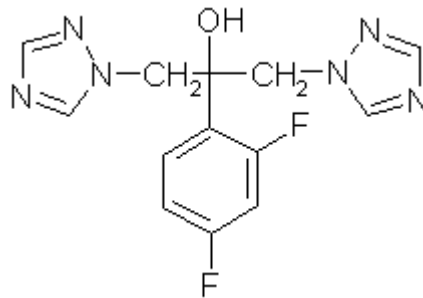


Abb. 15: Strukturformel von Fluconazol

INN: 2-(2,4-Difluorphenyl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)-propan-2-ol

Summenformel: C₁₃H₁₂F₂N₆O

Molekulargewicht: 306,3 g/mol

Schmelzpunkt: 138 - 140°C

Löslichkeit: Fluconazol ist ein weißes, kristallines Pulver. Die meisten Azolantimykotika sind sehr lipophil und kaum wasserlöslich. Fluconazol stellt hier eine Ausnahme dar. Es ist sehr gut wasserlöslich und kann wahlweise oral oder parenteral verabreicht werden [28].

2.6.2. Pharmakologische Wirkung und Anwendung

Alle Azole wirken antimykotisch durch Hemmung der Ergosterolsynthese der Pilze, die über Cytochrom-P450-Enzyme erfolgt.

Da auch die menschlichen Cytochrom P-450 Enzyme gehemmt werden, kann es zu zahlreichen Interaktionen und Nebenwirkungen kommen [46].

Die Plasmaproteinbindung beträgt 10-12% und ist somit niedrig. Die Plasmahalbwertszeit beträgt ca. 30 Stunden. Fluconazol wird nur zu ca. 10% verstoffwechselt. Etwa 80% einer Dosis werden in aktiver Form renal eliminiert [46].

Fluconazol eignet sich zur Behandlung oberflächlicher und systemischer Mykosen, die durch Hefepilze, wie Candida und Kryptokokken, hervorgerufen werden. Insbesondere wird es bei Systemmykosen, wie Systemcandidosen der Lunge und des Harntraktes, und der oberflächlichen Schleimhäute wie z.B. bei ösophagalen Candidosen eingesetzt. Es eignet sich auch zur Therapie von Vaginalmykosen und als Prophylaxe von Candidosen bei immunsupprimierten Patienten [46].

Die zur systemischen Therapie zugelassenen Azolantimykotika sind in den empfohlenen Dosierungen relativ nebenwirkungsarm. Am häufigsten kommt es zu GI-Störungen und ZNS-Störungen [46].

Eine topische Anwendung ist bis auf lokale Reizerscheinungen nebenwirkungslos. Ein Problem ist jedoch die schlechte Bioverfügbarkeit aus derzeitigen Formulierungen. Oft werden therapeutische Dosen nicht erreicht und der Wirkstoff penetriert schlecht in die betroffenen Hautschichten [14].

2.7. Flufenaminsäure

2.7.1. Eigenschaften

Flufenaminsäure zählt zu den nicht-steroidalen Entzündungshemmern (NSAIDs) und hier zur Untergruppe der Anthranilsäurederivate [47].

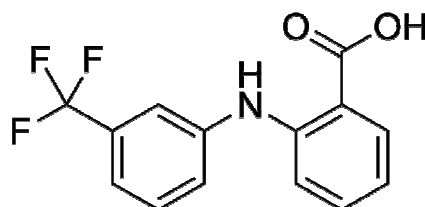


Abb. 16: Strukturformel von Flufenaminsäure

INN: 3'-Trifluormethyl-diphenylamin-2-carbonsäure

Summenformel: $C_{14}H_{10}F_3NO_2$

Molekulargewicht: 281,2 g/mol

Schmelzpunkt: 125°C

Löslichkeit: Flufenaminsäure ist ein blass grünlichgelbes bis gelbes, in verschiedenen Kristallformen vorkommendes Pulver ohne Geruch. Die Substanz löst sich leicht in 96%igen Ethanol [48].

2.7.3. Pharmakologische Wirkung und Anwendung

Flufenaminsäure wirkt antiinflammatorisch, analgetisch und antipyretisch über die Hemmung der Cyclooxygenase. Dieses Enzym katalysiert die Bildungen von Prostaglandinen und anderen Eicosanoiden aus ihrer gemeinsamen Vorstufe Arachidonsäure. Eicosanoide spielen als Vermittler der Entzündungsreaktion eine wesentliche Rolle. Flufenaminsäure hemmt neben der Cyclooxygenase auch die Lipoxxygenase und somit die Synthese von Leukotrienen [48].

Sie wird nach peroraler Gabe nur langsam resorbiert und die maximalen Plasmaspiegel werden, je nach Darreichungsform, nach 1,5 bis 6 Stunden erreicht. Die Plasmaeiweißbindung beträgt 90%. Die Metabolisierung erfolgt hepatisch und renal [48].

Flufenaminsäure wird zur Behandlung entzündlicher und degenerativer Gelenks- und Wirbelsäulenerkrankungen sowie bei Schmerzzuständen bei Entzündungen nach Verletzungen und Operationen angewendet [48].

Am häufigsten kommt es zu gruppenspezifischen Nebenwirkungen. Dies sind vor allem GI-Störungen, Ulzerationen, Blutungen, Hautreaktionen, Nierenfunktionsstörungen, Auslösung eines Asthmaanfalles, kardiovaskuläre Probleme und einer Hemmung der Thrombozytenaggregation [49].

Flufenaminsäure wird hauptsächlich topisch verwendet [47].

Topisch angewendete NSAIDs sollen die Therapie entzündlich-schmerzhafter Gelenks- und Muskelerkrankungen unterstützen [50].

Flufenaminsäure fand in vielen Studien zur Penetration topisch applizierter Substanzen Anwendung und ließ sich in einzelnen Hautschichten gut nachweisen [22, 52, 53].

3. METHODEN

3.1. Rezeptur und Herstellung der Mikroemulsionen

3.1.1. Herstellung ternärer Mischungen zur Erstellung des Phasendiagramms

Zur Erstellung des Phasendiagramms wurden unterschiedliche Mischungen der drei Komponenten Öl, Wasser und Tensid/Kotensid hergestellt. Als wässrige Phase wurde destilliertes Wasser verwendet. Bei der öligen Phase handelte es sich um Isopropylmyristat³. Als Tenside wurden 3 verschiedene Substanzen eingesetzt:

- Lipoid S75⁴
- Saccharoselaurat L- 1695⁵
- Montanov S⁶

Mit diesen Tensiden wurden sowohl einzeln, als auch in Kombination Phasendiagramme erstellt. Als Kotensid wurde Isopropanol⁷ in gleicher Menge wie das Tensid hinzugefügt.

Es wurden 2 Ansätze mit nur einem Tensid erstellt:

Ansatz 1	Ansatz 2
Zuckerester L- 1695	Montanov S
Isopropanol	Isopropanol
Aqua dest.	Aqua dest.
Isopropylmyristat	Isopropylmyristat

Tab. 2: Zusammensetzung der Mischungen mit Einzeltensiden

Weiters wurden 2 Ansätze mit Tensidkombinationen hergestellt:

Ansatz 3	Ansatz 4
Zuckerester L- 1695+Lipoid S75	Montanov S+ Lipoid S75
Isopropanol	Isopropanol
Aqua dest.	Aqua dest.
Isopropylmyristat	Isopropylmyristat

Tab. 3: Zusammensetzung der Mischung mit Tensidkombinationen

³ Isopropylum myristicum, Ch.-Nr.: 2543658, EG-Nr.: 203-751-4, Herba Chemosan Apotheker AG, Austria

⁴ Lipoid S75, Ch.-Nr.: 776138-11/901, Lipoid GmbH, Germany

⁵ Ryoto Sugar Ester L - 1695, Lot.No. 6605911A, Mitsubishi-Kagaku Foods Corporation, Tokyo, Japan

⁶ Montanov S, Ch.-Nr.: 36199X, Seppic GmbH, France

⁷ Isopropanol, for HPLC, Code: 383910025, Lot: 0890465, Acros Organics, USA

Um das Mikroemulsionsgebiet im Phasendiagramm zu ermitteln, wurden entsprechend den jeweiligen Schnittpunkten im Raster des Diagramms 36 Mischungen, abgestuft in 10%-Schritten, hergestellt. Die Reproduzierbarkeit wurde gewährleistet, indem die Ansätze 1-4 zweimal wiederholt wurden (n = 3).

Die Versuche wurden bei Raumtemperatur (25°C) durchgeführt. Alle angegebenen Verhältnisse der Komponenten beziehen sich auf Masseprozent.

Die folgende Tabelle zeigt die 36 Mischungsverhältnisse. Die Mengen wurden auf 5 g je Rezeptur berechnet.

Tab. 4: Zusammensetzungen der hergestellten Mikroemulsionen, siehe nächste Seite: Öl = Isopropylmyristat; Tensid = Lipoid S75, Montanov S, L – 1695 oder eine Kombination aus Lipoid S75 und Montanov S oder Lipoid S75 und L - 1695; Kotensid = Isopropanol

Nummer	Mischungsverhältnisse in % (m/m)			Mischungsverhältnisse in g			
	Wasser	Tensid/ Kotensid	Öl	Wasser	Tensid/ Kotensid	Öl	Menge [g]
1	80	10	10	4	0,5	0,5	5
2	70	20	10	3,5	1	0,5	5
3	60	30	10	3	1,5	0,5	5
4	50	40	10	2,5	2	0,5	5
5	40	50	10	2	2,5	0,5	5
6	30	60	10	1,5	3	0,5	5
7	20	70	10	1	3,5	0,5	5
8	10	80	10	0,5	4	0,5	5
9	70	10	20	3,5	0,5	1	5
10	60	20	20	3	1	1	5
11	50	30	20	2,5	1,5	1	5
12	40	40	20	2	2	1	5
13	30	50	20	1,5	2,5	1	5
14	20	60	20	1	3	1	5
15	10	70	20	0,5	3,5	1	5
16	60	10	30	3	0,5	1,5	5
17	50	20	30	2,5	1	1,5	5
18	40	30	30	2	1,5	1,5	5
19	30	40	30	1,5	2	1,5	5
20	20	50	30	1	2,5	1,5	5
21	10	60	30	0,5	3	1,5	5
22	50	10	40	2,5	0,5	2	5
23	40	20	40	2	1	2	5
24	30	30	40	1,5	1,5	2	5
25	20	40	40	1	2	2	5
26	10	50	40	0,5	2,5	2	5
27	40	10	50	2	0,5	2,5	5
28	30	20	50	1,5	1	2,5	5
29	20	30	50	1	1,5	2,5	5
30	10	40	50	0,5	2	2,5	5
31	30	10	60	1,5	0,5	3	5
32	20	20	60	1	1	3	5
33	10	30	60	0,5	1,5	3	5
34	20	10	70	1	0,5	3,5	5
35	10	20	70	0,5	1	3,5	5
36	10	10	80	0,5	0,5	4	5

Das Tensid wurde auf einer Analysenwaage in ein beschriftetes Schraubgefäß, das bereits ein Magnetrührstäbchen beinhaltet, eingewogen. Daraufhin wurde die gleiche Menge an Isopropanol hinzugefügt. Nach anschließender Zugabe der entsprechenden Menge Isopropylmyristat, wurde das Tensid durch Rühren bei 600 rpm auf einer Magnetrührplatte gelöst.

Die jeweiligen Tenside lösten sich unterschiedlich schnell. Während sich Lezithin in etwa einer halben Stunde löste, musste das APG oft über Nacht unter Rühren gelöst werden.

Zu der nun klaren Lösung wurde das destillierte Wasser tropfenweise unter Rühren hinzutitriert, um einen sofortigen Ausfall des Tensids zu vermeiden. Anschließend wurden die Mischungen noch für weitere 10 Minuten gerührt.

Nach 24 Stunden wurden die Mischungen sowohl makro- als auch mikroskopisch beurteilt. Die mikroskopische Betrachtung erfolgte mit einem Polarisationsmikroskop.

3.1.2. Herstellung von Mikroemulsionen mit Fluconazol und Flufenaminsäure

Nach der Erstellung der Phasendiagramme wurde eine Mischung ausgewählt, die bei allen 4 Ansätzen eine Mikroemulsion ergab und somit im isotropen Bereich der Diagramme lag. Ein Phasendiagramm mit Lipoid S75 als Tensid wurde bereits im Zuge der Diplomarbeit von Denise Mahrhauser erstellt [54].

Die Entscheidung fiel auf die Mikroemulsion Nr. 26, die sich durch folgende Zusammensetzung charakterisieren lässt:

Mikroemulsion Nr. 26	
10%	Wasser
50%	Tensid/Kotensid
40%	Öl

Tab. 5: Prozentuelle Zusammensetzung der Mikroemulsion Nr. 26

Die Rezeptur wurde sowohl mit Lipoid S75, Saccharoselaurat L-1695 und Montanov S alleine, als auch mit einer Kombination aus Lipoid S75/Saccharoselaurat L-1695 und Lipoid S75/Montanov S hergestellt. Es ergaben sich somit folgende Rezepturen:

Mikroemulsion	Montanov S	Lipoid S75	Saccharose-Laurat L-1695	Isopropanol	IPM	Aqua dest.
APG	25	-	-	25	40	10
Lez	-	25	-	25	40	10
Zuck	-	-	25	25	40	10
APG/Lez	12,5	12,5	-	25	40	10
Zuck/Lez	-	12,5	12,5	25	40	10

Tab. 6: Zusammensetzung der fünf hergestellten Rezepturen mit allen verwendeten Tensiden (Angaben in %)

In diese Formulierungen wurden jeweils 3% (m/m) Fluconazol⁸ eingearbeitet. Diese 5 Mikroemulsionen wurden als APG-Fluc, APG/Lez-Fluc, Lez-Fluc, Zuck/Lez-Fluc und Zuck-Fluc bezeichnet.

Weiters wurden in einem zweiten Ansatz in die 5 ausgewählten Mikroemulsionen 3% (m/m) Flufenaminsäure⁹ eingearbeitet. Die Mischungen wurden als APG-Fluf, APG/Lez-Fluf, Lez-Fluf, Zuck/Lez-Fluf und Zuck-Fluf bezeichnet.

Die Herstellung der Mikroemulsionen erfolgte wie in Punkt 3.1.1. erläutert. Jedoch wurde vor der Zugabe der Wasserphase der Arzneistoff in Pulverform eingearbeitet und unter Rühren auf einer Magnetrührplatte bei 600 rpm gelöst.

3.2. Erstellung des Phasendiagramms

Zur Ermittlung des Mikroemulsionsgebiets im Phasendiagramm wurden durch Rühren Mischungen der Komponenten, abgestuft in 10%-Schritten entsprechend den jeweiligen Schnittpunkten im Raster, hergestellt. Die Mischungen wurden 24 Stunden lang zur Gleichgewichtseinstellung stehen gelassen.

Danach wurde die optische Transparenz beurteilt, wobei nur eindeutig klare, einphasige Systeme im Phasendiagramm als Mikroemulsionsgebiet gekennzeichnet wurden.

⁸ Fluconazole, CAS 86386-73-4, Batch No.: 050418, Kemprotec Limited, UK

⁹ Flufenamic acid, Lot: 61H3562, Sigma Chemical CO., USA

3.2.1. Charakterisierung der Mikroemulsionen

3.2.1.1. Makroskopische Untersuchung

Zunächst wurden die Mischungen visuell beurteilt. Nur klare, einphasige Systeme wurden als Mikroemulsionen eingestuft. Nach dieser ersten Einschätzung erfolgte die Charakterisierung mittels Polarisationsmikroskopie.

3.2.1.2. Mikroskopische Untersuchung

Mit Hilfe der Polarisationsmikroskopie lassen sich anisotrope Eigenschaften klarer, flüssiger Systeme feststellen. Somit kann eine Abgrenzung flüssigkristalliner Phasen von Mikroemulsionen vorgenommen werden [3].

Es wurde wie folgt vorgegangen: Die zu untersuchende Mischung wurde mit einem Spatel auf einen Objektträger aufgebracht und mit einem Deckglas versehen. Nach der Positionierung des Objektträgers am Objektisch des Mikroskops¹⁰, wurde die Probe am Objektisch mit linear polarisiertem Licht durchstrahlt und anschließend die Veränderungen mit einem zweiten Polarisator analysiert. Die Analyse erfolgte bei 200-facher Vergrößerung.

Während isotrope Phasen im Betrachtungsfeld schwarz erscheinen, erzeugen anisotrope Systeme durch Doppellichtbrechung bunte, charakteristische Texturbilder [3].

3.2.2. Phasendiagramme

Für jedes Tensid wurde ein entsprechendes Phasendiagramm erstellt, indem jeweils drei Ansätze ($n = 3$) aller 36 Mischungen hergestellt, betrachtet und analysiert wurden.

An den entsprechenden Schnittpunkten wurden die, laut Definition als Mikroemulsionen eingestuft, Mischungen im Dreikomponentendiagramm markiert. Somit entstand ein abgegrenzter Bereich, der das Ausmaß der jeweiligen Mikroemulsionsgebiete widerspiegelte. Die Bereiche der einzelnen Tenside können durch diese Darstellung sehr gut verglichen werden.

¹⁰ Optiphot-2, Nikon GmbH

3.3. in-vitro Hautstudien

3.3.1. Franz-Zell Versuche

Die Permeationsuntersuchungen wurden mit Hilfe von Franz-Zellen durchgeführt. Studien, die mit diesem Modell erarbeitet werden, weisen eine gute Korrelation zu in-vivo Ergebnissen auf. Diese Versuchsanordnung gilt heute als Standard für derartige Testungen [3].

Im Gegensatz zu Humanhaut ist unter standardisierten Bedingungen gewonnene Haut von verschiedenen Tierspezies leicht erhältlich [55].

Es wird deshalb oft Schweinehaut für Diffusionsversuche verwendet, da diese der Humanhaut sehr ähnlich ist [56].

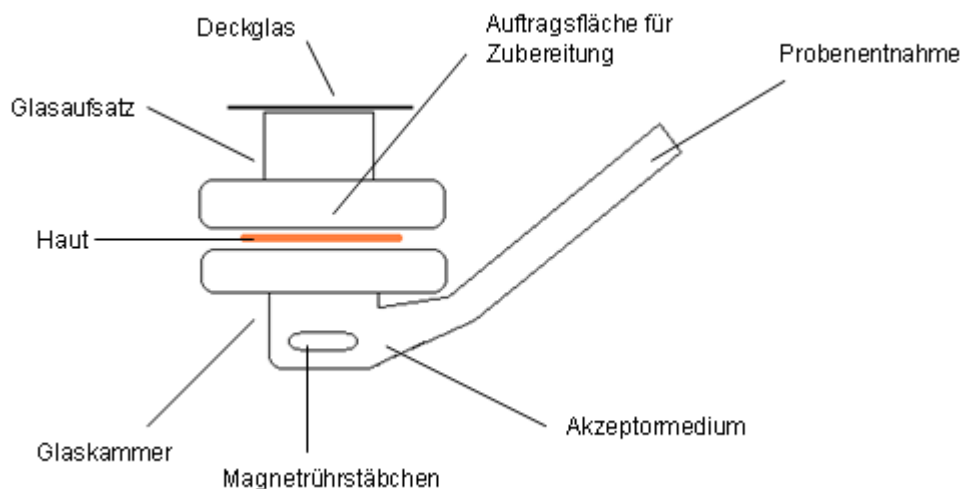


Abb. 17: Schematischer Aufbau einer Franz-Zelle [57]

Die Diffusionszelle besteht aus einer Glaskammer und einem ringförmigen Glasaufsatz. In der Glaskammer befindet sich das Akzeptormedium, das ständig durch ein Magnetührstäbchen durchmischt wird, um die Ausbildung von Diffusionsschichten zu vermeiden. Auf der Glasöffnung wird ein Stück Haut so platziert, dass die Unterseite in direktem Kontakt mit der Akzeptorflüssigkeit steht. Innerhalb des Glasaufsatzes und somit auf der Hautoberfläche wird die Formulierung aufgetragen. Eine Abdeckung schützt vor einer möglichen Verdunstung der Probenzubereitung. Über eine lange Glasöffnung können Proben aus dem Akzeptormedium gezogen werden [29, 58].

3.3.1.1. Versuchsanordnung

Für jede der 5 fluconazolhaltigen Mikroemulsionen wurden mindestens 8 Franz-Zellen vorbereitet ($n \geq 8$). Mit mindestens 5 Franz-Zellen wurden die einzelnen flufenaminsäurehaltigen Mikroemulsionen getestet ($n \geq 5$).

Als Akzeptormedium diente ein 0,012 molarer Phosphatpuffer mit pH 7,4¹¹. Dieser sollte das physiologische Milieu des Blutes simulieren. Als Membran wurde porcine Haut verwendet, die zuvor mittels Dermatome¹² auf eine Dicke von 500 μm zugeschnitten wurde. Die Lagerung der Haut erfolgte bei $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ im Tiefkühler. Die Haut wurde unmittelbar vor dem Versuch aufgetaut und in passende Stücke zugeschnitten. Die Permeationsfläche der verwendeten Zellen betrug rund 1 cm^2 .

Mit der epidermalen Seite nach oben wurden die Hautstücke zwischen die Glaskammer, in die zuvor ein Magnetrührstäbchen gelegt wurde, und den Glasring platziert. Die beiden Glasteile wurden mit einer Metallklammer fixiert, um einen Flüssigkeitsaustritt an den Rändern zu vermeiden.

Anschließend wurde die untere Glaskammer luftblasenfrei mit 2 ml Phosphatpuffer befüllt. Nach anschließender Kontrolle der Dichtigkeit wurden in jede Zelle 50 mg der jeweiligen Formulierung direkt auf die Hautfläche aufgetragen. Die Zellen wurden nun mit Parafilm und Alufolie verschlossen und in ein Wasserbad auf eine Magnetrührplatte gestellt. Das Wasserbad wurde entsprechend der Hautoberflächentemperatur auf $32\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperiert. Das Akzeptormedium wurde bei rund 800 rpm gerührt.

¹¹ Phosphatpuffer: Kaliumdihydrogenphosphat 1,70g
 Dinatriumhydrogenphosphat 1,78g
 Destilliertes Wasser ad 1000ml

¹² Dermatome GB 228R, Aesculap

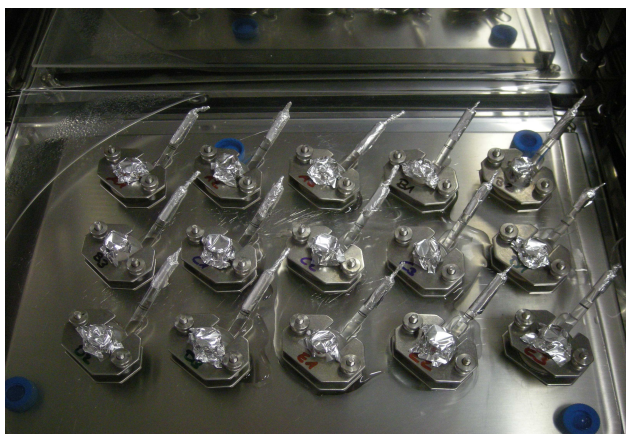


Abb. 18: Franz-Zellen im Wasserbad

Die Probenentnahme erfolgte nach 2, 4, 6, 8 und 24 Stunden. Es wurden aus jeder Zelle 200 μl des Akzeptormediums entnommen und in ein Eppendorfgefäß pipettiert. Das entnommene Volumen wurde durch frischen, auf 32°C temperierten, Phosphatpuffer ersetzt.

Die entnommenen Proben wurden bei 12000 Umdrehungen pro Minute 5 Minuten lang zentrifugiert. Für die anschließende Analyse mittels HPLC wurden aus den zentrifugierten Proben 180 μl in HPLC Vials pipettiert.

3.3.2. Tape Stripping

Tape Stripping ist eine einfache und effiziente Methode für die Beurteilung der Qualität und Effizienz von kosmetischen und dermatologischen Formulierungen. Nach der topischen Applikation und Penetration einzelner Formulierungen wird die Zellschicht des Stratum corneum sukzessive vom selben Hautareal mit Klebestreifen entfernt [59].

In der Dermatopharmakokinetik hat sich Tape Stripping für Hautpenetrationsprofile von Substanzen etabliert, die in verschiedenen Formulierungen auf die Haut aufgebracht werden. Nach einer definierten Applikationszeit wird das Stratum corneum Schicht für Schicht mit Klebestreifen entfernt. Alle Streifen werden sowohl auf Arzneistoffmenge als auch auf Korneozytenmenge untersucht. Letzteres ist notwendig um eine genaue Penetrationstiefe der Substanz zu erhalten.

Für die Analyse der Proteine des Stratum corneum gibt es verschiedene Möglichkeiten, wie z.B. gravimetrische oder mikroskopische Bestimmungen,

Extraktion und Analysen mit Proteinassays. In letzter Zeit wurden auch optische Bestimmungsmethoden entwickelt [60].

Klinische Studien am Menschen sind oft sehr zeitaufwändig, stellen einen großen organisatorischen Aufwand dar und benötigen eine Genehmigung einer Ethikkommission. Außerdem ist menschliche Haut nicht immer verfügbar. Somit ist in-vitro Tape Stripping an Schweinehaut eine gute Alternative um Basisinformationen zum Penetrationsverhalten von neuen Formulierungen oder Arzneistoffen zu erlangen. Ähnlichkeiten in der Epidermisdicke, Lipidzusammensetzung und Permeabilität machen Schweinehaut zu einem guten Ersatz für Menschenhaut. Schweineohren wurden als bestes Modell beschrieben [60].

3.3.2.1. Versuchsanordnung

Mit den Mikroemulsionen mit Fluconazol oder Flufenaminsäure als Wirkstoff, die zuvor bereits für Permeationsversuche mit Franz-Zellen verwendet wurden, wurden auch die Tape Stripping Versuche durchgeführt.

Es wurde wie folgt vorgegangen:

Da aus praktischen Gründen die Schweineohren bei -18°C gelagert werden, wurde zu Beginn des Versuchs das Ohr aus dem Tiefkühler entnommen und mit kaltem Wasser abgespült. In vorangegangenen Studien wurde gezeigt, dass die tiefgekühlte Lagerung keinen negativen Einfluss auf die Barrierefunktion der Haut der Ohren hat [60].

Nach dem Abspülen wurde das Ohr mit Küchenrolle trocken getupft. Anschließend wurden die Haare vorsichtig mit einer Nagelschere entfernt, da diese das Messergebnis negativ beeinflussen würden.

Pro Ohr wurde eine Mikroemulsion auf die dorsale Seite aufgetragen. Dazu wurde eine Fläche ausgesucht, die vier intakte und repräsentative Stellen für das Tape Stripping enthielt. Die rechteckige Fläche wurde mit einem Lineal eingezeichnet, genau abgemessen und die Fläche berechnet um die genaue Auftragemenge der Mikroemulsion zu ermitteln.

Da für den Vorgang des Tape Strippings Corneofix^{®13} Tape Strips verwendet wurden, wurden die vier ausgewählten Stellen mit einer Schablone dieser Strips gekennzeichnet. Es handelt sich hierbei um Klebestreifen mit einer Fläche von 1,9 x 2 cm.

An diesen vier Stellen wurde der transepidermale Wasserverlust (TEWL = transepidermal water loss) mittels AquaFlux^{®14} bestimmt. Lagen die Werte zwischen 15 und 20 konnte man davon ausgehen, dass die Haut an dieser Stelle intakt war [60].

Der TEWL wurde an den markierten Stellen jeweils vor und nach dem Tape-Stripping Prozess gemessen. Waren die TEWL Wert in Ordnung wurden nun pro cm² Haut 5 mg Formulierung aufgebracht. Für die Einwaage wurde eine kleine Menge Formulierung in eine 5 ml fassende Spritze aufgezogen und wieder hinausgedrückt um den Hals der Spritze zu sättigen. Anschließend wurde die Spritze auf einem Uhrglas in einer Analysenwaage austariert. Die zuvor berechnete Menge Formulierung wurde nun aufgezogen und gewogen. Der Wert wurde notiert und die Mikroemulsion nun in einzelnen Tropfen auf die markierte Fläche am Schweineohr aufgebracht. Mit einem zuvor in der Mikroemulsion gesättigten Fingerling wurde die Formulierung nun gleichmäßig verteilt.

Nach einer Einwirkzeit von einer Stunde wurde mit dem Tape Stripping begonnen.

Der Vorgang wurde immer mit 20 Klebestreifen pro markierter Stelle durchgeführt. Um die Dicke des Stratum corneum zu ermitteln, wurden pro Ohr an einer Stelle so lange Klebestreifen abgezogen, bis die Nachweisgrenze des NIR-Densitometers erreicht wurde.

Viele Faktoren beeinflussen die Ergebnisse. Es muss darauf geachtet werden, dass man jeden Klebestreifen mit dem gleichen Druck anbringt. Um dies zu kontrollieren wurde auf einer Waage gearbeitet und auf konstante Werte geachtet. Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Art und Weise wie die Strips abgezogen werden. Dies sollte immer mit der gleichen Geschwindigkeit und im gleichen Winkel passieren.

Bevor der erste Strip aufgeklebt wurde, wurde die überschüssige Formulierung mit einem trockenen Papierstreifen abgetupft. Der erste Strip wurde auf eine markierte Stelle am Schweineohr geklebt und anschließend mit einem Marker exakt umrandet,

¹³ Corneofix, CKelectronic Cologne, Germany

¹⁴ Biox Aquaflux AF 200, UK

um sicher zu stellen, dass alle folgenden 19 Strips auf genau die gleiche Stelle geklebt wurden.

Der Strip wurde, um Falten zu vermeiden, mit einer rollenden Bewegung des Daumens angedrückt. In der vorliegenden Arbeit wurde diese Rollbewegung dreimal pro Strip mit einem Druck von 10 kg ausgeführt.

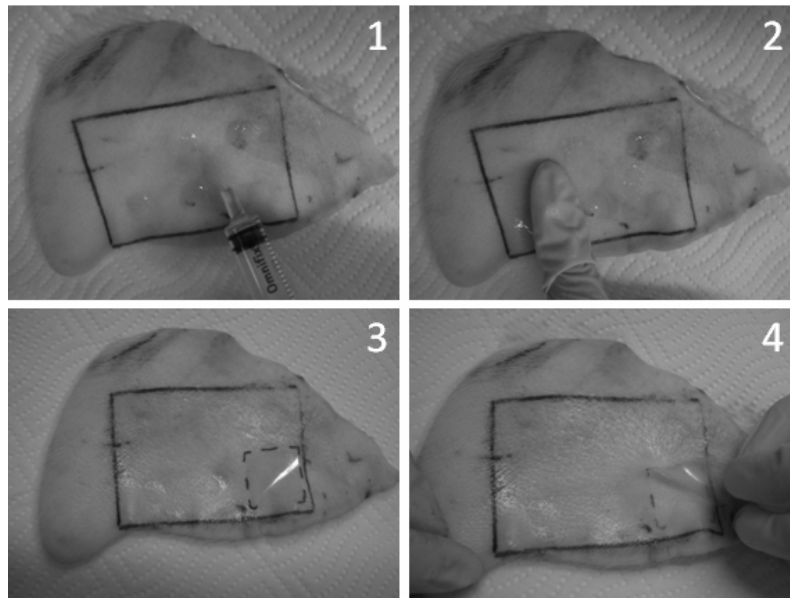


Abb. 19: Vorgang des Tape Strippings

Danach wurde der Klebestreifen in einem Zug schnell abgezogen und die Menge der anheftenden Korneozyten mittels IR-Densitometer SquameScan[®] 850A¹⁵ gemessen. Nach der Messung wurde der Strip mit einer Pinzette in ein Eppendorf Gefäß überführt.

Da die Analytik der Tape Stripping Versuche sowohl mit NMR, als auch mit HPLC erfolgte, wurden nun in die, die Strips beinhaltenden, Eppendorf Gefäße 2 ml deuteriertes Methanol¹⁶ hinzugefügt. Zur besseren Extraktion wurden die Gefäße nun 12 Minuten lang in ein Ultraschallbad eingebracht. Anschließend wurden die Strips mit Hilfe einer Pinzette aus den Gefäßen entfernt und die Proben danach 10 Minuten lang bei 4000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert.

¹⁵ Heiland electronic GmbH, Germany

¹⁶ Methanol D1 (HDO + D2O) < 0,1%, Ch.- Nr.: D015F, Euriso-top GmbH, France

3.3.3. HPLC – Analytik

3.3.3.1. Bestimmung von Fluconazol

Die Quantifizierung von Fluconazol erfolgte mit folgenden Parametern:

HPLC:

Apparatur:	Perkin-Elmer (US) mit Series 200 column oven und Series 200 lc pump
Detektion:	Perkin-Elmer Diode Array Detector 235 C
Autosampler:	Perkin-Elmer ISS-200
Analysensoftware:	TotalChrom Navigator Software
Säule:	Nucleosil 100 5 C18, 250 x 4,0 mm (MachereyNagel, USA)
Vorsäule:	SS 8/4

Methode:

Mobile Phase:	Phosphatpuffer pH 7,4/Methanol (55:45, V/V) + 1 mmol Octansulfonsäure
Flussrate:	1,0 ml/min
Ofentemperatur:	50°C
Injektionsvolumen:	20 µl
Kalibrierung:	externer Standard
Druck:	3500 PSI
Wellenlänge:	260 nm
Retentionszeit:	ca. 4 Minuten

Um Fluconazol quantitativ zu bestimmen war die Erstellung einer Eichgerade notwendig.

Hierfür wurde Fluconazol in Methanol gelöst und eine Stammlösung von 1,014 mg/ml hergestellt (=V0). Ausgehend von dieser Stammlösung wurden alle weiteren Lösungen im Verhältnis 1:2 verdünnt, woraus sich folgende Eichlösungen (=V1-V12) ergaben:

Verdünnung	Konzentration [$\mu\text{g/ml}$]	Peakfläche
V0	1014,00	2074694,42
V1	507,00	1035334,31
V2	253,50	514127,30
V3	126,75	254480,04
V4	63,38	128641,20
V5	31,69	65955,76
V6	15,84	32675,15
V7	7,92	18014,21
V8	3,96	850,06
V9	1,98	2942,92
V10	0,99	2069,41
V11	0,50	-
V12	0,25	-

Tab. 7: Eichlösungen für Fluconazol

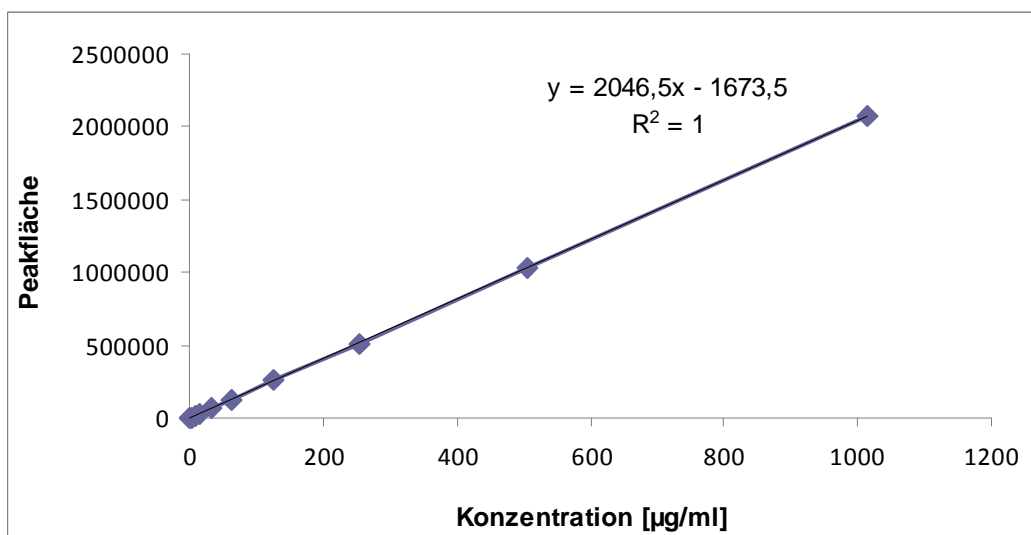


Abb. 20: Eichgerade für Fluconazol mit Geradengleichung und Varianz

Ein charakteristisches Chromatogramm einer Lösung von Fluconazol in Phosphatpuffer zeigt Abbildung 21.

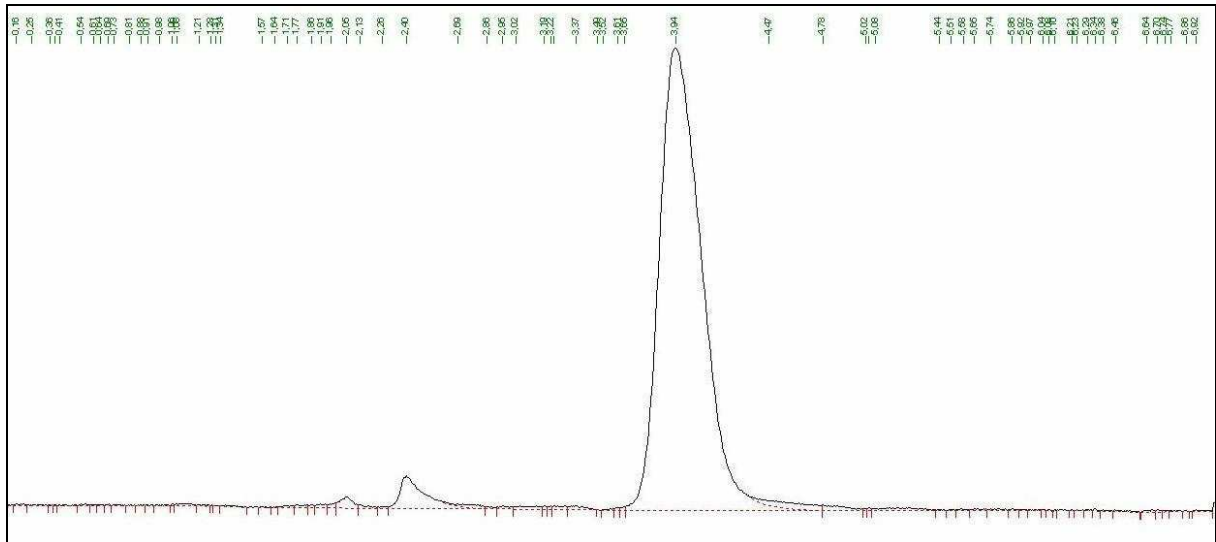


Abb. 21: Chromatogramm von Fluconazol

3.3.3.2. Bestimmung von Flufenaminsäure

Die Quantifizierung von Flufenaminsäure erfolgte mit folgenden Parametern:

HPLC:

Apparatur: Perkin-Elmer (US) mit Series 200 column oven und Series 200 lc pump

Detektion: Perkin-Elmer Diode Array Detector 235 C

Autosampler: Perkin-Elmer ISS-200

Analysensoftware: TotalChrom Navigator Software

Säule: Nucleosil 100 5 C18, 250 x 4,0 mm (MachereyNagel, USA)

Vorsäule: SS 8/4

Methode:

Mobile Phase: Methanol/Wasser/Eisessig (80:20:1, V/V/V), pH 3,5

Flussrate: 0,8 ml/min

Ofentemperatur: 50°C

Injektionsvolumen: 20 µl

Kalibrierung: externer Standard

Druck: 3500 PSI

Wellenlänge: 245 nm

Retentionszeit: ca. 6 Minuten

Auch hier wurde eine Eichgerade erstellt. Flufenaminsäure wurde in Methanol gelöst und eine Stammlösung mit einer Konzentration von 1,045 mg/ml erstellt (=V0). Ausgehend von dieser Stammlösung wurden alle folgenden Lösungen im Verhältnis 1:2 verdünnt, woraus sich folgende Eichlösungen ergaben (=V1-V12).

Verdünnung	Konzentration [$\mu\text{g/ml}$]	Peakfläche
V0	1045,00	41317276,77
V1	522,50	20342745,57
V2	261,25	10724461,97
V3	130,63	5192681,01
V4	65,31	2669185,43
V5	32,66	958345,59
V6	16,33	528702,82
V7	8,16	279002,56
V8	4,08	132256,82
V9	2,04	66992,97
V10	1,02	38592,88
V11	0,51	35766,6
V12	0,26	9735,16

Tab. 8: Eichlösungen für Flufenaminsäure

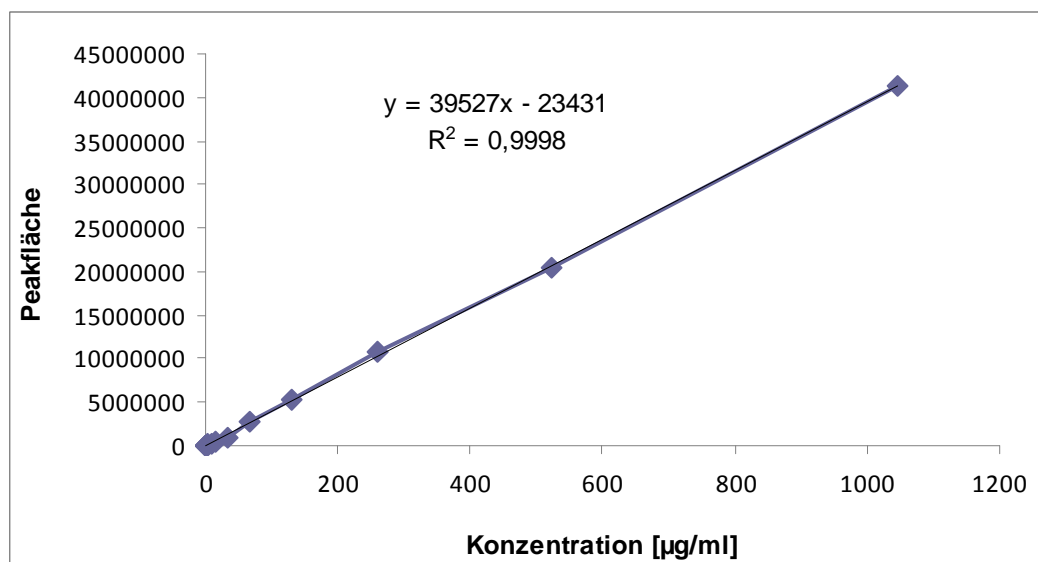


Abb. 22: Eichgerade für Flufenaminsäure mit Geradengleichung und Varianz

Abbildung 23 zeigt ein charakteristisches Chromatogramm einer Lösung von Flufenaminsäure in Phosphatpuffer.

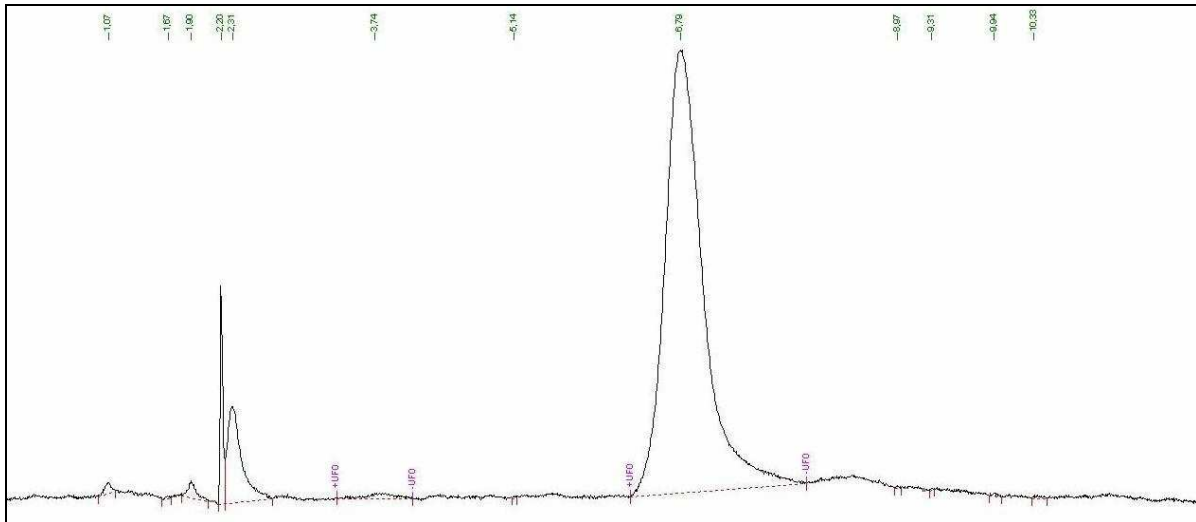


Abb. 23: Chromatogramm von Flufenaminsäure

3.3.4. NMR-Analytik

Die NMR-Analytik wurde von unserem Kooperationspartner Ass. Prof. Dr. Hanspeter Kählig durchgeführt. Die Eignung der NMR-Analytik für qualitative Untersuchungen wurde bereits durch Studien der Arbeitsgruppe bestätigt [61, 62, 63].

Es ist möglich eine quantitative Analyse der Flufenaminsäure mittels ^{19}F -NMR durchzuführen. Die Ergebnisse der beiden Methoden (HPLC, ^{19}F -NMR) sollten verglichen werden.

4. ERGEBNISSE

4.1. Makroskopische und mikroskopische Charakterisierung der Mikroemulsionen

Bereits durch makroskopische Betrachtung der Mischungen konnte eine Einteilung in klare oder trübe Flüssigkeiten gemacht werden. Abbildung 24 zeigt die verschiedenen makroskopischen Erscheinungsbilder. Während einige Mischungen komplett klar erschienen, kam es bei anderen zu Phasentrennung, festen und trüben Massen oder sie wiesen eine cremige, dickflüssige Konsistenz auf. Letztere können als klassische Emulsionen eingestuft werden.

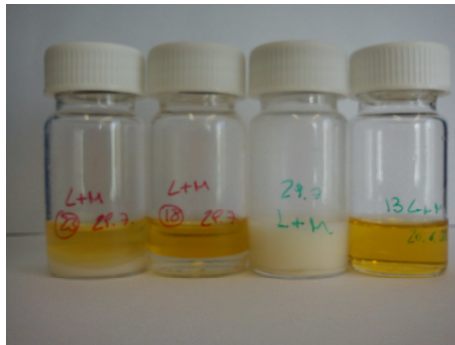


Abb. 24: Verschiedene makroskopische Erscheinungsbilder
(1) + (2) Phasentrennung, (3) Emulsion, (4) klare Flüssigkeit

Die erhaltenen Ergebnisse nach makro- und mikroskopischer Betrachtung sind in den Tabellen 9-12 im Anhang unter Punkt 7 aufgelistet.

Mikroskopisch konnten verschiedene Strukturen beobachtet werden:

- 1.) Isotropie, dargestellt in Abb. 25;
- 2.) Kristallstrukturen; Diese traten jedoch nur auf, wenn Montanov S alleine als Tensid verwendet wurde.
- 3.) Phasentrennung; Diese Bezeichnung wurde gewählt für Tropfen, die langsam ineinander flossen, aber auch für stabile Tröpfchen, die vor allem bei Mischungen, die makroskopisch eine cremige Konsistenz aufwiesen und somit einer klassischen Emulsion entsprachen, auftraten.

4.) Krustenförmige und schichtenförmige Strukturen, die die Bildung von Aggregaten bezeichnen.

Mikroemulsionen konnten leicht an ihrem isotropen Charakter erkannt werden. Sie erschienen makroskopisch klar und mikroskopisch als einheitliche, dunkle Flächen.

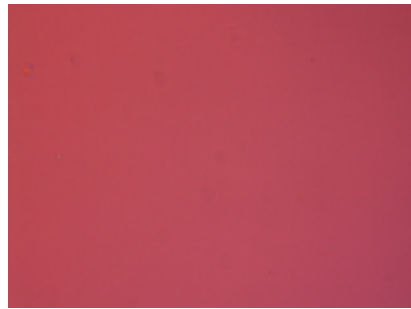


Abb. 25: Isotrope Flüssigkeit im Polarisationsmikroskop [4]

Die Mikroemulsionen der Mischungen mit Lezithin erschienen gelb und klar, während die Mischungen mit Saccharoselaurat oder Montanov S transparent und klar waren.

Die Bildung von klaren isotropen Flüssigkeiten fand bei allen Tensiden bei einem Tensidgehalt zwischen 50-40% und einem Wassergehalt von 10% statt. Dies entsprach den Mischungen 26 und 30.

Abhängig vom verwendeten Tensid ergab sich eine unterschiedliche Anzahl an isotropen Mischungen. Auf die Größe der jeweiligen Mikroemulsionsgebiete wird in Punkt 4.2. noch genauer eingegangen.

In einer vorangegangenen Studie wurde bei der Verwendung von Lezithin als Tensid in Mikroemulsionen das Auftreten von flüssigkristallinen, im polarisierten Licht leuchtenden, Strukturen beschrieben [4].

Diese Flüssigkristalle traten im Zuge der vorliegenden Arbeit nicht auf. Jedoch konnten beim Einsatz von Montanov S Kristallstrukturen beobachtet werden. Da diese Strukturen vor allem bei geringem Ölgehalt (zwischen 10 und 30%) und hohem Tensidanteil (zwischen 30 und 80%) auftraten, kann es sich hierbei auch, auf Grund der schlechten Löslichkeit des Emulgators, um ungelöste Emulgatorbestandteile

handeln. Viele der Mischungen, die unter Rühren klar erschienen, erhielten nach Beendigung des Rührens eine Trübung oder gingen in feste, trübe Massen über.

4.2. Phasendiagramme der Mikroemulsionen

An Hand der hergestellten Mikroemulsionen wurde für jedes Tensid ein Phasendiagramm erstellt. Die für in-vitro Hautstudien ausgewählte Mikroemulsion Nr. 26 ist in den Diagrammen durch einen roten Punkt gekennzeichnet.

Die Abbildungen 26 und 27 zeigen deutlich, dass durch eine Kombination zweier Tenside das Mikroemulsionsgebiet im Dreiecksdiagramm vergrößert wird.

Aus der Kombination von Saccharoselaurat und Lezithin resultierte das größte isotrope Gebiet. Mehr als die Hälfte der erstellten Mischungen entsprach hier der Definition einer Mikroemulsion.

Bei der Verwendung von Saccharoselaurat als alleiniges Tensid kam es zur Bildung von nur sieben Mikroemulsionen.

Montanov S als alleiniges Tensid führte zur Bildung von drei Mikroemulsionen und somit zum kleinsten isotropen Gebiet. Jedoch konnte auch hier durch eine Kombination von Montanov S und Lipoid S75 eine deutliche Vergrößerung des Mikroemulsionsgebietes erreicht werden.

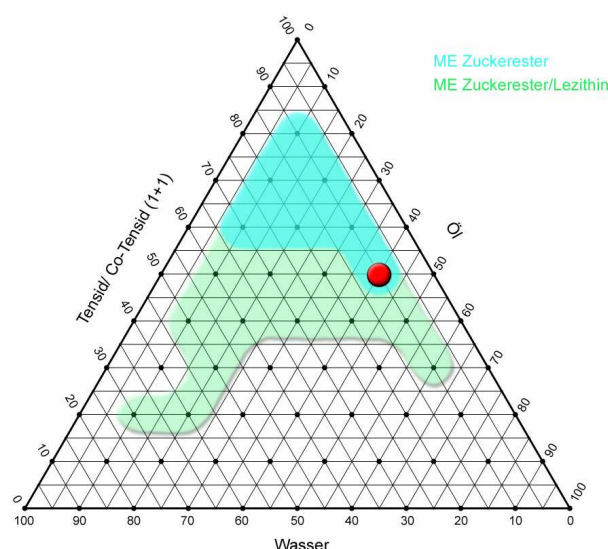


Abb. 26: Vergleich der Phasendiagramme von Saccharoselaurat mit einer Kombination von Saccharoselaurat und Lezithin

Zur Bildung isotroper Flüssigkeiten kam es bei Verwendung von Saccharoselaurat im oberen Teil des Dreiecks und somit in einem Bereich mit hoher Tensidkonzentration, die zwischen 50-80% lag. Der Wasser- bzw. Ölanteil lag jeweils zwischen 10-30%. Nur die Mikroemulsion 26 wies einen Ölgehalt von 40% auf.

Durch Kombination mit Lezithin konnte das Mikroemulsionsgebiet in den tensidärmeren Bereich vergrößert werden. Hier genügte bereits ein Tensidanteil von 20% um Mikroemulsionen zu bilden.

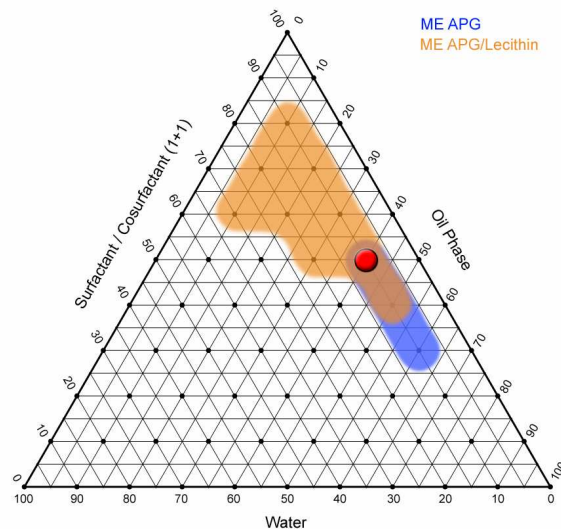


Abb. 27: Vergleich der Phasendiagramme von Montanov S mit einer Kombination von Montanov S und Lezithin

Bei Verwendung des Alkylpolyglykosides als alleiniges Tensid bildete sich das Mikroemulsionsgebiet bei einer Tensidkonzentration zwischen 30-50% und einem Ölgehalt zwischen 50-70% aus.

Eine Kombination mit Lezithin führte zu einer Vergrößerung des Mikroemulsionsgebietes in den tensidreicheren Bereich.

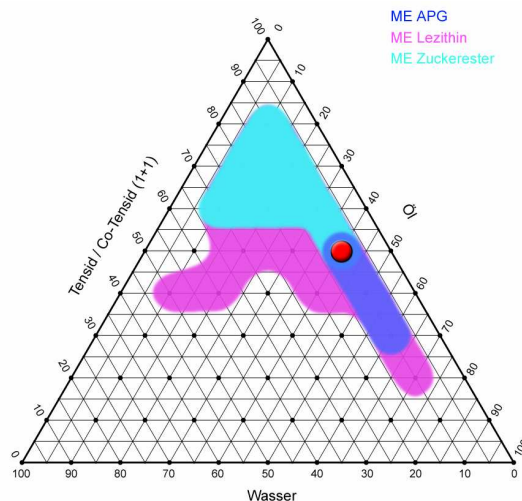


Abb. 28: Vergleich der Phasendiagramme der Einzeltenside

In Abbildung 28 zeigen sich deutlich die unterschiedlichen Mikroemulsionsgebiete bei Verwendung der Einzeltenside, also nicht in Kombination. Lezithin führte hier deutlich zum größten isotropen Bereich, in dem sich bereits bei einer geringen Tensidkonzentration von 20% und einem hohen Ölgehalt von 70% Mikroemulsionen ausbildeten.

Der isotrope Bereich von Saccharoselaurat entsprach in etwa dem der Kombination von APG und Lezithin.

Für die in-vitro Hautstudien wurde die Mikroemulsion Nr.26 ausgewählt, da diese in allen erstellten Phasendiagrammen im isotropen Bereich lag und eine stabile Mikroemulsion ausbildete. Auf Grund der niedrigeren Tensidkonzentration wurde sie, der zweiten im Mikroemulsionsgebiet aller Tenside liegenden Mischung, vorgezogen.

4.3. In-vitro Hautstudien

4.3.1. Franz-Zell Versuche

Es wurden sowohl mit den fluconazol- als auch mit den flufenaminsäurehaltigen Mikroemulsionen Permeationsversuche durchgeführt. Bei beiden Ansätzen wurden die Versuche über einen Zeitraum von 24 Stunden durchgeführt.

4.3.1.1. Fluconazolhaltige Mikroemulsionen

Die Hautpermeation von Fluconazol aus der Mikroemulsion mit einer Zusammensetzung von 10% Wasser, 50% eines 1:1 Gemisches von Tensid und

Isopropanol und 40% Isopropylmyristat, war je nach verwendetem Tensid sehr unterschiedlich.

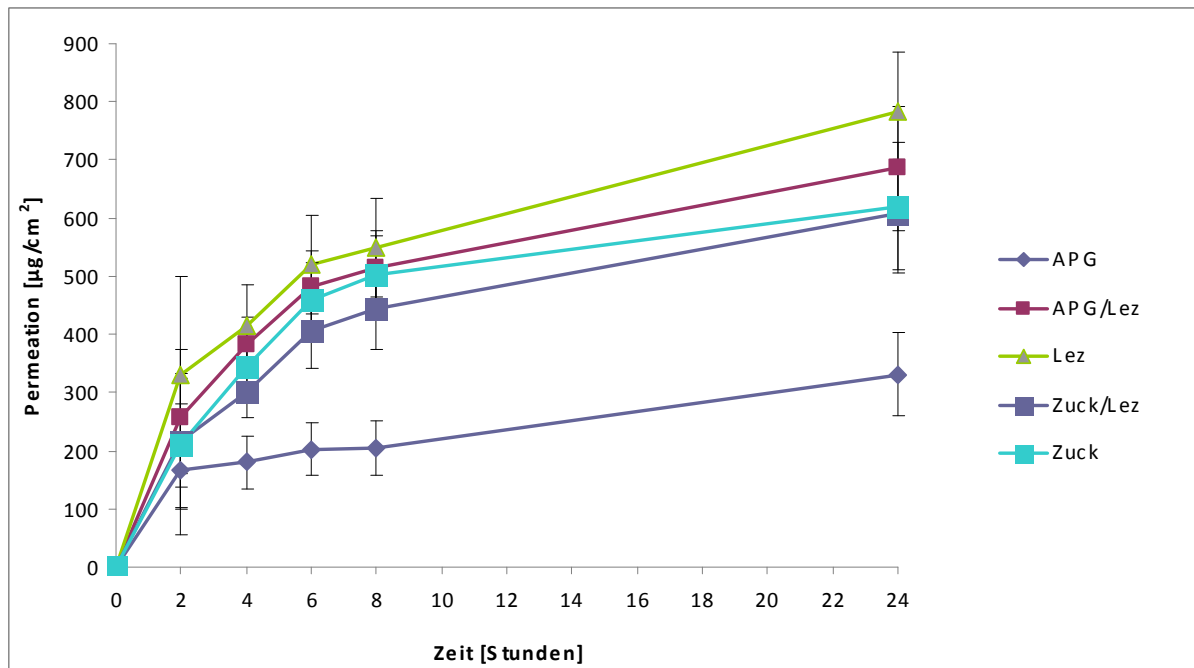


Abb. 29: Vergleich der Hautpermeation von Fluconazol aus den Mikroemulsionen mit verschiedenen Tensiden

Bei allen Mikroemulsionen kam es anfänglich zu einer hohen Freisetzungsrate. Der Verlauf der Kurven lässt erahnen, dass sich der Transport von Fluconazol durch die Schweinehaut einem Grenzwert annähert.

Nach 24 Stunden konnte die höchste Fluconazolpermeation durch die Schweinehaut aus der Mikroemulsion Lez-Fluc gemessen werden.

Mit Hilfe des t-Tests konnte ermittelt werden, dass aus der Mikroemulsion Lez-Fluc signifikant mehr Fluconazol als bei allen anderen Formulierungen, mit Ausnahme der Mikroemulsion APG/Lez-Fluc, zu der sich kein signifikanter Unterschied ergab, durch die Hautbarriere durchgetreten war.

Die Fluconazolpermeation aus der Mikroemulsion APG-Fluc war signifikant geringer als bei allen anderen Formulierungen.

4.3.1.2. Flufenaminsäurehaltige Mikroemulsionen

Auch bei den Mikroemulsionen, in die Flufenaminsäure eingearbeitet wurde, konnten unterschiedliche Hautpermeationen beobachtet werden. Es wurde hier als Grundlage

wieder dieselbe Zusammensetzung der Mikroemulsion gewählt, wie bereits unter Punkt 4.3.1.1. beschrieben.

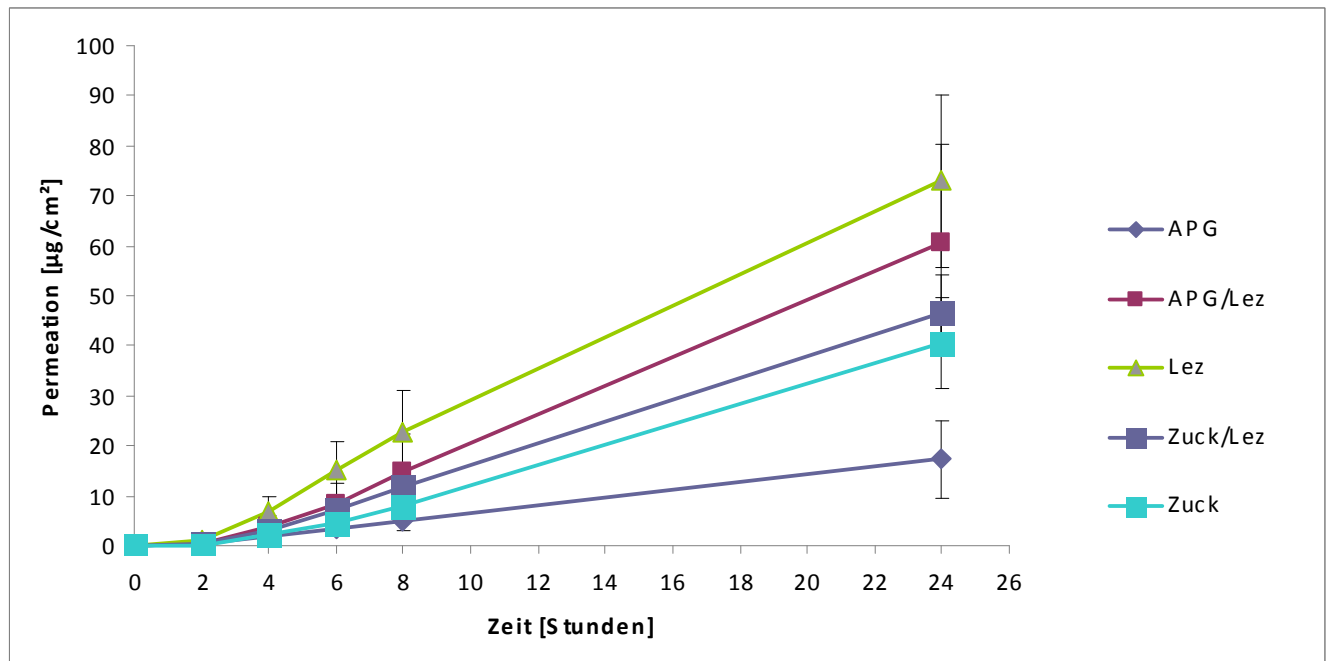


Abb. 30: Vergleich der Hautpermeation von Flufenaminsäure aus den Mikroemulsionen mit verschiedenen Tensiden

Die Hautpermeation von Flufenaminsäure zeigte hier bei allen Mikroemulsionen nach einer kurzen sogenannten lag time einen linearen Verlauf.

Es konnte mit Hilfe des Mann-Whitney Tests gezeigt werden, dass die Flufenaminsäurepermeation aus der Mikroemulsion APG-Fluf signifikant weniger als bei allen anderen Formulierungen war.

Die besten Ergebnisse konnten auch hier mit der Mikroemulsion Lez-Fluf erreicht werden. Die Arzneistoffpermeation war hier zu allen anderen Formulierungen, außer zur Mikroemulsion APG/Lez-Fluf, signifikant höher. Somit zeigten sowohl die Mikroemulsion mit Lezithin als auch jene mit einer Kombination von Lezithin und APG sehr gute Diffusionsraten für Flufenaminsäure.

Die Kombination von APG und Lezithin erwies sich besser als die Kombination von Zuckerester und Lezithin. Eine ähnliche Permeation wie aus der Kombination von Zuckerester und Lezithin konnte mit dem Zuckerester als alleiniges Tensid erreicht werden.

Die genauen Ergebnisse sind in den Tabellen 13-22 im Anhang unter Punkt 7 aufgelistet.

4.3.2. Tape Stripping

Dieselben fluconazol- oder flufenaminsäurehaltigen Mikroemulsionen, mit denen bereits zuvor die Franz-Zell-Versuche durchgeführt wurden, wurden anschließend auch mittels Tape Stripping analysiert. Pro Formulierung wurde ein Ohr mit 4 repräsentativen Stellen verwendet.

4.3.2.1. Fluconazolhaltige Mikroemulsionen

Vor und nach dem Tape Stripping wurde der TEWL der jeweiligen Stellen gemessen. Die erhaltenen Werte sind in Tabelle 43 im Anhang aufgelistet.

Mit Hilfe der Hornschichtprofile (Abb.: 31-35) ist erkennbar, dass Fluconazol sehr gut aus allen fünf Mikroemulsionen in das Stratum corneum der porcinen Ohren eindringen konnte.

Aus praktischen Gründen wurden jeweils nur 20 Klebestreifen pro Stelle abgezogen und analysiert. Es stellte sich bei der anschließenden Analyse heraus, dass Fluconazol in noch wesentlich tiefer liegende Schichten des Stratum corneum penetriert war.

Auf der linken Seite der Abbildung 31 ist die Hornschichtdicke in % dargestellt. Die rechte Seite bezeichnet die einzelnen Abrissnummern der adhäsiven Filme. Auf der x-Achse, deren Nullpunkt in der Mitte liegt, wird in rot die Fluconazolkonzentration in $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ dargestellt.

Anhand der Messung der abgetragenen Korneozytenmenge, kann die Aussage getroffen werden, dass Fluconazol aus der Mikroemulsion APG-Fluc nach Abriss von 20 Klebestreifen in einer Eindringtiefe von 4,16 μm noch in einer Konzentration von 4,49 $\mu\text{g}/\text{ml}$ nachweisbar war.

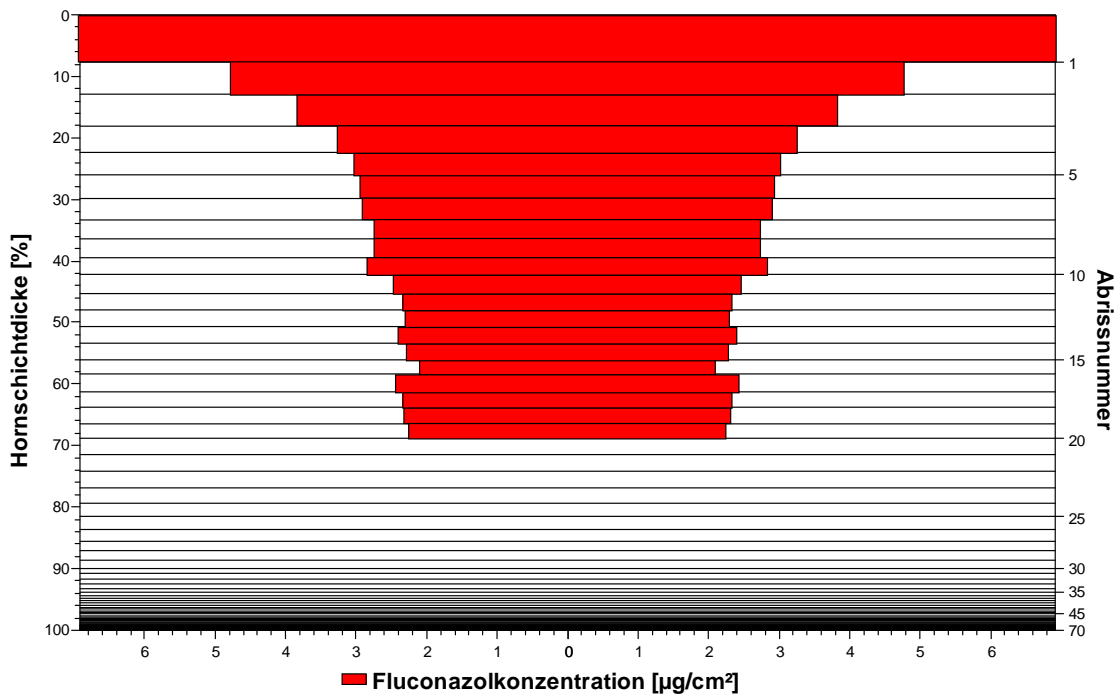


Abb. 31: Hornschichtprofil von Fluconazol aus der ME APG-Fluc

Aus der Mikroemulsion APG/Lez-Fluc konnte der Arzneistoff in einer Tiefe von 4,87 µm in einer Konzentration von 5,17 µg/ml detektiert werden. Diese Mikroemulsion lieferte somit die besten Ergebnisse.

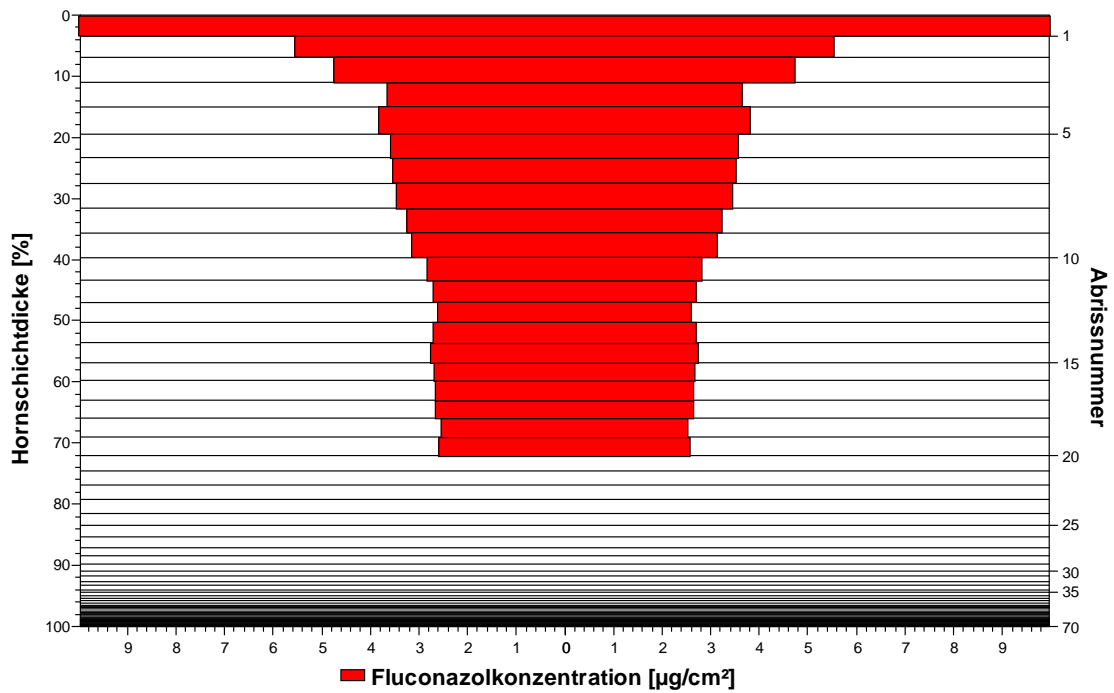


Abb. 32: Hornschichtprofil von Fluconazol aus der Mikroemulsion APG/Lez-Fluc

In einer Tiefe von 4,23 µm betrug die Fluconazolkonzentration aus der Mikroemulsion Lez-Fluc 4,29 µg/ml.

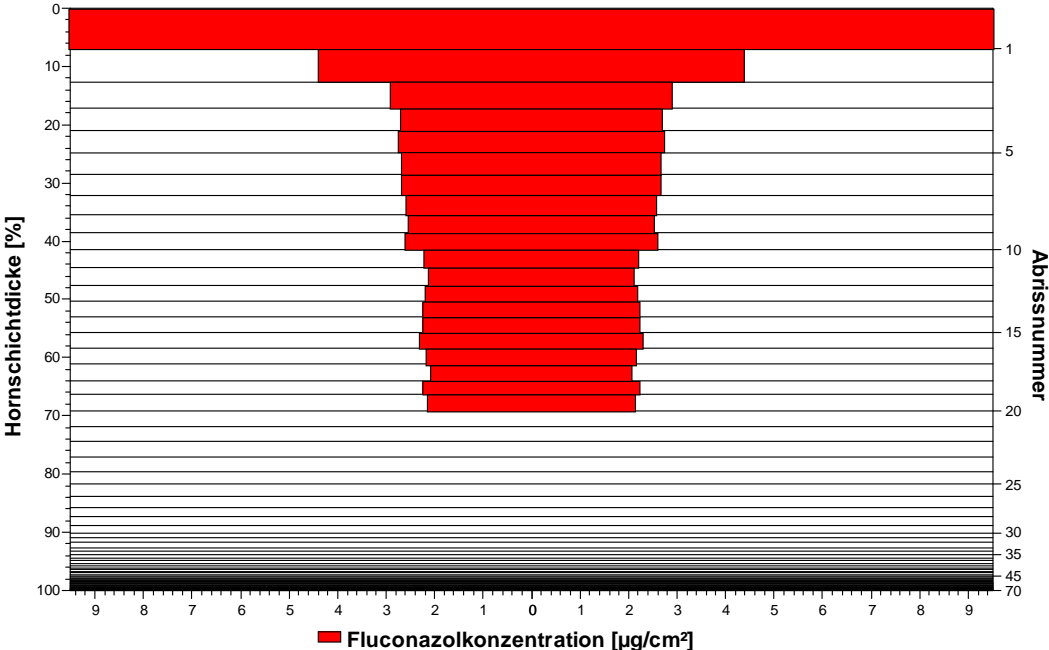


Abb. 33: Hornschichtprofil von Fluconazol aus der ME Lez-Fluc

Aus der Mikroemulsion Zuck/Lez-Fluc konnte der Arzneistoff nach 20 abgezogenen Klebestreifen in eine Tiefe von 4,00 µm eindringen und hier in einer Konzentration von 4,80 µg/ml nachgewiesen werden.

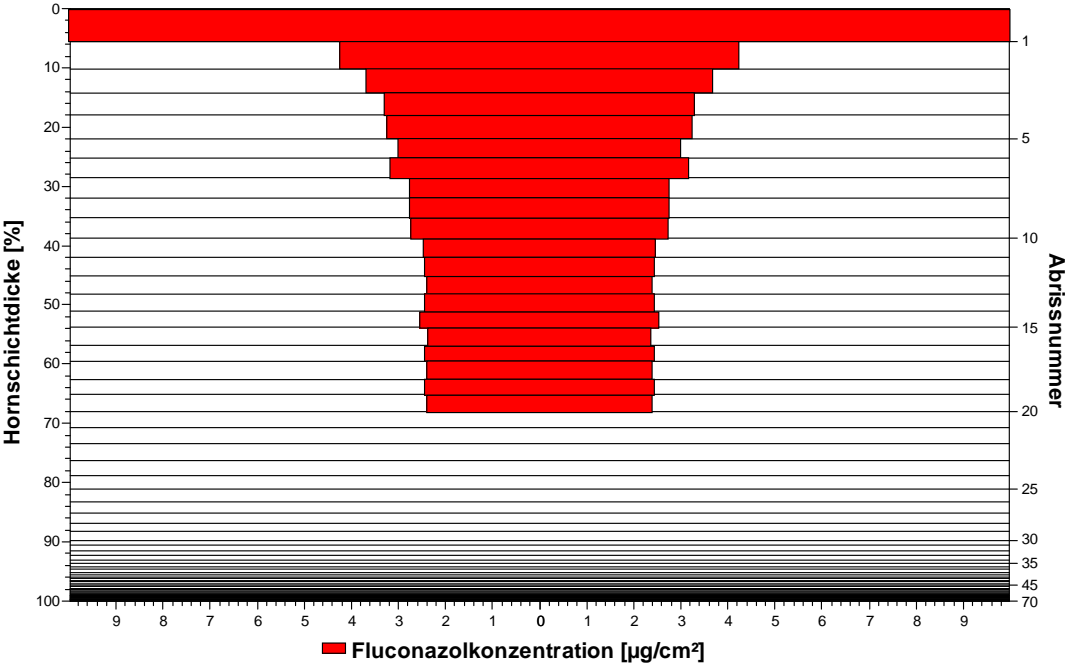


Abb. 34: Hornschichtprofil von Fluconazol aus der Mikroemulsion Zuck/Lez-Fluc

Fluconazol konnte aus der Mikroemulsion Zuck-Fluc in einer Tiefe von 4,35 μm in einer Konzentration von 4,89 $\mu\text{g}/\text{ml}$ detektiert werden.

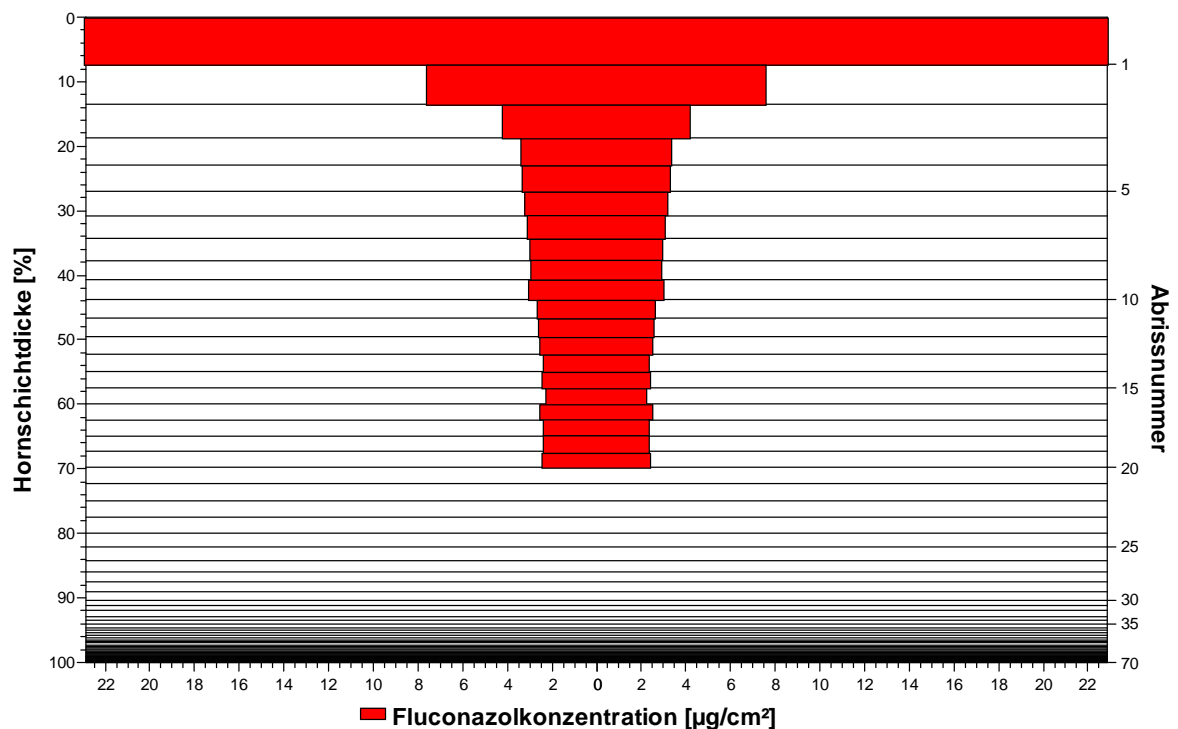


Abb. 35: Hornschichtprofil von Fluconazol aus der Mikroemulsion Zuck-Fluc

4.3.2.2. Flufenaminsäurehaltige Mikroemulsionen

Auch hier wurde vor und nach dem Tape Stripping der TEWL der jeweiligen Stellen gemessen. Die erhaltenen Werte sind in Tabelle 44 im Anhang aufgelistet.

Es wurden wieder aus praktischen Gründen jeweils nur 20 Klebestreifen pro Stelle abgezogen und analysiert. Die Hornschichtprofile (Abb.: 36-40) zeigen, dass Flufenaminsäure nach 20 Strips noch nachzuweisen war. Im Gegensatz zu Fluconazol wurden geringere Konzentrationen detektiert, aber auch hier ist im Zuge weiterer Studien der Abriss von mehr Klebestreifen durchzuführen.

Anhand der Messung der abgetragenen Korneozytenmenge konnte Flufenaminsäure aus der Mikroemulsion APG-Fluf nach Abriss von 20 Klebestreifen in einer Eindringtiefe von 4,15 μm noch in einer Konzentration von 0,19 $\mu\text{g}/\text{ml}$ nachgewiesen werden.

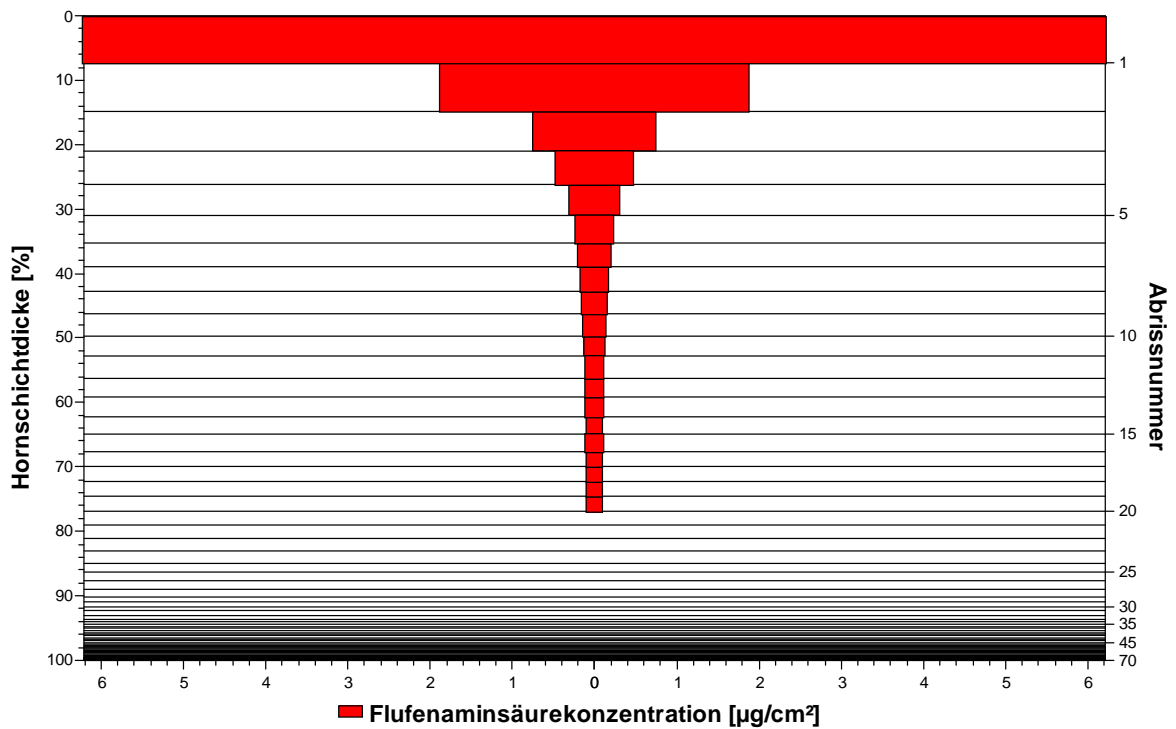


Abb. 36: Hornschichtprofil von Flufenaminsäure aus der Mikroemulsion APG-Fluf

Aus der Mikroemulsion APG/Lez-Fluf konnte der Arzneistoff in einer Tiefe von 4,88 µm mit einer Konzentration von 0,05 µg/ml detektiert werden.

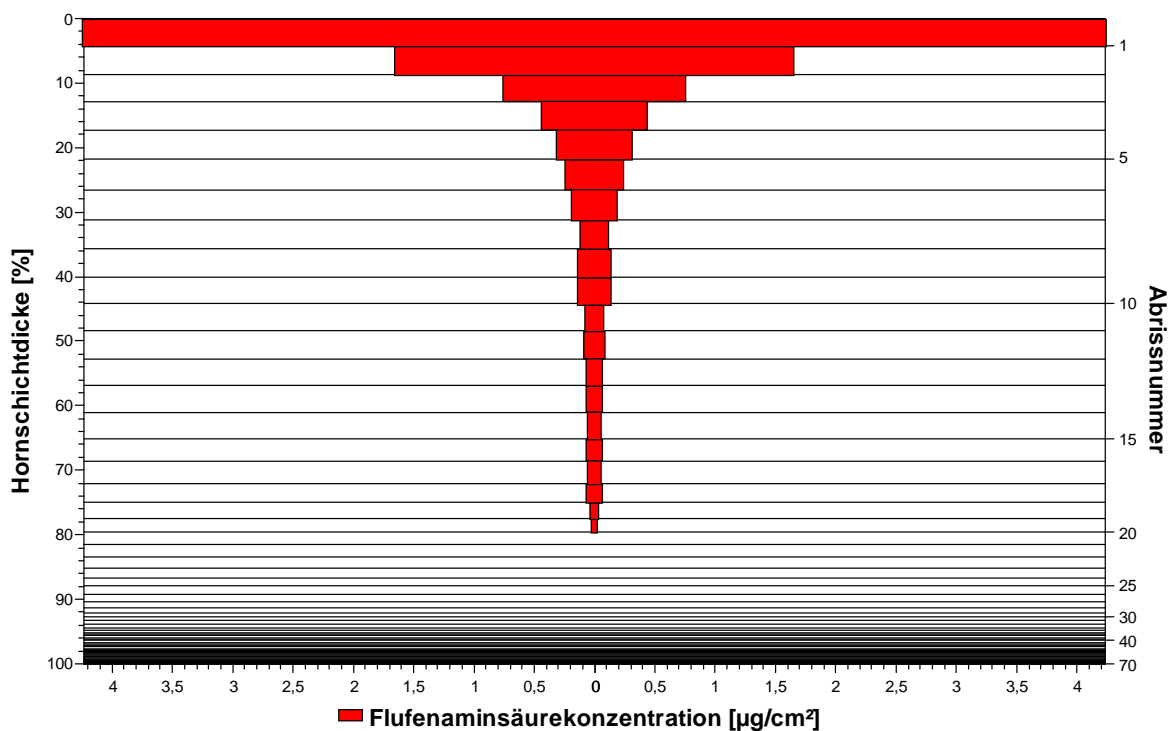


Abb. 37: Hornschichtprofil von Flufenaminsäure aus der Mikroemulsion APG/Lez-Fluf

Flufenaminsäure wurde in einer Eindringtiefe von 4,85 μm in einer Konzentration von 0,02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ aus der Mikroemulsion Lez-Fluf nachgewiesen.

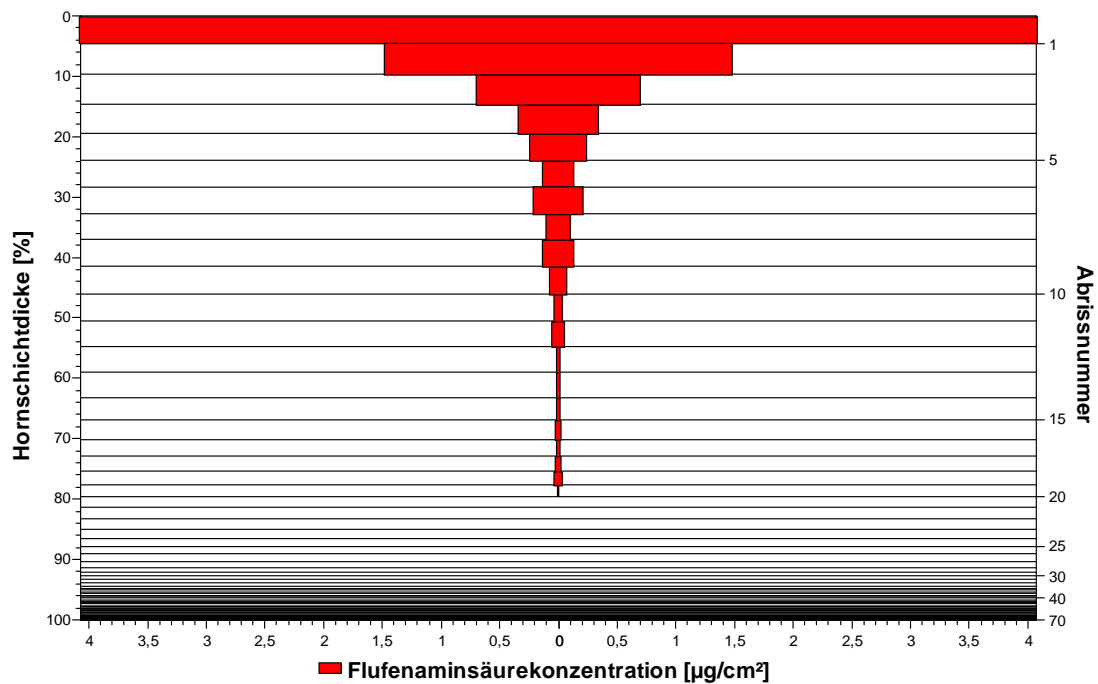


Abb. 38: Hornschichtprofil von Flufenaminsäure aus der Mikroemulsion Lez-Fluf

Aus der Mikroemulsion Zuck/Lez-Fluf konnte der Arzneistoff nach 20 abgezogenen Klebestreifen in eine Tiefe von 3,61 μm eindringen und hier in einer Konzentration von 0,26 $\mu\text{g}/\text{ml}$ nachgewiesen werden.

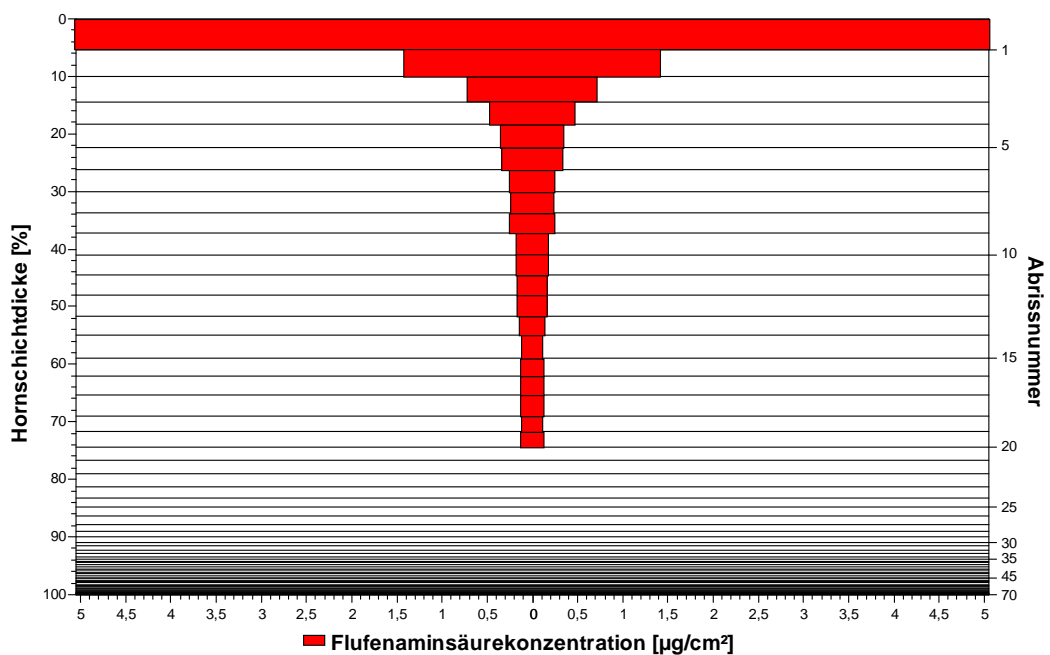


Abb. 39: Hornschichtprofil von Flufenaminsäure aus der Mikroemulsion Zuck/Lez-Fluf

Mit der Mikroemulsion Zuck-Fluf konnten, bei den Formulierungen mit Flufenaminsäure, die besten Ergebnisse erzielt werden. Hier war der Arzneistoff in einer Tiefe von 4,83 µm in einer Konzentration von 0,59 µg/ml detektierbar.

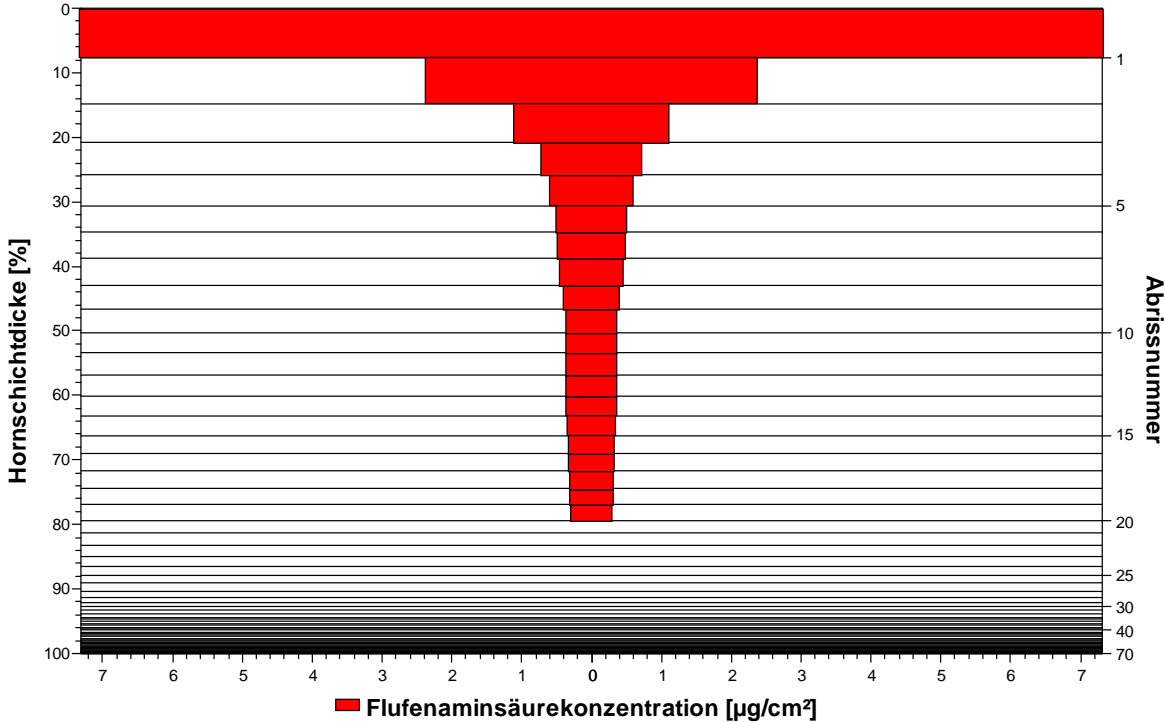


Abb. 40: Hornschichtprofil von Flufenaminsäure aus der Mikroemulsion Zuck-Fluf

5. DISKUSSION

In der Dermatologie spielt die Auswahl eines geeigneten Vehikels für Arzneistoffe eine wichtige Rolle. Das Wechselspiel zwischen Arzneistoff, Grundlage und Haut ist hier von großer Bedeutung. Das Interesse an Mikroemulsionen ist deshalb besonders groß, da sie viele Vorteile gegenüber herkömmlichen Arzneistoffvehikeln aufweisen. Mikroemulsionen besitzen ein hohes Solubilisierungsvermögen für schlecht lösliche Stoffe und weisen gute Penetrationseigenschaften auf [1, 3].

Im Zuge dieser Arbeit wurden anhand der hergestellten Mikroemulsionen Phasendiagramme erstellt. Insbesondere in Bezug auf die isotropen Gebiete unterschied sich das Phasenverhalten der Mikroemulsionen bei Verwendung der unterschiedlichen Tenside.

Wenn man die Mikroemulsionen vergleicht, in denen nur jeweils ein Tensid verwendet wurde, dann zeigte Lezithin das größte isotrope Gebiet im Phasendiagramm. Auch die Verwendung von Saccharoselaurat als Tensid führte zu einer akzeptablen Menge an isotropen Formulierungen. Bei der Verwendung von Alkylpolyglykosid entstanden jedoch nur wenige Mikroemulsionen.

Dieses Ergebnis war jedoch nicht ganz unerwartet, da das verwendete Alkylpolyglykosid nur über mittlere hydrophile Eigenschaften, jedoch über lange Alkylketten verfügt, wodurch isotrope Mischungen nur in einem sehr kleinen Bereich bestimmter Tensidkonzentrationen gebildet werden [64].

Eine deutliche Vergrößerung des isotropen Gebietes konnte jedoch bei einer Kombination von APG mit Lezithin erreicht werden.

Bei der Kombination von Lezithin und Saccharoselaurat trat dieser Effekt noch stärker auf. Hier konnte das größte isotrope Areal gefunden werden. Mehr als die Hälfte der hergestellten Mischungen entsprach somit der Definition einer Mikroemulsion und das isotrope Gebiet konnte im Vergleich zu Saccharoselaurat als Einzeltensid beinahe verdoppelt werden. Diese Vergrößerung kann dadurch erklärt werden, dass eine Kombination zweier Tenside mit unterschiedlichen HLB Werten, der für Lezithin bei 9 und für Saccharoselaurat bei 16 liegt, günstige Effekte auf die Lösungseigenschaften eines Systems hat [9, 10].

Die Freisetzungsprofile der Franz-Zell-Versuche zeigten vollkommen unterschiedliche Verläufe, wobei die Reihung der Mikroemulsionen dieselbe war und zwar Lez > APG/Lez > Zuck/Lez > Zuck > APG. Die Hautpermeation von Fluconazol war alles in allem höher als jene der Flufenaminsäure. Dies mag daran liegen, dass bei dem pH des Akzeptormediums (Phosphatpuffer pH 7,4) der Großteil der Flufenaminsäure in ionisierter Form vorliegt. Somit liegt nur ein kleiner Teil nicht ionisiert vor und ist dadurch in der Lage die Hautbarriere zu durchdringen [65].

Abgesehen von den Permeationsunterschieden der beiden Arzneistoffe konnten in beiden Versuchreihen die besten Ergebnisse mit Lezithin erreicht werden. Dies kann daran liegen, dass Lezithin mit den Lipiden des Stratum corneum interagieren kann und somit die Fluidität der Lipide erhöht [4, 34].

In einer vorangegangenen Studie konnten auch leichte penetrationsfördernde Effekte von APG's für stark hydrophile Arzneistoffe gezeigt werden [66].

Dieser Trend konnte im Zuge dieser Arbeit bei Verwendung von APG als Einzeltensid in Mikroemulsionen mit Flufenaminsäure, einem stark lipophilen Arzneistoff, und Fluconazol, einer hydrophileren Substanz, nicht bestätigt werden. Nichts desto trotz konnten aber mit einer Kombination von Lezithin und APG die zweitbesten Ergebnisse erzielt werden, was sich wiederum durch den positiven Effekt der Kombination zweier Tenside mit unterschiedlichen HLB Werten erklären lässt [9, 10].

Wie man anhand der Freisetzungsprofile erkennen kann, spielen die physikochemischen Eigenschaften der verwendeten Modellarzneistoffe eine große Rolle in Bezug auf ihre Freisetzungsraten, den Verlauf der Diffusionskurven und die Gesamtmenge durchgetretener Stoffe [67].

Eine mögliche Erklärung für den abweichenden Verlauf der Diffusionskurven ist ein unterschiedlicher Verteilungskoeffizient. Obwohl alle Mikroemulsionen klar waren, konnte eine höhere Sättigungslöslichkeit von Flufenaminsäure in den Mikroemulsionen im Gegensatz zu Fluconazol festgestellt werden. Diese Löslichkeitseigenschaften könnten ebenfalls zum unterschiedlichen Verlauf der Kurven beitragen.

Frühere Studien der Arbeitsgruppe, mit Verwendung analoger Mikroemulsionen mit Lezithin und Fluconazol in 1%iger (w/w) Konzentration, lieferten ähnliche Permeationsprofile, nur mit einem kleineren anfänglichen Anstieg [4].

Im Zuge dieser Arbeit wurden jedoch 3% (w/w) Fluconazol eingearbeitet, wodurch dieser anfängliche Anstieg verstärkt werden könnte.

Im Zuge des Tape Strippings wurden aus praktischen Gründen jeweils nur 20 Klebestreifen pro Stelle abgezogen. Bei der Analyse stellte sich jedoch heraus, dass die Arzneistoffe in noch wesentlich tiefer liegende Schichten des Stratum corneum penetriert waren. In weiteren Penetrationsstudien ist deshalb der Abriss einer größeren Menge von Klebestreifen vorzunehmen.

Deutlich zu erkennen war jedoch, dass Fluconazol als eher hydrophiler Arzneistoff in wesentlich höherer Konzentration als die lipophile Flufenaminsäure in die Hornschicht eingedrungen war. Dieser Trend ließ sich schon in den Franz-Zell-Versuchen erkennen.

In einer weiteren Studie der Arbeitsgruppe wurden auch bessere Penetrationsraten für hydrophile als für lipophile Arzneistoffe beschrieben [68].

Durch vorangegangene Studien sind sowohl die verschiedenen Tenside, als auch Isopropylmyristat bereits bekannte Penetrationsförderer [3, 4, 5, 6, 7, 8]. Auch im Zuge dieser Arbeit konnten die guten Penetrationseigenschaften der Mikroemulsionen mit diesen Komponenten bestätigt werden.

Das Hauptaugenmerk der Tape Stripping Versuche lag jedoch auf dem Vergleich der Quantifizierungsmethoden mittels HPLC und ^{19}F -NMR. Dabei zeigte sich eine exzellente lineare Korrelation mit einem Korrelationskoeffizienten von $R^2 = 0,996$ in einem Bereich von 0,5-30 $\mu\text{g/ml}$. Daher könnte diese Methode zukünftig für die Quantifizierung von fluorierten Komponenten eingesetzt werden [69].

6. ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung und Charakterisierung von Mikroemulsionen, die als Tenside natürliche, gut hautverträgliche und biologisch leicht abbaubare Substanzen enthalten sollten. Es wurden drei Tenside aus unterschiedlichen Substanzklassen ausgewählt, die sowohl alleine als auch in Kombination eingesetzt wurden. Verwendung fanden Montanov S, aus der Gruppe der Alkypolyglykoside, Lipoid S 75, ein Sojalezithin und der Zuckerester Saccharoselaurat L-1695.

Es wurden pseudoternäre Phasendiagramme erstellt, wobei sich, je nach verwendetem Tensid, unterschiedlich große isotrope Gebiete in diesen Diagrammen ergaben. Die größten Flächen konnten durch die Verwendung von Tensidkombinationen erreicht werden. Diese Tatsache zeigt, dass sich die Kombination zweier Tenside mit unterschiedlichen HLB-Werten günstig auf die Bildung von Mikroemulsionen auswirkt.

Anhand der erarbeiteten Phasendiagramme wurde eine Mischung ausgewählt, die bei allen Tensiden eine stabile Mikroemulsion ergab. Es wurden Flufenaminsäure und Fluconazol als Modellarzneistoffe eingearbeitet. Mit diesen Mikroemulsionen wurden Hautpermeationsstudien mittels Franz-Zell-Versuchen und Hautpenetrationsstudien mittels Tape Stripping, durchgeführt.

Es zeigte sich, dass die unterschiedlichen Tenside die Freisetzungsraten der Modellarzneistoffe stark beeinflussen.

Sowohl bei Hautpenetrations- als auch bei den Hautpermeationsversuchen konnten mit Fluconazol größere Arzneistoffmengen penetrieren bzw. permeieren. Lezithin lieferte in den Franz-Zell-Versuchen für beide Arzneistoffe die besten Ergebnisse. Begründung hierfür könnte die Interaktion des Lezithins mit den Lipiden des Stratum corneum sein. Es zeigten jedoch sowohl Saccharoselaurat allein als auch in Kombination gute Ergebnisse. Nur das Alkypolyglykosid entsprach nicht den Erwartungen als Permeationsförderer.

Um das genaue Penetrationsverhalten der Modellarzneistoffe aus den verschiedenen Formulierungen mittels Tape Stripping zu ermitteln, ist in zukünftigen Studien der Abriss von mehr als 20 Klebestreifen notwendig.

Beim Vergleich der Quantifizierungsmethoden mittels HPLC und ^{19}F -NMR zeigte sich eine exzellente lineare Korrelation. Daher könnte diese Methode zukünftig für die Quantifizierung von fluorierten Komponenten eingesetzt werden

Abschließend ist festzuhalten, dass sich die verwendeten natürlichen Tenside und hier vor allem Lezithin und Saccharoselaurat sehr gut für die Herstellung hautverträglicher Mikroemulsionen mit guter Hautpermeation für Fluconazol und Flufenaminsäure eignen.

Vor allem kann durch eine Kombination zweier oberflächenaktiver Substanzen, die notwendige Tensidmenge deutlich verringert werden. Denn die hohen Tensidkonzentrationen und damit verbundene Hautirritationen gelten nach wie vor als Nachteil dieser, an sich sehr vorteilhaften, Arzneiform.

7. ANHANG

Öl= Isopropylmyristat, Kotensid= Isopropanol		
Verhältnis Wasser/Surfactant+ Co-Surfactant/Öl	Makroskopisch	Mikroskopisch
1.) 80:10:10	feste, weiße Masse	Phasentrennung
2.) 70:20:10	feste, weiße Masse	Phasentrennung
3.) 60:30:10	feste, weiße Masse	Kristalle, Phasentrennung
4.) 50:40:10	feste, weiße Masse	Kristalle
5.) 40:50:10	feste, weiße Masse	Kristalle
6.) 30:60:10	feste, weiße Masse	Kristalle
7.) 20:70:10	feste, weiße Masse	Kristalle
8.) 10:80:10	feste, weiße Masse	Kristalle
9.) 70:10:20	Phasentrennung	Phasentrennung
10.) 60:20:20	Phasentrennung	krustenförmig
11.) 50:30:20	feste, trübe Masse	Kristalle
12.) 40:40:20	Phasentrennung	Kristalle, Phasentrennung
13.) 30:50:20	feste, trübe Masse	Kristalle, Phasentrennung
14.) 20:60:20	Phasentrennung	Kristalle
15.) 10:70:20	Phasentrennung	Kristalle
16.) 60:10:30	Emulsion (cremig)	Phasentrennung
17.) 50:20:30	Phasentrennung	krustenförmig
18.) 40:30:30	Phasentrennung	Kristalle, Phasentrennung
19.) 30:40:30	Phasentrennung	Kristalle, Phasentrennung
20.) 20:50:30	feste, trübe Masse	Kristalle
21.) 10:60:30	trüber Bodensatz	Kristalle
22.) 50:10:40	Phasentrennung	Phasentrennung
23.) 40:20:40	Phasentrennung	krustenförmig
24.) 30:30:40	Phasentrennung	Phasentrennung
25.) 20:40:40	Phasentrennung	Phasentrennung
26.) 10:50:40	Klar	Isotrop
27.) 40:10:50	Phasentrennung	Phasentrennung
28.) 30:20:50	Phasentrennung	Phasentrennung
29.) 20:30:50	Phasentrennung	Phasentrennung
30.) 10:40:50	Klar	Isotrop
31.) 30:10:60	Phasentrennung	Phasentrennung
32.) 20:20:60	Phasentrennung	Phasentrennung
33.) 10:30:60	Klar	Isotrop
34.) 20:10:70	Phasentrennung	Phasentrennung
35.) 10:20:70	Phasentrennung	Phasentrennung
36.) 10:10:80	Phasentrennung	Phasentrennung

Tab. 9: Ergebnisse der makro- und mikroskopischen Untersuchung der Mischungen mit Montanov S

Öl= Isopropylmyristat Kotensid= Isopropanol		
Verhältnis Wasser/Surfactant+ Co-Surfactant/Öl	Makroskopisch	Mikroskopisch
1.) 80:10:10	Phasentrennung, fest	krustenartig
2.) 70:20:10	Emulsion, fest	krustenartig
3.) 60:30:10	Phasentrennung, fest	krustenartig
4.) 50:40:10	Phasentrennung	Phasentrennung
5.) 40:50:10	trüb	feinste helle Tröpfchen, laufen ineinander
6.) 30:60:10	klar	Isotrop
7.) 20:70:10	klar	Isotrop
8.) 10:80:10	klar	Isotrop
9.) 70:10:20	Emulsion, fest	krustenartig
10.) 60:20:20	Phasentrennung, fest	krustenartig
11.) 50:30:20	Phasentrennung	krustenartig
12.) 40:40:20	Phasentrennung	Phasentrennung
13.) 30:50:20	trüb	feinste Tröpfchen
14.) 20:60:20	klar	Isotrop
15.) 10:70:20	klar	Isotrop
16.) 60:10:30	Phasentrennung	krustenartig
17.) 50:20:30	Phasentrennung	krustenartig
18.) 40:30:30	Phasentrennung	krustenartig
19.) 30:40:30	Phasentrennung	Phasentrennung
20.) 20:50:30	klar	Isotrop
21.) 10:60:30	klar	Isotrop
22.) 50:10:40	Phasentrennung	krustenartig
23.) 40:20:40	Phasentrennung	krustenartig
24.) 30:30:40	Phasentrennung	Phasentrennung
25.) 20:40:40	Phasentrennung	feinste Tröpfchen
26.) 10:50:40	klar	Isotrop
27.) 40:10:50	Phasentrennung	krustenartig
28.) 30:20:50	Phasentrennung	feinste Tröpfchen, laufen ineinander
29.) 20:30:50	Phasentrennung	Phasentrennung
30.) 10:40:50	klar	Isotrop
31.) 30:10:60	Phasentrennung	krustenartig
32.) 20:20:60	Phasentrennung	feinste Tröpfchen
33.) 10:30:60	trüb	feinste Tröpfchen
34.) 20:10:70	Phasentrennung	krustenartig
35.) 10:20:70	Phasentrennung	feinste Tröpfchen
36.) 10:10:80	Phasentrennung	feinste Tröpfchen

Tab. 10: Ergebnisse der makro- und mikroskopischen Untersuchung der Mischungen mit einer Kombination von Montanov S und Lipoid S75

Öl= Isopropylmyristat Kotensid= Isopropanol		
Verhältnis Wasser/Surfactant+ Co-Surfactant/Öl	Makroskopisch	Mikroskopisch
1.) 80:10:10	Emulsion (cremig)	Phasentrennung
2.) 70:20:10	Phasentrennung	Phasentrennung
3.) 60:30:10	Phasentrennung	Phasentrennung
4.) 50:40:10	Phasentrennung	Phasentrennung
5.) 40:50:10	Phasentrennung	wenige, sehr kleine Tropfen
6.) 30:60:10	klar	Isotrop
7.) 20:70:10	klar	Isotrop
8.) 10:80:10	klar	Isotrop
9.) 70:10:20	Emulsion (cremig)	Phasentrennung
10.) 60:20:20	Phasentrennung	Phasentrennung
11.) 50:30:20	Phasentrennung	Phasentrennung
12.) 40:40:20	Phasentrennung	Phasentrennung
13.) 30:50:20	Phasentrennung	Phasentrennung
14.) 20:60:20	klar	Isotrop
15.) 10:70:20	klar	Isotrop
16.) 60:10:30	Emulsion (cremig)	Phasentrennung
17.) 50:20:30	Phasentrennung	Phasentrennung
18.) 40:30:30	Phasentrennung	Phasentrennung
19.) 30:40:30	Phasentrennung	Phasentrennung
20.) 20:50:30	Phasentrennung	Phasentrennung
21.) 10:60:30	klar	Isotrop
22.) 50:10:40	Phasentrennung	Phasentrennung
23.) 40:20:40	Phasentrennung	Phasentrennung
24.) 30:30:40	Phasentrennung	Phasentrennung
25.) 20:40:40	Phasentrennung	Phasentrennung
26.) 10:50:40	durchsichtig, klar	Isotrop
27.) 40:10:50	Emulsion (cremig)	Phasentrennung
28.) 30:20:50	Phasentrennung	Phasentrennung
29.) 20:30:50	Phasentrennung	Phasentrennung
30.) 10:40:50	Phasentrennung	Phasentrennung
31.) 30:10:60	Phasentrennung	Phasentrennung
32.) 20:20:60	Phasentrennung	Phasentrennung
33.) 10:30:60	Phasentrennung	Phasentrennung
34.) 20:10:70	Phasentrennung	Phasentrennung
35.) 10:20:70	Phasentrennung	Phasentrennung
36.) 10:10:80	Phasentrennung	Phasentrennung

Tab. 11: Ergebnisse der makro- und mikroskopischen Untersuchung der Mischungen mit Saccharoselaurt L-1695

Öl= Isopropylmyristat, Kotensid= Isopropanol		
Verhältnis Wasser/Surfactant+ Co-Surfactant/Öl	Makroskopisch	Mikroskopisch
1.) 80:10:10	trüb	helle Tropfen
2.) 70:20:10	klar	Isotrop
3.) 60:30:10	Gallertartig	Schichtenförmig
4.) 50:40:10	klar	Isotrop
5.) 40:50:10	klar	Isotrop
6.) 30:60:10	klar	Isotrop
7.) 20:70:10	klar	Isotrop
8.) 10:80:10	klar	Isotrop
9.) 70:10:20	Emulsion (cremig)	Phasentrennung
10.) 60:20:20	klar	Isotrop
11.) 50:30:20	klar	Isotrop
12.) 40:40:20	klar	Isotrop
13.) 30:50:20	klar	Isotrop
14.) 20:60:20	klar	Isotrop
15.) 10:70:20	klar	Isotrop
16.) 60:10:30	Emulsion (cremig)	Phasentrennung
17.) 50:20:30	klar	feinste Tropfen
18.) 40:30:30	trüb	Phasentrennung
19.) 30:40:30	klar	Isotrop
20.) 20:50:30	klar	Isotrop
21.) 10:60:30	klar	Isotrop
22.) 50:10:40	Emulsion (cremig)	Phasentrennung
23.) 40:20:40	Phasentrennung	Phasentrennung
24.) 30:30:40	Phasentrennung	Phasentrennung
25.) 20:40:40	klar	Isotrop
26.) 10:50:40	klar	Isotrop
27.) 40:10:50	Emulsion (cremig)	Phasentrennung
28.) 30:20:50	Phasentrennung	Phasentrennung
29.) 20:30:50	Phasentrennung	Phasentrennung
30.) 10:40:50	klar	Isotrop
31.) 30:10:60	Emulsion (cremig)	krustenartig
32.) 20:20:60	Phasentrennung	Phasentrennung
33.) 10:30:60	klar	Isotrop
34.) 20:10:70	Phasentrennung	Phasentrennung
35.) 10:20:70	Phasentrennung	Phasentrennung
36.) 10:10:80	Phasentrennung	Phasentrennung

Tab. 12: Ergebnisse der makro- und mikroskopischen Untersuchung der Mischungen mit einer Kombination von Saccharoselaurat L-1695 und Lipoid S75

Zeit	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	Zelle 4	Zelle 5	Zelle 6	Zelle 7	Zelle 8	Zelle 9	MW	SD
[Stunden]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]		
2	280,86	345,59	307,32	124,38	134,93	134,61	40,04	78,42	64,07	167,80	113,47
4	222,15	197,34	211,02	198,73	206,51	214,78	101,90	140,13	128,15	180,08	44,27
6	257,46	209,60	242,92	219,38	224,09	238,62	132,74	158,52	142,39	202,86	46,33
8	263,69	206,79	236,99	212,99	235,45	240,49	137,44	156,79	142,25	203,65	46,81
24	409,66	340,24	396,22	366,12	384,63	349,91	246,33	275,09	205,44	330,40	71,63

Tab. 13: Fluconazol-Permeation aus der Mikroemulsion (ME) APG-Fluc (Franz-Zell-Versuche)

Zeit	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	Zelle 4	Zelle 5	Zelle 6	Zelle 7	Zelle 8	Zelle 9	MW	SD
[Stunden]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]		
2	453,21	371,83	373,65	248,59	199,20	240,39	138,62	114,45	167,64	256,40	117,95
4	425,15	374,10	367,77	454,66	404,09	423,97	329,11	320,64	345,05	382,72	46,87
6	520,41	507,14	466,74	572,32	516,43	529,61	408,07	414,00	392,83	480,84	63,23
8	578,03	545,08	517,58	577,31	530,53	577,16	435,41	441,95	422,68	513,97	64,28
24	789,78	785,55	715,92	741,43	766,85	728,90	530,62	579,52	537,16	686,19	106,45

Tab. 14: Fluconazol-Permeation aus der ME APG/Lez-Fluc (Franz-Zell-Versuche)

Zeit	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 4	Zelle 5	Zelle 6	Zelle 7	Zelle 8	Zelle 9	MW	SD
[Stunden]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]		
2	456,65	632,29	242,06	198,54	284,68	171,96	167,21	155,48	288,61	170,18
4	401,04	462,72	460,99	406,82	499,89	343,26	323,33	310,98	401,13	70,40
6	534,64	572,53	560,37	510,01	616,64	415,66	424,19	386,88	502,62	84,02
8	573,46	612,51	567,59	557,60	638,38	443,85	440,49	420,48	531,80	84,53
24	845,13	833,56	820,04	796,15	857,82	643,38	629,62	651,53	759,65	99,64

Tab. 15: Fluconazol-Permeation aus der ME Lez-Fluc (Franz-Zell-Versuche)

Zeit	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	Zelle 4	Zelle 5	Zelle 6	Zelle 7	Zelle 8	Zelle 9	MW	SD
[Stunden]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]		
2	n.d.	347,53	393,02	144,8	142,62	108,48	114,94	110,53	123,56	185,68	115,38
4	366,52	358,95	367,27	324,18	304,84	264,97	270,74	n.d.	264,42	315,23	45,55
6	484,88	486,19	463,75	434,24	406,38	373,42	333,61	316,72	357,81	406,33	64,59
8	531,98	528,92	510,04	479,86	444,99	398,4	366,21	356,7	386,34	444,83	70,42
24	653,74	729,66	707,46	682,17	608,35	594,68	471,56	489,46	524,81	606,88	94,9

Tab. 16: Fluconazol-Permeation aus der ME Zuck/Lez-Fluc (Franz-Zell-Versuche)

Zeit	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	Zelle 4	Zelle 5	Zelle 6	Zelle 7	Zelle 8	Zelle 9	MW	SD
[Stunden]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]		
2	392,66	337,46	340,05	146,33	135,07	207,00	118,68	109,60	117,24	211,57	113,58
4	395,16	364,29	353,80	338,59	311,40	439,89	355,00	262,07	279,06	344,36	55,29
6	536,27	486,34	465,06	454,44	383,97	551,85	488,78	372,75	393,75	459,25	64,81
8	574,11	538,78	536,96	486,06	495,81	605,42	456,06	414,96	412,45	502,29	67,52
24	756,31	722,96	707,83	618,99	616,67	683,86	417,38	515,63	524,47	618,23	112,93

Tab. 17: Fluconazol-Permeation aus der ME Zuck-Fluc (Franz-Zell-Versuche)

Zeit	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	Zelle 4	Zelle 5	Zelle 6	Zelle 7	Zelle 8	Zelle 9	MW	SD
[Stunden]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]		
2	0,00	0,00	1,77	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,59
4	0,00	2,15	3,91	2,39	1,90	0,00	1,19	2,21	1,70	1,72	1,22
6	2,77	3,91	6,14	4,70	3,22	2,01	1,90	3,70	2,49	3,43	1,37
8	4,43	5,46	8,22	7,09	4,22	3,48	2,66	4,54	3,56	4,85	1,79
24	19,41	18,79	35,15	20,56	12,19	15,70	9,02	13,12	12,10	17,34	7,73

Tab. 18: Flufenaminsäure-Permeation aus der ME APG-Fluf (Franz-Zell-Versuche)

Zeit	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	Zelle 4	Zelle 5	Zelle 6	Zelle 7	Zelle 8	Zelle 9	MW	SD
[Stunden]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]		
2	0,00	0,00	0,00	1,96	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,22	0,65
4	2,77	3,55	2,58	9,75	3,35	1,55	4,04	1,52	3,78	3,65	2,46
6	7,79	10,09	7,38	16,91	8,56	3,99	9,22	3,54	8,84	8,48	3,88
8	14,11	17,99	13,44	32,76	15,42	7,54	12,66	6,32	13,45	14,85	7,64
24	72,47	76,61	64,68	98,20	63,02	43,71	43,53	41,38	42,52	60,68	19,71

Tab. 19: Flufenaminsäure-Permeation aus der ME APG/Lez-Fluf (Franz-Zell-Versuche)

Zeit	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	Zelle 4	Zelle 5	Zelle 6	Zelle 7	Zelle 8	Zelle 9	MW	SD
[Stunden]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]		
2	1,72	0,00	1,56	3,25	1,95	0,00	1,58	1,52	0,00	1,29	1,10
4	7,32	3,62	8,17	12,60	9,00	5,26	7,71	5,65	1,87	6,80	3,15
6	18,64	10,07	19,67	24,06	19,35	12,26	14,48	12,12	4,87	15,06	5,91
8	26,52	17,30	29,43	34,50	30,25	20,80	21,21	18,14	8,01	22,91	8,12
24	79,48	74,32	96,55	84,90	84,96	70,96	71,73	53,82	39,62	72,93	17,21

Tab. 20: Flufenaminsäure-Permeation aus der ME Lez-Fluf (Franz-Zell-Versuche)

Zeit	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	Zelle 4	Zelle 5	Zelle 6	Zelle 7	Zelle 8	Zelle 9	MW	SD
[Stunden]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]		
2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,72	0,00	0,00	0,19	0,57
4	2,10	4,72	3,81	4,12	1,95	1,96	3,45	4,01	2,83	3,22	1,04
6	5,99	10,54	9,26	7,59	4,59	5,24	7,14	8,63	6,52	7,28	1,94
8	9,44	16,63	14,65	14,50	8,86	9,50	10,78	12,65	10,24	11,92	2,79
24	41,61	58,42	58,69	51,17	42,71	45,81	40,03	41,51	38,40	46,48	7,77

Tab. 21: Flufenaminsäure-Permeation aus der ME Zuck/Lez-Fluf (Franz-Zell-Versuche)

Zeit	Zelle 2	Zelle 3	Zelle 4	Zelle 6	Zelle 7	Zelle 8	Zelle 9	MW	SD
[Stunden]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]	[µg/cm ²]		
2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	3,08	2,19	3,38	1,41	1,90	2,07	1,73	2,25	0,72
6	6,99	4,78	6,47	2,77	4,46	3,90	3,54	4,70	1,54
8	8,31	10,57	12,62	4,84	7,35	6,41	5,64	7,96	2,79
24	51,21	43,36	53,76	33,80	36,21	33,25	31,31	40,41	9,12

Tab. 22: Flufenaminsäure-Permeation aus der ME Zuck-Fluf (Franz-Zell-Versuche)

Fluconazolkonzentration [µg/ml]						
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	15,49	11,83	16,14	11,92	13,85	2,29
2	8,46	8,95	12,59	8,17	9,54	2,06
3	6,85	6,42	9,55	7,82	7,66	1,39
4	5,44	6,30	8,03	6,33	6,53	1,08
5	5,37	5,90	6,78	6,16	6,05	0,58
6	5,78	5,89	6,30	5,56	5,88	0,31
7	5,41	6,22	5,91	5,70	5,81	0,34
8	5,32	5,62	5,70	5,24	5,47	0,22
9	5,27	5,65	5,59	5,44	5,49	0,17
10	5,07	5,93	6,06	5,70	5,69	0,44
11	4,58	5,28	4,88	4,93	4,92	0,29
12	4,33	4,56	4,44	5,27	4,65	0,43
13	4,43	4,72	4,85	4,38	4,59	0,23
14	4,94	4,76	4,78	4,72	4,80	0,10
15	3,95	4,80	4,71	4,75	4,55	0,40
16	4,12	3,78	4,57	4,31	4,19	0,33
17	4,85	4,90	4,89	4,80	4,86	0,05
18	4,83	4,03	4,59	5,14	4,65	0,47
19	5,21	4,35	4,54	4,40	4,63	0,40
20	3,98	4,85	4,44	4,67	4,49	0,38
Summe	113,68	114,76	129,34	115,41	118,30	
Einwaage in mg	176,37					
Wiederfindung	78,87%					

Tab. 23: Arzneistoffmenge Ohr A, ME APG-Fluc

KORNEOZYTEN		Masse [µg]				
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	43,51	45,21	52,26	45,21	46,55	3,89
2	29,17	28,44	40,84	28,92	31,84	6,00
3	31,84	28,20	40,35	23,33	30,93	7,18
4	28,68	22,85	31,60	18,47	25,40	5,88
5	26,98	19,69	27,71	15,80	22,54	5,77
6	27,47	17,99	27,47	17,99	22,73	5,47
7	22,85	17,74	23,82	18,96	20,84	2,95
8	19,93	17,01	22,85	14,58	18,59	3,58
9	21,39	17,01	20,42	15,80	18,66	2,67
10	18,23	18,23	17,99	15,07	17,38	1,54
11	19,45	16,53	19,93	14,83	17,68	2,43
12	16,53	15,80	18,96	15,07	16,59	1,69
13	19,45	16,53	17,50	13,85	16,83	2,33
14	17,01	17,99	15,07	13,37	15,86	2,06
15	19,20	15,56	14,10	14,58	15,86	2,31
16	16,53	15,56	13,37	14,10	14,89	1,42
17	17,74	16,04	17,50	16,29	16,89	0,85
18	17,99	15,80	14,10	13,61	15,37	1,98
19	17,74	17,01	12,15	16,04	15,74	2,49
20	17,50	15,07	10,94	15,56	14,77	2,76
Summe	449,19	394,25	458,91	361,44	415,95	
100% SC (µg)	618,12					
100% SC (µm)	6,18					

Tab. 24: Korneozytenmenge Ohr A, ME AGP-Fluc

Fluconazolkonzentration [$\mu\text{g}/\text{ml}$]						
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	19,32	16,15	22,73	21,57	19,94	2,90
2	9,85	9,92	12,12	12,45	11,08	1,39
3	11,72	8,13	8,92	9,11	9,47	1,56
4	8,02	5,70	8,81	6,74	7,32	1,37
5	7,49	8,91	7,41	6,66	7,62	0,94
6	7,12	8,20	7,50	5,70	7,13	1,05
7	7,24	8,33	6,73	5,80	7,03	1,06
8	6,73	8,08	7,37	5,50	6,92	1,10
9	5,05	8,46	6,90	5,66	6,52	1,51
10	4,68	7,67	7,42	5,36	6,28	1,49
11	5,59	5,66	5,94	5,41	5,65	0,22
12	5,75	5,36	5,61	4,94	5,41	0,36
13	5,52	5,26	5,52	4,53	5,21	0,47
14	5,91	5,93	5,54	4,29	5,42	0,77
15	6,11	5,53	5,44	4,92	5,50	0,49
16	5,83	5,80	5,47	4,32	5,36	0,71
17	6,34	5,18	5,51	4,29	5,33	0,85
18	5,51	5,56	5,51	4,70	5,32	0,41
19	5,40	5,55	5,37	4,02	5,08	0,72
20	5,65	5,85	4,94	4,25	5,17	0,73
Summe	144,84	145,23	150,77	130,22	142,76	
Einwaage in mg	192,87					
Wiederfindung	97,96%					

Tab. 25: Arzneistoffmenge Ohr B, ME APG/Lez-Fluc

KORNEOZYTEN		Masse [µg]				
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	13,37	30,63	30,87	17,99	23,21	8,90
2	16,29	24,31	33,54	20,17	23,58	7,41
3	31,36	20,42	34,27	23,82	27,47	6,44
4	24,31	20,90	36,22	27,22	27,16	6,57
5	36,70	22,61	33,06	26,98	29,84	6,27
6	29,90	17,74	33,79	25,28	26,68	6,90
7	29,90	22,36	34,76	25,52	28,14	5,39
8	26,01	17,26	35,00	30,63	27,22	7,59
9	27,71	17,74	27,71	34,03	26,80	6,73
10	28,92	16,04	35,00	31,11	27,77	8,21
11	30,63	15,07	29,17	24,06	24,73	7,03
12	26,74	15,56	27,47	27,22	24,25	5,80
13	29,17	11,18	28,68	20,17	22,30	8,49
14	23,58	13,85	29,41	25,04	22,97	6,56
15	25,28	15,31	23,33	23,33	21,82	4,43
16	21,39	13,61	22,85	21,88	19,93	4,26
17	25,52	13,13	25,28	24,31	22,06	5,98
18	22,36	14,34	20,42	19,93	19,26	3,45
19	24,06	14,83	22,36	19,93	20,30	4,02
20	24,55	18,72	21,39	21,63	21,57	2,38
Summe	517,73	355,61	584,58	490,27	487,05	
100% SC (µg)	677,19					
100% SC (µm)	6,77					

Tab. 26: Korneozytenmenge, Ohr B, ME APG/Lez-Fluc

Fluconazolkonzentration [$\mu\text{g/ml}$]						
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	21,26	18,72	14,05	22,13	19,04	3,63
2	9,48	9,15	6,75	9,78	8,79	1,38
3	5,38	5,53	4,41	7,97	5,82	1,52
4	5,28	5,54	4,68	6,03	5,38	0,56
5	5,48	5,43	5,03	5,93	5,47	0,37
6	5,27	5,33	4,70	6,03	5,33	0,55
7	5,38	5,13	4,82	6,06	5,35	0,53
8	5,07	4,99	4,95	5,56	5,14	0,28
9	4,85	5,22	4,41	5,76	5,06	0,57
10	5,12	5,01	4,93	5,90	5,24	0,45
11	4,04	4,71	4,13	4,75	4,41	0,37
12	3,34	4,70	4,02	4,90	4,24	0,71
13	3,53	4,78	4,57	4,60	4,37	0,57
14	3,78	4,85	4,50	4,68	4,45	0,47
15	3,47	5,02	5,05	4,36	4,47	0,74
16	3,96	4,83	5,18	4,51	4,62	0,52
17	3,71	4,29	4,79	4,61	4,35	0,48
18	2,90	4,56	4,97	4,18	4,15	0,89
19	4,04	4,05	5,12	4,57	4,45	0,51
20	3,80	4,35	4,85	4,15	4,29	0,44
Summe	109,16	116,17	105,91	126,48	114,43	
Einwaage in mg	152,31					
Wiederfindung	76,29%					

Tab. 27: Arzneistoffmenge, Ohr C, ME Lez-Fluc

KORNEOZYTEN		Masse [µg]				
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	45,21	42,29	37,19	46,91	42,90	4,26
2	31,84	30,38	32,81	42,05	34,27	5,28
3	24,06	31,11	26,25	28,44	27,47	3,02
4	19,69	27,22	24,31	24,06	23,82	3,11
5	21,15	28,20	21,63	20,90	22,97	3,50
6	20,42	29,65	24,06	17,99	23,03	5,07
7	19,93	26,01	24,06	17,99	22,00	3,68
8	18,72	23,58	20,17	17,01	19,87	2,79
9	17,74	22,12	20,17	14,58	18,66	3,25
10	17,01	20,66	19,69	14,34	17,93	2,84
11	17,01	22,12	20,66	15,31	18,78	3,15
12	17,01	21,39	20,66	14,83	18,47	3,09
13	15,56	19,45	19,93	12,64	16,89	3,45
14	17,01	18,72	17,50	14,10	16,83	1,96
15	14,83	17,99	19,45	13,85	16,53	2,63
16	12,64	19,20	20,42	12,40	16,16	4,24
17	15,80	19,20	18,23	14,58	16,95	2,13
18	14,83	21,39	18,72	12,64	16,89	3,91
19	14,83	17,01	15,07	12,40	14,83	1,89
20	14,58	19,69	18,23	16,53	17,26	2,20
Summe	389,88	477,38	439,22	383,56	422,51	
100% SC (µg)	612,29					
100% SC (µm)	6,12					

Tab. 28: Korneozytenmenge, Ohr C, ME Lez-Fluc

Fluconazolkonzentration [$\mu\text{g/ml}$]						
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	17,55	28,51	17,81	16,00	19,97	5,75
2	9,03	8,99	8,73	7,33	8,52	0,81
3	7,46	7,92	7,26	6,83	7,37	0,45
4	6,63	8,04	6,21	5,45	6,58	1,09
5	6,17	8,35	5,25	6,08	6,46	1,33
6	5,82	7,00	5,06	6,15	6,01	0,80
7	6,61	6,96	6,07	5,68	6,33	0,57
8	6,07	5,79	5,14	5,19	5,55	0,46
9	5,78	5,68	5,26	5,30	5,51	0,27
10	5,77	5,23	5,41	5,42	5,46	0,23
11	5,03	5,01	4,88	4,72	4,91	0,14
12	4,45	5,01	5,04	5,13	4,91	0,31
13	4,36	4,86	4,74	5,06	4,75	0,29
14	4,37	4,67	5,30	5,23	4,89	0,45
15	4,53	5,14	5,53	4,94	5,04	0,42
16	4,53	4,45	5,02	4,96	4,74	0,29
17	4,93	4,33	5,14	5,18	4,90	0,39
18	4,58	4,55	4,74	5,33	4,80	0,36
19	4,63	4,50	5,26	5,10	4,87	0,36
20	4,67	4,41	5,29	4,84	4,80	0,37
Summe	122,98	139,42	123,14	119,92	126,36	
Einwaage in mg	172,90					
Wiederfindung	84,24%					

Tab. 29: Arzneistoffmenge, Ohr D, ME Zuck/Lez-Fluc

KORNEOZYTEN		Masse [µg]				
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	29,90	31,84	25,52	42,54	32,45	7,23
2	28,44	26,74	25,77	28,20	27,28	1,26
3	25,52	22,12	25,52	22,61	23,94	1,84
4	21,39	22,61	21,88	21,63	21,88	0,53
5	26,01	21,39	20,17	25,28	23,21	2,87
6	23,09	17,50	19,69	18,47	19,69	2,44
7	20,42	18,72	15,56	23,82	19,63	3,45
8	18,47	19,93	19,20	21,63	19,81	1,35
9	21,63	20,42	19,20	18,72	19,99	1,31
10	20,42	21,39	19,20	19,20	20,05	1,06
11	15,80	17,99	18,47	23,33	18,90	3,18
12	17,01	22,85	13,85	21,63	18,84	4,17
13	14,58	20,90	11,42	23,09	17,50	5,42
14	14,58	17,99	14,34	22,85	17,44	3,97
15	13,13	17,74	12,15	21,15	16,04	4,19
16	11,91	21,15	15,56	21,63	17,56	4,67
17	13,37	16,04	13,37	20,42	15,80	3,33
18	13,13	21,15	19,93	18,96	18,29	3,56
19	13,13	17,26	13,37	17,99	15,43	2,55
20	13,13	16,53	15,07	22,12	16,71	3,87
Summe	375,05	412,24	359,25	455,26	400,45	
100% SC (µg)	531,83					
100% SC (µm)	5,32					

Tab. 30: Korneozytenmenge, Ohr D, ME Zuck/Lez-Fluc

Fluconazolkonzentration [$\mu\text{g/ml}$]						
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	46,22	55,25	33,66	47,96	45,77	8,97
2	19,78	17,06	11,57	12,49	15,22	3,87
3	7,97	8,23	8,99	8,15	8,33	0,45
4	7,07	6,11	6,29	7,55	6,76	0,68
5	6,76	5,74	7,17	6,86	6,63	0,62
6	5,55	6,13	7,05	6,79	6,38	0,68
7	6,05	5,76	5,85	6,77	6,11	0,46
8	5,63	6,04	5,65	6,55	5,97	0,43
9	5,57	5,83	5,45	6,64	5,87	0,54
10	5,68	6,54	5,16	6,72	6,02	0,74
11	5,04	3,90	5,29	6,77	5,25	1,18
12	4,47	5,54	5,35	5,23	5,15	0,47
13	6,09	4,37	5,35	4,58	5,10	0,79
14	4,71	5,09	4,99	3,95	4,68	0,51
15	4,54	5,35	5,44	4,13	4,86	0,64
16	5,49	3,77	4,86	3,93	4,51	0,81
17	5,88	4,66	5,07	4,51	5,03	0,62
18	5,01	4,63	4,90	4,53	4,77	0,23
19	5,44	4,03	5,34	4,25	4,76	0,73
20	5,25	4,18	4,80	5,13	4,84	0,48
Summe	168,19	168,21	148,21	163,48	162,02	
Einwaage in mg	205,11					
Wiederfindung	108,02%					

Tab. 31: Arzneistoffmenge, Ohr E, ME Zuck-Fluc

KORNEOZYTEN		Masse [µg]				
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	34,27	37,43	51,29	60,77	45,94	12,34
2	42,05	35,97	33,30	43,02	38,59	4,71
3	33,30	26,98	29,90	37,43	31,90	4,50
4	28,20	21,15	24,55	32,08	26,49	4,71
5	23,58	20,42	27,22	30,38	25,40	4,33
6	20,90	17,74	24,06	30,87	23,40	5,61
7	20,42	14,58	24,06	28,68	21,94	5,96
8	16,29	19,93	23,58	25,04	21,21	3,92
9	15,56	15,31	20,66	24,31	18,96	4,33
10	15,80	14,58	21,39	24,06	18,96	4,51
11	14,58	14,10	18,47	23,58	17,68	4,39
12	13,85	14,83	21,63	21,39	17,93	4,16
13	12,88	13,61	18,47	23,33	17,08	4,85
14	14,58	14,34	17,26	20,90	16,77	3,06
15	13,13	14,10	17,01	19,93	16,04	3,07
16	13,61	11,91	15,80	18,23	14,89	2,74
17	11,67	12,64	18,47	18,72	15,37	3,74
18	12,40	10,45	17,74	21,88	15,62	5,19
19	12,64	11,18	19,20	18,23	15,31	3,99
20	11,67	11,42	22,61	16,04	15,43	5,23
Summe	381,37	352,69	466,69	538,88	434,91	
100% SC (µg)	786,08					
100% SC (µm)	7,86					

Tab. 32: Korneozytenmenge, Ohr E, ME Zuck-Fluc

Flufenaminsäurekonzentration [µg/ml]						
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	8,81	12,93	14,88	13,10	12,43	2,57
2	1,96	3,76	5,58	3,76	3,76	1,48
3	0,82	1,47	2,47	1,30	1,51	0,70
4	0,65	0,84	1,33	0,98	0,95	0,29
5	0,48	0,61	0,90	0,53	0,63	0,19
6	0,34	0,44	0,65	0,52	0,49	0,13
7	0,36	0,32	0,41	0,44	0,38	0,05
8	0,25	0,33	0,45	0,33	0,34	0,08
9	0,19	0,26	0,45	0,33	0,31	0,11
10	0,26	0,23	0,36	0,29	0,29	0,06
11	0,26	0,24	0,27	0,33	0,28	0,04
12	0,22	0,20	0,27	0,23	0,23	0,03
13	0,19	0,18	0,27	0,32	0,24	0,07
14	0,19	0,15	0,29	0,27	0,22	0,07
15	0,19	0,15	0,24	0,23	0,20	0,04
16	0,13	0,20	0,24	0,35	0,23	0,09
17	0,13	0,09	0,20	0,32	0,18	0,10
18	0,15	0,13	0,20	0,22	0,17	0,04
19	0,15	0,27	/	0,20	0,21	0,06
20	0,14	0,14	0,14	0,35	0,19	0,10
Summe	15,88	22,93	29,60	24,39	23,25	
Einwaage in mg	235,00					
Wiederfindung	15,73%					

Tab. 33: Arzneistoffmenge, Ohr F, ME APG-Fluf

KORNEOZYTEN		Masse [µg]				
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	35,24	40,84	42,29	41,32	39,92	3,18
2	30,87	36,46	48,86	45,45	40,41	8,23
3	18,96	38,16	43,27	31,36	32,94	10,52
4	16,29	30,63	36,70	28,20	27,95	8,56
5	18,47	27,22	35,00	23,09	25,95	7,01
6	15,07	27,47	29,65	19,45	22,91	6,82
7	13,13	25,04	25,52	18,47	20,54	5,90
8	11,67	25,28	29,65	15,07	20,42	8,45
9	9,48	22,12	26,74	17,01	18,84	7,40
10	10,21	25,04	26,25	13,37	18,72	8,12
11	12,64	19,93	21,63	11,18	16,35	5,20
12	13,13	23,09	24,79	13,85	18,72	6,08
13	10,94	18,96	19,45	12,64	15,50	4,34
14	11,18	19,45	19,45	18,23	17,08	3,97
15	12,40	18,72	16,29	8,99	14,10	4,28
16	8,26	17,01	20,42	14,83	15,13	5,12
17	9,97	17,74	10,21	11,42	12,34	3,66
18	8,99	18,72	13,85	8,02	12,40	4,93
19	8,02	20,42	15,56	5,83	12,46	6,75
20	8,75	14,83	15,80	9,72	12,27	3,55
Summe	283,66	487,11	521,38	367,52	414,92	
100% SC (µg)	510,68					
100% SC (µm)	5,11					

Tab. 34: Korneozytenmenge, Ohr F, ME APG-Fluf

Flufenaminsäurekonzentration [µg/ml]						
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	12,33	5,98	8,99	6,60	8,47	2,88
2	4,51	2,05	2,76	3,86	3,30	1,10
3	2,04	1,16	1,37	1,52	1,52	0,38
4	0,98	0,64	0,87	1,08	0,89	0,19
5	0,89	0,34	0,64	0,69	0,64	0,23
6	0,45	0,43	0,52	0,59	0,50	0,07
7	0,47	0,38	0,33	0,35	0,38	0,06
8	0,32	0,10	0,33	0,24	0,24	0,11
9	0,24	0,17	0,45	0,23	0,27	0,12
10	0,35	0,19	0,27	0,38	0,30	0,08
11	0,19	0,09	0,20	0,18	0,17	0,05
12	0,08	0,12	0,15	0,35	0,18	0,12
13	0,09	0,17	0,12	0,18	0,14	0,04
14	0,13	0,08	0,13	0,13	0,12	0,02
15	0,11	0,07	0,14	0,14	0,11	0,03
16	0,07	0,16	0,12	0,16	0,13	0,04
17	0,05	0,05	0,23	0,14	0,12	0,09
18	0,11	0,12	0,29	0,07	0,15	0,10
19	0,10	0,12	0,05	0,05	0,08	0,03
20	0,08	0,03	0,04	0,06	0,05	0,02
Summe	23,59	12,46	17,99	17,00	17,76	
Einwaage in mg	170,80					
Wiederfindung	11,84%					

Tab. 35: Arzneistoffmenge, Ohr G, ME APG/Lez-Fluf

KORNEOZYTEN		Masse [µg]				
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	21,63	34,03	34,52	14,10	26,07	9,96
2	29,65	26,74	25,77	26,01	27,04	1,79
3	27,95	27,47	24,06	24,06	25,89	2,11
4	24,06	26,49	26,49	29,90	26,74	2,40
5	28,68	29,41	22,12	31,84	28,01	4,16
6	28,92	27,47	24,06	35,24	28,92	4,68
7	30,63	28,44	23,82	32,57	28,86	3,76
8	27,47	26,98	21,63	33,79	27,47	4,97
9	24,31	25,28	22,36	33,79	26,43	5,05
10	26,98	24,31	21,15	29,41	25,46	3,55
11	27,95	24,06	20,66	30,38	25,77	4,28
12	25,28	24,55	20,17	36,70	26,68	7,05
13	25,28	24,31	22,61	29,41	25,40	2,89
14	26,49	21,88	21,63	31,11	25,28	4,49
15	28,92	24,79	21,39	26,01	25,28	3,12
16	18,96	19,20	21,39	22,85	20,60	1,86
17	20,17	21,88	19,69	24,31	21,51	2,09
18	21,15	18,23	14,83	18,47	18,17	2,59
19	16,53	14,83	14,58	15,80	15,43	0,90
20	15,31	10,21	14,58	11,67	12,94	2,41
Summe	496,34	480,54	437,52	537,42	487,96	
100% SC (µg)	533,78					
100% SC (µm)	5,34					

Tab. 36: Korneozytenmenge, Ohr G, ME APG/Lez-Fluf

Flufenaminsäurekonzentration [µg/ml]						
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	8,94	7,00	10,51	6,15	8,15	1,96
2	3,27	2,31	3,09	3,21	2,97	0,45
3	1,62	1,07	1,51	1,41	1,40	0,24
4	0,73	0,79	0,52	0,66	0,67	0,11
5	0,44	0,54	0,55	0,44	0,49	0,06
6	0,15	0,36	0,34	0,29	0,29	0,09
7	0,72	0,40	0,32	0,27	0,43	0,20
8	0,17	0,16	0,29	0,23	0,21	0,06
9	0,34	0,13	0,34	0,29	0,27	0,10
10	0,26	0,02	0,31	0,00	0,15	0,16
11	0,13	0,01	0,11	0,00	0,06	0,07
12	0,26	0,00	0,18	0,00	0,11	0,13
13	0,00	0,00	0,12	0,00	0,03	0,06
14	0,00	0,00	0,16	0,00	0,04	0,08
15	0,00	0,00	0,12	0,00	0,03	0,06
16	0,00	0,00	0,22	0,00	0,06	0,11
17	0,00	0,00	0,15	0,00	0,04	0,08
18	0,00	0,00	0,21	0,00	0,05	0,10
19	0,00	0,00	0,29	0,00	0,07	0,15
20	0,00	0,00	0,09	0,00	0,02	0,05
Summe	17,03	12,79	19,43	12,97	15,55	
Einwaage in mg	241,82					
Wiederfindung	10,94%					

Tab. 37: Arzneistoffmenge, Ohr H, ME Lez-Fluf

KORNEOZYTEN		Masse [µg]				
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	20,90	30,14	32,33	30,38	28,44	5,12
2	27,22	28,20	32,81	34,03	30,57	3,36
3	26,01	26,01	30,38	38,16	30,14	5,73
4	24,06	27,71	30,38	36,22	29,59	5,12
5	20,17	25,52	29,17	35,00	27,47	6,24
6	17,99	25,04	27,71	33,54	26,07	6,45
7	22,36	21,88	30,14	35,24	27,41	6,45
8	21,88	21,39	29,65	32,57	26,37	5,60
9	21,39	24,55	27,95	34,27	27,04	5,52
10	18,47	25,28	27,95	36,46	27,04	7,44
11	20,66	20,42	34,27	35,97	27,83	8,45
12	23,58	20,17	29,41	31,11	26,07	5,08
13	19,69	23,33	27,47	29,65	25,04	4,42
14	25,52	20,66	28,68	29,17	26,01	3,91
15	20,42	22,36	25,52	22,12	22,61	2,13
16	23,82	14,58	23,33	18,72	20,11	4,35
17	17,50	13,13	20,66	14,58	16,47	3,33
18	17,26	13,85	17,99	12,88	15,50	2,51
19	16,04	11,91	15,07	12,64	13,92	1,96
20	14,34	10,45	11,67	7,05	10,88	3,03
Summe	419,29	426,58	532,56	559,78	484,55	
100% SC (µg)	676,94					
100% SC (µm)	6,77					

Tab. 38: Korneozytenmenge, Ohr G, ME Lez-Fluf

Flufenaminsäurekonzentration [µg/ml]						
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	13,93	10,04	4,24	12,23	10,11	4,23
2	3,66	2,86	1,09	3,75	2,84	1,24
3	1,74	1,55	0,62	1,87	1,44	0,57
4	1,26	1,05	0,41	1,07	0,95	0,37
5	0,72	0,81	0,28	1,00	0,70	0,31
6	0,77	0,71	0,36	0,82	0,66	0,21
7	0,49	0,49	0,31	0,64	0,48	0,14
8	0,48	0,46	0,29	0,63	0,47	0,14
9	0,56	0,46	0,44	0,47	0,48	0,05
10	0,47	0,34	0,25	0,39	0,36	0,09
11	0,40	0,33	0,27	0,47	0,37	0,08
12	0,35	0,31	0,28	0,45	0,34	0,07
13	0,30	0,31	0,24	0,43	0,32	0,08
14	0,16	0,29	0,25	0,40	0,28	0,10
15	0,11	0,28	0,26	0,32	0,24	0,09
16	0,12	0,27	0,26	0,36	0,25	0,10
17	0,18	0,26	0,26	0,28	0,25	0,05
18	0,11	0,28	0,33	0,34	0,27	0,10
19	0,12	0,29	0,27	0,30	0,24	0,09
20	0,15	0,29	0,27	0,32	0,26	0,07
Summe	26,06	21,69	10,96	26,56	21,32	
Einwaage in mg	180,12					
Wiederfindung	14,21%					

Tab. 39: Arzneistoffmenge, Ohr I, ME Zuck/Lez-Fluf

KORNEOZYTEN		Masse [µg]				
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	24,06	29,90	26,74	23,33	26,01	2,98
2	27,47	23,33	18,47	21,63	22,73	3,75
3	18,96	24,55	19,69	21,63	21,21	2,50
4	17,99	24,31	14,34	20,66	19,32	4,21
5	16,53	25,77	13,13	23,09	19,63	5,82
6	13,85	24,79	11,67	23,33	18,41	6,61
7	14,83	26,01	14,34	20,17	18,84	5,46
8	15,31	25,04	13,13	17,26	17,68	5,18
9	14,83	24,55	12,15	17,26	17,20	5,33
10	18,47	23,82	12,15	18,72	18,29	4,78
11	16,53	18,47	13,37	20,42	17,20	3,01
12	18,47	22,85	10,94	15,80	17,01	4,99
13	17,74	17,01	12,40	23,33	17,62	4,48
14	15,31	22,85	11,91	15,07	16,29	4,64
15	17,50	17,99	22,36	17,99	18,96	2,28
16	12,88	18,47	8,75	19,20	14,83	4,94
17	15,07	16,29	12,15	21,15	16,16	3,75
18	14,58	19,93	15,31	21,39	17,80	3,36
19	10,94	14,10	9,97	17,50	13,13	3,41
20	14,58	13,61	8,51	15,07	12,94	3,02
Summe	335,92	433,63	281,47	394,01	361,26	
100% SC (µg)	403,98					
100% SC (µm)	4,04					

Tab. 40: Korneozytenmenge, Ohr I, ME Zuck/Lez-Fluf

Flufenaminsäurekonzentration [µg/ml]						
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	17,71	15,92	12,06	12,84	14,63	2,64
2	6,16	5,23	4,16	3,36	4,73	1,23
3	2,48	2,37	2,35	1,66	2,22	0,37
4	1,53	1,51	1,37	1,30	1,43	0,11
5	1,19	1,14	1,23	1,11	1,17	0,05
6	1,12	1,15	0,92	0,93	1,03	0,12
7	1,03	0,99	0,99	0,84	0,96	0,08
8	0,94	1,03	0,91	0,74	0,90	0,12
9	0,92	0,85	0,81	0,69	0,82	0,10
10	0,77	0,78	0,84	0,67	0,77	0,07
11	0,77	0,80	0,70	0,64	0,73	0,07
12	0,78	0,83	0,69	0,67	0,74	0,08
13	0,73	0,81	0,66	0,60	0,70	0,09
14	0,70	0,76	0,75	0,58	0,70	0,09
15	0,65	0,70	0,78	0,63	0,69	0,07
16	0,63	0,68	0,80	0,51	0,65	0,12
17	0,71	0,71	0,66	0,50	0,65	0,10
18	0,72	0,67	0,60	0,53	0,63	0,08
19	0,56	0,71	0,67	0,55	0,62	0,08
20	0,51	0,66	0,70	0,50	0,59	0,10
Summe	40,60	38,31	32,65	29,85	35,35	
Einwaage in mg	178,96					
Wiederfindung	23,57%					

Tab. 41: Arzneistoffmenge, Ohr J, ME Zuck-Fluf

KORNEOZYTEN		Masse [µg]				
	1	2	3	4	Durchschnitt	SD
Tape Nr.						
1	29,90	50,80	58,09	49,10	46,97	12,03
2	38,65	43,02	47,88	40,84	42,60	3,95
3	35,00	39,62	42,05	30,63	36,82	5,06
4	24,06	38,40	33,30	28,44	31,05	6,19
5	20,90	29,90	34,27	27,47	28,14	5,58
6	20,90	26,25	29,41	25,28	25,46	3,51
7	19,93	28,92	26,74	22,61	24,55	4,04
8	17,50	28,20	31,11	24,31	25,28	5,89
9	17,74	28,92	24,55	20,17	22,85	4,93
10	17,26	24,55	30,38	17,01	22,30	6,42
11	14,10	20,66	19,20	19,20	18,29	2,88
12	15,56	28,44	24,06	18,23	21,57	5,79
13	14,10	20,42	24,31	20,90	19,93	4,26
14	13,85	20,90	19,20	17,01	17,74	3,04
15	14,10	19,93	22,85	17,50	18,59	3,71
16	12,15	17,74	21,88	14,34	16,53	4,24
17	11,42	19,45	22,61	13,85	16,83	5,11
18	14,34	19,20	20,42	13,85	16,95	3,34
19	13,61	14,34	18,72	13,85	15,13	2,41
20	13,37	15,07	20,66	10,94	15,01	4,13
Summe	378,46	534,75	571,69	445,54	482,61	
100% SC (µg)	590,90					
100% SC (µm)	5,91					

Tab. 42: Korneozytenmenge, Ohr J, ME Zuck-Fluf

TEWL						
A	Stelle 1	Stelle 2	Stelle 3	Stelle 4	Mittelwert	SD
vorher	12,582	12,390	20,864	11,063	14,22	4,48
nach 20 Strips	19,396	39,854	27,871	39,370	31,62	9,85
B	Stelle 1	Stelle 2	Stelle 3	Stelle 4	Mittelwert	SD
vorher	16,659	15,354	18,099	19,977	17,52	1,98
nach 20 Strips	41,126	35,406	72,008	45,432	48,49	16,21
C	Stelle 1	Stelle 2	Stelle 3	Stelle 4	Mittelwert	SD
vorher	19,706	14,534	13,596	17,325	16,29	2,77
nach 20 Strips	24,457	27,919	32,414	17,978	25,69	6,09
D	Stelle 1	Stelle 2	Stelle 3	Stelle 4	Mittelwert	SD
vorher	15,583	15,543	12,371	15,533	14,76	1,59
nach 20 Strips	29,668	30,284	30,279	52,667	35,72	11,30
E	Stelle 1	Stelle 2	Stelle 3	Stelle 4	Mittelwert	SD
vorher	14,519	13,479	12,260	16,250	14,13	1,69
nach 20 Strips	23,767	42,380	17,968	45,515	32,41	13,59

Tab. 43: TEWL Werte der Ohren A-E

TEWL						
F	Stelle 1	Stelle 2	Stelle 3	Stelle 4	Mittelwert	SD
vorher	18,114	22,951	19,975	23,226	21,07	2,46
nach 20 Strips	42,072	34,632	49,621	41,051	41,84	6,14
G	Stelle 1	Stelle 2	Stelle 3	Stelle 4	Mittelwert	SD
vorher	21,258	17,98	20,778	27,188	21,80	3,87
nach 20 Strips	49,805	66,367	60,68	57,56	58,60	6,91
H	Stelle 1	Stelle 2	Stelle 3	Stelle 4	Mittelwert	SD
vorher	17,421	17,908	21,955	14,037	17,83	3,24
nach 20 Strips	64,803	76,663	79,071	79,706	75,06	6,96
I	Stelle 1	Stelle 2	Stelle 3	Stelle 4	Mittelwert	SD
vorher	15,724	14,714	16,73	15,28	15,61	0,85
nach 20 Strips	27,02	60,643	71,291	52,7	52,91	18,87
J	Stelle 1	Stelle 2	Stelle 3	Stelle 4	Mittelwert	SD
vorher	17,834	19,853	26,5	26,547	22,68	4,51
nach 20 Strips	39,898	73,752	38,263	79,285	57,80	21,74

Tab. 44: TEWL Werte der Ohren F-J

8. LITERATURVERZEICHNIS

- [1] S. Höller, Cubic gels, microemulsions and nanoemulsions for optimised skin penetration / permeation of active molecules and improved chemical stability, Dissertation, Universität Wien (2008)
- [2] K. Hückstädt, Entwicklung und Charakterisierung von pharmazeutischen Mikroemulsionen, Dissertation, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (2005)
- [3] S.A. Krause, Entwicklung und Charakterisierung von Mikroemulsionen zur dermalen Applikation von Arzneistoffen, Dissertation, Universität zu Halle/Saale (2001)
- [4] S. Hoeller, V. Klang, C. Valenta, Skin-compatible lecithin drug delivery systems for fluconazole: effect of phosphatidylethanolamine and oleic acid on skin permeation, J. Pharm. Pharmacol. 60 (2008), 587-591
- [5] A.S.B. Goebel, U. Knie, C. Abels, J. Wohlrab, R.H.H. Neubert, Dermal targeting using colloidal carrier systems with linoleic acid, Eur. J. Pharm. Biopharm. 75 (2010), 162-172
- [6] K.J. He, K.S. Zhao, J.L. Chai, G.Z. Li, Dielectric analysis of the APG/n-butanol/cyclohexane/water nonionic microemulsions, J. Colloid Interface Sci. 313 (2007), 630-637
- [7] M. Fanun, V. Papadimitriou, A. Xenakis, Characterization of cephalexin loaded nonionic microemulsions, J. Colloid Interface Sci. 361 (2011), 115-121
- [8] L. Lehmann, S. Keipert, M. Gloor, Effects of microemulsions on the stratum corneum and hydrocortisone penetration, Eur. J. Pharm. Biopharm. 52 (2001), 129-136
- [9] M. Fanun, Formulation and characterization of microemulsions based on mixed nonionic surfactants and peppermint oil, J. Colloid Interface Sci. 343 (2010), 496-503

- [10] P.D.T. Huibers, D.O. Shah, Evidence for synergism in nonionic surfactant mixtures: enhancement of solubilization in water-in-oil microemulsions, *Langmuir* 13 (1997), 5762-5765
- [11] H. Wokalek, Die Haut, In: R. Niedner, J. Ziegenmeyer, *Dermatika*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 2. Auflage (1992)
- [12] J. Ziegenmeyer, Haut-Vehikel-Pharmakon, die entscheidenden Kriterien für die percutane Absorption, *Pharm. i. u. Zeit* 15 (1986), 129-142
- [13] P. Fritsch, *Dermatologie*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 3. Auflage (1990)
- [14] 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 November 2011)
- [15] J. Hadgraft, M.E. Lane, Skin: the ultimate interface, *Phys. Chem.* 13 (2011), 5215-5222
- [16] L. Kanerva, P. Elsner, J.E. Wahlberg, H.I. Maibach, *Handbook of Occupational Dermatology*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York (2000).
- [17] P.M. Elias, Epidermal lipids, barrier function, and desquamation, *J. Invest. Dermatol.* 80 (1983), 44-49
- [18] K.H. Bauer, K.-H. Frömming, C. Führer, *Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 8. Auflage (2006)
- [19] B.C. Lippold, Kutane Resorption - Möglichkeiten, Modelle, Beeinflussung, *Acta Pharm. Technol.* 21 (1981), 1-9

- [20] D. Köpper, Struktur- und Stabilitätsuntersuchungen an neuartigen topischen Grundlagen aus Naturstoffen, Dissertation, Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen-Nürnberg (2004)
- [21] R.J. Scheuplein, I.H. Blank, Permeability of the skin, *Physiol. Rev.* 51 (1971), 702-747
- [22] T.M. Sweeney, D.T. Downing, The role of lipids in the epidermal barrier to diffusion, *J. Invest. Dermatol.* 55 (1970), 135-140
- [23] S. Pfeifer, P. Pfliegel, H.-H. Borchert, *Biopharmazie*, Ullstein/Mosby GmbH & Co KG, Berlin, Wiesbaden, 3. Auflage (1995)
- [24] B.W. Barry, Lipid-protein-partitioning theory of skin penetration enhancement, *J. Controlled Release* 15 (1991), 237-248
- [25] B.W. Barry, Mode of action of penetration enhancers in human skin, *J. Controlled Release* 6 (1987), 85-97
- [26] R. Aboofazeli, N. Patel, M. Thomas, M.J. Lawrence, Investigations into the formation and characterization of phospholipid microemulsions. IV. Pseudo-ternary phase diagrams of systems containing water-lecithin-alcohol and oil; the influence of oil, *Int. J. Pharm.* 125 (1995), 107-116
- [27] J. Schlüpen, Entwicklung und Charakterisierung von Mikroemulsionen mit aromatischen Heterozyklen für die Elektropolymerisation, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (2000)
- [28] H.P.T. Ammon, *Hunnius - Pharmazeutisches Wörterbuch*, Walter de Gruyter Verlag, 9. Auflage (2004)
- [29] R. Voigt, A. Fahr, *Pharmazeutische Technologie für Studium und Beruf*, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart, 10. Auflage (2006)

[30] http://www.jagemann.net.de/chemie/chemie13lk/seifen_und_tenside/seifen_und_tenside.php (Stand August 2011)

[31] W. von Rybinski, K. Hill, Alkyl Polyglycosides - Properties and Applications of a new Class of Surfactants, *Angew. Chem. Int. Ed.* 37 (1998), 1328-1345

[32] H. Hardung, Semifluorierte und perfluorierte Verbindungen zur topischen und parenteralen Anwendung, Inauguraldissertation, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau (2008)

[33] W. Van Nieuwenhuyzen, B.F. Szuhaj, Effects of lecithins and proteins on the stability of emulsions, *Fett/Lipid* 7 (1998), 282-291

[34] D. Paolino, C.A. Ventura, S. Nistico, G. Puglisi, M. Fresta, Lecithin microemulsions for the topical administration of ketoprofen: percutaneous adsorption through human skin and in vivo human skin tolerability, *Int. J. Pharm.* 244 (2002), 21-31

[35] N. Garti, V. Clement, M. Leser, A. Aserin, M. Fanun, Sucrose Ester Microemulsions, *J. Mol. Liq.* 80 (1999), 253-296

[36] P.M. Claesson, U.R.M. Kjellin, Sugar-based surfactants, In: P. Somasundaran, A. Hubbard, *Encyclopaedia of Surface and Colloid Science*, Marcel Dekker Inc., New York (2002)

[37] O. Glatter, D. Orthaber, A. Stradner, G. Scherf, M. Fanun, N. Garti, V. Clement, M. Leser, Sugar-Ester Nonionic Microemulsion: Structural Characterization, *J. Colloid Interface Sci.* 241 (2001), 215-225

[38] 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, nanoemulsions and emulsion, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 32 (2006), 107-113

- [39] 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 (2003), 1267-1273
- [40] Produktinformation Mitsubishi-Kagaku Foods Corporation, <http://www.mfc.co.jp/english/l1695.htm> (Stand September 2011)
- [41] A. Viefhaus, A. Goldscheider, Handbuch - Cognis Kit für Haushalt und Kosmetik, Cognis Deutschland GmbH & Co. KG (Stand August 2011)
- [42] Raw Material Identification Data, MONTANOV™ S C/0670/GB/06, Seppic GmbH (Stand Mai 2006)
- [43] S. Peltola, P. Saarinen-Savolainen, J. Kiesvaara, T.M. Suhonen, A. Urtti, Microemulsions for topical delivery of estradiol, *Int. J. Pharm.* 254 (2003), 99-107
- [44] M. Goldberg-Cettina, P. Liu, J. Nightingale, T. Kurihara-Bergstrom, Enhanced transdermal delivery of estradiol in vitro using binary vehicles of isopropyl myristate and short-chain alkanols, *Int. J. Pharm.* 114 (1995), 237-45
- [45] I. Brinkmann, C.C. Müller-Goymann, Role of Isopropyl Myristate, Isopropyl Alcohol and a Combination of Both in Hydrocortisone Permeation across the Human Stratum corneum, *Skin Pharm. Applied Skin Phys.* 16 (2003), 393-404
- [46] K. Aktories, U. Förstermann, F. Hofmann, K. Starke, *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, Urban & Fischer Verlag München, 9. Auflage (2005)
- [47] E. Mutschler, G. Geisslinger, H.K. Kroemer, P. Ruth, M. Schäfer-Korting, *Mutschler Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 9. Auflage (2008)
- [48] G. Dannhardt, *Rheumatische Erkrankungen - Grundlagen und Therapie*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1. Auflage (1999)

- [49] F. Bruchhausen, S. Ebel, A.W. Frahm, E. Hackenthal, Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 5. Auflage (1993)
- [50] W. Miehle, K. Fehr, M. Schattenkirchner, K. Tillmann, Rheumatologie in Praxis und Klinik, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 2. Auflage (2000)
- [51] S. Hansen, A. Henning, A. Naegel, M. Heisig, G. Wittum, D. Neumann, K.H. Kostka, J. Zbytovska, C.M. Lehr, U.F. Schaefer, In-silico model of skin penetration based on experimentally determined input parameters. Part I: experimental determination of partition and diffusion coefficients, Eur. J. Pharm. Biopharm. 68 (2008), 352-67
- [52] S. Hansen, A. Naegel, M. Heisig, G. Wittum, D. Neumann, K.H. Kostka, P. Meiers, C.M. Lehr, U.F. Schaefer, The role of corneocytes in skin transport revised - a combined computational and experimental approach, Pharm. Res. 26 (2009), 1379-97
- [53] A. Henning, D. Neumann, K.H. Kostka, C.M. Lehr, U.F. Schaefer, Influence of human skin specimens consisting of different skin layers on the result of in vitro permeation experiments, Skin Pharmacol. Physiol. 21 (2008), 81-88
- [54] D. Mahrhauser, Entwicklung von Mikroemulsionssystemen und Charakterisierung von Wechselwirkungen mit porciner Haut mittels FTIR, Diplomarbeit, Universität Wien (2011)
- [55] S. Riedel, Vergleichende Untersuchungen zur dermalen Penetration und Permeation in Diffusionszellen, Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover (2003)
- [56] A.M. Barbero, H.F. Frasch, Pig and guinea pig skin as surrogates for human in vitro penetration studies: a quantitative review, Toxicology in Vitro 23 (2009), 1-13

- [57] A.M. Zimmermann, Cyclodextrin-stabilisierte Submikronemulsionen als Arzneistoffträgersystem für Progesteron auf der Haut, Diplomarbeit, Universität Wien (2009)
- [58] R. Neubert, W. Wohlrab, W. Marsch, Dermatopharmazie: Vehikel - Wirkstoffe - Pharmakologie, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1. Auflage (2001)
- [59] J. Lademann, U. Jacobi, C. Surber, H.-J. Weigmann, J. W. Fluhr, The tape stripping procedure - evaluation of some critical parameters, Eur. J. Pharm. Biopharm. 72 (2008), 317-323
- [60] V. Klang, J.C. Schwarz, A. Hartl, C. Valenta, Facilitating in vitro Tape Stripping: Application of Infrared Densitometry for Quantification of Porcine Stratum Corneum Proteins, Skin Pharmacol. Physiol. 24 (2011), 256 – 268
- [61] H. Kählig, A. Hasanovic, B. Biruss, S. Höller, J. Grim, C. Valenta, Chitosan-glycolic acid: a possible matrix for progesterone delivery into skin, Drug Development and Industrial Pharmacy 35 (2009), 997-1002
- [62] S. Höller, H. Kählig, C. Valenta, Multinuclear NMR Characterisation and Dermal Delivery of Fluorinated Drugs in Soybean-Microemulsion Systems, Journal of Pharmaceutical Sciences 98 (2009), 2686-2695
- [63] J.C. Schwarz, H. Kählig, N.B. Matsko, M. Kratzel, M. Husa, C. Valenta, Decrease of Liposomal Size and Retarding Effect on Fluconazole Skin Permeation by Lysine Derivatives, J. Pharm. Sci. 100 (2011), 2911-2919
- [64] M. Brandt, A. Wehling, A. Schlump, Microemulsions with alkypolyglucosides, Chem. Ing. Tech. 69 (1997), 500-504
- [65] R.H. Guy, J. Hadgraft, Interfacial transport of salicylic acid, J. Colloid Interface Sci. 81 (1981), 69-74

[66] R.H.H. Neubert, U. Schmalfuß, R. Wolf, W.A. Wohlrab, Microemulsions as colloidal vehicle systems for dermal drug delivery. Part V: microemulsions without and with glycolipid as penetration enhancer, *J. Pharm. Sci.* 94 (2005), 821-827

[67] J. Hadgraft, P.K. Wotton, Facilitated percutaneous adsorption of anionic drugs in: R.L. Bronaugh, H.I. Maibach, *Percutaneous adsorption*, Marcel Dekker Inc., New York (1985), 87-95

[68] V. Klang, J.C. Schwarz, B. Lenobel, M. Nadj, J. Auböck, M. Wolzt, C. Valenta, In vitro vs. in vivo tape stripping: Validation of the porcine ear model and penetration assessment of novel sucrose stearate emulsions, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* (2011), in press

[69] J.C. Schwarz, M. Hoppel, H. Kählig, C. Valenta, ^{19}F -NMR for drug quantification in tape stripping experiments, Posterpräsentation bei der 16. Jahrestagung der Gesellschaft für Dermopharmazie am 02.03.2012, Berlin

9. ABSTRACT

Deutsch

Mikroemulsionen sind thermodynamisch stabile, kolloidale Dispersionen aus Wasser und Öl, die mit einem Tensid und, in den meisten Fällen, einem Kotensid stabilisiert werden. In dieser Arbeit wurde erstmals ein Vergleich von natürlichen, hautverträglichen und biologisch leicht abbaubaren Tensiden hinsichtlich der Bildung isotroper Mikroemulsionen und der Wirkstoffpenetration und -permeation aus jenen erarbeitet. Pseudoternäre Phasendiagramme wurden für Lezithin, Saccharoselaurat und ein Alkylpolyglykosid als Einzeltenside erstellt. Außerdem wurden auch Tensidkombinationen von Lezithin mit Saccharoselaurat und Lezithin mit Alkylpolyglykosid eingesetzt. Große isotrope Gebiete konnte für Lezithin, Saccharoselaurat und für die Kombination von Saccharoselaurat mit Lezithin gefunden werden. Eine definierte Mischung wurde aus dem pseudoternären Phasendiagramm ausgewählt und sowohl mit den Einzeltensiden als auch mit den Tensidkombinationen hergestellt. Als Modellarzneistoffe wurden Fluconazol und Flufenaminsäure eingearbeitet und Diffusionsstudien sowohl mittels Franz-Zell-Versuchen als auch mittels Tape Stripping durchgeführt. Die lezithinhaltigen Mikroemulsionen zeigten in den Franz-Zell-Versuchen die höchsten Permeationsraten, gefolgt von den Mikroemulsionen mit der Tensidkombination aus Lezithin und Alkylpolyglykosid. Anhand der Tape Stripping Ergebnisse wurde ein Vergleich der Quantifizierungsmethoden mittels HPLC und ^{19}F -NMR durchgeführt. Es zeigte sich eine exzellente lineare Korrelation und somit eine Eignung der ^{19}F -NMR zur Quantifizierung von fluorierten Komponenten.

English

Microemulsions are thermodynamically stable colloidal dispersions of water and oil stabilized by a surfactant and, in many cases, also a cosurfactant. In this study natural, skin-compatible and biodegradable surfactants were compared in terms of their suitability to form isotropic microemulsions and their permeation and penetration rates of two model drugs. Pseudoternary phase diagrams were constructed for lecithin, sucrose laurate and alkylpolyglycoside as single surfactants. Also mixed surfactant films of lecithin and alkylpolyglycoside as well as lecithin and sucrose laurate were tested. Large isotropic areas could be identified for lecithin, sucrose laurate and the combination of lecithin and sucrose laurate. One defined composition was chosen from the pseudoternary phase diagram and prepared with all investigated surfactants and surfactant mixtures. These microemulsions were used as drug delivery systems for the model drugs fluconazole and flufenamic acid. With these mixtures skin diffusion experiments were performed using Franz-type diffusion cell and tape stripping experiments. Lecithin-based microemulsions showed the highest permeation rates, followed by alkylpolyglycoside-lecithin microemulsions. Furthermore, during the tape stripping experiments the penetrated drug amounts were quantified by HPLC and additionally by ^{19}F -NMR. The results showed a highly linear correlation between these two methods and, thus, implied the suitability of ^{19}F -NMR to quantify fluorinated components.

10. LEBENS LAUF

Name: Magdalena Hoppel
Adresse: Maygasse 42/11/6, 1130 Wien
Telefonnummer: 0664/3864468

Persönliche Daten

Geburtsort: Lilienfeld
Geburtsdatum: 19.9.1988
Nationalität: Österreich
Familienstand: ledig

Ausbildung:

1994 -1998: Volksschule Annaberg
1998 - 2006: BG/ BRG Lilienfeld
Juni 2006: Matura mit Auszeichnung
Seit Oktober 2006: Studium der Pharmazie an der Universität Wien

Berufserfahrung:

Juli - August 2008/2009/2010: Ferialpraktikum in der Apotheke
„Zur Gnadenmutter“ in Mariazell
März 2011 - Februar 2012: Tutorin für die Übungen zur „Magistralen
Arzneimittelherstellung“ (Department für
pharmazeutische Technologie und Biopharmazie)
Dezember 2010 - Jänner 2012: Mitarbeiterin der „Westend“ Apotheke, 1130 Wien

Kenntnisse:

Sprachen: Deutsch als Muttersprache
Englisch fließend
EDV: Basiskenntnisse in Umgang mit Büroanwendungen
Sonstiges: Führerschein Klasse B