

**Schwingungsspektroskopische Methoden zur biopharmazeutischen
Untersuchung von aerogelhaltigen Zubereitungen und der Diffusion von
Arzneistoffen durch Membranen**

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt der

Naturwissenschaftlichen Fakultät I
Biowissenschaften

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von

Frau Dipl.-Pharm. Ulrike Günther

geboren am 19.06.1979 in Halle (Saale)

Gutachter:

1. Prof. Dr. Dr.h.c. R.H.H. Neubert
2. Prof. Dr. K. Mäder
3. Prof. Dr.-Ing. habil. S. Heinrich

Halle (Saale), 28.07.2010

So sind wohl manche Sachen,
die wir getrost belachen,
weil unsre Augen sie nicht sehn.

Matthias Claudius

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGS- UND SYMBOLVERZEICHNIS		VI
A	<i>EINLEITUNG UND ZIELSTELLUNG</i>	1
B	<i>THEORETISCHE GRUNDLAGEN</i>	3
1	<i>AEROGELE</i>	3
1.1	Herstellung	3
1.2	Eigenschaften	4
1.3	Verwendung als Arzneistoffträger	5
1.4	Beladung von Aerogelen mit Arzneistoffen	6
2	<i>ARZNEISTOFFE</i>	7
3	<i>MEMBRANEN</i>	10
3.1	Native Membranen	11
3.1.1	<i>Humanes Stratum corneum</i>	<i>11</i>
3.1.2	<i>Menschlicher Nagel und bovine Hufmembran</i>	<i>12</i>
3.2	Künstliche Membranen	15
3.2.1	<i>Dodecanol-Collodiummembranen</i>	<i>15</i>
3.2.2	<i>Modellmembranen aus Stratum-corneum-Lipiden</i>	<i>15</i>
4	<i>SCHWINGUNGSSPEKTROSKOPIE</i>	17
4.1	Grundlagen	17
4.2	Methoden	19
4.2.1	<i>Abgeschwächte Totalreflexionsspektroskopie</i>	<i>19</i>
4.2.2	<i>Diffuse Reflexionsspektroskopie</i>	<i>20</i>
4.2.3	<i>Photoakustische Spektroskopie</i>	<i>21</i>
4.2.4	<i>NIR-Spektroskopie</i>	<i>22</i>
4.2.5	<i>FT-RAMAN-Spektroskopie</i>	<i>23</i>
C	<i>EXPERIMENTELLER TEIL</i>	24
1	HERSTELLUNG HYDROPHILER SILICA-AEROGELE	24
2	<i>BELADUNG HYDROPHILER SILICA-AEROGELE MIT VERSCHIEDENEN ARZNEISTOFFEN</i>	24
3	<i>BESTIMMUNG DER ARZNEISTOFFKONZENTRATION DER BELADENEN AEROGELE</i>	25
3.1	UV/Vis-Spektroskopie	25
3.2	Elementaranalyse	25

3.3	Schwingungsspektroskopische Methoden	25
4	<i>SCHWINGUNGSSPEKTROSKOPISCHE CHARAKTERISIERUNG IBUPROFENBELADENER AEROGELE</i>	27
5	<i>FESTE ARZNEIFORMEN</i>	28
5.1	Tablettierung von Aerogelen	28
5.2	Freisetzungsexperimente fester Arzneiformen	29
6	<i>HALBFESTE FORMULIERUNGEN ZUR KUTANEN ANWENDUNG</i>	30
7	<i>FREISETZUNGS-, PENETRATIONS- UND DIFFUSIONSUNTERSUCHUNGEN MITTELS FTIR-ATR- SPEKTROSKOPIE</i>	32
7.1	Freisetzung in verschiedene Grundlagen	34
7.2	Penetration in Dodecanol-Collodiummembran	34
7.3	Penetrationsstudien mit humanem Stratum corneum	34
7.4	Diffusionsexperimente an Stratum-corneum-Lipidmodellmembranen	35
7.5	Diffusionsexperimente an bovinen Hufmembranen	35
7.6	Trocknung von Hydrogelen	36
7.7	Kalibrierung	36
7.8	Auswertung der Freisetzungs- und Penetrationsgraphen	39
8	<i>FT-RAMAN-SPEKTROSKOPIE METRONIDAZOLHALTIGER HALBFESTER ZUBEREITUNGEN</i>	40
9	<i>KONSISTENZPRÜFUNG</i>	41
10	<i>STATISTISCHE AUSWERTUNG</i>	41
11	<i>MEMBRANEN</i>	42
11.1	Herstellung der Dodecanol-Collodiummembranen	42
11.2	Dialysemembran Nephrophan®	42
11.3	Präparation der Stratum-corneum-Lipidmodellmembranen	42
11.4	Isolierung von humanem Stratum corneum	44
11.5	Bovine Hufmembranen	44
D	<i>ERGEBNISSE UND DISKUSSION</i>	45
1	<i>EINSATZ SPEKTROSKOPISCHER METHODEN ZUR CHARAKTERISIERUNG ARZNEISTOFFBELADENER AEROGELE IN PHARMAZEUTISCHEN ZUBEREITUNGEN</i>	45
1.1	Bestimmung der Arzneistoffkonzentration der beladenen Aerogele	45
1.2	Charakterisierung ibuprofenbeladener Aerogele	47
1.3	Feste Arzneiformen	50

1.3.1	<i>Freigabestudien zu Ibuprofen und Nifedipin aus hydrophilen Silica-Aerogelen mittels Paddle-Methode</i>	50
1.3.2	<i>Tablettierung von hydrophilen Silica-Aerogelen</i>	52
1.3.3	<i>Tablettierung ibuprofenbeladener Aerogele</i>	56
1.3.4	<i>Tablettierung nifedipinbeladener Aerogele</i>	63
1.4	Halbfeste Arzneiformen	66
1.4.1	<i>Freisetzung von Ibuprofen in verschiedene Grundlagen</i>	66
1.4.2	<i>Penetration von Ibuprofen in Dodecanol-Collodiummembranen</i>	69
1.4.3	<i>Penetration von Dithranol in humanes Stratum corneum</i>	71
1.4.4	<i>Charakterisierung metronidazol- und aerogelhaltiger halbfester Vehikel</i>	73
2	MODELLMEMBRANEN FÜR DIFFUSIONSSTUDIEN MITTELS FTIR-ATR-SPEKTROSKOPIE	96
2.1	Entwicklung von Stratum-corneum-Lipidmodellmembranen als Barriere für ATR-Penetrations- und Diffusionsstudien	96
2.1.1	<i>Diffusion von Harnstoff durch verschiedene Polycarbonatfilter</i>	96
2.1.2	<i>Voruntersuchungen zur Beschichtung der Träger mit der Lipidmischung: Optimierung der Membranpräparation durch DSC- und FT-RAMAN-spektroskopische Studien</i>	99
2.1.3	<i>Beschichtung verschiedener Trägermaterialien</i>	103
2.1.4	<i>Diffusion von Harnstoff durch Lipidmodellmembranen</i>	106
2.2	Etablierung boviner Hufmembranen als Barriere für ATR-Diffusionsstudien an therapeutischen Nagellacken	108
2.2.1	<i>Trocknung von Hydrogelen</i>	111
2.2.2	<i>Diffusionsexperimente mit antimykotischen Zubereitungen</i>	113
E	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK	120
F	ANHANG	122
1	TABELLEN	122
2	ABBILDUNGEN	127
G	LITERATUR	134

Abkürzungs- und Symbolverzeichnis

α	α -Anomer
A	Fläche A_{Filter} Filterfläche A_{Pore} Porenfläche
ABC	Fläche zwischen Kurve und 100%-Asymptote, engl. <i>area between the curves</i>
AE	hydrophiles Silica-Aerogel AEDT dithranolbeladenes Aerogel AEIbu ibuprofenbeladenes Aerogel AEMetro metronidazolbeladenes Aerogel AENif nifedipinbeladenes Aerogel
Aer	Aerosil® (Degussa, Düsseldorf, Deutschland)
Amo	Amorolfin Amo-HCl Amorolfin-Hydrochlorid
AST	Arzneistoff
ATR	abgeschwächte Totalreflexion, engl. <i>attenuated total reflection</i>
AUC	Fläche unter der Kurve, engl. <i>area under the curve</i> AUC_{norm} Fläche unter der normierten Kurve
BA	Behensäure
BC	Basiscreme DAC mBC modifizierte Basiscreme
BCS	biopharmazeutisches Klassifizierungssystem
BIP	eutektisches Gemisch aus Butyl- und Isopropylphthalimid
BET	Bestimmung der inneren Oberfläche nach BRUNAUER, EMMET und TELLER
c	Konzentration c_0 minimale Konzentration c_1 Gleichgewichtskonzentration c_{max} Maximalkonzentration c_t Konzentration zum Zeitpunkt t
CAS	engl. <i>Chemical Abstract Service</i> der <i>American Chemical Society</i>
Cer	Ceramid Cer[AP] Ceramid [AP], α -Hydroxyphosphingosin Cer[EOS] Ceramid [EOS], Sphingosin mit estergebundener ω -Hydroxyfettsäure
Chol	Cholesterol
Chols	Cholesterolsulfat
Ciclo	Ciclopirox Ciclo-Ol Ciclopirox-Olamin
δ	Deformationsschwingung δ_{asym} antisymmetrische Deformationsschwingung δ_{sym} symmetrische Deformationsschwingung
D	Diffusionskoeffizient
d	Durchmesser d_{Pore} Porendurchmesser
DAB	Deutsches Arzneibuch
DAC	Deutscher Arzneimittel Codex
DCM	Dodecanol-Collodiummembran
DD/Oct	Mischung aus Dodecanol und Octanol 9/1
DDw	wassergesättigtes Dodecanol-Octanolgemisch
DIN	Deutsches Institut für Normierung e.V.
DRIFT	Diffuse Reflexionsinfrarotspektroskopie, engl. <i>diffuse reflection infrared FOURIER transform</i>
DSC	dynamische Differenz-Kalorimetrie, engl. <i>differential scanning calorimetry</i>
DT	Dithranol
DTGS	deutერიertes Triglycinsulfat
ϵ	Extinktionskoeffizient
ESEM	atmosphärische Rasterelektronenmikroskopie, engl. <i>environmental scanning electron microscopy</i>

FT	FOURIER Transformation
γ	out-of-plane Deformationsschwingung
	Γ out-of-plane Deformationsschwingung von Gerüstatomen
GC	Gaschromatographie
	Gel cordes
GL	Grundlage
h	Schichtdicke
	h_a Schichtdicke am Filterrand
	h_i Schichtdicke in Filtermitte
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie, engl. <i>high performance liquid chromatography</i>
HS	Hydrophile Salbe DAB
	HSw Wasserhaltige Hydrophile Salbe DAB
	mHS modifizierte Hydrophile Salbe DAB
I	Intensität
	ΔI Intensitätszunahme
	I_0 Intensität des einfallenden Strahls
	I_{RAMAN} Intensität der RAMAN-Strahlung
	$I_{\text{max}, t}$ maximale Bandenintensität zur Zeit t
	I_{max} maximale Intensität
	I_{min} minimale Intensität
Ibu	Ibuprofen
	Ibu _l geschmolzenes Ibuprofen
	Ibu _{rac} racemisches Ibuprofen
	Ibu _s S-Ibuprofen
IPM	Isopropylmyristat
IR	Infrarot
IRE	internes Reflexionselement, ATR-Kristall
Lac	α -Lactose-Anhydrat
Lini	Liniment N SR
LOD	Nachweisgrenze, engl. <i>limit of detection</i>
log P _{ow}	Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient
LOQ	Bestimmungsgrenze, engl. <i>limit of quantification</i>
μ_{PAS}	Eindringtiefe des IR-Strahls
m_{t_0}	Anstieg im Wendepunkt der Kurve
MC	Metrocreme®
MCC	Mikrokristalline Cellulose, engl. <i>microcrystalline cellulose</i>
MDT	mittlere Verweilzeit, engl. <i>mean distribution time</i>
ME	Mikroemulsion
Metro	Metronidazol
MIR	mittleres Infrarot
MS	Massenspektrometrie
MZ	Metalldiffusionszelle nach HARTMANN
ν	Frequenz [Hz]
	ν_s Modulationsfrequenz des IR-Strahls
	Valenzschwingung
	$\nu_{\text{CH}(\text{asym})}, \nu_{\text{CH}_2(\text{asym})}$ antisymmetrische CH ₍₂₎ -Valenzschwingung
	$\nu_{\text{CH}(\text{sym})}, \nu_{\text{CH}_2(\text{sym})}$ symmetrische CH ₍₂₎ -Valenzschwingung
N	nichtionisch
	Normalität
n	Anzahl
	Brechungsindex
Nd:YAG	Neodym-dotierter Yttrium-Aluminium-Granat
Nif	Nifedipin
NIR	nahes Infrarot
NM	Nephrophan® Dialysemembran
NMR	magnetische Kernresonanz, engl. <i>nuclear magnetic resonance</i>
NRF	Neues Rezeptur Formularium

μ_t	thermische Diffusionslänge
P	Permeationskoeffizient P _N Nagel P _H bovine Hufmembran
p	Exponent des logistischen Kurvenfits, engl. power Signifikanzniveau
PA	Palmitinsäure Photoakustik
PAS	Photoakustische Spektroskopie
PEG	Polyethylenglycol PEG-DAC Polyethylenglycolsalbe des DAB PEG-NRF Polyethylenglycolsalbe des NRF
PET	Polyethylenterephthalat
pH	pH-Wert, negativer dekadischer Logarithmus der Hydroniumionenkonzentration
Ph.Eur.	Europäisches Arzneibuch
PI	Schnittpunkt der Kurven von abfallender und ansteigender Bandenintensität, engl. <i>point of intersection</i>
pk _s	Säurekonstante
PrG	Propylenglycol
R	R-Enantiomer
R ²	Bestimmungskoeffizient der multivariaten Analyse
r ²	Korrelationskoeffizient der univariaten Analyse
rac	racemisch
REM	Rasterelektronenmikroskopie, engl. <i>scanning electron microscopy</i>
RMSECV	Wurzel des mittleren Fehlerquadrates, engl. <i>root mean square error of cross validation</i>
rpm	Umdrehungszahl, engl. rounds per minute
S	S-Enantiomer Spektrum
S ₀	Grundzustand
S ₁	angeregter Molekülzustand
SC	humanes <i>Stratum corneum</i>
SL	Stammlösung
SR	Standardrezeptur
t	Zeit t ₀ Zeit bei $(c_1 + c_0)/2$ t ₈₀ Zeit, bei der 80% des Arzneistoffs diffundiert sind t _{lag} Verzögerungszeit, engl. <i>lag time</i>
TEWL	transepidermaler Wasserverlust, engl. <i>transepidermal water loss</i> ; die Wassermenge, die von der Haut pro Stunde und cm ² an die Außenwelt abgegeben wird
TMOS	Tetramethylorthosilicat
TOWL	transonychealer Wasserverlust, engl. <i>transonychia water loss</i> ; die Wassermenge, die vom Nagel pro Stunde und cm ² an die Außenwelt abgegeben wird
TZ	Teflundiffusionzelle
UC	Unguentum cordes® UCw wasserhaltige Unguentum cordes®
Ur	Harnstoff, lat. <i>urea</i>
USP	Arzneibuch der USA, engl. <i>united states pharmacopoeia</i>
UV	ultraviolett
V	Volumen V _{Filter} Filtervolumen V _{Pore} Porenvolumen
Vis	visuell, sichtbarer Bereich des Lichtspektrums
ν	Schwingungsquantenzahl

A *Einleitung und Zielstellung*

Die Beeinflussung der Arzneistofffreisetzung aus unterschiedlichen Arzneiformen zur Optimierung von Bioverfügbarkeit und therapeutischen Konzepten bilden eine zentrale Fragestellung biopharmazeutisch-technologischer Studien. Dazu gilt es nicht nur die Arzneiformen selbst zu untersuchen, sondern auch geeignete Methoden und Modelle für diese biopharmazeutischen Untersuchungen zu entwickeln.

Die in dieser Arbeit verwendeten hydrophilen Silica-Aerogele stellen aufgrund ihrer besonderen Eigenschaften interessante pharmazeutische Hilfsstoffe dar. Ihre offenporige, großvolumige Struktur begünstigt die Adsorption von Arzneistoffen und beeinflusst deren Abgabe an umgebende Medien. Erste Studien [1-3] zeigten, dass die Verwendung von Aerogelen als Arzneistoffträger unter verschiedenen Aspekten möglich ist. Denkbar sind beschleunigte oder verzögerte Arzneistofffreisetzungen in Abhängigkeit von der Modifikation der Aerogeloberfläche, den Arzneistoffeigenschaften und dem umgebenden Medium, die Löslichkeitsverbesserung schlecht (wasser-)löslicher Arzneistoffe oder auch die Stabilisierung instabiler Arzneistoffe.

Diese Möglichkeiten sollten anhand verschiedener Modellarzneistoffe (Dithranol, Ibuprofen, Metronidazol, Nifedipin) in Verbindung mit unterschiedlichen Problemstellungen in der vorliegenden Arbeit geprüft werden. Pharmazeutisch relevante Formulierungen, vorwiegend halb feste Vehikel, aber auch feste Arzneiformen waren zu entwickeln, zu charakterisieren und ihre biopharmazeutischen Eigenschaften zu untersuchen. Dazu wurden verschiedene schwingungsspektroskopische Methoden in ihrem Anwendungsspektrum erweitert oder neu etabliert. Dieser analytische Schwerpunkt wurde aufgrund der Vorteile dieser Methoden hinsichtlich ihres nicht-invasiven und nicht-destruktiven Charakters, der Möglichkeit der simultanen Untersuchung mehrerer Komponenten komplexer Vielstoffgemische und, bei Penetrations- bzw. Diffusionsstudien, der *on-line*-Detektion gesetzt.

Gerade zur Charakterisierung der Penetrationseigenschaften halbfester Vehikel sind sowohl Modellmembranen als auch native Membranen gebräuchlich. Da mit Hilfe der Modellmembranen oft nur Teilaspekte der physiologischen, hoch-komplexen Vorgänge betrachtet werden können und native Membranen nicht nur in ihrer Verfügbarkeit limitiert sind, sondern auch intra- und interindividuellen Schwankungen unterliegen, galt es, Lipidmodellmembranen aus *Stratum-corneum*-Lipiden zur Verwendung als Diffusionsbarriere herzustellen und auf ihre Einsatzfähigkeit zu prüfen.

Therapeutische Nagellackfilme stellen ähnlich den arzneistoffbeladenen Aerogelen übersättigte Arzneistoffdepots dar. Die Diffusion von Ciclopirox und Amorolfine aus therapeutischen Nagellacken und Cremezubereitungen in bovine Hufmembranen sollte charakterisiert werden.

Daraus ergaben sich für die Arbeit folgende Ziele:

- Einsatz arzneistoffbeladener hydrophiler Silica-Aerogele als *drug-delivery*-Systeme in halbfesten und festen Formulierungen,
- Entwicklung, Charakterisierung und biopharmazeutische Studien geeigneter Formulierungen,
- Erweiterung und Etablierung des Anwendungsbereichs schwingungsspektroskopischer Analysemethoden, insbesondere der FTIR-ATR-Spektroskopie für Penetrations- und Diffusionsstudien und der FT-RAMAN-Spektroskopie zur Charakterisierung des physikalischen Arzneistoffzustands in komplexen halbfesten Vehikeln,
- Verwendung und Vergleich verschiedener Modellmembranen und nativer Membranen als Penetrations- und Diffusionsbarrieren,
- Optimierung der Herstellung von *Stratum-corneum*-Lipidmodellmembranen und Verwendung selbiger als Barriere sowie
- Untersuchung des Diffusionsverhaltens antimykotischer Arzneistoffe aus galenisch unterschiedlichen Formulierungen durch bovine Hufmembranen.

B Theoretische Grundlagen

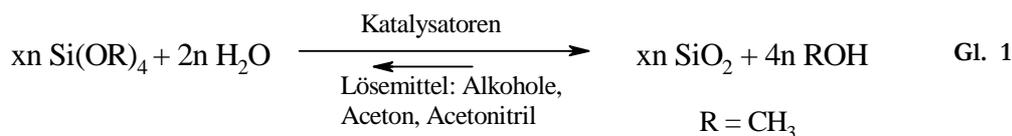
1 Aerogele

Aerogele sind Feststoffe, die sich durch besondere Eigenschaften auszeichnen. Sie werden typischerweise durch überkritische Trocknung von Lyogelen hergestellt und erhalten dadurch die sehr geringe Dichte und große innere Oberfläche, die sie auszeichnen. Generell können Aerogele aus verschiedensten Stoffen - anorganisch oder organisch - hergestellt werden [4]. Im Fokus der vorliegenden Arbeit stehen hydrophile Silica-Aerogele.

Die Idee der „Aerogele“ ist viele Jahre alt. Bereits in den 1930-er Jahren hat S.S. KISTLER [5, 6] versucht, Aerogele durch Trocknung von Lyogelen herzustellen. Problematisch ist dabei die bei der Trocknung eintretende Schrumpfung des Gelgerüsts, die in harten, glasartigen Xerogelen mit geringer Porosität resultiert. KISTLER erkannte, dass ein Austausch des wässrigen Dispersionsmittels und eine Trocknung unter überkritischen Bedingungen zum Ziel führen würden. Trotz allem sank nach dieser Zeit das wissenschaftliche Interesse an Aerogelen, sicherlich auch wegen der sehr langwierigen Herstellung. Hin und wieder gab es in der folgenden Zeit von verschiedenen Gruppen Ansätze, Aerogele herzustellen, aber etablieren konnten sie sich erst in den letzten Jahren, weil neue Verfahren den Herstellungsprozess vereinfachten und verkürzten. So entfällt zum Beispiel bei der Verwendung von Alkoxyorthosilicaten anstelle von anorganischen Silicaten das aufwendige Auswaschen entstandener Salze [7].

1.1 Herstellung

Die nachfolgend beschriebene Herstellungsweise, die auch für die in dieser Arbeit verwendeten hydrophilen Silica-Aerogele genutzt wurde, stellt eine Methode dar und ist in [1] ausführlich beschrieben. Es handelt sich um ein zweistufiges Verfahren mit Sol-Gel-Übergang. Zunächst wird Tetramethylorthosilicat einer sauren Hydrolyse unterzogen. Unter geeigneten Reaktionsbedingungen finden Polymerisation und Gelbildung statt. Das Lösemittel wird dem gealterten Lyogel durch überkritisches CO₂ entzogen. Die allgemeine Reaktionsgleichung lässt sich wie folgt (Gl. 1) zusammenfassen:



Eigenschaften, wie z. B. die Aerogeldichte, lassen sich durch Auswahl geeigneter Parameter während der Synthese steuern.

1.2 Eigenschaften

Hydrophile Silica-Aerogele sind transparente Feststoffe (Feststoffanteil 0,13% bis 15%) mit ungewöhnlichen Eigenschaften. Sie werden aufgrund ihres Aussehens als gefrorener Nebel (engl. *frozen smoke*) bezeichnet. Abbildung 1 zeigt solch ein hydrophiles Silica-Aerogel.



Abbildung 1: Hydrophiles Silica-Aerogel.

Mechanisch sehr instabil - sie zerspringen bei geringstem Druck in kleinste Stücke - weisen sie eine hohe thermische Belastbarkeit auf: ab 500°C ist eine Schrumpfung zu beobachten, der Schmelzpunkt liegt über 1200°C. Die Wärme- und Schalleitfähigkeit sind gering. Die interessantesten Eigenschaften für die pharmazeutische Verwendung sind die geringe scheinbare Dichte, die große innere Oberfläche und eine hohe Porosität (90-99%). Die Poren mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 8 nm bis 40 nm sind im Gegensatz zu Aerosil® offen und geben dem Aerogel eine schwammartige Struktur [8, 9]. Eine weitere Besonderheit, die durch die hohe Porosität bedingt wird, ist der sogenannte Aerogeleffekt. Dieser tritt auf, wenn Aerogele mit Flüssigkeiten in Kontakt kommen. Im Gegensatz zu Xerogelen, die durch Flüssigkeitszusatz wieder in Lyogele umgewandelt werden, schrumpfen Aerogele sofort und verlieren ihr opakes Aussehen. Ursache sind auftretende Kapillarkräfte, die das Aerogelnetzwerk kollabieren lassen und damit irreversibel zerstören. Eine Hydrolyse der hydrophilen Silica-Aerogele tritt im wässrigen Milieu erst unter sehr stark alkalischen Bedingungen ein. In Tabelle 1 sind die wichtigsten Eigenschaften von hydrophilen Silica-Aerogelen anderen Silica-Polymeren gegenübergestellt.

Tabelle 1: Eigenschaften verschiedener Silica-Polymerer.

	<i>Aerosil®200*</i>	<i>Silica-Xerogel</i>	<i>Silica-Aerogel</i>
Gelart	Xerogel		Aerogel
Kontakt mit Wasser	Ausbildung eines Lyogel/Hydrogels		Strukturverlust
Bulkdichte**	n.d.	0,25 - 0,6 g cm ⁻³	0,003 - 0,35 g cm ⁻³
innere Oberfläche***	≤ 200 m ² g ⁻¹	300 - 600 m ² g ⁻¹	400 - 1000 m ² g ⁻¹
Poren	geschlossene Mesoporen	offene Mesoporen	
Darstellung	Pyrolyse von SiCl ₄	Sol-Gel-Prozess	

* Degussa, Düsseldorf, Deutschland; ** scheinbare Dichte von Luft: 0,001 g cm⁻³; *** bestimmt nach BRUNAUER, EMMET und TELLER (BET) durch N₂-Adsorptions-/Desorptionsisotherme

1.3 Verwendung als Arzneistoffträger

Aerogele können unter verschiedenen Gesichtspunkten als Arzneistoffträger verwendet werden, nachdem der Arzneistoff durch spezielle Verfahren adsorbiert wurde (Kapitel B 1.4). Die Arzneistofffreigabe kann durch die Eigenschaften des Aerogels und mögliche Modifikationen der Aerogeloberfläche gesteuert werden. Empfindliche Arzneistoffe werden chemisch und physikalisch stabilisiert, da aufgrund der großen inneren Oberfläche der Aerogele die adsorbierten Arzneistoffmoleküle auf einen sehr großen Raum verteilt sind und je nach Beladung nahezu isoliert vorliegen, so dass Partikelgrößenwachstum und chemische Reaktionen, insbesondere autokatalytische Reaktionen, erschwert werden.

Bei der Arzneistofffreigabe spielen unterschiedliche Faktoren eine Rolle. Durch Oberflächenmodifikation hydrophobisierte Aerogele weisen in wässriger Lösung eine verzögerte diffusionsgesteuerte Freisetzung des adsorbierten Arzneistoffs auf. Anders stellt sich die Situation bei den hydrophilen Aerogelen dar. Treten diese in Kontakt mit Wasser, wirken starke Kapillarkräfte in den Poren, so dass das Aerogelgerüst kollabiert und seine Struktur verliert (Aerogeleffekt). Gleichzeitig mit dem schlagartigen Zusammenziehen der schwammartigen Gerüststruktur nimmt der Raum für die adsorbierten Arzneistoffe ab, und sie werden hinausgedrängt (Abbildung 2). Der nicht-kristalline, amorphe Zustand der adsorbierten Arzneistoffe ermöglicht zudem eine energetisch günstige Abgabe an das umgebende Medium, da keine Kristallgitterkräfte überwunden werden müssen und der Arzneistoff bereits molekulardispers vorliegt.

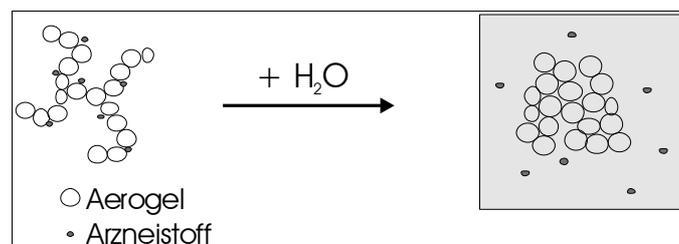


Abbildung 2: Schematische Darstellung des Aerogeleffekts.

Der Gedanke, Silica-Polymere als Arzneistoffträger einzusetzen, wurde bereits in den 1980-iger Jahren anhand verschiedener Modellarzneistoffe und unterschiedlicher Silica-Partikel von RUPPRECHT *et al.* verfolgt [10-15]. Die Arzneistoffe wurden aus verschiedenen Lösemitteln adsorbiert. Aerogele wurden nicht in die Studien einbezogen. Anhand der ausgewählten Beispiele konnte gezeigt werden, dass spezifische Wechselwirkungen zwischen Arzneistoff und Silica-Derivat existieren, wodurch sowohl beschleunigte als auch verzögerte Freisetzungen erzielt werden können und ein gewisser Schutz vor chemischen Instabilitäten durch die Adsorption erreicht werden kann [16, 17]. Zudem wurde die Ausbildung übersättigter Lösungen nach Griseofulvinderesorption beobachtet [18].

Aerogele selbst wurden sporadisch pharmazeutisch verwendet. Eines der ältesten Patente stammt aus dem Jahr 1974 [19]. Darin sind Sublingualtabletten aus Acetylsalicylsäure, Methocel, Glycerin und Silica-Aerogel mit verzögerter Arzneistofffreisetzung beschrieben. Inwiefern das bezeichnete Silica-Aerogel alle Eigenschaften eines Aerogels aufwies, läßt sich derzeit nicht nachprüfen. So soll diese Veröffentlichung beispielhaft für viele kritisch zu bewertende Studien stehen, da der Begriff „Aerogel“ in der Literatur lange Zeit unsystematisch für unterschiedliche Stoffe mit verschiedensten Eigenschaften verwendet wurde. BERG *et al.* zeigten, dass ein Formaldehyd-Resorcinol-Copolymer als Aerogel in einer Suspension mit ethanolischer Testosteron-adipatlösung beladen werden kann [20]. Die Verwendung sowohl hydrophiler als auch hydrophober Aerogele wird in [21] diskutiert. Beispielhaft sei die Rezeptur einer Peelinglotion genannt. In [22] diente ein Titandioxidaerogel in Kombination mit Polytetrafluoroethylen und perfluorierte Polyether als Hautprotektivum gegen verschiedenste chemische Noxen. Auch Proteine und Enzyme können in Aerogele inkorporiert werden. So wurde von LEE und GOULD ein insulinhaltiges Mannitolaerogel zur inhalativen Insulintherapie entwickelt [23], Cytochrom C während der Synthese in ein Silica-Aerogel eingebunden [24] und Lipasen wurden adsorbiert [25].

Von der Arbeitsgruppe ARLT/SMIRNOVA wurde in den letzten Jahren verschiedentlich gezeigt, dass die Lösungsgeschwindigkeit schlecht wasserlöslicher Arzneistoffe durch Adsorption auf Silica-Aerogele erhöht werden kann [1, 26-32]. Untersuchungen zum Einfluss modifizierter Silica-Aerogele [3, 29, 32] und erste Ansätze, die organische Aerogele als Arzneistoffträger verwenden [33, 34], wurden publiziert.

Am Beispiel von dithranolbeladenen Aerogelen wurden Penetrationsstudien an Modellmembranen mit unterschiedlichen halbfesten Vehikeln durchgeführt, die eine stark verbesserte dermale Verfügbarkeit im Vergleich zu kristallinem Dithranol dokumentierten. Zudem konnte der oxidationsempfindliche Arzneistoff auf diese Weise stabilisiert werden [1, 35]. Auch der Einsatz als Fließregulierungsmittel ist denkbar und in [36] beschrieben.

Eine zusammenfassende Übersicht über die verschiedensten Anwendungsmöglichkeiten von Aerogelen befindet sich in [37].

1.4 Beladung von Aerogelen mit Arzneistoffen

Die Beladung der Aerogele kann zu verschiedenen Zeitpunkten und auf verschiedene Arten erfolgen. Es besteht die Möglichkeit, Arzneistoffe bereits während der Aerogelsynthese im Sol-Gel-Prozess hinzuzufügen. Die so zu adsorbierenden Arzneistoffe müssen die gesamte Herstellungsprozedur mit allen Temperatur- und Lösemittelbelastungen und die Extraktionsprozesse unverändert überstehen. Eine andere Möglichkeit ist, erst das Aerogel

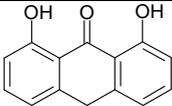
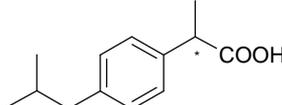
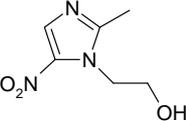
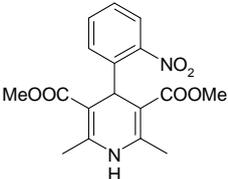
herzustellen und danach zu beladen. Die Beladung aus einer Arzneistofflösung ist jedoch ungünstig aufgrund des Aerogeleffekts, der zur Zerstörung der Aerogelstruktur während der Beladung führen würde. Daher ist diese Methode vor allem für hydrophobe Aerogele, die geringfügiger schrumpfen, geeignet. Die Adsorption aus überkritischen Lösungsmitteln, z.B. CO₂, erhält nicht nur die Aerogelstruktur, sondern die thermische Belastung des Arzneistoffs ist gering, und der adsorbierte Arzneistoff liegt amorph vor. Voraussetzung für die Anwendbarkeit einer Adsorption aus überkritischer Lösung ist die ausreichende Löslichkeit des Arzneistoffs im überkritischen Lösemittel. Auf dieser Methode beruhen alle in dieser Arbeit durchgeführten Beladungen.

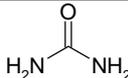
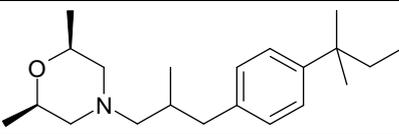
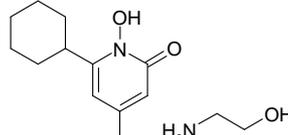
2 Arzneistoffe

Im Folgenden sollen die verwendeten Modellarzneistoffe kurz hinsichtlich der in dieser Arbeit auftretenden Fragestellungen vorgestellt werden.

Die Beladung der Aerogele wurde mit verschiedenen Modellarzneistoffen durchgeführt, die nach unterschiedlichen Gesichtspunkten ausgewählt wurden. Eine Anforderung an alle Arzneistoffe (AST) war eine hinreichende Löslichkeit in überkritischem CO₂, um die Aerogele zu beladen. In Tabelle 2 sind die Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten als log P_{OW}-Werte zur Charakterisierung der Lipophilie sowie die Strukturformeln der Arzneistoffe zusammengestellt. Die arzneistoffbeladenen Aerogele werden allgemein mit AEAST oder dem jeweiligen Arzneistoffkürzel und unbeladene Aerogele mit AE abgekürzt.

Tabelle 2: Verwendete Arzneistoffe, ihre Struktur und der Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient log P_{OW}.

Arzneistoff	CAS-Nummer	Strukturformel	log P _{OW}
Modellarzneistoffe zur Beladung von Aerogeln			
Dithranol (DT)	480-22-8 (DAC)		4,157 ± 0,320 *
	1143-38-0 (USP)		
rac-Ibuprofen (Ibu_{rac})	15687-27-1 (Ibu _{rac})		3,722 ± 0,227 *
S-Ibuprofen (Ibu_S)	51146-56-6 (Ibu _S)		
Metronidazol (Metro)	443-48-1		-0,013 ± 0,298 * 0,24 **
Nifedipin (Nif)	21829-25-4		2,966 ± 0,582 *

Modellarzneistoff für Diffusionsstudien an Stratum-corneum-Lipidmodellmembranen			
Harnstoff (Ur)	57-13-6		-2,110 ± 0,187*
Antimykotika für Diffusionsstudien an bovinen Hufmembranen			
Amorolfin (Amo) pk _s 7,59 ± 0,20*	78613-35-1 (Amo)		5,844 ± 0,321 (Amo)*
Amorolfin-HCl (Amo-HCl)		HCl	
Ciclopirox (Ciclo) pk _s 6,25 ± 0,20*	29342-05-0 (Ciclo)		2,586 ± 0,611 (Ciclo)*
Ciclopirox-Olamin (Ciclo-Ol)	41621-49-2 (Ciclo-Ol)		

*Advanced Chemistry Development (ACD/Labs) Software V8.14 for Solaris (©1994-2008 ACD/Labs); Chemical abstract service/Science finder scholar; ** nach [38]

Dithranol wird aufgrund der proliferationshemmenden und antiphlogistischen Eigenschaften in der Lokalthherapie der Psoriasis vulgaris eingesetzt [39-49]. Problematisch ist die Dithranol-Therapie in vielerlei Hinsicht. Instabilitäten gegenüber verschiedenen Agenzien, ungünstige Penetrationseigenschaften und eine geringe dermale Verfügbarkeit erschweren die Auswahl geeigneter Vehikel. So wird Dithranol aus Vaseline, in dem es stabil ist, nur zu 5% freigesetzt, reichert sich verstärkt im *Stratum corneum* an (bis zu 95% der freigesetzten Menge), polymerisiert dort zu Dithranolbraun und gelangt nicht in tiefere Hautschichten [48, 50-53]. Dass durch die Verwendung von dithranolbeladenem Aerogel eine Penetrationsverbesserung erzielt werden kann, wurde anhand von Dodecanol-Collodiummodellmembranen gezeigt. Zudem wurde die verzögerte Zersetzung von Dithranol durch Verwendung von dithranolbeladenem Aerogel in einem Modellexperiment mit Polyethylenglykol (PEG) 400 nachgewiesen [2]. Die vorliegenden Ergebnisse der Penetrationsstudien sollten durch Verwendung von humanem *Stratum corneum* bestätigt werden und dabei die von HARTMANN *et al.* [54, 55] beschriebene FTIR-ATR-Diffusionszelle an die Verwendung nicht-wässriger Donatoren und Akzeptormedien angepasst werden.

Ibuprofen wird als Analgetikum und Antiphlogistikum in dermalen und oralen Arzneiformen verwendet, wobei S-Ibuprofen das Eutomer darstellt. Bei oraler Applikation wird das Racemat verwendet, da *in vivo* durch eine 2-Arylpropionyl-Coenzym-A-Epimerase eine ausreichende Umwandlung des R-Enantiomers gewährleistet ist [47, 49, 56-58]. Bei dermalen Applikation findet diese unidirektionale chirale Inversion nicht statt. Daher wird in diesen Fällen das S-Enantiomer eingesetzt [59]. Die Einordnung in das biopharmazeutische Klassifizierungssystem BCS, dem sowohl Permeabilität als auch Löslichkeit der Arzneistoffe zugrunde liegen, kann in Klasse II - gut permeabel, pH-abhängige Löslichkeit - erfolgen [58]. Ibuprofen wurde wegen seiner guten analytischen Zugänglichkeit und der Verwendung in dermalen und oralen Arzneiformen als Analgetikum und Antiphlogistikum ausgewählt. Durch verschiedene

analytische Methoden galt es, die beladenen Aerogele zu charakterisieren. Anhand von Freisetzungsuntersuchungen in unterschiedliche halb feste Vehikel sollte zunächst eine Zubereitung zur dermalen Applikation gefunden werden, deren Penetrationsverhalten in nachfolgenden Studien an lipophilen Dodecanol-Collodiummembranen betrachtet wurde. Für die orale Applikation wurde erstmalig das Tablettierverhalten von Aerogelen studiert. Ergänzend durchzuführende FT-RAMAN-spektroskopische Untersuchungen der Tablettiermischungen und Tabletten sollten Rückschlüsse auf den physikalischen Zustand des adsorbierten Ibuprofens und dessen Lagerungsstabilität zulassen.

Das Antibiotikum Metronidazol wird aufgrund seiner antiphlogistischen Eigenschaften zur topischen Therapie der Rosacea eingesetzt [60, 61]. Das Stabilitätsoptimum in wässriger Lösung liegt zwischen pH 4,6 - 5,4, da es als Nitroimidazol-Derivat besonders im alkalischen Milieu zersetzt wird [45]. Viele metronidazolhaltige Cremes zeigen eine hohe Neigung zu Rekristallisationsvorgängen, was die Qualität der Produkte sehr mindert. Bereits geringfügige Wärmeanwendung, wie sie zum Beispiel bei der Verwendung automatischer Rührsysteme zur Herstellung der Cremes auftritt, führt zu einem verstärkten Kristallwachstum [62]. Des Weiteren begünstigt die übliche rezeptierte Konzentration von 1% diese Prozesse, da die Löslichkeit zum Beispiel in Basiscreme DAC mit 0,8% angegeben wird [62]. Das Fertigarzneimittel Metrocreme[®] umgeht diese Probleme, indem die Metronidazolkonzentration 0,75% beträgt. Daher interessierten an metronidazolhaltigen halbfesten Formulierungen verschiedene Aspekte. Freisetzungsstudien in verschiedene Vehikel und Penetrationsstudien derselben in künstliche Membranen und humanes *Stratum corneum* sollten durch Untersuchungen zur Löslichkeit und Kristallisation in den verschiedenen Vehikeln mit Hilfe der FT-RAMAN-Spektroskopie ergänzt werden. Eine Fragestellung dabei war, ob durch die Verwendung metronidazolbeladener Aerogele die Kristallisationsneigung verringert werden kann und ob eine Beeinflussung respektive eine Verbesserung der Penetration erzielt werden kann. Einflüsse der Vehikelzusammensetzung und von einzelnen Vehikelbestandteilen wurden dabei gesondert betrachtet.

Der Calciumkanalblocker Nifedipin wird in schnell-freisetzenden und retardierten oralen Arzneiformen eingesetzt [49]. Problematisch sind die chemische Instabilität [63-65], die schlechte Wasserlöslichkeit (BCS-Klasse II, [66]) und ungünstige Eigenschaften beim Tablettieren. Studien zu Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit anhand der jeweiligen Pulver und schnellfreisetzender Tabletten wurden für Nifedipin und nifedipinbeladene Aerogele durchgeführt.

Zur topischen Therapie von Nagelmykosen werden unter anderem Amorolfin-Hydrochlorid (Loceryl[®]-Präparate, Galderma Laboratien, Düsseldorf, Deutschland) und Ciclopirox sowie

Ciclopirox-Olamin (Batrafen[®], Sanofi-Aventis, Frankfurt/Main, Deutschland) verwendet. Als besonderes therapeutisches Konzept sind Nagellacke mit diesen Arzneistoffen verfügbar. Diese bestehen aus einer Polymermatrix, die nach Applikation und Verdunsten des Lösungsmittels ein Arzneistoffreservoir ausbildet. Dadurch wird die Arzneistoffkonzentration um das Vier- bis Fünffache erhöht und lokal auftretende Übersättigungsphänomene begünstigen das Eindringen der Arzneistoffe in den Nagel. Limitierend für die Diffusion durch die Nagelplatte ist nicht die Arzneistofffreigabe, sondern aufgrund des geringeren Lipidanteils des Nagels im Vergleich zu humanem *Stratum corneum* die Diffusion selbst. Daher kann durch gesättigte Arzneistofflösungen eine maximale thermodynamische Aktivität und damit ein maximaler Flux erreicht werden. Ein weiterer Vorteil gegenüber herkömmlichen halbfesten Vehikeln ist die längere Haftzeit auf dem erkrankten Nagel [67-70]. Auch die Eigenschaft des Sublimierens und damit die Fähigkeit Hohlräume des erkrankten Nagels zu überwinden, wird als begünstigend für die Wirksamkeit dieser Antimykotika diskutiert [71].

Harnstoff wirkt konzentrationsabhängig hydratisierend, keratoplastisch oder keratolytisch. Des Weiteren werden Enhancerfähigkeiten, die auf der keratoplastischen Wirkung [45, 48] beruhen, diskutiert. Diffusionsstudien wässriger Harnstofflösungen durch humanes *Stratum corneum* und bovine Hufmembranen wurden bereits durchgeführt [55] und dienen als Referenz für die mit den Modellmembranen aus *Stratum-corneum*-Lipiden erhaltenen Daten.

3 Membranen

Membranen verschiedenster Natur sind von pharmazeutischem Interesse, da sie an nahezu allen Absorptionsvorgängen als Hauptbarriere beteiligt sind. Ihre Eigenschaften und ihre Zusammensetzung sind je nach Funktion und Lokalisation unterschiedlich. Die Haut ist das größte Organ des menschlichen Körpers und weist verschiedenste Schutzfunktionen auf. Bei topischer Applikation von Arzneistoffen stellt die äußerste Hautschicht, das *Stratum corneum*, die Hauptbarriere für das - vielfach therapeutisch erwünschte - Eindringen des Wirkstoffs dar [45, 48]. Daher ist der Einsatz von Human- oder Tierhaut für die Entwicklung topischer Formulierungen notwendig. Aufgrund der begrenzten Verfügbarkeit, der hohen Variabilität nativer Membranen und nicht zuletzt aus ethischen Gründen treten Beschränkungen auf, die zur Entwicklung verschiedener Modellsysteme führten. Diese kopieren nur bestimmte native Materialeigenschaften. Die Ursachen dafür sind vielgestaltig. So birgt die hoch-komplexe, noch nicht bis in alle Einzelheiten aufgeklärte Struktur Probleme beim Imitieren. In bestimmten Fällen interessieren lediglich Teilprozesse oder der Einfluss bestimmter Membranbestandteile soll aus physiologischen sowie pathophysiologischen Interessen untersucht werden. Für erste Untersuchungen zu entwickelnder topischer Formulierungen genügt oft die Nachahmung der

Gesamteigenschaft, um Anhaltspunkte für Veränderungen des Systems oder zur Charakterisierung zu erhalten. So wird z.B. die Lipophilie des *Stratum corneum* durch ein einfaches System wie der Dodecanol-Collodiummembran nachgeahmt [72]. Nicht unerwähnt soll an dieser Stelle aber der Hinweis bleiben, dass alle (Modell-)Systeme ihre Grenzen aufweisen und Einsatzmöglichkeiten und Aussagekraft stets kritisch diskutiert werden müssen.

Nachfolgend werden die in der Arbeit verwendeten Membranen vorgestellt.

3.1 Native Membranen

3.1.1 Humanes *Stratum corneum*

Die äußerste Schicht und damit die Hauptbarriere für eindringende Stoffe in die Haut bildet das *Stratum corneum* (SC). Dieses ist das Endprodukt der Metamorphose der Keratinozyten in der Epidermis und besteht aus Korneozyten (verhornte, tote Keratinozyten), die in eine Lipidmatrix eingebettet sind. Es existieren verschiedene Modellvorstellungen, auf die mit einer Ausnahme nicht weiter eingegangen werden soll. Stark vereinfacht wurde das SC bereits von ELIAS [73] als „brick-and-mortar model“ beschrieben. Die Backsteine des Modells stellen die Korneozyten dar, die Lipidmatrix dient als Mörtel. Diese interzelluläre, lamellare Lipidmatrix ist hoch geordnet und hauptsächlich für die Barriereigenschaften zuständig. Sie nimmt etwa 1/5 des gesamten Hornschichtvolumens ein und besteht hauptsächlich aus Ceramiden der verschiedenen Ceramidklassen, freien Fettsäuren, Cholesterol, Cholesterolsulfat u.a. -Derivaten sowie Triglyceriden. Der Wassergehalt beträgt 25% [45, 48]. Abbildung 3 zeigt die prozentuale Zusammensetzung der Lipidmatrix. Die Strukturanordnung der Lipide im SC wird durch verschiedene Modelle [74-78], die derzeit sehr kontrovers diskutiert werden, beschrieben. Eine kritische Betrachtung findet sich in [79].

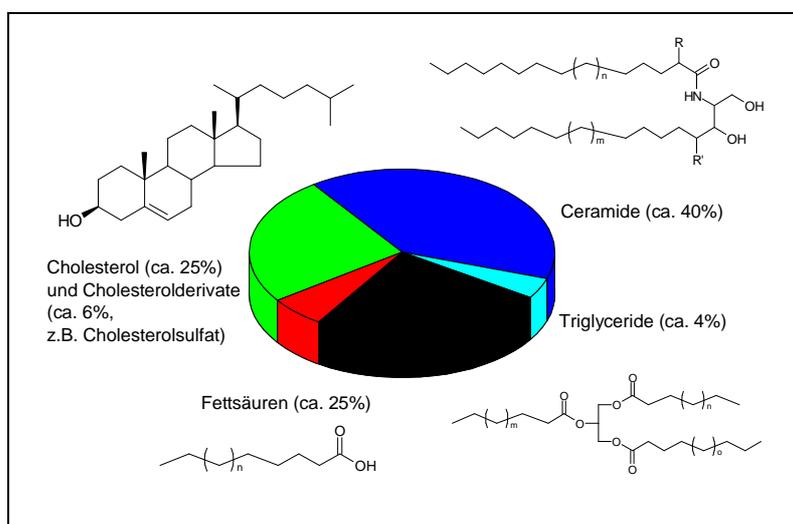


Abbildung 3: Prozentuale Zusammensetzung der Lipidmatrix des humanen SC (modifiziert nach [48]).

Arzneistoffe können über verschiedene Penetrationswege das SC passieren. Neben der inter- und intrazellulären Route gibt es die - untergeordnete - Möglichkeit, entlang der Adnexen (transglandulär, transfollikulär) zu penetrieren (Abbildung 4). Als Hauptweg für die meisten Stoffe ist der interzelluläre Weg durch die Lipidmatrix anzunehmen. Als Gesamtkompartiment betrachtet, stellt das SC daher eine lipophile Barriere dar. Dies wird bestätigt von SURBER *et al.* [80], die den SC-Wasser-Verteilungskoeffizienten mit verschiedenen anderen Verteilungskoeffizienten verglichen. Die besten Korrelationen zeigten der Isopropylmyristat (IPM)-Wasser-Verteilungskoeffizient und der Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient ($\log P_{ow}$).

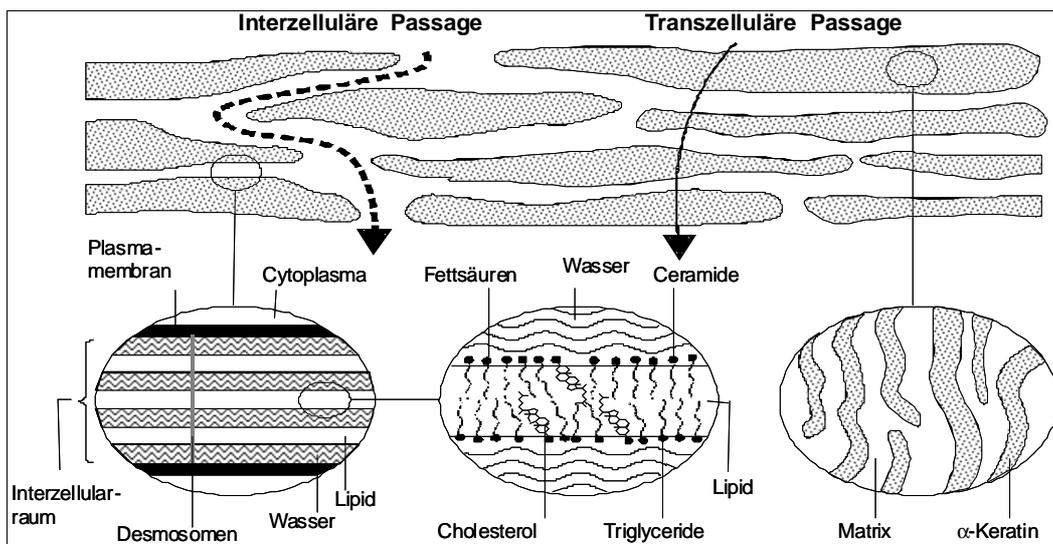


Abbildung 4: Penetrationswege durch das humane SC (modifiziert nach [81]).

3.1.2 Menschlicher Nagel und bovine Hufmembran

Im Folgenden soll zunächst auf den Aufbau des humanen Nagels und die sich daraus ergebenden Probleme hinsichtlich der Therapie erkrankter Nägel, insbesondere durch Mykosen und der Durchführung von Penetrations-/Permeationsstudien eingegangen werden. Dies geschieht unter biopharmazeutisch-technologischen Gesichtspunkten.

Im Gegensatz zum SC stellt der menschliche Nagel eine hydrophile Barriere dar [82]. Anatomisch ist er in Nagelplatte, Nagelbett und Matrix gegliedert [83]. Die Nagelplatte selbst, die ebenso wie das SC aus toten verhornten Zellen mit deutlich ausgeprägten Zellmembranen besteht, weist einen dreischichtigen Aufbau auf [83]. Die Schichten stehen im Verhältnis dorsal/intermedial/ventral = 3/5/2 zueinander [84], wobei die Hauptbarriere für das Eindringen von Substanzen in den Nagel der dorsale Bereich darstellt. Er besteht aus wenigen Schichten sehr harten Keratins und weist eine geringe Diffusivität für Arzneistoffe auf.

Lipide kommen vor allem dorsal und ventral vor, wobei ventral der höchste Lipidgehalt nachweisbar ist. Es sind langkettige Fettsäuren, freie Fette, Cholesterin, Squalene und Phospholipide vertreten [84]. Cholesterin ist nicht nur die Hauptkomponente, sondern dient

zusammen mit Wasser auch als Weichmacher des Nagels [85]. Der transonycheale Wasserverlust (TOWL) wird durch die Lipide nicht behindert [83]. Die Quellung des Keratins ist pH-abhängig und wird besonders durch niedrige pH-Werte gefördert [69].

Der feste Zusammenhalt der Zellen wird durch α -Keratinfibrillen erreicht. Es kommen vor allem Aminosäuren mit ambivalenter oder hydrophiler Seitenkette vor: Glycin, Cystein, Glutaminsäure, Arginin, Asparaginsäure, Serin und Leucin. Daraus resultiert eine hydrophile, stickstoff- und schwefelreiche Struktur. Die Interaktionen zwischen den Keratinfibrillen finden besonders in den cysteinreiche Regionen der Zellmatrix über Disulfidbrücken statt. VAN-DER-WAALS-Kräfte, Wasserstoffbrückenbindungen und COULOMBSche Kräfte treten ebenso auf [83].

Diese Zusammensetzung führt zur Ausbildung einer als hydrophile Gelmembran agierenden Barriere [82]. Das bedeutet, dass vor allem gelöste Stoffe dem wässrigen Weg, entlang der durch thermische Bewegung der Keratinfasern entstandenen Poren, durch die intakte Barriere folgen und somit kleine Moleküle schneller diffundieren als große. Da die Moleküle oftmals viel kleiner sind als die Porengröße, sind Konvektion und Diffusion die Haupttriebkkräfte. Neben der Molekülgröße wirkt sich auch die Molekülgeometrie (linear, globulär, verzweigt, asymmetrisch) auf die Diffusion aus [68]. Hydrophobe und elektrostatische Interaktionen (z.B. DONNAN-Effekt) zwischen den Arzneistoffmolekülen und dem Keratinnetzwerk beeinflussen ebenfalls die Diffusion, da die Moleküle nicht nur entlang der Keratinfibrillen diffundieren, sondern auch in das Keratingerüst verteilt werden können [86].

Neben dem dominanten wässrigen Diffusionsweg wird für extrem lipophile Stoffe auch ein lipophiler Weg diskutiert, doch ist dieser von untergeordneter Bedeutung [82].

In Tabelle 3 sind abschließend die Eigenschaften von SC und Nagel gegenübergestellt.

Tabelle 3: Vergleich der Eigenschaften von humanem SC und Nagel (modifiziert nach [87]).

<i>Eigenschaft</i>	<i>SC</i>	<i>Nagel</i>
Dicke [µm]	10 - 40	50 - 1000
Disulfidbrücken [%]	1,2	10,6
Lipidgehalt [%]	10 - 20	0,1 - 1
nativer Wassergehalt [%]	25	7 - 12
vollständige Hydratation, Wassergehalt [%]	200-300	25
TEWL, TOWL* [mg cm ⁻² h ⁻¹]	0,56 / 1,17 - 3,35	1,94
Verhalten	lipophile Verteilungsmembran	konzentriertes Hydrogel

*TEWL, TOWL: transepidermaler bzw. transonychealer Wasserverlust

Die Verfügbarkeit humaner Nägel ist gering und die Variabilität vielfach zusätzlich durch pathologische Veränderungen gesteigert. MERTIN und LIPPOLD [69] postulierten eine empirische Gleichung (Gl. 2), die die Verwendung von bovinen Hufmembranen als Modell für humane Nägel auf eine mathematische Basis stellt, indem die Permeationskoeffizienten der beiden Barrieren korreliert werden:

$$\log P_N = 3,273 + 1,751 \log P_H \quad \text{Gl. 2}$$

P_N ist der Permeabilitätskoeffizient durch die humane Nagelplatte und P_H der Permeabilitätskoeffizient durch die bovine Hufmembran. Beide Koeffizienten sind in $[\text{cm s}^{-1}]$ angegeben.

Trotz dieser Zusammenhänge weisen beide Membranen Unterschiede auf. Hufkeratin ist wesentlich weitmaschiger als Nagelkeratin, so dass die Permeabilität von Molekülen weniger über Größenausschlussprozesse beeinflusst wird. Außerdem ist die Permeabilität des bovinen Hufs im Vergleich zum humanen Nagel stark erhöht (10- bis 30-fach) [69]. Abbildung 5 zeigt elektronenmikroskopische Aufnahmen von humanen Nägeln und bovinen Hufmembranen.

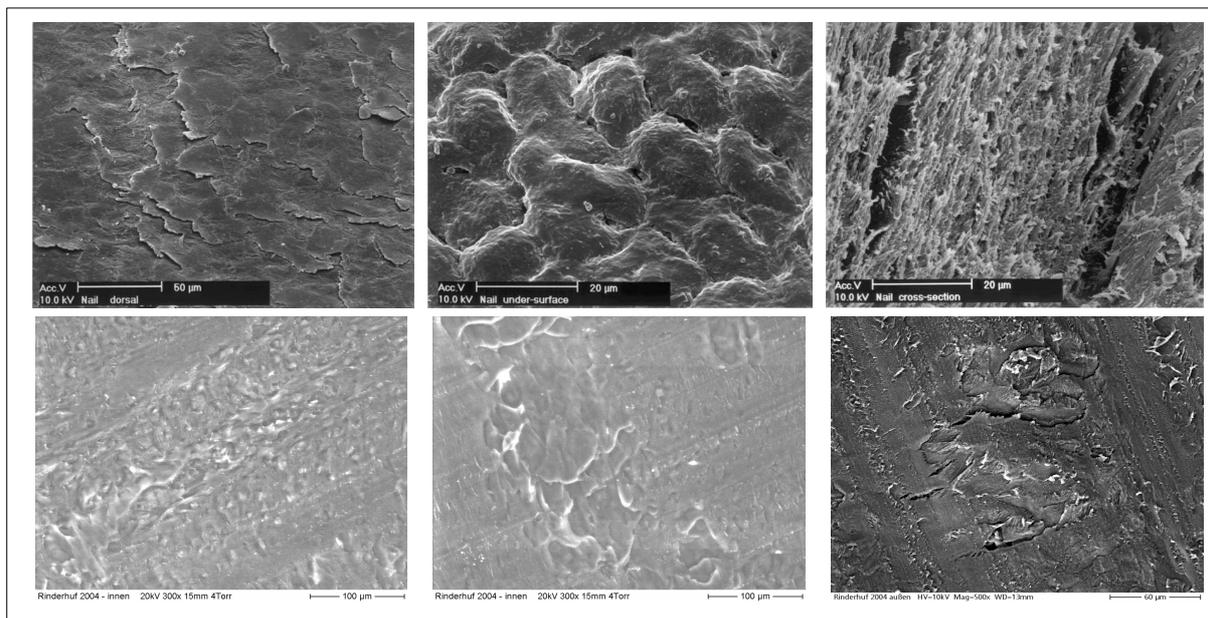


Abbildung 5: ESEM- und REM-Aufnahmen humaner Nägel (oben, [68]) und boviner Hufmembranen (unten).

Penetrations- und Permeationsstudien an menschlichen Nägeln oder bovinen Hufmembranen sind aufgrund der Eigenschaften dieser Membranen und den Anforderungen an die Arzneiform unter bestimmten Bedingungen durchzuführen. Essentiell dabei ist das Absichern der Hydratation der Membran während des gesamten Experiments. Im Gegensatz zu Studien mit SC ergibt sich das Problem, dass Dehydrationsprozesse sehr schnell ablaufen, da der TOWL größer ist als der TEWL (Tabelle 3). Auch die Quellbarkeit einiger therapeutischer Lacke ist zu bedenken. Die ersten Studien verwendeten getrocknete Membranen und sind somit kritisch zu betrachten [83]. Neuere Experimentanordnungen beruhen auf übersättigt-hydrierten Membranen. Je nach Versuchsaufbau wurden abgedeckte oder offene Donatoren verwendet. Auch die Temperatur variierte von 32°C zu 35°C oder gar 37°C [86]. Akzeptoren waren meist wässrige Medien, die entweder direkt verwendet wurden oder durch Poloxamergele [88] oder Wattebäusche [89-91] immobilisiert wurden. Als Medien dienten destilliertes Wasser, 40%

PEG 400 in Wasser [84] oder verschiedene Puffer, z.B. isotoner Phosphatpuffer mit Zusätzen wie 0,5% Brij[®] 58 [92] oder 0,02% Natriumazid [69] oder Boratpuffer pH 5 [93]. FRANZ-Diffusionszellen fanden als *on-line*- [94] und *off-line*-Methode Verwendung [69, 70]. Daran anschließende analytische Methoden spiegeln nahezu das gesamte zur Verfügung stehende analytische Spektrum wieder: Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) oder Gaschromatographie (GC) mit UV/Vis- oder Fluoreszenzdetektion, Infrarotspektroskopie (MIR), Szintigraphie (bei radiomarkierten Arzneistoffen) des Akzeptormediums oder der Membran nach dem Experiment, nach Mikrotomschnitten oder Abschleifen einzelner Membranschichten [68, 83].

Strukturanalysen mittels unterschiedlicher mikroskopischer Verfahren nach Behandlung mit Enhancern wurden ebenso durchgeführt [92, 95]. Nicht zuletzt sind mikrobiologische Studien zu erwähnen, die das Erreichen der minimalen Hemmkonzentration bei antimykotischen Wirkstoffen überprüften [96-99].

3.2 Künstliche Membranen

3.2.1 Dodecanol-Collodiummembranen

Dodecanol-Collodiummembranen (DCM) wurden bereits hinreichend beschrieben. Eine Mischung aus Dodecanol mit 10% Octanol ist in einer Collodiummatrix immobilisiert [72]. Sie repräsentieren als lipophile Verteilungsmembran das SC und werden vor allem für Freisetzungsmodelle, wie das Mehrschichtmembranmodell [53, 72, 100-103], genutzt. Auch als Penetrationsmodell findet die Membran vielfältige Verwendung [2, 104-107].

3.2.2 Modellmembranen aus *Stratum-corneum*-Lipiden

Membranen aus SC-Lipiden befinden sich derzeit im Fokus verschiedener Forschungsgruppen. Mit ihnen soll die Struktur der SC-Lipidmatrix nachgebildet werden. In Analogie zur nativen Matrix bestehen diese Modellmembranen aus Ceramid(en), Fettsäuren, Cholesterol (und Cholesterolderivaten). Cholesterol und Cholesterolsulfat erwiesen sich als essentiell für die Solubilisierung der Lipide, wobei Cholesterolsulfat die Phasenseparation von Cholesterol verringert [108-113].

Durch Veränderung der Lipidzusammensetzung, im Wesentlichen als Variation der Fettsäuren und Ceramide, werden die Einflüsse der Bestandteile auf die Ausbildung der Barriereigenschaften und Substrukturen untersucht. Vielfach werden Röntgen- und Neutronenstreuung zur Charakterisierung eingesetzt. Eine Übersicht über diese Studien findet sich in [114].

Als besonders wichtig für die Ausbildung der multilamellaren Bilayer haben sich unterschiedliche Ceramide herausgestellt, wobei Ceramid [AP] die Struktur der gebildeten Membran durch sich gegenüberliegende Moleküle in Haarnadel-Konformation (engl. *hair pin*) wesentlich bestimmt. Längerkettige Ceramide, wie Ceramid [EOS], müssen sich, z.T. in vollständig gestreckter Anordnung (engl. *ful extended*), in diese Struktur eingliedern und verstärken als molekularer Anker die Membranstabilität [115]. Abbildung 6 zeigt, basierend auf dem „*armature reinforcement model*“, die Modellvorstellung solcher Membranen.

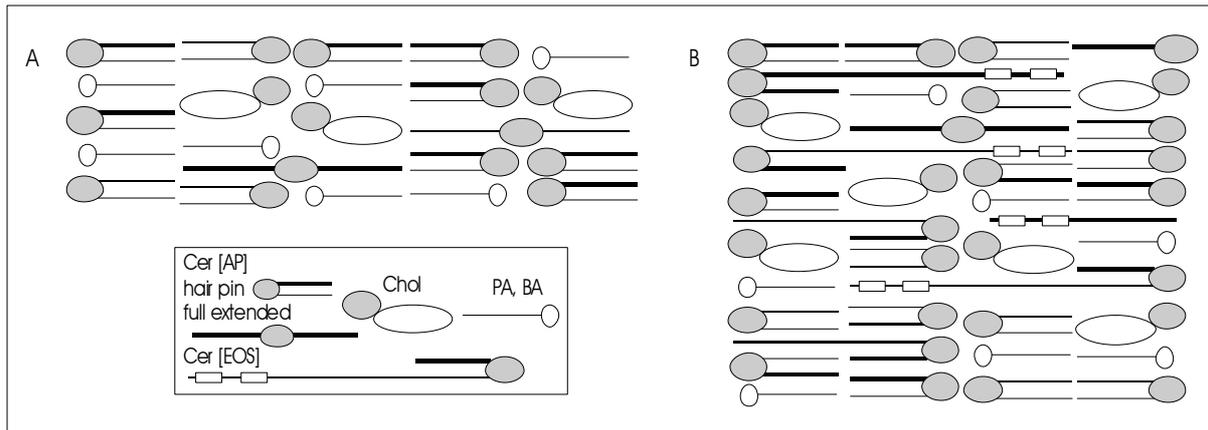


Abbildung 6: „*Armature reinforcement model*“ zur Beschreibung des schematischen Aufbaus von SC-Lipidmodellmembranen; A: Ceramid [AP]/Cholesterin/Palmitinsäure (Cer[AP]/Chol/PA = 55/30/15), B: Ceramid [EOS]/Ceramid [AP]/Cholesterin/Behensäure (Cer[EOS]/[AP]/Chol/BA = 23/10/33/33), modifiziert nach [116, 117].

Die Nomenklatur der Ceramide (Cer) beruht auf Buchstaben, die die Sphingoidbase (Sphingosin = S, Phytosphingosin = P, 6-Hydroxysphingosin = H, Dihydrosphingosin = DS) und die amidgebundene Fettsäure (nonhydroxy = N, α -Hydroxy = A, estergebundene ω -Hydroxyfettsäure = EO) charakterisieren. Die gebundenen Fettsäuren sind variabel in ihrer Kettenlänge; C24 und C26 kommen dabei dominierend vor [118-121]. Abbildung 7 zeigt die Strukturformeln der für die Lipidmembranen dieser Arbeit verwendeten Ceramide.

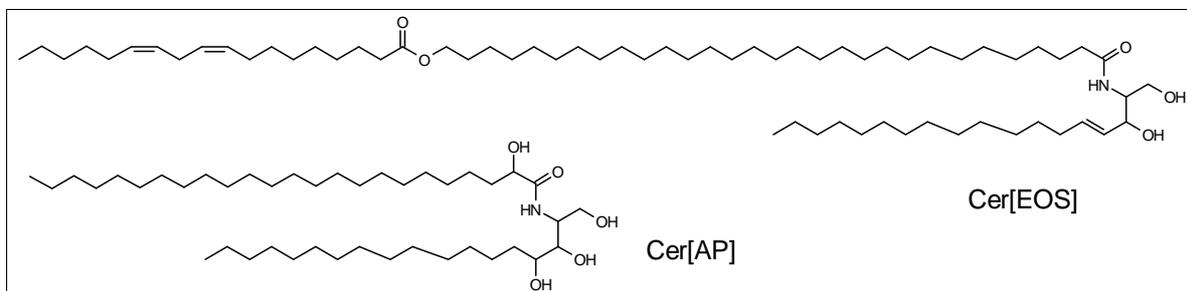


Abbildung 7: Strukturformeln der zur Präparation der Modellmembranen verwendeten Ceramide [EOS] und [AP].

Diffusionsexperimente mit solchen Lipidmodellmembranen wurden sporadisch beschrieben [122-129]. Auf zwei Studien soll hier näher eingegangen werden, weil sie für diese Arbeit größere Relevanz besitzen. GLOMBITZA [130] untersuchte die Permeation von Diclofenac-Natrium

und Ibuprofen-Lysinat aus wässrigen Lösungen sowie Hydrocortison aus Wasserhaltiger Hydrophiler Salbe DAB in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der Lipidmischungen der Membranen aus Ceraderm S[®], Ceramid [NS] und [NP], gesättigten und ungesättigten Fettsäuren und Cholesterol. Dafür wurden die Lipidmischungen durch verschiedene Schmelz-Zentrifugations-Zyklen bei 80°C hergestellt und unter denselben Bedingungen hydratisiert. Die Schmelze wurde in eine metallene Siebscheibe eingestrichen, die für die Permeationsstudien mittels FRANZ-Diffusionszelle auf beiden Seiten durch eine silikonisierte Dialysemembran abgeschirmt wurde, um Auswaschprozesse zu verhindern. Kritisch anzumerken ist die Auswahl der Ceramide, da Ceraderm S[®] eine Mischung verschiedener Sphingo- und Phospholipide aus porcinem Hirn ist und auch die zugesetzten Ceramide [NS] und [NP] nur geringen Einfluss auf die Ausbildung der typischen SC-Substrukturen zeigten. Der Einsatz silikonisierter Membranen als Auswaschutz zu beiden Seiten der eigentlichen Barriere ist problematisch, aber auch nachvollziehbar, da sich die Lipidmodellmembranen nicht stabil gegenüber möglichen Solubilisierungseffekten erwiesen haben.

Einen anderen Weg hat DE JAGER [131, 132] beschritten. Die Mischungen aus synthetischen Ceramiden (Cer [EOS], Cer [NS], Cer [NP], Cer [AS], Cer [AP]), freien Fettsäuren und Cholesterol, gelöst in Hexan/Ethanol 2/1, wurden *via Airbrush* unter Stickstoffatmosphäre auf einen Polycarbonatfilter aufgesprüht, getrocknet und bei 70°C für 10 min äquilibriert. Vor dem Permeationsexperiment wurden die Membranen 1 h mit Phosphatpuffer hydriert. Als Modellarzneistoffe dienten *para*-Aminobenzoesäure und zwei ihrer Derivate in wässriger Lösung. Es wurde postuliert, dass Cer [EOS] maßgeblich an der Ausbildung der Barriereigenschaften beteiligt ist.

Die als Basismischung in der vorliegenden Arbeit bezeichnete Mischung aus Ceramid [AP], Cholesterol (Chol), Palmitinsäure (PA) und Cholesterolsulfat (Chols) wurde bereits von ZBYTOVSKÁ [133] charakterisiert. Da aktuelle Studien den Einfluss von Ceramid [EOS] bei der Ausbildung der Lipidbarriere belegt haben, wurde eine weitere Lipidmischung, bestehend aus den Ceramiden [EOS] und [AP], Cholesterol und Behensäure (BA) verwendet [117].

4 Schwingungsspektroskopie

4.1 Grundlagen

Schwingungsspektroskopie basiert auf dem unterschiedlichen Schwingungs- und Rotationsverhalten der Atome eines Moleküls nach Anregung durch elektromagnetische Strahlung, wobei die Moleküle einen virtuellen Zustand erreichen und nicht in den angeregten Zustand (S_1) übergehen. Das Termschema in Abbildung 8 zeigt die möglichen

Schwingungszustände, auf denen die verwendeten Methoden - Infrarot (IR)- und RAMAN-Spektroskopie - aufbauen.

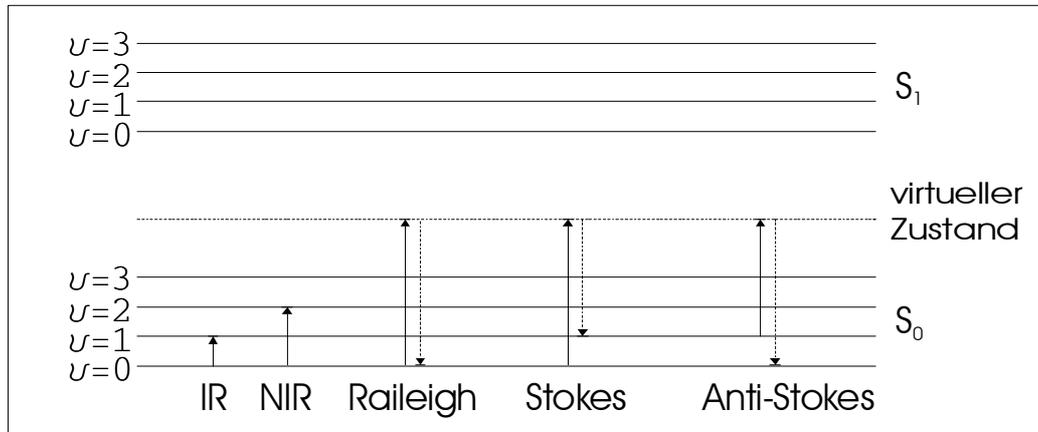


Abbildung 8: Energieniveauschema der Übergänge bei IR- und NIR-Absorption sowie die RAYLEIGH-, STOKES- und Anti-STOKES-Streuung; S_0 Molekülschwingungen des Grundzustandes, S_1 Molekülschwingungen des angeregten Zustandes, ν Schwingungsquantenzahl (modifiziert nach [134]).

Tabelle 4 stellt die wichtigsten Gemeinsamkeiten und Unterschiede von mittlerer (M) und naher (N) IR-Spektroskopie der RAMAN-Spektroskopie gegenüber [135, 136].

Tabelle 4: Eigenschaften schwingungsspektroskopischer Methoden (modifiziert nach [136]).

	<i>RAMAN-</i> <i>spektroskopie</i>	<i>MIR-</i> <i>Spektroskopie</i>	<i>NIR-</i> <i>Spektroskopie</i>
Wellenzahlbereich [cm^{-1}]	4000 – 10	4000 - 400	12500 - 4000
Schwingungsmodi	Grundschievingungen		Obertöne, Kombinationsmoden
Quelle	monochromatisch	polychromatisch	
Detektion der	Streuung	Absorption	
Strukturen	homonuclear	polare Gruppen	CH / OH / NH
Selektivität	hoch		gering
Proportionalität	$I_{\text{RAMAN}} \sim c$	LAMBERT-BEERsches Gesetz: $\log \frac{I_0}{I} = A = \epsilon cd$	

Position und Intensität der Schwingungsbande sind charakteristisch für die zugrunde liegende Schwingung. Nicht nur die Art der beteiligten Atome, auch die chemische Bindung, die Konformation und die direkte Umgebung gehen in das Schwingungsspektrum ein. Demzufolge ist ein Schwingungsspektrum eine Art Fingerabdruck der Probe. Die Auswertung der Spektren erfolgt anhand von empirischen Daten und mit Hilfe mathematischer Programme.

Zu weiteren Informationen und Grundlagen der Schwingungsspektroskopie sei auf die einschlägige Literatur [135-142] verwiesen.

4.2 Methoden

4.2.1 Abgeschwächte Totalreflexionsspektroskopie

FOURIER transform infrared (FTIR) *attenuated total reflection* (ATR) Spektroskopie beruht auf dem Effekt der abgeschwächten Totalreflexion. Daher wird bei der ATR-Spektroskopie ein speziell angeschliffenes Internes Reflexionselement (IRE) mit einem hohen Brechungsindex n_1 eingesetzt, auf dem sich die Probe (Brechungsindex n_2) in engem optischen Kontakt befindet. In den meisten Fällen ist dies ein 45° angeschliffener Zinkselenidkristall ($n_1 = 2,4$) [135]. Der totalreflektierte Lichtstrahl dringt eine kurze Strecke in die Probe ein und wird reflektiert, wobei es gleichzeitig zur Absorption von Strahlung durch die Probe kommt. Das ATR-Spektrum einer Probe gleicht weitgehend dem entsprechenden Transmissionsspektrum (Abbildung 9). Vorteile gegenüber dem Transmissionsspektrum ergeben sich aus weiteren Einflussgrößen wie Einfallswinkel des IR-Strahls, Wellenlänge und Refraktionsindices von IRE und Probe und führen zu höheren Intensitäten und einer besseren Auflösung im *Fingerprint*-Bereich (ca. 800 cm^{-1} bis 1800 cm^{-1}) [135].

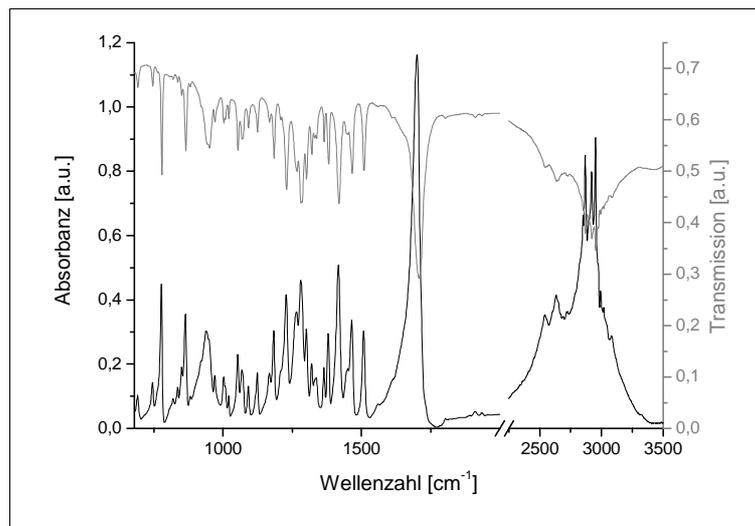


Abbildung 9: FTIR-ATR-Spektrum (schwarz) und Transmissionsspektrum (grau) von S-Ibuprofen.

Da die Eindringtiefe des IR-Strahls nur wenige Mikrometer beträgt, ist ein enger und über die gesamte Messzeit konstanter optischer Kontakt von essentieller Bedeutung. Gerade native Membranen weisen jedoch eine gewisse Oberflächenrauigkeit auf, die diesen engen Kontakt nicht gewährleistet. Auch durch penetrierende Substanzen können während der Messung Filme zwischen IRE und aufgetragener Membran entstehen, die eine sinnvolle Spektrenauswertung erschweren oder unmöglich machen. Daher wurde von HARTMANN *et al.* [54] eine Diffusionszelle entwickelt, die durch ihren Aufbau nicht nur einen engen Kontakt zwischen Probe und IRE garantiert, sondern außerdem die Möglichkeit einer separaten Kalibrierung bietet. **Abbildung 10** zeigt den herkömmlichen Messaufbau für Penetrationsexperimente und eine schematische

Darstellung der FTIR-ATR-Diffusionszelle. Ähnlich der FRANZ-Diffusionszelle befindet sich unter der Membran ein Akzeptorkompartiment, welches mit einem Medium entsprechend den Anforderungen des Experiments befüllt wird. Im Gegensatz zur FRANZ-Zelle sind im ungerührten Akzeptor keine *Sink*-Bedingungen realisierbar, da dieser ein sehr geringes Volumen aufweist und allein der Vermittlung des optischen Kontakts zur Membran dient. Daraus ergeben sich besondere Anforderungen an das Akzeptormedium, die im Verlauf der Arbeit weiter erläutert werden.

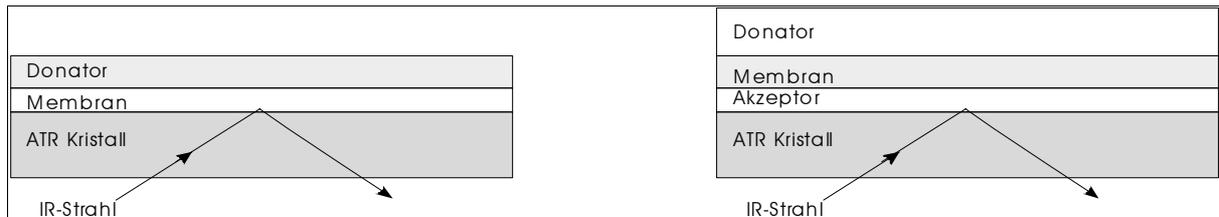


Abbildung 10: Konventioneller Messaufbau (links) und FTIR-ATR-Diffusionszelle (rechts), (modifiziert nach [35]).

4.2.2 Diffuse Reflexionsspektroskopie

Diffuse Reflexion Infrarot FOURIER Transformation Spektroskopie (DRIFT) kann für pulverförmige Proben oder Feststoffe mit großer Oberflächenrauigkeit eingesetzt werden und basiert auf der von KUBELKA und MUNK entwickelten Theorie zum Strahlungstransport in streuenden Medien [143]. Auf die Probe auftreffende Strahlung wird an der Probenoberfläche reflektiert oder dringt in die Probe ein und wird im Probeninneren absorbiert und zurück an die Probenoberfläche gestreut. Da im IR-Bereich die Streuung unabhängig von der Wellenzahl ist, ist das entstehende Spektrum proportional zum Absorptionsspektrum der Probe, wobei spektrale Bereiche mit geringer Absorption in ihrer Sensitivität verbessert werden. Um einen Großteil der von der Probe gestreuten Strahlung zu erfassen, haben sich unterschiedliche Messsysteme etabliert. Werden Ulbrichtkugeln vornehmlich im UV/Vis- und NIR-Bereich verwendet, sind bei Experimenten im MIR-Bereich Messaufbauten mit mehreren, die Probe umgebenden Spiegeln gebräuchlich (Abbildung 11) [135, 138].

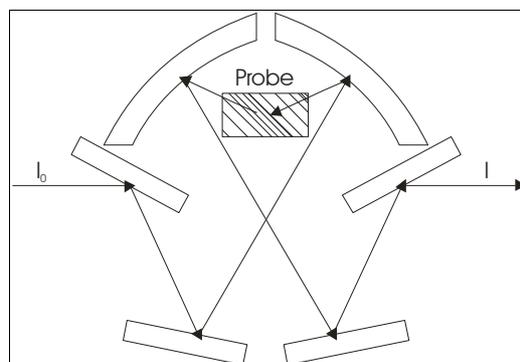


Abbildung 11: Schema der DRIFT Messeinheit *Praying Mantis* (Harrick Scientific, Ossining, New York, USA) zur Darstellung von Spiegelanordnung und Strahlengang mit I_0 einfallender Strahl, I reflektierter Strahl (modifiziert nach [144]).

DRIFT-Spektren sind von verschiedenen Parametern abhängig. Schon die Probenpräparation selbst hat einen großen Einfluss auf die Spektren, da die Reflektion nicht nur von der Partikelgröße und -form abhängig ist, sondern auch von der Packungsdichte und der makroskopischen Probenoberfläche [135]. Daher sind eine sorgfältige und reproduzierbare Probenpräparation und möglichst konstante Messbedingungen unabdingbar. Für Messungen im MIR, wie sie in dieser Arbeit verwendet wurden, werden die Proben mit KBr stark verdünnt (Konzentration des Analyten ca. 0,1%). Trotz dieser Verdünnung nehmen im *Fingerprint*-Bereich die Bandenintensitäten zu und die Linienbreiten ab, so dass sich die DRIFT zur Quantifizierung arzneistoffbeladener Aerogele anbietet. Dies wird in Abbildung 12 deutlich. Hier sind ATR-, DRIFT-, und photoakustisches Spektrum eines ibuprofenbeladenen Aerogels gegenübergestellt. Nachteile sind die bereits erwähnte, äußerst sorgfältig durchzuführende und aufwändige Probenvorbereitung und die Hygroskopizität des Dilutionsmittels KBr. Letztere beeinflusst nicht nur die Probenpräparation, sondern die Messung selbst.

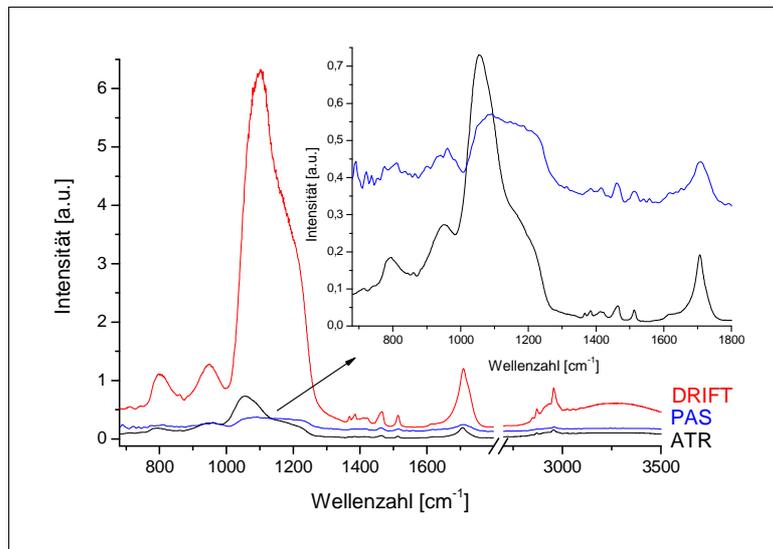


Abbildung 12: Vergleich der FTIR-ATR-, FT-PAS_{195 Hz}- und DRIFT-Spektren eines ibuprofenbeladenen Aerogels.

4.2.3 Photoakustische Spektroskopie

Photoakustische Spektroskopie (PAS) beruht auf der Detektion akustischer Wellen nach Absorption intensitätsmodulierter oder gepulster Strahlung durch eine Probe [145]. Durch die Absorption der Strahlung entsteht eine Wärmewelle in der Probe, die sich darin ausbreitet und beim Übertritt von der Probenoberfläche in den die Probe umgebenden gasgefüllten Raum eine Druckänderung verursacht, die als akustische Welle mittels eines hochempfindlichen Mikrophons detektiert wird (Abbildung 13) [146, 147].

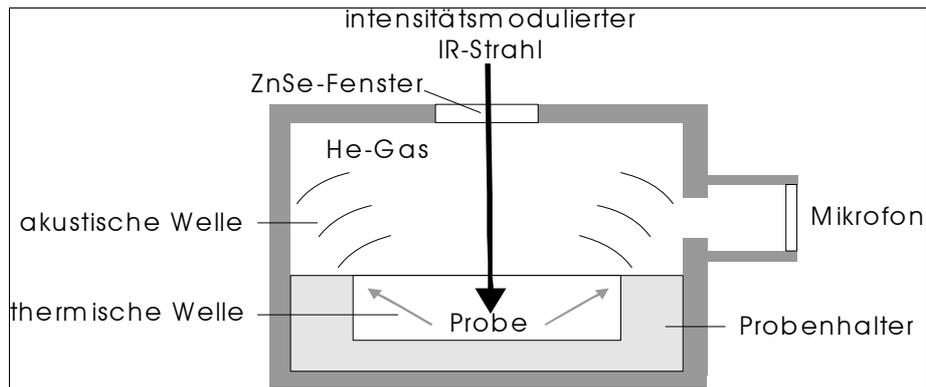


Abbildung 13: Schematische Darstellung einer photoakustischen Messzelle (modifiziert nach [148]).

Im Fall der Verwendung intensitätsmodulierter Strahlung wird die Strahlung aus dem Interferogramm eines FTIR-Spektrometers generiert. Die Modulationsfrequenz bestimmt die Eindringtiefe des IR-Strahls von wenigen μm bis hin zu $100\ \mu\text{m}$. Durch Verwendung verschiedener Modulationsfrequenzen wird ein Tiefenprofil der Probe erstellt. Neben der Modulationsfrequenz der Anregungsstrahlung bestimmen die optischen und thermischen Eigenschaften der Probe das entstehende Spektrum [146].

4.2.4 NIR-Spektroskopie

Auf den ersten Blick unterscheiden sich NIR-Spektren von MIR-Spektren neben den Wellenzahlbereichen vor allem durch die breiten, weniger scharf getrennten Banden, die durch Oberton- und Kombinationsschwingungen der Grundschiebungen der Moleküle entstehen. Nur wenige funktionelle Gruppen sind NIR-aktiv, so dass ein NIR-Spektrum besonders auf OH-, NH- und CH-Schwingungen beruht. Demzufolge ist die strukturelle Selektivität geringer als bei entsprechenden Spektren der MIR- oder RAMAN-Spektroskopie. Ein weiteres Problem der NIR-Spektroskopie ist die geringe Intensität der zugrunde liegenden Schwingungen, da von Grund- zu Obertonschwingung und von Oberton zu Oberton die Intensitäten um einen Faktor zwischen 10 und 100 abnehmen [137, 149].

Im Gegensatz zu den anderen spektroskopischen Methoden liegt der Anwendungsschwerpunkt im Bereich der quantitativen Analytik meist in der Kombination mit entsprechenden chemometrischen Verfahren. Diese haben den Vorteil, dass nicht nur einzelne Informationen des Spektrums, wie z.B. die Bandenintensität/-fläche, sondern mehrere Variablen zur Auswertung herangezogen werden. Gerade bei Mehrkomponentensystemen mit sich überlagernden Banden haben diese multivariaten Methoden ihre Eignung bewiesen. Die Verwendung großer Kalibrierungssätze mit verschiedenen Varianzfaktoren ist im Vergleich zur klassischen univariaten Kalibrierung unerlässlich. In [150] ist eine kritische Übersicht der Einsatzmöglichkeiten der NIR-Spektroskopie mit dem Schwerpunkt auf der Anwendung in der pharmazeutischen Technologie zu finden.

4.2.5 FT-RAMAN-Spektroskopie

Grundlage der RAMAN-Spektroskopie ist der sogenannte RAMAN-Effekt. Dieser tritt als Nebeneffekt von Transmission, Absorption und Fluoreszenz auf, wenn eine Probe mit monochromatischer Strahlung bestrahlt wird und ist gekennzeichnet durch eine Änderung der Frequenz im Vergleich zur Anregungsfrequenz. Entweder wird Energie durch die Lichtquanten an das Molekül abgegeben oder bereits angeregte, schwingende Moleküle übertragen Energie an die Anregungsstrahlung. RAMAN-Linien treten daher zu beiden Seiten der RAYLEIGH-Linie auf und werden als intensivere STOKES-Linie oder Anti-STOKES-Linie (kurzwellige Seite) bezeichnet [Abbildung 8].

Da der RAMAN-Effekt sehr schwach ist, werden zur Anregung Laser verwendet, die eine hohe Intensität besitzen, z.B. Ar⁺-Laser (514,5 nm oder 488,0 nm) oder der in dieser Arbeit verwendete Nd:YAG-Laser (1064 nm).

RAMAN-Aktivität beruht auf der Veränderung der Polarisierbarkeit eines Moleküls im Schwingungszustand, so dass vor allem symmetrische Schwingungen und unpolare Bindungen durch die RAMAN-Spektroskopie beschrieben werden. In vielen Fällen ist sie komplementär zur IR-Spektroskopie [136, 142].

Die Anwendungsmöglichkeiten der RAMAN-Spektroskopie sind vielseitig. Sie kann zur Strukturanalyse herangezogen werden, ebenso wie zu Konformations-, Modifikations- und Isomerenuntersuchungen. Beim Studium von Rekristallisationen oder polymorphen Umwandlungen, von Entmischungstendenzen in festen Arzneiformen oder bei Lagerungsexperimenten ist diese Methode etabliert [148, 151-154]. Die Untersuchung und Charakterisierung aliphatischer Kohlenwasserstoffketten, wie sie z.B. in Hautlipiden vorkommen, wird in Kombination mit anderen Methoden (Röntgenstreuung und Neutronenstreuung sowie Dynamische Differenzkalorimetrie DSC) durchgeführt [155, 156]. Mit Hilfe geeigneter Temperieraufbauten sind temperaturabhängige Messungen möglich, die neben DSC-Experimenten Auskunft über das Phasenverhalten der Lipide geben [133, 157, 158].

C Experimenteller Teil

Eine tabellarische Übersicht der verwendeten Substanzen und ihrer Hersteller befindet sich im Anhang in Tabelle 31.

1 Herstellung hydrophiler Silica-Aerogele

Die Herstellung der verwendeten hydrophilen Silica-Aerogele (AE) erfolgte nach dem in [1] beschriebenen Verfahren. Dazu wurde zunächst Tetramethylorthosilicat (TMOS) in eine salzsaure Methanol-Wasser-Mischung (TMOS/CH₃OH/H₂O/HCl = 1 mol/2,4 mol/1,3 mol/1·10⁻⁵ mol) gegeben und gerührt. Nach 30 min wurden Wasser und Ammoniaklösung hinzugefügt, um folgende Konzentrationen zu erreichen: TMOS/CH₃OH/H₂O/HCl/NH₄OH = 1 mol/2,4 mol/4 mol/1·10⁻⁵ mol/1·10⁻² mol. Die nachfolgende Verdünnung mit Acetonitril bestimmt die Dichte des resultierenden AE. Die Mischung wurde in Formen gefüllt und geliert. Nach einer 12-stündigen Alterung des Lyogels wurde dieses in einen Autoklaven überführt und das Lösemittel überkritisch mit Hilfe von CO₂ extrahiert (24 h/40°C/100 bar). Die sich anschließende Trocknung des entstandenen AE bei 130°C im Trockenschrank diente der Entfernung möglicher Wasserreste.

Es wurden AE mit einer Dichte von 0,04 g cm⁻³ und 0,08 g cm⁻³ verwendet.

2 Beladung hydrophiler Silica-Aerogele mit verschiedenen Arzneistoffen

Die Beladung der AE mit den verschiedenen Arzneistoffen erfolgte ausschließlich durch Adsorption aus Lösungen in überkritischem CO₂. Dafür wurde das nach Kapitel C 1 hergestellte AE grob zerkleinert und in einem Metallkörbchen wieder in den Autoklaven eingebracht. Der zu adsorbierende Arzneistoff wurde ebenfalls gewogen, in Filterpapier eingepackt und in den Autoklaven gelegt. Durch Zugabe von CO₂ bei 40°C und Druckerhöhung bis 185 bar wurde der Arzneistoff in dem überkritischen Gas gelöst und so mit dem AE in Kontakt gebracht. Nach der entsprechenden Beladungszeit (72 h) wurde das System entspannt, das beladene AE entnommen und gewogen. Auch die Filterpapierpackchen wurden zurückgewogen. Die beladenen AE wurden in einer Kugelmühle zerkleinert und im Exsikkator über Blaugel bei Raumtemperatur bis zu ihrer Verwendung gelagert. In Tabelle 5 sind für die verwendeten Arzneistoffe die Löslichkeit in überkritischem CO₂ und die durchschnittliche Beladung der AE aufgeführt.

Tabelle 5: Löslichkeit der verwendeten Arzneistoffe in überkritischem CO₂ bei 40°C/185 bar und durchschnittliche Beladung der Aerogele.

<i>Arzneistoff</i>	<i>Löslichkeit [%, m/m] in überkritischem CO₂</i>	<i>Aerogeldichte [g cm⁻³]</i>	<i>Beladung [%, m/m]</i>
Dithranol	0,046 ± 0,0001*	0,04	7 - 10
S-Ibuprofen	0,976 ± 0,0001*	0,04 0,08	12 - 40
rac-Ibuprofen	n.d.	0,04	30 - 40
Metronidazol	0,122 ± 0,0001	0,04	10 - 12
Nifedipin	0,109 ± 0,0001	0,04	12 - 15

* nach [3]

3 Bestimmung der Arzneistoffkonzentration der beladenen Aerogele

Eine erste Gehaltsbestimmung der beladenen AE erfolgte unter Berücksichtigung der Ein- und Auswaagen der Beladungsprozedur. Im Anschluss wurden verschiedene analytische, vorwiegend spektroskopische Methoden durchgeführt und auf ihre Eignung geprüft.

3.1 UV/Vis-Spektroskopie

Zu Quantifizierung mittels UV/Vis-Spektroskopie wurden die beladenen AE zerkleinert und genau gewogen in einer definierten Menge Acetonitril dispergiert 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Gehaltsbestimmung der Arzneistofflösungen erfolgte nach Filtration und ggf. Verdünnung mit einem UV/Vis-Spektrometer Lambda 650 (Perkin Elmer, Überlingen, Deutschland) bei einer für den jeweiligen Arzneistoff geeigneten Wellenlänge. Dithranol wurde bei 370 nm bestimmt, Ibuprofen bei 220 nm, Metronidazol bei 320 nm und Nifedipin bei 236 nm.

3.2 Elementaranalyse

An ausgewählten AEIbu wurde Elementaranalyse mit einem CHNS/O Analysator 2400 Serie II von Perkin Elmer (Überlingen, Deutschland) durchgeführt. Dazu wurden 2-3 mg pulverisierte Probe in eine Zinnkapsel eingebracht und über 900°C in einem Sauerstoffstrom erhitzt. Nach abgeschlossener Veraschung bei Temperaturen über 1800°C wurde die gasförmige Probe mittels Heliumgas durch ein Reduktionsrohr geleitet und gaschromatographisch getrennt. Detektion und Quantifizierung erfolgten durch einen thermischen Leitfähigkeitsdetektor.

3.3 Schwingungsspektroskopische Methoden

Die Probenpräparation erfolgte für DRIFT, NIR- und FT-RAMAN-Spektroskopie gleichermaßen. Das durch die Verwendung der DRIFT vorgegebene Verdünnen der Proben mit KBr wurde durch Mischen und Zerkleinern von getrocknetem KBr, AE und dem jeweiligen

Arzneistoff bzw. dem beladenen AE in entsprechenden Mengen in einem Achatmörser durchgeführt. Um Einflüsse durch unterschiedliche Pulverfeinheiten auszuschließen, wurden alle Proben 5 min unter häufigem Abschaben und mit möglichst konstantem Druck gemörsert. Stichproben wurden mikroskopiert (Zeiss Axiolab Mikroskop, Jena, Deutschland), um Homogenität und Feinheit zu prüfen. Die so hergestellten Proben wurden für mindestens 12 h im Exsikkator über CaCl_2 unter Vakuum gelagert.

Die Erstellung der entsprechenden Kalibrationsmethoden erfolgte unter Zuhilfenahme der multivariaten und univariaten Analyse der OPUS 5.5 Software (Bruker Optik, Ettlingen, Deutschland). Bei allen Berechnungen wurde der Arzneistoffgehalt zum einen auf den Aerogelgehalt der Probe bezogen, zum anderen wurde die Gesamtmasse der Probe zugrunde gelegt.

DRIFT

Hierfür wurde das FTIR-Spektrometer IFS 28 (Bruker Optik, Ettlingen, Deutschland) mit einer *Selector Diffuse Reflectance* Einheit (Specac, Orpington, Großbritannien) ausgestattet. Die zylindrische Probenhalterung, Durchmesser 4 mm, wurde mit der jeweiligen Probe plan befüllt, in die Messeinheit eingebracht und nach angemessener Spülung mit trockener Luft (Spülzeit zwischen 120 s und 300 s) das DRIFT-Spektrum aufgezeichnet.

NIR-Spektroskopie

NIR-Spektroskopie wurde an einem Spektrometer Vector 22/N von Bruker Optik (Ettlingen, Deutschland) im Reflektionsmodus durchgeführt. Als Probengefäße dienten Spiegelglasgefäße.

FT-RAMAN-Spektroskopie

RAMAN-Spektroskopie zur Gehaltsbestimmung wurde an einem FT-RAMAN-Spektrometer RFS 100/S (Bruker Optik, Ettlingen, Deutschland) durchgeführt. Die Anregung erfolgte mit 1064 nm (Nd:YAG-Laser) und einer Leistung von 370 mW. Die Proben wurden in Aluminiumpfännchen eingebracht.

In Tabelle 6 sind die Parameter der Methoden aufgeführt.

Tabelle 6: Parameter der schwingungsspektroskopischen Methoden zur Gehaltsbestimmung arzneistoffbeladener Aerogele.

	<i>DRIFT</i>	<i>NIR- Spektroskopie</i>	<i>RAMAN- Spektroskopie</i>
Arzneistoff	Ibuprofen, Metronidazol, Nifedipin	Ibuprofen, Metronidazol, Nifedipin	Ibuprofen
Scan-Anzahl	64	64	200
durchschnittliche Messzeit [s]	100 + Spülzeit	38	> 350
Apodisationsfunktion	BLACKMAN-HARRIS-3-Term	BLACKMAN-HARRIS-3-Term	BLACKMAN-HARRIS-4-Term
Zerofilling-Faktor	2	2	2
Phasenauflösung [cm⁻¹]	128	128	128
Phasenkorrekturmodus	MERTZ	Power Spektrum	Power Spektrum
Auflösung [cm⁻¹]	2	2	4

Kalibrierungen sind durch unterschiedliche Parameter gekennzeichnet. Die für multivariate Analysen erforderliche Angabe der Spektrenanzahl und zugehörigen Probenanzahl werden bei jeder Methode ebenso aufgeführt, wie die eigentlichen Parameter Bestimmungskoeffizient R^2 ¹, Rang der Methode und mittlerer Vorhersagefehler (RMSECV, engl. *root mean square error of cross validation*²). Nachweisgrenze (LOD, engl. *limit of detection*) und Bestimmungsgrenze (LOQ, engl. *limit of quantification*) wurden in Anlehnung an DIN 32645 mit Hilfe der jeweiligen Blindspektren, d.h. der Probe ohne Analyten und der linearen Regressionsgerade der Kalibrationsfunktion berechnet. Diese Berechnungen basierten auf einem Signal-zu-Rausch-Verhältnis von 3:1 (LOD) und 10:1 (LOQ).

4 Schwingungsspektroskopische Charakterisierung ibuprofenbeladener Aerogele

Verschiedene schwingungsspektroskopische Methoden wurden zur Charakterisierung der AEIbu eingesetzt.

Spektren monolithischer und gemahlener AEIbu wurden mit den entsprechenden Spektren der jeweiligen Reinstoffe sowie der geschmolzenen Ibuprofene verglichen.

RAMAN-spektroskopische Untersuchungen wurden an einem FT-RAMAN-Spektrometer RFS 100/S (Bruker Optik, Ettlingen, Deutschland; Anregungswellenlänge 1064 nm, Leistung

¹ Bestimmungskoeffizient $R^2 = \left(1 - \frac{\sum (Differ_i)^2}{\sum (y_i - y_m)^2}\right) \times 100$ mit $Differ = Y_i^{meas} - Y_i^{prod}$, der Differenz zwischen gemessenem Konzentrationswert und vorhergesagtem Konzentrationswert der Probe i [159].

² Wurzel des mittleren Fehlerquadrates $RMSECV = \sqrt{\frac{1}{M} \sum_{i=1}^M (Differ_i)^2} = \sqrt{\frac{1}{M} PRESS}$ mit $PRESS = \sum_{i=1}^M (Differ_i)^2$ [159].

400 mW) durchgeführt. Dafür wurde die Probe entweder in ein Aluminiumpfännchen eingebracht, direkt im Strahlengang vor reflektierender Aluminiumfolie gehalten, oder in ein Reagenzglas mit verspiegelter Rückwand präpariert. Die Spektren wurden mit unterschiedlichen *Scan*-Zahlen aufgezeichnet, wobei sich die Mittlung von 400 *Scans* als vorteilhaft herausstellte. Für Referenzmessungen zum Schmelzverhalten der Reinstoffe, bei denen temperaturabhängig RAMAN-Spektren gewonnen wurden, wurden die Proben in NMR-Röhrchen gefüllt, diese in einem Thermostatblock aus Teflon gehalten und bei jeder Temperatur nach 15-minütiger Äquilibrationszeit mit 200 *Scans* gemessen.

Die FTIR-ATR- und PAS-Spektren wurden an einem FTIR-Spektrometer IFS 28 (Bruker Optik, Ettlingen, Deutschland) aufgenommen. Dafür wurden die Proben auf eine *Miracle* ATR-Einheit (Pike Technologies, Madison, WI, USA) mit einem Zinkselenidkristall (Durchmesser 1,3 mm) aufgetragen. Feststoffe wurden, um einen guten optischen Kontakt zu gewährleisten, angepresst. PAS wurde im *Step-Scan*-Modus bei folgenden Modulationsfrequenzen durchgeführt: 11 Hz, 45 Hz, 91 Hz, 195 Hz. Als Detektor diente eine PAC 300 (MTEC Photoacoustics, Ames, I, USA).

Die wichtigsten Parameter der drei Methoden sind in Tabelle 7 zusammengestellt.

Tabelle 7: Parameter der Methoden zur schwingungsspektroskopischen Charakterisierung von ibuprofenbeladenen Aerogelen (Dichte 0,04 g cm⁻³).

<i>Parameter</i>	<i>FTIR-ATR-Spektroskopie</i>	<i>PAS</i>	<i>RAMAN-spektroskopie</i>
<i>Scan-Anzahl</i>	32	10 Step-Scan Ko-additionen	400 und 200
<i>Akquisitionsmodus</i>	doppelseitig, vorwärts-rückwärts		
<i>Apodisationsfunktion</i>	BLACKMAN-HARRIS-3-Term	NORTON-BEER, Medium	BLACKMAN-HARRIS-4-Term
<i>Zerofilling-Faktor</i>	2	2	2
<i>Phasenauflösung</i> [cm ⁻¹]	128	80	128
<i>Phasenkorrekturmodus</i>	MERTZ	MERTZ	<i>Power</i> Spektrum
<i>Auflösung</i> [cm ⁻¹]	2	10	4

5 Feste Arzneiformen

5.1 Tablettierung von Aerogelen

Die Tablettierung der verschiedenen Mischungen erfolgte an einer KORSCH Exzenterpresse (Korsch, Berlin, Deutschland). Das Tablettengewicht betrug 300 mg. Die Einstellung der Presskraft erfolgte anhand der gewünschten Bruchfestigkeit von 60 N bis 70 N.

Zur Tablettierung wurden die Arzneistoffe Ibuprofen und Nifedipin eingesetzt. Die Tablettiermischungen bestanden aus dem jeweiligen Arzneistoff (Ibu, Nif), AE,

arzneistoffbeladenem AE (AEIbu, AENif) oder Aerosil® (Aer) mit Mikrokristalliner Cellulose (MCC) oder/und α -Lactose-Anhydrat (Lac) in verschiedenen Verhältnissen.

Tabletten mit AEIbu bzw. AE+Ibu und MCC als Hilfsstoff wurden bei 57% relative Feuchte oder über Blaugel für 12 Tage gelagert. Ansonsten wurden die Tabletten bei Raumtemperatur im Exsikkator über Blaugel aufbewahrt.

Die Tablettenhärte wurde in Form der Druckfestigkeit mit einem Bruchfestigkeitsprüfer (ERWEKA, Heusenstamm, Deutschland) bestimmt.

Die Bestimmung der Zerfallszeit nach Ph.Eur. [160] erfolgte mit Hilfe eines Zerfallstesters von ERWEKA (Heusenstamm, Deutschland) in destilliertem Wasser bei $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Als Endpunkt wurde der Zeitpunkt gewählt, zu dem kein Rückstand mehr auf dem Siebboden verblieb.

Beispielhaft ($n = 2$) wurde der Zerfall in Wasser bzw. Puffer pH 7 von Tabletten aus Lac/MCC 1/3 und 0, 30% oder 50% AE mit $^1\text{H-NMR-Imaging}$ (Benchtop-NMR-Spektrometer 20 MHz mit 3D-*Imaging*-Einheit und Temperaturregung, Oxford Instruments, Abingdon, Großbritannien) untersucht. Die Bruchfestigkeit der verwendeten Tabletten betrug durchschnittlich 65 N.

Ausgewählte Tabletten und Tablettiermischungen wurden an einem FT-RAMAN-Spektrometer RFS 100/S (Bruker Optik, Ettlingen, Deutschland) mit einer Anregung von 1064 nm untersucht. Die Probenparameter sind in Tabelle 6 aufgeführt. Alle Messungen erfolgten als Doppelbestimmung mit 200 *Scans* bei einer Laserleistung von 330 mW oder 370 mW. Tabletten wurden frei stehend gehalten und Spektren von Ober- und Unterseite und der Bruchfläche aufgezeichnet. Die Tablettiermischungen wurden vor der Messung in Aluminiumpfännchen gefüllt.

5.2 Freisetzungsexperimente fester Arzneiformen

Die Freisetzungsexperimente nach der *Paddle*-Methode (Ph.Eur. 6, [160]) erfolgten an einer automatischen Freisetzungsvorrichtung Pharmatest PTWS 310 (Hainburg, Deutschland) mit einem UV/Vis Spektrometer SA 500, das mit Durchflussküvetten ausgestattet war. Die Pumprate betrug 5 ml min^{-1} . Steuerung und Datenaufzeichnung erfolgten mit der ARGUS Dissolution-Software (Solvias AG, Basel, Schweiz). Als Freisetzungsmitteln dienten 0,1 N-HCl oder Phosphatpuffer nach SÖRENSEN pH 7.

Das Lösungs- und Freisetzungsverhalten kristalliner Arzneistoffe und beladener AE wurde untersucht, indem ibuprofenhaltige Proben direkt in das Medium - 0,1N-HCl - gegeben und nach 2 h der pH-Wert durch Zugabe von $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ auf pH 7 angehoben wurde. Als Proben dienten je 50 mg S-Ibuprofen oder racemisches Ibuprofen oder eine äquivalente Menge AEIbu mit einer Dichte von $0,04 \text{ g cm}^{-3}$ oder $0,08 \text{ g cm}^{-3}$. Die Beladung betrug 20% und 36% (Dichte $0,04 \text{ g cm}^{-3}$) oder 21% und 40% (Dichte $0,08 \text{ g cm}^{-3}$). 200 mg gering beladenes oder 100 mg

höher beladenes AEIbu wurden eingesetzt. 10 mg, 20 mg, 40 mg und 60 mg Nifedipin sowie 50 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg und 500 mg AENif (Dichte $0,04 \text{ g cm}^{-3}$, 15% Nifedipin) wurden direkt in Puffer pH 7 gegeben.

Eine Zusammenfassung der Parameter der Freisetzungs- und Löslichkeitsexperimente findet sich in Tabelle 8. Darin sind auch die entsprechenden Angaben für die Freisetzungsexperimente der unterschiedlichen Tabletten ersichtlich.

Tabelle 8: Parameter der Freisetzungsexperimente.

<i>Proben</i>	<i>Medium/ Volumen</i>	<i>Rühr- geschwindigkeit</i> [rpm]	<i>Küvettenlänge</i> [mm]	<i>Wellenlänge UV/Vis-Detektion</i> [nm]
Ibuprofen				
AEIbu, Ibu	0,1 N-HCl, pH 7/ 900 ml	100	1	264
MCC-Tabletten	0,1 N-HCl / 900 ml	100	1	264
MCC-Tabletten nach Lagerung	0,1 N-HCl / 500 ml	100	1	264
Lac/MCC- Tabletten	pH 7 / 500 ml	50	10	254
Nifedipin				
AENif, Nif	pH 7 / 500 ml	50	10	238
Lac/MCC- Tabletten	pH 7 / 500 ml	50	10	238

6 *Halbfeste Formulierungen zur kutanen Anwendung*

Die für die einzelnen Arzneistoffe gewählten halbfesten Formulierungen werden im Folgenden kurz dargestellt.

Dithranol

Als Grundlagen dienten weißes Vaseline (Vas) und Hydrophile Salbe DAB [161] mit modifiziertem Paraffin/Vaseline-Verhältnis (mHS). Diese wurde durch Aufschmelzen und Kaltrühren von 45% flüssigem Paraffin, 25% weißem Vaseline und 30% Emulgierendem Cetylstearylalkohol Typ A hergestellt. Ebenso wurde die Rezeptur NRF 11.53 „Dithranol-Macrogolsalbe“³ in die Untersuchungen einbezogen. 0,5% Dithranol wurden in die jeweiligen Grundlagen eingearbeitet, wobei bei modifizierter Hydrophiler Salbe 5% AEDT eingesetzt wurden, um diesen Arzneistoffgehalt zu erreichen.

³ Hydrophile Salbengrundlage NRF 11.53: Propylenglycol 25%, PEG 400 25%, PEG 1000 25%, PEG 1500 25% [62].

Ibuprofen

Für die Freisetzungsexperimente wurden verschiedene halb feste Vehikel verwendet. 8 mg AEIbu oder 30 mg kristallines Ibuprofen, jeweils genau gewogen, wurden auf das Vehikel aufgetragen. Als Salbengrundlagen dienten Hydrophile Salbe DAB⁴, PEG-Salbe DAC⁵, Hydrophile Salbengrundlage NRF 11.53, Unguentum cordes^{®6} (UC). Die PEG-Salben wurden durch Aufschmelzen der Einzelbestandteile und Kaltrühren hergestellt. Folgende Cremegrundlagen wurden ebenso betrachtet: Basiscreme DAC⁷ (BC), Wasserhaltige Hydrophile Salbe DAB mit 50% und 70% Wasser, Unguentum cordes[®] mit 50% Wasser. Die Wassereinmischung erfolgte durch Aufschmelzen der jeweiligen Grundlage und anschließendem Kaltrühren.

Polyacrylatgele wurden gemäß NRF 13.2 aus 20% Propylenglycol (PrG), 1% Polyacrylsäure, 0,6% Trometamol und 78% Wasser hergestellt [62]. Ausgehend von dieser Zusammensetzung wurden der PrG- und der Trometamolgehalt variiert.

Ebenso wurde Gel cordes[®] (GC), ein Poloxamergel, bestehend aus PrG, Poloxamer 407, Natriummonohydrogenphosphat-Dihydrat, wasserfreier Citronensäure und Wasser, verwendet [162]. Für Penetrationsstudien wurden in dieses jeweils 5% S-Ibuprofen, rac-Ibuprofen oder AEIbu verschiedener Dichten und Ibuprofengehalte eingearbeitet. AEIbu mit der Dichte 0,04 g cm⁻³ waren mit 12% bzw. 36% S-Ibuprofen (UV/Vis-spektrometrische Bestimmung) beladen, AEIbu der Dichte 0,08 g cm⁻³ mit 38% S-Ibuprofen (UV/Vis-spektrometrische Bestimmung) beladen.

Metronidazol

Folgende Grundlagen wurden für Freisetzungs- und Penetrationsstudien mit Metronidazol verwendet: Basiscreme DAC (BC, [62]), modifizierte Basiscreme, Linimentum aquosum SR und Metrocreme^{®8} (MC, Galderma Laboratorium GmbH, Bruchsal, Deutschland).

Modifizierte Basiscreme (mBC) wurde durch Mischen äquivalenter Mengen von Basiscreme DAC und Wasser/PrG (4/1) erhalten. Dadurch konnte der ursprüngliche Gehalt an wässriger Phase von 50% auf 75% erhöht werden. Linimentum aquosum SR NRF 11.92 (Lini, [62]) wurde

⁴ Hydrophile Salbe DAB: weißes Vaseline 35%, dünnflüssiges Paraffin 35%, Emulgierender Cetylstearylalkohol Typ A 30% [161].

⁵ PEG-Salbe DAC: PEG 400 50%, PEG 1500 50% [62].

⁶ Unguentum cordes[®]: Macrogolstearat, Glycerolmonostearat 40-50%, Sorbitanmonostearat, dickflüssiges Paraffin, Vaseline [162].

⁷ Basiscreme DAC: Glycerolmonostearat 60 4%, Cetylalkohol 6%, Mittelkettige Triglyceride 7,5%, weißes Vaseline 25,5%, Macrogol-20-glycerolmonostearat 7%, Propylenglycol 10%, Wasser 40% [62].

⁸ Emulgierendes Wachs (Cetylstearylalkohol und Polysorbat 60), Sorbitol 70%, Glycerol, Isopropylpalmitat, Benzylalkohol, Milchsäure und Wasser [163].

aus 48% Unguentum emulsificans aquosum N SR⁹ und 52% Wasser hergestellt. Der resultierende Wassergehalt betrug 85%.

Für die Penetrationsexperimente wurden in alle Grundlagen 0,75%, 1% und 2% Metronidazol eingearbeitet. Metronidazolbeladenes Aerogel (AEMetro) wurde entsprechend einem Metronidazolgehalt von 0,6%, 0,8% und 1% eingearbeitet. Die gewählten Konzentrationen ergaben sich aus der Applizierbarkeit der AEMetro-haltigen Formulierungen und Überlegungen zur Sättigungslöslichkeit von Metronidazol in Basiscreme DAC [62]. Für Metrocreme[®] wurden nur die 0,6%igen und 0,8%igen Rezepturen hergestellt. Ebenso wurden Zubereitungen mit 6%, 8% und 10% AE angefertigt.

Zur Kalibrierung der Freisetzungsexperimente und als Referenzen für die RAMAN-spektroskopischen Untersuchungen wurden Proben mit einem Metronidazolgehalt von 0 bis 10% für alle Grundlagen hergestellt.

Die Lagerung aller Zubereitungen erfolgte unter konstanten Bedingungen bei 25°C. Ausnahme bildeten Probenreihen für Basiscreme, Liniment und Metrocreme[®] mit den entsprechenden Metronidazol- und AEMetro-Konzentrationen, die einem Stresstest unterzogen wurden, um Kristallisationseffekte zu untersuchen. Dazu wurden die Proben zehn Tage alternierend für jeweils 12 h bei 4°C und 40°C gelagert.

7 Freisetzungs-, Penetrations- und Diffusionsuntersuchungen mittels FTIR-ATR-Spektroskopie

Es wurden zwei FTIR-Spektrometer mit DTGS-Detektor der Firma Bruker Optik (Ettlingen, Deutschland) - IFS 28 und Vertex 70 - verwendet. Die Ausstattung der ATR-Einheit war für beide Spektrometer äquivalent. Eine horizontale ATR-Einheit (Thermo Spectra Tech, Shelton, CT, USA) wurde mit einem FRESNEL-ATR-Kristall (d = 20 mm) bestückt, der entweder aus ZnSe oder aus Ge bestand und dessen Einfallswinkel 45° betrug. Das Ge-IRE kam in solchen Fällen zum Einsatz, in denen nicht ausgeschlossen werden konnte, dass der ZnSe-Kristall den pH-Wert der Probe nicht toleriert.

Für beide IRE besteht die Möglichkeit des Aufsraubens einer FTIR-ATR-Diffusionszelle, wie sie in [55] beschrieben wurde. Neben dieser Standardzelle aus Metall (Diffusionsflächendurchmesser 7 mm) wurde eine weitere Diffusionszelle aus Teflon entwickelt, bei der durch den Verzicht auf Dichtungsringe, die die weitere Verringerung der Diffusionsfläche wegen ihrer Biegsamkeit und ihres Eigensignals erschwerten, die Diffusionsfläche auf einen Durchmesser

⁹ Unguentum emulsificans aquosum N SR: Isooctyllaurat/-myristat 10%, Nicht-ionische Emulgierende Alkohole (Glycerolmonostearat, Cetylstearylalkohol, Macrogolcetylstearylether) 21%, Glycerol 5%, Wasser 64%, konserviert mit Kaliumsorbat 0,14%, Citronensäure 0,07% (NRF S.26, [62]).

von 3,5 mm Durchmesser weiter verkleinert werden konnte [35]. Zudem gewährte diese Zelle einen seitlichen Abschluss der Membran zur Umgebung, so dass die Dehydratation der Hufmembranen durch laterale Wasserdiffusion verringert werden konnte. Abbildung 14 zeigt den schematischen Aufbau der beiden Diffusionszellen.

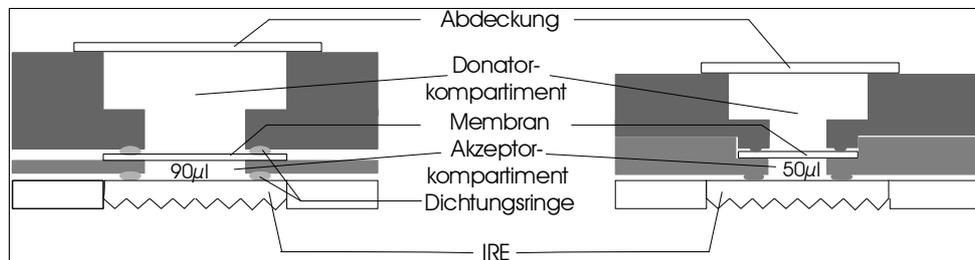


Abbildung 14: Schematische Darstellung der FTIR-ATR-Diffusionszellen, links: Metallzelle nach HARTMANN [54], rechts: Teflonzelle.

Messreihen wurden, der besseren Vergleichbarkeit halber, jeweils an einem Spektrometer durchgeführt. Tabelle 9 zeigt eine Übersicht, welches Spektrometer und welcher Messaufbau für die jeweiligen Messreihen verwendet wurden.

Tabelle 9: Spektrometer und Ausstattung der jeweiligen Messreihen, MZ Metalldiffusionszelle nach HARTMANN, TZ Teflondiffusionszelle, NM Nephrophan®-Membran, DCM Dodecanol-Collodiummembran, SC humanes *Stratum corneum*.

Arzneistoff	Spektrometer, Ausstattung			
	IFS 28		VERTEX 70	
Dithranol	Penetration NM	MZ	Penetration SC	TZ
Ibuprofen	Penetration DCM	ATR-Kristall, MZ	Freisetzung	ATR-Kristall
Metronidazol	Penetration DCM	MZ	Freisetzung	ATR-Kristall
	Penetration SC	MZ		
Harnstoff	Avestin®-Filter	MZ	Avestin®-Filter	MZ
			ThinCert™	TZ
Antimykotika	Entwicklung/Optimierung der Methode	MZ	Trocknung von Hydrogelen	ATR-Kristall
			Entwicklung/Optimierung der Methode	MZ, TZ
			Penetration Lack- und Cremezubereitungen	TZ

Generell lassen sich drei verschiedene Messmethoden unterscheiden, die in Abbildung 15 skizziert sind und im Folgenden beschrieben werden.

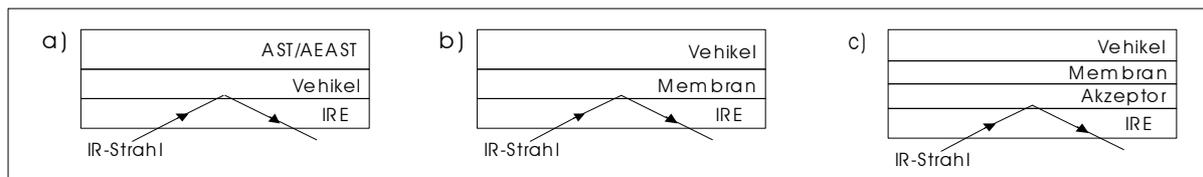


Abbildung 15: Schematischer Aufbau der unterschiedlichen ATR-Messmethoden: a) Freisetzung in verschiedene Vehikel, b) Penetration in Membranen, c) Penetrations- und Diffusionsstudien mit FTIR-ATR-Diffusionszellen.

7.1 Freisetzung in verschiedene Grundlagen

Freisetzungsstudien, die der Beschreibung der Abgabe von Ibuprofen bzw. Metronidazol aus den beladenen AE in verschiedene Grundlagen und dem Vergleich mit den kristallinen Arzneistoffen dienten, wurden durch Auftragen der jeweiligen (abgewogenen) Grundlage auf den ATR-Kristall mit Hilfe einer Schablone und anschließender Aufgabe des jeweiligen, ebenfalls gewogenen Donators - AE, beladenes AE oder kristalliner Arzneistoff - durchgeführt (Abbildung 15a). Die Probe wurde, um Verdunstungseffekte zu verhindern, abgedeckt.

Für die Messreihen mit Metronidazol wurden für alle Grundlagen multivariate Kalibrierungen angefertigt.

7.2 Penetration in Dodecanol-Collodiummembran

Penetrationsstudien in Dodecanol-Collodiummembranen (DCM) von Ibuprofen aus Gel cordes[®] wurden mit Hilfe des herkömmlichen Messaufbaus (Abbildung 15b) durchgeführt [2, 107, 148, 165-171]. Dafür wurde die DCM durch vorsichtiges Anpressen mit einem Glasstab auf den ATR-Kristall aufgebracht. Die entsprechende halb feste Zubereitung (~ 50 mg) wurde genau gewogen, gleichmäßig in dünner Schicht aufgetragen und das Gesamtsystem mit einem Deckel verschlossen.

Für die entsprechenden Experimente mit metronidazolhaltigen Vehikeln wurde aufgrund des Verlusts des optischen Kontakts zwischen Membran und ATR-Kristall die ATR-Diffusionszelle verwendet (Abbildung 15c). Um weitere Verteilungsprozesse auszuschließen, dienten 90 µl einer Mischung aus Dodecanol und Octanol (DD/Oct) (9/1) als Akzeptormedium. Auf diesen Akzeptor wurde die DCM aufgelegt und durch Aufschrauben des Donatorkompartiments fixiert. Letzteres wurde vor dem Aufschrauben mit einer entsprechenden Menge Vehikel (~260 mg) befüllt.

7.3 Penetrationsstudien mit humanem *Stratum corneum*

Für die Penetrationsstudien in humanes SC wurden die FTIR-ATR-Diffusionszellen (Abbildung 14, Abbildung 15c) eingesetzt. Hierbei stellte sich wassergesättigtes Dodecanol-Octanol (DDw) als geeignetes Akzeptormedium heraus. Die Extraktion von SC-Bestandteile durch Dodecanol wurde anhand von Literaturangaben ausgeschlossen [172-174].

Je nach Diffusionszelle wurde das Akzeptorkompartiment mit 50 µl (Teflonzelle) oder 90 µl (Metallzelle) wassergesättigtem Dodecanol-Octanol befüllt. Durch Aufziehen des vollständig hydratisierten SC auf einen die Penetration nicht beeinflussenden Polycarbonatfilter (Avestin[®] 5000 nm, Avestin Europe GmbH, Mannheim, Deutschland) konnte dieses stabilisiert und

luftblasenfrei auf das entsprechende Akzeptorkompartiment aufgelegt werden. Der Donator wurde vor dem Aufschrauben mit dem entsprechenden Vehikel, genau gewogen, befüllt.

7.4 Diffusionsexperimente an *Stratum-corneum*-Lipidmodellmembranen

Als Akzeptor für die Diffusionsexperimente diente destilliertes Wasser. Donator waren 950 µl einer 10%igen wässrigen Harnstofflösung. Um eine Vergleichbarkeit der Daten mit den Studien von HARTMANN [55] zu gewährleisten, wurde zunächst mit der Metaldiffusionszelle gearbeitet. Der Wechsel des Trägers von Avestin®-Filtern zu Greiner ThinCert™-Zellkultureinsätzen bedingte den Wechsel auf die kleinere Teflon-Diffusionszelle. Entweder wurden die Harnstoffbanden 1122 - 1192 cm⁻¹ und 1402 - 1503 cm⁻¹ integriert oder mit Hilfe einer multivariaten Analyse ausgewertet.

7.5 Diffusionsexperimente an bovinen Hufmembranen

Für die Penetrationsexperimente mit bovinen Rinderhufmembranen erwies sich die Verwendung der FTIR-ATR-Diffusionszelle aus Teflon als vorteilhaft. Verschiedene wässrige Akzeptormedien - flüssig oder Hydrogele mit Aerosil® als Gelbildner - wurden auf ihre Eignung überprüft. Neben destilliertem Wasser fanden Puffersysteme pH 7 nach SÖRENSEN und Puffer pH 6 auf Basis eines Citratpuffers Verwendung. Als Donatoren dienten folgende Fertigarzneimittel: Loceryl® Nagellack¹⁰, Loceryl® Creme¹¹, Nagel Batrafen®¹² und Batrafen® Creme¹³. Die Cremezubereitungen wurden vor Aufschrauben des Donatorkompartiments in dieses eingefüllt. Die antimykotischen Lacke (50 µl) wurden auf die hydratisierte Hufmembran aufgetragen und 30 min trocknen gelassen. Danach erfolgte der Einbau in die Diffusionszelle. Alternativ wurde der Lack nach Einbringen der Hufmembran und Befestigen des Donatorkompartiments aufgetragen. In diesem Fall wurde nach 24 h das Akzeptormedium erneuert und das Experiment fortgesetzt.

Bei allen Experimenten war es notwendig, in den Innenraum des Diffusionszellendeckels einen wassergetränkten Wattebausch einzusetzen, um ein Austrocknen des Akzeptors und der Hufmembran zu unterbinden.

¹⁰ absolutes Ethanol, Ethylacetat, Poly(ethylacrylat,methylmethacrylat, trimethylammonioethylmethacrylat-chlorid) 1/2/0,2, Butylacetat, Triacetin; 1 ml Lösung enthält 55,74 mg Amorolfinghydrochlorid (entspricht 50 mg Amorolfin) [163], Wirkstoffdepot des getrockneten Lackes 25% [175].

¹¹ Stearylalkohol, weißes Vaselin, dickflüssiges Paraffin, Macrogolstearat 2000, Carbomer 934 P, Phenoxyethanol, Natriumhydroxid, Natriumedetat, gereinigtes Wasser; 1 g Creme enthält 2,788 mg Amorolfinghydrochlorid (entspricht 2,5 mg Amorolfin) [163].

¹² Poly(butylhydrogenmaleat-co-methoxyethylen) 1/1, Ethylacetat, Propan-2-ol; 1 g Lösung enthält 80 mg Ciclopirox, [163], Wirkstoffdepot des getrockneten Lackes 34% [176].

¹³ Benzylalkohol, 2-Octyldodecanol, dünnflüssiges Paraffin, 1-Octadecanol, 1-Hexadecanol, 1-Tetradecanol, Polysorbat 60, Sorbitanmonostearat, Milchsäure, gereinigtes Wasser; 1 g Creme enthält 10 mg Ciclopiroxolamin [163].

7.6 Trocknung von Hydrogelen

1 ml des entsprechenden Hydrogels wurde auf einen ATR-Kristall aufgetragen und bei Raumtemperatur getrocknet. Die Abnahme der Wasserbanden ($1540 - 1750 \text{ cm}^{-1}$, $1900 - 2300 \text{ cm}^{-1}$ und $2800 - 3700 \text{ cm}^{-1}$) und die Zunahme gelbildnerspezifischer Banden wurden ausgewertet.

Alle Spektren wurden zu entsprechend vorgegebenen Zeitpunkten mit 32 *Scans*, BLACKMAN-HARRIS-3-Term-Apodisation und einer Auflösung von 2 cm^{-1} gemessen. Als Hintergrundspektrum diente entweder ein Spektrum des IRE oder des ATR-Kristalls mit aufgeschraubtem Akzeptorkompartiment. Am IFS 28 konnte die Messoption „Mehrfachmessung“ der OPUS-Software 4.2 (Bruker Optik, Ettlingen, Deutschland) zur Aufzeichnung der Daten verwendet werden. Da eine stabile Nutzung dieser Softwareoption am Vertex 70 durch Verwendung von OPUS 5.5 nicht möglich war, wurde von Herrn Dr. Hartmann der Bruker-Niederlassung Leipzig ein Messmakro RPTMEAS 5 entwickelt und eingesetzt.

Die gesamte Weiterverarbeitung der aufgezeichneten Daten erfolgte mit der OPUS 5.5-Software (Bruker Optik, Ettlingen, Deutschland). Zur Elimination von CO_2 und Wasserdampf wurden alle Spektren zunächst einem Algorithmus zur atmosphärischen Kompensation, ggf. unter Beachtung der Verwendung wässriger Proben, unterzogen.

Nach Zuordnung der IR-Banden zu den entsprechenden Stoffen wurden diese entweder integriert oder mit Hilfe der entsprechenden Kalibrierung ausgewertet.

7.7 Kalibrierung

Alle Kalibrierungsreihen wurden sowohl univariat als auch multivariat mit Hilfe der OPUS Software 5.5 (Bruker Optik, Ettlingen, Deutschland) ausgewertet. Als Parameter zur Beurteilung der Methodengüte dienten der Bestimmungskoeffizient R^2 , RMSECV und der Methodenrang. LOD und LOQ wurden nach DIN 32645 aus den jeweiligen Blindspektren und der linearen Regressionsgerade der Kalibrierungsfunktion, basierend auf einem Signal-zu-Rausch-Verhältnis von 3:1 (LOD) und 10:1 (LOQ), berechnet.

Durch die Verwendung der ATR-Diffusionszellen war es möglich, für die entsprechenden Penetrationsexperimente Kalibrierungen für die Arzneistoffaufnahme in das Akzeptorkompartiment durchzuführen. Alle Kalibrierungsproben wurden einer Dreifachbestimmung unterzogen.

Dithranol wurde in fünfzehn verschiedenen Konzentrationen von 0 bis 2 mg ml^{-1} in DDw gelöst. Die erste Ableitung der Spektren von $1590 - 1623 \text{ cm}^{-1}$ ergab R^2 97,51, RMSECV $0,108 \text{ mg ml}^{-1}$ und Rang 2.

Für die Liberationsexperimente von Metronidazol in die verschiedenen Grundlagen wurden 0 bis 10% Metronidazol in die jeweiligen Vehikel eingearbeitet. Die Proben wurden mittels Schablone auf den ATR-Kristall aufgetragen. Jede Probe wurde durch drei bis fünf Spektren charakterisiert. Vor Bildung der ersten Ableitung wurden alle Spektren auf ein *Offset*-Minimum bei 1875 cm⁻¹ normiert. Die entsprechenden Methoden und ihre Parameter sind in Tabelle 10 aufgeführt.

Tabelle 10: Parameter der Kalibrierung der Freisetzungsexperimente von Metronidazol in verschiedene Cremegrundlagen.

<i>Vehikel</i> spektrale Bereiche	<i>Spektrenzahl/ Probenanzahl</i>	<i>R</i> ²	<i>RMSECV</i> [% , m/m]	<i>Rang</i>	<i>LOD</i> [% , m/m]	<i>LOQ</i> [% , m/m]
Basiscreme DAC 1175 - 1191 cm ⁻¹ , 1261 - 1279 cm ⁻¹ , 1522 - 1553 cm ⁻¹	76/27	96,17	0,392	6	0,631	2,66
modifizierte Basiscreme 1174 - 1195 cm ⁻¹ , 1260 - 1279 cm ⁻¹ , 1522 - 1547 cm ⁻¹	87/30	98,98	0,198	4	0,219	0,99
Liniment 1179 - 1198 cm ⁻¹ , 1521 - 1547 cm ⁻¹	48/16	97,70	0,353	3	0,378	1,55
Metrocreme® 1179 - 1200 cm ⁻¹ , 1260 - 1279 cm ⁻¹ , 1360 - 1398 cm ⁻¹ , 1522 - 1549 cm ⁻¹	81/27	98,39	0,246	3	0,054	0,53

Die Erstellung der Kalibrierungen für Penetrationsexperimente von Metronidazol erfolgte in Abhängigkeit der Vehikel und verwendeten Akzeptoren, da Metronidazol in reinem DD/Oct ein wesentlich geringeres IR-Signal aufwies als in den Akzeptorspektren der Penetrationsmessungen beobachtet wurde. Bei den Vehikeln handelte es sich um Mehrkomponentensysteme, deren Einzelbestandteile ebenfalls penetrieren und die Akzeptorzusammensetzung gegenüber reinem DD/Oct während des Experiments verändern. Zunächst wurde eine Stammlösung aus DD/Oct oder DDw mit der jeweiligen Creme hergestellt. Dafür wurden DD/Oct bzw. DDw durch Schütteln mit der jeweiligen Creme für 24 h bei Raumtemperatur mit dieser gesättigt. Zu einem Teil dieser Stammlösung 1 (SL1) wurde nach dem Abzentrifugieren der Cremebestandteile Metronidazol hinzugefügt. Diese Mischung wurde mindestens 12 h bei Raumtemperatur geschüttelt und dann zentrifugiert (Stammlösung 2, SL2). Der Metronidazolgehalt dieser Lösung wurde in einem separaten Experiment spektroskopisch bestimmt. SL1 und SL2 wurden in definierten Volumina gemischt und die entsprechenden ATR-Spektren wurden gemessen. Für alle Grundlagen und Akzeptormedien wurde diese Prozedur vier Mal wiederholt, so dass jeweils acht Probenreihen für die Kalibrierungsmethode zur Verfügung standen. Eine Ausnahme bildete Metrocreme®. Hierfür wurde die Kalibrierung nur mit DDw angefertigt, so dass vier Kalibrationsreihen resultierten.

Da bei den metronidazolhaltigen Vehikeln auch die Penetration von Wasser und bei Basiscreme und modifizierter Basiscreme ebenfalls die von PrG verfolgt werden sollte, wurden Kalibrierungen für diese Substanzen angefertigt. DD/Oct, PrG, Wasser und Emulgatoren wurden in verschiedenen Verhältnissen gemischt und ATR-spektroskopisch charakterisiert.

Der Metronidazolgehalt im Akzeptormedium wurde mit Hilfe der normierten Spektren (Minimum 1850 cm^{-1} , Maximum 1056 cm^{-1}) bestimmt. Im Fall von Basiscreme und Liniment erfolgte die Bildung der ersten Ableitung in einem Wellenzahlbereich von 1526 cm^{-1} bis 1552 cm^{-1} ($\nu_{as}NO_2$). Bei modifizierter Basiscreme wurden die ersten Ableitungen der Spektren mit etwas veränderten Grenzen - 1524 cm^{-1} bis 1553 cm^{-1} - gebildet. Für Metrocreme® war es nicht möglich, eine multivariate Analysenmethode mit zufriedenstellenden Parametern zu etablieren, so dass eine univariate Methode basierend auf derselben Metronidazolbande erstellt wurde. Die Integration der Bandenintensität erfolgte von 1522 cm^{-1} bis 1551 cm^{-1} . Wasser und PrG wurden durch multivariate Analyse der ersten Ableitung der unveränderten Spektren von 1610 cm^{-1} bis 1690 cm^{-1} (Wasser, δ_{O-H}) und von 831 cm^{-1} bis 850 cm^{-1} (PrG, γ_{C-O-H}) quantifiziert. Alle Parameter sind in Tabelle 11 zusammengefasst.

Tabelle 11: Parameter der Kalibrierungen für die Penetrationsexperimente.

<i>Komponente</i> Konzentrationsbereich	<i>Spektrenanzahl/ Probenanzahl</i>	<i>R²</i>	<i>RMSECV</i> [mg ml ⁻¹]	<i>Rang</i>	<i>LOD</i> [mg ml ⁻¹]	<i>LOQ</i> [mg ml ⁻¹]
Originalspektren						
Propylenglycol 0 – 250 mg ml ⁻¹	127/38	99,84	2,75	1	1,32	14,7
Wasser 0 – 50 mg ml ⁻¹	109/42	97,30	2,51	6	3,19	8,90
normierte Spektren: Metronidazol						
Basiscreme DAC 0 - 4,6 mg ml ⁻¹	235/74	98,12	0,213	3	0,49	0,79
modifizierte Basiscreme 0 - 4,4 mg ml ⁻¹	162/54	97,31	0,263	3	0,29	0,59
Liniment 0 - 4,0 mg ml ⁻¹	170/50	97,51	0,208	3	0,51	0,72
Metrocreme® (univariat) 0 - 3,2 mg ml ⁻¹	112/-	r ² = 0,935	sigma = 0,381	-	0,18	0,55

Wässrige Harnstofflösungen von 0 bis 15% (m/V) wurden zur Kalibrierung der Harnstoffdiffusion durch die SC-Lipidmodellmembranen hergestellt. Der multivariaten Analyse wurden 28 Proben, charakterisiert durch 85 Spektren, zugrunde gelegt. Für die Teflundiffusionszelle wurden am Vertex 70 nach Vektornormierung und Bildung der ersten Ableitung im Bereich von 1405 cm^{-1} bis 1770 cm^{-1} folgende Parameter ermittelt: $R^2 = 99,74$, $RMSECV = 0,234\%$, Rang 3, $LOD = 0,184\%$ und $LOQ = 0,226\%$.

7.8 Auswertung der Freisetzungs- und Penetrationsgraphen

Zur Auswertung der erhaltenen Intensitäts- bzw. Konzentrations-Zeit-Graphen wurden verschiedene Parameter bestimmt. Die freigesetzte bzw. penetrierte Arzneistoffmenge wurde durch die Fläche unter der Kurve (AUC) beschrieben. Die Fläche zwischen den Kurven (ABC), d.h. die Fläche zwischen Graph und Maximumasymptote wurde ebenso bestimmt [177]. Abbildung 16 veranschaulicht am Beispiel einer kalibrierten Messung die Parameter.

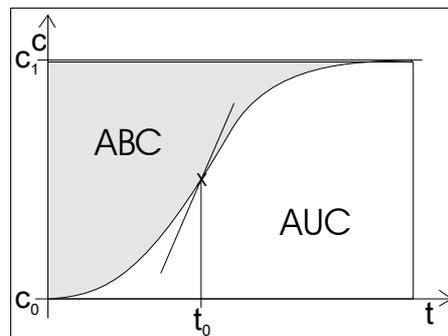


Abbildung 16: Schematische Darstellung eines c-vs.-t-Graphen und ausgewählte Parameter.

Die maximale Konzentration oder Bandenintensität, an die sich der Graph im *steady state* annähert, wurde mit Hilfe eines Kurvenfits bestimmt. Da es sich in den meisten Fällen um sigmoidale Sättigungskurven handelte, fand der *logistic fit* der Origin7.5-Software (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA) Verwendung ($R^2 > 0,998$, [104, 178]). Die Gleichung dafür (Gl. 3) lautete:

$$y = c_1 + \frac{c_0 - c_1}{1 + \left(\frac{t}{t_0}\right)^p} \quad \text{Gl. 3}$$

wobei c_1 die maximale, asymptotisch genäherte Konzentration bzw. Bandenintensität ist, c_0 die minimale Konzentration bzw. Bandenintensität und t_0 die Zeit, bei der $(c_1 + c_0)/2$ erreicht wird. Der Anstieg im Wendepunkt des Graphen m_{t_0} konnte ebenfalls mit Hilfe dieses Fits berechnet werden. Der relative Anstieg ließ sich aus dem Quotienten p/t_0 errechnen. Der Anstieg im Wendepunkt konnte durch die Gl. 4

$$m_{t_0} = \frac{c_1 - c_0}{4} \frac{p}{x_0} \quad \text{Gl. 4}$$

bestimmt werden.

Die mittlere Verweilzeit MDT, die die Affinität des Arzneistoffs zum Vehikel charakterisiert, wurde im Fall der kalibrierten Daten durch Berechnung von ABC/c_1 bestimmt [179]. Zur Normierung der Daten wurden der Minimalwert mit 0 und der Maximalwert mit 1 gleichgesetzt.

Um verschiedene Vehikelsysteme vergleichen zu können, wurden alle zu betrachtenden Systeme der entsprechenden Messreihen bis zu einem definierten Zeitpunkt ausgewertet. Dieser ist gegebenenfalls als Index dem jeweiligen Parameter beigefügt.

8 FT-RAMAN-Spektroskopie metronidazolhaltiger halbfester Zubereitungen

Zur Untersuchung des physikalischen Zustands und der (Re-)Kristallisation von Metronidazol in den verschiedenen Vehikeln wurden diese in Aluminiumpfännchen eingebracht und bei einer Laserleistung von 320 mW mit 200 *Scans* an einem FT-RAMAN-Spektrometer RFS 100/S (Bruker Optik, Ettlingen, Deutschland, weitere Parameter siehe Tabelle 6) mit einer Anregung von 1064 nm (Nd:YAG-Laser) gemessen. Von den in Kapitel C 6 beschriebenen Proben zur Kalibrierung der Freisetzungsexperimente wurden RAMAN-Spektren aufgezeichnet, um Referenzdaten zu erhalten. Die Kalibrierungsparameter sind in Tabelle 12 zusammengestellt. Die Bande 75 - 95 cm^{-1} diente als interner Standard. Zudem wurde die erste Ableitung der Spektren im ausgewerteten Bereich gebildet.

Tabelle 12: Parameter der multivariaten Analyse des Metronidazolgehalts in verschiedenen Vehikeln mittels FT-RAMAN-Spektroskopie.

<i>Vehikel</i> spektrale Bereiche	<i>Spektrenzahl/ Probenanzahl</i>	<i>R²</i>	<i>RMSECV</i> [% , m/m]	<i>Rang</i>	<i>LOD</i> [% , m/m]	<i>LOQ</i> [% , m/m]
Basiscreme DAC 1250 - 1280 cm^{-1}	64/35	99,17	0,136	1	0,138*	0,407*
modifizierte Basiscreme 1254 - 1284 cm^{-1}	70/37	99,25	0,152	4	0,285**	0,562**
Liniment 1255 - 1280 cm^{-1}	65/34	99,02	0,167	1	0,307**	0,831**
Metrocreme® 1254 - 1280 cm^{-1}	66/35	99,00	0,177	2	0,092*	0,372*

* n = 4, ** n = 3

Anhand charakteristischer Veränderungen der Kalibrierungsproben wurde die Löslichkeit von Metronidazol in den Grundlagen bestimmt. Die Banden bei 1155 cm^{-1} und 1355 cm^{-1} traten nur bei Anwesenheit von kristallinem Metronidazol auf. Daher wurde die Konzentration des ersten Erscheinens als Parameter für die Löslichkeit ausgewählt. Die Bandenflächen wurden in den Grenzen 1150 cm^{-1} bis 1167 cm^{-1} und 1340 cm^{-1} bis 1364 cm^{-1} berechnet und auf einen internen Standard (Bandenfläche 75 - 93 cm^{-1}) normiert. Die Löslichkeit im Vehikel wurde in dieser Auswertung durch das Ende des Plateaus und den Schnittpunkt mit der Ordinate bei $y = 0$ determiniert. Die Angabe der Löslichkeit erfolgte durch Mittelwertbildung aus den auf die unterschiedlichen Weisen ermittelten Werten.

Für Proben mit 0,75%, 1% und 2% Metronidazol (kristallin oder als AEMetro) in Basiscreme, Liniment und Metrocreme® wurde die Lagerungsstabilität bestimmt. Dafür wurde ein Teil der Proben nach der Herstellung 10 Tage einem Schaukeltest unterzogen, so dass die Lagerung alternierend bei 40°C und 4°C für jeweils 12 h erfolgte. Alle Proben wurden frisch, d.h. innerhalb der ersten zwei Tage nach der Herstellung, nach dem Schaukeltest, nach 1, 2, 3 Monaten sowie die Proben mit AEMetro zusätzlich nach 6 Monaten Lagerung bei Raumtemperatur RAMAN-spektroskopisch vermessen. Als Kontrolle wurden die reinen Grundlagen und Proben mit AE der gleichen Prozedur unterzogen. Das Auftreten der Metronidazolbanden bei 1155 cm^{-1} und 1355 cm^{-1} war charakteristisch für kristallines Metronidazol. Bandenmaximum (Position der Amplitude ermittelt mit Hilfe der 2. Ableitung) und die Bandenfläche, normiert auf die Fläche von 75 cm^{-1} bis 93 cm^{-1} als interner Standard, wurden ausgewertet, um die Lagerungsstabilität und Rekristallisationsneigung zu untersuchen.

9 Konsistenzprüfung

Die Konsistenz der für die Metronidazolexperimente eingesetzten Grundlagen sowie der jeweiligen Zubereitungen mit Metronidazol oder AE wurde in Anlehnung an das Ph.Eur. (Ph.Eur. 6, [160]) mit einem Penetrometer mit Mikrokonus (OFD 73731, VEB Feinmess Dresden, Deutschland) bei 25°C bestimmt. Etwa 5 ml der jeweiligen Zubereitung wurden luftblasenfrei und ohne weitere Scherung in den Probenhalter ($d = 10 \text{ mm}$) eingefüllt und die Eindringtiefe des Konus ermittelt ($n = 3$). Konnten durch statistische Analyse (Kapitel C 10) für die reinen Grundlagen und die metronidazolhaltigen Grundlagen keine Unterschiede festgestellt werden, so wurden diese Werte gemittelt und mit den Daten der AE-haltigen Zubereitungen verglichen.

Als Proben dienten 0,75%, 1% und 2% Metronidazol in Basiscreme, modifizierte Basiscreme, Liniment und Metrocreme®. Des Weiteren wurden entsprechend den AEMetro-Konzentrationen der Penetrationsexperimente 6%, 8% und 10% AE in die Grundlagen eingearbeitet.

10 Statistische Auswertung

Statistische Signifikanzprüfungen wurden als einfaktorielle Varianzanalyse (*one-way* ANOVA) mit anschließender *Tukey's multiple comparison* als *post-hoc* Analyse durchgeführt (InerSTAT-a V1.3). Das Signifikanzniveau lag bei $p < 0,05$. Abweichungen davon werden entsprechend angegeben. Lineare Regressionsgraden wurden mit der Software Microsoft Excel 2002 erstellt.

11 Membranen

11.1 Herstellung der Dodecanol-Collodiummembranen

Dodecanol-Collodiummembranen (DCM) wurden nach der Methode von NEUBERT [72] hergestellt. Dafür wurden 8,0 g oder 12,0 g Dodecanol/Octanol (9/1) zu einer Mischung aus Ether und Ethanol (8,5:1,5 v/v) zu 100,0 g gegeben und gemischt, mit 4%iger Collodiumlösung DAC auf 200,0 g aufgefüllt und auf ein Folienziehgerät (Mechanische Werkstatt Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg) aufgetragen. Nach Verdunsten des Lösungsmittels wurden die Membranen geschnitten und im Exsikkator bei 25°C zwischen Filterpapierblättern gelagert.

Membranen mit einem DD/Oct-Gehalt von 67% wurden für die Penetrationsexperimente mit Metronidazol verwendet. Die durchschnittliche Schichtdicke (MT 25B, Heidenhain, Deutschland) betrug $39 \pm 2 \mu\text{m}$ (Experimente mit AEMetro-haltigen Cremes) und $34 \pm 2 \mu\text{m}$ (Experimente mit Metronidazol-haltigen Cremes). Für die Penetrationsexperimente mit Ibuprofen waren die Membranen $11 \pm 1 \mu\text{m}$ dick und enthielten 75% Lipid.

11.2 Dialysemembran Nephrophan®

Die Poren der Cellulose-Xanthogenat-Dialysemembran Nephrophan® (ORWO, Wolfen, Deutschland) sind mit Glycerol gefüllt. Dieses wurde vor der Verwendung der Membranen durch dreistündiges Waschen in einer 2%-igen NaHCO_3 -Lösung in 1 mM Na-EDTA-Lösung bei 60°C bis 70°C entfernt. Die Dicke der Membranen betrug 35 μm bis 40 μm (MT 25B, Heidenhain, Deutschland).

11.3 Präparation der *Stratum-corneum*-Lipidmodellmembranen

Als Träger für die SC-Lipid-Modellmembranen dienten unterschiedliche Filtermaterialien. Zum einen wurden Polycarbonatfilter der Firma Avestin (Avestin Europe GmbH, Mannheim, Deutschland) mit einer Porengröße von 200 nm, zum anderen Greiner-Zellkultureinsätze 0,4 μm ThinCert™ (Greiner bio-one, Niederlande) aus Polyethylenterephthalat (PET) eingesetzt, die Kapillarporen mit einem Durchmesser von 400 nm aufwiesen. Beide Trägermaterialien waren beständig gegenüber dem verwendeten Lösemittelgemisch Chloroform/Methanol 1/1.

Die Lipidmischungen wurden aus den jeweiligen Stammlösungen (10 mg ml^{-1} , Cholesterolsulfat: 5 mg ml^{-1}) hergestellt. Als Lösemittel erwies sich eine Chloroform/Methanol-Mischung 1/1 (V/V) als geeignet. Die Basismischung enthielt Ceramid [AP], Cholesterol (Chol), Palmitinsäure (PA) und Cholesterolsulfat (Chols) in den Verhältnissen 55/25/15/5 mg ml^{-1} . Eine weitere Lipidmischung bestand aus Ceramid [EOS], Ceramid [AP], Chol und Behensäure (BA) im Verhältnis 23/10/33/33 mg ml^{-1} und wird als Cer[EOS]-haltige Mischung im Folgenden bezeichnet.

0,5 ml, 1,0 ml oder 1,5 ml der jeweiligen Lipidmischung wurden im Trockenschrank bei wasserdampfgesättigter Atmosphäre und entsprechender Temperatur auf den Träger aufgetragen. Für die Basismischung betrug die erforderliche Temperatur auf dem Filter 70°C, für die Cer[EOS]-Mischung 95°C. Das bedeutet, dass im Fall der Avestin[®]-Filter, die für die Präparation mit ein wenig Methanol befeuchtet in eine Teflonhalterung eingespannt wurden, die Temperatur des Trockenschanks mind. 85°C betragen musste, um die schlechte Wärmeleitfähigkeit des Teflons zu kompensieren. Für das Cer[EOS]-haltige Lipidsystem konnte auf diese Weise keine adäquate Präparationstemperatur erreicht werden, so dass Greiner bio-one ThinCert[™]-Zellkulturplatten als Träger verwendet wurden. Nach Verdunsten des Lösemittels (je nach Volumen und Lipidmischung zwischen 15 min und 45 min) wurden die ThinCert[™] für weitere 15 min - auf dem Kopf stehend - im Trockenschrank belassen. Zur Entfernung von Lösemittelresten wurden alle Membranen über Nacht im Vakuumtrockenschrank bei Raumtemperatur gelagert. Daran schloss sich ein *Annealing*-Programm an, wie es in [133] beschrieben ist. Dazu wurden die Membranen bei 80°C und wasserdampfgesättigter Atmosphäre im Trockenschrank für 60 min behandelt. Dem 15-minütigem Abkühlen folgten vier weitere *Annealing*-Zyklen, die aus 30 min Temperaturbehandlung im Trockenschrank und 15 min Abkühlen bestanden. Bei den Basismischungen wurde ggf. ein weiterer *Annealing*-Zyklus angeschlossen, um die Membranqualität zu verbessern.

Die so hergestellten Membranen wurden zunächst visuell auf Homogenität und fehlende kristalline Bereiche untersucht. Für Diffusionsstudien wurden nur Membranen verwendet, die einheitlich opak waren und keine weißlich-kristallinen Bereiche aufwiesen. Des Weiteren gab die Schichtdickenmessung an mind. 10 unterschiedlichen Punkten der Membran Auskunft über ihre Qualität.

Die zunächst erforderliche Optimierung der Herstellung erfolgte unter Zuhilfenahme von Dynamischer Differenz-Kalorimetrie (engl. *differential scanning calorimetry*, DSC) und temperaturabhängiger FT-RAMAN-Spektroskopie an den Einzelsubstanzen sowie den Lipidmischungen. Die Proben wurden aus den entsprechenden Stammlösungen hergestellt. Das Lösemittel evaporierte bei Raumtemperatur. DSC-Messungen wurden mit einer Aufheizrate von 5 K min⁻¹ in drei Zyklen mittels einer DSC 200 (Netzsch-Gerätebau GmbH, Selb, Deutschland) durchgeführt. Anhand der erhaltenen Thermogramme wurden die Temperaturintervalle für die FT-RAMAN-Messungen festgelegt. Die Probe wurde in einem NMR-Röhrchen in den Temperierblock des FT-RAMAN-Spektrometers (RFS100/s, Parameter siehe Tabelle 6) eingebracht. Bei jeder Temperatur wurde die Probe 15 min temperiert und dann mit 200 *Scans* gemessen. Auch diese Temperaturzyklen wurden dreimal - an aufeinander folgenden Tagen - wiederholt, um die Präparation bei erhöhten Temperaturen und die *Annealing*-Zyklen zu

simulieren. Die Auswertung der Spektren erfolgte nach [157] anhand der symmetrischen und antisymmetrischen CH-Schwingungsbanden zwischen 2800 cm^{-1} und 3000 cm^{-1} . Die Gesamtintensität der Banden wurde durch Integration von $2800 - 3029\text{ cm}^{-1}$ bestimmt. Die antisymmetrische CH_2 -Valenzschwingung wurde von 2867 cm^{-1} bis 2912 cm^{-1} integriert. Die Position der symmetrischen CH_2 -Valenzschwingung wurde mit Hilfe der zweiten Ableitung zwischen 2832 cm^{-1} und 2866 cm^{-1} ermittelt.

11.4 Isolierung von humanem *Stratum corneum*

Mammahaut aus Reduktionsplastiken dreier Spenderinnen wurde vom Deutschen Institut für Zell- und Gewebeforschung Berlin (Deutschland) zur Verfügung gestellt. Die direkt nach der Durchführung der Operation mechanisch von Fettgewebe und Dermisteilen befreiten Hautstücke lagerten bei -80°C . Das SC wurde in Anlehnung an die Methode von KLIGMAN [180] mittels 0,01% Trypsin in 0,5%iger NaHCO_3 -Lösung bei 37°C separiert. Dazu wurden die aufgetauten Hautstücke auf einen Trypsin-getränkten Filterpapierstapel aufgelegt. Das Ende der enzymatischen Spaltung konnte durch das Flotieren des SC auf destilliertem Wasser festgestellt werden. Das SC wurde mit destilliertem Wasser abgespült und sofort in für die Diffusionszellen passende Stücke geschnitten und, in Filterpapier verpackt, gefriergetrocknet (Alpha 2-4, Christ, Osterode, Deutschland). Die Membranen lagerten bis zur Verwendung bei -20°C . Vor den Penetrationsexperimenten wurden die SC-Membranen für 24 - 30 h mit destilliertem Wasser rehydratisiert [45]. Die Dicke des vollständig hydrierten SC betrug ca. $27\text{ }\mu\text{m}$. Anhand des charakteristischen Spreitverhaltens auf Wasser und mittels Mikroskopie wurde die Unversehrtheit der Membranen vor und nach den Penetrationsexperimenten geprüft.

Der Reproduzierbarkeit halber wurden für die Penetrationsexperimente mit Dithranol Membranen einer Spenderin verwendet. Für die Metronidazolpenetration benötigte Membranen stammten von zwei Spenderinnen. Das Studiendesign wurde so gewählt, dass interindividuelle Einflüsse weitestgehend ausgeschlossen werden konnten.

11.5 Bovine Hufmembranen

Bovine Hufmembranen wurden aus dem Schuh eines zweijährigen Rinds im vollständig hydratisierten Zustand mittels Mikrotom nach der in [69, 70] beschriebenen Methode geschnitten. Die Rinderschuhe wurden bis zur Verwendung bei -80°C gelagert, die geschnittenen und gefriergetrockneten Hufmembranen bei -20°C aufbewahrt, und vor Verwendung mind. 24 h in destilliertem Wasser vollständig hydratisiert [45]. Die Schichtdicke der verwendeten Membranen lag bei $100\text{ }\mu\text{m}$ bis $300\text{ }\mu\text{m}$.

D Ergebnisse und Diskussion

1 Einsatz spektroskopischer Methoden zur Charakterisierung arzneistoffbeladener Aerogele in pharmazeutischen Zubereitungen

1.1 Bestimmung der Arzneistoffkonzentration der beladenen Aerogele

Die Menge der adsorbierten Arzneistoffe kann grundsätzlich mit Hilfe verschiedener analytischer Methoden bestimmt werden. Die meisten Verfahren beruhen auf einem quantitativen Herauslösen des Arzneistoffs aus dem AE. Dieser Schritt ist bei der Verwendung schwingungsspektroskopischer Methoden nicht erforderlich. Für Dithranol ist eine solche direkte Methode zur Gehaltsbestimmung der beladenen Aerogelpulver mittels FTIR-ATR-Spektroskopie in [2] beschrieben worden. Das dazu notwendige Anpressen der Pulver auf den ATR-Kristall führte allerdings zu starken mechanischen Belastungen desselben, so dass Alternativen gesucht wurden. Zur Anwendung kamen DRIFT, NIR- und FT-RAMAN-Spektroskopie. Wägung, UV/Vis-Spektroskopie und Elementaranalyse dienten als ergänzende Methoden. Aus Gründen der Vergleichbarkeit wurden die für DRIFT angefertigten Dilutionen mit KBr auch für die NIR- und FT-RAMAN-Spektroskopie verwendet.

Ibuprofen

Zunächst wurden Kalibrierungen für DRIFT, NIR- und FT-RAMAN-Spektroskopie angefertigt. Die entsprechenden Parameter der spektroskopischen Techniken sind in Tabelle 13 ersichtlich. DRIFT und NIR-Spektroskopie waren gut zur Quantifizierung geeignet. Das Verdünnen der Proben mit KBr führte bei der RAMAN-Methode zu schlechteren Kalibrierungsparametern (z.B. $R^2 = 97,80$). Da die Messzeit mit 5 min pro Spektrum am längsten war und mit NIR und DRIFT bereits zwei geeignete Methoden zur Verfügung standen, wurde dieser Methode nicht weiter nachgegangen.

Tabelle 13: Parameter der Ibuprofenkalibrierungen, Bezugsgröße ist die Einwaage des AEIbu.

Method	Spektranzahl/ Probenanzahl	Daten- vorbehandlung/ Wellenzahlbereich	R^2	RMSECV [%]	Rang	LOD [%]	LOQ [%]
DRIFT	82 / 32	Vektornormierung, erste Ableitung 1280 - 1800 cm^{-1}	99,79	0,764	9	0,905	2,46
NIR- Spektroskopie	458 / 29	erste Ableitung, multiple Streukorrektur 7502 - 6094 cm^{-1} und 5450 - 4247 cm^{-1}	99,74	0,856	9	1,01	3,93
RAMAN- spektroskopie	142 / 28	Vektornormierung, erste Ableitung 95 - 153 cm^{-1} , 767 - 1637 cm^{-1} , 2832 - 3084 cm^{-1}	97,80	2,600	3	3,98	13,0

In Tabelle 14 sind die Ergebnisse verschiedener Verfahren zur Gehaltsbestimmung für drei AEIbu einander gegenübergestellt.

Tabelle 14: Ergebnisse verschiedener Quantifizierungsmöglichkeiten für AEIbu unterschiedlicher Arzneistoffbeladungsmengen.

<i>Probe</i>	<i>Berechnung anhand Wägung, n = 1 [%]</i>	<i>UV/Vis, n = 1 [%]</i>	<i>Elementaranalyse, n = 1 [%]</i>	<i>NIR, n = 3 [%]</i>	<i>DRIFT, n = 3 [%]</i>
1	33,4	30,9	35,6	32,7 ± 0,04	32,6 ± 0,4
2	37,9	35,7	41,6	35,5 ± 0,06	36,6 ± 0,2
3	40,3	39,4	42,3	37,4 ± 0,05	41,1 ± 0,3

Generell wiesen alle Methoden eine gute Übereinstimmung auf. Bei allen Methoden wurden mit steigender Arzneistoffbeladung zunehmende Ibuprofengehalte ermittelt. Die Elementaranalyse zeigte für alle Proben die höchsten Gehalte. Bei niedrigen Beladungen wich der UV/Vis-spektroskopisch bestimmte Gehalt zu einem geringeren Wert ab. Dies deutete auf ein unvollständiges Herauslösen des Ibuprofens hin. Vergleicht man NIR-Spektroskopie und DRIFT, so ist festzustellen, dass beide Methoden ähnliche Ergebnisse lieferten, bei der DRIFT aber größere Standardabweichungen auftraten. Unterschiede, die auf verschiedenen Partikelgrößen beruhen, waren auszuschließen, da alle Proben die gleiche Behandlung erfuhren und dieselben Proben für beide Methoden verwendet wurden. Ein wichtiger Einflussfaktor der DRIFT war die Feuchtigkeit - sowohl des Probenraums als auch der Probe. Durch die Verwendung des stark hygroskopischen KBr als Dilutionsmittel reagierten die Messungen sehr sensitiv auf die Umgebungsbedingungen. Durch weitere Optimierungen, wie eine Erhöhung der Spektrenzahl, kann dies zumindest teilweise ausgeglichen werden. Vor allem für die NIR-Spektroskopie war die Datenmenge der Kalibrierung limitierend, da die Spektren durch sehr breite, unscharfe Banden gekennzeichnet sind. Je mehr unabhängige Kalibrierungsproben vorhanden sind und je mehr Spektren in die Kalibrierung einfließen, desto stabiler ist die Methode. Die erforderliche Mindestdatenmenge war hingegen bei der DRIFT geringer. Für DRIFT ist die Verdünnung mit KBr essentiell. Daraus ergab sich ein zusätzlicher Arbeitsschritt, der bei der NIR-Spektroskopie nicht unbedingt erforderlich wäre. Hier könnten die Proben mit entsprechender Kalibrierung auch direkt gemessen werden. 5 mg bis 10 mg Probe wurden für die DRIFT-Messungen, 1 g bis 1,5 g Probe für NIR-Messungen benötigt. Die Messdauer selbst unterschied sich ebenso. Für ein DRIFT-Spektrum waren, je nach Spülzeit der Probe mit trockener Luft, 2 min bis 5 min Messzeit erforderlich. Ein NIR-Spektrum war in 40 s aufgezeichnet. Durch die erhöhte notwendige Datenmenge wurde dieses Zeitersparnis verringert. NIR-Spektroskopie und DRIFT waren geeignet, den Ibuprofengehalt beladener AE zu bestimmen.

Metronidazol

Die Gehaltsbestimmung der AEMetro erfolgte mittels einer NIR- und einer DRIFT-Methode. Die erste Ableitung der Spektren wurde im NIR in den Bereichen von 3910 cm^{-1} bis 4478 cm^{-1} und 5525 cm^{-1} bis 6250 cm^{-1} gebildet und eine multiple Streukorrektur durchgeführt. Für 22 Proben, die mit 208 Spektren charakterisiert wurden, ergaben sich folgende Parameter: R^2 99,52, RMSECV 0,670%, Rang 7 sowie als Nachweis- bzw. Bestimmungsgrenze 0,725% und 2,58%. Eine erstellte DRIFT-Methode in den Bereichen $821 - 880\text{ cm}^{-1}$ und $1250 - 1570\text{ cm}^{-1}$ wies nach der Spektrenvorbehandlung mit multipler Streukorrektur bei Rang 3 R^2 99,85 und RMSECV 0,342% auf. LOD und LOQ für diese Methode waren 0,039% und 0,486%. 51 Spektren wurden in Gruppen von 13 Proben vermessen. Letzterer Methode wurde aufgrund der besseren Parameter der Vorzug gegeben.

Nifedipin

Für AENif gelang es unter den gegebenen Bedingungen nicht, eine reproduzierbare NIR-Methode zu erstellen. Ursächlich war eine sehr geringe spektrale Informationsbreite der Spektren. Daher wurde eine DRIFT-Methode etabliert. Diese beruhte auf der Bildung der zweiten Ableitung der Spektren im Bereich von 1300 cm^{-1} bis 1551 cm^{-1} . 184 Spektren beschrieben 26 Proben. Für R^2 ergab sich 98,57, RMSECV betrug 0,925% und der optimale Rang war 7. LOD und LOQ lagen bei 0,347% und 1,45%.

Anhand verschiedener Arzneistoffe konnte gezeigt werden, dass schwingungsspektroskopische Methoden, speziell DRIFT und NIR-Spektroskopie geeignet sind, den Arzneistoffgehalt beladener AE zu quantifizieren. Es soll an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass die Methoden für jeden Arzneistoff entsprechend neu validiert werden müssen und daher keine allgemeingültige Empfehlung gegeben werden kann. Bei den in dieser Arbeit verwendeten beladenen Aerogelen erwies sich jedoch die DRIFT im direkten Vergleich mit der NIR-Spektroskopie als geeignetere Methode.

1.2 Charakterisierung ibuprofenbeladener Aerogele

Der physikalische Zustand der auf AE adsorbierten Arzneistoffe wurde anhand von AEIbu untersucht. Aus vorangegangenen Studien ist bekannt, dass mit Röntgen-Diffraktometrie keine kristallinen Strukturen nachweisbar sind [1-3]. Für ketoprofenbeladene AE wurde, in Analogie zu den Ergebnissen von [181], anhand der Veränderungen der CO-Streckschwingungen im MIR-Transmissionsspektrum der amorphe Zustand von Ketoprofen nach Adsorption postuliert [3]. Es galt daher diese ersten Ergebnisse zu übertragen und durch die Verwendung weiterer

schwingungsspektroskopischer Methoden zu ergänzen. Neben den kristallinen Ibuprofenen (S-Enantiomer und Racemat) und den beladenen AE wurden auch die Schmelzen untersucht, die die Spektren des amorphen Zustands simulierten.

Die Feststoffe S-Ibuprofen und racemisches Ibuprofen wiesen Unterschiede in ihren ATR- und RAMAN-Spektren auf. Während in den RAMAN-Spektren vor allem Abweichungen im niedrigen Wellenzahlbereich bestanden, waren in den FTIR-ATR-Spektren im gesamten *Fingerprint*-Bereich Unterschiede erkennbar. In Abbildung 17 sind die Spektren in ausgewählten Wellenzahlbereichen dargestellt. Die wichtigsten Bandenpositionen sind zur besseren Verständlichkeit in den Tabelle 32 und Tabelle 33 des Anhangs zusammengestellt.

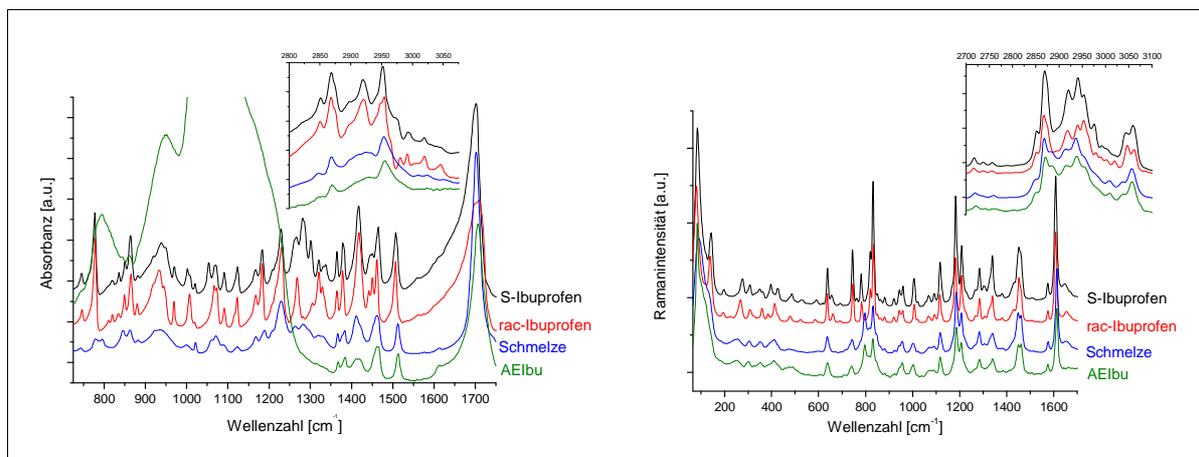


Abbildung 17: Vergleich der FT-ATR- (links) und FT-RAMAN-Spektren (rechts) von geschmolzenem S-Ibuprofen und AEIbu mit den kristallinen Feststoffe racemisches und S-Ibuprofen.

Die Spektren der Schmelzen beider Formen waren identisch, wobei die Banden im Vergleich zu beiden Feststoffspektren breiter und zu tieferen Wellenzahlen verschoben waren. Dies kann auf die bessere Beweglichkeit der Moleküle im flüssigen Zustand zurückgeführt werden [135, 136, 142]. Nach Abkühlen und Rekristallisation wurden die jeweiligen Ausgangsspektren wieder erreicht. Allgemein erwies sich die Schmelze des S-Ibuprofens als dauerhafter gegenüber jener des Racemats. Die Rekristallisation setzte erst nach mehreren Tagen ein, wohingegen das Racemat bereits nach einem Tag auskristallisierte. Auch bei der Beladung der AE mit S-Ibuprofen blieb dieses zunächst als flüssiger Rückstand im Autoklaven zurück.

Bandenpositionen und -formen des Ibuprofens der AEIbu entsprachen denen geschmolzenen Ibuprofens. Der Arzneistoff lag demzufolge nicht-kristallin, d.h. amorph, auf dem Aerogelgerüst adsorbiert vor. Das AE selbst besaß im ATR-Spektrum aufgrund der SiO-Schwingung einen breiten Absorptionsbereich bei 1050 cm^{-1} . Im RAMAN-Spektrum trat ebenfalls ein Untergrundsignal auf. Dieses war sehr breit und beeinflusste die Arzneistoffbanden nicht.

Der amorphe Zustand des adsorbierten Ibuprofens blieb während der Lagerung erhalten. Im Beobachtungszeitraum von acht Monaten kam es zu keinen Veränderungen im RAMAN- oder ATR-Spektrum. Im Gegensatz zu anderen Methoden der Amorphisierung von Arzneistoffen,

z.B. durch Sprüheinbettung, waren die beladenen AE demnach stabil und zeigten keine Rekristallisationsneigung. Die offene, weiträumige Porenstruktur des AE erschwerte das Kristallwachstum durch räumliche Trennung der adsorbierten Moleküle.

Die Homogenität der Arzneistoffverteilung wurde mit PAS untersucht. Durch die Intensitätsmodulation des anregenden IR-Strahls konnte ein Tiefenprofil der monolithischen, zylinderförmigen Probe erstellt werden. Die Intensitäten der Ibuprofenbanden waren zur Konzentration proportional und korrelieren mit der Eindringtiefe des IR-Strahls μ_{PAS} . Diese ist proportional zur thermischen Diffusionslänge μ_t und abhängig von der Modulationsfrequenz des IR-Strahls ν_s gemäß Gl. 5

$$\mu_{PAS} \sim \mu_t \sim \sqrt{\frac{1}{\nu_s}} \quad \text{Gl. 5 [135, 182]}$$

In Abbildung 18 ist beispielhaft die berechnete Intensität der Carbonylbande des Ibuprofens von 1667 cm^{-1} bis 1780 cm^{-1} in Abhängigkeit von der Eindringtiefe abgebildet. Die gute Korrelation zeigte, dass der adsorbierte Modellarzneistoff Ibuprofen homogen im AE verteilt vorlag.

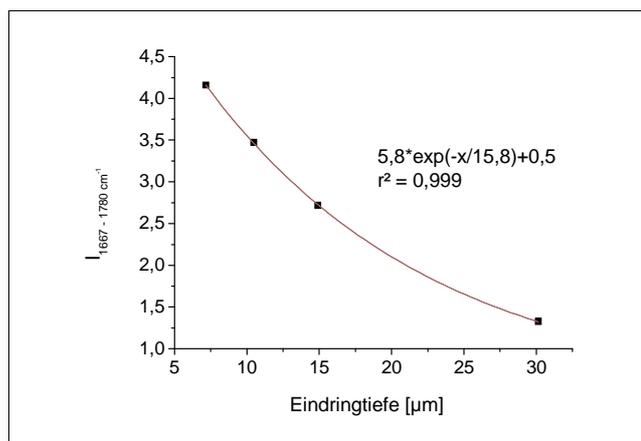


Abbildung 18: PAS-Intensität der Carbonylschwingung von Ibuprofen in Abhängigkeit von der Eindringtiefe des IR-Strahls in eine monolithische AEIbu-Probe.

Anhand verschiedener schwingungsspektroskopischer Untersuchungen konnte am Beispiel von AEIbu gezeigt werden, dass auf Aerogele adsorbierte Arzneistoffe homogen verteilt und amorph vorliegen. Der amorphe Zustand erwies sich als lagerungsstabil.

1.3 Feste Arzneiformen

1.3.1 Freigabestudien zu Ibuprofen und Nifedipin aus hydrophilen Silica-Aerogelen mittels Paddle-Methode

Arzneistoffbeladene AE können zu unterschiedlichen Arzneiformen verarbeitet werden. In Hinführung an die Herstellung fester Arzneiformen, insbesondere Tabletten, wurden zunächst für die beiden Modellarzneistoffe Ibuprofen und Nifedipin Freisetzungstudien mit beladenen Aerogelpulvern und den jeweiligen kristallinen Arzneistoffen durchgeführt.

1.3.1.1 Ibuprofen

Verschiedene ibuprofenhaltige Proben (AEIbu Dichte $0,04 \text{ g cm}^{-1}$ und $0,08 \text{ g cm}^{-1}$ mit 20% und 36% bzw. 21% und 40% Ibuprofen, Ibuprofen-Racemat, S-Ibuprofen) wurden auf ihre Freigabe in 0,1N-HCl bzw. Puffer untersucht. Eine graphische Darstellung der Ergebnisse ist in Abbildung 19 zusammengestellt.

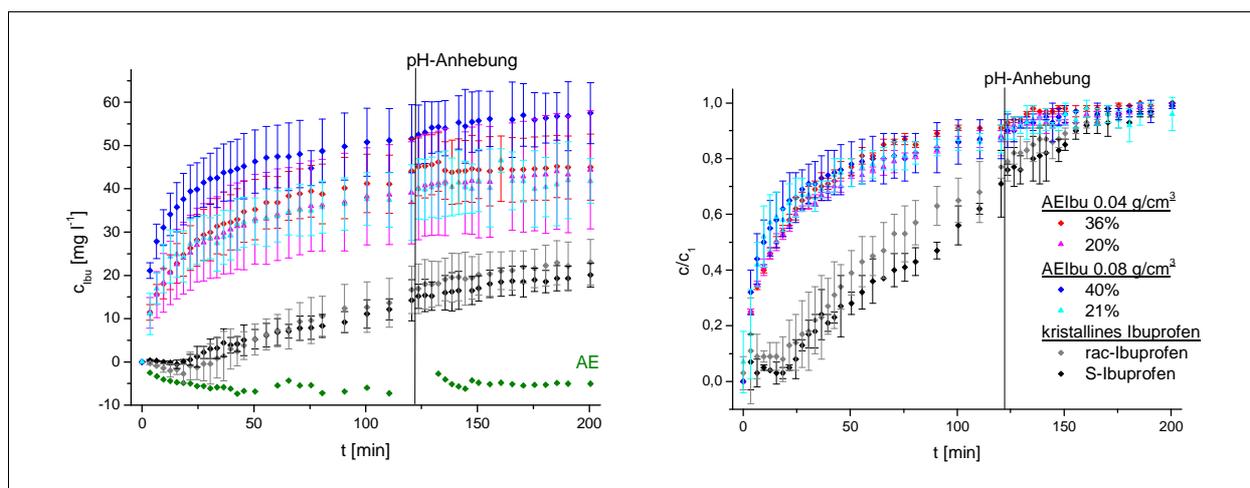


Abbildung 19: Freisetzung von Ibuprofen aus AEIbu verschiedener Dichte und Beladung bzw. Lösen von kristallinem Ibuprofen in 0,1N-HCl ($t = 120 \text{ min}$) mit anschließender pH-Wert-Erhöhung (pH 7, $t [120; 200]$); links: Konzentrations-Zeit-Diagramm, rechts: normierte Freisetzung (c/c_1 , $n = 3$).

Zwischen S-Ibuprofen und racemischem Ibuprofen waren geringe Unterschiede in der Lösungsgeschwindigkeit zu erkennen, wobei racemisches Ibuprofen eine geringfügig schnellere Löslichkeit im Medium im beobachteten Zeitraum aufwies. Typisch für das Auflösen kristalliner Feststoffe ist das Auftreten einer Verzögerungszeit, die das Überwinden der Kristallgitterkräfte zu Beginn des Prozesses charakterisiert. Die kristallinen „Ibuprofene“ zeigten solch eine Verzögerung und am Ende der Messzeit waren die Proben noch nicht vollständig gelöst. Deutlich erhöht war die Lösungsgeschwindigkeit durch Verwendung von AEIbu im Vergleich zu kristallinem Ibuprofen. Durch den Kontakt mit dem Medium kollabierte das Aerogelgerüst aufgrund starker Kapillarkräfte und das amorph adsorbierte Ibuprofen wurde molekulardispers

an das umgebende Medium abgegeben. Kristallgitterkräfte mussten nicht überwunden werden. Alle AEIbu-haltigen Proben setzten den Arzneistoff unverzüglich frei. Unterschiede in Aerogeldichte und Beladung beeinflussten Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit nicht signifikant. Aerogele höherer Beladung setzten mehr Ibuprofen frei als ihre Äquivalente mit geringerer Beladung.

Die initiale Freisetzung innerhalb der ersten 2 h war nahezu quantitativ (90-95%). Die Verbesserung der Löslichkeit durch pH-Anhebung auf pH 7 resultierte daher nur in einem geringfügigen Anstieg der Ibuprofenkonzentration im Medium. Bei den kristallinen Formen erwies sich weiterhin die Löslichkeit selbst als limitierend.

1.3.1.2 Nifedipin

Neben Ibuprofen diente Nifedipin als Modellarzneistoff zur Herstellung fester, AE-haltiger Arzneiformen. Ungünstige Lösungseigenschaften (BCS-Klasse II), chemische Instabilität und die Verwendung zur Akuttherapie des Bluthochdrucks (z.B. als Spray oder Zerbeißkapsel, [49, 163]) machen Nifedipin zu einem interessanten Arzneistoff für die Adsorption auf AE und die Herstellung (ultra-)schnell freisetzender fester Arzneiformen auf Basis von AENif.

Anhand der Lösungsgeschwindigkeit von Nifedipin und der Freisetzung von Nifedipin aus AENif in Puffer pH 7 wurde der Einfluss unterschiedlicher Donatormengen auf die gelöste Arzneistoff-Menge untersucht. Es herrschten *Non-sink*-Bedingungen. Bei allen Proben mit kristallinem Nifedipin befand sich ein deutlicher kristalliner Rückstand beim Beenden des Experiments im Probengefäß. Im Gegensatz dazu, waren bei Verwendung AENif die Proben entfärbt und durch den Aerogeleffekt geschrumpft. Zudem wiesen die Lösungen eine wesentlich stärkere Gelbfärbung auf, was sich auch in höheren UV/Vis-Absorptionen widerspiegelte.

In Abbildung 20 sind die Ergebnisse graphisch gegenübergestellt. Wie schon bei den „Ibuprofenen“, war bei kristallinem Nifedipin eine deutliche Verzögerungszeit zu beobachten. Diese fehlte bei den AENif erwartungsgemäß vollständig. Aerogeleffekt und amorpher Zustand des adsorbierten Nifedipins führten zu einer schnellen bzw. ultra-schnellen Arzneistoffabgabe an das Medium. Neben der forcierten Lösungsgeschwindigkeit war eine verbesserte Löslichkeit des Nifedipins zu beobachten. Der finale Abfall der Freisetzungskurven ab 200 mg AENif zeigte, dass die entstandenen übersättigten Lösungen nicht stabil waren. Nach Erreichen eines Konzentrationsmaximums rekristallisierte Nifedipin und die Konzentration gelösten Arzneistoffs nahm infolgedessen ab. Kristallines Nifedipin zeigte Unterschiede in Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der eingesetzten Konzentration. Je mehr Nifedipin eingesetzt wurde, desto mehr löste sich im Medium und desto schneller wurde der Gleichgewichtszustand erreicht.

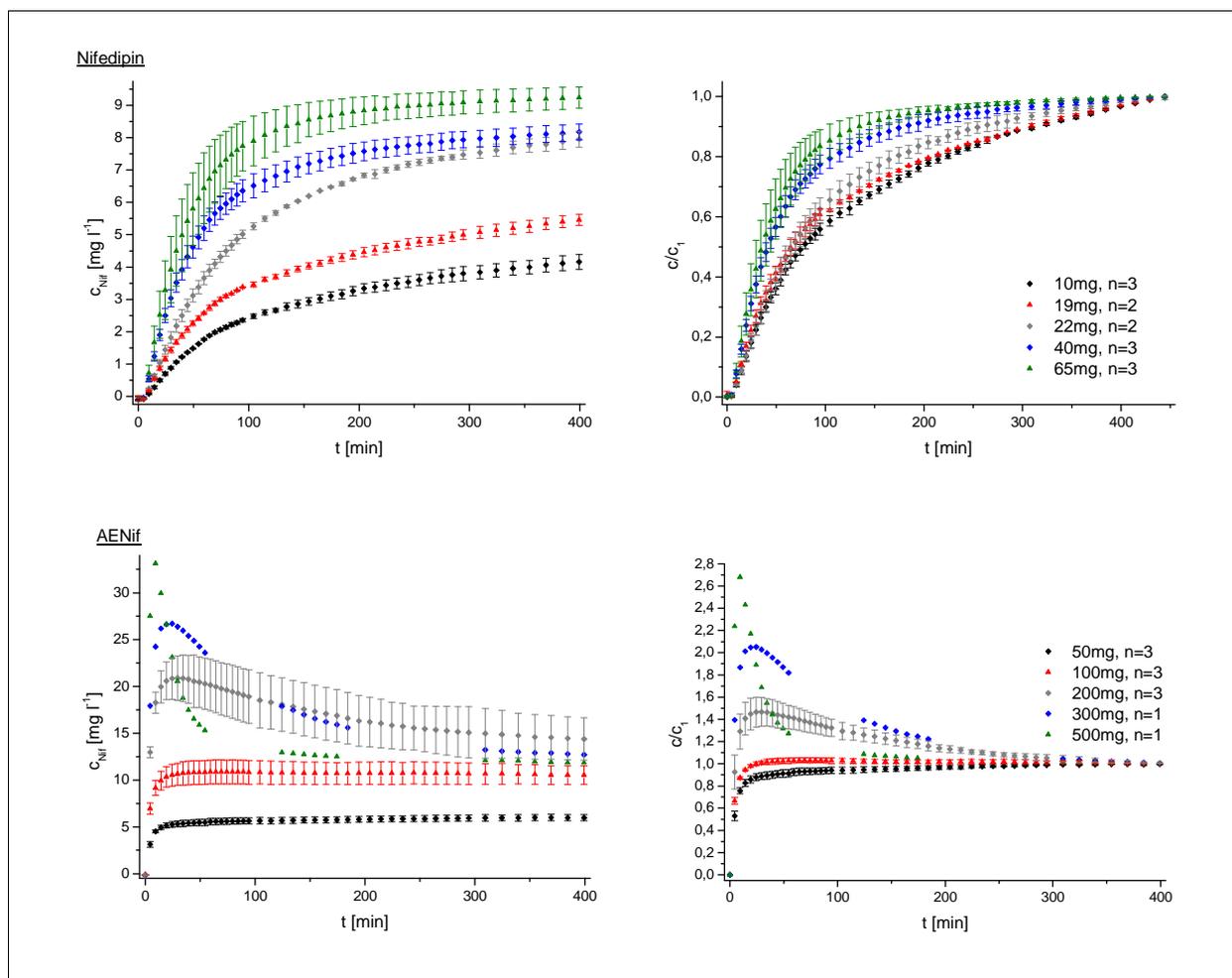


Abbildung 20: Freisetzung von Nifedipin aus AENif bzw. Lösen von Nifedipin in Puffer pH 7 in Abhängigkeit von der Dosis; links: Konzentrations-Zeit-Diagramm, rechts: normierte Freisetzung ($c_1 \equiv 1$).

Aerogeleffekt und amorpher Zustand der adsorbierten Arzneistoffe begünstigten Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit im Medium gegenüber kristallinem Ibuprofen oder Nifedipin. Die deutlich verbesserte Freisetzung durch die Verwendung von AEIbu bzw. AENif zeigte, dass die Bioverfügbarkeit schlecht (wasser-)löslicher Arzneistoffe erhöht werden kann, werden diese auf Aerogele adsorbiert.

1.3.2 Tablettierung von hydrophilen Silica-Aerogelen

Tabletten stellen häufig eingesetzte feste Arzneiformen dar. Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, erstmalig arzneistoffbeladene AE zu Tabletten zu verarbeiten. Da AE sich durch ein sehr hohes Volumen auszeichnen, wurden zunächst Studien zur Komprimierung und Tablettierbarkeit unbeladener AE durchgeführt.

Das SiO₂-Polymer Aerosil® (Aer) findet bereits vielfach als Tablettierhilfsstoff Verwendung, so dass zunächst die Tablettiereigenschaften von AE im Vergleich zu Aer untersucht wurden. Mikrokristalline Cellulose (MCC) gilt als einer der einfachsten Tablettierhilfsstoffe, und

deswegen wurden zunächst Mischungen aus MCC mit unterschiedlichen SiO₂-Konzentrationen - als Aer oder AE - tablettiert. In Abbildung 21 sind Tablettenhärte und Zerfallszeit der MCC-AE-Tabletten dargestellt. Während die Mischungen mit AE mit steigendem Gehalt immer fester wurden, ergaben MCC-Aer-Mischungen lockere Komprimat, die mit steigendem Aer-Gehalt weiter an Festigkeit verloren. Äquivalente Mischungen aus Aer/MCC ließen sich nicht mehr komprimieren. Tabletten mit weniger als 50% Aer wiesen Zerfallszeiten von 30 s bis 60 s und Bruchfestigkeiten um 30 N auf.

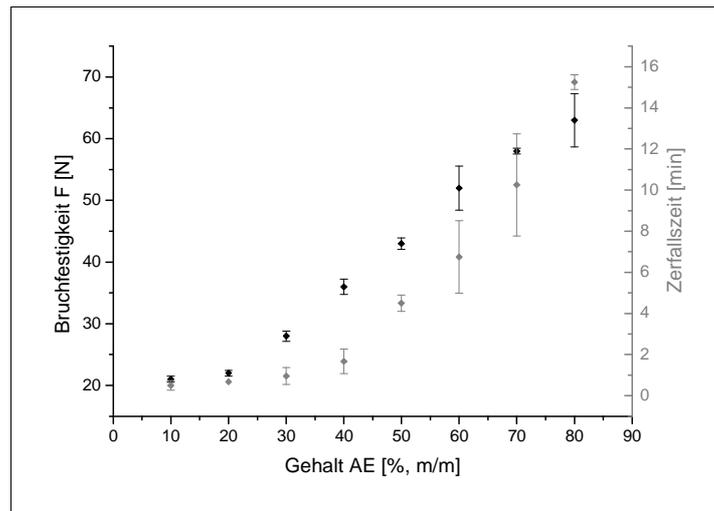


Abbildung 21: Bruchfestigkeit und Zerfallszeit von Tabletten aus MCC mit unterschiedlichem AE-Gehalt.

Aer mit seinen kleinen kugelförmigen, geschlossen-porigen Partikeln erwies sich im Tablettiervorgang als schwerer deformierbar als das AE mit seinen heterogenen Partikeln. Dessen offene Porenstruktur begünstigte ebenso wie die geringe Bruchfestigkeit die Tablettierbarkeit. Große Poren kollabierten unter der Druckaufwendung, zudem brachen die Aerogelteilchen durch die Druckanwendung beim Tablettieren weiter auf und füllten Hohlräume der MCC-Matrix aus, so dass formschlüssige Bindungen entstanden und festere Tabletten resultierten. Kohäsions- und Adhäsionskräfte waren hingegen bei den Aer-Komprimaten die bestimmenden Bindungskräfte. Die schematische Skizze in Abbildung 22 illustriert diese Vorgänge.

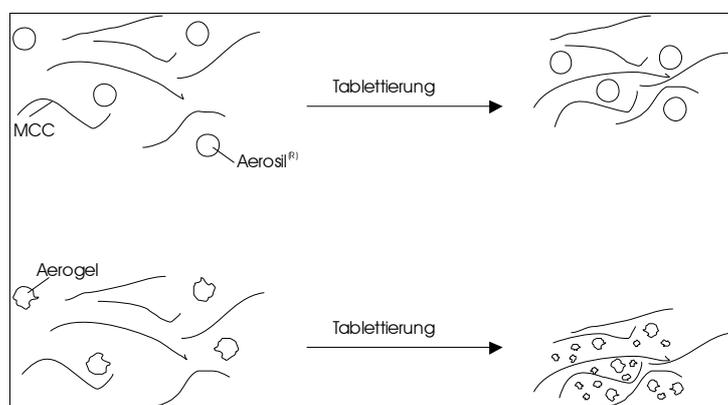


Abbildung 22: Schematische Darstellung der Tablettierung von Aer (oben) und AE (unten) mit MCC.

Aus diesen ersten Experimenten ging hervor, dass die hohe Tablettenhärte der AE-haltigen Tabletten den Zerfall beeinflusst, respektive erschwert und dadurch die gewünschte beschleunigte Arzneistofffreisetzung aus den Tabletten limitiert werden könnte.

In der Folge wurde daher α -Lactose-Anhydrat (Lac) den Tablettiermischungen zugesetzt, um durch einen hydrophilen Hilfsstoff den Tablettenzerfall zu verbessern. Mischungen mit AE bzw. Aer mit unterschiedlichen Verhältnissen von MCC und Lac wurden hergestellt und tablettiert. Abbildung 23 zeigt Bruchfestigkeit und Zerfallszeit der Tabletten in Abhängigkeit vom Lac-Gehalt, dem SiO₂-Polymer und dessen Konzentration.

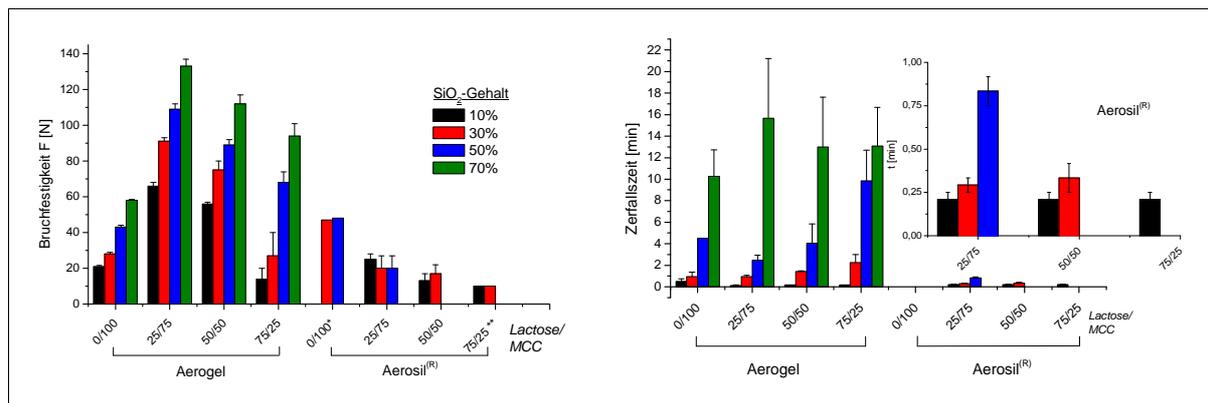


Abbildung 23: Bruchfestigkeit und Zerfallszeit von Tabletten mit AE oder Aer mit MCC bzw. Lac/MCC-Mischungen in Abhängigkeit vom SiO₂-Gehalt, * n = 1; ** n = 3 mit F < 10 N.

Die Zugabe von Lac erhöhte die Bruchfestigkeit der Aer-Komprimierte. In Analogie zur Tablettierung mit MCC waren keine Tabletten mit erhöhtem Aer-Gehalt herstellbar.

Bei AE war der Einfluss des Lac-Gehalts abhängig vom Aerogelgehalt und vom Mischungsverhältnis Lac/MCC. Letztendlich galt: je mehr Lac, desto weicher wurden die Tabletten und je mehr AE, desto fester wurden sie. Dies resultierte in der Zunahme der Bruchfestigkeit mit steigender AE-Konzentration und Abnahme der Bruchfestigkeit mit erhöhtem Lac-Gehalt der Tablettiermischung.

Die Zerfallszeiten korrelierten mit der Bruchfestigkeit. Je fester die Tabletten, desto langsamer zerfielen sie. Ein geringer Zusatz von Lac verringerte die Zerfallszeiten.

Resultierend aus diesen Studien dienten für nachfolgende Untersuchungen MCC oder eine Mischung aus Lac/MCC 1/3 als Tablettiergrundmischung. Die Zugabe von 1% Magnesiumstearat führte zu keiner grundlegenden Verbesserung der Tablettiereigenschaften von Mischungen mit AE, so dass darauf verzichtet wurde.

¹H-NMR-Spektroskopie

¹H-NMR-*Imaging* Untersuchungen an ausgewählten Tabletten aus 0, 30% und 50% AE und Lac/MCC 1/3 als Hilfsstoffmischung zeigten keine Unterschiede hinsichtlich des Zerfalls in Abhängigkeit vom eingesetzten Medium - Wasser oder Puffer (Anhang: Abbildung 59). Ohne AE zerfielen die Tabletten sofort bei Berührung mit dem Medium. Tabletten mit 30% AE wurden schnell benetzt und zerfielen in Stücke, wohingegen Tabletten mit 50% AE langsam und gleichmäßig vom Medium benetzt und nur teilweise in fragile Stücke zersprengt wurden. Die schlechtere Benetzung der Tabletten mit höherem AE-Gehalt spricht ebenso wie der pilzartige Zerfall selbst für eine Hydrophobisierung der Tablettenoberfläche durch das AE wie sie in [183] für Manteltabletten aus hochdispersem Siliciumdioxid, Calciumhydrogelposphat-Dihydrat, Glyceroldibehenat, Magnesiumstearat und Povidon K 29/32 [163] beschrieben wurde.

FT-RAMAN-Spektroskopie

RAMAN-Spektren der Tablettiermischungen und der Tabletten wurden aufgenommen, um Einflüsse des SiO₂-Polymers auf die Struktur der anderen Hilfsstoffe zu untersuchen. AE und Aer zeigten im RAMAN-Spektrum keine Banden, die auf kristalline Strukturen verweisen. Außer den Banden zwischen 2000 cm⁻¹ und 2500 cm⁻¹, die den Si-H-Bindungen der SiO₂-Matrix zuzuordnen waren, zeichneten sich die Spektren durch eine sehr breite Absorption bei hohen Wellenzahlen aus, wobei diese bei AE wesentlich intensiver war als bei Aer (Abbildung 24).

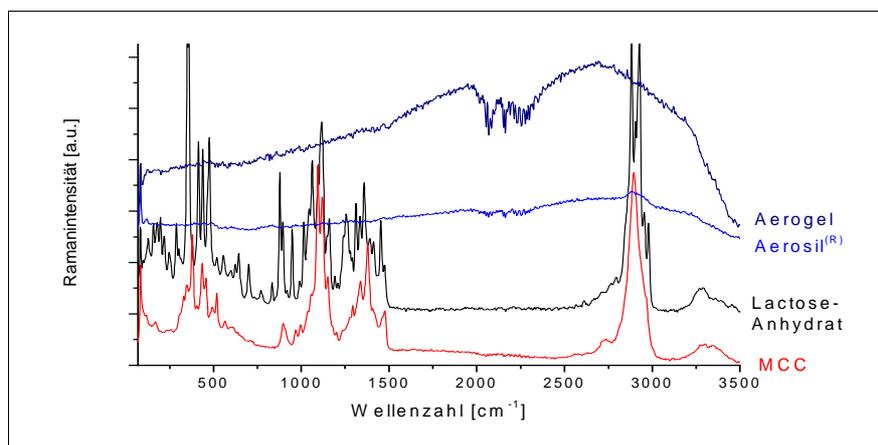


Abbildung 24: FT-RAMAN-Spektren der Einzelkomponenten der Tabletten.

Die Spektren der Tablettiermischungen und der Tabletten wiesen als einzigen Unterschied ein verstärktes Rauschen der Mischungsspektren auf. Daher sind in Abbildung 25 die Spektren der Tablettenbruchflächen abgebildet. Während Aer-Zusatz keinen oder nur einen marginalen Einfluss auf die Intensität der anderen Hilfsstoffbanden zeigte, führte der Zusatz von AE konzentrationsabhängig zu einer Verringerung der Bandenintensität, wobei insbesondere die Lac-Banden sensitiv reagierten und mit zunehmender AE-Konzentration stark abnahmen. Ab 50%

AE-Zusatz betrug die Lac-Banden nur noch die Hälfte ihrer Ausgangsintensität. Bei Tabletten mit MCC war ab 70% eine deutliche Intensitätsabnahme festzustellen. Lac zeigte wegen seiner geringeren Größe und größeren Hydrophilie im Vergleich mit MCC bessere Interaktionsmöglichkeiten mit den Silanolgruppen des AE und passte sich gut in die hochporösen, schwammartigen Oberflächen ein. Diese Interaktionsmöglichkeiten waren bei Aer eingeschränkt, das herstellungsbedingt aus geschlossen-porigen Kugeln bestand und dadurch eine geringere Oberfläche und damit Interaktionsfläche als die AE aufwies.

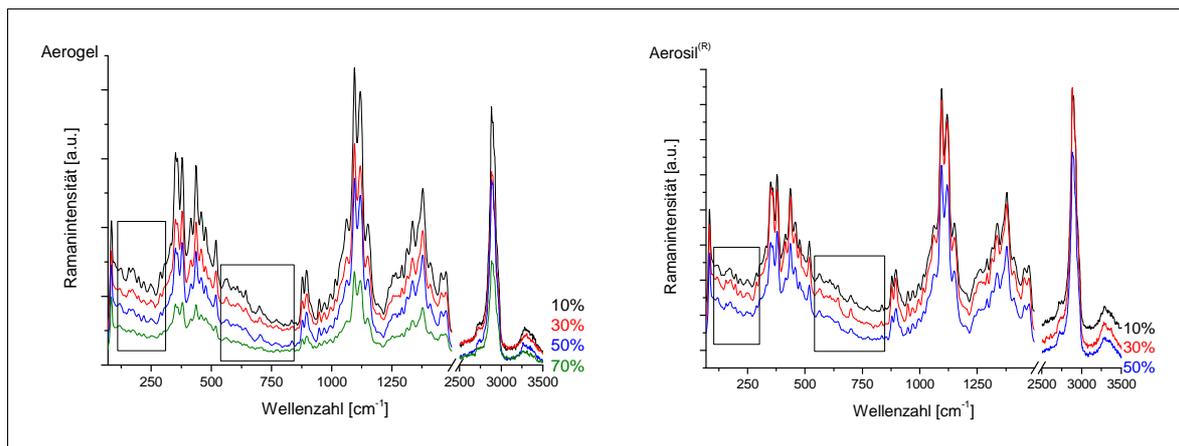


Abbildung 25: FT-RAMAN-Spektren von Tabletten aus Lac/MCC 1/3 mit verschiedenen SiO₂-Konzentrationen (10% schwarz, 30% rot, 50% blau, 70% grün); die entsprechenden Lac-Banden sind markiert.

Erste vergleichende Studien zur Tablettierung der beiden Silica-Polymere AE und Aer zeigten deren konträres Verhalten auf. Vor allem die verschiedenen Porenstrukturen bedingten verschiedene Interaktionsmöglichkeiten des Polymers mit der Tablettenmatrix, die zunächst Parameter wie Bruchfestigkeit und Zerfallsverhalten bestimmten und mittels RAMAN-Spektroskopie sichtbar gemacht werden konnten.

1.3.3 Tablettierung ibuprofenbeladener Aerogele

Basierend auf den Untersuchungen zur Tablettierbarkeit von unbeladenen AE, wurden mit AEIbu erstmalig arzneistoffbeladene Aerogele tablettiert und die entstandenen Tabletten charakterisiert.

1.3.3.1 MCC als Hilfsstoff

Tabletten auf MCC-Basis mit AEIbu oder kristallinem Ibuprofen wurden hergestellt, um den Einfluss der Lagerungsbedingungen zu untersuchen. Dafür wurden zu MCC 40% oder 70% der folgenden Substanzen oder Mischungen zugegeben:

- 1) AEIbu (Beladung 13%),
- 2) AEIbu (Beladung 31%),
- 3) AE + kristallines Ibuprofen (entsprechend 31% Ibu),
- 4) Aer + kristallines Ibuprofen (entsprechend 31% Ibu).

Tablettenmasse (n = 3), Bruchfestigkeit (n = 1), Zerfallszeit (n = 3) und Freisetzung von Ibuprofen (n = 3) wurden frisch und nach 12-tägiger Lagerung im Exsikkator über Blaugel bzw. bei 57% relativer Feuchte bestimmt. Parallel dazu wurden RAMAN-Spektren der Tabletten aufgenommen. Die graphische Darstellung der Ergebnisse von Tablettenmasse, Bruchfestigkeit und Zerfallszeit befindet sich in Abbildung 26.

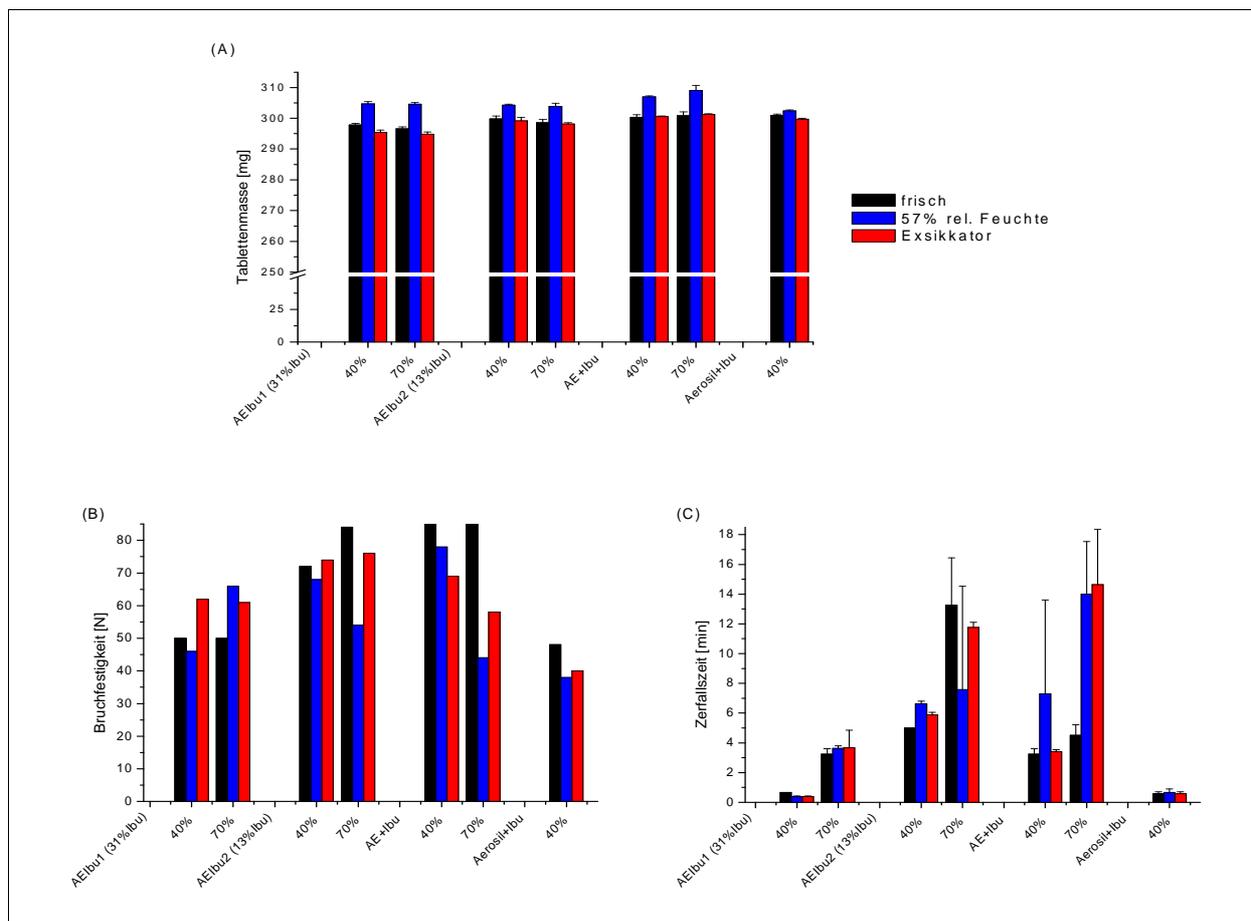


Abbildung 26: Tabletten auf MCC-Basis mit AEIbu ($0,04 \text{ g cm}^{-3}$, 31% bzw. 13%), AE+Ibu und Aer+Ibu: Tablettenmasse (A, n = 3)), Bruchfestigkeit (B, n = 1) und Zerfallszeit (C, n = 3) in Abhängigkeit von der Lagerung: direkt nach Tablettierung (schwarz) sowie nach 12-tägiger Lagerung bei 57% rel. Feuchte (blau) oder über Blaugel im Exsikkator (rot).

Unter Berücksichtigung der geringen Probenzahl war keine Beeinflussung der Bruchfestigkeit durch die Lagerung zu erkennen. Art und Menge des SiO_2 -Polymers wirkten sich auf Tablettenhärte und Zerfallszeit aus. Mit steigendem AE-Gehalt wurden die Tabletten härter und die Zerfallszeit nahm zu. Demgegenüber waren Tabletten mit 70% Aer + Ibuprofen nicht mehr herstellbar. Die Komprimierte zerfielen beim Ausstoß aus der Matrize.

Das Tablettengewicht änderte sich in Abhängigkeit von den Lagerungsbedingungen. Durch Lagerung bei 57% rel. Feuchte nahm die Tablettenmasse aller Proben signifikant zu ($p < 0,01$). Dies ist auf eine Aufnahme der Umgebungsfeuchte zurückzuführen. Bei Tabletten, die im Exsiccator lagerten, war hingegen durch Trocknungsprozesse nur eine geringfügige bzw. keine Gewichtsabnahme zu verzeichnen.

FT-RAMAN-Spektroskopie

RAMAN-spektroskopische Untersuchungen zeigten, dass unterkühlte Schmelzen, wie sie für kristallines Ibuprofen beim Tablettieren in der Literatur beschrieben sind [184], nicht auftraten. Die RAMAN-Spektren der Tabletten (AE+Ibu, Aer+Ibu) zeigten eindeutig den kristallinen Zustand des Ibuprofens (Abbildung 27).

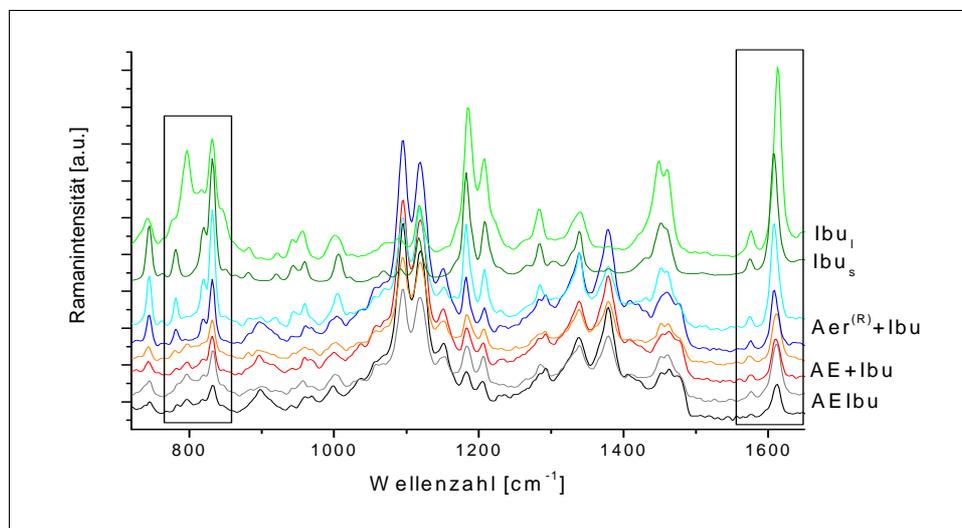


Abbildung 27: FT-RAMAN-Spektren verschiedener Tabletten aus MCC mit AEIbu, AE+Ibu oder Aer+Ibu sowie als Referenz geschmolzenes und kristallines Ibuprofen (Ibu_l , Ibu_s). Die Tabletten enthielten 40% oder 70% SiO_2 -Polymer + Arzneistoff. Dies wird durch abnehmende Farbintensitäten (40% dunkel, 70% hell) dargestellt. Banden, die den physikalischen Zustand von Ibuprofen charakterisieren, sind markiert.

Im Gegensatz dazu waren die Ibuprofenbanden der AE-haltigen Tabletten amorphem Ibuprofen zuzuordnen. Durch Tablettierung und anschließende Lagerung wurde der physikalische Zustand des Ibuprofens im Vergleich zur Ausgangssituation nicht verändert.

Auch in den Tablettiermischungen selbst war Ibuprofen kristallin, wenn es als Aer+Ibu eingearbeitet wurde, und amorph im Fall der verwendeten AEIbu. Die Ibuprofenbanden der Tabletten mit AE+Ibu ließen sich amorphem Ibuprofen zuordnen. Dies zeichnete sich bereits in den stark verrauschten - Spektren der Tablettiermischungen ab. Ein Schmelzen des Ibuprofens war unter den Mischungsbedingungen ausgeschlossen, auch wenn Ibuprofen einen sehr tiefen Schmelzpunkt aufweist. Ursache für die Bandenverschiebungen waren in Interaktion zwischen AE und Arzneistoff, zumal die Freisetzungskurven den typischen Verlauf kristalliner Arzneistoffe erkennen ließen.

Keine Unterschiede gab es in den Spektren hinsichtlich der Tablettenseite. Die Spektren der Oberfläche, Unterseite und Bruchfläche waren identisch, wobei die Intensität der Spektren der Bruchfläche meist höher war.

Freisetzungsexperimente

Freisetzungsexperimente zeigten keine Unterschiede hinsichtlich der Lagerungsbedingungen (Anhang: Tabelle 34). Als Beispiel sind in Abbildung 28 die Freisetzungen nach Lagerung bei 57% rel. Feuchte dargestellt. Diese Ergebnisse zeigten deutlich, dass der Aerogeleffekt nicht durch die Lagerung bei erhöhter Feuchte vorzeitig provoziert wurde und die verbesserte Freisetzung des Ibuprofens aus AEIbu unbeeinflusst blieb. Die Streuungen der Ergebnisse können durch Inhomogenitäten der Probenkollektive oder messtechnische Probleme entstanden sein.

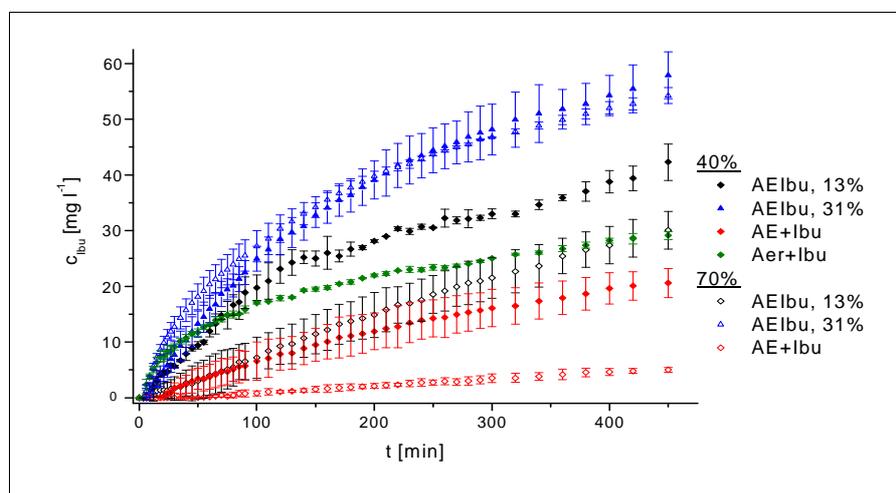


Abbildung 28: Freisetzung von Ibuprofen aus Tabletten auf MCC-Basis mit 40% (geschlossene Symbole) oder 70% (offene Symbole) AEIbu, AE+Ibu oder Aer+Ibu nach 12-tägiger Lagerung bei 57% rel. Feuchte, n = 3.

Die Freisetzung der Proben mit 40% AEIbu (31% Beladung) war am größten. Tabletten mit 70% AEIbu (31% Beladung) bzw. 40% oder 70% AEIbu (13% Beladung) zeigten ähnliche Ergebnisse. Der Austausch von AEIbu gegen unbeladenes AE und kristallines Ibuprofen in entsprechender Konzentration führte zu einer rapiden Verringerung der freigesetzten Ibuprofenmenge, was sich aus den kristallinen Zustand des Arzneistoffs und damit seiner schlechteren Löslichkeit im Vergleich mit dem amorphen Ibuprofen des AEIbu ergab. Auffällig war die gute Freisetzung der Tabletten mit Aer+Ibu. Diese Tabletten wiesen im Gegensatz zu den aerogelhaltigen Tabletten eine geringere Festigkeit auf und zerfielen bei Mediumkontakt sofort, so dass dies als Hauptursache für die gute Freisetzung anzuführen ist.

Ähnliches spiegelte sich auch im Parameter AUC wieder, wobei eine deutliche Verringerung der AUC bei den Tabletten mit dem höheren AE/AEIbu-Gehalt festzustellen war (Anhang: Tabelle

34). Die ABC war für die Proben mit AEIbu am größten. Die Proben mit kristallinem Ibuprofen wiesen eine deutlich geringere ABC auf. Die MDT dient als Parameter für die mittlere Verweilzeit des Arzneistoffs in der Arzneiform. Die geringste MDT war bei den sehr labilen Presslingen mit Aer+Ibu zu beobachten, was durch den schnellen Zerfall der Tabletten begünstigt wurde.

1.3.3.2 Lactose-MCC-Mischungen als Hilfsstoff

Im Folgenden wurden Tabletten auf der Basis von Lac und MCC im Mischungsverhältnis 1/3 untersucht. Diese Mischung wurde anhand der Voruntersuchungen mit unbeladenem AE (Kapitel D 1.3.2) ausgewählt. Hinzugefügt wurden steigende AE-Ibu-Konzentrationen als

- 1) 40%, 50% oder 60% AEIbu (Beladung 34% oder 42%),
- 2) 40%, 50% oder 60% AE + kristallines Ibuprofen, dem Verhältnis zwischen AE und Ibuprofen wurde die Beladung des AEIbu mit 42% zugrunde gelegt,
- 3) 40% AEIbu (Beladung 34%) und Zugabe von kristallinem Ibuprofen à 25 mg, 50 mg oder 75 mg pro Tablette.

Tabletten mit Aer+ kristallines Ibuprofen waren unter den gegebenen Bedingungen (u.a. konstante Einstellungen der Presskraft) nicht reproduzierbar herzustellen. Die Tabletten zerfielen beim Ausstoß aus der Matrize.

FT-RAMAN-Spektroskopie

Die Ergebnisse der RAMAN-spektroskopischen Untersuchungen sind in Abbildung 29 dargestellt und waren analog zu den MCC-Tabletten: AEIbu und AE+Ibu zeigten deutliche Banden, die amorphen Ibuprofen zuzuordnen waren. Ein Jahr nach Herstellung und Lagerung bei Raumtemperatur konnten für AEIbu und AE+Ibu weiterhin keine kristallinen Zustände nachgewiesen werden. Auch nach 18-monatiger Lagerung blieb der amorphe Zustand des Ibuprofens in Tabletten mit AEIbu erhalten, wohingegen die Tabletten mit AE+Ibu RAMAN-Banden zeigten, die für den kristallinen Arzneistoff charakteristisch sind. Nach Zumischung kristallinen Ibuprofens zu AEIbu traten Banden kristallinen und amorphen Ibuprofens auf.

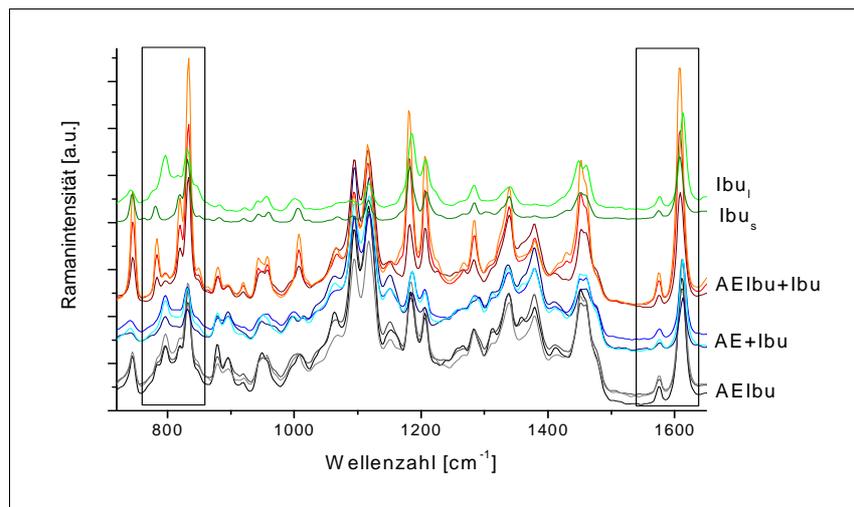


Abbildung 29: FT-RAMAN-Spektren verschiedener Tabletten aus Lac/MCC 1/3 mit AEIbu, AE+Ibu (40%, 50%, 60% = abnehmende Farbintensität) oder 40% AEIbu+Ibu (25 mg/50 mg/75 mg; abnehmende Farbintensität); als Vergleich sind die Spektren kristallinen und geschmolzenen Ibuprofens abgebildet und die Banden, die mit dem physikalischen Zustand korrelieren, hervorgehoben.

Freisetzungsexperimente

Abbildung 30 zeigt exemplarisch die Ergebnisse einiger Freisetzungsexperimente dieser Probenreihen. Die entsprechenden Parameter (AUC, ABC, MDT) sind im Anhang in Tabelle 35 zusammengestellt.

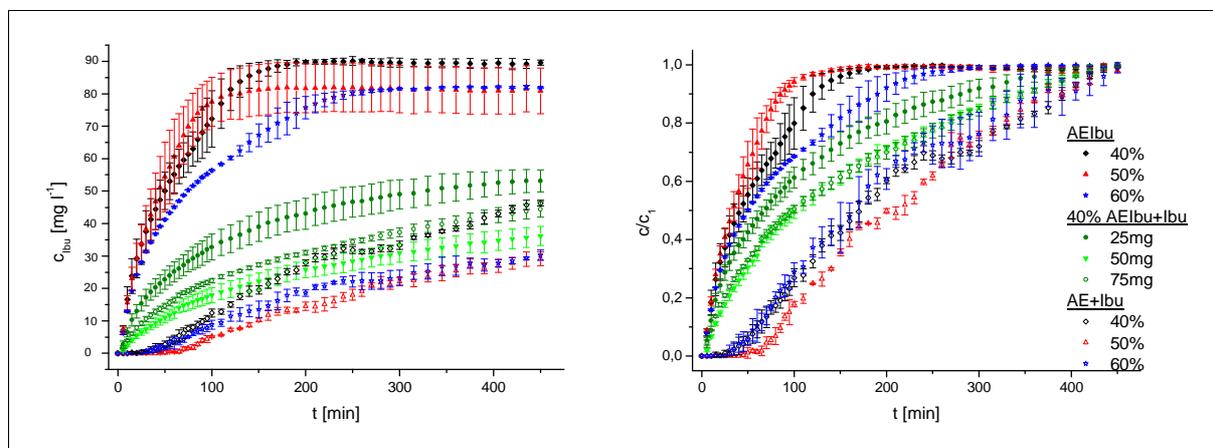


Abbildung 30: Freisetzung von Ibuprofen aus Tabletten (Lac/MCC 1/3) mit AEIbu (Beladung 32% Ibuprofen, geschlossene Symbole), AE+Ibu (offene Symbole) unterschiedlicher Konzentration oder 40% AEIbu + kristallines Ibuprofen (25/50/75 mg pro Tablette), $n = 3$.

Als erstes fällt in den Freisetzungskurven auf, dass bei Verwendung von AEIbu deutlich höhere Freisetzungsraten resultierten als bei den Proben mit kristallinem Ibuprofen. Aerogeleffekt und amorpher Zustand des Ibuprofens der Aerogele begünstigten die Arzneistofffreisetzung. Der Vergleich, der mit AEIbu-haltigen Tabletten erreichten Ibuprofenkonzentrationen mit der Löslichkeit kristallinen Ibuprofens im Medium (ca. 20 mg l^{-1} , Abbildung 19), führte zum dem Schluss, dass deutlich übersättigte Lösungen entstanden sind, die im beobachteten Zeitraum stabil waren.

Tabletten mit 40% und 50% AEIbu zeigten eine sofortige Ibuprofenfreisetzung, wohingegen Tabletten mit 60% AEIbu verzögert und leicht biphasisch freisetzten. Da alle Tabletten innerhalb der gleichen Zeiten zerfielen und gleiche Bruchfestigkeiten aufwiesen, waren andere Mechanismen zu diskutieren. Der Zerfall aerogelhaltiger Tabletten war durch pilzartiges Auf- und Auseinanderbrechen entlang horizontaler Bruchlinien gekennzeichnet. Dieses Zerfallsmuster wurde in der Literatur [183] für Tabletten aus lipophilen Matrices beschrieben. Wechselwirkungen zwischen den Silanolgruppen des AE und Alkoholgruppen der MCC oder auch Lac führten zu einer lipophilen Struktur der Tabletten. Eine verzögerte Arzneistofffreisetzung wurde durch den Aerogeleffekt und die Abgabe des adsorbierten Ibuprofens auf molekulardisperser Ebene überkompensiert. Der aufgewandte Druck bei der Tablettierung zerstörte vor allem große Poren, kleinere Poren blieben unversehrt. Die für den Aerogeleffekt verantwortlichen Kapillarkräfte sind umso höher, je kleiner die Poren sind, d.h. der Aerogeleffekt wurde durch die Kompression nicht beeinträchtigt. Eine biphasische Freisetzung, wie sie sich bei den Tabletten mit dem höchsten Aerogelgehalt andeutete, ließ sich folgendermaßen erklären: Zunächst erfolgte die Freisetzung aufgrund des Aerogeleffekts von der Oberfläche der Tablette und ihrer Bruchstücke her. Der hohe Aerogelgehalt führte zu einer lipophileren Oberfläche im Vergleich zu Tabletten mit weniger Aerogel, so dass die Freisetzung etwas verzögert wurde. Gleichzeitig kollabierten die Aerogelpartikel in der Tablette durch die auftretenden Kapillarkräfte und es entstanden porenähnliche Defekte, die das Eindringen weiteren Mediums in die Tablette erleichterten. Die entsprechenden Tabletten, hergestellt aus AE+Ibu in denselben Konzentrationen, wiesen eine für kristalline Arzneistoffe typische Freisetzungskinetik einschließlich einer Verzögerungszeit von ca. 50 min auf.

Eine letzte Probenreihe kombinierte AEIbu und kristallines Ibuprofen. Dabei wurde zu einem konstanten AEIbu-Gehalt (40%) kristallines Ibuprofen zu 25 mg, 50 mg oder 75 mg je Tablette hinzugegeben. Die Freisetzungskurven dieser Proben liegen zwischen denen der AEIbu und AE+Ibu. Im Anfangsbereich erfolgte eine sofortige Ibuprofen-Freisetzung aus dem Aerogelanteil. Im Endbereich bestimmt das kristalline Ibuprofen den Verlauf (z.B. geringere Endkonzentration, langsamer finaler Anstieg/kein Gleichgewichtszustand aufgrund des noch nicht gelösten kristallinen Ibuprofens). Im Vergleich zu AEIbu wurden keine übersättigten Lösungen beobachtet.

Diese Ergebnisse zeigten, dass die Freisetzung von Ibuprofen durch Verwendung von AEIbu oder AEIbu+Ibu gesteuert werden kann: AEIbu-haltige Tabletten eignen sich für schnell-freisetzende Tabletten. Neben der Freisetzungsgeschwindigkeit war die freigesetzte Arzneistoffmenge dieser Tabletten im Vergleich zu Tabletten mit AE+Ibu deutlich erhöht, so dass durch die

Entstehung übersättigter Lösungen die Bioverfügbarkeit des adsorbierten Ibuprofens erhöht werden konnte. Mit AEIbu+Ibu wurden Tabletten erhalten, die zu Beginn der Freisetzung das schnelle Anfluten des Wirkstoffs durch das AEIbu gewährleisteten und in der Folge von der langsamen Abgabe des Arzneistoffs durch das Auflösen des kristallinen Anteils bestimmt wurden.

1.3.4 *Tablettierung nifedipinbeladener Aerogele*

Nifedipin wurde als zweiter Modellarzneistoff ausgewählt, um die erzielten Ergebnisse der Tablettierbarkeit und Freisetzungseigenschaften zu prüfen. Tabletten aus Lac/MCC 1/3 und AENif, AE + kristallines Nifedipin, AENif + kristallines Nifedipin wurden hergestellt. Bruchfestigkeit, Zerfallszeit und Freisetzung in Puffer dienten als kennzeichnende Parameter. RAMAN-Spektroskopie war nicht möglich, da die Absorption des anregenden Laserlicht durch den gelb gefärbten Arzneistoff zum Verkohlen der Proben führte.

Die Bruchfestigkeit der Tabletten war unabhängig vom Aerogelgehalt. Die Zerfallszeit nahm mit steigendem Aerogelgehalt zu (Abbildung 31). Die Zugabe von kristallinem Nifedipin zu AENif führte zu keiner Veränderung dieser Parameter. Tabletten mit AE+Nif zerfielen langsamer als die AENif-haltigen Tabletten.

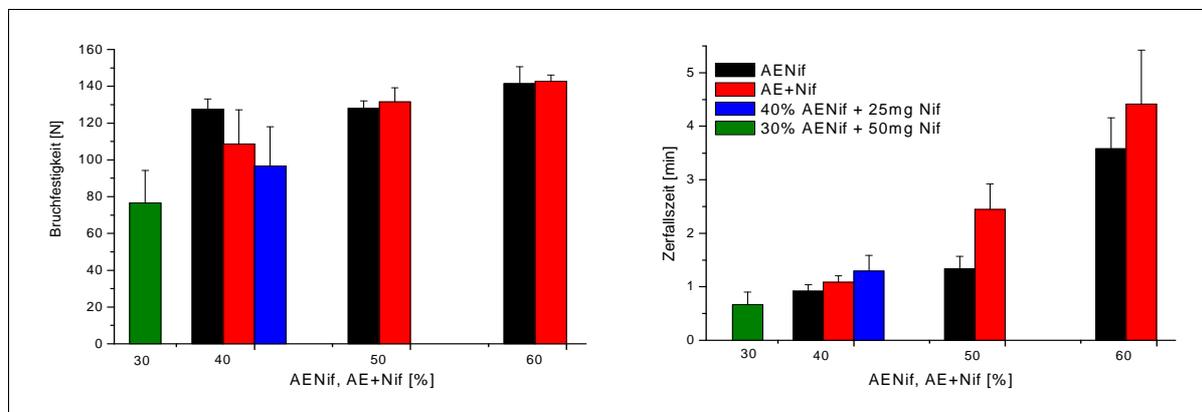


Abbildung 31: Bruchfestigkeit und Zerfallszeit von Tabletten aus AENif (schwarz), AE+Nif (rot) und AENif+Nif (blau: 40% AENif + 25 mg Nif pro Tablette, grün: 30% AENif + 50 mg Nif pro Tablette) mit Lac/MCC 1/3, n = 3.

Abbildung 32 zeigt die Nifedipinfreisetzung aus verschiedenen Tabletten in Puffer pH 7. Im Vergleich zu Ibuprofen zeigte kristallines Nifedipin eine wesentlich kürzere Verzögerungszeit von 5 - 10 min. Wie bereits bei AEIbu konnte die Freisetzung durch Verwendung von AENif im Vergleich zum kristallinen Arzneistoff beschleunigt und gesteigert werden. Dabei kam es zu konzentrationsabhängigen Unterschieden. Tabletten mit 50% und 60% AENif zeigten bei unveränderter Härte längere Zerfallszeiten und eine geringere Freisetzung als Tabletten mit 40% AENif. Selbiges Gesamtbild zeigte sich auch für die Tabletten mit AE+Nif. Für AENif+Nif

wurde wiederum eine Mischung aus den Kinetiken von AENif und AE+Nif beobachtet. Zu Beginn war der Einfluss des AENif prägend, so dass die Freisetzung sofort bei Mediumkontakt einsetzte. Im weiteren Verlauf flachte die Freisetzungskurve ab und der kristalline Anteil bestimmte die Freisetzungsgeschwindigkeit.

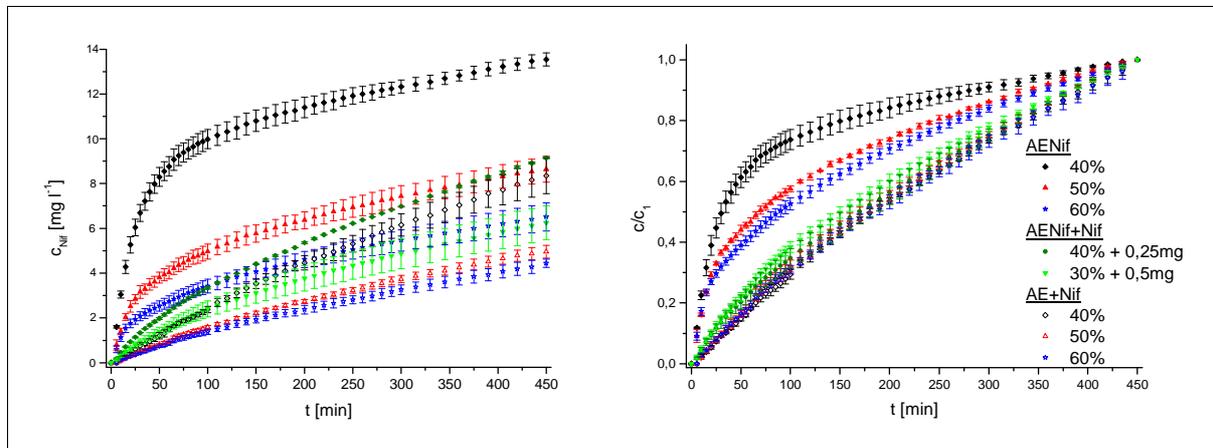


Abbildung 32: Freisetzung von Nifedipin aus verschiedenen Tabletten (Lac/MCC 1/3) mit AENif (geschlossene Symbole) AE+Nif (offene Symbole) oder AENif+Nif in Puffer, $n = 3$.

Diese Ergebnisse wurden auch durch die Parameter AUC, ABC und MDT (Anhang: Tabelle 36) beschrieben. AUC und $c_{450\text{min}}$ nahmen bei Erhöhung des AENif-Anteils ab. Ebenso stiegen ABC und MDT an. Der Arzneistoff verweilte länger in der Tablette. Bei AE+Nif nahmen AUC, ABC und $c_{450\text{min}}$ mit zunehmendem Gehalt ab. Die MDT hingegen war konstant. Nifedipinlöslichkeit und Auflösungsgeschwindigkeit limitierten in diesem Fall die Freisetzung. Tablettenhärte und Zerfallszeit spielten eine untergeordnete Rolle.

Generell war festzustellen, dass Nifedipin, welches als schwierig zu tablettieren gilt, durch den Einsatz von AENif gut zu Tabletten verarbeitet werden konnte.

Die Tablettierung von arzneistoffbeladenen hydrophilen Silica-Aerogelen war möglich. Als geeignete Hilfsstoffmischung erwies sich die Kombination von Lac mit MCC im Verhältnis 1/3. Die Tablettiereigenschaften der AE selbst waren konträr gegenüber denen des Aerosils[®]. Dies war vor allem auf die offene porige Struktur der AE zurückzuführen, die sich besser komprimieren ließ als die Aer-Kugeln. Tabletten mit zunehmendem Aerogelgehalt wurden immer fester, wohingegen die Aer-haltigen äquivalenten Mischungen sich nicht ohne weitere Veränderungen der Parameter und Hilfsstoffmischung tablettieren ließen. Bei gleicher Bruchfestigkeit zerfielen AE-haltige Tabletten mit zunehmender Aerogelkonzentration langsamer. Der Zerfall war gekennzeichnet durch das Auseinanderbrechen entlang horizontaler Bruchlinien, die gleichmäßig über die Tabletten verteilt waren. Die Benetzbarkeit der Tabletten nahm ab; sie wurden hydrophober, da die Hilfsstoffmoleküle zwischen den Aerogelpartikeln passgenau Platz gefunden haben. Freie Silanolgruppen interagierten zudem mit den funktionellen Gruppen von Lac

und/oder MCC, wie die RAMAN-Spektren zeigten. Des Weiteren wurde über die Ausbildung weiterer Siloxanbindungen durch Kompression bereits in der Literatur berichtet [185], so dass die Anzahl freier Silanolgruppen weiter reduziert wurde. Demgegenüber blieb der Aerogeleffekt bestehen. Wie mehrfach beschrieben wurde, kollabieren bei isostatischer Druckanwendung vor allem die großen Poren der AE [186-196]. Die kleinen Poren bleiben weitestgehend unbeeinflusst, so dass die den Aerogeleffekt bedingenden Kapillarkräfte beim Kontakt mit Flüssigkeiten weiterhin auftreten und zum Kollabieren der Aerogelmatrix führen. Die adsorbierten, amorph vorliegenden Arzneistoffe werden aus der Matrix gedrängt und molekulardispers an das umgebende Medium abgegeben. Dies führte zur Verbesserung der Löslichkeit der Arzneistoffe und zur Erhöhung der Lösungsgeschwindigkeit. Typisch dafür waren die sofortige Freisetzung des Arzneistoffs und die Ausbildung übersättigter Lösungen bei Verwendung von arzneistoffbeladenen AE. Dies war umso bemerkenswerter, da die Tabletten durch die größere Hydrophobizität schlechter benetzt wurden und damit die Arzneistofffreigabe normalerweise verzögert werden sollte. Zudem schrumpfen die Aerogelpartikel, wenn die Matrix durch den Aerogeleffekt kollabiert. Dadurch entstehen porenähnliche Hohlräume in den Tabletten, die das Eindringen des Mediums begünstigen.

Tabletten mit AE+Arzneistoff zeigten das für kristalline Arzneistoffe typische Auflösungsverhalten mit einer zu Beginn auftretenden Verzögerungszeit, die das Auflösen des Arzneistoffs charakterisiert. Die Kombination aus arzneistoffbeladenem Aerogel und kristallinem Arzneistoff führte zu Mischkinetiken, deren Anfangsbereich durch die schlagartige Abgabe von Arzneistoff aus dem AE gekennzeichnet war und deren Endbereich von der Kinetik des kristallinen Anteils bestimmt wurde. Der physikalische Zustand des Arzneistoffs determinierte die Verläufe der Freisetzungskurven.

Arzneistoffbeladene AE bieten sich daher vor allem zur Herstellung (initial) schnell-freisetzender Tabletten mit schlecht (wasser-)löslichen Arzneistoffen an, da Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit des Arzneistoffs erhöht werden und dadurch die Bioverfügbarkeit verbessert werden kann. Durch den Zusatz von kristallinem Arzneistoff zum arzneistoffbeladenem Aerogel kann die Freisetzung über einen längeren Zeitraum beeinflusst werden.

1.4 Halbfeste Arzneiformen

Neben den in Kapitel C 1.3 beschriebenen festen Arzneiformen, wurden halbfeste aerogelhaltige Formulierungen entwickelt und charakterisiert, um weitere Verwendungsmöglichkeiten von arzneistoffbeladenen Aerogelen aufzuzeigen und zu untersuchen.

1.4.1 Freisetzung von Ibuprofen in verschiedene Grundlagen

Freisetzungsstudien zur Abgabe von Ibuprofen aus AEIbu in verschiedene halbfeste Grundlagen wurden in Analogie zu den Studien mit Dithranol [2] durchgeführt. Hintergrund dieser Untersuchungen war, dass im Rahmen der Penetration in die Haut nur der frei in der Grundlage vorkommende Arzneistoff für eine spätere Liberation aus dem Vehikel zur Verfügung steht [45]. Die jeweilige Grundlage wurde auf einen ATR-Kristall aufgetragen und AEIbu oder der kristalline Arzneistoff als Donator aufgegeben. Zur Auswertung dienten die Carbonylschwingungsmodi des Ibuprofens bei 1512 cm^{-1} und 1720 cm^{-1} . Folgende Bandengrenzen wurden gewählt: $1502 - 1523\text{ cm}^{-1}$, $1713 - 1757\text{ cm}^{-1}$, $1691 - 1717\text{ cm}^{-1}$ und $1691 - 1775\text{ cm}^{-1}$, wobei $1691 - 1717\text{ cm}^{-1}$ für die Ausbildung des Carbonsäuredimeren über Wasserstoffbrückenbindungen charakteristisch ist [135]. Es erfolgte keine Kalibrierung der Systeme, so dass die semiquantitative Auswertung allein auf der Zunahme der Bandenintensitäten beruhte. Um Vergleichbarkeit zu gewähren, wurden alle Spektren der gleichen Prozedur unterzogen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 15 zusammengefasst.

Tabelle 15: Parameter der Freisetzungsexperimente von AEIbu_s (0,04 g cm⁻³, 36% Beladung) und Ibu_s in verschiedene Vehikel anhand der Ibuprofenbande $1713 - 1757\text{ cm}^{-1}$ nach 300 min; ΔI und m_{t_0} wurden durch logistischen Kurvenfit bestimmt.

	<i>n</i>	<i>AUC</i> [a.u. min]	<i>AUC_{norm}</i> [min]	<i>MDT</i> [min]	ΔI [a.u.]	$m_{t_0} \cdot 10^{-3}$ [a.u. min ⁻¹]
PA-Gel	2	1408 ± 393	213 ± 36	90 ± 32	0,637 ± 0,32	4,82 ± 2,69
GC	2	440 ± 62	244 ± 0,9	57 ± 0,9	2,33 ± 0,08	9,65 ± 2,62
PEG-DAC	2	8,8 ± 2,8	143 ± 7,7	158 ± 7,7	0,071 ± 0,001	0,34 ± 0,17
PEG-NRF	1	27	271	31	0,106	5,33
HSw, 50% H₂O	2	7,6 ± 5,1	165 ± 0,7	125 ± 8,2	0,031 ± 0,01	0,13 ± 0,09
HSw, 70% H₂O	1	9,4	235	95	0,734	0,042
UC	1	8,1	182	118	0,053	0,19
UCw, AEIbu	2	4,1 ± 1,9	121 ± 13	176 ± 12	0,067	0,17
UCw, Ibu	3	2,2 ± 0,001	107 ± 0,01	194 ± 0,01	0,045 ± 0,0002	0,061 ± 0,04
Basiscreme DAC	2	110 ± 34	238	84	0,048	0,21

Die eingesetzten Cremegrundlagen (Wasserhaltige Hydrophile Salbe DAB (HSw), Wasserhaltige Unguentum cordes® (UCw), Basiscreme DAC) zeigten zeitabhängig Phasenseparation und Wasseraustritt. Dies war vor allem bei wasserhaltiger Unguentum cordes® zu beobachten. Hier wurde neben AEIbu auch kristallines S-Ibuprofen aufgetragen (UCw, Ibu), bei welchem dieser

Effekt noch deutlicher ausgeprägt war. Die grenzflächenaktiven Eigenschaften des Arzneistoffs lassen sich anhand der Struktur erklären: eine hydrophile Kopfgruppe ist in der Carbonsäure gegeben, der aromatische Rest stellt den lipophilen Molekülteil dar [Tabelle 2]. Daraus ergibt sich eine emulgatoranaloge Struktur. Für die geringere Grenzflächenaktivität der AEIbu können verschiedene Ursachen diskutiert werden. AE können durch die Silanolgruppen an der Oberfläche Wasser binden, so dass weniger freies Wasser zur Verfügung stand oder austretendes Wasser gebunden wurde. Des Weiteren erfuhr die Zubereitung bei Verwendung der AEIbu einen größeren Feststoffeintrag und damit eine stärkere Konsistenzhöhung. Da durch Viskositäts-erhöhung die Koaleszenz von Emulsionströpfchen verhindert werden kann [197], sind Quasiemulgator-ähnliche Wirkungen auf die Zubereitung denkbar. Nicht zuletzt war die lokale Konzentration bei Verwendung von kristallinem Ibuprofen wesentlich höher als bei Verwendung von AEIbu, das aufgrund des größeren Volumens und der besseren Rieselfähigkeit gleichmäßiger auf dem Akzeptor verteilt werden konnte.

Die Liberation von Ibuprofen in wasserfreie Absorptionsgrundlagen (Hydrophile Salbe DAB, Unguentum cordes[®]) konnte nicht nachgewiesen werden. Bei den PEG-Salben traten abhängig von deren Zusammensetzung Unterschiede der Ibuprofenfreisetzung auf (Tabelle 15). Die Rezeptur des DAC (PEG-DAC) bestand aus einer Mischung von PEG 400 und 1500. Die hydrophile Salbengrundlage des NRF, bezeichnet als PEG-NRF, enthielt neben den PEG 400, 1000 und 1500 zusätzlich PrG, das ein gutes Lösemittel für viele Arzneistoffe, so auch Ibuprofen, darstellt. Damit wurde die Aufnahmekapazität für Ibuprofen, wie aus den Freisetzungsergebnissen ersichtlich ist (Tabelle 15: AUC, ΔI), erhöht.

In die Gelgrundlagen (Polyacrylatgel PA und Gel cordes[®] GC, Tabelle 15) wurde Ibuprofen am besten freigesetzt, wie die großen Werte für die AUC und die geringe MDT zeigten. Daher wurde Gel cordes[®] für weitere Freisetzungs- und nachfolgende Penetrationsuntersuchungen verwendet. Die Freisetzung aus AEIbu verschiedener Dichte ($0,04 \text{ g cm}^{-3}$ und $0,08 \text{ g cm}^{-3}$) mit unterschiedlichen Beladungen (12% und 36%) wurde mit kristallinem S-Ibuprofen und Ibuprofen-Racemat verglichen. Tabelle 16 zeigt die Parameter dieser Experimente. Bei den kristallinen Feststoffen handelte es sich streng genommen nicht um eine Freisetzung in die Grundlage, sondern um eine Bestimmung von Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit. Auffällig war die unterschiedliche Löslichkeit der beiden Formen, die auch die Diffusion in das Gel determinierte [198]. Die Löslichkeit von racemischem Ibuprofen im Vehikel, bestimmt als AUC und Intensitätszunahme ΔI , war um etwa ein Drittel geringer als die von S-Ibuprofen. Die beim reinen Enantiomer auftretende Aufspaltung der Ibuprofenbande bei 1720 cm^{-1} zeigte, dass dieses stärker dimerisierte als Racemat und AEIbu, die diese charakteristische Bandenaufspaltung nicht aufwiesen. Die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen zwei Ibuprofen-

Carbonsäuregruppen wurde durch die sterische Anordnung des Racemats erschwert. Demgegenüber war bei Verwendung AEIbu_s die lokale Konzentration geringer als beim kristallinen Äquivalent, was die Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen zwei Molekülen erschwerte. Therapeutisch spielt die Dimerisierung keine Rolle, da es sich nicht um kovalente Bindungen handelt, sondern relativ lockere Wasserstoffbrückenbindungen ausgebildet werden, die „bei Bedarf“ wieder gelöst werden können.

Tabelle 16: Parameter der Freisetzungsexperimente mit Gel cordes® für die Ibuprofenbande 1713 - 1757 cm⁻¹ nach 950 min; ΔI und m_{t_0} wurden durch logistischen Kurvenfit bestimmt.

	<i>n</i>	<i>AUC</i> [a.u. min]	<i>AUC_{norm}</i> [min]	<i>MDT</i> [min]	ΔI [a.u.]	$m_{t_0} \cdot 10^{-3}$ [a.u. min ⁻¹]
Ibu_s	4	262 ± 48	738 ± 37	211 ± 37	0,41 ± 0,08	0,62 ± 0,31
Ibu_{rac}	5	99 ± 14	807 ± 13	146 ± 13	0,12 ± 0,02	1,95 ± 0,33
AEIbu 0,08 g cm⁻³, 36%	3	738 ± 76	729 ± 44	223 ± 44	1,24 ± 0,01	9,29 ± 0,01
AEIbu 0,04 g cm⁻³, 36%	3	1693 ± 160	833 ± 6,8	118 ± 6,5	1,99 ± 0,50	8,84 ± 3,32
AEIbu 0,04 g cm⁻³, 13%	3	895 ± 174	735 ± 13	217 ± 12	0,49 ± 0,37	8,94 ± 0,69

Vergleicht man die Freisetzung aus den verschiedenen AEIbu, so ist erkennbar, dass mit zunehmender Aerogeldichte (bei gleichem Arzneistoffgehalt) sowie abnehmendem Ibuprofen-Gehalt die freigesetzte Ibuprofenmenge abnahm. Bei AE höherer Dichte, hier repräsentiert durch das AEIbu mit der Dichte von 0,08 g cm⁻³, waren die Kapillarkräfte, die zum Kollabieren der Struktur beim Kontakt mit Wasser und damit zur Ibuprofenfreisetzung führten, geringer und dadurch wurde der Aerogeleffekt, der die Abgabe des Arzneistoffs begünstigt, abgeschwächt. Bei AE gleicher Dichte und unterschiedlicher Beladung war der Aerogeleffekt gleich stark ausgeprägt, so dass hier die adsorbierte Ibuprofenmenge, die maximal freigesetzt werden konnte, limitierend wirkte. AEIbu mit einer Dichte von 0,04 g cm⁻³ und einer Beladung von 36% setzte am meisten und schnellsten frei.

Die Hydrogele wiesen im Vergleich zu den bislang untersuchten Vehikeln einen höheren Wassergehalt auf [2], so dass sich die Frage ergab, ob Wechselwirkungen zwischen dem Wasser der Grundlage und dem AEIbu in Abhängigkeit von der Dichte des AE beobachtet werden können. Die Auswertung der Flächen der Wasserbande in den Spektren der Freisetzungsuntersuchungen zeigte keinen Unterschied für alle verwendeten Donatoren. Im Laufe der Experimente nahm die Intensität auf durchschnittlich 90% ihres Ursprungswertes ab. Das bedeutet, dass bei sehr wasserhaltigen Grundlagen wie Hydrogelen der Einfluss des AE auf das in der Grundlage vorhandene Wasser gering war. Im Übrigen konnte die Hydrolyse des AE unter den gegebenen Bedingungen ausgeschlossen werden. Allein der Aerogeleffekt, d.h. das

Kollabieren des Gerüsts, und der amorpher Zustand begünstigen die Ibuprofenfreisetzung aus den AEIbu und führten zur Löslichkeitsverbesserung und zu einer erhöhten Lösungsgeschwindigkeit.

Zusammenfassend erwies sich die Freisetzung von Ibuprofen aus den AEIbu in Hydrogele am effektivsten. In wasserfreie Absorptionsgrundlagen konnte keine Freisetzung nachgewiesen werden, wohingegen es bei den wasserhaltigen Analoga zur Phasentrennung aufgrund der oberflächenaktiven Eigenschaften des Ibuprofens kam. Aerogeldichte und Beladung beeinflussten die Freisetzung. AEIbu geringerer Dichte setzten den Arzneistoff besser frei als AEIbu hoher Dichte. Bei gleicher Dichte limitierte die Beladungsmenge die Abgabe an die Grundlage: höhere Beladungen resultierten in größeren Freigabemengen. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass alle verwendeten AEIbu nicht maximal beladen waren, da für AEIbu sehr hoher Beladung ($\sim 70\%$) beobachtet wurde, dass diese den Arzneistoff verzögert freigeben [3].

1.4.2 Penetration von Ibuprofen in Dodecanol-Collodiummembranen

Im Anschluss an die Freisetzungsstudien wurde die Penetration von Ibuprofen aus verschiedenen Formulierungen basierend auf Gel cordes[®] in lipophile Dodecanol-Collodiummembranen (DCM) untersucht. Der Arzneistoffgehalt betrug entweder 5% kristallines Ibuprofen oder 5% AEIbu unterschiedlicher Dichte und Beladung ($0,04 \text{ g cm}^{-3}$ und $0,08 \text{ g cm}^{-3}$; 12% bzw. 36% Beladung). Als Fertigarzneimittelreferenz sollte Dolgit[®] Mikrogel (Dolorgiet GmbH, St. Augustin/Bonn, Deutschland), ebenfalls ein Hydrogel auf Poloxamerbasis, in die Untersuchungen einbezogen werden. Es bildete sich jedoch innerhalb weniger Minuten ein Flüssigkeitsfilm zwischen IRE und Membran, der zum vollständigen Kontaktverlust der Membran führte. Der Wechsel auf die ATR-Diffusionszelle nach HARTMANN [55] erwies sich als schwierig, da kein geeignetes Akzeptormedium zur Verfügung stand. Entweder waren die Ibuprofenbanden im Akzeptor nicht eindeutig zuzuordnen, oder die Ibuprofenlöslichkeit im Akzeptor war so gering, dass ein weiterer, limitierender Verteilungsschritt entstand, der die Penetration beeinflusste. So wurden mit DD/Oct als Akzeptor Verzögerungszeiten von fast 24 h beobachtet.

Durch den beibehaltenen klassischen Aufbau des Penetrationsexperimentes bestand keine Möglichkeit der Kalibrierung. Die Auswertung der Spektren erfolgte in Analogie zu den Freisetzungsexperimenten anhand der Bandenintensität der Ibuprofenbanden bei $1501 - 1527 \text{ cm}^{-1}$ und $1696 - 1763 \text{ cm}^{-1}$. Beide Banden führten zu denselben Resultaten. Die Ergebnisse der Bande von 1696 cm^{-1} bis 1763 cm^{-1} sind in Tabelle 17 zusammengestellt.

Tabelle 17: Penetration von Ibuprofen aus Gel cordes® in 6%ige DCM, Auswertung der Ibuprofenbande 1696 – 1763 cm⁻¹ nach 1,2 h; ΔI und m_{t_0} wurden durch logistischen Kurvenfit bestimmt.

	n	AUC [a.u. min]	AUC_{norm} [min]	MDT [min]	ΔI [a.u.]	m_{t_0} [a.u. min ⁻¹]
Ibu _s	4	238 ± 40	66,6 ± 0,6	5,27 ± 0,94	3,65 ± 0,77	9,78 ± 5,39
Ibu _{rac}	3	153 ± 5,4	63,0 ± 0,6	8,53 ± 0,15	3,71 ± 0,07	1,97 ± 0,53
AEIbu 0,08 g cm ⁻³ , 36%	3	106 ± 19	63,0 ± 0,6	8,60 ± 0,68	3,70 ± 0,61	0,48 ± 0,34
AEIbu 0,04 g cm ⁻³ , 36%	3	136 ± 22	65,4 ± 1,8	6,76 ± 1,62	2,48 ± 0,02	9,43 ± 3,67
AEIbu 0,04 g cm ⁻³ , 12%	3	53,3 ± 3,0	62,4 ± 1,8	9,75 ± 1,71	0,77 ± 0,62	0,16 ± 0,12

Wie die Freisetzung war auch die Penetration des Racemats, insbesondere beschrieben durch die Parameter MDT und m_{t_0} , langsamer als die des S-Ibuprofens. Dies ließ sich auf die unterschiedliche Löslichkeit des Ibuprofens in der Grundlage zurückführen [198], da nur der gelöste Teil des Arzneistoffs penetrieren kann. Die penetrierte Menge hingegen war vergleichbar (Tabelle 17: AUC und ΔI). Bei Verwendung von AEIbu gleicher Dichte mit unterschiedlichem Ibuprofengehalt war die Penetration abhängig von der Beladung des AEIbu: niedrigere Beladungen resultierten in geringerer Penetration, da die treibende Kraft, die Konzentrationsdifferenz zwischen Vehikel und Membran, geringer war. Ebenso waren Unterschiede bei gleichbeladenen AEIbu verschiedener Dichte erkennbar. Mit zunehmender Aerogeldichte nahm die Penetration ab. Da bereits die Freisetzung von Ibuprofen aus dem AEIbu mit der Dichte von 0,08 g cm⁻³ geringer war (Kapitel D 1.4.1), war hier ebenfalls die Konzentrationsdifferenz geringer. Zur Veranschaulichung sind die Ergebnisse beider Experimente in Abbildung 33 graphisch gegenübergestellt.

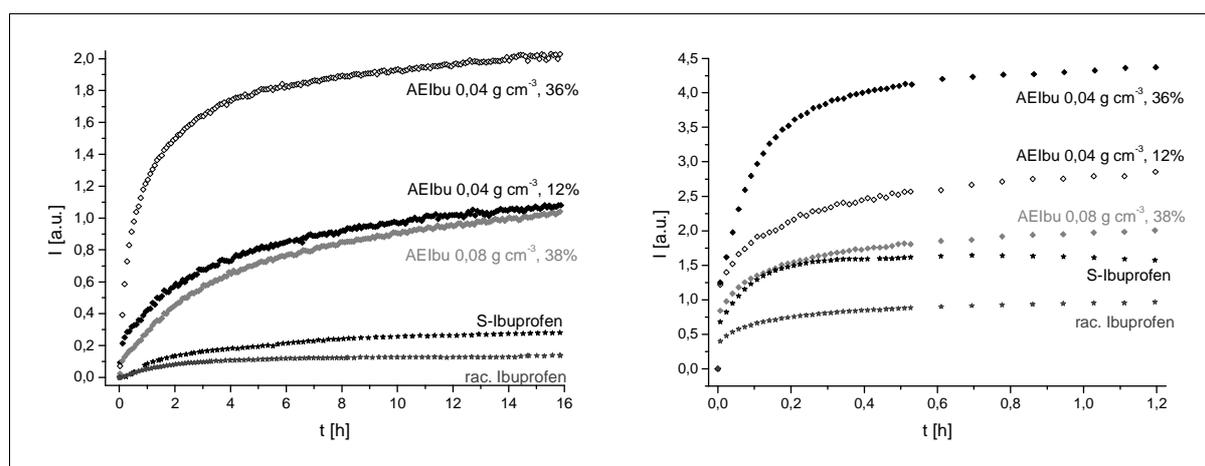


Abbildung 33: Intensität der Ibuprofenbande bezogen auf die applizierte Ibuprofendosis in Abhängigkeit von der Zeit; links: Freisetzung von Ibuprofen in Gel cordes®, rechts: Penetration von Ibuprofen aus Gel cordes® in DCM. Die Standardabweichungen sind der Übersicht halber nicht angegeben und Tabelle 17 zu entnehmen.

Bei Berücksichtigung der Einwaagen an Arzneistoff in den Hydrogelen - 5% bei Ibuprofen und etwa 1,5% bei AEIbu - zeigten die aerogelhaltigen Formulierungen eine bessere dermale Verfügbarkeit, da mit deutlich geringerer Arzneistoffkonzentration deutlich höhere Penetrationen erzielt werden konnten.

Wie bereits für AEDT und wasserfreie Grundlagen in vorausgegangenen Studien gezeigt werden konnte [2], führten auch in Hydrogel-Grundlagen arzneistoffbeladene AE zu einer deutlichen Verbesserung der Penetration des Arzneistoffs und damit zu einer erhöhten der Bioverfügbarkeit. Im Vergleich zu den kristallin eingearbeiteten Arzneistoffen förderte der amorphe Zustand des adsorbierten Arzneistoffs zusammen mit dem Aerogeleffekt die Entstehung konzentrierter Ibuprofenlösungen, die wiederum die Penetration begünstigten. Bei AEIbu geringerer Dichte traten stärkere Kapillarkräfte auf, wenn sie in Kontakt mit der wässrigen Grundlage traten, die zu einem stärkeren Einfluss des Aerogeleffekts auf die Arzneistoffliberation in das Vehikel führten als bei AEIbu höherer Dichte, so dass mehr adsorbiertes Ibuprofen freigesetzt wurde. Die in den Freisetzungsexperimenten beobachtete verstärkt auftretende Dimerisierung des S-Ibuprofens behinderte dessen Penetration nicht. Die geringer Löslichkeit des Racemats hingegen führte zu einer Verlangsamung der Penetration, da der treibende Konzentrationsgradient kleiner war. Die Unterschiede zwischen S-Ibuprofen und Racemat bezüglich der Penetration in die DCM sind insofern von Bedeutung, als dass dies die Notwendigkeit, S-Ibuprofen für die dermale Applikation einzusetzen, bestärkt, zumal in der Haut die Isomerisierung des R-Enantiomers nicht stattfindet [59].

1.4.3 Penetration von Dithranol in humanes *Stratum corneum*

Mit dem Arzneistoff Dithranol wurden bereits Freisetzungs- und Penetrationsexperimente durchgeführt, die gezeigt haben, dass durch Verwendung von AEDT in modifizierter Hydrophiler Salbe eine Verbesserung der Penetrationseigenschaften dieses Problemarzneistoffs im Vergleich zum Standard Dithranolvaselin erzielt werden kann [2]. Diese Ergebnisse galt es durch Penetrationsstudien an humanem SC zu ergänzen und zu prüfen.

Zunächst musste das bestehende Messsystem der ATR-Diffusionszelle [55] dem Einsatz von humanem SC und halbfesten Vehikeln als Donator angepasst werden. Zum einen wurde der Durchmesser des IRE aufgrund der begrenzten Verfügbarkeit der nativen Membran verkleinert und eine Teflondiffusionszelle entwickelt. Zum anderen musste der bislang eingesetzte wässrige Akzeptor ersetzt werden. Auf die Hintergründe wird später eingegangen. Daher wurden verschiedene Akzeptormedien getestet. Eine Zwischenstufe der Methodenentwicklung stellten dabei Experimente mit einer hydrophilen Dialysemembran (Nephrophan[®]) und einem PEG-

haltigen Akzeptor dar. Im Anhang in Abbildung 62 befindet sich eine graphische Zusammenfassung der Ergebnisse, aus der deutlich ersichtlich ist, dass auch bei der Penetration in eine hydrophile Modellmembran durch Verwendung von AEDT in modifizierter Hydrophiler Salbe eine Verbesserung erzielt werden kann. Dithranol-Macrogolsalbe NRF 11.53 zeigte von allen getesteten Formulierungen die geringste Penetration. Dies war nicht unerwartet, da es sich im Gegensatz zu den anderen Vehikeln um eine klassische Lösungssalbe handelte. Zudem waren Donator und Akzeptormedium äquivalent, so dass die Penetration allein von der Diffusion des Dithranols in PEG bestimmt wurde. Eine weitergehende Interpretation der Daten findet sich in [2] und [35]

Alle Vorstudien führten zu dem Schluss, dass das Akzeptormedium in Abhängigkeit der Membraneigenschaften ausgewählt werden sollte. Für die hydrophile Nephrophan[®]-Membran erwies sich ein hydrophiler Akzeptor, bestehend aus einer Mischung von PEG 400 mit 1% Salicylsäure als Stabilisator, als geeignet. Demgegenüber ist humanes SC wesentlich lipophiler als diese Modellmembran, und so führten die starken hygroskopischen Eigenschaften des PEG 400 zum Austrocknen des SC. Des Weiteren unterdrücken PEGs oft die IR-Banden darin gelöster Stoffe. Mit wassergesättigtem Dodecanol-Octanol (DDw) wurde ein Akzeptormedium etabliert, das ähnliche Verteilungseigenschaften wie das SC aufweist [80] und dieses nicht dehydratisiert. Damit konnten Akzeptormedium und SC als ein Kompartiment aufgefasst werden, ohne einen weiteren, die Penetration beeinflussenden Verteilungsschritt berücksichtigen zu müssen. Ein weiterer Vorteil des gewählten Akzeptors war dessen geringe Anzahl von IR-Banden, die zudem während der Experimente nahezu unverändert blieben. Alternativ könnte in Analogie zu den Verteilungsstudien von SURBER *et al.* [80] wassergesättigtes IPM als Akzeptor verwendet werden. Dessen intensive und zahlreiche IR-Banden wurden aber während der Experimente durch Banden penetrierender Stoffe überlagert, so dass Zuordnung und Integration erschwert waren.

Modifizierte Hydrophile Salbe mit AEDT und Dithranolvaselin wurden vergleichend untersucht. Erstere zeigte in den Penetrationsexperimenten in humanes SC einen größeren Flux und erreichte schneller den Gleichgewichtszustand als Dithranolvaselin (Abbildung 34, Tabelle 18). Auch die Endkonzentration im Akzeptor war höher. Die großen Unterschiede in der Verzögerungszeit zu Beginn der einzelnen Experimente können auf Unterschiede in der SC-Dicke zurückgeführt werden, da die Diffusion durch Membranen dem ersten FICKschen Diffusionsgesetz unterliegt.

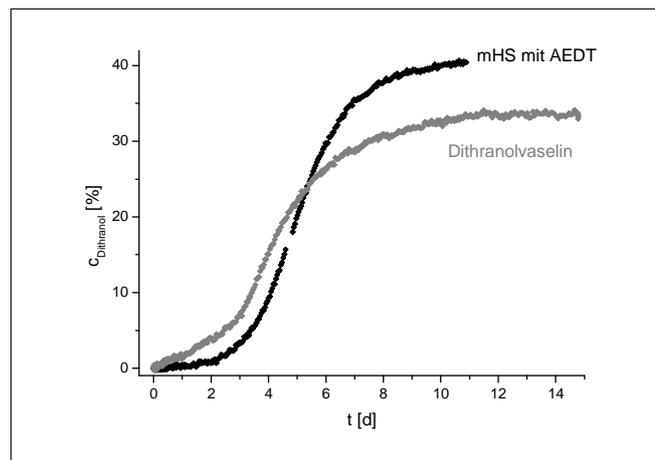


Abbildung 34: Exemplarische Darstellung der Dithranolkonzentration im Akzeptor als % der applizierten Dosis in Abhängigkeit von der Penetrationszeit; Dithranolvaselin sowie AEDT in modifizierter Hydrophiler Salbe dienten als Donator.

Tabelle 18: Charakteristische Parameter der Penetration von Dithranol in humanes SC aus verschiedenen Vehikeln, n = 4.

	<i>DT in Vaseline</i>	<i>AEDT in modifizierter Hydrophiler Salbe</i>
Flux [g m ⁻² h ⁻¹]	0,49 ± 0,05	0,61 ± 0,08
Verzögerungszeit [h]	47 ± 3,1	44 ± 22
c₁ [mg ml ⁻¹]	25 ± 10	36 ± 19

Anhand unterschiedlicher Versuchsansätze (Freisetzung, Penetration) konnte gezeigt werden, dass durch die Verwendung von AEDT in einem geeigneten Vehikel eine bessere dermale Verfügbarkeit für diesen Problemwirkstoff gegenüber dem Standard erzielt werden kann. Freisetzungsexperimente führten zunächst zu einer Modifizierung der Hydrophilen Salbe DAB, bei der 10 Teile Vaseline durch flüssiges Paraffin ersetzt wurden. Penetrationsstudien an lipophilen und hydrophilen Modellmembranen belegten den Vorteil, der sich aus der Verwendung des AEDT ergab. Abschließende Experimente mit humanem SC und ausgewählten Vehikeln bestätigten die zuvor erhaltenen Ergebnisse.

1.4.4 Charakterisierung metronidazol- und aerogelhaltiger halbfester Vehikel

1.4.4.1 Vehikelcharakterisierung und Konsistenz der Zubereitungen

Am Beispiel verschiedener Vehikel, die für die lokale Metronidazoltherapie bei Rosacea verwendet werden, sollte der Einfluss von AEMetro auf die Vehikelstruktur untersucht werden, da die Einarbeitung arzneistoffbeladener AE in halbfeste Zubereitungen zu einer Viskositäts-

zunahme derselben führt. Als Vehikel dienten Basiscreme DAC, Liniment, Metrocreme® und eine modifizierte Basiscreme, bei der der Wassergehalt dem des Liniments angepasst wurde.

Alle verwendeten halbfesten Grundlagen waren hydrophile Cremezubereitungen, deren Zusammensetzung allgemein aus hydrophiler Phase, lipophiler Phase und Emulgatoren bestand. Die Zusammensetzung von Liniment und Metrocreme® war ähnlich: ein hoher Anteil an hydrophiler Phase (80%), wenig lipophile Phase (ca. 5%) und Emulgatoren, deren chemische Struktur und Gehalt variierten. Demgegenüber enthielt Basiscreme DAC nur 50% hydrophile Phase. Da diese Formulierung wegen ihres amphiphilen Charakters zur weiteren Wasseraufnahme fähig ist, wurde eine Modifizierung dahingehend vorgenommen, dass Wasser und PrG hinzugefügt wurden (4/1), so dass in der resultierenden Creme (modifizierte Basiscreme, mBC) ein dem Liniment ähnlicher Anteil wässriger Phase vorhanden war, und sie diesem auch in der Konsistenz ähnelte. Eine einander vergleichbare, höhere Konsistenz wiesen Basiscreme und Metrocreme® auf.

Die Wasserkonzentrationen der Formulierungen korrelierten mit den Intensitäten der Wasserbanden, die den ATR-Spektren entnommen wurden (Tabelle 19). Dabei konnte zwischen freiem und gebundenem Wasser unterschieden werden. Die Bande von 1880 cm⁻¹ bis 2500 cm⁻¹ ließ sich dem ungebundenen Wasser zuordnen, die Bande von 3010 cm⁻¹ bis 3700 cm⁻¹ charakterisiert die antisymmetrische OH-Valenzschwingung und war bestimmt durch vielfältige Wechselwirkungen - zwischen Hydroxylgruppen untereinander und mit dem in der Formulierung enthaltenen Wasser, sowohl gebunden als auch frei. Liniment zeigte die größte Bandenfläche, gefolgt von Metrocreme® und modifizierter Basiscreme. Gemäß der Zusammensetzung der Vehikel wiesen die Wasserbanden bei Basiscreme die geringste Intensität auf. Bei Differenzierung der Wasserbanden zeigte Liniment den weitaus größten Anteil freien Wassers, gefolgt von Basiscreme und modifizierter Basiscreme. Die Wasserbindung in Metrocreme® war aufgrund des hohen Gehalts an PEG-haltigen Emulgatoren bei gleichem Wassergehalt stark erhöht. Gegensätzlich zu den Wasserbanden verhielten sich die CH-Schwingungsmodi (Tabelle 19, $\nu_{CH(sym)}$ und $\nu_{CH(asy)}$), die durch lipophile Phase und Emulgatoren bestimmt wurden. Gemäß ihrer Zusammensetzung nahmen die Intensitäten von Basiscreme über Metrocreme® und modifizierter Basiscreme hin zu Liniment ab.

Tabelle 19: Bandenflächen [a.u.] der OH- und CH-Banden der verschiedenen Vehikel, n = 3.

	1880-2500 cm ⁻¹ (<i>freies Wasser</i>)	3010-3700 cm ⁻¹ (ν_{O-H})	2825-2864 cm ⁻¹ ($\nu_{CH(sym)}$)	2900-2945 cm ⁻¹ ($\nu_{CH(asy)}$)
Basiscreme DAC	4,45 ± 0,14	280 ± 5,4	1,93 ± 0,09	4,44 ± 0,20
modifizierte Basiscreme	5,23 ± 0,18	319 ± 11	0,88 ± 0,17	2,15 ± 0,42
Liniment	6,64 ± 0,03	362 ± 1,7	0,63 ± 0,02	1,57 ± 0,03
Metrocreme®	5,76 ± 0,47	334 ± 26	1,41 ± 0,18	2,73 ± 0,30

Durch die Einarbeitung von arzneistoffbeladenen AE in halb feste Vehikel nimmt deren Konsistenz zu. Um diesen Einfluss zu untersuchen, erfolgten penetrometrische Messungen in Abhängigkeit vom Feststoffgehalt. In Anlehnung an die für die später beschriebenen Metronidazolpenetrationsstudien verwendeten Zubereitungen wurden 0,75%, 1% und 2% Metronidazol oder 6%, 8% und 10% AE in die verschiedenen Grundlagen eingearbeitet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 35 zusammengefasst.

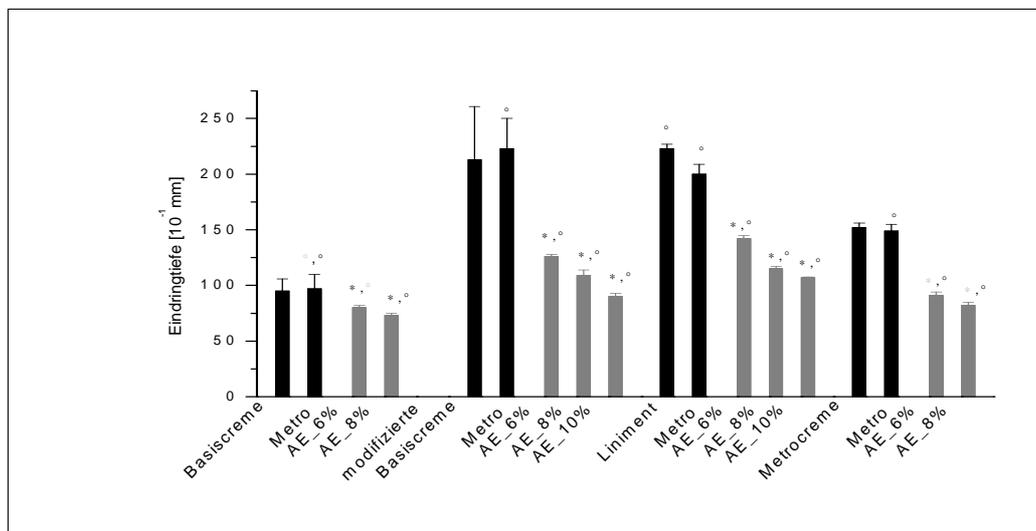


Abbildung 35: Konsistenz als Eindringtiefe eines genormten Mikrokonus nach Einarbeitung von Metronidazol (schwarz) oder AE (grau) in verschiedene Grundlagen (GL); Signifikanzprüfung (ANOVA-Test) innerhalb der Cremes, Signifikanzniveau: GL, GL/Metro vs. GL/AE: Metro $p < 0,01$ und $° p < 0,05$; AE $* p < 0,01$ und $* p < 0,05$ $n = 3 - 5$. Der Übersichtlichkeit halber wurden metronidazolhaltige Zubereitungen zusammengefasst, wenn diese im ANOVA-Test keine signifikanten Unterschiede aufwiesen.

Innerhalb der reinen Grundlagen zeigte Basiscreme die höchste Konsistenz, d.h. der Mikrokonus des Penetrometers drang am geringsten ein. Es folgten Metrocreme[®] und, mit der niedrigsten Konsistenz, Liniment und modifizierte Basiscreme. Die Einarbeitung von kristallinem Metronidazol führte zu keiner Beeinflussung des untersuchten Parameters. Einzige Ausnahme stellte Liniment dar, bei dem - konzentrationsunabhängig - eine geringfügige, aber signifikante Konsistenzhöhung durch Metronidazolzugabe beobachtet wurde.

Die Einarbeitung von AE erhöhte erwartungsgemäß bei allen Grundlagen signifikant die Konsistenz in Abhängigkeit vom AE-Gehalt. Die prozentuale Zunahme der Konuseindringtiefe war am wenigsten bei Basiscreme ausgeprägt. Liniment und modifizierte Basiscreme ähnelten sich sowohl in ihrem Wassergehalt als auch ihrem Verhalten bei AE-Einarbeitung. Ihre Konsistenz sowie die der Metrocreme[®] nahm mit steigendem AE-Gehalt stärker ab als bei Basiscreme. Metrocreme[®] nahm daher eine Sonderstellung ein. Bei der Einarbeitung von 10% AE in dieselbe entstanden bröckelige Zubereitungen, die nicht weiter untersucht wurden. Trotz des ähnlich hohen Wassergehalts wie in Liniment und modifizierter Basiscreme verhielt sich Metrocreme[®] mehr wie die Basiscreme, so dass resümiert werden konnte, dass die

Konsistenzzunahme nicht nur von der absoluten Wassermenge der Grundlage abhängig war, sondern auch vom Anteil frei verfügbaren Wassers. Dieser wird u.a. durch die Emulgatoren und ihre Wasserbindungseigenschaften bestimmt.

Einblicke in diese Abhängigkeiten konnten durch eine erweiterte Auswertung der nachfolgend beschriebenen Freisetzungsexperimente von AEMetro in die verschiedenen Grundlagen gewonnen werden. Dazu wurden die zeitabhängigen Veränderungen der CH- und OH-Schwingungsbanden untersucht. CH-Banden charakterisierten die Vehikelbestandteile und den Arzneistoff. Ihre Intensität nahm im Laufe des Experiments zu, da einerseits Metronidazol in das Vehikel freigesetzt wurde, andererseits die Vehikelstruktur durch die Wechselwirkung der Vehikelbestandteile mit dem AE verändert wurde. Wasser- und OH-Banden korrelierten mit dem im Vehikel enthaltenen Wasser und den antisymmetrischen OH-Valenzschwingungen anderer Vehikelbestandteile. Ihre Intensität verringerte sich im Laufe des Experiments durch Verdunstungseffekte und Wechselwirkungen mit dem AE. Die Bandenintensitäten der CH-Schwingung von $2825 - 2864 \text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{CH(sym)}$) und $2900 - 2945 \text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{CH(asym)}$) sowie der OH-Schwingungsmodi bei $1880 - 2500 \text{ cm}^{-1}$ (freies Wasser) und $3010 - 3700 \text{ cm}^{-1}$ (ν_{O-H}) der nicht-normierten Spektren wurden bestimmt und vergleichend betrachtet. Nach Normierung der jeweiligen Bandenintensitäten ($I_{min} \equiv 0$, $I_{max} \equiv 1$) und Auftragung gegen die Zeit stellte sich der Schnittpunkt beider Kurven - Wasserbandenabnahme und CH-Zunahme - als charakteristischer Parameter heraus, der im Folgenden als Parameter PI (Kreuzungspunkt, engl. *point of intersection*) eingeführt wird. Zur Veranschaulichung zeigt Abbildung 36 eine Auswahl der ATR-Spektren und eine graphische Darstellung der Auswertung eines Beispielsperiments der Freisetzung von Metronidazol aus AEMetro in modifizierte Basiscreme.

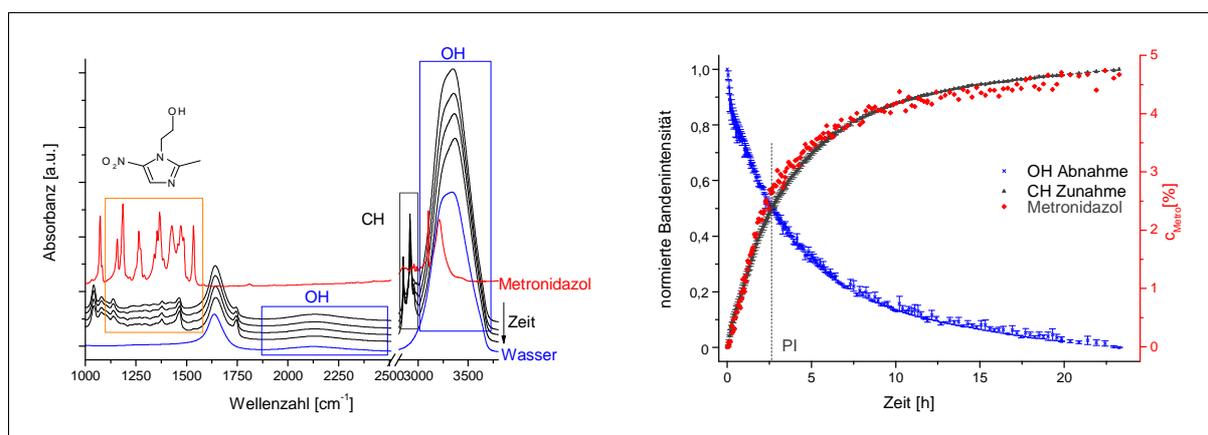


Abbildung 36: links: FTIR-ATR-Spektren zu verschiedenen Zeiten eines Freisetzungsexperiments von metronidazolbeladenem Aerogel in modifizierte Basiscreme sowie die Referenzspektren für Wasser und kristallines Metronidazol; rechts: graphische Darstellung der Auswertung desselben Experiments, Normierung OH-Abnahme und CH-Zunahme $I_{min} \equiv 0$, $I_{max} \equiv 1$.

Die Bandenintensitäten der ausgewählten CH- und OH-Banden waren zu Beginn jedes Experiments für die einzelnen Grundlagen gleich groß. Dies demonstrierte zugleich die Reproduzierbarkeit der Präparations- und Messmethode. Daher konnten die sich während der Freisetzungsexperimente ändernden Bandenintensitäten ohne weitere Kalibrierung ausgewertet und miteinander verglichen werden. In Tabelle 20 sind die Ergebnisse zusammengestellt.

Tabelle 20: Intensitätsänderungen der OH- und CH-Banden der verschiedenen Vehikel 24 h nach Auftragung von AE (n = 1), AEMetro oder kristallinem Metronidazol (n = 3) sowie ohne Donator (n = 1); t = 24 h, $I_{t=0} \equiv 1$.

	<i>ABNAHME OH-BANDE</i>		<i>ZUNAHME CH-BANDE</i>		<i>PI [h]</i>
	<i>1880-2500 cm⁻¹</i>	<i>3010-3700 cm⁻¹</i>	<i>2825-2864 cm⁻¹</i>	<i>2900-2945 cm⁻¹</i>	
	<i>(freies Wasser)</i>	<i>(V_{O-H})</i>	<i>($V_{CH(sym)}$)</i>	<i>($V_{CH(asym)}$)</i>	
Basiscreme DAC					
ohne Donator	0,15	0,10	1,23	1,21	7,69
AE	0,73	0,70	2,61	2,22	0,31
AEMetro	0,84 ± 0,03	0,80 ± 0,04	2,89 ± 0,07	2,33 ± 0,05	0,12 ± 0,07
Metro	0,67 ± 0,20	0,44 ± 0,12	1,86 ± 0,18	1,73 ± 0,16	8,41 ± 0,81
modifizierte Basiscreme					
ohne Donator	0,11	0,06	1,28	1,27	5,27
AE	0,77	0,71	5,71	4,59	1,35
AEMetro	0,27 ± 0,05	0,18 ± 0,06	2,31 ± 0,51	2,02 ± 0,57	4,33 ± 2,38
Metro	0,23 ± 0,04	0,15 ± 0,05	1,90 ± 0,44	1,77 ± 0,45	3,34 ± 1,75
Liniment					
ohne Donator	0,03	0,02	1,26	1,19	- *
AE	0,87	0,73	3,67	3,07	2,32
AEMetro	0,68 ± 0,06	0,63 ± 0,06	6,71 ± 0,50	6,04 ± 0,34	0,33 ± 0,31
Metro	0,20 ± 0,04	0,18 ± 0,04	2,48 ± 0,03	2,46 ± 0,04	5,61 ± 2,34
Metrocreme®					
ohne Donator	0,03	0,01	1,10	1,08	- *
AE	0,74	0,63	7,70	6,46	11,9
AEMetro	0,37 ± 0,12	0,30 ± 0,12	2,94 ± 0,68	2,72 ± 0,57	7,88 ± 3,20
Metro	0,16 ± 0,06	0,09 ± 0,03	1,66 ± 0,29	1,64 ± 0,27	5,82 ± 1,83

* nicht bestimmt aufgrund starker Streuung der Messpunkte

Die Intensitätsabnahme der Wasserbande war von Vehikel und Donator abhängig. Referenzexperimente, in denen die reine Grundlage ohne einen Donator auf den ATR-Kristall aufgetragen wurde, zeigten ebenfalls Veränderungen, die durch evaporierendes Wasser verursacht wurden. Die Wasserverdunstung innerhalb von 24 h war bei Basiscreme und modifizierter Basiscreme am größten, bei Liniment und Metrocreme® am geringsten (Tabelle 20, Abnahme OH-Banden). Die Grundlagen mit ähnlichem Wassergehalt, modifizierte Basiscreme, Liniment und Metrocreme®, zeigten verschiedene Verdunstungsraten, verursacht durch unterschiedlich starke Wechselwirkungen zwischen den Emulgatoren und dem eingearbeiteten Wasser. Durch Auftragung von AEMetro als Donator nahmen die Wasserbanden signifikant stärker ab als bei Zugabe von kristallinen Metronidazol. Dies war nicht allein durch Evaporationseffekte zu begründen. Vielmehr können AE aufgrund ihrer Struktur durch die an der Oberfläche frei verfügbaren Silanolgruppen Wasser binden. Interessanterweise führten Experimente mit AE zu

einem Wasserverlust, der bei allen Vehikeln ca. 75% betrug, wohingegen bei AEMetro vehikel-spezifische Abstufungen festgestellt werden konnten. Die aufgetretenen Unterschiede zwischen AE und AEMetro können auf unterschiedliche freie Valenzen im Aerogelgerüst zurückgeführt werden, da bei der Beladung mit Metronidazol bereits Bindungsstellen besetzt wurden. Das AE selbst schrumpfte aufgrund der auftretenden Kapillarkräfte durch den Kontakt mit dem Vehikel zusammen und verlor das transparente Aussehen. Die hydrolytische Spaltung der Aerogelmatrix wurde nicht beobachtet und war unter den gegebenen Bedingungen auch nicht zu erwarten, da AE erst bei sehr hohen Temperaturen und/oder in starken Alkalien hydrolysiert werden.

Die Änderungen der CH-Bandenintensitäten wurden durch verschiedene Prozesse beeinflusst: Zum einen durch die strukturellen Veränderungen des Vehikels als Folge von Wasserumverteilung und -evaporation, zum anderen wird Metronidazol, das selbst CH-Banden aufweist, in das Vehikel freigesetzt. Wie bereits die Wasserbandenintensitätsabnahme war auch die CH-Banden Zunahme während der Referenzexperimente ohne Donator bei allen Vehikeln äquivalent sowie bei Donatorzugabe abhängig von der Art desselben. Allgemein nahm die Intensität stärker zu, wenn AEMetro aufgetragen wurde. Die größte Zunahme zeigte das System Liniment/AEMetro. Metrocreme® und die beiden Basiscremes nahmen um die gleichen prozentualen Anteile zu.

Der Kurvenschnittpunkt der sinkenden Wasserbandenintensität und der zunehmenden Intensität der CH-Banden im Akzeptor (PI) beschreibt das Zusammenspiel von Wasserverlust, Veränderungen der Grundlage und Metronidazolaufnahme. Je früher sich beide Kurvenverläufe kreuzten (Abbildung 36, rechts), umso stärker waren die Veränderungen der Grundlage, wobei vor allem die Abnahme der Wasserbande die Lage des Schnittpunkts determinierte. Basiscreme und Liniment zeigten bei Applikation von AEMetro die frühesten PI, wohingegen bei modifizierter Basiscreme und Metrocreme® kein Unterschied zwischen AEMetro und dem kristallinen Arzneistoff bestand. Auch der Schnittpunkt von Liniment/Metronidazol lag in diesem Zeitintervall. Basiscreme/Metronidazol wies den spätesten PI auf. Diese Ergebnisse können nicht allein durch den unterschiedlichen Wassergehalt der Grundlagen erklärt werden. Submikroskopische Struktur und Wasserbindekapazität der Grundlagen übten ebenfalls Einflüsse aus. Bestanden keine Unterschiede zwischen Metronidazol und AEMetro, so war die Abnahme der Wasserbande nicht allein auf Wasseradsorption an den Silanolgruppen zurückzuführen. Vor allem in die Struktur von Metrocreme® war das Wasser fester eingebunden und schwieriger für andere Prozesse verfügbar. Dies stützten auch die Ergebnisse der Penetrometrie, bei denen trotz des hohen Wassergehalts der Grundlage die Einarbeitung von AE in sehr hochviskosen Zubereitungen resultierte.

Wurde AE auf die jeweilige Grundlage aufgegeben, dann zeigten die beiden betrachteten Wasserbanden geringfügige Unterschiede in ihrem Verlauf. Die Bandenintensität bei 1880 - 2500 cm^{-1} nahm stärker ab, was darauf schließen lässt, dass zunächst das freie Wasser vom AE adsorbiert wird. OH- und CH-Banden kreuzten sich später als bei den vergleichbaren Messungen mit AEMetro, da in diesem Fall die Veränderung der CH-Banden allein durch die Veränderungen der Vehikelstruktur entstanden sind und diese nicht zusätzlich durch die Metronidazolfreisetzung beeinflusst wurden.

Die Eigenschaften halbfester Zubereitungen nach Einarbeitung arzneistoffbeladener AE, insbesondere die Streichfähigkeit, wurden durch unterschiedliche Faktoren bestimmt. Nicht nur der Gesamtwassergehalt des Vehikels beeinflusste die Viskosität. Vielmehr war das Verhältnis zwischen freiem und gebundenem Wasser von großer Bedeutung. Je größer der Anteil des Wassers, das durch die Emulgatoren und ihre Wechselwirkungen in der Creme gebunden war, desto fester wurden die Zubereitungen durch Aerogeleinarbeitung. Dies ist wichtig für die Entwicklung halbfester Zubereitungen mit arzneistoffbeladenen AE, da nicht nur die Freisetzung des adsorbierten Arzneistoffs aus dem AE eine spätere Penetration beeinflusst, sondern gleichzeitig gut streichfähige Zubereitungen zur Auftragung auf die Haut entwickelt werden sollten.

1.4.4.2 Freisetzung von Metronidazol in verschiedene halbfeste Vehikel

Die biopharmazeutische Charakterisierung der metronidazolhaltigen Vehikel begann analog Kapitel D 1.4.1 mit Freisetzungsexperimenten. Als Donatoren fungierten AEMetro und kristallines Metronidazol. In der Literatur wurde für arzneistoffbeladene Silica-Polymere die Entstehung übersättigter Lösungen beschrieben [18]. Die vorangegangenen Freisetzungsexperimente mit Dithranol [2] und Ibuprofen (Kapitel D 1.4.1) wiesen ebenfalls auf solche Effekte hin, so dass im Folgenden anhand von Metronidazol Freisetzung und Löslichkeit in den Vehikeln genauer charakterisiert wurden.

Bereits bei der Kalibrierung fielen Unterschiede zwischen den verwendeten Vehikeln auf (Tabelle 10). Basiscreme und Liniment wiesen im Vergleich zu den anderen beiden Grundlagen hohe Bestimmungs- und Nachweisgrenzen für Metronidazol auf, die auf vergleichsweise geringere Mengen an spektralen Informationen zurückzuführen waren. Als Ursache kommen Interaktionen zwischen Metronidazol und anderen Vehikelkomponenten sowie der sehr hohe Wassergehalt des Liniments in Frage.

Die Ergebnisse der Freisetzungsexperimente sind in Tabelle 21 gezeigt. Ausgewertet wurden AUC und MDT zu unterschiedlichen Zeiten sowie Gleichgewichtskonzentration c_1 und der

Anstieg der Metronidazolbanden m_{t_0} im Wendepunkt des Graphen (vgl. Kapitel C 7.8). Zur Veranschaulichung sind die Freisetzungsglyphen für 10 h Experimentzeit in Abbildung 63 des Anhangs zusammengestellt.

Tabelle 21: Freisetzung von Metronidazol in verschiedene Vehikel zu unterschiedlichen Zeitpunkten. Die Konzentration von Metronidazol im Gleichgewichtszustand c_1 und m_{t_0} wurden mittels logistischem Kurvenfit berechnet, $n = 3$.

	<i>AUC</i> [% <i>b</i>]			<i>MDT</i> [<i>b</i>]			c_1 [%]	m_{t_0} [% <i>b</i> ⁻¹]
	<i>5 h</i>	<i>10 h</i>	<i>23 h</i>	<i>5 h</i>	<i>10 h</i>	<i>23 h</i>		
Basiscreme DAC								
AEMetro	37,4 ± 4,8	-	-	1,1 ± 0,2	-	-	12,2 ± 2,6	4,5 ± 1,8
Metro	9,1 ± 4,2	-	21,4 ± 9,0	1,5 ± 0,2	-	2,6 ± 0,7	3,9 ± 1,3	1,0 ± 0,8
modifizierte Basiscreme								
AEMetro	14,2 ± 2,7	34,4 ± 3,7	90,3 ± 1,6	1,3 ± 0,5	2,0 ± 0,6	4,5 ± 0,5	6,6 ± 2,2	1,1 ± 1,0
Metro	7,7 ± 1,3	17,8 ± 2,4	46,1 ± 5,7	1,1 ± 0,1	2,0 ± 0,2	4,3 ± 0,4	3,7 ± 1,7	1,0 ± 0,8
Liniment								
AEMetro	-	55,2 ± 1,4	134 ± 4,3	-	1,5 ± 0,2	2,6 ± 0,5	8,1 ± 1,3	10,7 ± 5,3
Metro	-	33,0 ± 7,1	104 ± 21	-	3,0 ± 0,2	6,9 ± 0,4	6,0 ± 1,1	0,04
Metrocreme®								
AEMetro	-	-	58,6 ± 27	-	-	6,8 ± 2,6	2,5 ± 0,5	0,3 ± 0,1
Metro	-	-	32,8 ± 2,6	-	-	2,9 ± 0,4	1,8 ± 0,1	0,8 ± 0,2

Betrachtet man AUC und Gleichgewichtskonzentration c_1 , so konnte für alle Grundlagen gezeigt werden, dass durch Verwendung von AEMetro eine größere Freisetzung des Arzneistoffs erzielt wurde als mit kristallinem Metronidazol. Beide Parameter waren für die Vehikel mit einem hohen Anteil freien Wassers (Liniment, modifizierte Basiscreme) 1,6- bis 2-fach größer als bei der Verwendung von kristallinem Metronidazol. Den größten Vorteil (Faktor 4) bei Verwendung von AEMetro wies jedoch Basiscreme, die Grundlage mit dem geringsten Wassergehalt und, wie im Folgenden noch diskutiert wird, der geringsten Löslichkeit für Metronidazol, auf. Die erheblichen Unterschiede der Gleichgewichtskonzentrationen zwischen kristallinem Metronidazol und AEMetro ließen insbesondere bei dieser Grundlage den Schluss zu, dass übersättigte Lösungen entstanden sind. Arzneistoffe, die auf AE adsorbiert wurden, liegen amorph im gesamten Aerogelnetzwerk verteilt vor (Kapitel D 1.2). Es müssen somit keine Auflösungsprozesse wie bei kristallinen oder mikronisierten Arzneistoffen stattfinden, die zunächst eine Überwindung der Kristallgitterkräfte erfordern. Auch der Aerogeleffekt wirkt sich vorteilhaft auf die Arzneistofffreigabe aus. Durch den Kontakt mit der wässrigen Phase des Vehikels treten Kapillarkräfte auf, die das Aerogelnetzwerk kollabieren lassen, und die adsorbierten Arzneistoffmoleküle molekulardispers an das umgebende Medium abgeben. Es entstehen im Idealfall übersättigte Lösungen, die die thermodynamische Aktivität des Arzneistoffs erhöhen und damit anschließende Mechanismen wie die Penetration in Membranen begünstigen und die Bioverfügbarkeit des Arzneistoffs erhöhen.

Metrocreme[®] stellte eine Besonderheit dar, die sich vor allem in der MDT widerspiegelte und in den Freisetzungsglyphen (Anhang: Abbildung 63) besonders deutlich wird. Die Freisetzung von Metronidazol aus AEMetro fand bei Verwendung dieser Grundlage im Vergleich zum kristallinen Metronidazol zeitverzögert statt. Erst nach 30 min war eine Freisetzung im Vehikel messbar. Eine Abhängigkeit der Freisetzung von Konsistenz und Wassergehalt des Vehikels konnte nicht beobachtet werden.

Bei Verwendung von AEMetro war die Freisetzung in Basiscreme, modifizierte Basiscreme und Liniment im Vergleich zur kristallinen Form begünstigt. Für Metrocreme[®]/AEMetro wurde hingegen eine verzögerte Freisetzung beobachtet.

Inwieweit Metronidazol in den Zubereitungen gelöst vorliegt und möglicherweise entstandene übersättigte Lösungen lagerungsstabil sind, sollte im Folgenden mittels RAMAN-Spektroskopie untersucht werden. Dies ist insofern wichtig, da die Anwendung der Zubereitung oft nicht unverzüglich nach der Herstellung erfolgt. Rekristallisationserscheinungen würden die durch die Verwendung der AEMetro erlangten Vorteile hinsichtlich einer höheren thermodynamischen Aktivität und fehlender Auflösungsprozesse deutlich abschwächen.

1.4.4.3 FT-RAMAN-Studien zur Kristallisation von Metronidazol in halbfesten Vehikeln

RAMAN-spektroskopische Untersuchungen dienen der Charakterisierung des Zustands von Metronidazol - gelöst oder suspendiert - in den verschiedenen Vehikeln. In vorausgegangenen Studien wurde bereits gezeigt, dass mikroskopische Bilder und nachfolgende Partikelgrößenanalyse der unterschiedlichen physikalischen Zustände Metronidazols (gelöst, kristallin) mit spektralen Veränderungen korreliert werden können [199]. Ergänzende Studien mittels Röntgendiffraktometrie wurden nicht weiter verfolgt, da die Röntgenspektren der verwendeten halbfesten Zubereitungen multiple Einflüsse zeigten. Eine exakte Unterscheidung zwischen kristallinen Strukturen der komplexen Vehikel und dem Arzneistoff war nicht möglich. Für dithranolhaltige Zubereitungen wurden bereits röntgendiffraktometrische Studien durchgeführt, die in [2] dargestellt sind. Hier zeigten die AEDT-haltigen Vehikel im Vergleich zum Dithranolvaselin keine kristallinen Strukturen des Arzneistoffs.

Rekristallisiertes Metronidazol aus wässriger Lösung, entstanden Sargdeckelkristalle. Bei der Kristallisation aus PrG bildeten sich feine Nadeln. Aus einer Mischung von Wasser und PrG (4/1), wie sie in den Basiscremes vorlag, kristallisierten ebenfalls Sargdeckelkristalle. Die RAMAN-Spektren der unterschiedlichen Kristallformen unterschieden sich nicht von denen des mikronisierten Metronidazols.

Mit Hilfe multivariater Kalibrierungen für alle verwendeten Grundlagen (Basiscreme, modifizierte Basiscreme, Liniment, Metrocreme[®], Tabelle 12) gelang es, Gehalt, Löslichkeit und physikalischen Zustand des eingearbeiteten Metronidazols zu bestimmen. Eine Unterscheidung zwischen dem amorphen Metronidazol des AEMetro und im Vehikel gelösten Metronidazols war, erwartungsgemäß, nicht möglich. Aus messtechnischen und zeitlichen Gründen wurden i.d.R. nur Doppelbestimmungen für die einzelnen Proben durchgeführt, so dass die Kalibrierungsparameter der multivariaten Analyse durch die geringe Spektrenanzahl der Proben beeinflusst wurden. Zudem sind der Durchmesser des Anregungslasers und das Volumen der Probenhalterung gering, so dass auch sie neben der geringen Stichprobenmenge als Ursache für starke Streuungen und hohe Bestimmungsgrenzen anzuführen sind.

Abbildung 37 zeigt die RAMAN-Spektren von kristallinem und in Wasser gelöstem Metronidazol von 1140 cm^{-1} bis 1565 cm^{-1} .

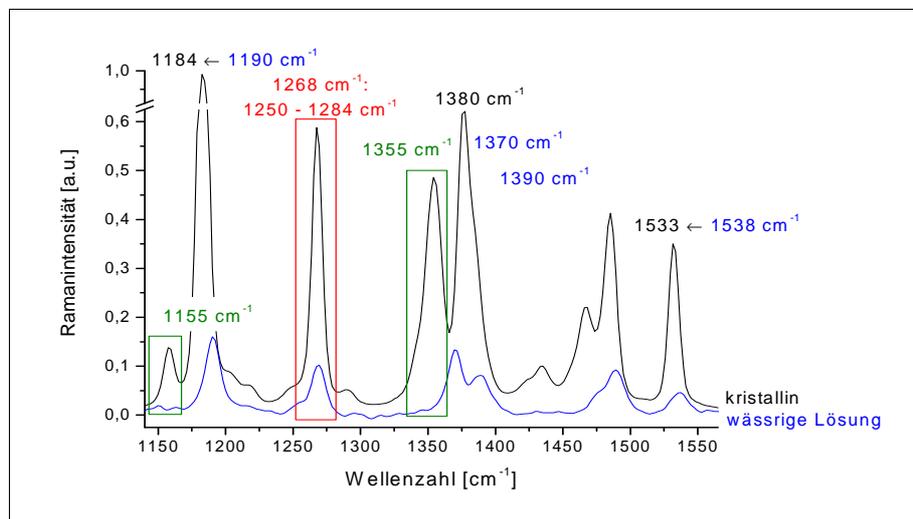


Abbildung 37: FT-RAMAN-Spektren von kristallinem und in Wasser gelöstem Metronidazol (wässrige Lösung vergrößert); die betrachteten Banden sind markiert: rot: Gehaltsbestimmung, grün: Löslichkeit, Lagerungsstabilität, schwarz/blau: physikalischer Zustand, Lagerungsstabilität.

Eine Auswahl der RAMAN-Spektren bei verschiedenen Konzentrationen für alle Vehikel ist im Anhang in Abbildung 64 zusammengestellt.

Abbildung 38 zeigt die mit Hilfe der RAMAN-Spektroskopie ermittelten Löslichkeiten in den verschiedenen halbfesten Grundlagen und im Vergleich die Löslichkeiten in unterschiedlichen Flüssigkeiten [104]. Die Auswahl der Flüssigkeiten erfolgte aus praktischen Gesichtspunkten. Neben den Akzeptoren der Penetrationsexperimente, DD/Oct und DDw, wurden Bestandteile der Grundlagen verwendet. Eine mizellare Lösung und eine hydrophile Mikroemulsion als Vehikelsysteme mit sehr guten Lösungsseigenschaften für Arzneistoffe dienten als Vergleich.

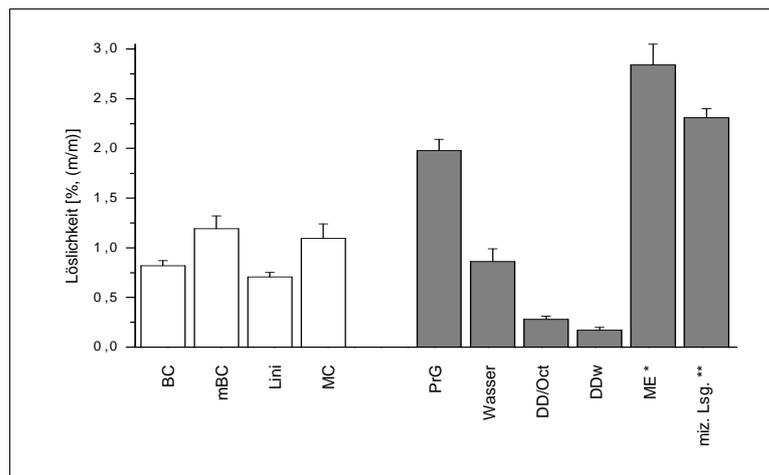


Abbildung 38: Löslichkeit von Metronidazol in verschiedenen halbfesten Vehikeln bestimmt durch FT-RAMAN-Spektroskopie ($n = 4$, weiß) und im Vergleich die Löslichkeit in verschiedenen Flüssigkeiten bestimmt durch Additionsmethode ($n = 3$ bis 6 , grau); *ME: Mikroemulsion aus Pelemol® BIP/Tagat® O2/Synperonic® PE/L 101/PrG/H2O [5/8/2/50/25 % (m/m)], **mizellare Lösung aus Tagat® O2/Synperonic® PE/L 101/PrG/H2O [104].

In den halbfesten Zubereitungen war die Löslichkeit von Metronidazol in modifizierter Basiscreme und Metrocreme® am größten, gefolgt von Basiscreme und Liniment. Die unterschiedlichen Löslichkeiten in den Basiscremes waren durch den höheren Anteil an PrG/Wasser in der modifizierten Variante zu begründen. Das geringe Lösungsvermögen für den Arzneistoff in Liniment konnte auf das enthaltene Glycerol, welches ein schlechteres Lösemittel für Metronidazol darstellte als PrG, zurückgeführt werden. Die gute Löslichkeit in Metrocreme® ließ sich durch den komplexen, vom hohen Emulgatorgehalt geprägten Aufbau begründen.

Neben den für die Löslichkeitsbestimmung verwendeten Banden (1155 cm^{-1} und 1355 cm^{-1}), die für kristallines Metronidazol charakteristisch waren und beim gelösten Arzneistoff nicht auftraten, veränderten sich bei anderen Arzneistoffbanden die Amplitudenpositionen in Abhängigkeit vom physikalischen Zustand des Arzneistoffs (Abbildung 37). Verschiebungen der Maxima traten bei den folgenden Banden auf: $1190 \rightarrow 1184\text{ cm}^{-1}$, $1460 \rightarrow 1470\text{ cm}^{-1}$, $1538 \rightarrow 1533\text{ cm}^{-1}$, wobei die erste Wellenzahl den gelösten bzw. amorphen und die zweite den kristallinen Zustand beschreibt. Die Banden bei 1370 cm^{-1} und 1390 cm^{-1} verloren durch Zunahme der Kristallinität an Intensität, während bei 1355 cm^{-1} und 1380 cm^{-1} neue Banden entstanden. Durch die zunehmende Kristallinität wurden Schwingungen in ihrer Bewegungsfreiheit eingeschränkt; die Banden wurden schmaler, intensiver und zumeist bathochrom, d.h. zu geringeren Wellenzahlen verschoben.

Grundsätzlich war in den Vehikeln zwischen zwei Ausgangssituationen zu unterscheiden. Einerseits lag Metronidazol amorph im AEMetro vor und wurde durch den Aerogeleffekt an das umgebende Medium abgegeben, so dass es zunächst nur im amorphen Zustand vorlag. Kristalle entstanden allein durch Rekrystallisation aus gesättigter oder übersättigter Lösung. Andererseits

wurde Metronidazol mikronisiert, aber kristallin, in die Grundlagen eingearbeitet und ging dann erst in Lösung. Dabei blieben in Abhängigkeit von der eingearbeiteten Konzentration und der Löslichkeit im Vehikel Kristalle zurück, die als Kristallisationskeime dienen konnten. Die Lagerungsstabilität der unterschiedlichen Zustände wurde mit Hilfe eines Schaukeltests untersucht. Durch die alternierende Lagerung bei unterschiedlichen Temperaturen wurden Veränderungen im Vehikel provoziert, die Rekristallisationseffekte begünstigten. Diese Effekte treten bei der Lagerung bei Raumtemperatur nicht oder verzögert auf. Die Stabilität bei der Verwendung von AEMetro entstandenen übersättigten Lösungen konnte so untersucht werden. Je stärker die Messdaten streuten, desto mehr variierte das entsprechende System während der Lagerung, d.h. desto instabiler war es bezüglich der Kristallinität und Nichtkristallinität des Arzneistoffs. Beispielhaft ist dies in Abbildung 39 für die Metronidazolbande bei 1355 cm^{-1} in Liniment dargestellt, die für kristallines Metronidazol charakteristisch ist. Intensitäten kleiner $I = 0$ (Markierung) zeigten an, dass RAMAN-spektroskopisch keine Arzneistoffkristalle nachweisbar waren.

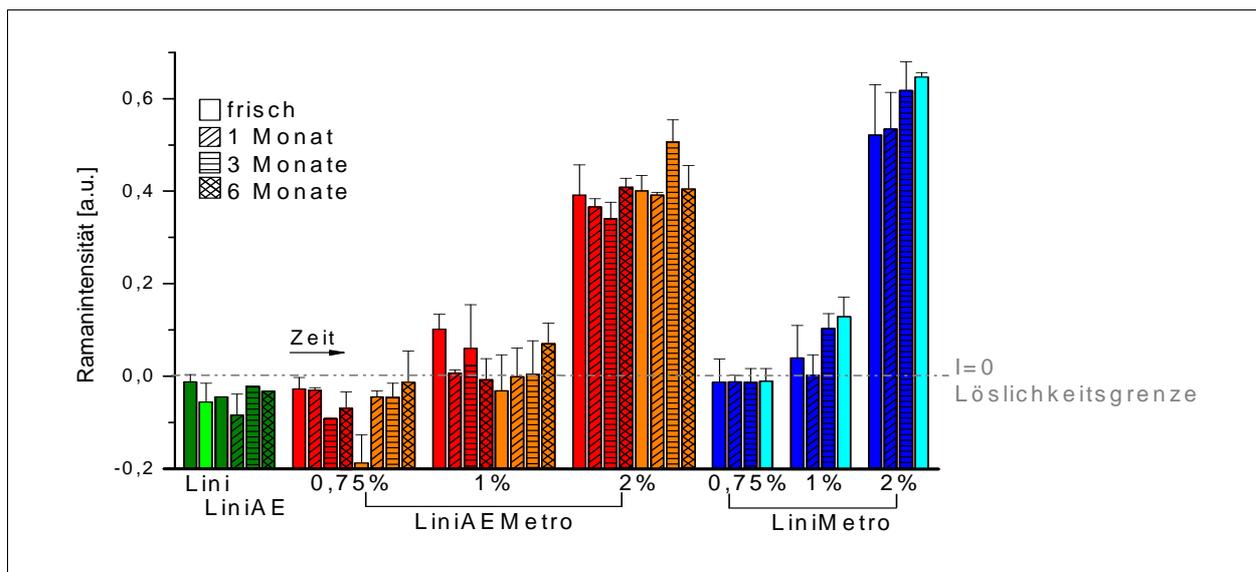


Abbildung 39: Intensität der RAMAN-Bande von Metronidazol $1340 - 1362\text{ cm}^{-1}$ in Liniment in Abhängigkeit von der Lagerung ($n = 6$); dunkelgrün/hellgrün: reines Liniment und Liniment mit unbeladenem AE (dunkelgrün: Lagerung bei Raumtemperatur, hellgrün: Schaukeltest); rot/orange: Grundlage mit AEMetro (rot: Lagerung bei Raumtemperatur, orange: Schaukeltest), dunkelblau/hellblau: Grundlage mit Metronidazol (blau: Lagerung bei Raumtemperatur, hellblau: Schaukeltest), innerhalb einer Gruppe von links nach rechts: frisch/nach Schaukeltest sowie nach 1, 3 und 6 Monaten Lagerung bei Raumtemperatur.

Die Spektren der 2%igen Proben aller untersuchten Vehikel wiesen bereits direkt nach der Herstellung Banden kristallinen Metronidazols auf, die sich während der Lagerung nicht veränderten. Bei dieser Konzentration wurde die Löslichkeitsgrenze von Metronidazol in den Grundlagen bei weitem überschritten und auch möglicherweise partiell auftretende übersättigte Lösungen rekristallisierten binnen kürzester Zeit und waren somit bereits 24 h nach der Herstellung nicht (mehr) nachweisbar. Rezepturen mit 1% Metronidazol stellten bei allen

Vehikeln sehr empfindliche Systeme dar, deren kristalliner Anteil während der Lagerung schwankte und deren Banden somit die größten Streuungen aufwiesen, wobei die aerogelhaltigen Proben immer geringer streuten und der gelöste Zustand begünstigt war. Insbesondere Basiscreme und Liniment, in denen mit 1% Metronidazol die Löslichkeitsgrenze weit überschritten war, zeigten große Veränderungen. Vor allem die Proben mit eingearbeitetem kristallinen Metronidazol ließen bereits nach der Herstellung und später im Schaukeltest bevorzugt kristalline Anteile erkennen. Dies setzte sich auch während der anschließenden Lagerung fort: Nach drei Monaten wurde ein deutlicher Anstieg der Kristallinität der Proben mit kristallinem Metronidazol detektiert werden, wohingegen in den entsprechenden Aerogelproben, sofern sie bei Raumtemperatur gelagert wurden, erst nach sechs Monaten Kristallisationstendenzen auszumachen waren. In diesen Fällen ist von einem im Beobachtungszeitraum stabilen übersättigten Zustand auszugehen. Im Gegensatz dazu wiesen die geschaukelten Proben mit AEMetro ähnlich den Proben mit kristallinem Metronidazol bereits nach drei Monaten eine stärkere Kristallisation auf. Die 1%igen Proben von Metrocreme® und modifizierter Basiscreme reagierten weniger empfindlich auf Lagerung und veränderte Lagerungsbedingungen. Metronidazol war in ihnen besser löslich, so dass die durch Temperaturveränderungen ausgelöste Rekristallisation nicht begünstigt wurde. Die Beobachtungen für Basiscreme und Liniment, dass Metronidazol langsamer kristallisierte, wenn es als AEMetro verwendet wurde, war auch hier zutreffend, ebenso wie die schnellere Rekristallisation der geschaukelten Proben.

0,75% Metronidazol lag in Metrocreme® dauerhaft gelöst vor. Kristallines Metronidazol in Liniment zeigte bei dieser Konzentration innerhalb von drei Monaten erste Rekristallisationstendenzen auf; bei Liniment/AEMetro traten diese erst nach sechs Monaten auf. Wie bereits bei den 1%igen Proben konnte durch Verwendung des AEMetro die gesättigte bzw. schwach übersättigte Lösung stabilisiert werden. Bei Basiscreme waren bei dieser Metronidazolkonzentration bereits nach dem Schaukeltest kristalline Anteile festzustellen. Die bei Raumtemperatur gelagerten Proben wiesen eine geringere Rekristallisationsneigung auf, ebenso die Proben mit AEMetro. Letztendlich kristallisierte Metronidazol in allen 0,75%igen Basiscremeproben, ob geschaukelt oder bei Raumtemperatur gelagert. Der übersättigte Zustand konnte hier zumindest zeitweilig durch die Verwendung von AEMetro stabilisiert werden, sofern die Proben bei konstanten Bedingungen gelagert wurden.

Die Konsistenz der resultierenden Zubereitungen beeinflusste die Kristallisationsneigung nicht. Vor allem die Löslichkeit in der Grundlage war ausschlaggebend für die Lagerungsstabilität der Zubereitungen. Durch die Verwendung von AEMetro konnte die Kristallisation von Metronidazol, insbesondere im Bereich der Sättigungslöslichkeit des Arzneistoffs im Vehikel, dauerhaft verringert werden.

1.4.4.4 Penetration von Metronidazol in Dodecanol-Collodiummodellmembranen

Im Anschluss an die Freisetzungsexperimente (Kapitel D 1.4.4.2) wurde die Penetration von Metronidazol, Wasser und PrG aus den verschiedenen Formulierungen in lipophile Modellmembranen untersucht. Der herkömmliche Messungsaufbau IRE-Membran-Donator war nicht verwendbar, da es innerhalb kürzester Zeit zu einem vollständigen Kontaktverlust durch die Ausbildung eines Flüssigkeitsfilmes zwischen IRE und Membran kam. Dies machte die Verwendung der ATR-Diffusionszelle und die Etablierung eines geeigneten Akzeptors notwendig. Um weitere Verteilungsschritte, die die Penetration beeinflussen können, auszuschließen, wurde das Lipid der Modellmembran - Dodecanol-Octanol-Mischung (9/1) - als Akzeptor eingesetzt. Für Metronidazol, Wasser und PrG wurden Kalibrierungen erstellt, so dass die Penetration dieser drei Stoffe quantitativ untersucht werden konnte (Tabelle 12). Alle Methoden, bis auf die für Metrocreme[®]/Metronidazol, waren multivariat. Gründe für die Notwendigkeit auf eine univariate Methode auszuweichen, lagen in einer nicht ausreichenden Proben- und Spektrenanzahl und einer zu geringen Anzahl spektraler Informationen, die durch multiple Überlagerungen des Vielstoffgemischs entstanden.

Zur Veranschaulichung sind in Abbildung 40 die Akzeptorspektren einer Messung mit 0,8% Metronidazol als AEMetro in Basiscreme zu verschiedenen Zeiten abgebildet.

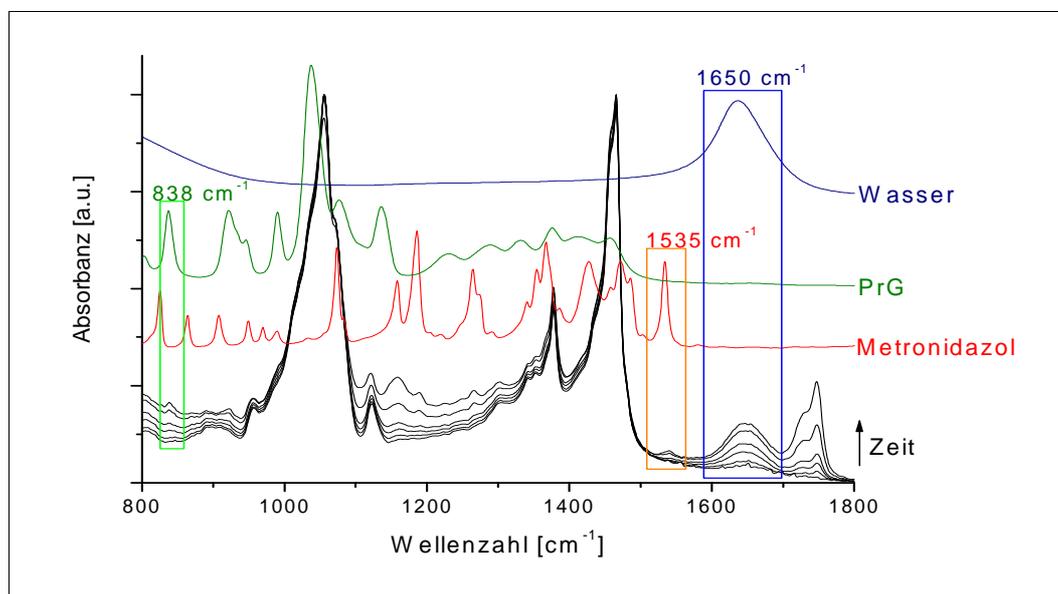


Abbildung 40: FTIR-ATR-Spektren des Akzeptors (DD/Oct) während eines Penetrationsexperiments in DCM am Beispiel von Basiscreme mit 0,8% AEMetro. Referenzspektren von Metronidazol, Propylenglykol und Wasser sind aufgeführt und die ausgewerteten Banden markiert.

Die Ergebnisse der Penetrationsexperimente werden im Folgenden dargestellt. Eine graphische Zusammenstellung befindet sich im Anhang (Abbildung 65-67). Da verschiedene Vehikel verglichen werden sollten, war es notwendig, die Parameter aller Komponenten und Vehikel bis zu einem definierten Zeitpunkt zu bestimmen, der durch die kürzeste Messzeit (24 h bei Metrocreme[®]) determiniert wurde. Wasser und PrG erreichten in dem gewählten Zeitintervall

von 24 h den Gleichgewichtszustand. Für Metronidazol führte die Auswertung längerer Zeiten (36 h und 42 h) zu denselben Ergebnissen, so dass die kürzeren Messzeiten ebenfalls als repräsentativ angesehen wurden.

Metronidazol

Die Penetration von Metronidazol (Tabelle 22) war abhängig von dessen Konzentration im Vehikel, dem physikalischen Zustand (Suspensionssalbe, Lösungssalbe, aerogelhaltige Zubereitung) und den physiko-chemischen Eigenschaften des Vehikels.

Tabelle 22: Ergebnisse der Penetration von Metronidazol in verschiedenen Vehikeln in Dodecanol-Colloidmembranen; n = 3, t = 24 h.

	<i>AUC</i> [<i>mg ml⁻¹ h</i>]	<i>MDT</i> [<i>h</i>]	<i>c₁</i> [<i>mg ml⁻¹</i>]	<i>m_{t₀}</i> [<i>mg ml⁻¹ h⁻¹</i>]
Basiscreme DAC				
AEMetro				
0,6%	62,4 ± 3,3	6,2 ± 0,3	5,38 ± 0,37	0,10 ± 0,02
0,8%	74,5 ± 4,0	6,5 ± 0,4	6,58 ± 0,47	0,12 ± 0,03
1,0%	66,9 ± 2,6	6,9 ± 0,4	7,64 ± 0,60	0,06 ± 0,02
Metro				
0,75%	54,7 ± 5,8	7,7 ± 0,2	8,13 ± 1,43	0,05 ± 0,02
1,0%	61,0 ± 13	7,8 ± 1,2	7,32 ± 1,55	0,13 ± 0,06
2,0%	61,5 ± 7,8	7,2 ± 0,3	7,01 ± 2,53	0,14 ± 0,05
modifizierte Basiscreme				
AEMetro				
0,6%	45,6 ± 3,3	6,0 ± 0,6	3,55 ± 0,59	0,09 ± 0,02
0,8%	59,8 ± 0,9	5,8 ± 0,5	4,38 ± 0,73	0,16 ± 0,06
1,0%	70,5 ± 3,7	5,2 ± 0,3	4,35 ± 0,09	0,24 ± 0,03
Metro				
0,75%	75,1 ± 1,2	5,8 ± 0,4	6,63 ± 0,45	0,10 ± 0,01
1,0%	85,5 ± 4,4	5,8 ± 0,1	6,41 ± 0,29	0,19 ± 0,02
2,0%	106 ± 3,1	5,4 ± 0,07	7,11 ± 0,09	0,31 ± 0,04
Liniment				
AEMetro				
0,6%	43,4 ± 3,5	6,3 ± 0,7	3,02 ± 0,77	0,16 ± 0,05
0,8%	54,2 ± 1,8	7,1 ± 0,3	4,35 ± 0,16	0,12 ± 0,01
1,0%	66,4 ± 1,3	6,6 ± 0,4	5,33 ± 0,49	0,15 ± 0,03
Metro				
0,75%	47,7 ± 9,7	7,1 ± 0,6	5,88 ± 1,89	0,07 ± 0,02
1,0%	63,0 ± 8,0	6,8 ± 0,2	5,88 ± 0,69	0,13 ± 0,04
2,0%	79,9 ± 3,0	6,0 ± 0,3	7,24 ± 1,71	0,19 ± 0,06
Metrocreme®				
AEMetro				
0,6%	45,1 ± 1,0	6,9 ± 0,08	3,10 ± 0,20	0,18 ± 0,02
0,8%	64,2 ± 2,5	6,2 ± 0,2	4,08 ± 0,07	0,26 ± 0,006
Metro				
0,75%	45,6 ± 3,4	7,0 ± 0,2	5,20 ± 0,11	0,05 ± 0,003
1,0%	73,3 ± 9,9	6,0 ± 0,7	5,82 ± 0,76	0,19 ± 0,03
2,0%	86,8 ± 12	6,5 ± 0,1	7,09 ± 0,56	0,21 ± 0,03

Bei allen Vehikeln, außer Basiscreme DAC, hing die Metronidazolpenetration von der Konzentration des Arzneistoffs im Vehikel ab. Die absoluten Parameter (AUC , c_1 , m_{t_0}) zeigten jeweils einen Anstieg mit zunehmender Arzneistoffkonzentration. Die MDT als normierter Parameter unterschied sich innerhalb der einzelnen Cremes nicht signifikant. Wie in Abbildung 38 gezeigt, war Metronidazol unterschiedlich gut in den Vehikeln löslich. In Basiscreme betrug die Löslichkeit etwa 0,8%, in Liniment 0,75%, in modifizierter Basiscreme 1,2% und in Metrocreme® 1,1%. Dadurch wurde der Konzentrationsgradient als eine der treibenden Kräfte des Penetrationsprozesses beeinflusst. So führte nach Überschreiten der entsprechenden Löslichkeitsgrenze bei keinem Vehikel eine Erhöhung der Arzneistoffkonzentration von 1% auf 2% zu einer Zunahme der thermodynamischen Aktivität von Metronidazol. Die, nicht-signifikante, Abnahme der MDT, die die Verweilzeit des Arzneistoffs im Donator beschreibt und mit der Affinität des Arzneistoffs zum Vehikel korreliert, beschrieb dies besonders deutlich.

Sofern Basiscreme aufgrund der großen Streuung der Werte nicht mitbetrachtet wird, verzeichneten innerhalb der Probenreihen mit kristallinem Metronidazol modifizierte Basiscreme und Metrocreme® die größten Penetrationen (c_1 , AUC). Die gute Penetration aus Metrocreme® konnte mit dem komplexen Aufbau des Vehikels erklärt werden. Der hohe Emulgatoranteil (ca. 17%) begünstigte multiple lösungsvermittelnde Effekte in Membran und Akzeptor, die die Penetration von Metronidazol förderten. Auch die Ausbildung von Mizellen, mit denen der Arzneistoff penetrierte, ist denkbar.

Basiscreme/Metronidazol erreichte die maximale Penetration bereits bei der geringstkonzentrierten Zubereitung (0,75%). Die Penetration zeigte sich unabhängig von Arzneistoffkonzentration und physikalischen Zustand. Mit 0,75% Metronidazol war die Sättigungslöslichkeit nahezu erreicht und die 1- und 2%igen Zubereitungen waren Suspensionssalben. Die Penetration war im Allgemeinen bei dieser Grundlage so gering, dass ein Nachlösen kristallinen Metronidazols nicht erforderlich war und der Konzentrationsgradient als treibende Kraft für die Arzneistoffpenetration in allen Formulierungen konstant blieb. Unterschiede zwischen Basiscreme und modifizierter Basiscreme zugunsten letzterer sind nachfolgend unter Berücksichtigung der PrG-Penetration zu diskutieren, da dieses lösungsvermittelnde und penetrationsfördernde Eigenschaften aufweist und *solvent-drag*-Phänome in der Literatur beschrieben wurden [103]. Als weiterer, begünstigender Einflussfaktor ist die geringere Viskosität der modifizierten Basiscreme zu nennen, die die Diffusion von Metronidazol in der Grundlage erleichterte. Bei modifizierter Basiscreme/Metronidazol führte eine Konzentrationserhöhung zu keiner gesteigerten, aber zu einer beschleunigten Aufnahme von Metronidazol in den Akzeptor (c_1 nicht signifikant verschieden, m_{t_0} signifikant verschieden:

0,75% vs. 1%: $p < 0,05$; 0,75% vs. 2% und 1% vs. 2%: $p < 0,01$). Die Penetrationsgeschwindigkeit, beschrieben durch m_{t_0} nahm durch das höhere Konzentrationsgefälle zu und der Penetrationsprozess wurde schneller abgeschlossen. Im Fall von Liniment war die Auswertung vor dem Hintergrund der starken Streuung der Daten zu betrachten. Tendenziell führte eine Erhöhung der Metronidazolkonzentration zu einer Verbesserung der Penetration. Die Löslichkeit von Metronidazol in dieser Grundlage war ähnlich gering wie in Basiscreme, so dass auch hier der Konzentrationsgradient als treibende Kraft nahezu unverändert blieb. Lösungsvermittelnde Effekte durch penetrierende Emulgatoren waren ebenfalls weniger ausgeprägt als bei anderen Vehikeln, wie z.B. Metrocreme®.

Für AEMetro war die Penetration grundsätzlich konzentrationsabhängig. Eine Ausnahme bildete wiederum die Basiscreme. Hier führte, ähnlich wie bei der Verwendung kristallinen Metronidazols, eine Konzentrationserhöhung zu keiner deutlichen Steigerung der penetrierten Menge. Metrocreme® zeigte mit steigendem Aerogelgehalt des Donators eine Zunahme der Gleichgewichtskonzentration und der Anstieg m_{t_0} wurde größer, d.h. die Penetrationsrate wuchs. Bei modifizierter Basiscreme wurde bereits mit 0,8% der Maximalwert der Gleichgewichtskonzentration und damit die maximale Aufnahmekapazität des Akzeptors erreicht, so dass - von einem steigenden Konzentrationsgradienten zwischen Donator und Akzeptor ausgehend - lediglich die Penetrationsgeschwindigkeit m_{t_0} beeinflusst werden konnte. Diese nahm mit zunehmender Aerogelkonzentration deutlich zu. In Liniment blieb trotz steigender Donatorkonzentration die Penetrationsgeschwindigkeit konstant.

Auf den ersten Blick war kein Unterschied zwischen der Penetration von kristallinem Metronidazol und AEMetro zu erkennen. Bei der Beurteilung der Ergebnisse sind jedoch die verwendeten Konzentrationen zu bedenken. Während kristallines Metronidazol zu 0,75%, 1% und 2% eingearbeitet wurde, enthielten die aerogelhaltigen Zubereitungen 0,6%, 0,8% und 1% Metronidazol. Mit weniger eingesetztem Arzneistoff penetrierte die gleiche oder eine etwas höhere Metronidazolmenge (AUC, c_1) und die Penetration wurde durch Verwendung von AEMetro beschleunigt (MDT, m_{t_0}). Bei der Verwendung von AEMetro, insbesondere bei Konzentrationen um und oberhalb der Löslichkeitsgrenze, wirkten sich entstandene übersättigte Lösungen begünstigend auf die Penetration aus, da sie den Konzentrationsgradienten erhöhten. Dies ist umso bemerkenswerter, da die Viskosität der Zubereitungen ebenfalls zunahm (Kapitel D 1.4.4.1) und damit die Diffusion des Arzneistoffs erschwert wurde. Die Ergebnisse sind insofern erstaunlich, da die Konsistenzhöhung die Penetration nicht beeinflusste bzw. durch den Aerogeleffekt und den amorphen Zustand des Arzneistoffs überkompensiert wurde.

Die Löslichkeit des Arzneistoffs im Vehikel erwies sich analog zu den Freisetzungsexperimenten als limitierend für die Penetration.

Propylenglycol

Die beiden Basiscremes enthielten als Bestandteil der hydrophilen Phase PrG, das nicht nur als Feuchthaltemittel und Konservierungsmittel agierte, sondern dem auch penetrationsfördernde Eigenschaften zugewiesen werden [45, 48]. Daher wurde dessen Penetration untersucht (Tabelle 23, Anhang: Abbildung 66).

Tabelle 23: Ergebnisse der Penetration von Propylenglycol aus verschiedenen Vehikeln in Dodecanol-Colloidmembranen; n = 3, t = 24 h.

	<i>AUC</i> [mg ml ⁻¹ h]	<i>MDT</i> [h]	<i>c₁</i> [mg ml ⁻¹]	<i>m_{t₀}</i> [mg ml ⁻¹ h ⁻¹]
Basiscreme DAC				
AEMetro				
0,6%	297 ± 4,6	5,0 ± 0,2	17,9 ± 0,9	1,23 ± 0,18
0,8%	271 ± 10	4,7 ± 0,1	15,0 ± 0,7	1,27 ± 0,12
1,0%	252 ± 1,5	5,4 ± 0,8	17,2 ± 0,4	2,34 ± 0,34
Metro				
0,75%	356 ± 10	5,0 ± 0,4	20,5 ± 0,9	1,66 ± 0,09
1,0%	323 ± 13	4,4 ± 0,2	19,8 ± 2,2	1,71 ± 0,49
2,0%	296 ± 26	4,9 ± 0,3	19,1 ± 2,2	1,24 ± 0,47
modifizierte Basiscreme				
AEMetro				
0,6%	349 ± 4,5	4,3 ± 0,4	18,0 ± 1,5	2,20 ± 0,39
0,8%	340 ± 10	3,8 ± 0,2	16,7 ± 0,8	2,45 ± 0,19
1,0%	343 ± 16	4,6 ± 0,5	17,2 ± 0,4	2,34 ± 0,34
Metro				
0,75%	346 ± 0,9	4,4 ± 0,4	19,1 ± 0,1	1,78 ± 0,12
1,0%	316 ± 2,5	4,6 ± 0,1	17,4 ± 0,6	1,67 ± 0,21
2,0%	326 ± 11	4,4 ± 0,3	18,8 ± 0,7	1,51 ± 0,16

Ein Unterschied der PrG-Penetration konnte weder zwischen beiden Grundlagen noch beim Vergleich der metronidazol- bzw. aerogelhaltigen Systeme beobachtet werden (Anhang: Abbildung 66); eine geringfügige Beeinflussung war dennoch erkennbar (Tabelle 23). Aus den aerogelhaltigen Zubereitungen der Basiscreme penetrierte PrG am schlechtesten (Tabelle 23, AUC, *c₁*). Zwei Effekte können diesen Beobachtungen zugrunde gelegt werden: Zum einen haben die AEMetro nicht nur Wasser gebunden, sondern auch mit PrG interagiert und dessen Affinität zum Vehikel erhöht. Zum anderen nahm die Konsistenz der Vehikel durch die Einarbeitung der AEMetro zu, so dass PrG in seiner Mobilität eingeschränkt wurde. Basiscreme enthielt 10%, modifizierte Basiscreme 15% PrG. Diese Konzentrationserhöhung führte zu keiner verbesserten Penetration. Aufnahmekapazität des Akzeptors und Affinität zum Donator limitierten die Penetration. Lösungsvermittelnde Einflüsse der Emulgatoren konnten nicht

beobachtet werden, da durch das Verdünnen der Grundlage gleichzeitig der Emulgatoranteil verringert worden war und dies sich nicht in einer veränderten Penetration widerspiegelte.

In Bezug auf die Penetration von Metronidazol bleibt festzustellen, dass die Ergebnisse anderer Studien, die einen Kotransport von PrG und Metronidazol postulierten [200], für die in dieser Arbeit verwendeten halbfesten Vehikel nicht allgemein und für alle Zubereitungen bestätigt werden konnten. Lösungsvermittelnde Einflüsse durch die gute Löslichkeit von Metronidazol in PrG (Abbildung 38) waren für die Zubereitungen mit kristallinem Metronidazol von Bedeutung. Entscheidender für das Penetrationsverhalten von Metronidazol aus AEMetro-haltigen Zubereitungen waren der physikalischer Zustand des Arzneistoffs und die Löslichkeit im Vehikel, die insbesondere durch den Aerogeleffekt und den amorphen Zustand des Metronidazols bestimmt wurden.

Zur weiteren Klärung dieser Beobachtungen sind fortführende Untersuchungen notwendig.

Wasser

Neben der Penetration von PrG wurde auch die von Wasser untersucht. Tabelle 24 zeigt die Ergebnisse. Eine graphische Darstellung befindet sich in Abbildung 67 des Anhangs.

Die Wasserpenetration war vor allem abhängig von der Grundlage. Basiscreme und Liniment wiesen eine höhere Penetration als Metrocreme[®] und modifizierte Basiscreme auf. Allen Grundlagen mit Ausnahme von modifizierter Basiscreme, die gesondert betrachtet werden soll, war eine um 60% reduzierte Wasserpenetration bei Verwendung von AEMetro gemeinsam. AE adsorbieren an ihrer Oberfläche Wasser. Außerdem nahm die Viskosität der Vehikel durch den erhöhten Feststoffeintrag zu, so dass die thermodynamische Aktivität des Wassers eingeschränkt wurde. Auch die Interaktion des Vehikels selbst mit Wasser war verschieden: Metrocreme[®] zeigte die größte Bindekapazität in den Freisetzungsexperimenten (Kapitel D 1.4.4.1) und korrelierend dazu die geringste Wasserpenetration in die Modellmembran. Demgegenüber waren aus Liniment, dem Vehikel mit dem größten Anteil frei verfügbaren Wassers, auch bei Verwendung von AEMetro die Penetration beim Vergleich aller Systeme maximal. Modifizierte Basiscreme bildete eine Ausnahme: die Wasserpenetration war unabhängig davon, ob kristallines Metronidazol und AEMetro verwendet wurden. Weder die Konsistenzerhöhung durch das eingearbeitete AEMetro noch die Abnahme des freien Wassers in der Grundlage oder der höhere PrG-Gehalt beeinflussten die Penetration.

Tabelle 24: Ergebnisse der Penetration von Wasser aus verschiedenen Vehikeln in Dodecanol-Colloidiummembranen; n = 3, t = 24 h.

	<i>AUC</i> [mg ml ⁻¹ h]	<i>MDT</i> [h]	<i>c_t</i> [mg ml ⁻¹]	<i>m_{t₀}</i> [mg ml ⁻¹ h ⁻¹]
Basiscreme DAC				
AEMetro				
0,6%	501 ± 98	4,6 ± 0,5	27,5 ± 4,8	3,68 ± 1,25
0,8%	490 ± 20	4,3 ± 0,8	26,9 ± 0,8	3,85 ± 0,09
1,0%	472 ± 11	4,7 ± 0,5	26,2 ± 1,5	3,75 ± 0,57
Metro				
0,75%	888 ± 41	5,6 ± 0,7	42,7 ± 4,4	6,30 ± 0,93
1,0%	796 ± 103	3,8 ± 0,1	39,7 ± 8,4	6,87 ± 1,87
2,0%	719 ± 88	3,6 ± 0,3	39,1 ± 5,6	5,22 ± 0,93
modifizierte Basiscreme				
AEMetro				
0,6%	548 ± 28	3,8 ± 0,3	26,9 ± 1,7	5,74 ± 0,29
0,8%	588 ± 35	3,6 ± 0,4	28,8 ± 1,4	6,51 ± 0,56
1,0%	536 ± 64	4,3 ± 0,5	27,5 ± 1,4	5,37 ± 1,70
Metro				
0,75%	494 ± 11	3,3 ± 0,8	25,4 ± 1,9	4,49 ± 0,25
1,0%	559 ± 20	4,5 ± 0,1	29,3 ± 1,7	4,56 ± 0,28
2,0%	573 ± 80	4,0 ± 0,4	29,2 ± 4,3	4,88 ± 0,37
Liniment				
AEMetro				
0,6%	554 ± 23	6,3 ± 1,8	30,4 ± 0,3	3,72 ± 0,19
0,8%	543 ± 45	4,2 ± 0,3	29,6 ± 2,6	3,40 ± 0,39
1,0%	510 ± 25	4,6 ± 0,4	28,5 ± 1,9	3,59 ± 0,18
Metro				
0,75%	785 ± 78	4,6 ± 0,6	45,2 ± 13	5,66 ± 2,70
1,0%	837 ± 169	4,6 ± 0,4	55,7 ± 31	5,40 ± 2,55
2,0%	821 ± 92	4,1 ± 0,4	42,7 ± 6,7	6,51 ± 0,87
Metrocreme®				
AEMetro				
0,6%	428 ± 25	4,3 ± 0,1	22,1 ± 1,5	4,66 ± 0,09
0,8%	515 ± 38	4,1 ± 0,3	27,2 ± 1,2	4,84 ± 1,14
Metro				
0,75%	640 ± 52	3,9 ± 1,1	31,1 ± 5,5	8,11 ± 0,34
1,0%	741 ± 61	2,6 ± 0,2	40,0 ± 4,4	7,37 ± 0,18
2,0%	662 ± 70	4,1 ± 0,2	36,1 ± 8,2	6,41 ± 1,83

Im Vergleich mit PrG zeigte Wasser ein ähnliches Penetrationsverhalten, wobei ersteres etwas langsamer penetrierte. Für die untersuchten Stoffe ergab sich allgemein die Reihenfolge: Wasser > PrG > Metronidazol.

1.4.4.5 Penetration von Metronidazol in humanes *Stratum corneum*

Für ausgewählte Systeme wurden Penetrationsstudien in humanes SC durchgeführt. Als Akzeptormedium diente wie bereits in den Dithranol-Penetrationsexperimenten DDw. Die Auswertung der Metronidazol-, Wasser- und PrG-Penetration erfolgte in Analogie zu den Experimenten mit der DCM. Trotz des nativen Membranmaterials mit seinen inter- und

intraindividuellen Einflussgrößen wurden die Ergebnisse gemittelt (Tabelle 25). Die entsprechenden graphischen Darstellungen sind im Anhang (Abbildung 68) zusammengestellt.

Tabelle 25: Parameter der Penetration von Metronidazol in verschiedenen Vehikeln in humanes SC, $t = 215$ h.

	<i>AUC</i> [$mg\ m^{-1}\ h$]	<i>MDT</i> [h]	c_1 [$mg\ m^{-1}$]	m_{t_0} [$10^{-3}\ mg\ m^{-1}\ h^{-1}$]
Basiscreme DAC, n = 3				
AEMetro 0,6%	783 ± 67	68,9 ± 0,9	19,1 ± 10,4	9,01 ± 8,16
AEMetro 0,8%	628 ± 187	79,9 ± 8,7	28,3 ± 19,1	2,93 ± 1,84
Metro 1,0%	879 ± 150	74,0 ± 4,6	23,0 ± 3,3	5,29 ± 2,48
modifizierte Basiscreme, n = 2				
AEMetro 0,6%	619 ± 8,4	64,2 ± 15	15,4 ± 10,7	6,18 ± 4,80
AEMetro 0,8%	611 ± 33	71,1 ± 5,7	6,23 ± 0,30	12,6 ± 2,1
Metro 1,0%	916 ± 19	67,5 ± 5,9	8,56 ± 1,07	23,1 ± 4,1
Liniment, n = 3				
AEMetro 0,6%	396 ± 21	71,7 ± 1,4	2,89 ± 0,14	2,44 ± 0,31
AEMetro 0,8%	520 ± 32	79,2 ± 2,2	3,02 ± 2,21	1,81 ± 1,33
Metro 1,0%	614 ± 50	78,2 ± 5,2	10,4 ± 4,47	11,0 ± 7,1
Metrocreme[®], n = 3				
Metro 0,75%	610 ± 23	77,1 ± 2,0	5,87 ± 0,16	17,3 ± 1,3

Erwartungsgemäß penetrierte Metronidazol langsamer in die native Membran als in die Modellmembran (Tabelle 25: m_{t_0}). Geringere Metronidazolkonzentrationen im Donator bei Verwendung der AEMetro (0,6% und 0,8%) resultieren bei Basiscreme in gleich großen Gleichgewichtskonzentrationen (c_1) wie mit 1% kristallinem Metronidazol erreicht worden waren. Das Penetrationsverhalten aus beiden Basiscremes war ähnlich, wie in den Werten der AUC zum Ausdruck kommt. Aus Liniment war die Penetration am geringsten. Die Penetration aus Metrocreme[®] als Fertigarzneimittelreferenz entsprach der Basiscreme-Zubereitung mit 0,8% Metronidazol, eingesetzt als AEMetro.

Die Wasserbande war entweder nahezu konstant (Liniment, Metrocreme[®]) oder nahm im Fall von Basiscreme und modifizierter Basiscreme zunächst ab (Anhang: Abbildung 68), stieg dann aber entgegen anderen Studien [104] nicht wieder an. Die Endkonzentration war für alle Vehikel nahezu gleich und unbeeinflusst von der Penetration und möglicher Lösungsvermittlung anderer Vehikelbestandteile, insbesondere der Tenside. Vielmehr entsprachen die Gleichgewichtskonzentrationen dieser Experimente denen der DCM. Da die Abnahme der Wasserbande bei AEMetro und kristallinem Metronidazol auftrat, war eine Rückdiffusion in den Donator aufgrund freier Valenzen der AE auszuschließen.

PrG penetrierte in denselben Größenordnungen wie bei der DCM (Tabelle 26, Anhang: Abbildung 68). Allein die Penetrationsgeschwindigkeit war, aufgrund der kompakteren Struktur des SC, durchschnittlich ein Zehntel langsamer (Tabelle 26: m_{t_0}).

Tabelle 26: Parameter der Penetration von Propylenglycol in verschiedenen Vehikeln in humanes SC, t = 215 h, n=3.

	<i>AUC</i> [mg ml ⁻¹ h]	<i>MDT</i> [h]	<i>c₁</i> [mg ml ⁻¹]	<i>m_{t₀}</i> [mg ml ⁻¹ h ⁻¹]
Basiscreme DAC, n = 3				
AEMetro 0,6%	244 ± 21	66,2 ± 4,3	20,0 ± 4,5	0,10 ± 0,02
AEMetro 0,8%	204 ± 43	75,6 ± 11,9	17,7 ± 3,4	0,10 ± 0,05
Metro 1,0%	247 ± 0,2	62,3 ± 4,6	18,2 ± 2,2	0,13 ± 0,04
modifizierte Basiscreme, n = 2				
AEMetro 0,6%	272 ± 19	58,0 ± 13,0	17,2 ± 0,8	0,27 ± 0,09
AEMetro 0,8%	282 ± 4,5	50,3 ± 7,4	103 ± 87	0,74 ± 0,48
Metro 1,0%	240 ± 17	56,3 ± 3,9	14,7 ± 0,4	0,16 ± 0,02

Die Sättigung des Akzeptors erwies sich wie bei der Modellmembran als limitierend für die Gleichgewichtskonzentration. Im Vergleich mit Metronidazol erfolgte die Penetration schneller und erreichte eher den Gleichgewichtszustand. Auch dies ist in Kongruenz mit Ergebnissen der Modellmembran. Beide Komponenten - Metronidazol und PrG - penetrierten unabhängig voneinander.

Alle Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Die Konsistenzhöhung der Zubereitungen durch Einarbeitung von AEMetro war abhängig vom Gehalt frei verfügbaren Wassers in der Grundlage und beeinflusste die Penetration von Metronidazol letztendlich nicht. Vielmehr wirkten sich der Aerogeleffekt und der amorphe Zustand des adsorbierten Arzneistoffs sowie dadurch entstandene übersättigte Lösungen penetrationsfördernd aus und erhöhten die dermale Verfügbarkeit des Metronidazols. Den Einflüssen des AEMetro standen die Eigenschaften der Grundlagen selbst, die ebenfalls die Penetration des Arzneistoffs (begünstigend) beeinflussten, gegenüber.

Besonders deutlich wurde die Penetrationsverbesserung durch die Verwendung der AEMetro in den Experimenten mit der DCM als Barriere. Bei humanem SC stellten sich die Penetrationsdaten weniger differenziert dar. Zuvor durchgeführte Freisetzungsexperimente hatten Unterschiede der Grundlagen bezüglich der Aufnahme von Metronidazol aufgezeigt, die sich dann den Ergebnissen der Penetrationsexperimente widerspiegeln. Das System Basiscreme/AEMetro zeigte nicht nur gegenüber kristallinem Metronidazol eine verbesserte Freisetzung, sondern auch erhöhte Penetrationsraten an Modellmembran und humanem SC. Die geringe Freisetzung von AEMetro in Metrocreme[®] fand sich ebenfalls in den geringen Penetrationsunterschieden zum Fertigarzneimittel Metrocreme[®] wieder. RAMAN-spektroskopische Untersuchungen ließen in Kombination mit den Freisetzungsexperimenten den Schluss zu, dass bei Verwendungen von AEMetro übersättigte Lösungen des Arzneistoffs im Vehikel entstehen, die lagerungsstabil sind. Rekristallisationen traten, insbesondere im Bereich der Sättigungslöslichkeit, durch den Einsatz von AEMetro verzögert auf.

Die Penetration von Wasser aus den Grundlagen konnte nur an der Modellmembran beobachtet werden. Durch die Verwendung von AEMetro wurde sie abgeschwächt, da zum einen die Silanolgruppen der AE Wasser binden können, zum anderen die Konsistenz der aerogelhaltigen Zubereitungen hoch war. Die Gleichgewichtskonzentrationen des Wassers bei Verwendung von DD/Oct oder DDw als Akzeptor entsprachen sich. Lösungsvermittelnde Effekte penetrierter Emulgatoren wurden nicht beobachtet. Ebenso war keine deutliche Korrelation zwischen der Wasserpenetration und dem PrG-Gehalt des Donators, das über einen *solvent-drag*-Effekt Wasser in lipophiler Membran und Akzeptor vermitteln könnte [103, 104], erkennbar. Letztendlich scheinen die thermodynamisch kontrollierte Diffusion und die Einbindung von Wasser in das Vehikel maßgeblich der Wasserpenetration zugrunde zu liegen.

Unterschiede in der PrG-Penetration in die DCM in Abhängigkeit vom eingesetzten Vehikelsystem (kristallines Metronidazol/AEMetro) waren festzustellen, aber nicht signifikant verschieden. Keine Unterschiede bestanden zwischen den beiden Grundlagen Basiscreme und modifizierte Basiscreme. Die Penetration in humanes SC erfolgte langsamer als in die Modellmembran, letztendlich aber im gleichen Ausmaß. PrG beeinflusste die Metronidazolpenetration im Sinne eines *solvent-drag*-Effekts vornehmlich bei Verwendung kristallinen Metronidazols. Bei AEMetro-haltigen Zubereitungen spielte dieser nur eine untergeordnete Rolle, da der Aerogeleffekt und der amorphe Zustand des Arzneistoffs die Penetration bestimmten.

Fortführende Studien, die der weiteren Klärung der Beobachtungen und Postulate dienen, sind daher notwendig.

Die verwendeten Modelle - Freisetzungsexperimente und Penetrationsstudien in DCM sowie humanes SC - stellen Teilaspekte der Arzneistoffaufnahme in die Haut dar, die genutzt werden können, Rezepturen zu entwickeln und zu optimieren. Alle Modellsysteme wiesen Grenzen auf, was besonders in der fehlenden Möglichkeit, die Wasserpenetration aus den Vehikeln in humanes SC zu untersuchen, deutlich wurde.

Nicht zuletzt konnte gezeigt werden, dass die verwendeten spektroskopischen Methoden - FTIR-ATR- und FT-RAMAN-Spektroskopie - einen Beitrag zur Entwicklung und Charakterisierung halbfester Zubereitungen leisten können, da mit relativ einfachen Mitteln komplexe Vorgänge *online*, nicht invasiv und synchron untersucht werden können.

2 Modellmembranen für Diffusionsstudien mittels FTIR-ATR-Spektroskopie

2.1 Entwicklung von *Stratum-corneum*-Lipidmodellmembranen als Barriere für ATR-Penetrations- und Diffusionsstudien

Die Penetrationsexperimente (Kapitel D 1.4.2, 1.4.3, 1.4.4.4, 1.4.4.5) zeigten, dass mit der lipophilen DCM eine Modellmembran existiert, mit der sich Teileffekte der Penetration durch das humane SC beschreiben lassen. Für einfache Formulierungen, wie sie bei Dithranol verwendet wurden, korrelierten die Ergebnisse von Modellmembran und SC. Komplexe Vehikel, wie sie bei Metronidazol zum Einsatz kamen, zeigten hingegen unterschiedliche Penetrationsprofile, insbesondere für Wasser. Auch der hydrophile Penetrationsweg entlang der Kopfgruppen der SC-Lipide ist an den lipophilen Modellmembranen nur limitiert darstellbar. Daher sollten die bereits durch vielfältige Studien charakterisierten, definiert zusammengesetzten SC-Lipidmodellmembranen als Barriere für Penetrations- und Diffusionsstudien etabliert werden. Diese Membranen wurden bislang auf Quarzplatten präpariert, so dass zunächst ein geeigneter Träger gefunden werden mußte. Danach galt es, eine geeignete Präparationsmethode zu entwickeln, die reproduzierbare Membranen liefert, und erste Diffusions- sowie Penetrationsexperimente durchzuführen. Als Trägermaterial wurden mittels *Track-Etch*-Technik hergestellte Filter aus Polycarbonat und Polyethylenterephthalat (PET) ausgewählt, da diese definierte Poren aufwiesen und gegenüber dem verwendeten Lösemittelgemisch Chloroform/Methanol 1/1 beständig waren.

Als Donator für nachfolgende ATR-Diffusionsexperimente diente eine 10%ige Harnstofflösung. Diese Auswahl erfolgte aus verschiedenen Überlegungen heraus, nachdem erste Experimente gezeigt hatten, dass die Membran mit verschiedenen Lipiden und Tensiden interagiert. Beispielsweise lösten unterschiedliche Mikroemulsionen die Lipide innerhalb kürzester Zeit vom Träger. Ähnliches wurde für Vehikelkomponenten von Basiscreme DAC und Liniment beobachtet. Das letztendlich gewählte System war zum einen sehr einfach, so dass keine zusätzlichen Effekte durch das Vehikel oder einzelne Vehikelkomponenten zu erwarten waren, zum anderen bestanden Referenzdaten für humanes SC und bovine Hufmembranen [55].

2.1.1 Diffusion von Harnstoff durch verschiedene Polycarbonatfilter

Mit der Zielstellung geeignete Filter zur Beschichtung zu selektieren, wurde der Einfluss von Porengröße, Filterdicke und Porenanzahl anhand der Diffusion von Harnstoff in wässriger Lösung durch unterschiedliche Polycarbonatmembranen der Firma Avestin® untersucht. Neben den Diffusionsstudien waren andere Faktoren bei der Trägerauswahl zu bedenken. Eine zu

geringe Porengröße verursacht aufgrund von Spreitungseffekten und Benetzungsproblemen ebenso inhomogene Beschichtungen wie sehr große Poren, die nicht vollständig von der Lipidmischung ausgefüllt werden.

Als Parameter zur Beurteilung wurden AUC_{norm} , MDT und der t_{80} -Wert ausgewählt. Die MDT beschreibt nun nicht die Verweildauer des Arzneistoffs im Vehikel, sondern die mittlere Verweilzeit „in“ der Membran. Die Berechnung von t_{80} erfolgte mit Hilfe des logistischen Kurvenfits (Kapitel C 7). Zur Bestimmung der Parameter wurden beide Harnstoff-assoziierten Banden ($1122 - 1192 \text{ cm}^{-1}$ und $1402 - 1503 \text{ cm}^{-1}$) zeitabhängig integriert und auf den auftretenden Minimal- bzw. Maximalwert ($I_{min} \equiv 0$ und $I_{max} \equiv 1$) normiert. Die Ergebnisse beider Banden unterschieden sich nicht.

Abbildung 41 zeigt repräsentative Spektren einer Messung zu verschiedenen Zeitpunkten und beispielhaft Diffusionskurven für Avestin[®]-Filter mit einem Porendurchmesser von 50 nm, 400 nm und 5000 nm.

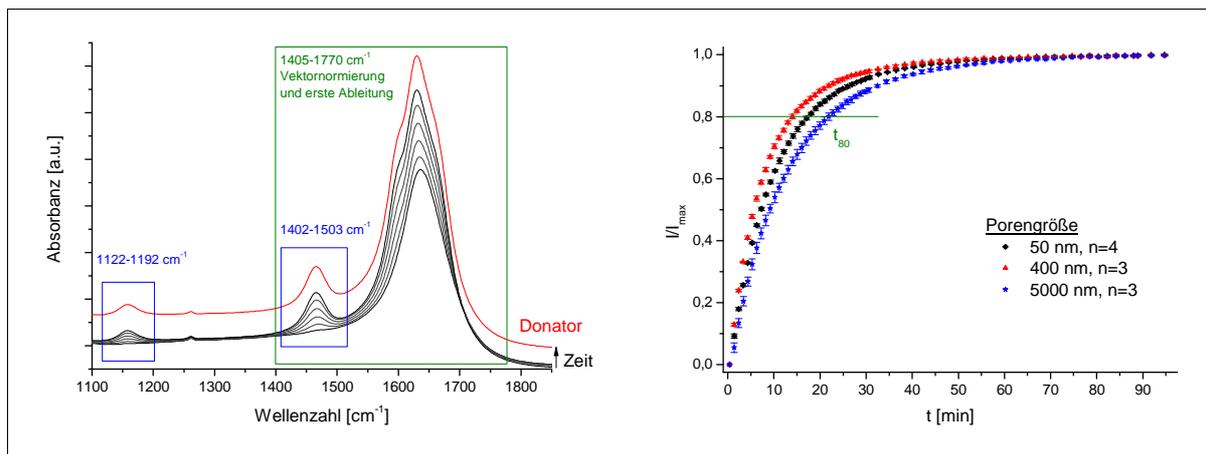


Abbildung 41: links: FTIR-ATR-Spektren des Donators sowie des Akzeptorkompartiments bei der Diffusion von Harnstoff in Wasser durch einen Avestin[®]-Filter mit einem Porendurchmesser von 5000 nm zu verschiedenen Zeiten; die ausgewerteten Banden sind markiert: blau: Metalldiffusionszelle 7 mm, Integration und nachfolgende Normierung; grün: Teflondiffusionszelle, multivariate Analyse; rechts: Diffusionskurven für Experimente mit unbeschichteten Avestin[®]-Filtern verschiedener Porengrößen.

In Tabelle 27 sind die Parameter der verschiedenen Diffusionsexperimente den Filterdaten gegenübergestellt. Neben der Membrandicke bestimmten Porengröße und Porenanzahl die Barriereigenschaften der Filter. Da Harnstoff einen sehr kleinen Molekülradius aufweist, waren Größenausschluss- und Siebeffekte ausgeschlossen.

Tabelle 27: Parameter der Diffusionsexperimente von Harnstoff durch Avestin®-Filter verschiedener Porengrößen nach 97 min (d = 19 mm, A = 2,84 cm²).

d_{Pore} [nm]	h [μm]*	Poren pro cm²**	$\frac{V_{Pore}}{V_{Filter}}$ [%]	$\frac{A_{Pore}}{A_{Filter}}$ [%]	n	AUC_{norm} [min ⁻¹]	MDT [min ⁻¹]	t_{80} [min]
50	5,5	600 000 000	1,5	1,18	8	82,9 ± 0,5	11,8 ± 0,5	17,4 ± 0,4
100	5,5	300 000 000	3,0	2,36	4	83,9 ± 0,3	10,9 ± 0,3	16,0 ± 0,2
200	9,5	300 000 000	12	9,42	6	84,4 ± 0,5	10,4 ± 0,4	14,8 ± 0,2
400	9,5	100 000 000	16	12,6	6	84,9 ± 0,6	9,85 ± 0,4	13,9 ± 0,4
1000	11	30 000 000	30	23,6	10	84,3 ± 0,5	10,3 ± 0,5	14,9 ± 0,4
5000	11	1 000 000	25	19,6	6	80,5 ± 0,5	14,3 ± 0,5	21,9 ± 0,7

* Die Schichtdicke der Filter wurde an 10 verschiedenen Messpunkten der Filter bestimmt, die Standardabweichung betrug für alle Filter ± 0; ** Herstellerangabe.

Von 50 nm bis 400 nm nahm mit zunehmendem Porendurchmesser die AUC_{norm} zu sowie MDT und t_{80} ab. Eine weitere Größenzunahme der Poren führte dann zum gegenteiligen Ergebnis: die AUC_{norm} wurde geringer, MDT und t_{80} größer. Membranen mit 200 nm und 1000 nm Porendurchmesser beeinflussten die Harnstoffdiffusion ähnlich (ANOVA-Test nicht signifikant), obwohl sie sich nicht nur in der Porengröße, sondern auch in der Membrandicke und Porenanzahl unterschieden. Der zunehmende Diffusionsweg wirkte sich weniger aus, da die Porenfläche, d.h. die zur Diffusion zur Verfügung stehende Fläche, gleichzeitig überproportional zunahm. Der Unterschied zwischen 1000 nm und 5000 nm Porengröße ($p > 0,01$) war wie folgt zu erklären: Bei gleich bleibender Filterhöhe nahm die für die Diffusion zur Verfügung stehende Porenfläche ab (Tabelle 27, prozentuale Porenfläche), so dass die Harnstoffdiffusion verlangsamt wurde. Filter der Porengröße 400 nm wiesen die geringsten Barriereigenschaften für die Harnstoffdiffusion auf, Filter mit 5000 nm Poren die größten. Einerseits war die Diffusionsfläche des 400 nm Filters im Vergleich zu Filtern geringerer Porengröße (50 nm und 100 nm) wesentlich größer, andererseits nahm der Diffusionsweg ab 1000 nm Porengröße weiter zu, wobei gleichzeitig die prozentuale Porenfläche geringer wurde. Zudem wurden herstellungsbedingte Porenüberlappungen beobachtet, die zu diskutieren sind. Je kleiner die Poren, desto höher war die Wahrscheinlichkeit, dass solche Überlappungen auftraten. Abbildung 42 zeigt beispielhaft die elektronenmikroskopische Aufnahme eines Avestin®-Filters (1000 nm). Die Bildauswertung ergab eine bimodale Verteilung mit einem Maximum bei 0,9 - 0,95 μm Porendurchmesser, entsprechend der deklarierten Porengröße, und einem weiteren, kleineren Maximum bei 1,5 - 1,55 μm, das die überlappenden Poren charakterisierte.

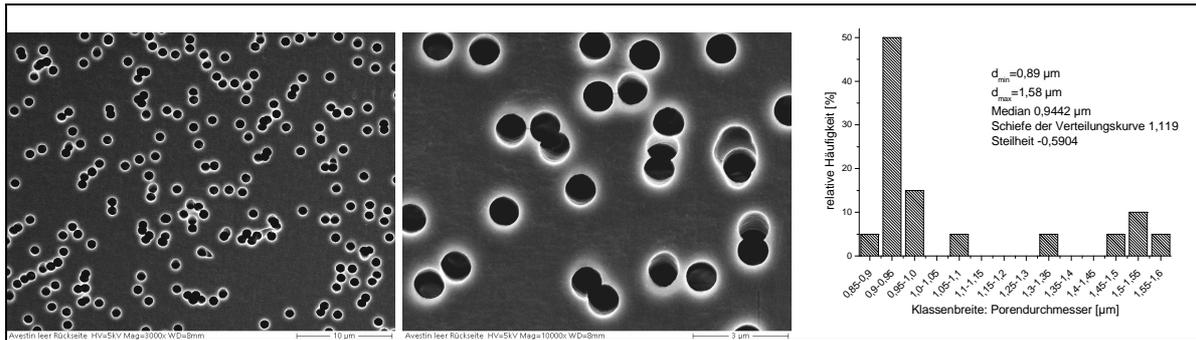


Abbildung 42: Elektronenmikroskopische Aufnahmen eines Avestin®-Filters in zwei verschiedenen Vergrößerungen und das Histogramm der zugehörigen Bildauswertung (Analysis auto, Olympus, Hamburg, Deutschland). Gut zu erkennen sind die herstellungsbedingten nahezu kreisrunden Poren und Porenüberlappungen.

Für nachfolgende Beschichtungen wurden Filter verschiedener Porendurchmesser ausgewählt. Avestin®-Filter mit 200 nm Porenweite erwiesen sich dabei als besonders geeignet.

2.1.2 Voruntersuchungen zur Beschichtung der Träger mit der Lipidmischung: Optimierung der Membranpräparation durch DSC- und FT-RAMAN-spektroskopische Studien

Avestin®-Filter und ThinCert™-Zellkultureinsätze wurden mit verschiedenen Lipidmischungen beschichtet, um den Einfluss der Lipidzusammensetzung auf die Barriereigenschaften bezüglich der Harnstoffdiffusion aus wässriger Lösung zu untersuchen.

Bereits der Schritt der Lipidauftragung erwies sich als kritisch für die Qualität der resultierenden Membranen. Im Gegensatz zum planaren Quarzplattenmodell der Röntgen- und Neutronenstreuuntersuchungen erschwerte die Porenstruktur des stabilisierenden Filters nachträgliche Umordnungen und Orientierungen in der *Annealing*-Prozedur. Nach ersten Versuchen der Auftragung bei Raumtemperatur war für die Basismischung Cer[AP]/Chol/PA/Chols (55/25/15/5) offensichtlich, dass bei erhöhten Temperaturen homogenere Membranen entstehen. Die Frage nach der geeigneten Temperatur und ggf. weiteren notwendigen Bedingungen führte zunächst zum Einsatz einer wasserdampfgesättigten Atmosphäre während Auftragung und Trocknung der Lipidmischung und im Folgenden zu dem Postulat, dass das Schmelzen der enthaltenen Fettsäure für die Ausbildung gleichmäßiger Membranen wichtig ist. Diese These wurde durch die Studien von BOUWSTRA *et al.* [113] gestützt, die bei Anwesenheit von freien Fettsäuren die Umwandlung hexagonaler in orthorhombische Strukturen und die Bildung von flüssigen Phasen nachgewiesen haben.

Um geeignete Temperaturschemata zur Ausbildung homogener Membranen zu ermitteln, wurden DSC und FT-RAMAN-Spektroskopie durchgeführt. RAMAN-spektroskopische Untersuchungen in Abhängigkeit von der Proben temperatur sind eine etablierte Methode zur

Charakterisierung von Lipiden [157]. Mit Hilfe der aufgenommenen DSC-Thermogramme wurden die Temperaturintervalle vorgewählt. Außerdem dienten die Übergänge in den Thermogrammen selbst als erster Hinweis auf die zu wählende Temperatur bei der Membranpräparation während der Evaporation des Lösemittelgemischs.

Für die Basismischung erwies sich eine Präparationstemperatur von 65°C bis 70°C als geeignet. Durch weitere Temperaturerhöhung verschlechterte sich die Homogenität der Membranen wieder. Aus den DSC-Thermogrammen der Einzelsubstanzen (Abbildung 43: A-C) geht der Schmelzpunkt der Palmitinsäure (PA) mit 63°C hervor. Auch das erste Aufheizen der DSC-Kurve der quartären Mischung zeigte diesen Übergang. In einem weiteren untersuchten System (sog. Cer[EOS]-Mischung), bestehend aus Cer[EOS]/[AP]/Chol/BA (23/10/33/33), war die optimale Präparationstemperatur 85 - 90°C. Bei tieferen Temperaturen gelang es nicht, homogene Membranen herzustellen. Behensäure hat einen Schmelzpunkt von 82°C. Im Gegensatz zur Basismischung traten bereits beim ersten Aufschmelzen nicht mehr die für die Einzelsubstanzen charakteristischen Übergänge auf, sondern das Thermogramm zeigte, dass bereits während der Lösemittel- evaporation (bei Raumtemperatur) eine neue Mischung entstanden war, die ein anderes Temperaturverhalten aufwies als von der physikalischen Mischung der Einzelsubstanzen zu erwarten war. Diese Membranzusammensetzung war zudem weniger anfällig für Entmischungserscheinungen als die Basismischung, die durch Cholesterol-separationen gekennzeichnet war, obgleich durch den Zusatz von Cholesterolsulfat die Entmischungstendenz verringern werden sollte [112].

Durch das erste Aufheizen entstanden Mischungen, die in den weiteren Temperaturzyklen durch eigene spezifische Übergänge charakterisiert waren. Experimente mit verringerten Aufheiztemperaturmaxima wurden daher für die Basismischung und die zugehörigen ternären Systeme durchgeführt. Veränderungen im Vergleich zum zweiten und dritten Aufheizen über den gesamten Temperaturbereich bis 100°C wurden nicht beobachtet. Dies stützte ebenfalls die These von der Bedeutung, im Fall der Basismischung die Palmitinsäure bereits während der Präparation in die Schmelze zu überführen.

Die Übergänge des zweiten und dritten Temperaturzyklus sind wichtig für eine Optimierung der *Annealing*-Temperatur, sollen aber nicht weiter betrachtet werden.

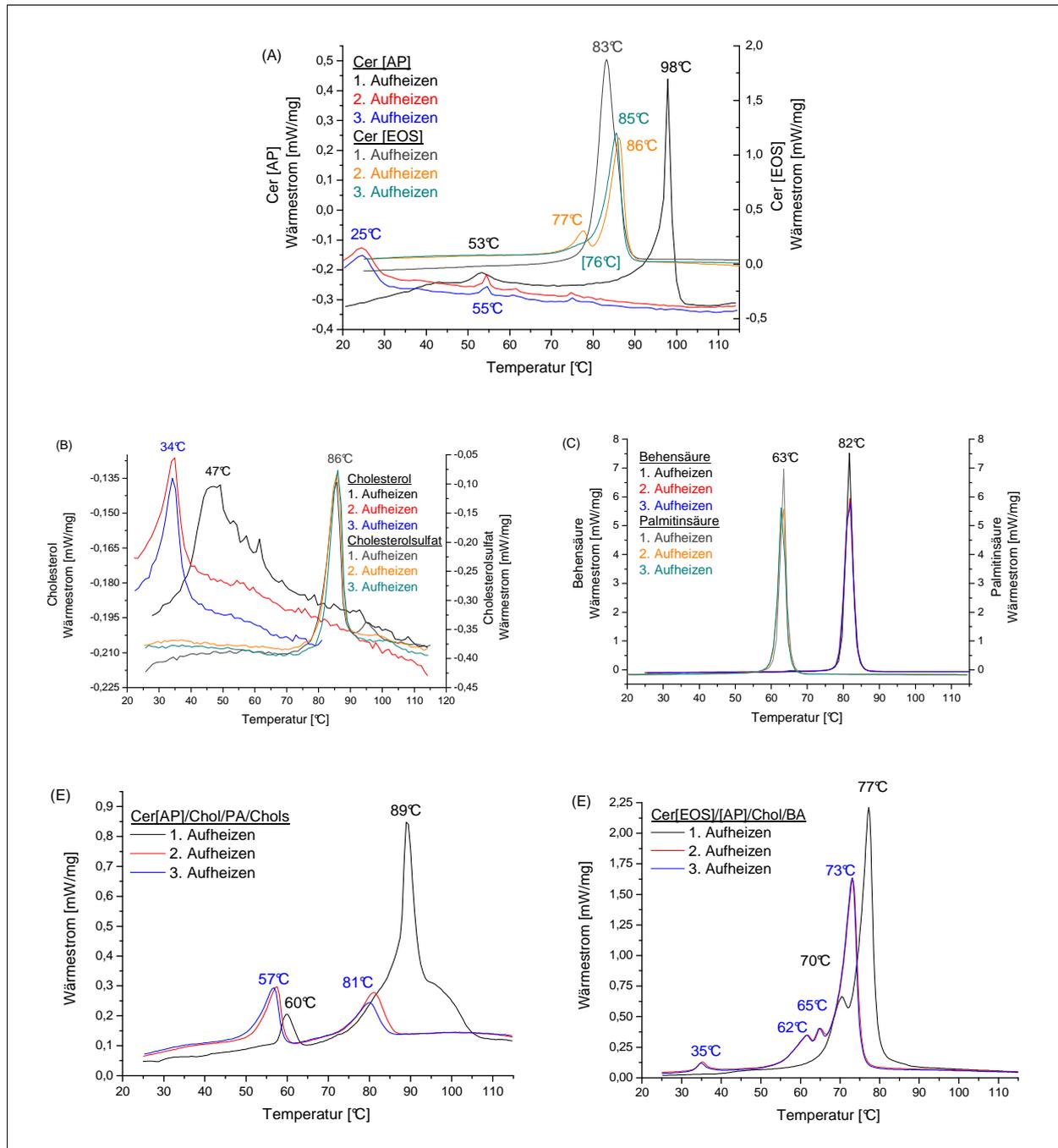


Abbildung 43: DSC-Thermogramme des mehrmaligen Aufheizens der Einzelsubstanzen (A-C) und der quartären Systeme (D: Cer[API]/Chol/PA/Chols 55/25/15/5 und E: Cer[EOS]/[API]/Chol/BA 23/10/33/33); Heizrate 5 K min⁻¹.

Durch zusätzliche Anwendung der FT-RAMAN-Spektroskopie sollte der Ordnungszustand der Lipidketten durch mehrmaliges Aufheizen, das Trocknung und nachfolgende *Annealing*-Zyklen modellierte, weiter untersucht werden. Die Auswertung beschränkte sich auf Kernaussagen und war auf die Banden der symmetrischen und antisymmetrischen Valenzschwingung der CH₂-Gruppe zwischen 2800 cm⁻¹ und 3000 cm⁻¹ fokussiert. Die Position der $\nu_{CH_2(sym)}$ bei 2832 cm⁻¹ bis 2866 cm⁻¹ beschreibt den Ordnungszustand der Alkylketten [201, 202]. Diese sind umso geordneter, je niedriger die Bandenposition ist. Der Anteil der antisymmetrischen

Valenzschwingung ($2867 - 2912 \text{ cm}^{-1}$) an der Gesamtintensität der CH_2 -Bande ($2800 - 3029 \text{ cm}^{-1}$) beschreibt die hochgeordnete *trans*-Konformation der Alkylketten [203, 204]. Die Ergebnisse sind in Abbildung 44 dargestellt.

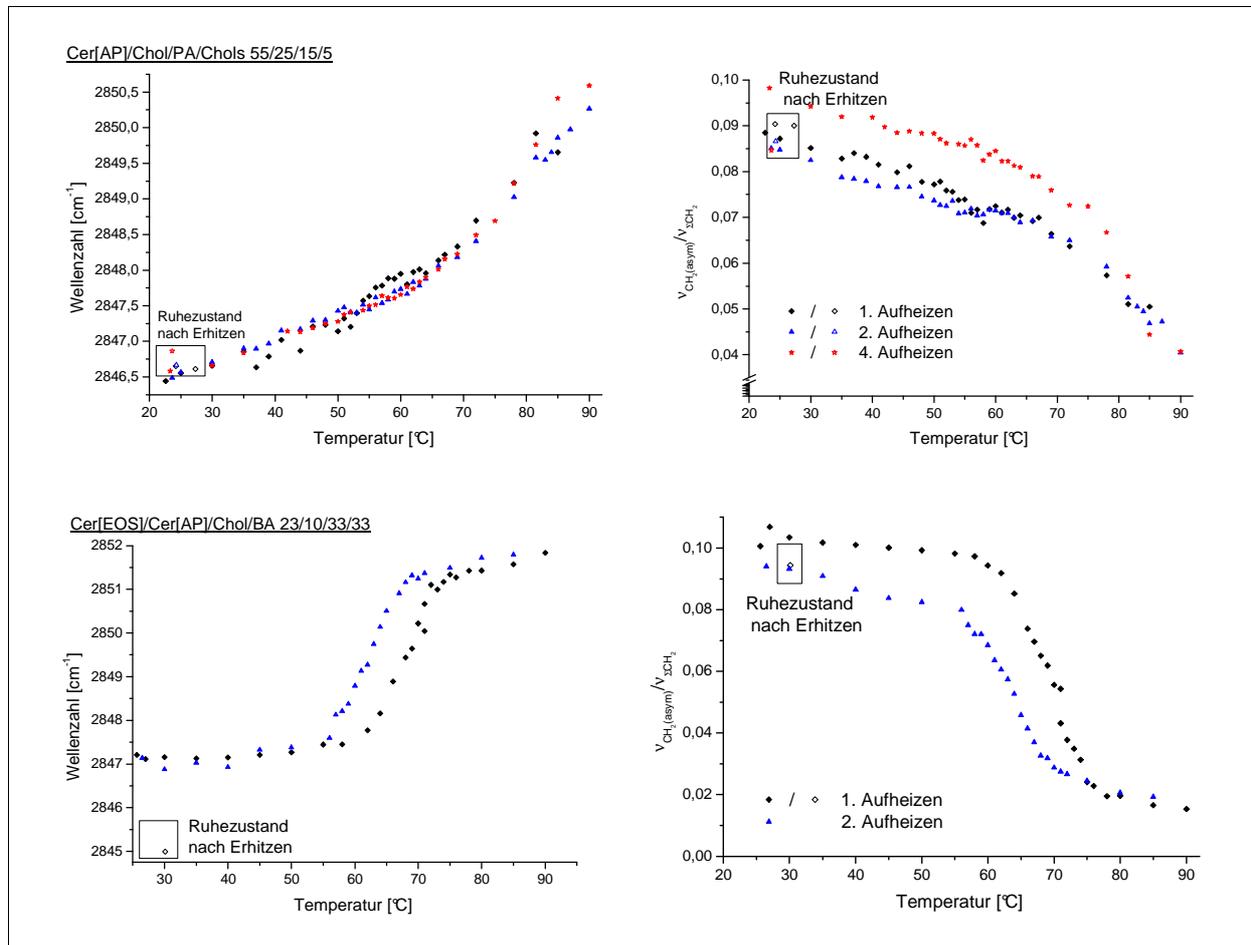


Abbildung 44: Veränderung von symmetrischer (links) und antisymmetrischer (rechts) CH_2 -Valenzschwingung beim mehrmaligen Erhitzen von Lipidmischungen; oben: Cer[AP]/Chol/PA/Chols, unten: Cer[EOS]/[AP]/Chol/BA, schwarz: 1. Aufheizen, blau: 2. Aufheizen, rot: 4. Aufheizen; die Ruhezustände nach dem jeweiligen Temperaturzyklus sind durch offene Symbole dargestellt.

Die Intensität der $V_{\text{CH}_2(\text{asym})}$, die mit dem Auftreten von *trans*-Konformeren korreliert, wurde beim Erwärmen der Probe geringer. Daraus ergibt sich die Zunahme von *gauche*-Konformeren und in der Folge die Abnahme des Ordnungszustands. Beim Vergleich beider Modellsysteme fiel auf, dass die Basismischung bei 90°C des ersten und zweiten Aufheizens noch weiteren Veränderungen unterlag, wohingegen bei der Cer[EOS]-Mischung ab 85°C keine Änderungen der Lipidkettenkonformation zu verzeichnen waren. Der maximal-ungeordnete Zustand war erreicht (Plateau der $V_{\text{CH}_2(\text{sym})}$ bei 2852 cm^{-1}). Erst beim vierten Aufheizen der Basismischung deutete sich ein Plateau bei dieser Temperatur an, wobei die Gleichgewichtsposition unter der der Cer[EOS]-Mischung lag. Das System blieb also weiterhin „geordneter“. Bei der Cer[EOS]-Mischung waren die Strukturumwandlungen des wiederholten Aufheizens zu geringeren Temperaturen verschoben, wohingegen die Basismischung bei gleichen oder höheren

Temperaturen Übergänge zeigte. Durch Beobachtungen während des *Annealing*-Zyklus werden diese Ergebnisse gestützt. Membranen mit der Basismischung wurden oftmals einem weiteren *Annealing*-Zyklus unterzogen, um ihre Homogenität zu verbessern. Die bereits beschriebenen Mischungsschwierigkeiten der Basismischung kamen ebenfalls in den RAMAN-Untersuchungen zum Ausdruck, wo sie in langsamen und geringen Veränderungen der CH_2 -Schwingungsmodi resultierten, die zum Teil zu höheren Temperaturen verschoben waren.

Ebenso relevant waren Bandenposition und Bandenverhältnis nach dem Wiedererreichen der Raumtemperatur und nach 12-stündiger Lagerung bei selbiger, da dies den Zustand der Lipidmischung auf dem Filter nach abgeschlossener Präparation beschreibt. Die Basismischung erreichte nach dem ersten Aufheizen ihren Ruhezustand wieder, wohingegen die Cer[EOS]-Mischung diesen nicht sofort wiedererlangte, sondern zunächst einen hochgeordneteren Zustand ($\nu_{\text{CH}_2(\text{sym})} = 2845 \text{ cm}^{-1}$) zeigte.

2.1.3 Beschichtung verschiedener Trägermaterialien

Polycarbonatfilter Avestin®

Für die Beschichtung mit SC-Lipiden (Basismischung) wurden zunächst Avestin®-Filter mit 200 nm Porendurchmesser ausgewählt. Die Porenweite war nicht so gering, dass Benetzungsprobleme beim Auftragen der Lipidmischung auftraten und nicht so groß, dass Schwierigkeiten beim Überspannen und/oder Ausfüllen der Poren entstanden, die zu Inhomogenitäten der Modellmembran führten. Avestin®-Filter anderer Porendurchmesser wurden ebenfalls beschichtet. Die resultierenden Beschichtungen waren jedoch weniger homogen.

In einem weiteren Experiment wurde der Einfluss der Lipidmenge auf Membrandicke und -homogenität untersucht. Dafür wurden unterschiedliche Volumina der Lipidmischung aufgetragen und entsprechend getrocknet. Lipidmengen unter 200 μl führten zu keiner vollständigen Bedeckung der Filterfläche. Tabelle 28 zeigt die ermittelten Schichtdicken von Membranzentrum h_i und Membranrand h_a nach dem *Annealing*.

Tabelle 28: Membrandicke beschichteter Avestin®-Filter (Porendurchmesser 200 nm, Basismischung Cer[AP]/Chol/PA/Chols 55/25/15/5); es wurden je 10 Messpunkte in der Membranzentrum (h_i) und am Membranrand (h_a) bestimmt.

<i>Auftragungsvolumen</i>	<i>Membrananzahl</i>	h_i	h_a
$[\mu\text{l}]$		$[\mu\text{m}]$	$[\mu\text{m}]$
200	13	$13,2 \pm 1,1$	$32,0 \pm 8,0$
400	4	$12,6 \pm 0,5$	$56,0 \pm 9,9$
600	1	$16,2 \pm 2,4$	$57,0 \pm 5,0$
800	3	$15,5 \pm 1,1$	105 ± 33

Es bestand kein Unterschied in der mittleren Schichtdicke im Filterzentrum zwischen 200 und 400 μl Auftragsvolumen. Eine weitere Verdopplung auf 800 μl resultierte in der Zunahme der Schichtdicke, sowohl in Membranmitte als auch am Membranrand, inklusive Inhomogenitätszunahme wie die starke Streuung der Messwerte zeigte. Unrepräsentativ war die Membran mit 600 μl Lipidvolumen. Die Membrandicke entsprach der der 800 μl Beschichtung bei geringerer Randschichtdicke h_a .

Die Schichtdicke h_i in dem für die Messung relevanten Mittelbereich der Membran nahm mit steigendem Auftragsvolumen der Lipide nicht kontinuierlich, sondern sprunghaft zu. Demgegenüber wuchs die Membrandicke des Randes mit zunehmender Lipidmenge. Die Lipide ordneten sich zunächst in maximaler Packungsdichte an, überflüssige Lipide lagerten sich am Gießzellenrand ab, wobei es dort verstärkt zu Kristallisationseffekten kam. Kristalle waren visuell erkennbar und führten zur drastischen Erhöhung der Schichtdicke h_a und deren Varianz. In Abbildung 45 sind verschiedene beschichtete Filter abgebildet. Der weiße Rand der Filter wurde durch die Einfassung der Teflonteflonzelle nicht mit Lipidmischung bedeckt. Dem schloß sich ein Bereich an, der durch Lipidtröpfchen und -kristalle gekennzeichnet war. Für Diffusionsuntersuchungen wurde nur der mittlere, opake Membranbereich verwendet.

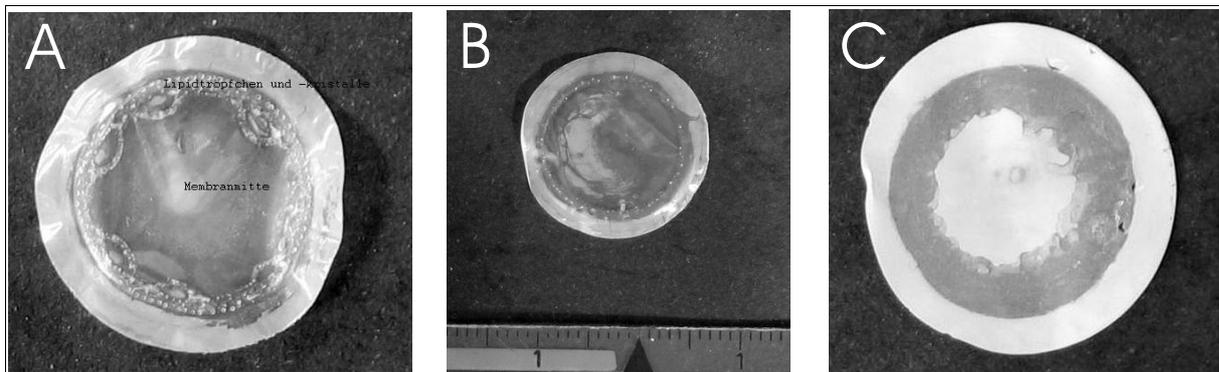


Abbildung 45: Verschiedene, mit Basismischung beschichtete, Avestin®-Filter (A-C), gut zu erkennen sind die opake Membranmitte (A und B) sowie Lipidtröpfchen und -kristalle um diesen mittleren Bereich.

Neben dem Porendurchmesser beeinflusste auch das Auftragsvolumen die Membranqualität. Ein gleichmäßiger Lipidfilm mit geringer Randinhomogenität wurde bei Avestin®-Filtern mit 200 nm Porendurchmesser und 200 μl Lipidmischung erhalten.

Polyethylenterephthalat-Zellkultureinsätze ThinCert™

Die Cer[EOS]-haltige Lipidmischung konnte nicht auf Avestin®-Filter in der Teflonhalterung präpariert werden, weil die erforderliche Präparationstemperatur aufgrund der schlechten thermischen Leitfähigkeit in der Zelle nicht erreicht wurde. Daher wurden Greiner Zellkultureinsätze ThinCert™ als Träger verwendet, deren Schichtdicke 25 μm betrug und deren Kapillarporen einen Durchmesser von 400 nm hatten.

Um den Einfluss der aufgetragenen Lipidmenge zu untersuchen, wurden verschiedene ThinCert™ mit 500 µl, 1000 µl und 1500 µl der Basismischung sowie der Cer[EOS]-Mischung beschichtet. Die größere Oberfläche und bessere Luftzirkulation im Vergleich mit der Teflonzelle begünstigten eine gleichmäßige Lösemittel- und Lipidverdunstung ebenso wie die einheitlichere Wärmeverteilung, so dass weniger Randerscheinungen in Form von Lipidtröpfchen oder Kristallen auftraten. Diese konnten weiter reduziert werden, indem der ThinCert™ gleich nach Evaporation des Lösemittelgemischs auf den Kopf gestellt und in dieser Position weitere 15 min bei der Präparationstemperatur im Trockenschrank belassen wurde. Abbildung 46 zeigt die Schichtdicken der mit unterschiedlichen Lipidmischungen und -volumina beschichteten ThinCert™ drei Tage und zehn Tage nach der Präparation.

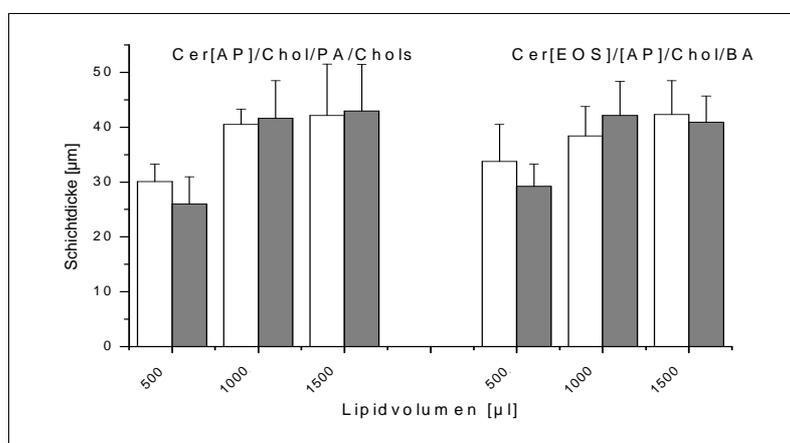


Abbildung 46: Lipidvolumen und Schichtdicke beschichteter ThinCert™ drei Tage (weiß) und zehn Tage (grau) nach dem *Annealing*-Prozess; links: Cer[AP]/Chol/PA/Chols, rechts: Cer[EOS]/[AP]/Chol/BA; Lipidvolumina: 500 µl (n = 3), 1000 µl (n = 1), 1500 µl (n = 5); die Schichtdicke der einzelnen Membranen wurde an jeweils 15 Messpunkten bestimmt.

Alle Membranen veränderten sich während der Lagerzeit weder optisch noch hinsichtlich der Schichtdicken (ANOVA-Test nicht signifikant). Bei der Basismischung nahm die Membrandicke bei Verdopplung des Lipidvolumens von 500 µl auf 1000 µl deutlich zu, wohingegen eine weitere Erhöhung auf 1500 µl zu keiner weiteren Zunahme führt. Die Lipide ordneten sich dichter an, so dass die Packungsdichte erhöht wurde und die Gesamtdicke unverändert blieb. Die Schichtdicken der Membranen mit der Cer[EOS]-Mischung waren nahezu unabhängig vom Applikationsvolumen der Lipidmischung. Zwischen 1000 µl und 1500 µl Lipidmischung bestand kein Unterschied, mit 500 µl war die Schichtdicke tendenziell etwas geringer (ANOVA-Test nicht signifikant).

Im direkten Vergleich waren die Cer[EOS]-haltigen Membranen, vor allem bei Betrachtung der 500 µl Auftragsmenge, etwas dicker als jene mit der Basismischung. Dies deckte sich mit den Ergebnissen von KESSNER *et al.*, die für die Basismischung einen Wiederholabstand von $45,6 \pm 0,04 \text{ \AA}$ bestimmt haben [115]. SCHRÖTER *et al.* ermittelten für die Cer[EOS]-Mischung einen Wiederholabstand von $48,3 \pm 0,1 \text{ \AA}$ [117].

Ein Applikationsvolumen von 1500 μl Lipidmischung wurde für diesen Träger als optimal angesehen.

2.1.4 Diffusion von Harnstoff durch Lipidmodellmembranen

Avestin[®]-Filter - Cer[AP]/Chol/PA/Chols

Abbildung 47 zeigt die Diffusion von Harnstoff durch beschichtete Avestin[®]-Filter mit einem Porendurchmesser 200 nm und einem Lipidauftrag von 200 μl . Die Diffusionsgeschwindigkeit war erwartungsgemäß abhängig von den Schichtdicken der Membranen. Die t_{80} -Werte veranschaulichten diese Abhängigkeit: t_{80} der unbeschichteten Filter betrug ca. 15 min, mit zunehmender Dicke der Beschichtung nahm dieser Wert auf mehrere Stunden zu. Der Fit der Daten (Microsoft Excel 2002) ergab: $y = 12^{-13} x^{11,774}$ mit $R^2 = 0,9932$, woraus eine gewisse Analogie mit dem 2. FICKschen Diffusionsgesetz zu erkennen war.

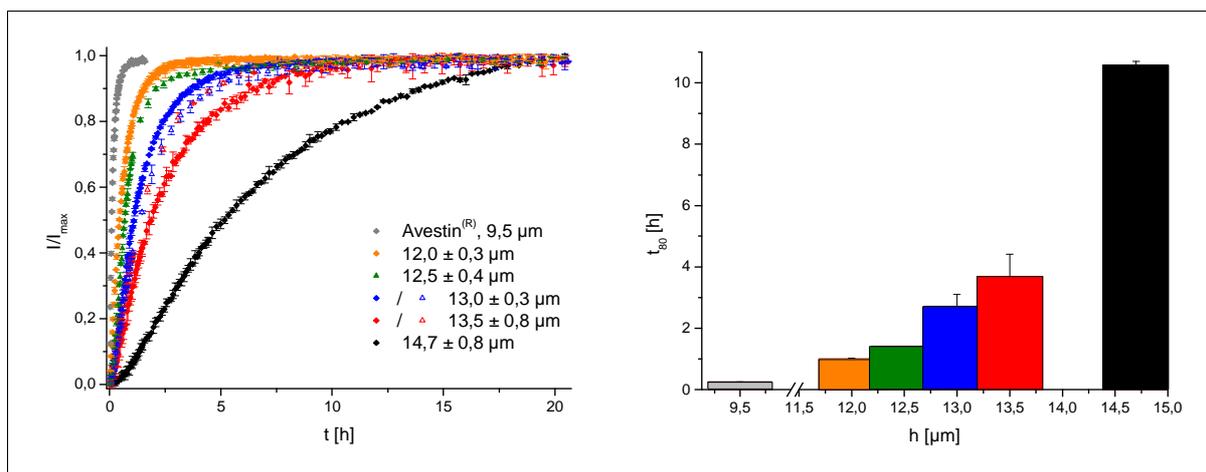


Abbildung 47: Diffusion von Harnstoff in wässriger Lösung durch lipidbeschichtete Avestin[®]-Filter unterschiedlicher Schichtdicke ($n = 2$) im Vergleich zum unbeschichteten Avestin[®]-Filter ($n = 6$); links: normierte Diffusionskurven ($I_{\max} \equiv 1$), rechts: graphische Darstellung der t_{80} -Werte.

ThinCertTM - Cer[AP]/Chol/PA/Chols und Cer[EOS]/[AP]/BA/Chol

Die Größe des Zellkultureinsatzes legte einen Wechsel der Diffusionszelle nahe. Bei Verwendung der kleineren Teflonzelle konnten, im Gegensatz zur Metallzelle, in die jeweils ein Avestin[®]-Filter genau eingespannt wurde, aus einem beschichteten ThinCertTM zwei oder auch drei Membranen gestanz werden. Die Kalibrierung der Harnstoffkonzentrationen im Akzeptor ermöglichte es, auch Messungen, die nicht bis zum Erreichen eines Gleichgewichtszustands durchgeführt wurden, zu fitten und mit Hilfe dieser Daten die entsprechenden Parameter zu bestimmen. In Abbildung 48 sind beispielhaft Diffusionskurven, ihre Fits sowie die normierten Daten gegenübergestellt.

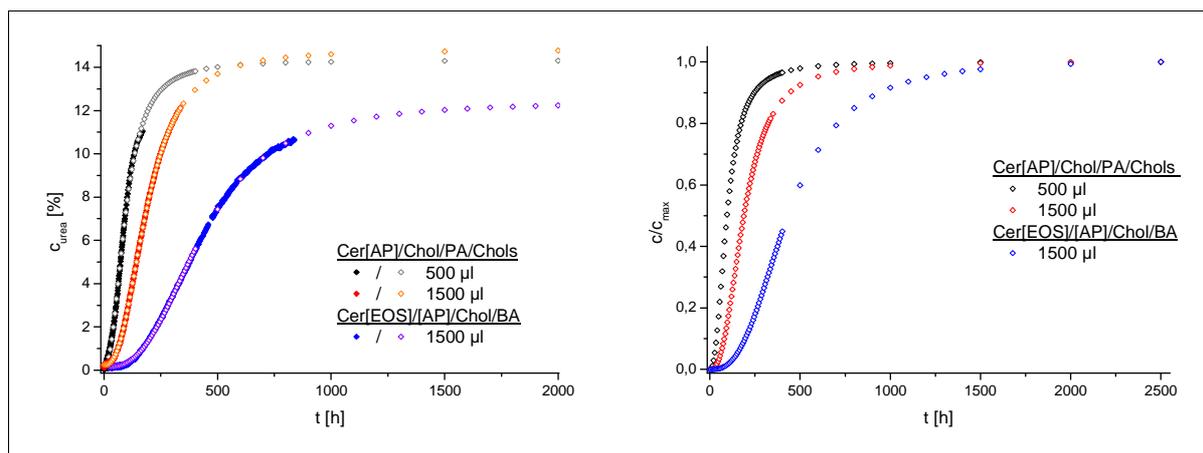


Abbildung 48: Diffusion von Harnstoff durch verschieden beschichtete ThinCert™ (Cer[AP]/Chol/PA/Chols (schwarz/rot 500 μl /1500 μl), Cer[EOS]/[AP]/Chol/BA (blau, 1500 μl); links: Konzentration-Zeit-Diagramm, rechts: normierte Darstellung mit $c_{\text{max}} = c_{\text{donor}} \equiv 1$; die Messwerte werden durch geschlossene Symbole, die Daten des logistischen Kurvenfits durch offene Symbole dargestellt.

Die Parameter der Messungen sind in Tabelle 29 gegenübergestellt. Harnstoff diffundierte mit zunehmender Membrandicke langsamer durch die Membranen mit Basismischung unterschiedlicher Volumina; MDT und t_{80} verdoppelten sich nahezu bei Erhöhung des aufgetragenen Lipidvolumens von 500 μl auf 1500 μl . Im Vergleich mit der Basismischung nahm die Harnstoffdiffusion bei der Beschichtung mit der Cer[EOS]-Mischung ab. Die Erhöhung der MDT- und t_{80} -Werte und die Abnahme der AUC verdeutlichten dies. Cer [EOS] wurde bereits als essentiell für die Barriereigenschaften des SC beschrieben. Die abnehmende Durchlässigkeit für Harnstoff deckte sich mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen, die ebenfalls für Cer[EOS]-haltige Membranen verlangsamte Diffusionen dokumentierten [131].

Tabelle 29: Parameter der Diffusion von Harnstoff durch verschiedene künstliche Lipidmembranen, $t = 2500$ h (beschichteter ThinCert™) oder $t = 680$ min (ThinCert™), $n = 2$.

Membran	h [μm]	AUC [% b^{-1}]	MDT [b^{-1}]	t_{80} [h]
Basis – 500 μl	$26,4 \pm 1,4$	2377 ± 10	123 ± 10	162 ± 14
Basis – 1500 μl	$34,0 \pm 5,6$	2280 ± 31	220 ± 31	2945 ± 40
EOS – 1500 μl	$44,7 \pm 2,2$	1995 ± 22	505 ± 22	665 ± 63
ThinCert™	$25,0 \pm 0,0$	$523 \pm 7,50$ % min^{-1}	$158 \pm 7,9$ min^{-1}	257 ± 11 min

Mit Hilfe des logistischen Kurvenfits und der daraus berechneten Verzögerungszeit t_{lag} sowie der Schichtdicke der Membran h konnten die Diffusionskoeffizienten für Harnstoff nach Gl. 6

$$D = \frac{h^2}{6t_{\text{lag}}} \quad \text{Gl. 6 [48]}$$

geschätzt werden. Für die Cer[EOS]-Mischung ergaben sich $5,6 \pm 1,2 \cdot 10^{-10} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, für die Basismischung $0,62 \pm 0,53 \cdot 10^{-10} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. HARTMANN hatte bei vollhydratisierten humanen SC-Proben Diffusionskoeffizienten im Bereich von $0,6 \cdot 10^{-10} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ bis $6,0 \cdot 10^{-10} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ermittelt [55].

SC-Lipidmischungen konnten unter geeigneten Bedingungen auf Avestin[®]-Filter oder ThinCert[™]-Zellkultureinsätze aufgetragen werden.

Entscheidend für die Ausbildung homogener Membranen waren:

1. die Präparationstemperatur, die durch den ersten exothermen Übergang des ersten Aufheizens der Mischung - zumeist der Schmelzpunkt der enthaltenen Fettsäure - determiniert wurde und
2. eine wasserdampfgesättigte Atmosphäre, die die hydrophilen Kopfgruppen ausreichend hydratisierte und damit die Anordnung in multilamellaren Schichten begünstigte.

Je nach Lipidzusammensetzung wurde die Harnstoffdiffusion unterschiedlich stark gehindert. Cer[EOS]/[AP]/BA/Chol-Mischungen setzten die Diffusion stärker herab als Cer[AP]/Chol/PA/Chol-haltige Membranen. Erstere Membranen wiesen zudem eine größere Schichtdicke und bessere Reproduzierbarkeit auf als Membranen mit der Basismischung.

Ein Nachteil der Lipidmodellmembranen ist ihre Eigenschaft, sich in sehr vielen Komponenten flüssiger oder halbfester Vehikel zu lösen. Dies schränkte bislang die Verwendung der Lipidmembranen stark ein. Mögliche Vehikel sollten auf wässriger Basis aufgebaut sein (z.B. Hydrogele) und keine Emulgatoren oder Komponenten wie PrG enthalten, da diese mit der Lipidschicht interagieren. Auch die Akzeptorauswahl ist aus diesen Gründen eingeschränkt. Zudem sollte beim Akzeptor beachtet werden, dass dieser Wasser enthält, um den Hydratisierungszustand der Lipidkopfgruppen zu erhalten.

2.2 Etablierung boviner Hufmembranen als Barriere für ATR-Diffusionsstudien an therapeutischen Nagellacken

Arzneistoffbeladene Aerogele stellen den jeweiligen Arzneistoff in einer thermodynamisch günstigen Form als stabile übersättigte Lösungen zu Verfügung. Therapeutische Nagellacke werden als innovative *drug-delivery*-Systeme beschrieben, in denen der jeweilige Arzneistoff nach dem Auftragen des Lackes auf die Nagelplatte und dem Verdunsten des Lösemittels in der Polymermatrix ebenfalls in maximaler thermodynamischer Aktivität vorliegt. Auch Übersättigungsphänomene werden vielfach diskutiert [67]. Daher war es naheliegend, antimykotische Nagellacke und Cremezubereitungen hinsichtlich ihrer Diffusionseigenschaften zu vergleichen, zumal erste Erfahrungen mit der FTIR-ATR-Diffusionszelle unter Verwendung boviner Hufmembranen in der Arbeitsgruppe vorlagen [55]. Amorolfin-HCl und Ciclopirox als gängigste Arzneistoffe der topischen antimykotischen Therapie wurden in Form der Fertigarzneimittel Loceryl[®] (Amorolfin-HCl) und Batrafen[®] (Ciclopirox) untersucht.

Zunächst sollen einige grundlegende Probleme betrachtet und Lösungsvorschläge präsentiert werden:

- Nägel und bovine Hufmembran weisen elektrische Ladungsschwerpunkte auf und reagieren pH-empfindlich. Die verringerte Permeationsrate geladener Moleküle wird daher in der Literatur verschiedentlich beschrieben. Als mögliche Einflussfaktoren werden zunehmender Molekülradius, Ionenstärke und elektrostatische Repulsion/DONNAN-Effekt kontrovers diskutiert [68, 82, 86]. Die Verwendung von destilliertem Wasser als Akzeptor in der Diffusionszelle ist daher kritisch, die Auswahl eines geeigneten Puffersystems essentiell. Eine weitere Notwendigkeit des Puffersystems ergibt sich aus den verwendeten Arzneistoffen. So weist Ciclopirox(-Olamine) in wässriger Lösung einen stark basischen pH-Wert auf, der den ZnSe-ATR-Kristall zerstören würde. Auch die Eigenschaften der Membran würden durch den Arzneistoff verändert werden. Allein die Keratinschwellung selbst ist pH-abhängig (acid > neutral > basisch [69]). *In vivo* sind solche Effekte nicht zu befürchten, da bereits physiologisch ausgleichende Puffersysteme vorliegen. Neben der Pufferkapazität und dem Pufferbereich spielt die Zusammensetzung eine entscheidende Rolle, da es zu vielfältigen Bandenüberlagerungen von Lackkomponenten, Pufferbestandteilen und dem Arzneistoff im IR-Spektrum kommen kann. Der Puffer sollte daher im Bereich von pH 6 - 7 liegen und möglichst einfach und wenig IR-aktiv zusammengesetzt sein. Neben Citratpuffern wurden SÖRENSEN-Puffer eingesetzt.
- Die Polymere der antimykotischen Nagellacke quellen beim Kontakt mit Wasser, Loceryl® mehr als Batrafen® [205]. Damit änderte sich der Donator während der Messung entscheidend. Außerdem entzogen die Lacke der hydratisierten Membran Wasser und entwickelten eine Dochtwirkung, die letztendlich zum Auflösen des Lackes und Austrocknen des Akzeptors führte. Diese Effekte lassen sich durch Erhöhung der Viskosität des Akzeptors sowie der Affinität des Wassers zum Akzeptor durch Zusatz von Hydrogelbildnern oder Quellstoffen reduzieren. An diesen Zusatz werden verschiedene Anforderungen gestellt: Er soll gut das Wasser binden, die Diffusion der Arzneistoffe nicht durch zusätzliche Interaktionen beeinflussen und möglichst IR-inaktiv sein. Verschiedene organische und anorganische Hydrogelbildner wurden bezüglich ihrer Wasserbindungskapazität und ihrer IR-Eigenschaften in separaten Experimenten untersucht. Dafür wurde eine definierte Hydrogelmenge auf einen ATR-Kristall aufgetragen. Anhand der erhaltenen ATR-Spektren konnte zeitabhängig die Abnahme der Wasserbanden und die Zunahme der Banden des Gelbildners verfolgt werden. Die Ergebnisse der Experimente werden im Kapitel D 2.2.1 dargestellt. Aerosil® erwies sich als geeigneter viskositätserhöhender Zusatz.

- Die ATR-Diffusionszelle aus Metall begünstigte die Dehydratation der Hufmembran. Die Membran hatte an den Rändern Kontakt zur Umgebung und wurde durch den Dichtungsring gehalten und gequetscht. So entstand eine Sogwirkung, die das Wasser verdunsten ließ. Mit der Entwicklung der in sich geschlossenen Teflonzelle konnten diese Effekte reduziert werden [Abbildung 14].
- Auch im Donorkompartiment sollte eine wasserdampfgesättigte Atmosphäre herrschen, da die bovine Hufmembran stark zum Austrocknen neigt [Tabelle 3: TOWL]. Dies konnte durch Einbringen eines wassergetränkten Zellstoffs in die Donatorabdeckung erreicht werden. Andernfalls konnte ein Austrocknen der Hufmembran und in der Folge des Akzeptors auch durch Verwendung der Teflonzelle nicht vollständig unterbunden werden. Es fand nur zeitverzögert im Vergleich mit der Metallzelle statt, da der laterale Wasserverlust eingeschränkt war.
- Die IR-Aktivität der verwendeten Arzneistoffe, vor allem von Amorolfin-HCl, ist in wässriger Lösung sehr gering. Eine Kalibrierung war nicht möglich, so dass alle Auswertungen qualitativ erfolgten.
- Bei Verwendung der Lacke bzw. der Cremes traten zeitabhängig Solubilisationseffekte im Akzeptor auf. Bandenüberlagerungen aufgrund der Komplexität der Vehikel, die ohne Referenzmessungen mit arzneistofffreien Grundlagen schwer einzuschätzen waren, erschwerten zudem die Auswertung und können ggf. die Interpretation der Diffusionsergebnisse verfälschen. Daher wurden die ausgewählten und dargestellten Banden mit Hilfe der Akzeptorspektren und ihrer Differenzspektren zu verschiedenen Zeiten des Experiments, den Fertigarzneimittelspektren und den Arzneistoffspektren zugeordnet.
- An die Auftragung und Trocknung der Lacke, d.h. an die Präparation der Experimente mit Lacken, wurden besondere Anforderungen gestellt. Die enthaltenen Lösemittel führten bei deren Permeation zu Bandenüberlagerungen im Akzeptor und wirkten vermittelnd auf die Arzneistofflöslichkeit. Verschiedene Präparationstechniken wurden daher getestet. Zum einen wurde der Lack in einer externen Teflongießzelle, wie sie auch bei der Präparation der SC-Lipidmodellmembranen Verwendung fand, auf die Hufmembran aufgetragen und dann 30 min getrocknet. Dies hatte zur Folge, dass die Hufmembran währenddessen dehydratisierte. Zum anderen wurde der Lack auf die vollständig in der Diffusionszelle präparierte Membran aufgetragen und nach 24 h das Akzeptormediums erneuert. Hierbei blieb das Trocknen des Lacks aus. Auch ist zu bedenken, dass ein Teil des Arzneistoffs bereits mit dem Lösemittelgemisch in den Akzeptor diffundierte und daher zur Ausbildung des eigentlichen *drug-delivery*-Systems nicht mehr zur Verfügung stand. Die Ergebnisse beider Präparationstechniken werden in

Kapitel D 2.2 für die unterschiedlichen Fertigarzneimittel dargestellt. Beide Methoden wiesen in der praktischen Durchführung Grenzen auf, so dass keiner der Vorzug gegeben werden konnte.

- Bovine Hufmembranen und natives Nagelmaterial sind schwer zugänglich. Auch die Membrandicke sollte mit Bedacht gewählt werden. Zu dicke Membranen ($>100\ \mu\text{m}$) ließen sich schlecht in die Diffusionszelle einspannen, wiesen lange Verzögerungszeiten auf und durch die verlängerte Messzeit erhöhten sich die Fehlerquellen, z.B. Quellung des Lackes, Akzeptorveränderungen und Austrocknen des Systems. Wurden die Membranen zu dünn gewählt, konnten Defekte nicht ausgeschlossen werden, die die Diffusion ebenso beeinflussten. Unstrittig ist, dass Schnittrichtung und Probenvorbehandlung das Ergebnis beeinflussten. Da die Schnitte im lyophilisiertem Zustand gelagert wurden, mußte vor dem Experimentbeginn eine ausreichende Rehydratation gewährleistet werden.
- Ganz allgemein ließ sich feststellen, dass sich die Messreihen durch viele Fehlerquellen und eine sehr geringe Reproduzierbarkeit auszeichneten ($n = 2$, bei mehr als 4 Experimenten). Alle Ergebnisse sind vor diesem Hintergrund zu bewerten. Infolgedessen wurde auch darauf verzichtet, Diffusionskoeffizienten für Amorolfen-HCl und Ciclopirox aus den Daten zu ermitteln und entsprechende arzneistoffbeladene Aerogele in die Untersuchungen einzubeziehen.

2.2.1 Trocknung von Hydrogelen

Durch Viskositätserhöhung kann das Austrocknen des Akzeptors durch Wasserrückdiffusion in die Hufmembran und den Donator erschwert werden. Daher wurde das Trocknungsverhalten verschiedener Hydrogelbildner (Aerosil[®], Cellulosederivate) untersucht, um einen geeigneten Akzeptor für die Diffusionsexperimente zu finden, der sich durch eine geringe Trocknungstendenz auszeichnet. Die ATR-Spektren zeigten sowohl die Zunahme der gelbildnerspezifischen Banden als auch die Abnahme der Wasserbanden. Es kam zur Filmbildung auf dem ATR-Kristall, in deren Folge durch weiteres Verdunsten des Wassers der Kontaktverlust zwischen Gelbildnerfilm und ATR-Kristall eintrat. Charakteristisch war neben der sigmoidalen Abnahme der Wasserbandenintensität die Zunahme der Gelbildnerbande, die nach Durchlaufen eines Maximums durch den Kontaktverlust mit dem ATR-Kristall wieder an Intensität verlor. Dieser Punkt ($I_{\text{max},t}$) diente als vergleichender Parameter für die verschiedenen Hydrogele. In Abbildung 49 ist dies anhand einiger Spektren des Systems von 5% Aerosil[®] in SÖRENSEN-Puffer pH 7 und der zeitabhängigen Veränderung der Bandenintensitäten nach Normierung auf die maximale Intensität veranschaulicht.

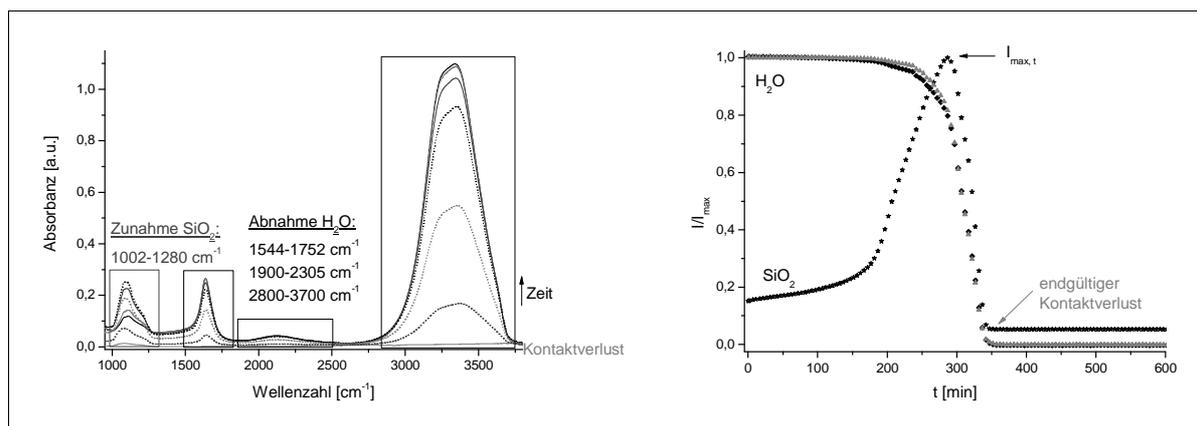


Abbildung 49: Trocknung eines Hydrogels aus 5% Aerosil® in Puffer pH 7, links: FTIR-ATR-Spektren zu verschiedenen Zeiten des Experiments, rechts: Abnahme der Wasserbanden und Zunahme der SiO₂-Bande sowie deren Kontaktverlust während der Trocknung.

In Tabelle 30 sind die Zeitpunkte des Auftretens des Maximums der Gelbildnerbande $I_{\max, t}$ für verschiedene Gelbildner aufgeführt. Aerosil®-Gele zeichneten sich durch ein spätes Maximum, d.h. ein gutes Wasserbindevermögen aus. Gele aus 7% Aerosil® in SÖRENSEN-Puffer waren sehr hochviskos, so dass sie in weitere Betrachtungen nicht einbezogen wurden.

Tabelle 30: Trocknung von Hydrogelen: Gelbildner, Gelbildnerkonzentration und $I_{\max, t}$; die auswerteten Gelbildnerbanden sind angegeben, $n = 1$.

<i>GELBILDNER/MEDIUM</i> <i>IR-Banden</i>	<i>GELBILDNER-KONZENTRATION</i> <i>[%, m/V]</i>	$I_{\max, t}$ <i>[min]</i>
Carboxymethylcellulose-Na/H₂O 1290 - 1350 cm ⁻¹ , 1395 - 1443 cm ⁻¹	2 5	315 270
Methylcellulose 400/ H₂O 970 - 1180 cm ⁻¹ , 1270 - 1500 cm ⁻¹	2* 3	235 235
Aerosil®/ H₂O 1002 - 1280 cm ⁻¹	5 7	290 250
Aerosil®/SÖRENSEN-Puffer pH 7 1002 - 1280 cm ⁻¹	3 5	570 300

*sehr weicher Film, kaum Kontaktverlust

Der anionische Gelbildner Carboxymethylcellulose-Na wies längere Trocknungszeiten auf als sein nicht-ionisches Komplementär Methylcellulose. Die Wechselwirkungen zwischen den Wasserdipolen und den Carboxylatgruppen mit ihren delokalisierten negativen Ladungsschwerpunkten waren intensiver als mit der polarisierten Ethergruppe der Methylcellulose.

Mit Polyacrylsäure ließen sich in Anwesenheit der Arzneistoffe Amorolfin-HCl und Ciclopiroxolamin keine Gele herstellen, da ionische Wechselwirkungen zwischen dem anionischen Gelbildner und den kationischen Arzneistoffen auftraten.

Die Wahl eines geeigneten Gelbildners erfolgte auch anhand des IR-Spektrums, welches ein Minimum an Banden aufweisen sollte. Der anorganische Gelbildner Aerosil® wies diese Vorteile auf. Trotz des sehr günstigen, hohen $I_{\max, t}$ -Werts von 3% Aerosil® in Puffer wurde das 5%-ige

Hydrogel ausgewählt, da bei geringerer Aerosil[®]-Konzentration Entmischungen auftraten und Aerosil[®] sedimentierte.

2.2.2 Diffusionsexperimente mit antimykotischen Zubereitungen

Diffusionsstudien durch Rinderhufmembranen wurden für verschiedene antimykotische Zubereitungen durchgeführt. Als Donatoren dienten unterschiedliche Arzneiformen - Creme oder Nagellack mit Amorolfin-HCl oder Ciclopirox(-Olamine) als Arzneistoff. Im Folgenden werden die Ergebnisse, nach Arzneistoffen geordnet, dargestellt und zusammenfassend bewertet.

2.2.2.1 Amorolfin-HCl – Loceryl[®]

Loceryl[®] Creme

Die Diffusion von Amorolfin-HCl aus Loceryl[®] Creme wurde auf Rinderhufmembranen aufgetragen. Als Akzeptormedium diente ein Citratpuffer pH 6, da bei Verwendung des Puffers pH 7 keine Arzneistoffbanden im Akzeptor detektiert werden konnten. Im Fall des Puffersystems pH 6 wurde die Bande 1430 - 1484 cm⁻¹ Amorolfin-HCl zugeordnet. Abbildung 50 zeigt exemplarische FTIR-ATR-Spektren des Akzeptors zu verschiedenen Zeiten, die entsprechenden Differenzspektren sowie verwendete Referenzspektren. Die ausgewerteten Amorolfin-Banden sind markiert und die entsprechende Auswertung ist dargestellt.

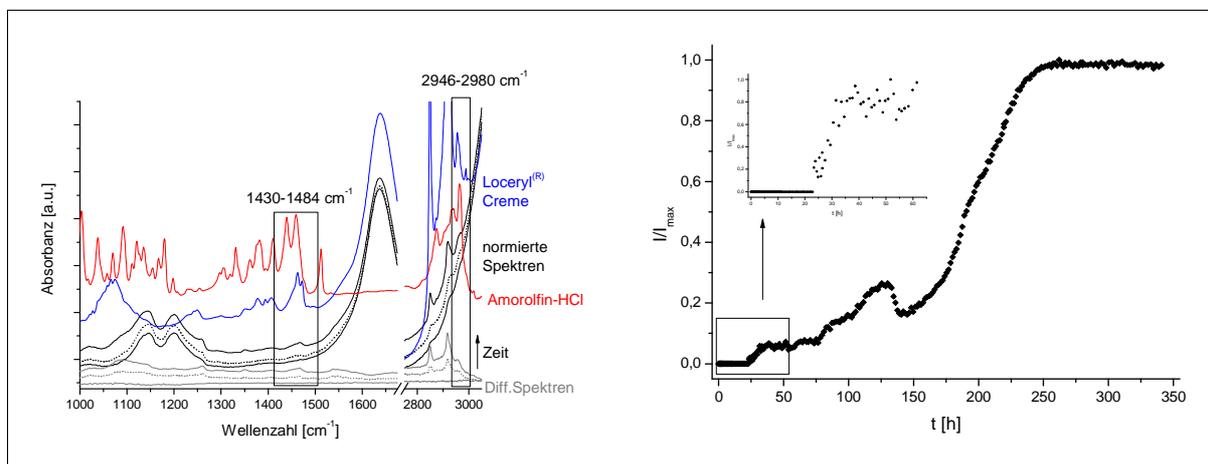


Abbildung 50: links: Akzeptorspektren, ausgewertete Differenzspektren und zugehörige Referenzspektren für ein Diffusionsexperiment mit Puffer pH 6 als Akzeptor und Loceryl[®] Creme als Donator. Die Schichtdicke der Rinderhufmembran betrug $99 \pm 42 \mu\text{m}$; rechts: Die integrierte Bande 1430 – 1484 cm⁻¹ wurde auf ihre Minimal- und Maximalintensität ($I_{\min} \equiv 0$, $I_{\max} \equiv 1$) normiert. Der Einsatz verdeutlicht die Bandenintensitätsänderung zu Beginn des Experiments.

Die Diffusion von Amorolfin-HCl zeigte einen stufenförmigen Verlauf. Aufgrund des komplexen Vehikels und der Diffusion verschiedener Vehikelbestandteile neben dem Arzneistoff änderte sich die Zusammensetzung des Akzeptormediums ständig, so dass die veränderten

Eigenschaften zu unterschiedlichen lösungsvermittelnden Einflüssen führten, die in verschiedenen Amorolfinalöslichkeiten resultierten und zum mehrphasigen Verlauf der Diffusion führten.

Loceryl® Nagellack

Bei den Diffusionsstudien mit Loceryl® Nagellack wurde das Puffersystem pH 7 als Akzeptor eingesetzt.

Zunächst erfolgte der Auftrag des Lacks extern in einer speziellen Halterung und nach Trocknen desselben wurde die Probe in die Probenhalterung eingebaut. Abbildung 51 zeigt FTIR-ATR-Spektren des Akzeptors, Differenzspektren und Referenzspektren des Lacks sowie die Integration der Bande 995 - 1013 cm^{-1} . Die Bande 1502 - 1531 cm^{-1} konnte ebenfalls Amorolfin-HCl zugeordnet werden. Der Verlauf der Intensitätszunahme in Abhängigkeit von der Diffusionszeit war äquivalent zur erstgenannten Bande und ist daher nicht dargestellt. Deutlich zu erkennen ist, dass die Experimente vor Erreichen eines Gleichgewichtszustands abgebrochen wurden. Daher sind die absoluten Bandenintensitäten dargestellt. Aufgrund einer fehlenden Kalibrierung und des nicht erreichten Gleichgewichtszustands wurde auf einen Kurvenfit verzichtet.

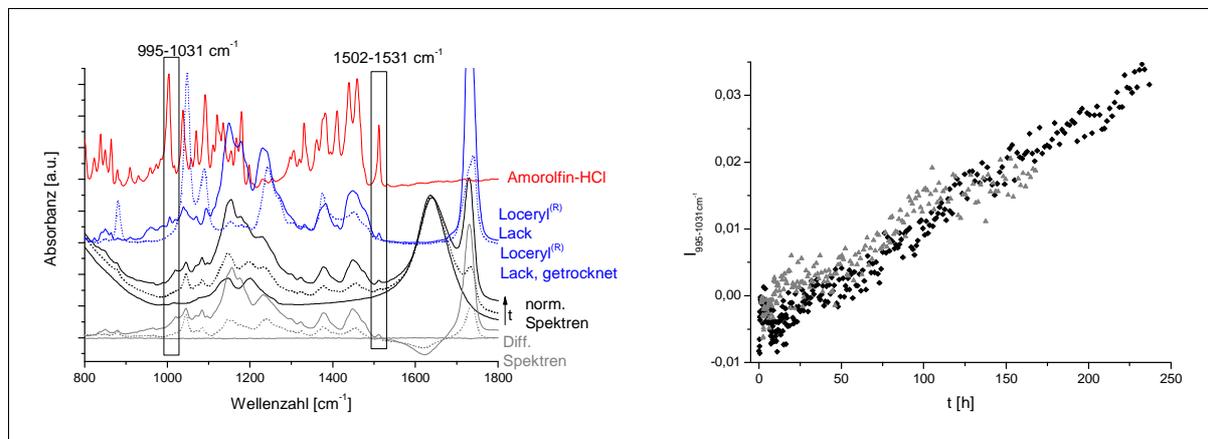


Abbildung 51: links: FTIR-ATR-Spektren des Akzeptors, Differenzspektren und Referenzspektren für ein Diffusionsexperiment von Amorolfin-HCl aus Loceryl® Nagellack nach externem Auftrag. Als Akzeptor diente SÖRENSEN-Puffer pH 7; rechts: Integration der Amorolfinbande 995 - 1031 cm^{-1} für zwei verschiedene Experimente; die Dicke der Rinderhufmembranen betrug $92 \pm 19 \mu\text{m}$.

In einer weiteren Experimentreihe wurde der Lack direkt in der Diffusionszelle auf die Hufmembran aufgetragen. Nach 24 h wurde das Akzeptormedium ausgetauscht. FTIR-ATR-Spektren und integrierte Banden sind in Abbildung 52 dargestellt.

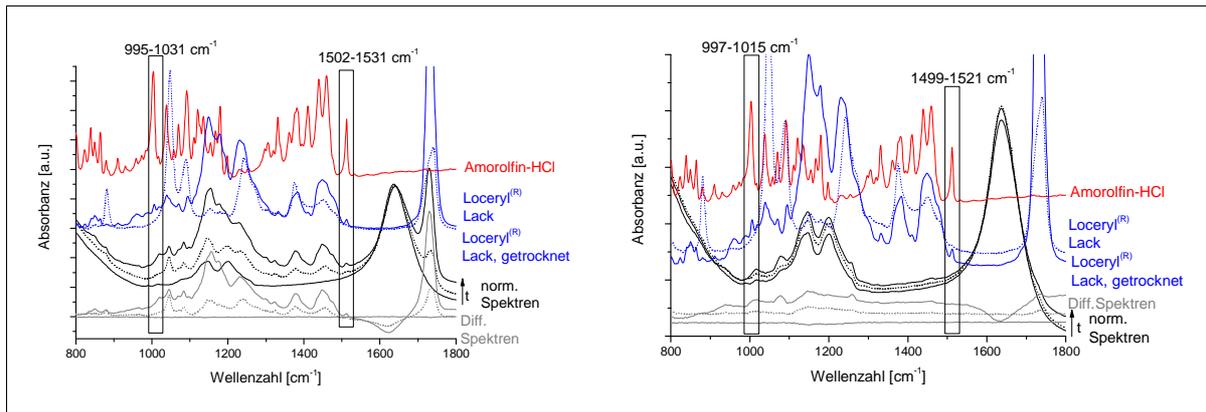


Abbildung 52: FTIR-ATR-Akzeptorspektren und Referenzspektren für ein Diffusionsexperiment von Amorolfine-HCl aus Loceryl® Nagellack nach direktem Auftrag in der Diffusionszelle. Akzeptor war SÖRENSEN-Puffer pH 7, Donator Loceryl® Nagellack, die Rinderhufmembran war $360 \pm 5 \mu\text{m}$ dick, links: Spektren direkt nach Auftrag des Lackes, rechts: Spektren nach Akzeptorerneuerung.

Vergleicht man die ATR-Spektren vor und nach Austausch des Akzeptors, so fällt auf, dass die Bande bei 1730 cm^{-1} (Carbonylvalenzschwingung eines Esters), die sowohl dem Lackpolymer als auch dem Ethylacetat zuzuordnen war, nur in den ersten 24 h auftrat. Nach Akzeptorerneuerung diente der - mehr oder weniger - getrocknete Lack als Donator und penetrationsfähige Lackbestandteile waren nicht mehr nachweisbar. In Experimenten mit externem Lackauftrag trat diese Bande ebenfalls auf (Abbildung 51). Die Amorolfine-HCl zugeordneten Banden waren zunächst von sehr geringer Intensität. Die absoluten Bandenflächen sind beispielhaft für die Bande $995 - 1031 \text{ cm}^{-1}$ in Abbildung 53 dargestellt. Der Einsatz zeigt den ersten Messungsteil direkt nach der Applikation des Lackes.

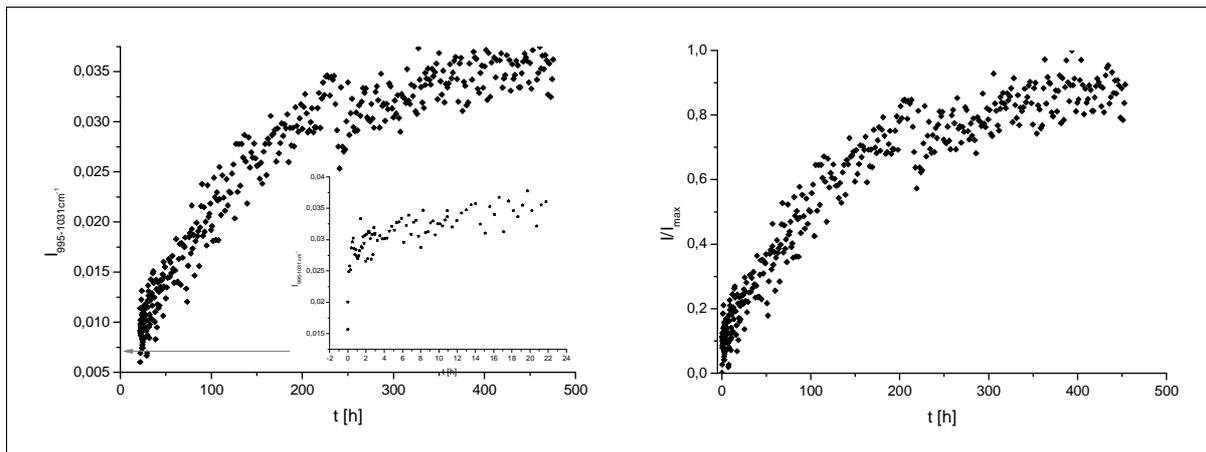


Abbildung 53: Diffusion von Amorolfine-HCl aus Loceryl® Nagellack nach direktem Auftrag in der Diffusionszelle, links: Intensitätsänderung der Amorolfinebande $995-1031 \text{ cm}^{-1}$, im Einsatz sind die ersten 24 h dargestellt; rechts: normierte Darstellung der Bandenintensität nach dem Akzeptoraustausch.

Da der Lack verschiedene organische Lösemittel enthielt, wurde erwartet, dass diese als Enhancer für Amorolfine-HCl dienten und die Diffusion deutlich zweiphasig verläuft. Die Experimente zeigten jedoch ein anderes Bild. Die entscheidende Amorolfine-Diffusion, angezeigt durch eine deutliche Zunahme der Amorolfinebande, fand nach Akzeptoraustausch und

Aushärten des Lackes statt. Das übersättigte Wirkstoffdepot war einflussreicher als die lösungsvermittelnden Wirkungen des Ethanol-Ethylacetat-Lösemittelgemischs.

2.2.2.2 *Ciclopirox (Olamin) – Batrafen®*

Die Batrafen®-Fertigarzneimittel (Batrafen® Creme und Nagel Batrafen®) wurden in Analogie zu den Loceryl®-Produkten untersucht. Hierbei ist zu beachten, dass die Creme Ciclopirox als Olamin enthält, wohingegen der Lack Ciclopirox als freie Säure enthält.

Batrafen® Creme

Diffusionsexperimente mit Batrafen® Creme wurden mit dem Puffersystem pH 7 durchgeführt. Bei Verwendung des Puffers pH 6 wurden keine Ciclopiroxbanden detektiert. Die Auswertung der Messungen erfolgte bei $1488 - 1535 \text{ cm}^{-1}$ und $1538 - 1575 \text{ cm}^{-1}$. In Abbildung 54 sind die ATR-Spektren des Akzeptors und die verwendeten Referenzspektren zur Bandenzuordnung dargestellt sowie die integrierten Ciclopiroxbanden.

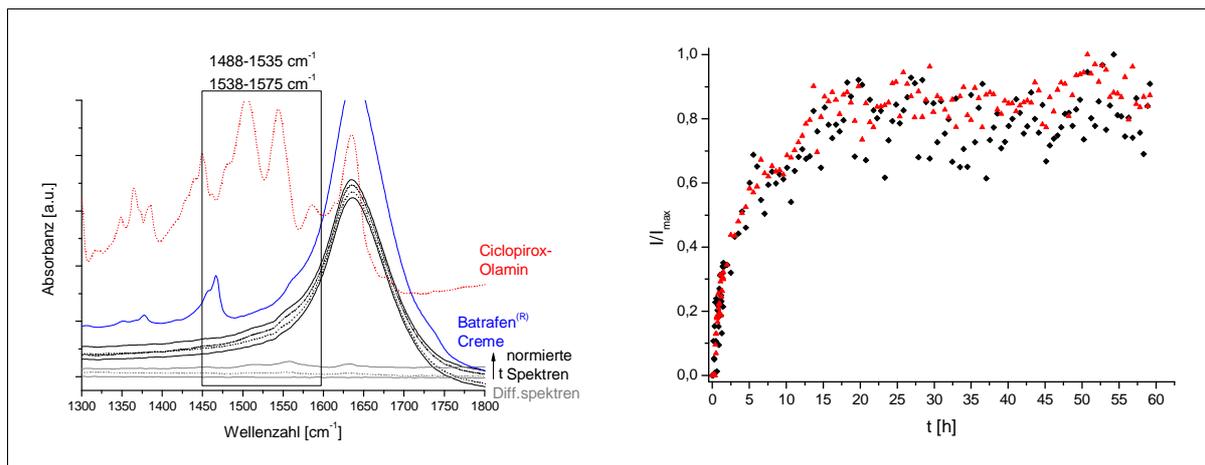


Abbildung 54: Diffusion von Ciclopiroxolamin aus Batrafen® Creme in Puffer pH 7. Die Rinderhufmembranen waren $61,5 \pm 1,1 \mu\text{m}$ dick; links: FTIR-ATR-Akzeptorspektren, Differenzspektren und Referenzspektren. Die ausgewerteten Banden sind markiert, rechts: Ergebnisse der Integration der Ciclopirox zugeordneten Banden $1488 - 1535 \text{ cm}^{-1}$ (schwarz) und $1538 - 1575 \text{ cm}^{-1}$ (rot) nach Normierung ($I_{\text{min}} \equiv 0$, $I_{\text{max}} \equiv 1$).

Im Vergleich zur Loceryl® Creme waren deutliche Unterschiede feststellbar. Es trat, auch bei längeren Messzeiten als in Abbildung 54 dargestellt, kein multiphasischer Verlauf auf. Zum Vergleich wurde in Abbildung 50 (Loceryl® Creme) als Einsatz die Auswertung ebenfalls bei 60 h abgeschnitten, normiert und gefittet. Gut zu erkennen ist die Verzögerungszeit im Fall der Loceryl® Creme. Letzendlich diffundierte Amorolfn-HCl langsamer als Ciclopiroxolamin durch die Rinderhufmembran.

Nagel Batrafen®

Auch hier diente das Puffersystem pH 7 als Akzeptor. Ausgewertet wurde die Ciclopiroxbande $1526 - 1580 \text{ cm}^{-1}$. Der Lack wurde zunächst extern aufgetragen und getrocknet. Abbildung 55 zeigt ATR-Spektren und die ausgewertete Ciclopiroxbande. Ähnlich den Cremezubereitungen war auch hier die Diffusion des Arzneistoffs wesentlich schneller als bei dem entsprechenden Loceryl®-Produkt. Die bessere Bandenqualität wirkte sich auf eine geringere Streuung der Daten aus.

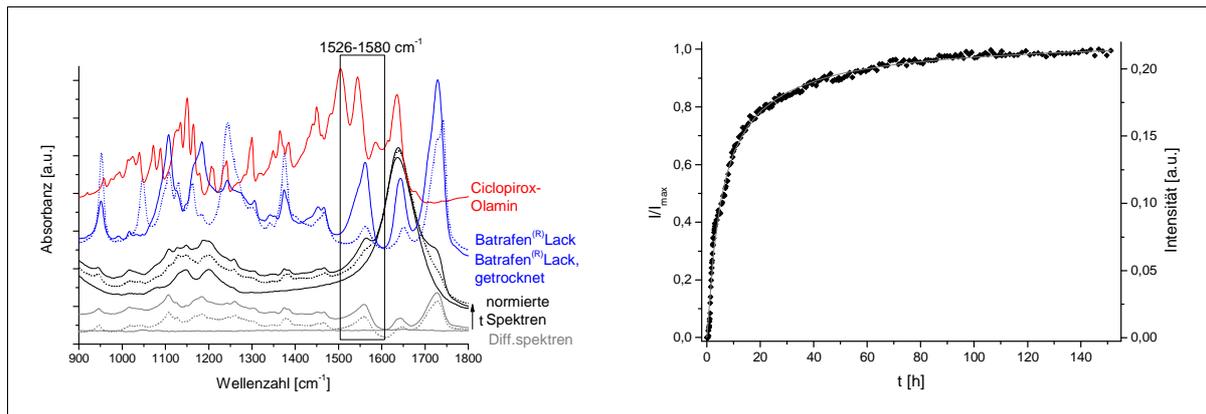


Abbildung 55: Diffusion von Ciclopirox aus Nagel Batrafen® nach externem Lackauftrag, links: FTIR-ATR-Spektren und Differenzspektren des Akzeptors zu verschiedenen Zeiten des Diffusionsexperiments sowie Referenzspektren, rechts: Integration der Ciclopiroxbande $1526 - 1580 \text{ cm}^{-1}$ mit anschließender Normierung ($I_{\min} \equiv 0$, $I_{\max} \equiv 1$) und logistischen Kurvenfit. Die Dicke der Rinderhufmembranen betrug $171 \pm 74 \mu\text{m}$ ($n = 2$).

Die FTIR-ATR-Spektren und deren Auswertung nach direktem Lackauftrag mit Akzeptorerneuerung nach 24 h sind in Abbildung 56 und Abbildung 57 dargestellt.

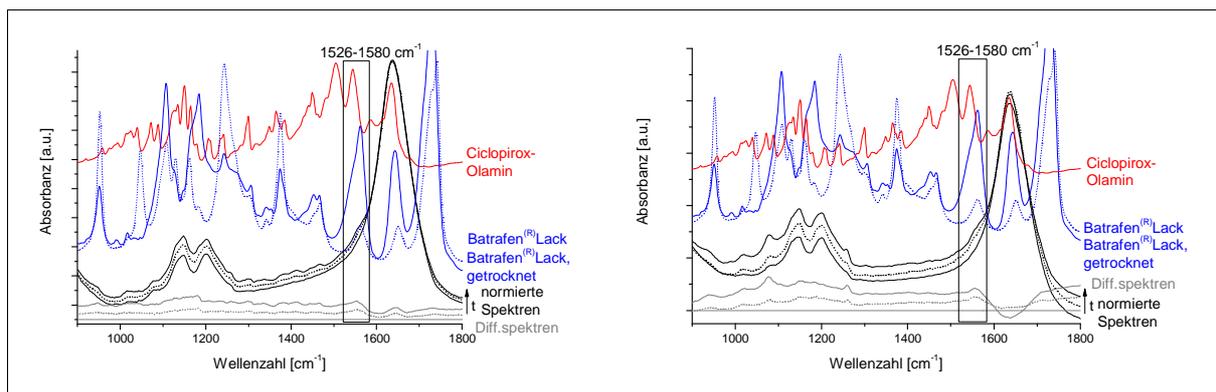


Abbildung 56: FTIR-ATR-Spektren und Differenzspektren des Akzeptors (Puffer pH 7) zu verschiedenen Zeiten des Diffusionsexperiments von Ciclopirox aus Nagel Batrafen® durch Rinderhufmembran ($296 \pm 10 \mu\text{m}$) und Referenzspektren, links: Spektren direkt nach Auftrag des Lackes, rechts: Spektren nach Akzeptorerneuerung.

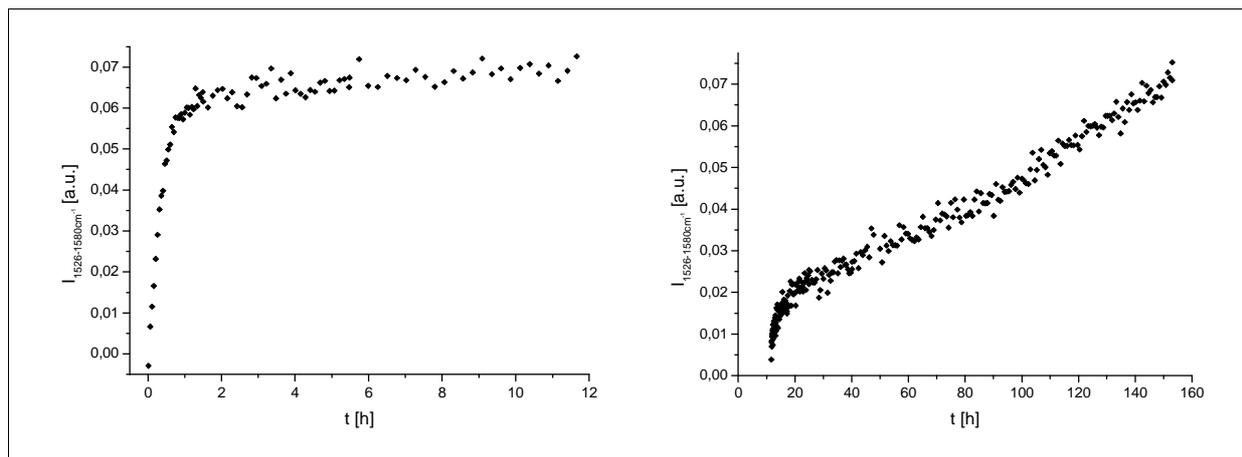


Abbildung 57: Diffusion von Ciclopirox aus Nagel Batrafen® durch Rinderhufmembran nach direktem Lackauftrag, Intensitätsänderung der Ciclopiroxbande 1526 - 1580 cm^{-1} in Abhängigkeit von der Experimentzeit, links: direkt nach Lackauftrag, rechts: nach Akzeptortausch.

Im Gegensatz zu Amorolfing-HCl war bereits während der ersten 24 h des Experiments Ciclopirox deutlich im Akzeptor detektierbar und erreichte einen ersten Gleichgewichtszustand. Da der zweite Teil der Messung bereits vor Erreichen eines Gleichgewichtszustands abgebrochen wurde, mußte auf eine Normierung verzichtet werden. Solubilisierungseffekte durch penetrierende Lackbestandteile und Auftragsart spielten eine größere Rolle als für die Diffusion von Amorolfing-HCl aus Loceryl® Lack. Ciclopirox ist unpolarer als Amorolfing-HCl, so dass es besser mit dem Lösemittelgemisch des Lackes (i-Propanol und Ethylacetat) diffundierte als Amorolfing-HCl im Ethanol-Ethylacetat-Gemisch. Zudem waren durch die weniger polare Struktur (respektive den fehlenden fixen Ladungen) Interaktionen mit Proteinbestandteilen der Hufmembran erschwert. Trotz der guten Löslichkeitsvermittlung durch den Lösemittelanteil des Lacks fand auch bei Nagel Batrafen® der Hauptteil der Diffusion aus dem Wirkstoffdepot des getrockneten Lackes statt, wie die größeren Bandenintensitäten zeigten.

Diffusionsstudien an bovinen Hufmembranen waren mit dem bestehenden und für andere Systeme gut etablierten Messaufbau der ATR-Diffusionszelle nur bedingt durchführbar. Auch die verwendeten Vehikelsysteme zeigten Grenzen der Methode auf. Die Probenauftragung selbst stellte sich problematisch dar. Externer Lackauftrag führte zeitgleich mit dem Trocknen des Lackes zu einer (partiellen) Dehydratation der Hufmembran, ein direkter Auftrag des Lackes in der Diffusionszelle erschwerte die Lacktrocknung. Zuvor getrocknete Lackschichten quollen während des Experiments. Eine Viskositätssteigerung des Akzeptors durch Verwendung von Aerosil® konnte die Quellung nur geringfügig verhindern. Zugleich erschwerte die höhere Viskosität die Diffusion der Arzneistoffe im Akzeptor, so dass die ohnehin sehr langen Messzeiten zusätzlich verlängert wurden.

Neben Trocknungseffekten der Membran erwies sich deren Proteinstruktur und dadurch der Einfluss des Akzeptor-pH-Wertes als restriktiv. Die Arzneistoffe selbst waren ebenfalls physikochemisch sehr verschieden und ihre Eigenschaften und Wechselwirkungen mit der Membran wurden durch den pH-Wert des umgebenden Mediums mitbestimmt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Diffusion der beiden Antimykotika aus den Cremezubereitungen deutlich verschiedene Verläufe zeigte. Amorolfin-HCl wies einen mehrphasigen Verlauf auf, der durch solubilisierende Einflüsse von Vehikelbestandteilen bestimmt wurde. Ciclopiroxolamin penetrierte besonders gut aus der Cremezubereitung. Vehikeleinflüsse können dabei nicht ausgeschlossen werden, traten jedoch nicht so deutlich hervor wie bei Loceryl® Creme. Die Lackzubereitungen wiesen hinsichtlich der Auftragungsart Unterschiede auf. Die Amorolfin-HCl-Diffusion war unbeeinflusst von der Auftragungsart. Die bevorzugte Diffusion erfolgte aus dem Lackdepot. Die Ciclopiroxdiffusion zeigte Unterschiede, je nachdem, ob der Lack aufgetragen und getrocknet wurde, oder direkt in der Diffusionszelle appliziert wurde und nach einiger Zeit ein Akzeptoraustausch stattfand. Bei letzterer Methode war im Gegensatz zu Amorolfin-HCl bereits nach Auftragung des Lackes und während dessen Trocknung eine relevante Ciclopirox-Diffusion zu vermerken. Nach einem Akzeptortausch hingegen verlangsamte sich die Diffusion. Angemerkt sei, dass der Loceryl® Lack eine stärkere Quellungsneigung aufwies und dies die entsprechenden Ergebnisse zugunsten des externen Lackauftrags begünstigte, da beim direkten Auftrag der Lack nicht aushärtete. Das Wirkstoffdepot des getrockneten Lackes begünstigte die Arzneistoffdiffusion in allen Fällen.

Vergleicht man die Ergebnisse, so lässt sich für Ausmaß und Geschwindigkeit der Diffusion der Arzneistoffe folgende Reihenfolge festlegen:

Batrafen® Creme > Nagel Batrafen® (extern aufgetragen) ≥ Loceryl® Lack > Loceryl® Creme.

Bei den bisherigen Betrachtungen blieben die Arzneistoffkonzentrationen im Vehikel unberücksichtigt. Durch Verdunsten des Lösemittels bilden sich gut haftende, hochkonzentrierte wirkstoffhaltige Filme auf dem Nagel. Diese matrix-kontrollierten Systeme werden als freisetzungslimitierend für die Verteilung des Arzneistoffs zwischen Film und Nagel betrachtet, da sich übersättigte Lösungen hoher thermodynamischer Aktivität ausbilden [67]. Gemäß [68] sind die Arzneistofflöslichkeit in Polymerfilm und Nagel sowie der Arzneistoffgehalt des Films diffusionslimitierend. Ciclopirox bildete ein höher konzentriertes Wirkstoffdepot (34%, [176]) als Amorolfin-HCl (25%, [175]) im Lack aus und diffundierte infolgedessen schneller aus dem Lack als Amorolfin-HCl. Die Ergebnisse korrelierten mit den Herstellerempfehlungen zur Dosierung. Für den Loceryl® Lack wird die ein- bis zweimal wöchentliche Applikation empfohlen. Nagel Batrafen® sollte zunächst jeden zweiten Tag aufgetragen werden und nach Ausbildung des Depots im Nagel reduziert sich die Applikation auf zweimal bis zu einmal wöchentlich.

E Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Arbeit wurden erstmalig arzneistoffbeladene hydrophile Silica-Aerogele in verschiedene pharmazeutisch-relevante feste und halbfeste Formulierungen eingearbeitet und biopharmazeutisch charakterisiert.

Der schwerpunktmäßige Einsatz schwingungsspektroskopischer Methoden zeigte deren Potential in der Entwicklung und Charakterisierung neuer Formulierungen. Dies ist wichtig, da so auf einfachem Weg viele Informationen über die Vehikel erhalten werden können. Vor allem FT-RAMAN- und FTIR-ATR-Spektroskopie können wesentlich dazu beitragen, biopharmazeutische Fragestellungen zu untersuchen, wie in der vorliegenden Arbeit demonstriert wurde. Durch unterschiedliche Versuchsansätze der FTIR-ATR-Spektroskopie konnten komplexe Vorgänge *on-line*, nicht-invasiv und synchron betrachtet werden. Es gelang, das Modell der ATR-Diffusionszelle den Anforderungen komplexer Vehikel und Membranen, anzupassen. Durch die konsequente Entwicklung und Erstellung von Kalibrierungen wurde die Aussagekraft der verschiedenen Experimente und methodischen Ansätze erhöht.

Es konnte gezeigt werden, dass Arzneistoffe amorph und homogen im Aerogelgerüst adsorbiert vorliegen. Zur Quantifizierung der Beladungsmenge eignen sich besonders DRIFT sowie NIR-Spektroskopie. FTIR-ATR-spektroskopische Studien - Freisetzungsforschungen des Arzneistoffs aus dem Aerogel in die halbfeste Grundlage und Penetrationsstudien in künstliche und native Membranen - dienen der Charakterisierung der verschiedenen Vehikel und zeigten, dass durch Verwendung arzneistoffbeladener Aerogele in einer geeigneten Formulierung eine deutlich verbesserte Penetration und erhöhte dermale Verfügbarkeit erzielt werden kann. Als besonders geeignet erwiesen sich Aerogele geringer Dichte. Bei gleicher Beladung bestimmte diese die Penetration: höhere Beladungen begünstigten die Freisetzung in die Grundlage und in der Folge die Penetration des Arzneistoffs.

Die Konsistenzhöhung der halbfesten Zubereitungen, die durch die Einarbeitung der Aerogele entsteht und vom Anteil freien Wassers im Vehikel determiniert wird, bestimmte die Applikationsfähigkeit der Formulierungen. Die Penetration selbst blieb weitgehend unbeeinflusst. Aerogeleffekt und amorpher Zustand des Arzneistoffs überkompensierten einen möglichen Einfluss der hohen Konsistenz. Bei der Verwendung der arzneistoffbeladenen Aerogele entstanden (partiell) übersättigte Lösungen des Arzneistoffs in der Grundlage, die sich ebenfalls penetrationsfördernd auswirkten. Diese Zustände erwiesen sich als lagerungsstabil.

Die Tablettierung von arzneistoffbeladenen Aerogelen war möglich und führte zur Verbesserung der Löslichkeit und Erhöhung der Lösungsgeschwindigkeit des jeweiligen Arzneistoffs. An die Tablettiermischung wurden besondere Anforderungen gestellt, da sich aerogelhaltige Tabletten

durch eine hohe Bruchfestigkeit auszeichneten. Auch hier bestimmten vor allem der Aerogeleffekt und der amorphe Zustand des adsorbierten Arzneistoffs die Freisetzungseigenschaften. Durch die erhöhte Freisetzungsgeschwindigkeit und Löslichkeit im Medium wurde die Bioverfügbarkeit der adsorbierten Arzneistoffe stark verbessert. Die Kombination von arzneistoffbeladenem Aerogel mit kristallinem Arzneistoff in den Tabletten führte zu Freisetzungskinetiken, die zu Beginn vom Aerogel und am Ende vom kristallinen Anteil bestimmt wurden.

Aus diesen Ergebnissen folgt, dass vor allem schlecht (wasser-)lösliche Arzneistoffe von der Adsorption auf Aerogele profitieren und deren Bioverfügbarkeit deutlich erhöht werden kann. Das Zusammenspiel von Aerogeleffekt, amorphem Zustand und übersättigten Lösungen begünstigte sowohl die Freisetzung aus den Tabletten als auch die Penetration in Membranen. Fortführende Studien sind gerade für die Verwendung arzneistoffbeladener Aerogele in festen Arzneiformen angezeigt, insbesondere auch, um das Tablettierverhalten weiter zu charakterisieren.

Penetrations- und Diffusionsstudien wurden mit nativen und artifiziellen Membranen durchgeführt. Alle diese Systeme sind *in-vitro*-Modelle, die Teilaspekte eines Gesamtprozesses widerspiegeln. Dodecanol-Collodiummembranen waren, auch im Vergleich mit humanem SC, als einfaches Modell zur Entwicklung halbester Formulierungen geeignet.

Mit Hilfe von Membranen aus SC-Lipiden kann das humane SC gezielt nachgeahmt werden, und der Einfluss der einzelnen Hautlipide auf die Barriereigenschaften kann untersucht werden. Solche SC-Lipidmembranen wurden unter geeigneten Bedingungen auf Polycarbonat- oder PET-Träger präpariert. Entscheidend dabei waren eine ausreichende Hydratisierung der Lipidkopfgruppen und die Präparationstemperatur, die u.a. durch das Schmelzen der enthaltenen Fettsäure determiniert wurde. Diffusionsstudien mit wässriger Harnstofflösung zeigten, dass mit den verwendeten Modellmischungen die Barriereigenschaften imitiert werden können und diese sich in Abhängigkeit von der Lipidmischung unterschieden. Die berechneten Diffusionskoeffizienten korrelierten mit denen, die für humanes SC publiziert wurden.

Auf Basis der Ergebnisse aus Röntgen- und Neutronenstreuuntersuchungen können diese Lipidmembranen weiter variiert werden, um mögliche Einflüsse auf die Barrierefunktionen der äußersten Hautschicht weiter zu untersuchen oder das Penetrationsverhalten dermal applizierter Arzneistoffe und Vehikel näher zu charakterisieren, um die topische Therapie zu optimieren.

Rinderhufmembranen als Modell menschlicher Nägel zeigten Grenzen des ATR-Diffusionszellenmodells auf. Die Dehydratisierung der Membran und die Quellung der Lacke stellten besondere Anforderungen an das Messsystem, die nur bedingt erfüllt werden konnten. Auf vergleichende Studien von antimykotischen Nagellacken und entsprechenden arzneistoffbeladenen AE mußte daher verzichtet werden.

F Anhang**1 Tabellen****Tabelle 31: Alphabetische Übersicht der verwendeten Substanzen und ihrer Hersteller.**

<i>SUBSTANZ</i>	<i>HERSTELLER</i>
Acetonitril	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Aerosil®	Degussa, Düsseldorf, Deutschland
Amorolfin-Hydrochlorid	Galderma Laboratorium GmbH, Bruchsal, Deutschland
Basiscreme DAC	Bombastus, Freital, Deutschland
Batrafen® Creme	Aventis Pharma, Frankfurt am Main, Deutschland
Behensäure	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Benzylalkohol	Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe, Deutschland
Carboxymethylcellulose, Natrium 600	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Ceramid [AP]	Cosmoferm B.V., Delft, Niederlande
Ceramid [EOS]	Cosmoferm B.V., Delft, Niederlande
Cetylstearylalkohol, emulgierend, Typ A Ph.Eur. 1997	Synopharm, Barsbüttel, Deutschland
Chloroform	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Cholesterol	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Cholesterolsulfat	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Ciclopirox-Olamin	Caesar & Loretz, Hilden, Deutschland
Citronensäure, wasserfrei	Synopharm, Barsbüttel, Deutschland
Collodiumlösung DAC 4%	Caesar & Loretz, Hilden, Deutschland
Dithranol	Caesar & Loretz, Hilden, Deutschland
Dodecanol	Cognis Oleochemicals GmbH, Düsseldorf, Deutschland
Emulgierendes Wachs, Polawax® GP 200	Croda, Nettetal, Deutschland
Ethanol	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Ether	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Gel cordes®	Ichthyol Gesellschaft Cordes, Hamburg, Deutschland
Glycerol 99,5% wasserfrei	Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe, Deutschland
Harnstoff	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Hydrophile Salbe DAB	Caesar & Loretz, Hilden, Deutschland
Ibuprofen-Racemat	Caesar & Loretz, Hilden, Deutschland
S-Ibuprofen	Fluka Chemika, Buchs, Schweiz
Isopropylmyristat DAB	Caesar & Loretz, Hilden, Deutschland
Isopropylpalmitat Ph.Eur. 4.0, 3. Nachtrag	Synopharm, Barsbüttel, Deutschland
Kaliumsorbat	Synopharm, Barsbüttel, Deutschland
KBr	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
KH ₂ PO ₄	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
α-Lactose-Anhydrat, Pharmatose D21	DMV int, Veghel, Niederlande
Liniment N SR	Apomix PKH GmbH Halle, Deutschland
Loceryl® Nagellack	Galderma Laboratorium GmbH, Bruchsal, Deutschland
Loceryl® Creme	Galderma Laboratorium GmbH, Bruchsal, Deutschland
Methanol	J.T. Baker, Deventer, Niederlande
Methylcellulose 400	Serva Feinbiochemie, Heidelberg, Deutschland
Metrocreme®	Galderma Laboratorium GmbH, Bruchsal, Deutschland
Metronidazol, mikronisiert	Fagron, Barsbüttel, Deutschland
Mikrokristalline Cellulose, Emcocel® 50M	Mandell, Reijate Surey, Großbritannien
Milchsäure	Caesar & Loretz, Hilden, Deutschland
Nagel Batrafen®	Aventis Pharma, Frankfurt am Main, Deutschland
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	VEB Laborchemie Apolda, Deutschland

SUBSTANZ	HERSTELLER
Na ₂ HPO ₄ · 2 H ₂ O	VEB Laborchemie Apolda, Deutschland
NaHCO ₃	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
NaHCO ₃	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Na-EDTA	VEB Laborchemie, Apolda, Deutschland
Nephrophan®	ORWO, Wolfen, Deutschland
Nifedipin	Welding, Hamburg, Deutschland
Octanol	Gruessing GmbH, Filsum, Deutschland
Palmitinsäure	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Paraffin, flüssig	Caesar & Loretz, Hilden, Deutschland
PEG 400	Fluka Chemika, Buchs, Schweiz
PEG 1000	BASF, Ludwigshafen, Deutschland
PEG 1500	BASF, Ludwigshafen, Deutschland
Polyacrylsäure, mittlere Viskosität	Fluka Chemika, Buchs, Schweiz
Propylenglycol	Caesar & Loretz, Hilden, Deutschland
Puffer pH 6	Fluka Chemika, Buchs, Schweiz
Puffer pH 7	Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe, Deutschland
Salicylsäure, kristallin	Synopharm, Barsbüttel, Deutschland
Salzsäure	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Sorbitollösung 70%, nicht-kristallisierend	Caesar & Loretz, Hilden, Deutschland
Tetramethylorthosilicat	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Trometamol	Synopharm, Barsbüttel, Deutschland
Trypsin	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Unguentum cordes®	Ichthyol Gesellschaft Cordes, Hamburg, Deutschland
Unguentum emulsificans aquosum N SR	Apomix PKH GmbH Halle, Deutschland
Vaselineum album extra DAB 1999	Caesar & Loretz, Hilden, Deutschland
Wollwachsalkoholsalbe DAB 2000	Synopharm, Barsbüttel, Deutschland

Tabelle 32: Bandenpositionen der IR-Schwingungen von Ibuprofen (Auswahl).

Schwingungsmodus	Wellenzahl [cm⁻¹]			
	S-Ibuprofen	rac-Ibuprofen	Schmelze, S-Ibuprofen	AEIbu
δ (Alkyl)	1364,5	1364,5	1366,3	1367,2
δ (CH ₃)	1379,5	1378,7	1383,8	1384,3
δ (COH)	1417,9	1417,6	1410,8	1410,6
ν (CC)	1443,9	1441,4	-	-
		1450,4	-	-
ν (CC)	1465,2	1461,7	1460,2	1460,4
ν (CC)	1507,5	1506,9	1512,5	1513,3
ν (CO)	1704,7	1696,1 & 1710,8	1702,5	1705,2
ν (CH ₃ asym)	2867,8	2867,5	2868,1	2868,9
ν (CH ₂ asym)	2919,0	2923,0	breit	breit
ν (CH ₃ sym)	2952,3	2955,1	2953,2	2955,0

Tabelle 33: Bandenposition der FT-RAMAN-Spektren verschiedener Ibuprofene; kursiv: identische Bandenlage, *Maximaverhältnisse verschieden. Unterschiede der Position, die als äquivalent eingestuft werden, ergeben sich aus der Bestimmungsmethode der Maxima (2. Ableitung), der Qualität der Spektren und der Auflösung des Spektrometers.

<i>S- Ibuprofen</i> [cm ⁻¹]	<i>rac- Ibuprofen</i> [cm ⁻¹]	<i>SCHMELZE, S-Ibuprofen</i> [cm ⁻¹]	<i>AEIbu</i> [cm ⁻¹]
143,5	139,2	-	-
197,2	194,3	-	-
-	224,3	-	-
276,1	268,1	258,0	254,6
308,5	308,7	305,5	303,1
349,6	-	351,9	352,1
364,3	359,6	-	-
397,2	384,4	-	-
426,9	413,3	412,4	410,0
486,3	478,8	breit	breit
breit	522,8	-	-
590,9	585,4	breit	breit
616,2	-	-	-
637,6	636,8	636,8	637,9
656,2	661,2	-	-
691,7	691,7	-	-
744,3	745,7	743,1	741,3
762,8	-	-	-
781,1	783,0	795,9	795,8
817,5	818,4	-	-
832,1	833,5	831,6	831,2
851,5	851,5	-	-
864,8	864,8	-	-
881,7	880,9	882,0	882,1
920,1	919,6	921,9	922,5
942,9*	942,6*	940,9	941,7
959,5*	958,3*	956,3	956,7
1005,9	1007,0	1002,1	1002,1
1054,5	-	-	-
1068,2	1067,2	1070,8	1071,9
1091,5	1092,4	1090,5	1089,8
1116,8	1115,3	1117,6	1117,3
1182,6	1181,6	1185,2	1185,8
1208,3	1206,8	1207,4	1206,9
1264,7	1266,0	1261,2	1261,2
1284,0	1284,3	1283,4	1284,0
1303,8	1305,4	1306,1	1306,1
1339,2	1339,7	1340,4	1340,4
1379,9	1380,1	-	-
1427,7	1427,9	-	-
1449,9	1451,8	1447,4	1448,0
-	-	1461,8	1462,4
1509,0	1507,1	-	-
1574,5	1574,9	1575,9	1575,1
1607,7	1607,8	1612,9	1612,7

<i>S- Ibuprofen</i> [cm ⁻¹]	<i>rac- Ibuprofen</i> [cm ⁻¹]	<i>SCHMELZE, S-Ibuprofen</i> [cm ⁻¹]	<i>AEIbu</i> [cm ⁻¹]
1647,8	1654,1	~1653	~1653
2717,0	2716,2	2718,4	2720,6
2737,3	2737,1	2735,6	2740,6
~2851	~2851	2846,5	2848,3
2869,0	2867,2	2867,6	2869,5
-	-	2885,3	2887,2
2919,3*	2918,0*	2912,3	2914,1
2940,6*	2938,8*	2936,9	2938,2
2956,3*	2954,2*	2957,0	2958,0
2976,6	2980,3	-	-
2993,9*	2991,2*	-	-
3004,7*	3003,4*	3009,2	3009,6
-	3020,3*	-	-
3042,0*	3046,2*	3035,0	3035,6
3061,3*	3062,9*	3057,3	3057,8

Tabelle 34: Tablettierung mit MCC, Parameter der Ibuprofenfreisetzung in Abhängigkeit von den Lagerungsbedingungen, n = 3.

	<i>AUC</i> [mg l ⁻¹ min]	<i>ABC</i> [mg l ⁻¹ min]	<i>c₁</i> [mg l ⁻¹ min]	<i>AUC_{norm}</i> [min]	<i>MDT</i> [min]
frisch					
ibuprofenbeladenes Aerogel (13%)					
40%	13173 ± 2806	10240 ± 1567	52,0 ± 9,5	256 ± 11	195 ± 11
70%	15552 ± 2433	8302 ± 2438	53,5 ± 10,0	291 ± 9,4	159 ± 9,4
ibuprofenbeladenes Aerogel (31%)					
40%	15366 ± 1183	8740 ± 1057	53,5 ± 0,3	290 ± 16	160 ± 16
70%	9872 ± 1995	5110 ± 2103	33,3 ± 6,5	294 ± 40	157 ± 40
AE + Ibuprofen					
40%	8481 ± 4525	5495 ± 2619	31,1 ± 12,8	263 ± 87	187 ± 87
70%	4619 ± 1605	2736 ± 1274	16,4 ± 4,7	281 ± 59	169 ± 59
Aer + Ibuprofen					
40%	15836 ± 3517	5100 ± 2463	46,6 ± 12,3	343 ± 31	107 ± 31
Lagerung im Exsiccator					
ibuprofenbeladenes Aerogel (13%)					
40%	13500 ± 3471	5709 ± 3533	42,7 ± 15,5	328 ± 48	122 ± 48
70%	8081 ± 1121	7012 ± 883	33,6 ± 4,3	241 ± 9,1	209 ± 9,1
ibuprofenbeladenes Aerogel (31%)					
40%	18012 ± 954	8713 ± 1488	59,5 ± 5,0	305 ± 15	146 ± 15
70%	14242 ± 748	6858 ± 1633	46,9 ± 5,0	305 ± 18	145 ± 18
AE + Ibuprofen					
40%	3716 ± 590	2769 ± 289	14,4 ± 0,7	257 ± 29	193 ± 29
70%	1287 ± 272	1310 ± 103	5,8 ± 0,8	222 ± 17	228 ± 17
Aer + Ibuprofen					
40%	9348 ± 450	2795 ± 872	27,2 ± 2,9	348 ± 22	102 ± 22

	<i>AUC</i> [mg l ⁻¹ min]	<i>ABC</i> [mg l ⁻¹ min]	<i>c₁</i> [mg l ⁻¹]	<i>AUC_{norm}</i> [min]	<i>MDT</i> [min]
Lagerung bei 57% Feuchte					
ibuprofenbeladenes Aerogel (13%)					
40%	12108 ± 114	12937 ± 10080	42,3 ± 3,3	287 ± 25	163 ± 25
70%	12221 ± 1464	6320 ± 170	30,1 ± 3,4	238 ± 21	212 ± 21
ibuprofenbeladenes Aerogel (31%)					
40%	16859 ± 1449	9196 ± 645	58,0 ± 4,2	291 ± 7,9	159 ± 7,9
70%	17000 ± 318	7401 ± 949	54,0 ± 1,5	314 ± 14	136 ± 14
AE + Ibuprofen					
40%	5430 ± 1263	3847 ± 110	20,6 ± 2,6	261 ± 29	189 ± 29
70%	1098 ± 220	1158 ± 26,7	5,0 ± 0,5	218 ± 25	232 ± 25
Aer + Ibuprofen					
40%	7482 ± 3438	3324 ± 572	24,0 ± 9,0	302 ± 41	148 ± 41

Tabelle 35: Tablettierung mit Lac/MCC 1/3, Parameter der Ibuprofenfreisetzung, n = 3.

	<i>AUC</i> [mg l ⁻¹ min]	<i>ABC</i> [mg l ⁻¹ min]	<i>c₁</i> [mg l ⁻¹]	<i>AUC_{norm}</i> [min]	<i>MDT</i> [min]
ibuprofenbeladenes Aerogel (42%)					
40%	16350 ± 190	6647 ± 156	73,5 ± 3,8	222 ± 2,1	92,3 ± 2,0
50%	28910 ± 2457	9560 ± 241	85,5 ± 6,0	338 ± 5,2	132 ± 40
60%	16534 ± 976	10186 ± 118	59,5 ± 2,2	278 ± 6,5	152 ± 30
AE + Ibuprofen					
40%	6143 ± 946	4583 ± 378	34,1 ± 4,2	180 ± 6,8	135 ± 6,8
50%	10425 ± 2913	5912 ± 1965	36,3 ± 10,9	288 ± 9,0	162 ± 9,0
60%	8594 ± 481	5641 ± 481	31,7 ± 2,1	272 ± 4,3	178 ± 4,3
ibuprofenbeladenes Aerogel (34%)					
40%	34603 ± 1794	4417 ± 1454	86,5 ± 6,5	400 ± 14	50,3 ± 14
50%	33412 ± 3279	3690 ± 97	82,5 ± 7,5	405 ± 3,0	44,9 ± 3,0
60%	30659 ± 392	6354 ± 540	82,5 ± 0,4	373 ± 6,3	77,2 ± 6,3
40% ibuprofenbeladenes Aerogel (38%) + Ibuprofen					
25 mg	18316 ± 1780	5686 ± 323	53,5 ± 3,5	343 ± 12	107 ± 12
50 mg	11147 ± 1134	5147 ± 203	36,2 ± 3,0	308 ± 5,6	142 ± 5,6
75 mg	13666 ± 506	6314 ± 592	44,4 ± 2,5	308 ± 5,6	142 ± 5,6

Tabelle 36: Tablettierung mit Lac/MCC 1/3, Parameter der Nifedipinfreisetzung, n = 3.

	<i>AUC</i> [mg l ⁻¹ min]	<i>ABC</i> [mg l ⁻¹ min]	<i>c₁</i> [mg l ⁻¹]	<i>AUC_{norm}</i> [min]	<i>MDT</i> [min]
nifedipinbeladenes Aerogel (13%)					
40%	4942 ± 143	1155 ± 141	13,6 ± 0,3	365 ± 10	85,2 ± 9,7
50%	2823 ± 180	1063 ± 81	8,64 ± 0,58	327 ± 2	123 ± 2
60%	2044 ± 180	889 ± 109	6,52 ± 0,63	314 ± 5	136 ± 5
AE + Nifedipin					
40%	2308 ± 390	1839 ± 332	9,22 ± 1,6	251 ± 3	200 ± 3
50%	1282 ± 53	948 ± 76	4,96 ± 0,28	259 ± 5	191 ± 5
60%	1120 ± 79	882 ± 21	4,45 ± 0,19	252 ± 8	198 ± 8
nifedipinbeladenes Aerogel (13%) + Nifedipin					
34% + 50 mg	1714 ± 236	1101 ± 112	6,26 ± 0,76	274 ± 6	176 ± 6
40% + 25 mg	2777 ± 552	2002 ± 592	10,6 ± 2,5	263 ± 9	187 ± 10

2 Abbildungen

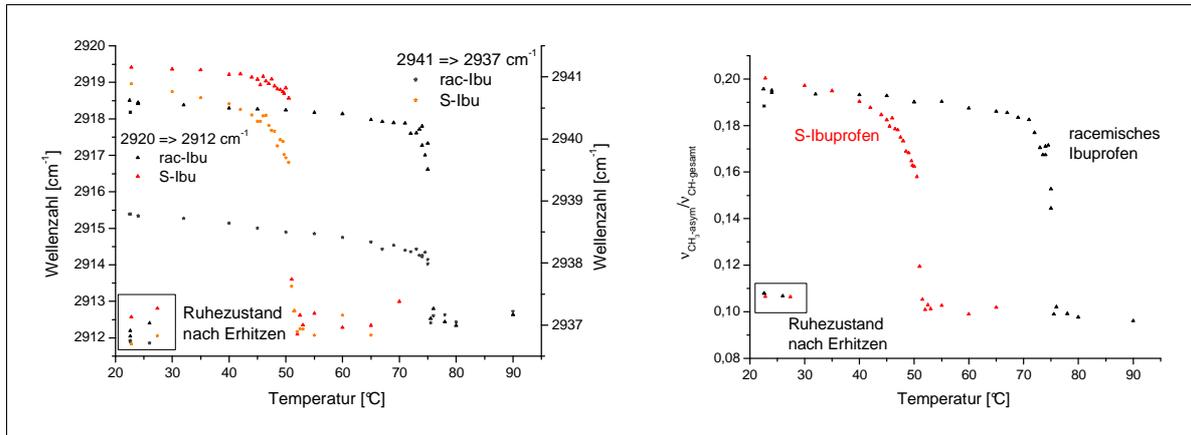


Abbildung 58: Temperaturabhängige FT-RAMAN-Spektroskopie von S- und racemischem Ibuprofen; links: Position der symmetrischen und antisymmetrischen CH-Streckschwingung, rechts: normierte Intensität der antisymmetrischen CH-Streckschwingung, rot/orange: S-Ibuprofen, 1./2. Aufheizen; schwarz/grau: racemisches Ibuprofen, 1./2. Aufheizen.

0% AE: sofortiger Zerfall bei Mediumkontakt					
15 min					
30% AE: schnelle Benetzung, stabil, Zerfall in Stücke					
A	15 min	45 min	75 min	105 min	135 min
B	15 min	45 min	75 min	105 min	135 min
50% AE: langsames Eindringen von Wasser, durchscheinende, fragile Tablette, Teile gehen in Lösung					
A	20 min	45 min	90 min	110 min	140 min
	170 min	200 min	230 min	260 min	

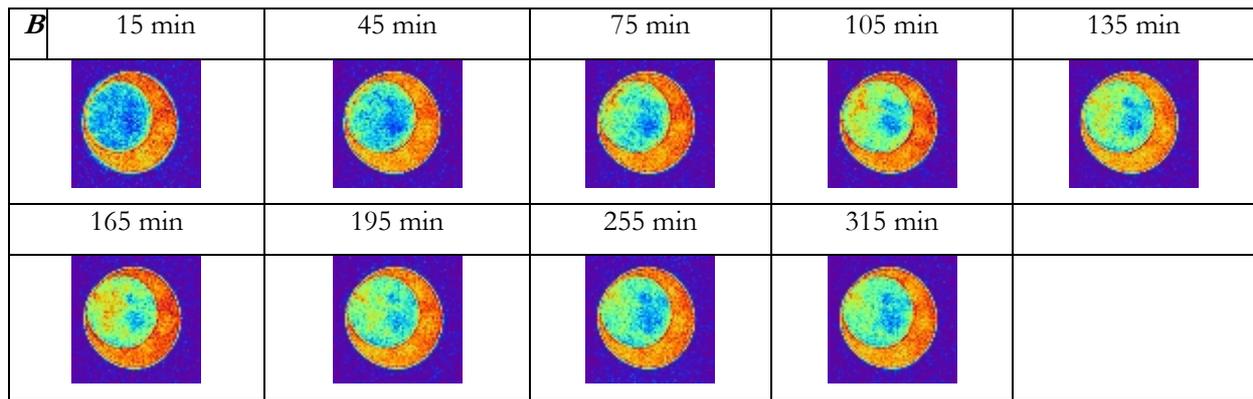


Abbildung 59: $^1\text{H-NMR-Imaging}$ an Tabletten aus Lac/MCC 3/1 mit 0, 30% oder 50% AE; Zerfall in wässrigem Medium; inverse Farbgebung: Bereiche hoher Signalintensität sind rot, Bereiche geringer Signalintensität blau, dargestellt.

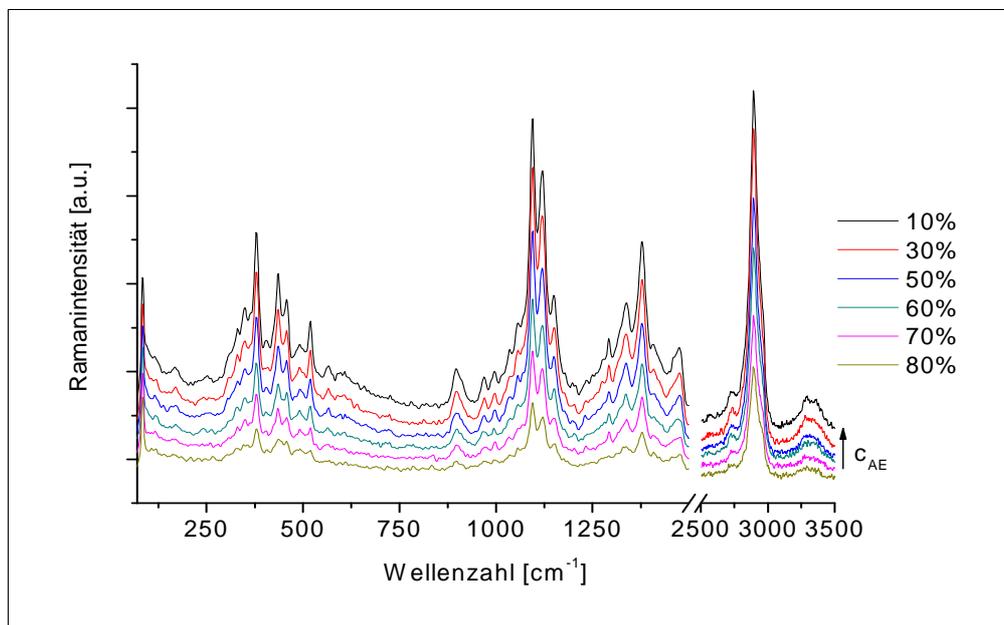


Abbildung 60: FT-RAMAN-Spektren von Tabletten aus MCC mit AE unterschiedlicher Konzentration.

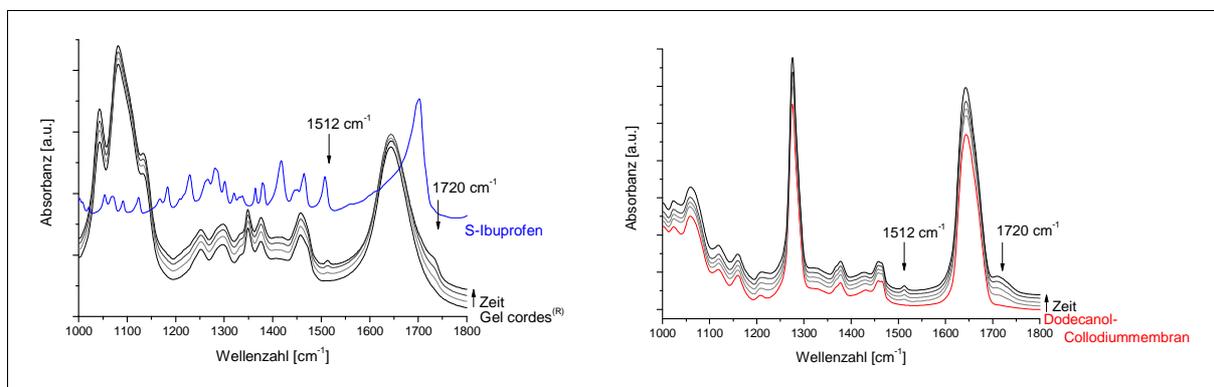


Abbildung 61: FTIR-ATR-Spektren der Freisetzung von Ibuprofen aus AEIbu ($0,04 \text{ g cm}^{-3}$, 32% Beladung) in Gel cordes® (links) und der Penetration von Ibuprofen aus Gel cordes®/AEIbu ($0,04 \text{ g cm}^{-3}$, 36% Beladung) in Dodecanol-Collodiummembran.

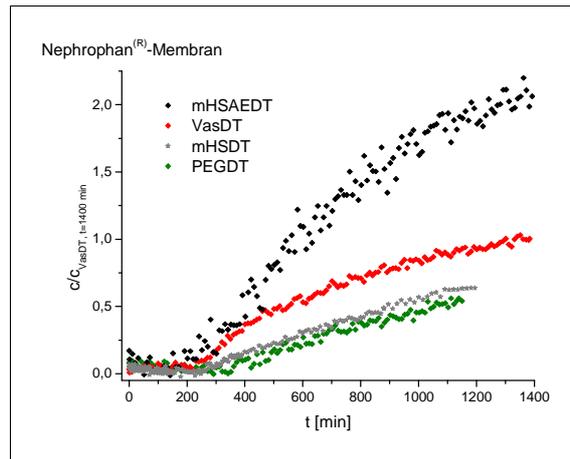


Abbildung 62: Penetration von Dithranol aus verschiedenen Vehikeln in eine hydrophile Modellmembran (Nephrophan®), als Akzeptor diente ein Mischung aus PEG 400 mit Salicylsäure als Stabilisator. Alle Ergebnisse sind auf die Dithranolkonzentration im Akzeptor des Referenzsystems Dithranolvaselin (rot) bei 1400 min normiert, als weitere Donatoren wurden Dithranol-Macrogolsalbe NRF 11.53 (grün), modifizierte Hydrophile Salbe DAB mit Dithranol (grau) oder dithranolbeladenem Aerogel (schwarz) verwendet.

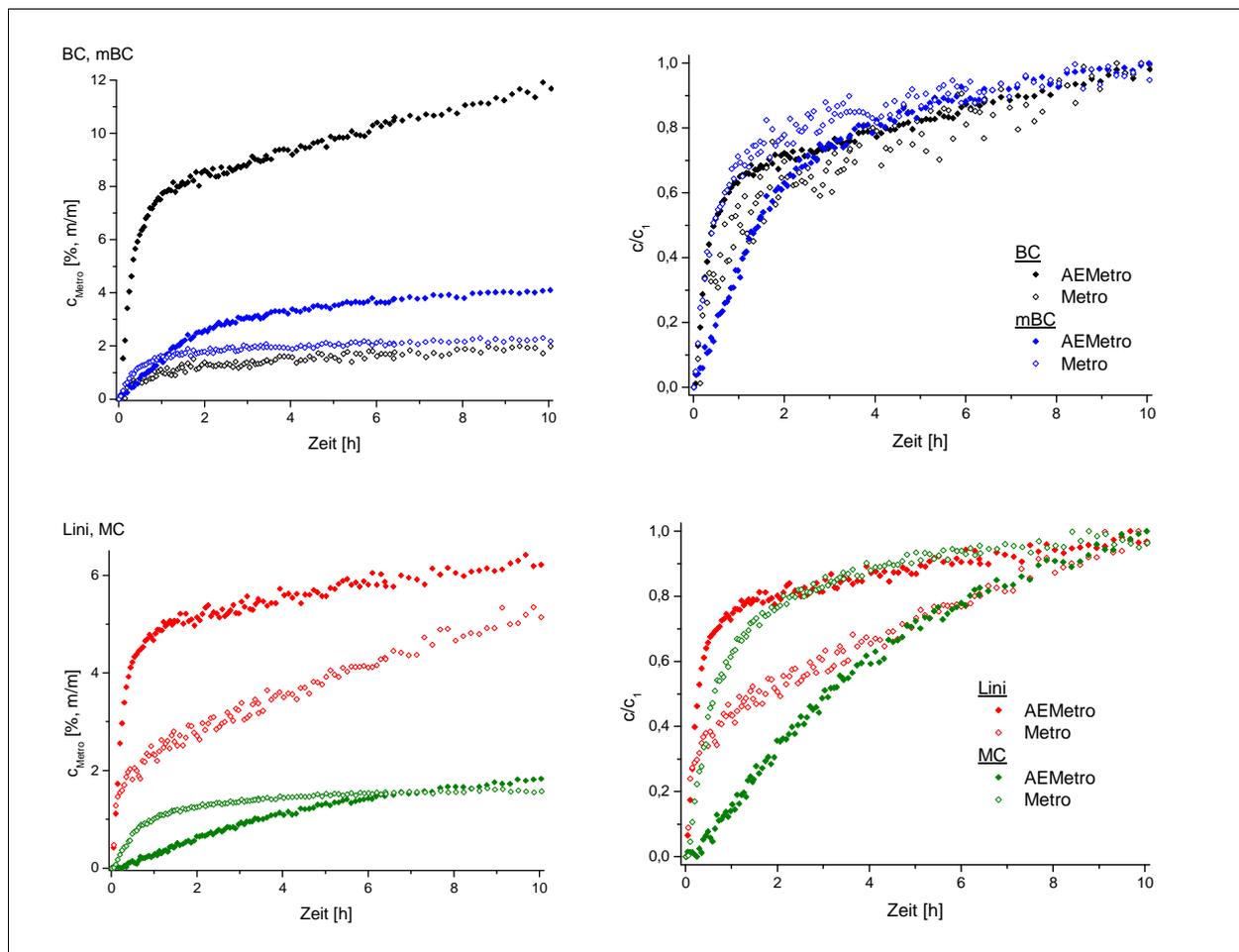


Abbildung 63: Freisetzung von Metronidazol aus AEMetro (geschlossene Symbole) oder Lösen kristallinen Metronidazols (offene Symbole), oben: Basiscreme DAC (schwarz) und modifizierte Basiscreme (blau), unten: Liniment (rot) und Metrocreme® (grün); die Mittelwerte ($n = 3$) sind der Übersichtlichkeit halber ohne Standardabweichung dargestellt; links: Metronidazolkonzentration im Akzeptor, rechts: normierte Darstellung: $c_0 \equiv 0$, $c_1 \equiv 1$.

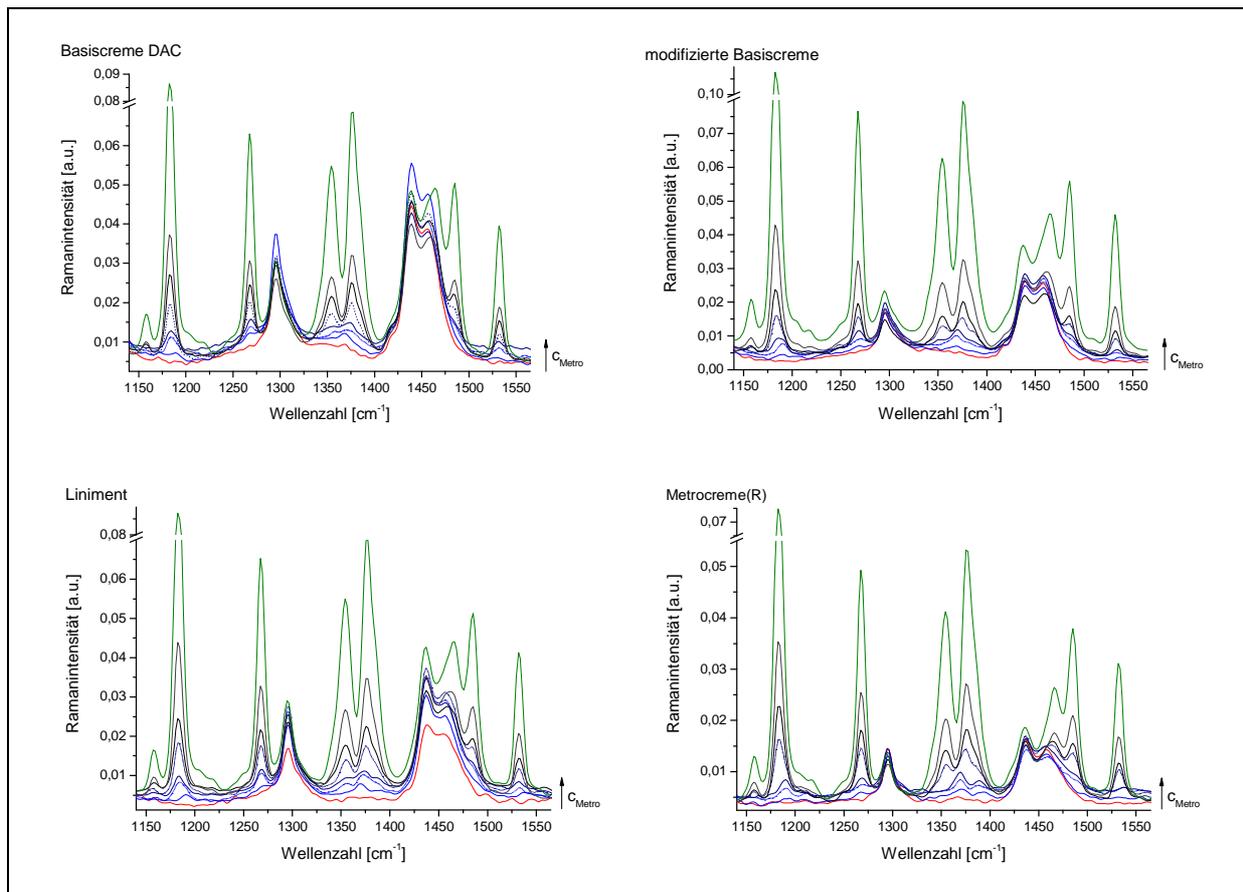


Abbildung 64: FT-RAMAN-Spektren von Metronidazol in unterschiedlichen Konzentrationen in verschiedenen Vehikeln; rot: reine Grundlage, blau: vollständig in Grundlage gelöstes Metronidazol (~0,3%), grün: in Grundlage suspendiertes Metronidazol (~10%).

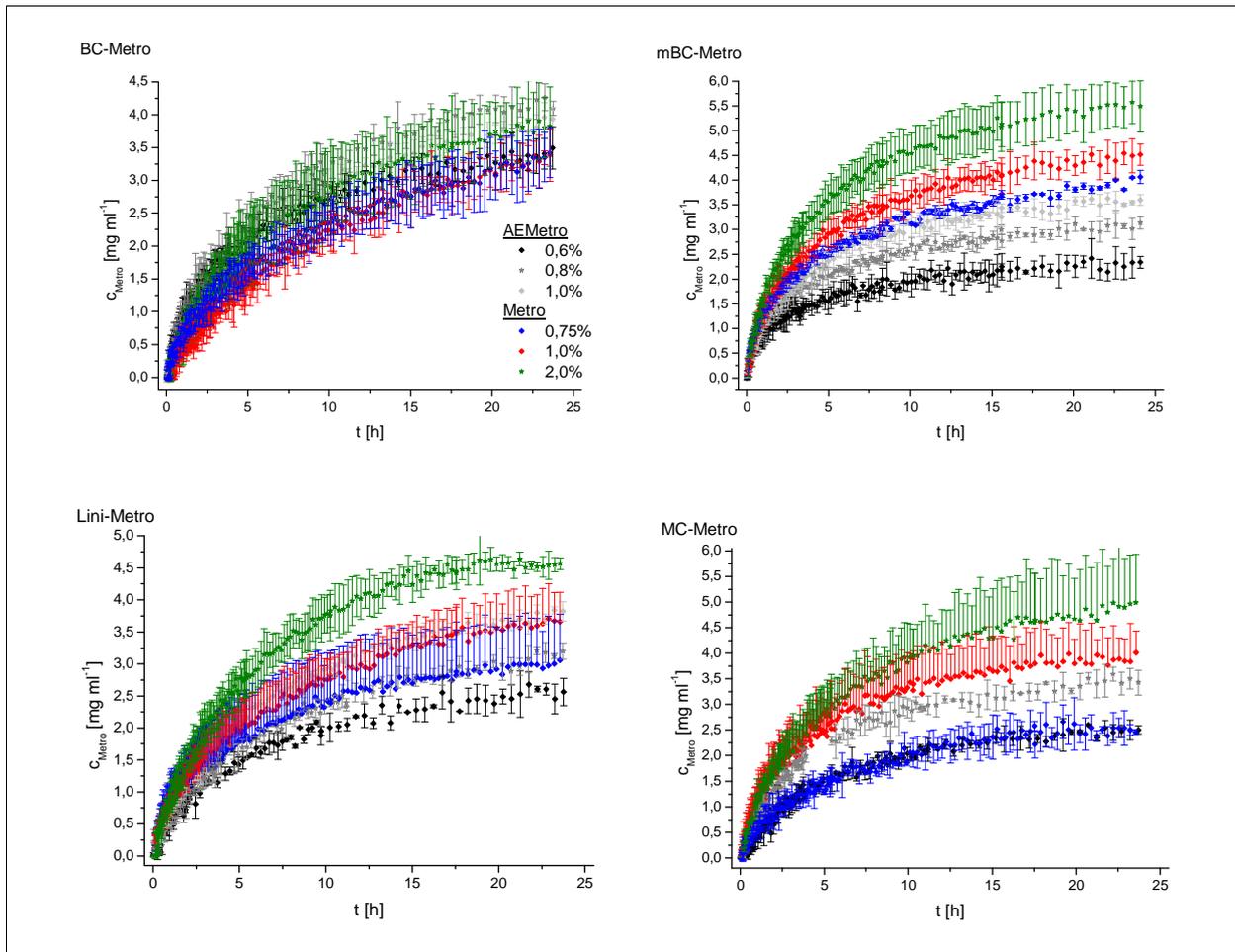


Abbildung 65: Penetration von Metronidazol in 4%ige Dodecanol-Collodiummembran aus verschiedenen Vehikeln; die Zubereitungen enthielten kristallines Metronidazol (blau 0,75%, rot 1,0%, grün 2,0%) oder AEMetro (schwarz 0,6%, grau 0,8%, hellgrau 1,0%), $n = 3$. In einzelnen Fällen wurden der Übersichtlichkeit halber die Standardabweichungen einseitig dargestellt.

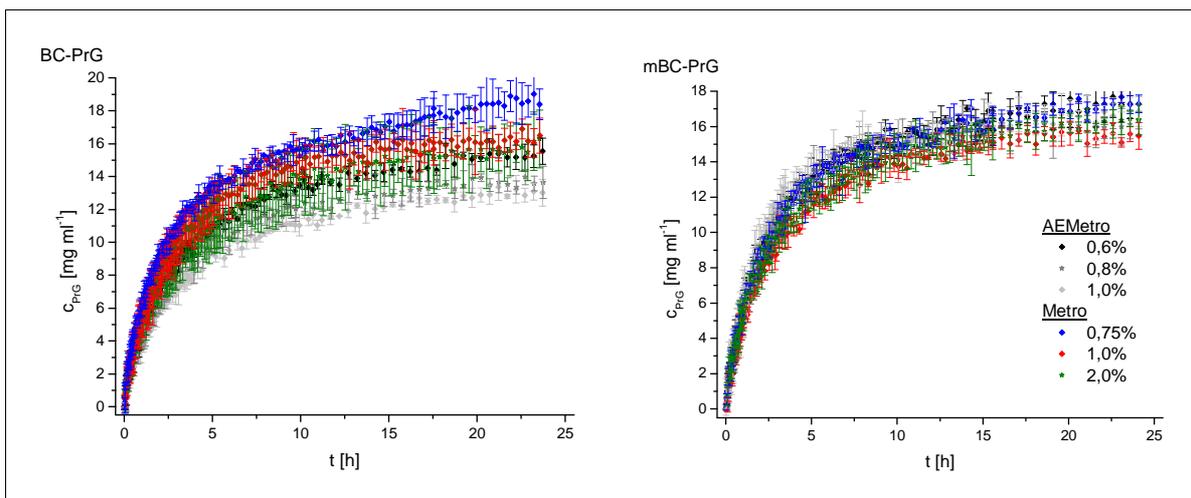


Abbildung 66: Penetration von Propylenglycol aus Basiscreme und modifizierter Basiscreme in 4%ige Dodecanol-Collodiummembran; die Zubereitungen enthielten zudem kristallines Metronidazol (blau 0,75%, rot 1,0%, grün 2,0%) oder AEMetro (schwarz 0,6%, grau 0,8%, hellgrau 1,0%), $n = 3$.

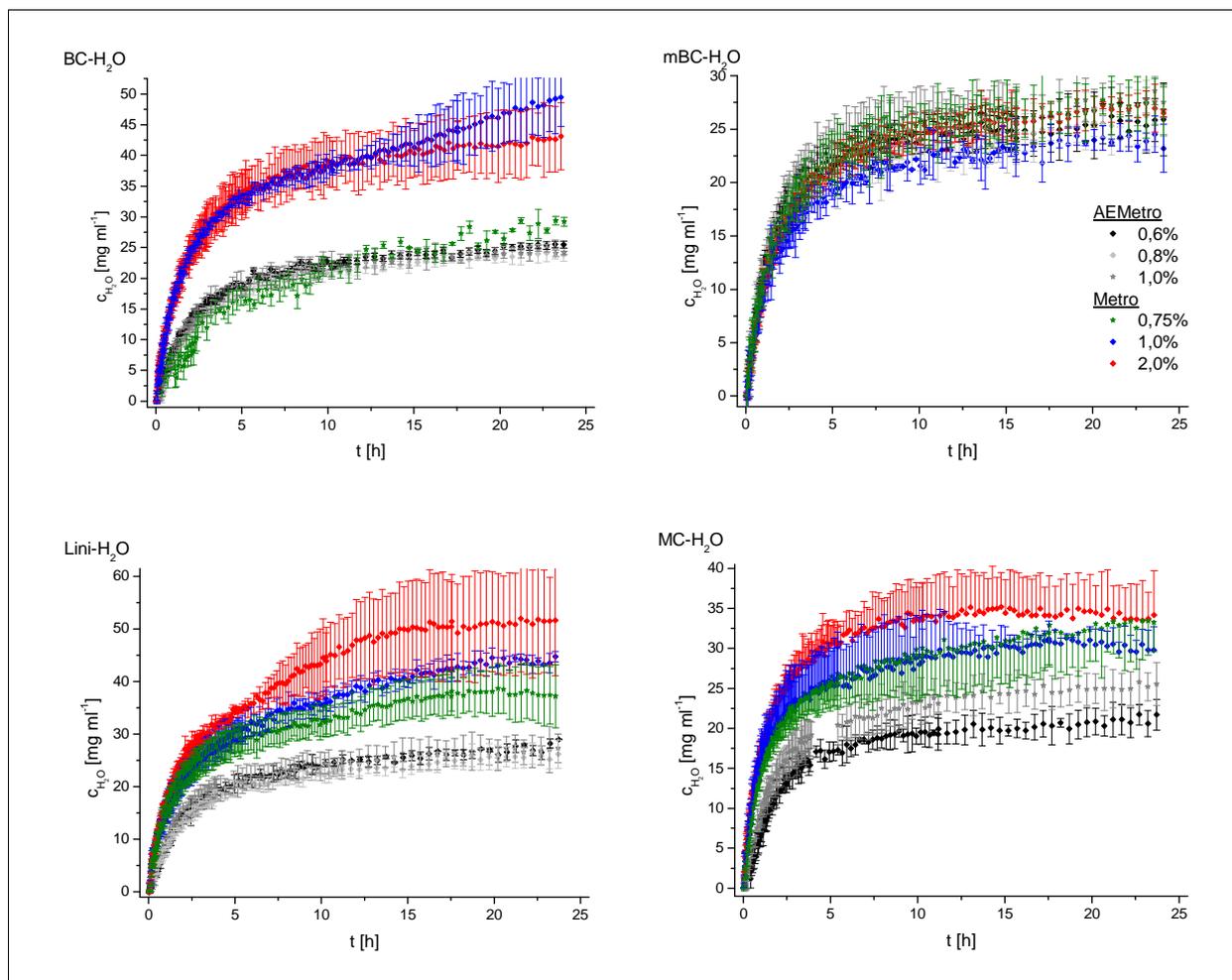


Abbildung 67: Penetration von Wasser aus verschiedenen Metronidazol- und AEMetro-haltigen Vehikeln in 4%ige Dodecanol-Collodiummembran; die Zubereitungen enthielten zudem kristallines Metronidazol (blau 0,75%, rot 1,0%, grün 2,0%) oder AEMetro (schwarz 0,6%, grau 0,8%, hellgrau 1,0%), $n = 3$.

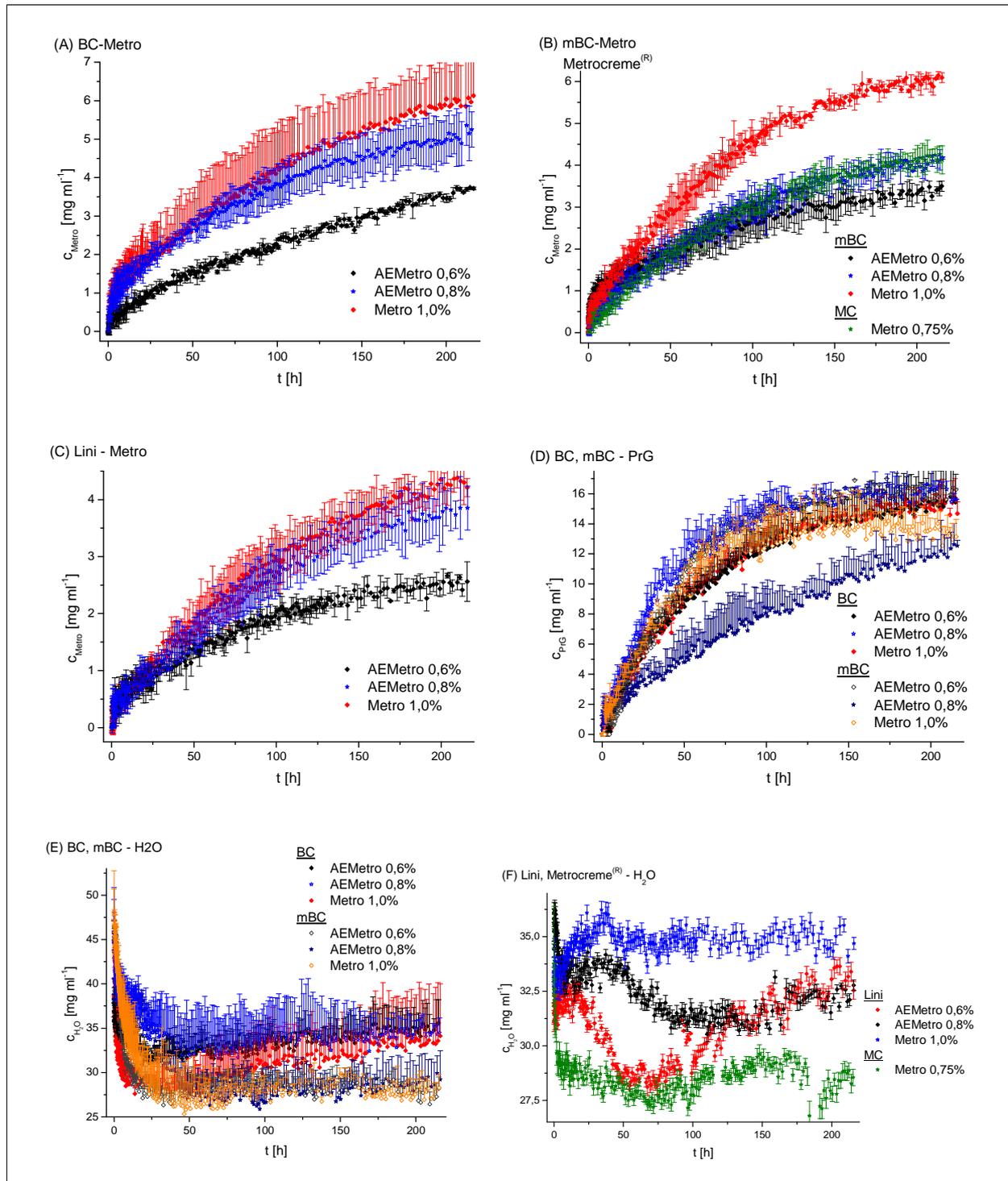


Abbildung 68: Penetration von Metronidazol (A-C), Propylenglycol (D) und Wasser (E, F) aus verschiedenen Vehikeln in humanes SC, n = 3; A-C, F: kristallines Metronidazol 1,0% (rot), AEMetro 0,6% (schwarz), 0,8% (blau), Metrocreme[®] (grün); D, E: Basiscreme ist durch geschlossene Symbole und modifizierte Basiscreme durch offene Symbole und entsprechend geringerer Farbintensität charakterisiert; in einzelnen Fällen wurden der Übersichtlichkeit halber die Standardabweichungen einseitig dargestellt.

G Literatur

- 1 I. Smirnova, Synthesis of silica aerogels and their application as a drug delivery system, Dissertation, Technischen Universität Berlin, 2002.
- 2 U. Günther, Freisetzung von Dithranol aus hydrophilen Silica-Aerogelen und Penetration von dithranol- und aerogelhaltigen halbfesten Zubereitungen in Dodecanol-Colloidium-Modellmembranen, Diplomarbeit, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2004.
- 3 S. Suttiruengwong, Silica aerogels and hyperbranched polymers as drug delivery systems, Dissertation, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, 2005.
- 4 N. Hüsing, U. Schubert, Aerogele - luftige Materialien: Chemie, Struktur und Eigenschaften, *Angew. Chem.* 110 (1998), 22-47.
- 5 S.S. Kistler, Coherent expanded aerogels and jellies, *Nature* 127(3211) (1931), 741.
- 6 S.S. Kistler, Coherent expanded-aerogels, *J. Phys. Chem.* 36(1) (1932), 52-64.
- 7 C.J. Brinker, K.D. Keefer, D.W. Schaefer, C.S. Achley, Sol-Gel transition in simple silicates, *J. Non-Cryst. Solids* 48 (1982), 47-64.
- 8 D.W. Hua, J. Anderson, J. DiGregorio, D.M. Smith, G. Beaucage, Structural analysis of silica aerogels, *J. Non-Cryst. Solids* 186 (1995), 142-148.
- 9 D.W. Hua, J. Anderson, S. Hereid, D.M. Smith, G. Beaucage, Pore morphology study of silica aerogels, *Materials Research Society Symposium Proceedings 346(Better Ceramics through Chemistry VI)* (1994), 985-990.
- 10 H. Rupprecht, M.J. Biersack, G. Kindl, Regulation of drug release from micro- and mesoporous silicic acids. Release of difficultly soluble substances from the surface of partially covered silicic acids, *Colloid Polym. Sci.* 252(5) (1974), 415-416.
- 11 H. Rupprecht, K. Unger, M.J. Biersack, Strukturspezifisches Sorptions- und Freigabeverhalten poröser Kieselgele gegenüber Arzneistoffen, *Colloid Polym. Sci.* 255 (1977), 276-284.
- 12 H. Rupprecht, W. Kircher, K. Unger, Control of drug release by micro- and meso-porous silicates, Part 1 In vitro-release from pure silicon dioxide particles, *Pharm. Ztg.* 125(18) (1980), 888-893.
- 13 H. Rupprecht, W. Kircher, K. Unger, Control of drug release by micro- and meso-porous silicates. Part II: Effect of subsequent coating on release of drugs adsorbed on silicon dioxide, *Pharm. Ztg.* 125(31) (1980), 1482-1485.
- 14 H. Rupprecht, B. Kerstiens, Suitability of amorphous silica as a carrier for drugs. II. Sorption behavior of acetylsalicylic acid (ASA) on silica, *Pharm. Ztg.* 126(17) (1981), 832-481.
- 15 H. Rupprecht, Silicium dioxide and silicates in drug delivery, *Paperback APV 17(Controlled Drug Delivery)* (1987), 197-225.
- 16 R. Daniels, B. Kerstiens, H. Tischinger-Wagner, H. Rupprecht, The stability of drug adsorbates on silica, *Drug dev. Industr. Pharm.* 12(11-13) (1986), 2127-2156.

- 17 R. Daniels, B. Kerstiens, H. Tischinger-Wagner, H. Rupprecht, The stability of drug adsorbates on silica, in: M.H. Rubinstein (Ed.), *Pharm. Technol.: Drug Stab.* (1989), 49-67.
- 18 H. Rupprecht, M.J. Biersack, G. Kindl, Release of difficultly soluble substances from the surface of partially covered silicic acids, *Colloid Polym. Science* 252(5) (1974), 415-416.
- 19 H. Lowey, Sublingual tablets with sustained release, *Ger. Offen.* (1974), DE 73-2332484 19730626.
- 20 A. Berg, M.W. Doege, J.D. Fellmann, J. Klaveness, P. Rongved, Biodegradable organic aerogels for medical use, *PCT Int. Appl.* (1995), 35 pp.
- 21 F. Schwertfeger, A. Zimmermann, H. Krempel, Aerogels as carriers and excipients in pharmaceuticals, cosmetics, plant protectants, and foods, *Ger. Offen.* (1996), DE 95-19506141 19950222.
- 22 S.T. Hobson, E.H. Braue Jr., E.K. Lehnert, K.J. Klabunde, O.P. Koper, S. Decker, Active topical skin protectants using reactive nanoparticles, *Patent U.S.* (2002), US 2001-871747 20010601.
- 23 K. Lee, G. Gould, Aerogel powders for inhalation therapy, *PCT Int. Appl.* (2002) WO 2001-US49541 20011221.
- 24 J.M. Wallace, J.K. Rice, J.J. Pietron, R.M. Stroud, J.W. Long, D.R. Rolison, Silica Nanoarchitectures Incorporating Self-Organized Protein Superstructures with Gas-Phase Bioactivity, *Nano Letters* 3(10) (2003), 1463-1467.
- 25 H. El Rassy, A. Perrard, A. Pierre, Behavior of silica aerogel networks as highly porous solid solvent media for lipases in a model transesterification reaction, *Chembiochem* 4(2-3) (2003), 203-210.
- 26 W. Arlt, I. Smirnova, Use of aerogels for drugs and other substances and method for preparation, *Ger. Offen.* (2003), DE 2002-10214226 20020322.
- 27 I. Smirnova, W. Arlt, J. Mamic, Adsorption of drugs on silica aerogels, *Langmuir*, 19(20) (2003), 8521-8525.
- 28 I. Smirnova, S. Suttiruengwong, M. Seiler, W. Arlt, Dissolution rate enhancement by adsorption of poorly soluble drugs on hydrophilic silica aerogels, *Pharm. Dev. Techn.* 9(4) (2004), 443-452.
- 29 I. Smirnova, S. Suttiruengwong, W. Arlt, Feasibility study of hydrophilic and hydrophobic silica aerogels as drug delivery systems, *J. Non-Cryst. Solids* 350 (2004), 54-60.
- 30 I. Smirnova, W. Arlt, Synthesis of silica aerogels and their application as drug delivery system, in G. Brunner (Ed.), *Supercritical Fluids as Solvents and Reaction Media*, Elsevier B.V., Amsterdam (2004), 381-427.
- 31 I. Smirnova, M. Tuerk, R. Wischumerski, M. Wahl, A Comparison of different methods for enhancing the dissolution rate of poorly soluble drugs: Case of griseofulvin, *Eng. Life Sci.* 5(3) (2005), 277-280.
- 32 I. Smirnova, S. Suttiruengwong, W. Arlt, Aerogels: tailor-made carriers for immediate and prolonged drug release, *KONA* 23 (2005), 86-97.
- 33 I. Smirnova, M. Alnaief, T. Mehling, U. Günther, R. Neubert, W. Arlt, Poröse anorganische und organische Materialien als Träger für Arzneistoffe, *Chemie Ingenieur Technik*, Jg. 80 (H.9) (2008), 1295.

- 34 T. Mehling, I. Smirnova, U. Guenther, R.H.H., Polysaccharide-based aerogels as drug carriers, *J. Non-Cryst. Solids* 355 (50) (2009), 2472.
- 35 U. Guenther, I. Smirnova, R.H.H. Neubert, Hydrophilic silica aerogels as dermal drug delivery systems - dithranol as a model drug, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 69(3) (2008), 935-942.
- 36 N.N., Aerogel granulates for improvement of fluidity of powdered substances, *Ger. Offen.* (1998), DE 96-19653758 19961220.
- 37 G.M. Pajonk, Some applications of silica aerogels, *Colloid Polym. Sci.* 281(7) (2003), 637-651.
- 38 L. Mokrushina, M. Buggert, I. Smirnova, W. Arlt, R. Schomäcker, COSMO-RS and UNIFAC in prediction of micelle/water partition coefficients, *Ind. Eng. Chem. Res.* 46 (2007), 6501-6509.
- 39 K.G. Steigleder, H. Schumann, K.-J. Lennartz, Autoradiographic in vitro-examination of psoriatic skin before, during and after Dithranol treatment, *Arch. Derm. Forsch.* 246 (1973), 231-235.
- 40 L.B. Fischer, H.I. Maibach, The effect of anthralin and its derivatives on epidermal cell kinetics, *J. Invest. Dermatol.* 64 (1975), 338-341.
- 41 E.B. Klem, Effects of antipsoriasis drugs and metabolic inhibitors on the growth of epidermal cells in culture, *J. Invest. Dermatol.* 70 (1978), 27-32.
- 42 Y. Jacques, U. Reichert, Effects of anthralin and analogues in growth and [3H] thymidine incorporation in human skin fibroblasts, *Br. J. Dermatol.* 105(20) (1981), 45-58.
- 43 P. Morlière, L. Dubertret, E. Sa, T. Melo, C. Salet, R. Santus, Modifications of mitochondria by dithranol: a morphological and biochemical study, *J. Invest. Dermatol.* 80 (1983), 350.
- 44 U. Reichert, Y. Jacques, M. Grangeret, R. Schmidt, R. Antirespiratory and antiproliferative activity of anthralin in cultured human keratinocytes, *J. Invest. Dermatol.* 84 (1985), 130-134.
- 45 R. Niedner, J. Ziegenmeyer (Eds.), *Dermatika. Therapeutischer Einsatz, Pharmakologie und Pharmazie*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1992.
- 46 F. v. Bruchhausen, W. Blaschek, H.H.J. Hager, *Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis*, Springer-Verlag, Berlin, 1999.
- 47 H. Auterhoff, J. Knabe, H.-D. Höltje, *Lehrbuch der Pharmazeutischen Chemie*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1999.
- 48 R.H.H. Neubert, W. Wohlrab, W.C. Marsch, *Dermatopharmazie. Vehikel-Wirkstoffe-Pharmakologie*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 2001.
- 49 E. Mutschler, G. Geisslinger, H.K. Kroemer, M. Schäfer-Korting, *Arzneimittelwirkungen*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 2001.
- 50 M.M. Selim, L.H. Goldberg, H. Schaefer, S.C. Bishop, E.M. Farber, Penetration studies on topical anthralin, *Brit. J. Dermatol.* 105 (20) (1981), 101-103.
- 51 B. Kammerau, A. Zesch, H. Schaefer, Absolute concentrations of dithranol and Triacetyl-Dithranol in the skin layers after local treatment: in vivo investigations with four different types of pharmaceutical vehicles, *J. Invest. Dermatol.* 64 (1975), 145-149.

- 52 B. Schroot, H. Schaefer, Anthralin. In M.W. Greaves, S. Shuster (Eds.), *Pharmacology of the skin II*, Heffter-Heubner Handbuch exper. Pharmak. 87/II, Springer, Berlin, 1989.
- 53 C. Bendas, Entwicklung eines In-vitro-Membranmodells zur Beurteilung der Arzneistoffverfügbarkeit aus topischen Arzneiformen, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 1991.
- 54 M. Hartmann, D.H. Bui, H. Podhaisky, J. Wensch, J. Bodzenta, S. Wartewig, R.H.H. Neubert, A new FTIR-ATR cell for drug diffusion studies, *Analyst* 129 (2004), 902-905.
- 55 M. Hartmann, Nichtinvasive Diffusionsuntersuchungen wässriger harnstoffhaltiger Systeme an künstlichen und biologischen Membranen, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2005.
- 56 D.G. Kaiser, G.J. Vangiessen, R.J. Reischer, W.J. Wechter, Isomeric inversion of ibuprofen (R)-enantiomer in humans, *J. Pharm. Sci.* 65(2) (1976), 269–273.
- 57 D. Loew, G. Rau, O. Schuster, Ibuprofen. Ist das Racemat ein rationales Arzneimittel?, *DAZ* 46(129) (1989), 2505-2506.
- 58 H. Potthast, S. Winter, B. Bastian, H. Möller, Ibuprofen-Präparate im Vergleich, *Pharm. Ztg.* 19(147), (2002).
- 59 J.S. Millership, P.S. Collier, Topical administration of racemic ibuprofen; *Chirality*, 9 (1997), 313–316.
- 60 H. Schöfer, Rosazea. Klinik und aktuelle Therapie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 2003.
- 61 C. Zip, An update on the role of topical metronidazole in rosacea, *Skin Therapy Lett* 11 (2006), 1–4.
- 62 ABDA-Bundesvereinigung Deutscher Apothekerverbände, Deutscher Arzneimittel-Codex/Neues Rezeptur-Formularium, Govi Verlag Pharmazeutischer Verlag, Eschborn, DAV Stuttgart, 1986-.
- 63 J. A. Berson, E. Brown, Studies on Dihydropyridines. II. The Photochemical Disproportionation of 4-(2'-Nitrophenyl)-1,4-dihydropyridines, *J. Am. Chem. Soc.* 77 (1955), 447–450.
- 64 S.L. Ali, Nifedipine, *Analytical Profiles of Drug Substances* 18 (1989), 221-288.
- 65 B.K. Logan, K.S. Patrick, Photodegradation of nifedipine relative to nitrendipine evaluated by liquid and gas chromatography, *J. Chrom.* 529(1) (1990), 175-181.
- 66 E. Teichmann, Wahlpflichtfach, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, 2007, http://www.pharmtech.uni-erlangen.de/wahlpflichtfach/07_Jan_Teichmann.pdf.
- 67 R.H. Müller, G.E. Hildebrand, Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1998.
- 68 S. Murdan, Drug delivery to the nail following topical application, *Int. J. Pharm.* 236 (2002), 1-26.
- 69 D. Mertin, B.C. Lippold, In-vitro permeability of the human nail and of a keratin membrane from bovine hooves: influence of the partition coefficient ocatnol/water and the water solubility of drugs on their permeability and maximum flux, *J. Pharm. Pharmacol.* 49 (1997), 30-34.
- 70 D. Mertin, B.C. Lippold, In vitro permeability of the human nail and of a keratin membrane from bovine hooves: penetration of chloramphenicol from lipophilic vehicles and nail lacquer, *J. Pharm. Pharmacol.* 49 (1997), 241-245.

- 71 A. Jäckel, C.E.H. Schmelzer, S. Wartewig, R.H.H. Neubert, Sublimation of antimycotic agents as proved by various methods, *Pharmazie* 61(7) (2006), 1045-1047.
- 72 R. Neubert, C. Bendas, W. Wohlrab, B. Gienau, W. Fürst, A multilayer membranes system for modelling drug penetration into skin, *int. J. Pharm. Sci.* 75 (1991), 89-94.
- 73 P.M. Elias, Epidermal lipids, barrier function, and desquamation, *J. Invest. Dermatol.* 80 (1983), 44-49.
- 74 D.C. Swartzendruber, P.W. Wertz, D.J. Kitko, K.C. Madison, D.T. Downing, Molecular models of the intercellular lipid lamellae in mammalian stratum corneum, *J. Investig. Dermatol.* 92 (1989), 251-257.
- 75 B.A. Forslind, A domain mosaic model of the skin barrier. *Acta Derm. Venereol.* 74 (1994), 1-6.
- 76 J.A. Bouwstra, F.E. Dubbelaar, G.S. Gooris, M. Ponc, The lipid organisation in the skin barrier, *Acta Derm. Venereol. Suppl. (Stockh)* 208 (2000), 23-30.
- 77 L. Norlen, Skin barrier structure and function: The single gel phase model, *J. Investig. Dermatol.* 117 (2001), 830-836.
- 78 M.A. Kiselev, N. Yu. Ryabova, A.M. Balagurov, S. Dante, T. Hauss, J. Zbytovska, S. Wartewig, R.H.H. Neubert, New insights into structure and hydration of SC lipid model membranes by neutron diffraction, *Eur. Biophys. J.* 34 (2005), 1030-1040.
- 79 D. Kessner, A. Ruettinger, M.A. Kiselev, S. Wartewig, R.H.H. Neubert, Properties of ceramides and their impact on the stratum corneum structure – A Review – Part 2: Stratum corneum lipid model systems, *Skin Pharmacol. Physiol.* 21 (2008), 58–74.
- 80 C. Surber, K.P. Wilhelm, M. Hori, H.I. Maibach, R.H. Guy, Optimization of topical therapy: partitioning of drugs into stratum corneum. *Pharm. Res.* 7(12) (1990), 1320-1324.
- 81 B.W. Barry, Mode of action of penetration enhancers in human skin. *J. Controlled Release* 6 (1987) 85-97.
- 82 K.A. Walters, G.L. Flynn, J.R. Marvel, Physicochemical characterization of the human nail: permeation pattern for water and the homologous alcohols and differences with respect to the stratum corneum, *J. Pharm. Pharmacol.* 35 (1983), 28-33.
- 83 G.V. Gutchup, J.L. Zatz, Structural characteristics and permeability properties of the human nail: a review; *J. Cosmet. Sc.* 50 (1999), 363-385.
- 84 Y. Kobayashi, M.Miyamoto, K. Sugibayashi, Y. Morimoto, Drug permeation through the tree layers of the human nail plate, *J. Pham. Pharmacol.* 51 (1999), 271-278.
- 85 K.A. Walters, G.L. Flynn, Permeability characteristics of the human nail plate, *Int. J. Cosm. Sc.* 5 (1983), 231-246
- 86 Y. Kobayashi, T. Kommatsu; M.Sumii, S. Numajiri, M. Miyamoto, D. Kobayashi, S. Sugibayashi, Y. Marimoto, In vitro permeation of several drugs through the human nail plate: relationship between physicochemical properties and nail permeation of drugs; *Eur.J.PharmScie* 21, (2004), 471-477.
- 87 Medpharm, Topical formulation optimisation for percutaneous and perungual delivery, <http://www.medpharm.co.uk/>.

- 88 J.-H. Kim, C.H. Lee, H.-K. Choi, A method to measure the amount of drug penetrated across the nail plate, *Pharm. Res.* 18(10) (2001), 1468-1471.
- 89 F. Pittrof, J. Gerhards, W. Erni, Loceryl® Nail lacquer - realization of a new galenic approach to onychomycosis therapy, *Cli. Exp. Dermatol.* 17(1) (1992), 26-28.
- 90 X. Hui, Z. Shainhouse, H. Tanojo, A. Anigbogu, G.E. Markus, H.I. Maibach, R.C. Wester, Enhanced human nail drug delivery: nail inner drug content assayed by new unique method, *J. Pharm. Sci.* 91(1) (2001), 189-195.
- 91 X. Hui, R.C. Wester, S. Barbadillo, C. Lee, B. Patel, M. Wortzmann, E.h. Gans, H.I. Maibach, Ciclopirox delivery into the human nail plate, *J. Pharm. Sci.* 93(10) (2004), 2545-2548.
- 92 M.A. Repka, P.K. Mididoddi, S.P. Stodghill, Influence of human nail etching for the assessment of topical onychomycosis therapy, *Int. J. Pharm.* 282 (2004), 95-106.
- 93 R.F. Donnelly, P.A. McCarron, J.M. Lightowler, A.D. Wollfson, Bioadhesive patch-based delivery of 5-aminolevulinic acid to the nail for photodynamic therapy of onychomycosis, *J. Contr. Rel.* 103 (2005), 381-392.
- 94 M. Mohorčič, A. Torkar, J. Friedrich, J. Kristl, S. Murdan, An investigation into keratolytic enzymes to enhance ungual drug delivery, *Int. J. Pharm.* 332 (2007), 196-201.
- 95 M.A. Repka, J. O'Haver, C.H. See, K. Gutta, M. Munjal, Nail morphology studies as assessments for onychomycosis treatment modalities, *Int. J. Pharm.* 245 (2002), 25-36.
- 96 H. Mensing, A. Polak-Wys, V. Splanemann, Determination of the subungual antifungal activity of amorolfine after 1 month's treatment in patients with onychomycosis: comparison of two nail lacquer formulations, *Cli. Exp. Dermatol.* 17(1) (1992), 29-32.
- 97 X. Hui, T.C.K. Chan, S. Barbadillo, C. Lee, H.I. Maibach, R.C. Wester, Enhanced econazole penetration into human nail by 2-n-Nonyl-1,3-dioxolane, *J. Pharm. Sci.* 92(1) (2002), 142-148.
- 98 A. Polak, A. Jäckel, A. Noack, R. Kappe, Agar sublimation test for the in vitro determination of the antifungal activity of morpholine derivatives, *Mycoses* 47 (2004), 184-192.
- 99 D. Monti, L. Saccomani, P. Chetoni, S. Burgalassi, M.F. Saettone, In vitro transungual permeation of ciclopirox from a hydropropyl chitosan based, water-soluble nail lacquer, *Drug dev. Pharm.* 31 (2005), 11-17.
- 100 A. Krause, Entwicklung und Charakterisierung von Mikroemulsionen zur dermalen Applikation von Arzneistoffen, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2001.
- 101 K. Jahn, A. Fischer, R.H.H. Neubert, J. Wohlrab, Investigation of the penetration behavior of mycophenolate mofetil from a semisolid formulation into human skin ex-vivo. *J. Pharm. Pharmacol.* 53(12) (2001), 1581-1587.
- 102 D.L. da Silva, S.B. Thiago, F.A. Pessoa, Y. Mrestani, H.H. Ruettinger, J. Wohlrab, R.H. Neubert, Penetration profile of taurine in the human skin and its distribution in skin layers. *Pharm. Res.* 25(8) (2008), 1846-1850.
- 103 B. Bendas, U. Schmalfluss, R. Neubert, Influence of propylene glycol as cosolvent on mechanisms of drug transport from hydrogels. *Int. J. Pharm.* 116(1) (1995), 19-30.

- 104 S. Heuschkel, Untersuchungen zum Mechanismus der Penetrationserhöhung durch Mikroemulsionen und neue Enhancer bei der dermalen Applikation von Wirkstoffen, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2009.
- 105 T. Loftsson, F. Konráðsdóttir, M. Másson, Development and evaluation of an artificial membrane for determination of drug availability, *Int. J. Pharm.* 326 (2006), 60–68
- 106 A. Schendzielorz, B.D. Hanh, R.H.H. Neubert, S. Wartewig, Penetration studies of clotrimazole from semisolid formulation using step-scan FT-IR photoacoustic spectroscopy. *Pharm. Res.* 16(1) (1999), 42-45
- 107 J. Bodzenta, A. Kazmierczak, B.D. Hanh, R.H.H. Neubert, S. Wartewig, Investigation of drugs diffusion into collodion membranes using FTIR-ATR and step-scan FTIR-PAS techniques, *Instrum. Sci. Technol.* 34(1-2) (2006), 107-117.
- 108 M. Wegener, R. Neubert, W. Rettig, S. Wartewig, Structure of stratum corneum lipids characterized by FT-RAMAN spectroscopy and DSC. III. Mixtures of ceramides and cholesterol, *Chem. Phys. Lipids* 88 (1997), 73-82.
- 109 D.T. Parrott, J. E Turner, Mesophase formation by ceramides and cholesterol: a model for stratum corneum lipid packing, *Biochim. Biophys. Acta* 1147 (1993), 273- 276.
- 110 C.R. Flach, R. Mendelsohn, M.E. Rerek, D.J. Moore, Biophysical studies of model stratum corneum lipid monolayers by infrared reflection-absorption spectroscopy and Brewster angle microscopy, *J. Phys. Chem.* 104 (2000), 2159-2165.
- 111 D.J. Moore, M.E. Rerek, Insights into the molecular organization of lipids in the skin barrier from infrared spectroscopy studies of stratum corneum lipid models, *Acta Derm.Venereol.* 208 (2000), 16-22.
- 112 H-C. Chen, R. Mendelsohn, M.E. Rerek, D.J. Moore, Effect of cholesterol on miscibility and phase behavior in binary mixtures with synthetic ceramide 2 and octadecanoic acid: infrared studies, *Biochim. Biophys. Acta* 1512 (2001), 345-356.
- 113 J.A. Bouwstra, G.S. Gooris, F.E.R. Dubbelaar, M. Ponc, Phase behavior of lipid mixtures based on human ceramides: coexistence of crystalline and liquid phases, *J. Lipid Res.* 42 (2001), 1759-1770.
- 114 S. Wartewig, R.H.H. Neubert, Properties of Ceramides and their impact on the stratum corneum structure – A Review – Part 1: Ceramides, *Skin Pharmacol. Physiol.* 20 (2007), 220-229.
- 115 D. Kessner, M. Kiselev, S. Dante, T. Hauß, P. Lersch, S. Wartewig, R.H.H. Neubert, Arrangement of ceramide [EOS] in a stratum corneum lipid model matrix: new aspects revealed by neutron diffraction studies, *Eur. Biophys. J.* 37 (2008), 989–999.
- 116 D. Kessner, Neutron scattering on biological subjects – Neue Einblicke in die Struktur der Lipidmatrix des Stratum corneums, basierend auf Modellmembranen, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2008
- 117 A. Schröter, D. Kessner, M.A. Kiselev, T. Hauß, S. Dante, R.H.H. Neubert, Basic nanostructure of stratum corneum lipid matrices based on Ceramides [EOS] and [AP]: A neutron diffraction study, *Biophys. J.* 97(4) (2009), 1104-11114.

- 118 M.W. de Jager, G.S. Gooris, I.P. Dolbnya, M. Ponec, J.A. Bouwstra, Modelling the stratum corneum lipid organisation with synthetic lipid mixtures: the importance of synthetic ceramide composition, *Biochim. Biophys. Acta* 1684 (2004), 132-140.
- 119 M.W. de Jager, G.S. Gooris, I.P. Dolbnya, W. Bras, M. Ponec, J.A. Bouwstra, Novel lipid mixtures based on synthetic ceramides reproduce the unique stratum corneum lipid organization, *J. Lipid Res.* 45 (2004), 923-932.
- 120 M.W. de Jager, G.S. Gooris, M. Ponec, J.A. Bouwstra, Lipid mixtures prepared with well-defined synthetic ceramides closely mimic the unique stratum corneum lipid phase behaviour, *J. Lipid Res.* 46 (2005), 2649-2656.
- 121 Y. Masukawa, H. Narita, E. Shimizu, N. Kondo, Y. Sugai, T. Oba, R. Homma, J. Ishikawa, Y. Takagi, T. Kitahara, Y. Takema, K. Kita, Characterization of overall ceramide species in human stratum corneum, *J. Lipid Res.* 49 (2008), 1466–1476.
- 122 B.A. Firestone, R.H. Guy, Approaches to the prediction of dermal absorption and potential cutaneous toxicity. In: A.M. Goldberg (Ed.), *Alternative methods in toxicology: In vitro toxicology*. Mary Ann Liebert, New York, (1985), 517-538.
- 123 W. Abraham, D.T. Downing, Preparation of model membranes for skin permeability studies using stratum corneum lipids, *J. Invest. Dermatol.* 93 (1989), 809-813.
- 124 S.E. Friberg, I. Kayali, Water evaporation rates from a model of stratum corneum lipids, *J. Pharm. Sci.* 78 (1989), 639-643.
- 125 R. Lieckfeldt, J. Villalain, J.C. Gomez-Fernandez, G. Lee, Diffusivity and structural polymorphism in some model stratum corneum lipid systems, *Biochim. Biophys. Acta* 1151 (1993), 182-188.
- 126 D. Kittayanond, S.M. Dowton, C. Ramachandran, G.L. Flynn, N. Weiner, Development of a model of the lipid constituent phase of the stratum corneum: II. Preparation of artificial membranes from synthetic lipids and assessment of permeability properties using in vitro diffusion experiments, *J. Soc. Cosmet. Chem.* 43 (1992), 237-249.
- 127 E. Jäckle, *Stratum corneum analoge Lipidmischungen als Diffusionsmedien, ihre Eigenschaften und deren Beeinflussung durch Salbengrundlagen*, Dissertation, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Universität des Saarlandes, Saarbrücken, 1996.
- 128 K. Matsuzaki, T. Imaoka, M. Asano, K. Miyajima, Development of a model membrane system using stratum corneum lipids for estimation of drug skin permeability, *Chem. Pharm. Bull.* 41 (1993), 575-579.
- 129 K. Miyajima, S. Tanikawa, M. Asano, K. Matsuzaki, Effects of absorption enhancers and lipid composition on drug permeability through the model membrane using stratum corneum lipids, *Chem. Pharm. Bull.* 42 (1994), 1345-1347.
- 130 B. Glombitza, *Lipidsysteme als Stratum corneum Modelle Charakterisierung und Eignung für Permeationsuntersuchungen*, Dissertation, Technische Universität Carolo-Wilhelmina Braunschweig, 2001.

- 131 M.W. de Jager, Development of a stratum corneum substitute for in vitro percutaneous penetration studies - a skin barrier model comprising synthetic stratum corneum lipids, Dissertation, Universität Leiden, 2006.
- 132 M.W. de Jager, H.W.W. Groenink, R. Bielsa i Guivernau, E.M. Andersson, N.S. Angelova, M. Ponec, J.A. Bouwstra, A novel in vitro percutaneous penetration model: evaluation of barrier properties with p-aminobenzoic acid and two of its derivatives, *Pharm. Res.* 23(5) (2006), 951-960.
- 133 J. Zbytovská, New insights into the stratum corneum lipid membrane organisation - an x-ray and neutron scattering study, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2006.
- 134 D.E. Bugay, W.P. Findlay, Vibrational spectroscopy. In: D.E. Bugay, W.P. Findlay (Ed.), *Pharmaceutical Excipients. Characterization by IR, RAMAN, and NMR Spectroscopy*. Drugs and the Pharmaceutical Sciences, Marcel Decker New York, 94 (1999), 1-9.
- 135 H. Günzler, H.U. Gremlich, *IR Spektroskopie. Eine Einführung*, WILEY-VCH, Weinheim, 2003.
- 136 B. Schrader (Ed.), *Infrared and RAMAN Spectroscopy. Methods and Applications*, VCH, Weinheim, 1995.
- 137 H.W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawata, H.M. Heise, *Near-Infrared Spectroscopy. Principles, Instruments, Applications*, Wiley-VCH, Weinheim, 2001.
- 138 J. Chalmers, P.R. Griffiths (Eds.), *Handbook of Vibrational Spectroscopy*. Vol. 1-5, Cinchester: Wiley & Sons, 2001.
- 139 N.B. Colthup, L.H. Daly, S.E. Wiberley, *Introduction to Infrared and RAMAN Spectroscopy*. 3rd ed. San Diego: Academic Press, 1990.
- 140 H.U. Gremlich, B. Yan (Eds.), *Infrared and RAMAN spectroscopy of biological materials*. New York: Marcel Dekker, 2001.
- 141 D. Lin-Vien, N.B. Colthup, W.G. Fateley, J.G. Grasselli, *The Handbook of Infrared and RAMAN characteristic frequencies of organic molecules*, Boston: Academic Press, 1991.
- 142 C.N. Banwell, E.M. McCash, *Molekülspektroskopie*, R. Oldenbourg Verlag München, 1999.
- 143 P. Kubelka, J. Munk, Ein Beitrag zur Optik der Farbanstriche, *Z. Techn. Phys.* 12 (1931), 593-601.
- 144 F. Boroumand, J.E. Moser, H. v.d. Bergh, Quantitative diffuse reflectance and transmittance infrared spectroscopy of nondiluted powders, *Appl. Spectrosc.* 46 (12) (1992), 1874-1886.
- 145 A. Rosencwaig, *Photoacoustics and Photoacoustic Spectroscopy*, New York: Wiley, 1980.
- 146 A. Rosencwaig, A. Gersho, Theory of the photoacoustic effect with solids, *J. Appl. Phys.* 47 (1976), 64-69.
- 147 A. Mandelis, B.S.H. Royce, Time-domain photoacoustic spectroscopy of solids, *J. Appl. Phys.* 50 (1979), 4330-4338.
- 148 S. Wartewig, R.H.H. Neubert, Pharmaceutical applications of Mid-IR and RAMAN spectroscopy, *Adv. Drug Delivery Rev.* 57 (2005), 1144-1170.
- 149 G. Reich, Near-infrared spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical applications, *Adv. Drug Delivery Rev.* 57 (2005), 1109-1143.

- 150 Y. Roggo, P. Chalus, L. Maurer, C. Lema-Martinez, A. Edmond, N. Jent, A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 44 (2007), 683–700.
- 151 B. Schrader, Possibilities of RAMAN spectroscopy in the near-IR range. Part 1, *Chemie in unserer Zeit* 31(5) (1997), 229-234.
- 152 B. Schrader, Opportunities of RAMAN spectroscopy in the near-IR range. Part 2. Application examples for vibrational spectroscopy from chemistry to archeology and medicine, *Chemie in unserer Zeit* 31(6) (1997), 270-279.
- 153 A. Grunenberg, B. Keil, J.O. Henck, Polymorphism in binary mixtures, as exemplified by nimodipine, *Int. J. Pharm.* 118(1) (1995), 11-21.
- 154 L.S. Taylor, G. Zografi, The qualitative analysis of crystallinity using FT-RAMAN spectroscopy, *Pharm. Res.* 15(5) (1998), 755-761.
- 155 A.C. Williams, H.G.M. Edwards, B.W. Barry, Fourier transform RAMAN spectroscopy. A novel application for examining human stratum corneum, *Int. J. Pharm.* 81(2-3) (1992), 11-14.
- 156 M. Wegener, R. Neubert, W. Rettig, S. Wartewig, Structure of stratum corneum lipids characterized by FT-RAMAN spectroscopy and DSC. I. ceramides, *Int. J. Pharm.* 128(1-2) (1996), 203-213.
- 157 S. Raudenkolb, Untersuchungen zur strukturellen und physikochemischen Charakterisierung von Stratum corneum Lipiden und deren Mischsystemen, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2002.
- 158 J. Zbytovská, S. Raudenkolb, S. Wartewig, W. Hübner, W. Rettig, P. Pissis, A. Hrabálek, P. Dolezal, R.H.H. Neubert, Phase behaviour of transkarbam 12, *Chem. Phys. Lipids* 129 (2004), 97-109.
- 159 N.N., Handbuch OPUS 5.5, Bruker Optik, Ettlingen, Deutschland, 2004.
- 160 N.N., Europäisches Arzneibuch, Amtliche Deutsche Ausgabe, 6. Ausgabe, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart, Govi-Verlag, Eschborn, 2008.
- 161 N.N., Deutsches Arzneibuch, DAV Stuttgart, Govi-Verlag, Pharmazeutischer Verlag, Eschborn, 2006.
- 162 Gelbe Liste, <http://www.gelbe-liste.de/>.
- 163 Rote Liste, <http://www.rote-liste.de/>.
- 164 N. Higo, A. Naik, D.B. Bommannan, R.O. Potts, R.H. Guy, Validation of reflectance infrared-spectroscopy as a quantitative method to measure percutaneous absorption in vivo, *Pharm. Res.* 10(10) (1993), 1500-1506.
- 165 A.L. Stinchcomb, F. Pirot, G.D. Touraille, A.L. Bunge, R.H. Guy, Chemical uptake into human stratum corneum in vivo from volatile and non-volatile solvents, *Pharm. Res.* 16(8) (1999), 1288-1293.
- 166 M.A. Pellett, A.C. Watkinson, J. Hadgraft, K.R. Brain, Comparison of permeability data from traditional diffusion cells and ATR-FTIR spectroscopy, 1. Synthetic membranes. *Int. J. Pharm.* 154(2) (1997), 205-215.

- 167 M.A. Pellett, A.C. Watkinson, J. Hadgraft, K.R. Brain, Comparison of permeability data from traditional diffusion cells and ATR-FTIR spectroscopy. 2. Determination of diffusional pathlengths in synthetic membranes and human stratum corneum, *Int. J. Pharm.* 154(2) (1997), 217-227.
- 168 A.L. Stinchcomb, F. Pirot, G.D. Touraille, A.L. Bunge, R.H. Guy, Chemical uptake into human stratum corneum in vivo from volatile and non-volatile solvents, *Pharm. Res.* 16(8) (1999) 1288-1293.
- 169 B.D. Hanh, R.H.H. Neubert, S. Wartewig, Investigation of drug release from suspension using FTIR-ATR technique: part I. Determination of effective diffusion coefficient of drugs, *Int. J. Pharm.* 204(1-2) (2000), 145-150.
- 170 B.D. Hanh, R.H. Neubert, S. Wartewig, Investigation of drug release from suspension using FTIR-ATR technique: part II. Determination of dissolution coefficient of drugs, *Int. J. Pharm.* 204(1-2) (2000), 151-158.
- 171 M. Dias, J. Hadgraft, S.L. Raghavan, J. Tetteh, The effect of solvent on permeant diffusion through membranes studied using ATR-FTIR and chemometric data analysis, *J. Pharm. Sci.* 93(1) (2004), 186-196.
- 172 J. Hadgraft, Modulation of the barrier function of the skin, *Skin Pharmacol.* 14(1) (2001), 72-81.
- 173 S.E. Cross, B.M. Magnusson, G. Winckle, Y. Anissimov, M.S. Roberts, Determination of the Effect of Lipophilicity on the in vitro Permeability and Tissue Reservoir Characteristics of Topically Applied Solutes in Human Skin Layers, *J. Invest. Dermatol.* 120 (2003), 759 -764.
- 174 K. Vávrová, K. Lorencová, J. Klimentová, J. Novotný, A. Holý, A. Hrabálek; Transdermal and dermal delivery of adefovir: Effects of pH and permeation enhancers; *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 69 (2008), 597–604.
- 175 J.-P. Marty, Amorolfine nail lacquer: a novel formulation, *J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol.* (4) (1995), 17-21.
- 176 A. Gupta, R. Baran, Ciclopirox nail lacquer solution 8% in the 21st century, *J. Amer. Acad. Dermatol.* 43 (4), 96-102.
- 177 P. Langguth, G. Fricker, G. Wunderli-Allenspach, *Biopharmazie*, WILEY-VCH, Weinheim, 2004.
- 178 S. Ensslin, K.P. Moll, H. Metz, M. Otz, K. Mäder, Modulating pH independent release from coated pellets – effect of coating composition on solubilization processes and drug release, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*(2008) doi: 10.1016/j.ejpb.2008.11.005.
- 179 D. Brockmeier, In vitro/in vivo correlation of dissolution using moments of dissolution and transit times. *Acta Pharm. Techn.* 32 (1986), 164–174.
- 180 A.M. Kligman, E. Christophers, Preparation of isolated sheets of human stratum corneum, *Arch. Dermatol.* 88 (1963), 702-705.
- 181 M.K. Gupta, A. Vanwert, R.H. Bogner, Formation of physical stable amorphous drugs by milling with neussilin, *J. Pharm. Sci.* 92 (2003), 536-551.
- 182 D.H. Bui, Anwendung von nicht-invasiven spektroskopischen Methoden zur Optimierung der Wirkstoffpenetration aus Suspensionen, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2001.

- 183 C. Bruhn, *Arzneimittel und Therapie. Rheumatoide Arthritis. Zeitgerechte Behandlung der Morgensteifigkeit*, DAZ 1/2 (2009), 44-46.
- 184 J. Schmidt, *Direkttablettierung niedrigschmelzender nichtsteroidaler Antirheumatika mit Mikrokristallinen Cellulosen*, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 1997.
- 185 L. Duffours, T. Woignier, J. Phalippou, Irreversible volume shrinkage of silica aerogels under isostatic pressure, *J. Non-Cryst. Solids* 194(3) (1996), 283-290.
- 186 R. Pirard, J.-P. Pirard, Aerogel compression theoretical analysis, *J. Non-Cryst. Solids* 212(2,3) (1997), 262-267.
- 187 T. Woignier, L. Duffours, I. Beurroies, J. Phalippou, P. Delord, V. Gibiat, Plasticity in aerogels, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 8(1/2/3) (1997), 789-794.
- 188 A.H. Alaoui, T. Woignier, J. Phalippou, G.W. Scherer, Room temperature densification of aerogel by isostatic compression, *J. Sol-Gel Sci. Technol* 13(1/2/3) (1998), 365-369.
- 189 K.E. Parmenter, F. Milstein, Mechanical properties of silica Aerogels, *J. Non-Cryst. Solids* 223(3) (1998), 179-189.
- 190 S. Calas, R. Sempere, Textural properties of densified aerogels, *J. Non-Cryst Solids* 225 (1998), 215-219.
- 191 Ph. Dieudonne, P. Delord, J. Phalippou, Small angle x-ray scattering of aerogel densification, *J. Non-Cryst.* 225 (1998), 220-225.
- 192 S. Calas, C. Levelut, T. Woignier, J. Pelous, Brillouin scattering study of sintered and compressed Aerogels, *J. Non-Cryst. Solids* 225 (1998), 244-247.
- 193 I. Beurroies, L. Duffours, P. Delord, T. Woignier, J. Phalippou, Fractal geometry change induced by compression densification, *J. Non-Cryst. Solids* 241(1) (1998), 38-44.
- 194 T. Woignier, I. Beurroies, P. Delord, V. Gibiat, R. Sempere, J. Phalippou, Plastic densification in silica aerogels, *Eur. Phys. J. Appl. Phys.* 6 (3) (1999), 267-271.
- 195 J. Phalippou, F. Despetis, S. Calas, A. Faivre, P. Dieudonne, R. Sempere, T. Woignier, Comparison between sintered and compressed aerogels., *Opt. Mater.* 26(2) (2004), 167-172.
- 196 L. Perin, A. Faivre, S. Calas-Etienne, T. Woignier, Nanostructural damage associated with isostatic compression of silica Aerogels, *J. Non-Cryst. Solids* 331(1) (2004), 68-73.
- 197 R. Voigt, *Pharmazeutische Technologie*, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, 2000.
- 198 A. Burger, K.T. Koller, W.M. Schiermeier, RS-ibuprofen and S-ibuprofen (dexibuprofen). Binary system and unusual solubility behavior, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 42(2) (1996), 142-147.
- 199 A. Hinder, U. Guenther, R.H.H. Neubert, Crystallisation of metronidazole in semi-solid formulations, In: AE. Lewis, C. Olsen (Eds.), *Proceedings BIWIK 2007 14th International workshop on industrial crystallization*, Cape Town, South Africa, 2007, 26-39.
- 200 B. Møllgaard, A. Hoelgaard, Vehicle effect on topical drug delivery. II. Concurrent skin transport of drugs and vehicle components. *Acta Pharm. Suec.* 20(6) (1983), 443-450.

- 201 R. Mendelsohn, D.J. Moore, Vibrational spectroscopic studies of lipid domains in biomembranes and model systems, *Chem. Phys. Lipids* 96 (1998), 141-157.
- 202 S. Raudenkolb, S. Wartewig, R.H.H. Neubert, Polymorphism of ceramide 3. Part 2: a vibrational spectroscopic and X-ray powder diffraction investigation of N-octadecanoyl phytosphingosine and the analogous specifically deuterated d35 derivative, *Chem. Phys. Lipids* 124(2) (2003), 89-101.
- 203 R. Wang, J. Guo, G. Baran, S.L. Wunder, Characterization of the state of order of octadecylsilane chains on fumed silica, *Langmuir* 16 (2000), 568-576.
- 204 S. Raudenkolb, S. Wartewig, R.H.H. Neubert, Polymorphism of ceramide 6: a vibrational spectroscopic and X-ray powder diffraction investigation of the diastereomers of N-(α -hydroxyoctadecanoyl)-phytosphingosine, *Chem. Phys. Lipids* 133(1) (2005), 89-102.
- 205 C. Gensbügel, Mechanische Festigkeit und Penetrationseigenschaften von Nagellackfilmen, Diplomarbeit, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2003.

Publikationen

Originalarbeiten

U. Günther, M. Hartmann, S. Wartewig, R. Neubert (2006) Diffusion of urea through membranes. *Diffusion Fundamentals* 4: 4.1-4.5.

H. Podhaisky, U. Günther (2006) On parameter estimation in a diffusion process with piecewise constant coefficients. Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Fachbereich Mathematik und Informatik, *Report* No. 09.

U. Guenther, I. Smirnova, R.H.H. Neubert (2008) Hydrophilic silica aerogels as dermal drug delivery systems - dithranol as a model drug. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 69 (3): 935-942.

I. Smirnova, M. Alnaief, T. Mehling, U. Günther, R. Neubert, W. Arlt (2008) Poröse anorganische und organische Materialien als Träger für Arzneistoffe. *Chemie Ingenieur Technik*, Jg. 80, H. 9, 1295.

T. Mehling, I. Smirnova, U. Guenther, R.H.H. Neubert (2009) Polysaccharide-based aerogels as drug carriers; *J. Non-Cryst. Solids*, 355, 50, 2472.

Übersichtsartikel

U. Günther, S. Wartewig, H. Metz, R.H.H. Neubert (2008) Skin absorption as studied by spectroscopic methods. In: M.S. Roberts, K.A. Walters (Eds.) *Dermal Absorption and Toxicity Assessment*, Taylor & Francis, New York, NY, USA, 161-178

Weitere Veröffentlichungen

U. Günther (2004) Freisetzung von Dithranol aus hydrophilen Silica-Aerogelen und Penetration von dithranol- und aerogelhaltigen halbfesten Zubereitungen in Dodecanol-Collodium-Modellmembranen, *Diplomarbeit*, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

U. Günther, I. Smirnova, R.H.H. Neubert (2004) Freisetzung von Dithranol aus hydrophilen Silica-Aerogelen und Penetration von dithranol- und aerogelhaltigen halbfesten Zubereitungen in Dodecanol-Collodium-Modellmembranen, Institutskolloquium Lehrstuhl für Thermische Verfahrenstechnik, Erlangen (Vortrag)

U. Günther, R.H.H. Neubert, I. Smirnova (2006) Schwingungsspektroskopie an hydrophilen Silica - Aerogelen. Institutskolloquium Lehrstuhl für Thermische Verfahrenstechnik, Erlangen (Vortrag)

U. Günther, R.H.H. Neubert, I. Smirnova (2006) Modellsysteme zur Freisetzung und Penetration dermal applizierter Wirkstoffe. Institutskolloquium Lehrstuhl für Thermische Verfahrenstechnik, Erlangen (Vortrag)

Tagungsbeiträge

B.D. Hanh, U. Günther, M. Hartmann, S. Wartewig, R. Neubert (2005) Drug penetration studied by FTIR methods. *Gordon Research conference on Barrier function of mammalian skin* (Poster).

U. Günther, M. Hartmann, S. Wartewig, R. Neubert (2005) Diffusion of urea through membranes. *Diffusions Fundamentals*, Leipzig (Poster).

U. Günther, I. Smirnova, W. Arlt, R.H.H. Neubert (2006) Silica aerogels for dermal drug delivery. *5th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology*, Genf, Schweiz (Poster).

U. Guenther, I. Smirnova, W. Arlt, R.H.H. Neubert (2007) Hydrophilic silica aerogels used as drug delivery systems in solid formulations. *Controlled Release Society German Chapter Annual Meeting*, Braunschweig (Poster).

U. Günther, I. Smirnova, R.H.H. Neubert (2007) Silica aerogels for dermal drug delivery as studied by FTIR-ATR spectroscopy. *4th Polish-German Symposium*, Halle (Poster).

A. Hinder, U. Guenther, R.H.H. Neubert (2007) Crystallisation of metronidazole in semi-solid formulations. *14th International workshop on industrial crystallization*, Cape Town, Südafrika (Vortrag).

U. Günther, I. Smirnova, R.H.H. Neubert (2007) Dermal drug delivery by hydrophilic silica aerogels. *DPhG Jahrestagung*, Erlangen (Poster).

I. Smirnova, U. Günther, R.H.H. Neubert (2007) Aerogels: tailor-made carriers for immediate and prolonged release. *DPhG Jahrestagung*, Erlangen (Vortrag).

U. Günther, I. Smirnova, W. Arlt, R.H.H. Neubert (2007) Hydrophilic silica aerogels as drug delivery systems. *Mitteldutsche Doktorandentagung*, Bitterfeld (Vortrag).

U. Guenther, I. Smirnova, W. Arlt and R.H.H. Neubert (2008) Application of silica Aerogels as drug delivery systems. *6th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology*, Barcelona, Spanien (Poster).

I. Smirnova, M. Alnaief, T. Mehling, W. Arlt, U. Günther, R. Neubert (2008) Poröse anorganische und organische Materialien als Träger für Arzneistoffe. *ProcessNet-Jahrestagung*, Karlsruhe (Vortrag).

A.S.B. Goebel, U. Guenther, R.H.H. Neubert (2009) Barrier properties of different ceramides in stratum corneum model membranes. *Controlled Release Society German Chapter Annual Meeting*, Halle (Poster).

A.S.B. Goebel, U. Guenther, R.H.H. Neubert (2009) Permeation behaviour of diclofenac-sodium through stratum corneum model membranes. *5th Polish-German Symposium*, Poznań, Polen (Poster).

Danksagung

Ich danke...

... Prof. Dr. Dr. R. Neubert für die Möglichkeit, einer interessanten, vielseitigen und herausfordernden Aufgabenstellung mit großer Freiheit nachzugehen, für sein Interesse am Fortgang der Arbeit und die ständige Diskussionsbereitschaft.

... Prof. Dr. Irina Smirnova für die Möglichkeit, mit Aerogelen zu arbeiten. Sie stellte nicht nur die Aerogel-Proben zur Verfügung, sondern stand stets hilfreich und diskussionsfreudig zur Seite.

... Dr. Sandra Heuschkel für das angenehme Arbeitsklima und viele motivierende und fruchtbare Diskussionen.

... Frau E. Schumann von der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg für die gewissenhafte Herstellung ungezählter Aerogele.

... Frau M. Lackner für ihre geduldige und akkurate Unterstützung bei der Tablettierung der Aerogele und die Hilfe bei der Herstellung zahlloser Dithranolsalben.

... Dr. H. Metz für vielfältige Anregungen und ^1H -NMR-Messungen.

... Herrn D. Reese und seinen Mitarbeitern für den Bau der Diffusionszellen und andere feinmechanische Arbeiten.

... Dr. A. Kiesow vom Fraunhofer Institut für Werkstoffmechanik Halle für die Anfertigung von Rinderhufsnitten und elektronenmikroskopischen Bildern.

... Frau Schwarz für die DSC-Messungen und Frau Rudolf für die Durchführung der temperaturabhängigen RAMAN-Messungen.

... Dr. Hartmann von Bruker Optiks Leipzig, der bei vielen technischen Problemen um schnellstmögliche Lösungen bemüht war.

... Dr. Helmut Podhaisky vom Institut für Numerische Mathematik für die gute Zusammenarbeit.

... allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie für ihre Diskussionsbereitschaft sowie Hilfestellungen und das angenehme Arbeitsklima. Besonderer Dank gebührt MPharm Aleksandra Olejnik, Anke Hinder, Dr. Annett Schröter und Dipl.-Pharm. Catherine Pöllinger-Tieg.

... meiner Mutter für die Unterstützung, die ich während des Studiums und der Promotion erfahren habe.

... allen, die ihren - großen oder kleinen - Anteil zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben, insbesondere Ruth Beling und Jürgen Heine, die mich stets beharrlich und voller Vertrauen unterstützt haben.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Ulrike Günther
Geburtsdatum: 19.06.1979
Geburtsort: Halle (Saale)
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig

Schulbildung:

1986-1988 OS „Hermann Matern“ Halle
1988-1993 Huttenschule, seit 1991 KGS „Ulrich von Hutten“ Halle, Gymnasialzweig
1993-1998 Elisabeth-Gymnasium Halle, Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Studium:

04/1998-05/2003 Studium der Pharmazie an der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina Braunschweig
03/2001 Erster Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
05/2003 Zweiter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
06/2003-11/2003 Pharmaziepraktikum: Anfertigung einer Diplomarbeit im Fachbereich Pharmazie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Abschluss: Diplompharmazeutin (12/2004)
12/2003-05/2004 Pharmaziepraktikum: Apotheke Am Landrain, Halle (Saale)
07/2004 Dritter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
Approbation als Apothekerin

Berufstätigkeit:

08/2001, 02/2002, 08/2002 Wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Pharmazeutische Chemie (AG Görlitzer)
10/2004-12/2008 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
01/2009-05/2009 Apothekerin in der Stadt-Apotheke, Bad Dürrenberg
seit 06/2009 Apothekerin in der Helios-Apotheke, Halle (Saale)

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich gemäß § 5 Absatz 2b der Promotionsordnung der Naturwissenschaftlichen Fakultät I (Biowissenschaften) der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, dass ich die vorgelegte Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Weiterhin habe ich keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht. Die vorliegende Arbeit wurde noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Ulrike Günther

Halle (Saale), 07.04.2010