

Untersuchung von selbstklebenden topischen Matrix-Systemen zur Wirkstofffreisetzung aus kosmetischen und dermatologischen Patches

Vom Promotionsausschuss der
Technischen Universität Hamburg-Harburg
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor-Ingenieurin
genehmigte Dissertation

(urn:nbn:de:gbv:830-tubdok-12743)

von
Stefanie Meyer

aus
Hamburg

2014

Vorsitzender des Prüfungsausschusses: Prof. Dr. rer. nat. Andreas Liese

1. Gutachter: Prof. Dr.-Ing. Ralf Pörtner

2. Gutachter: Prof. Dr. habil. Michael Morlock Ph.D.

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Mai 2014

Zusammenfassung

Transdermale Pflaster bilden eine vielversprechende Alternative zur oralen Verabreichung von Wirkstoffen. Sie bieten einige Vorteile gegenüber konventionellen Darreichungsformen wie Tabletten. So kann über die Applikation eines transdermalen Pflasters ein konstanter Wirkstofffluss über einen langen Zeitraum (bis zu einer Woche) mit nur einer Anwendung erreicht werden. Die meisten transdermalen Pflaster besitzen einen monolithischen Aufbau, wobei die kritische Komponente eines monolithischen transdermalen Systems (TDDS) die Klebmasse darstellt. Die Auswahl einer geeigneten Klebmasse spielt demnach eine entscheidende Rolle im Design eines neuen transdermalen Pflasters.

Ziel dieser Arbeit war es, ein vertieftes Verständnis über den Einfluss der Einarbeitung eines Wirkstoffes in eine Klebmasse auf die perkutane Absorption dieses Wirkstoffes zu erlangen. Bisher ist wenig bekannt, wie die Klebmasse in einem TDDS die Freisetzung eines Wirkstoffes beeinflusst und welche Mechanismen dafür verantwortlich sind. Zur Aufklärung dieser Mechanismen wurden zehn verschiedene Wirkstoffe in Acrylat-, Kautschuk- und Silikon-Klebmassen eingearbeitet. Die dotierten Klebmassen wurden charakterisiert (max. Löslichkeit der Wirkstoffe, rheologisches Verhalten, Diffusionskoeffizienten der Wirkstoffe in den Klebmassen, perkutane Absorption auf Schweinehaut). Für die genaue Beobachtung von Diffusionsprozessen in transdermalen Systemen während der perkutanen Absorption wurde in der vorliegenden Arbeit eine neue Methode basierend auf konfokaler Raman Mikroskopie entwickelt. Die Betrachtung von Diffusionsprozessen in den Klebmassen mit Hilfe dieser neuen Methode lieferte einen neuen Einblick in die Prozesse während der Anwendung eines transdermalen Systems. Diese Diffusionsprozesse konnten mit Hilfe der konfokalen Raman Mikroskopie erstmals in den Klebmassen optisch dargestellt werden. Die perkutane Absorption der Wirkstoffe aus einem Penetrationsbeschleunigersystem aus Isopropylmyristat und Decyloleat wurde mit der Absorption aus den verschiedenen zuvor charakterisierten dotierten Klebmassen verglichen. Die Wirkstoffeigenschaften bestimmten dabei den maximal zu erreichenden Wirkstofffluss in der Haut. Der Sättigungsgrad des Wirkstoffes in den Klebmassen war für die Geschwindigkeit der perkutanen Absorption bei der Anwendung der transdermalen Systeme entscheidend. Zur Beschreibung dieser Geschwindigkeit wurde ein retardierender Effekt definiert. Dieser korrelierte gut mit dem Sättigungsgrad eines Wirkstoffes in einer Klebmasse. Mit der daraus resultierenden Gleichung konnte der retardierende Effekt einer Klebmasse auf die Freisetzung richtig vorhergesagt werden. Aus diesen Erkenntnissen wurde schließlich ein methodisches, strukturiertes Vorgehen bei der Entwicklung eines Prototypens eines TDDSs erstellt und erfolgreich getestet.

Vorwort

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von 2010 bis 2013 während meiner Tätigkeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin bei der Beiersdorf AG. Sie wurde dabei Rahmen eines F&E-Projekts (adhesive active release systems) im Labor Prototyping and Drugs durchgeführt. Es fand dabei eine Kooperation mit dem Institut Bioprozess und Biosystemtechnik (Leitung Prof. Dr. Zeng) der Technischen Universität Hamburg-Harburg unter der Betreuung von Herr Prof. Dr. Ralf Pörtner statt. Im Folgenden möchte ich den Personen danken, die mich während dieser Zeit unterstützt und damit wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

An erster Stelle möchte ich besonders Herrn Prof. Dr. Ralf Pörtner für die sehr gute Betreuung meiner Dissertation und die hilfreichen Diskussionen und Ratschläge danken. Außerdem gilt mein Dank Herr Dr. Jens Nierle sowie Herrn Dr. Rainer Wolber für die Bereitstellung des interessanten Forschungsthemas, die gut Betreuung und Unterstützung während meiner Arbeit sowie für die Möglichkeit meine Forschung bei Beiersdorf durchzuführen. Ebenso möchte ich Herrn Prof. Dr. Michael Morlock für die Übernahme des Koreferats und Herrn Prof. Dr. Andreas Liese für die Übernahme des Prüfungsvorsitzes meinen Dank aussprechen. Darüberhinaus möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der Abteilung Development Health Care für die Hilfsbereitschaft, die gute Zusammenarbeit und freundschaftliche Atmosphäre bedanken. Für das angenehme Arbeitsklima und die Unterstützung danke ich dabei besonders Dorthe Lüdemann und Karl-Heinz Wöller, mit denen ich in den letzten Jahren das Büro und das Labor geteilt habe. Mit ihrem Engagement zum Gelingen dieser Arbeit haben ebenfalls Philip Paetzold und Sandra Janssen beigetragen, deren Praktika ich betreuen durfte.

Nicht zuletzt aber gilt mein Dank meiner Familie und meinen Freunden, insbesondere meinen Eltern, für die fortwährende Unterstützung und das Interesse an meiner Arbeit.

Hamburg, Juni 2014

Stefanie Meyer

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Grundlagen	4
2.1	Transdermale Pflaster	4
2.1.1	Polymere	5
2.1.2	Herstellungsverfahren	7
2.2	Anwendungsgebiete für transdermale Pflaster	8
2.2.1	Entzündungsprozesse in der Haut.....	9
2.2.2	Pigmentierung in der Haut.....	10
2.3	Transdermale Route.....	11
2.3.1	Aufbau und Funktion der Haut.....	11
2.3.2	Überwindung der Hautbarriere	14
2.3.3	Theoretische Ansätze zur Beschreibung der transdermalen Route	17
2.4	Modelle zur Untersuchung der perkutanen Absorption	22
2.4.1	Ex vivo Modelle	22
2.4.2	In vitro Modelle	24
2.5	Charakterisierungsmethoden für transdermale Pflaster	25
2.5.1	Konfokale Raman Mikroskopie	25
2.5.2	Rheologie	27
2.5.3	Mittleres Molekulargewicht	29
3	Material und Methoden.....	30
3.1	Transdermale Systeme	30
3.1.1	Acrylatmatrices.....	30
3.1.2	Silikonmatrices	31
3.1.3	Kautschukmatrices	33
3.2	Wirkstoffe	35
3.3	Charakterisierung der transdermalen Systeme.....	36
3.3.1	Rheologie	36
3.3.2	Gelpermeationschromatographie (GPC).....	37
3.3.3	Löslichkeit von Wirkstoffen in Klebmassen	38
3.3.4	Dynamische Differentialkalorimetrie (DSC).....	38
3.4	Perkutane Absorption ex vivo	38

3.4.1	Franzzellen.....	39
3.4.2	Tape Stripping.....	40
3.4.3	Analytik.....	40
3.4.4	Kontaktfläche zur Schweinehaut.....	42
3.5	In vitro Untersuchungen.....	42
3.5.1	EpiDerm™ und Fibroblasten.....	43
3.5.2	Kultivierung EpiDerm™.....	43
3.5.3	Herstellung der TDDSs.....	44
3.5.4	MTT-Viabilitätsassay.....	45
3.5.5	Bestimmung der Zytokine.....	45
3.5.6	Bestimmung Magnolol und Honokiol.....	46
3.5.7	Melanininhibitor im MelanoDerm™ Hautmodell.....	46
3.5.8	Melaninbestimmung.....	47
3.5.9	Grauwert.....	47
3.5.10	Freisetzung.....	47
3.6	Diffusionskoeffizient in Wirkstofflösungen.....	48
3.7	Datenauswertung.....	48
3.7.1	Higuchi.....	49
3.7.2	Permeabilitätskoeffizienten.....	49
3.7.3	Diffusionskoeffizienten.....	50
3.8	Statistische Auswertung.....	50
4	Methodische Entwicklung.....	51
4.1	Beobachtung von Diffusionsprozessen mittels konfokaler Raman Mikroskopie	51
4.1.1	Bestimmung des Diffusionskoeffizienten.....	52
4.1.2	Wirkstoffdiffusion während der Applikation auf Schweinehaut.....	57
5	Ergebnisse.....	59
5.1	Charakterisierung der Wirkstoffe.....	59
5.2	Klebmassensysteme.....	63
5.2.1	Acrylate.....	63
5.2.2	Silikone.....	67
5.2.3	Kautschuke.....	71
5.3	Vergleich der unterschiedlichen Klebmasse-Systeme.....	73
5.3.1	Löslichkeit im Polymer.....	74
5.3.2	Rheologische Untersuchung.....	75
5.3.3	Perkutane Absorptionsstudien.....	80
5.4	Diffusionskoeffizient in der Polymergrundlage der TDDSs.....	86

5.5	Variation der PIB-Klebmasse.....	93
5.6	Perkutane Absorption in vitro (humane Hautmodelle).....	98
5.7	Wirksamkeitsuntersuchungen.....	103
5.7.1	Entzündungshemmende Wirkstoffe	103
5.7.2	Aufhellende Wirkstoffe.....	108
6	Diskussion.....	112
6.1	Diffusion durch die Hautbarriere – theoretische Modelle aus der Literatur	112
6.2	Diffusionskoeffizienten im Stratum corneum.....	115
6.3	Diffusionskoeffizienten in Klebmassen	117
6.4	Einfluss der Pflastermatrix auf die perkutane Absorption.....	118
6.4.1	Rolle der Wirkstoffsättigung in der Klebmasse	119
6.4.2	Rolle des Diffusionskoeffizienten in der Klebmasse.....	123
6.4.3	Rolle der physikalischen / mechanischen Eigenschaften der Klebmasse	124
6.5	Geschwindigkeitsbestimmender Schritt	129
6.6	Eignung humaner Hautmodelle für perkutane Absorptionsstudien	130
6.7	Wirksamkeit der TDDSs	132
6.7.1	Entzündungshemmende Wirkstoffe	132
6.7.2	Hautaufhellende Wirkstoffe	134
7	Protokoll für die Entwicklung eines Prototypen	136
7.1	Protokoll	136
7.2	Anwendung des Protokolls	138
7.2.1	Abschätzung der Permeationseigenschaften.....	138
7.2.2	Löslichkeit in den jeweiligen Klebmassen.....	139
7.3	Überprüfung des Protokolls	140
8	Schlussbemerkungen	142
9	Literaturverzeichnis	145
10	Abkürzungsverzeichnis.....	150
11	Symbolverzeichnis	152
12	Anhang.....	1
12.1	Verwendete Materialien.....	1
12.1.1	Chemikalien	1
12.1.2	Klebmassen	3
12.1.3	Zellkulturmaterialien	3
12.1.4	Analysekits.....	4

12.2	Geräte	4
12.3	Analytik	5
12.3.1	Methoden	5
12.4	Musterherstellung	7
12.4.1	Zusammensetzungen	8
12.5	Software	9
12.6	Raman-Spektren	9
12.7	3D-Plots PIB-Masse	12
12.8	Veröffentlichungen	14
12.9	Lebenslauf	15

1 Einleitung

Bei der oralen Verabreichung von Wirkstoffen kann es zu unterschiedlichen Problemen kommen. Einige Wirkstoffe werden in der Leber inaktiviert (First-Pass-Effekt), andere reizen die Magenschleimhaut. Außerdem haben gerade ältere Menschen häufig ein Problem mit der regelmäßigen Einnahme einer Vielzahl an Tabletten. Transdermale Pflaster bilden bei der Lösung dieser Probleme eine vielversprechende Alternative zur oralen Verabreichung von Wirkstoffen. Sie bieten einige Vorteile gegenüber konventionellen Darreichungsformen wie Tabletten. So kann über die Applikation eines transdermalen Pflasters ein konstanter Wirkstofffluss über einen langen Zeitraum (bis zu einer Woche) mit nur einer Anwendung erreicht werden und somit die Einnahmefrequenz der Arzneimittel gesenkt werden. Außerdem werden durch die Verabreichung über die transdermale Route der First-Pass-Effekt und Reizungen der Magenschleimhaut umgangen [1]. Die meisten transdermalen Pflaster besitzen einen monolithischen Aufbau. Der Wirkstoff ist hier direkt in der Klebmasse gelöst. Als kritische Komponente eines monolithischen transdermalen Systems ist die Klebmasse anzusehen. Die Klebeeigenschaften eines adhäsiven transdermalen Systems sind entscheidend für die Leistung des Produktes, ohne entsprechende Verklebung und Kontaktfläche zur Haut kann keine Wirkstofffreisetzung stattfinden. Die Auswahl einer geeigneten Klebmasse spielt demnach eine entscheidende Rolle im Design eines neuen transdermalen Pflasters [2]. Die Haut selbst limitiert jedoch den Wirkstofffluss während der Applikation eines transdermalen Systems (TDDS). Nur kleine Moleküle mit moderater Lipophilie sind in der Lage die Hautbarriere zu überwinden [3]. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Untersuchung transdermaler Pflastersysteme und deren Charakterisierung hinsichtlich der Wirkstofffreisetzung aus diesen Systemen in Haut.

Wie bereits bekannt ist, spielt die thermodynamische Aktivität eines Wirkstoffes in einem transdermalen System eine wichtige Rolle bei der Wirkstofffreisetzung aus einem solchen System [4]. Für die Entwicklung eines neuen transdermalen Pflasters müssen sowohl die Wirkstoffeigenschaften als auch die Eigenschaften der Klebmassen betrachtet werden. Die Prozesse während der Applikation eines transdermalen Systems sind dabei sehr komplex. Mehrere Diffusionsprozesse und Übergänge finden gleichzeitig statt. Welche Rolle die Einwirkung eines Wirkstoffes in eine Klebmasse (wie es bei einem adhäsiven transdermalen System der Fall ist) auf diese miteinander verknüpften Diffusionsprozesse spielt, ist noch nicht genau aufgeklärt. Bei der Verabreichung eines Wirkstoffes über die transdermale Route mit Hilfe eines transdermalen Pflasters beeinflussen verschiedene Faktoren die Höhe des Wirkstoffflusses in der Haut.

Die

- Diffusion des Wirkstoffes in der Klebmasse,
- der Übergang des Wirkstoffes von der Klebmasse in die Haut,
- die Diffusion des Wirkstoffes im Stratum Corneum der Haut,
- der Übergang des Wirkstoffes vom Stratum Corneum in die vitalen Schichten der Haut und
- die Diffusion des Wirkstoffes in den vitalen Schichten der Haut

sind dabei die entscheidenden Größen. Ziel dieser Arbeit war es in dieser Arbeit zu untersuchen, welcher dieser Faktoren für die Entwicklung eines neuen transdermalen Pflasters am wichtigsten ist. Es sollte der geschwindigkeitsbestimmende Schritt während der perkutanen Absorption eines Wirkstoffes aus einem TDDS identifiziert und der Einfluss der Klebmasse mit ihren unterschiedlichen Eigenschaften auf die Wirkstoffabsorption während der Anwendung eines adhäsiven transdermalen Systems aufgeklärt werden. Außerdem sollte ein besseres Verständnis über den Einfluss der Einarbeitung eines Wirkstoffes in eine Klebmasse auf die perkutane Absorption eines Wirkstoffes erlangt werden. Ziel war es schließlich aus den gewonnenen Erkenntnissen ein methodisches, strukturiertes Vorgehen bei der Entwicklung eines neuen transdermalen Pflasters zu erstellen.

Für die Untersuchung der unterschiedlichen Diffusionsprozesse während der Anwendung eines TDDS wurden möglichst unterschiedliche Wirkstoffe in verschiedene Polymersysteme für transdermale Pflaster (Acrylate, Silikone und Kautschuke) eingearbeitet. Als Modell für die perkutane Absorption in vivo diente ein ex vivo Schweinehautmodell mit statischen Franzzellen. Die perkutane Absorption der Wirkstoffe ohne Einarbeitung in eine Klebmasse könnte damit untersucht und mit der Absorption nach der Einarbeitung in ein adhäsives Matrix-System verglichen werden. Unterschiedliche Eigenschaften der Klebmatrices (maximale Löslichkeit der Wirkstoffe in den Klebmassen, rheologische Eigenschaften, Molekulargewichtsverteilungen und Diffusionskoeffizienten der Wirkstoffe in den Klebmassen) sollten mit den Ergebnissen der Absorptionsstudien korreliert werden. Zeigt sich eine Korrelation einer dieser einfach zu messen Eigenschaften, kann diese später bei der Entwicklung eines neuen TDDS als Auswahlkriterium der Klebmasse verwendet werden.

Zu dem sollte die Wirksamkeit verschiedener transdermalen Systeme mit der systemischen Verabreichung eines Wirkstoffes verglichen werden. Dafür wurden Untersuchungen mit humanen Hautmodellen (EpiDerm™ und MelanoDerm™) in vitro durchgeführt. Die in Absorptionsstudien mit Schweinehaut ex vivo gewonnenen Daten konnten dann mit den in vitro Versuchen mit humanen Hautmodellen verglichen werden. So war es möglich die Barrierefunk-

tion humaner Hautmodelle im Vergleich zu für Absorptionsstudien gängige Modelle einzuschätzen werden und die Eignung solcher Zellkultur-Modelle für Absorptionsstudien zu bewerten.

Die relevanten Grundlagen dieser Arbeit sind in Kapitel 2 zusammengefasst. Kapitel 3 beschreibt die verwendeten Methoden, die für die Generierung der Ergebnisse, die in Kapitel 5 zu finden sind, eingesetzt wurden. In Kapitel 4 wird die methodische Entwicklung dieser Arbeit beschrieben. Kapitel 6 greift die Ergebnisse auf, um verschiedene Aspekte unter Einbeziehung verfügbarer Literatur zu diskutieren. Das Kapitel 7 beschreibt das in dieser Arbeit neu entwickelte Vorgehen bei der Entwicklung eines transdermalen Pflasters. Zusammenfassende Schlussfolgerungen und ein Ausblick (Kapitel 8) schließen diese Arbeit.

2 Grundlagen

In diesem Kapitel werden die Grundlagen zu transdermalen Pflastersystemen, deren Zusammensetzung, Anwendungsgebiete und Charakterisierungsmethoden vorgestellt. Des Weiteren wird auf die transdermale Route als Verabreichungsform für Wirkstoffe eingegangen und die mathematische Beschreibung dieser Verabreichungsform dargestellt.

2.1 Transdermale Pflaster

Das erste transdermale Pflaster kam 1981 zur Behandlung von Seekrankheit auf den Markt. Mittlerweile sind mehr als 35 Produkte dieser Art mit wenigstens 13 verschiedenen Wirkstoffen erhältlich. Es gibt jedoch einige Faktoren, die die Verabreichung eines Wirkstoffes über die Haut limitieren. Nur Moleküle kleiner 500 g/mol sind überhaupt in der Lage von der Haut absorbiert zu werden [1]. Weitere Limitierungen bei der Anwendung der Technologie der transdermalen Pflaster stellen das Auftreten von Hautirritationen am Anwendungsort dar. Des Weiteren kann die Absorptionsrate eines Wirkstoffes je nach Applikationsort variieren, da die Haut in ihrer Beschaffenheit an den unterschiedlichen Körperregionen variiert und dadurch verschiedene Barriereigenschaften aufweist. Darüber hinaus ist die Effektivität des Klebens eines transdermalen Pflasters oft von Individuum zu Individuum unterschiedlich. Ohne eine gute Verklebung mit der Haut und damit einem vollflächigen Kontakt des Produktes zum Applikationsort kann keine genügend hohe Absorptionsrate garantiert werden. Ein gutes Klebeverhalten auf Haut ist also für die Anwendung essentiell.

Generell kann zwischen zwei verschiedenen Arten von transdermalen Pflastern unterschieden werden: Reservoir-Systeme und monolithische Systeme [1]. Der generelle Aufbau von monolithischen sowie von Reservoir-Systemen ist in Abbildung 2-1 dargestellt.

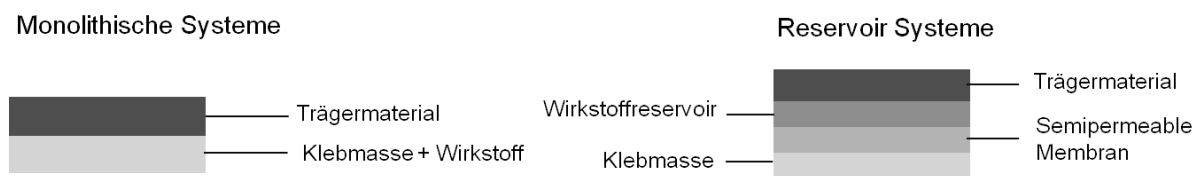


Abbildung 2-1 Aufbau transdermaler Systeme

Eine Limitierung beim Design monolithischer Systeme liegt in der Wirkstoffkonzentration in der jeweiligen Klebmasse. Mehr als 10% Wirkstoff lassen sich meist nicht in eine Klebmasse einarbeiten, ohne einen negativen Effekt auf die Klebkraft des Produktes auf Haut zu erwirken. Müssen jedoch für eine effektive Therapie höhere Dosen eines Wirkstoffes appliziert werden, muss auf ein teureres und aufwendiger zu produzierendes Reservoir-System zurückgegriffen werden.

Die Hauptkomponente eines transdermalen Pflasters ist die Klebmasse. Sie entscheidet in ihrer Beschaffenheit über die Eigenschaften des späteren Produktes. Im Folgenden wird auf die unterschiedlichen Möglichkeiten in der Formulierung einer Klebmasse sowie deren Herstellungsverfahren eingegangen.

2.1.1 Polymere

Klebmassen bestehen aus einem polymeren Grundgerüst und Klebanteilen. Die ersten klebenden Verbände basierten auf Naturkautschuk. Die Entwicklung synthetischer Klebmassen aus oxidationsbeständigen Acrylatcopolymeren mit genügender Reinheit für Biokompatibilität mit menschlicher Haut erweiterte das Spektrum. Neben Kautschuken, die mittlerweile ebenfalls hauptsächlich synthetischen Ursprungs sind wie Polyisopren, und Acrylatcopolymeren bilden Silicone die dritte Gruppe von Grundpolymeren für (transdermale) Pflaster [5]. Des Weiteren gibt es transdermale Gel-Pflaster mit einem Wassergehalt von über 40% oder Systeme die ihre Klebrigkeit erst über Wasseraufnahme generieren [2]. Im Folgenden werden die verschiedenen Polymergruppen in Klebmassen näher beschrieben.

Acrylate

Auf Acrylaten basierende Klebmassen werden durch die Kombination von harten und weichen Monomeren in unterschiedlichen Verhältnissen hergestellt. Diese unterschiedlichen Eigenschaften von Monomeren können über die Glasübergangstemperatur beschrieben werden. Weiche Substanzen besitzen ihren Glasübergang bei niedrigen Temperaturen, harte bei hohen Temperaturen. Verschiedene Monomere für Acrylatcopolymeren und ihre Glasübergangstemperaturen sind in Tabelle 2-1 zusammengefasst. Die große Vielfalt an chemisch modifizierten Acrylatmonomeren erlaubt die Synthese von Polymeren mit einer großen Vielseitigkeit in ihren physikochemischen Eigenschaften [2].

Tabelle 2-1 Monomere für die Synthese von Acrylatcopolymeren [2]

Monomere	Glasübergangstemperatur [°C]
Butylacrylat	-54
Isobuthylacrylat	-40
2-Ethylhexylacrylat	-85
Ethylacrylat	-22
Methymethacrylat	105
Vinylacetat	29

Die Acrylcopolymere dominieren klar den medizinischen Markt für transdermale Pflaster [2]. Sie sind durch die Anwesenheit von gesättigten funktionellen Gruppen oxidationsbeständig, außerdem zeichnen sich Acrylatklebmassen durch ihre Transparenz und ihre geringe Toxizität aus.

Silikone

Unter dem Namen Silikon werden Polymere zusammengefasst, die in ihrem Grundgerüst über Sauerstoffatome gebundene Siliciumatome aufweisen. Die übrigen freien Bindungsstellen des Siliciumatoms sind durch mindestens einen organischen Rest besetzt. Als weitere Bindungspartner sind Wasserstoff und Reste wie Hydroxygruppen, Halogene und Aminogruppen zu nennen. Chemisch genau gesprochen handelt es sich bei Silikonen um Polyorganosiloxane [6].

Zu den zahlreichen Anwendungsgebieten von Silikonen zählt auch der medizinische Bereich. Ihre Eignung für diesen Einsatz zeichnet sich durch Eigenschaften und Merkmale wie eine hohe Gaspermeabilität, gute Biokompatibilität, eine geringe Toxizität und gute Permeabilität von therapeutischen Substanzen aus [7].

In dem großen Gebiet der medizinischen Anwendung werden Silikone verstärkt dort eingesetzt, wo ein Kontakt zur Haut besteht. Silikonklebmassen werden in der Versorgung von Narben und Wunden eingesetzt. Dabei zeichnen sie sich durch lange Tragezeiten und rückstandsfreies Entfernen von der Haut aus. Ein weiteres wichtiges Feld ihrer Verwendung ist das der transdermalen Systeme. Besonders lipophile Wirkstoffe können eingearbeitet werden und erreichen gute Freisetzungseigenschaften. Die Einarbeitung von Wirkstoffen in Silikone kann jedoch zu Problemen in der Aushärtung dieser führen. Das Auspolymerisieren wird dabei durch Aminogruppen der Wirkstoffmoleküle gestört. Durch eine Entfernung freier Hydroxygruppen in Silikonen ist jedoch auch eine Kompatibilität mit Aminogruppen-haltigen Wirkstoffen gegeben [7].

Kautschuke

Die früheste Art von Klebstoffen bestand zunächst aus Naturkautschuk. Naturkautschuk besitzt jedoch durch Latex-Proteine ein erhöhtes allergenes Potential. Mittlerweile werden aber meist Synthetikautschuke wie Polyisobutylene (PIB), Polyisopren oder Styrol-Isopren-Styrol Blockpolymere (SIS) für die Herstellung von Kautschuk-Klebmassen verwendet. In Isopren oder SIS-basierten Systemen werden häufig Harze für die Einstellung der Klebrigkeit eingesetzt. Das erste auf dem Markt befindliche transdermale Pflaster bestand aus Polyisobutylene. PIB-Klebmassen werden durch die Mischung hochmolekularer Polyisobutylene und PIBs mittleren Molekulargewichts sowie niedermolekularen PIBs hergestellt. Mit den niedermolekularen Bestandteilen lassen sich dabei der Tack und die Klebkraft der Systeme einstel-

len. Insgesamt besitzen PIB-basierte Klebmassen eine niedrigere Klebkraft im Vergleich zu anderen Matrixsystemen. Die größten Nachteile beim Einsatz Kautschuk-basierter Klebstoffe in (transdermalen) Pflastern sind ihre niedrige Beständigkeit gegenüber Oxidationsprozessen (vor allem im Falle ungesättigter Kautschuke) und ihre niedrige Luft- und Wasserdurchlässigkeit. Letzteres kann zu einem erhöhten Risiko an Hautirritationen durch Okklusion bei einer längeren Tragedauer führen [2].

Andere

Neben den klassischen Klebmasse-Systemen aus Acrylaten, Kautschuken oder Silikonen gibt es noch weitere Grundlagen für transdermale Pflaster. Kommerziell erhältliche Beispiele für solche TDDSs sind das Voltaren[®]-Pflaster (Novartis) und das ABC-Sensitive Pflaster (Beiersdorf AG). Diese Pflaster besitzen einen hohen Wassergehalt und basieren auf in Wasser gelbildenden Polymeren wie Gelatine, Agar oder Polyacrylsäure. Hydro-Gele sind besonders in Asien, insbesondere in Japan, als Anwendungsform weit verbreitet und werden im japanischen Arzneibuch unter dem Begriff Kataplasma definiert [8]. Auch Polymerfolien aus Polyvinylalkohol (PVA) oder Polyvinylpyrrolidone (PVP) werden als transdermale Systeme verwendet. Diese Folien kleben erst bei Kontakt mit Feuchtigkeit [9]. Solche feuchtklebenden Filme werden meist für die Anwendung in der Mundhöhle eingesetzt [10].

2.1.2 Herstellungsverfahren

Die Polymere und Additive können auf unterschiedliche Arten zu klebenden Filmen, also zu fertigen Pflastern verarbeitet werden. Die verschiedenen Herstellverfahren sind im Folgenden beschrieben.

Hotmelt Verfahren

In dem Hotmelt Verfahren werden die polymeren Komponenten geschmolzen und somit in einander gelöst. Weitere Komponenten wie z.B. Hydrokolloide, Flüssigkeiten und Wirkstoffe werden anschließend in dieser Schmelze gelöst bzw. dispergiert. Die Temperaturen des Hotmelt-Prozesses richten sich nach den thermischen Eigenschaften der beteiligten Komponenten, mindestens muss der Schmelzbereich der eingesetzten Polymere erreicht werden. Die Bedeutung des Hotmelt Verfahrens bei der Herstellung von Haftklebstoffen nimmt wegen seiner hohen Nachhaltigkeit, im Vergleich zu konventionellen Lösemittelmethode(n) (s.u.), stetig zu. Die Herstellung der Klebstoffe erfolgt bei hohen Scherkräften in geeigneten Knetern oder Extrudern [11].

Lösungsmittel

Bei dem Lösemittel-Verfahren werden die einzelnen Komponenten im Gegensatz zu dem Hotmelt-Verfahren nicht in sich selbst, sondern in einem zusätzlichen Lösungsmittel gelöst und anschließend ausgestrichen. Als Lösungsmittel werden meist organische Lösungsmittel wie Ethylacetat oder Benzin eingesetzt. Aber auch Ethanol, Toluol und 2-Propanol sind häufiger Bestandteil der Lösungsmittel. Diese Flüssigkeiten werden für alle drei Polymerklassen verwendet. Sowohl Acrylate, als auch Kautschuke und Silicone sind als Lösung in solchen organischen Flüssigkeiten erhältlich. Bestimmte Acrylate können auch in Wasser dispergiert werden. Die Eigenschaften des Klebstoffs stellen sich erst nach dem Ausstreichen und gezielten Verdampfen des Lösemittels ein. Erst hierbei lagern sich die Polymerketten zusammen und können ineinander diffundieren [11].

Zwei-Komponenten-Systeme

Silicon-Klebstoffe werden häufig als Zwei-Komponenten-Systeme verwendet. Hierbei entsteht erst durch eine Vermischung beider Komponenten die fertige Klebmasse über eine meist Platin katalysierte Reaktion. Beide Komponenten sind dabei lösungsmittelfrei [7].

2.2 Anwendungsgebiete für transdermale Pflaster

Die Verabreichung eines Wirkstoffes über die Haut bietet, wie bereits erwähnt, im Vergleich zur konventionellen oralen Einnahme einige Vorteile. Zum einen wird durch die Nutzung der transdermalen Route der First-Pass-Effekt in der Leber vermieden, zum anderen können Reizungen der Magenschleimhaut ausgeschlossen werden. Weitere Vorteile transdermaler Systeme liegen in einer Aufrechterhaltung eines konstanten Wirkstoffspiegels über einen Zeitraum von bis zu einer Woche. Transdermale Pflaster können zum anderen zur lokalen Therapie oder zur systemischen Therapie eingesetzt werden. Bei der lokalen Therapie wirken die verabreichten Substanzen direkt in der Haut oder im ihr direkt unterliegenden Muskelgewebe. Beispiele für solche Anwendungen sind im Folgenden aufgelistet.

- Behandlung von Entzündungsprozessen in der Haut bzw. dem ihr unterliegenden Muskelgewebe (Diclofenac, Bsp.: Voltaren® Produkte, Novartis)
- Wärmewirkung auf die Muskulatur (Capsaicin, Bsp. ABC Wärme-Pflaster Capsicum, Beiersdorf AG)
- Hautaufhellung / Pigmentflecken (Rucinol, Bsp. Eucerin even brighter, Beiersdorf AG)
- Behandlung viraler Infektionen wie Herpes (Aciclovir, Bsp. Zovirax® Creme, Glaxo-SmithKline)

Beim lokalen Einsatz von Wirkstoffen wird nicht der ganze Körper mit den wirksamen Substanzen belastet.

Bei der systemischen Wirkung eines transdermalen Pflasters muss der Wirkstoff bis in die Blutbahn gelangen. Beispiele für solche Therapien über transdermale Pflaster sind

- Schmerztherapie (Fentanyl, Bsp.: Durogesic[®] SMAT, Janssen-Cilag GmbH)
- Hormontherapie (Ethinylestradiol, Bsp.: EVRA[®] transdermales Pflaster, Janssen-Cilag GmbH)
- Nikotinersatztherapie (Nikotin, Bsp.: Nicotinell[®], Novartis)

Die lokalen Anwendungsgebiete der Behandlung von Entzündungsprozessen in der Haut sowie die Behandlung von Pigmentflecken standen für die Prototypenentwicklung der Beiersdorf AG im Vordergrund. Produkte mit systemischer Wirkung spielten hierfür keine Rolle. Im Folgenden wird zum besseren Verständnis auf die biologischen Prozesse während einer Entzündung sowie der Pigmentierung in der Haut genauer eingegangen.

2.2.1 Entzündungsprozesse in der Haut

Eine Entzündungsreaktion ist ein aktiver lokaler Abwehrprozess ausgelöst durch eine Schädigung des Gewebes. Diese Gewebeschädigung kann durch unterschiedliche Reize verursacht werden. Die für eine Entzündung verantwortlichen Reize können mechanisch, thermisch, aktinisch, chemisch, immunologisch und/oder mikrobiell sein. Symptome sind dabei Rötung, Schwellung, Erwärmung, Schmerz sowie Funktionseinschränkung der Haut [12].

Der schematische Ablauf einer Entzündungsreaktion in der Haut ist in Abbildung 2-2 dargestellt. Durch den Entzündungsreiz wird Hautgewebe zerstört. Die in der Epidermis enthaltenen Keratinozyten setzen nach Zellschädigung in ihrem Zytoplasma enthaltenes Interleukin (IL) 1- α frei. Dieses IL 1- α leitet die Produktion weiterer sogenannter Entzündungsmediatoren ein [13].

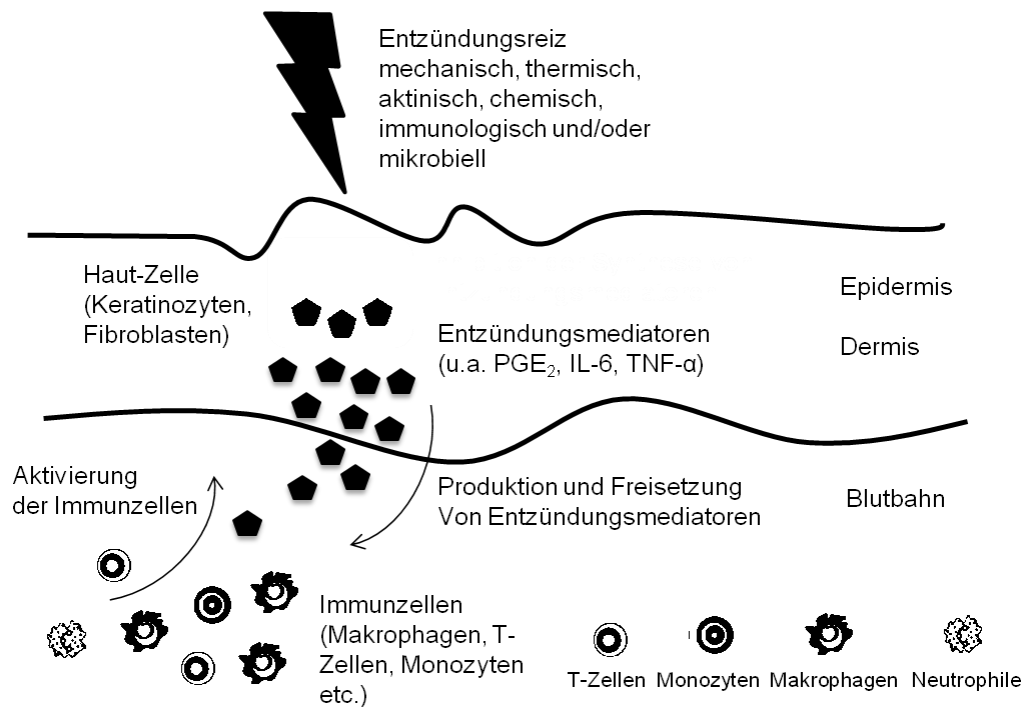


Abbildung 2-2 Schematische Darstellung der Entzündungsreaktion in der Haut

Entzündungsmediatoren werden in zwei Gruppen unterteilt, Eikosanide und Zytokine. Eikosanide umfassen Leukotriene und Prostaglandine wie PGE₂, Zytokine umfassen Interleukine wie IL-6 und Tumornekrosefaktoren wie TNF-α. Die Ausschüttung dieser verschiedenen Mediatoren ins Gewebe führt zu einer Erweiterung der Blutgefäße, Aktivierung der Immunzellen und Veränderung der Durchlässigkeit des Gewebes für Immunzellen. Die Immunzellen können somit in das beschädigte Hautgewebe wandern und dort Reparaturprozesse einleiten. Während einer Entzündungsreaktion auftretende Symptome werden durch die Entzündungsmediatoren ausgelöst. Eine Erhöhung des Blutflusses und der Durchlässigkeit des Hautgewebes für Immunzellen verursacht Hautrötung, Schwellung und Erwärmung [14].

Entzündungshemmende Wirkstoffe wie Diclofenac und Ibuprofen inhibieren die Produktion von Entzündungsmediatoren im Hautgewebe nach einem Entzündungsreiz und mindern somit Hautrötung, Schwellung und Schmerzen [15, 16].

2.2.2 Pigmentierung in der Haut

Die Färbung der menschlichen Haut wird durch die Melaninsynthese in Melanozyten in der Epidermis verursacht. Der schematische Ablauf der Melaninsynthese ist in Abbildung 2-3 dargestellt.

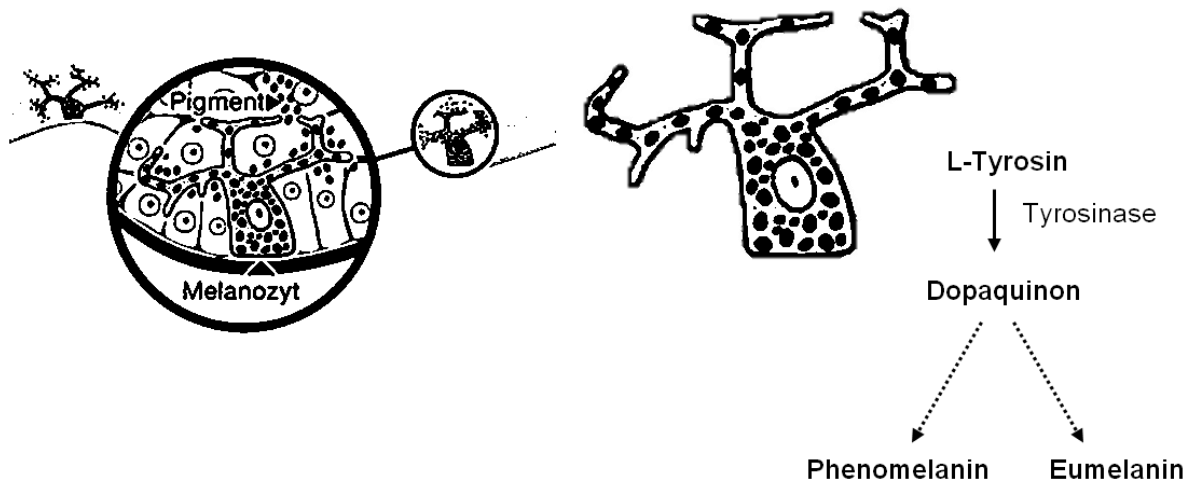


Abbildung 2-3 Schematische Darstellung der Melaninproduktion in der Epidermis [17]

Die Melaninproduktion ist hauptsächlich über die Expression und Aktivität des Enzyms Tyrosinase gesteuert. Die Tyrosinase wandelt L-Tyrosin in die Melaninvorstufe Dopaquinon um. Dieses wird dann in weiteren Schritten zu Phenomelanin und Eumelanin umgesetzt. Wirkstoffe wie Rucinol verhindern die Produktion von Melanin (Phenomelanin und Eumelanin) in den Melanozyten durch kompetitive Hemmung dieses Enzyms [18] und haben somit eine hautaufhellende Wirkung.

2.3 Transdermale Route

Zu den Aufgaben der Haut gehört es, das Eindringen exogener Substanzen in den Körper zu verhindern. Demgegenüber steht das Interesse Wirkstoffe dermal zu applizieren. Dadurch werden, wie schon erwähnt, die Anwendungsmöglichkeiten der transdermalen Route für die Verabreichung von Wirkstoffen durch die Eigenschaften der Haut limitiert. Diese Limitierungen sind im Aufbau und der Beschaffenheit der Haut als Organ begründet. Für das Verständnis der Einschränkungen in der Nutzung der transdermalen Route ist es wichtig die Zusammensetzung der Haut in ihren unterschiedlichen Schichten zu verstehen.

Im Folgenden werden der Aufbau der Haut, ihre Zusammensetzung sowie die Möglichkeiten zur Überwindung der Hautbarriere näher beschrieben.

2.3.1 Aufbau und Funktion der Haut

Die Haut ist das größte Organ des Menschen und umfasst ungefähr eine Fläche von 2 m². Sie verhindert den Verlust von Wasser und unterbindet als physikalische, chemische und biologische Barriere zur Umwelt das Eindringen von Fremdstoffen in den Körper. Ohne die Haut würde der Wasserverlust so groß sein, dass der Mensch nicht überleben könnte. Die

Haut ist aus unterschiedlichen Strukturen aufgebaut und setzt sich aus den drei Schichten Epidermis, Dermis sowie der Subkutis zusammen. Ihr schematischer Aufbau ist in Abbildung 2-4 dargestellt. Die Hautdicke kann individuell variieren und durch Alter und Geschlecht beeinflusst sein. Die Dicke der Epidermis und Dermis beträgt zusammen je nach Körperregion 1,5 bis 4 mm, während die Dicke der Subkutis von 0,1 mm bis zu mehreren Zentimetern betragen kann [19].

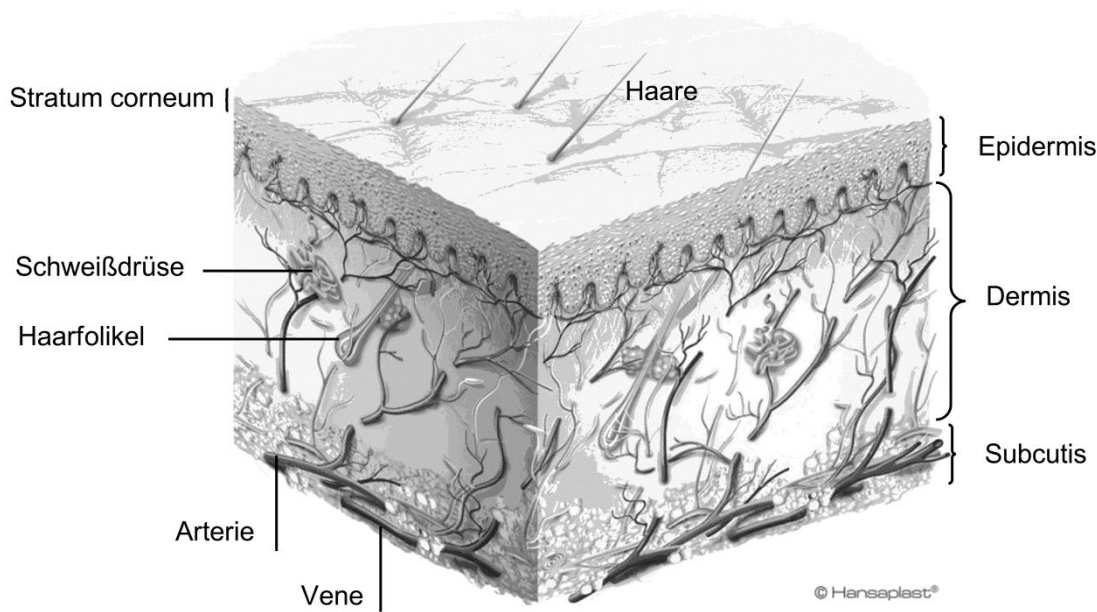


Abbildung 2-4 Aufbau der menschlichen Haut (© Hansaplast®)

Die oberste Schicht der Haut, die Epidermis, ist wiederum in fünf Schichten unterteilt, dem Stratum corneum, Stratum lucidum, Stratum granulosum, Stratum spinosum und dem Stratum basale, wie in Abbildung 2-5 dargestellt. Bei der Epidermis handelt es sich um ein Gewebe, das einer ständigen Erneuerung unterworfen ist. Sie besteht vorwiegend aus speziellen, ziegelartig geschichteten Hautzellen, sogenannten Keratinozyten. Dieses Epithel weist eine Dicke von 0,04 bis 1,2 mm (in Schwielen sogar bis zu 2 mm) auf. Keratinozyten, die in verschiedenen Differenzierungsstadien in der Epidermis vorliegen, sind in der Lage, zahlreiche biologisch aktive Moleküle zu bilden und können so Entzündungs- und Immunreaktionen der Haut beeinflussen (s. Entzündungsprozesse in der Haut). Die Epidermis ist nicht vaskularisiert, sondern wird durch das umliegende Bindegewebe mit Sauerstoff und Nährstoffen versorgt. Neben Keratinozyten sind auch Melanozyten, Langerhanszellen und Merkelzellen in diesem Gewebe zu finden. Die Melanozyten sind dabei für die Pigmentierung der Haut verantwortlich (s. Pigmentierung in der Haut), bei Langerhanszellen handelt es sich um dendritische Zellen des Immunsystems. Merkelzellen sind spezifische Sinneszellen, die als Druckrezeptoren dienen.

Die oberste Schicht der Epidermis, das Stratum corneum, bildet die Grenzfläche zur Umwelt und die direkte Barriere der Haut nach außen. Das Stratum corneum besteht aus abgestorbenen Keratinozyten, die auch als Korneozyten (Hornzellen) bezeichnet werden. Korneozyten weisen keine Merkmale vitaler Zellen auf und sind extrem abgeflachte kern- und organellenlose Zellen. Zusätzlich zu diesen verhornten Zellen besteht das Stratum corneum aus interzellularen Lipiden, wie Ceramiden, Sterolen und freien Fettsäuren. Die Lipide sind als multilamellare, interzellulare Membranen organisiert und bilden so das Gerüst des Stratum corneums, in dem die Korneozyten eingebettet sind [20]. Durch intakt gebliebene Enzyme kommt es in dieser Schicht zum Abschilfern der Korneozyten.

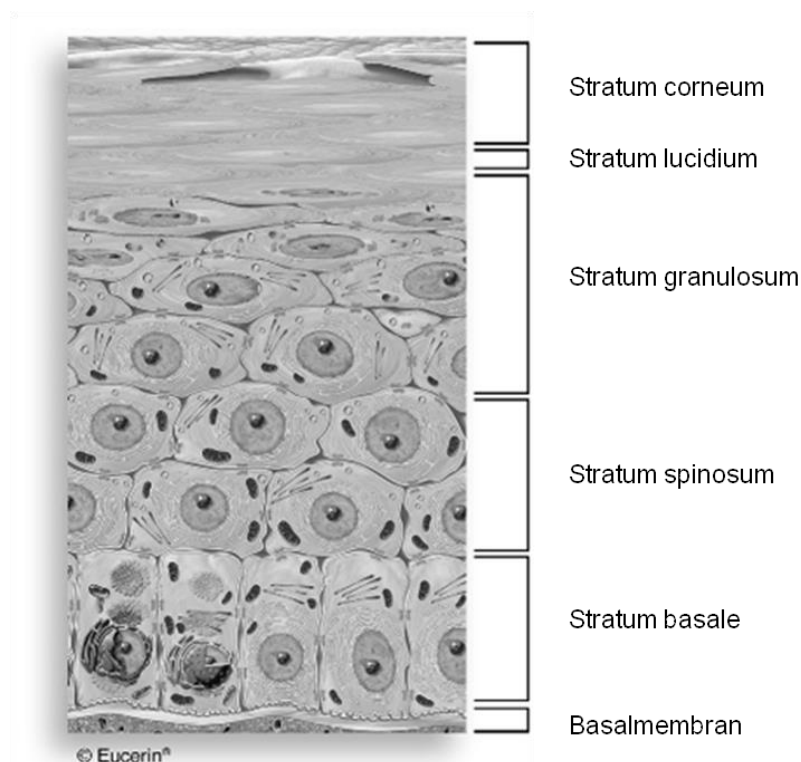


Abbildung 2-5 Aufbau der Epidermis (©Eucerin®)

Die Dermis ist das Bindegewebe der Haut. Sie verleiht der Haut ihre Stabilität und Elastizität. Darüber hinaus sind in ihr die Haarfollikel verankert. Fibroblasten sind der vorwiegende Zelltyp der Dermis, außerdem sind hier Immunzellen wie Leukozyten, Endothelzellen und Mastzellen zu finden. Die Bindegewebsfasern Kollagen und Elastin bilden die extrazelluläre Matrix dieses Gewebes. Die Dermis ist tief in der Subkutis, dem Unterhautfettgewebe der Haut, verankert.

2.3.2 Überwindung der Hautbarriere

Die Haut ist eine sehr heterogene Membran bestehend aus unterschiedlich organisierten Schichten mit verschiedenen Zelltypen, wie zuvor beschrieben (s. Aufbau und Funktion der Haut). Die äußerste Schicht, das Stratum corneum kontrolliert hauptsächlich die Absorption von Substanzen aus der Umwelt. Das Stratum corneum ist nur 15 - 20 µm dick. Die Überwindung dieser relativ dünnen Schicht stellt aufgrund ihrer Beschaffenheit jedoch einige Anforderungen an einen Wirkstoff. Nicht jedes Molekül ist in der Lage durch das Stratum Corneum zu penetrieren, vor allem das Molekulargewicht (und somit die Größe eines Moleküls) sowie die Lipophilität einer Substanz spielen für die Penetrationseigenschaften eines Moleküls eine entscheidende Rolle. Die Lipophilität verschiedener Wirkstoffe wird hierbei meist über den Oktanol / Wasserverteilungskoeffizienten log P verglichen.

$$\log P = \log \left(\frac{\text{Anteil in Oktanol}}{\text{Anteil in Wasser}} \right) \quad (1.)$$

Die in der Literatur beschriebenen Aussagen über den optimalen log P Wert eines Moleküls für die Penetration durch menschliche Haut sind in Tabelle 2-2 zusammengefasst.

Tabelle 2-2 optimaler Oktanol / Wasser Verteilungskoeffizient einer Substanz für die Penetration durch Haut

Benson et al. 2008 [3]	Williams 2004 [21]	Hadgraft 2001 [22]	Beetge et al. 2000 [23]
log P 1-3	log P = 1- 3,5	log P ≈ 2	log P ≤ 2

Der Oktanol / Wasserverteilungskoeffizient wird aus unterschiedlichen Gründen als Referenzsystem für die Verteilungseigenschaften in der Haut verwendet [24]:

- Oktanol bildet in Wasser eine dem Stratum corneum ähnliche Struktur
- es existieren große Datenbanken mit experimentell ermittelten log P Werten
- es gibt bereits viele Methoden um die Lipophilität eines Moleküls auf der Grundlage von log P Daten abzuschätzen

Für die Verabreichung eines Wirkstoffe über die Haut sollte das Molekül abgesehen vom log P Wert zwischen 1 und 3,5 ein Molekulargewicht kleiner 500 g/mol besitzen, für die Wasserlöslichkeit gilt ein Wert von 1 mg/mL als optimal [25]. Im Bereich von 200 - 500 g/mol gibt es keine Korrelation zwischen der Größe eines Moleküls und dessen Penetration durch menschliche Haut [26].

Ein Wirkstoff kann entweder transzellulär oder interzellulär durch die Hautbarriere diffundieren. Außerdem kann ein Penetrationsweg am Haarschaft und über Schweißdrüsen der Haut

erfolgen. In Abbildung 2-6 sind die verschiedenen Penetrationswege von Molekülen durch die Struktur des Stratum corneum illustriert.

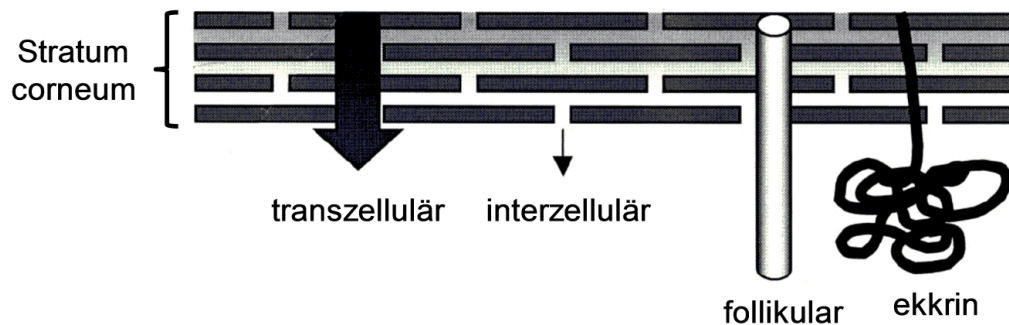


Abbildung 2-6 Penetrationswege durch das Stratum corneum [22]

Es gibt unterschiedliche Strategien, um die Penetration eines Wirkstoffes durch die Hautbarriere zu beschleunigen. Zum einen wird über die Zugabe von verschiedenen chemischen Substanzen zu transdermalen Formulierungen versucht, eine strukturelle Veränderung in den Lipidstrukturen des Stratum Corneum zu erreichen und so die Hautbarriere zu schwächen. Zum anderen kommen physikalische Methoden zum Einsatz, um das Stratum corneum zu überwinden. Im Folgenden wird auf beide Ansätze genauer eingegangen.

Penetrationsbeschleuniger in den Formulierungen

Der Einsatz von Penetrationsbeschleunigern in transdermalen Formulierungen ist weit verbreitet. Die meisten Penetrationsbeschleuniger interagieren mit den interzellulären Lipiden des Stratum corneum. Die Modelle für die Wirkung von Penetrationsbeschleunigern sind komplex. Die interzellulären Lipid-Strukturen im Stratum corneum können durch eine Extraktion der Lipide, eine Fluidisierung der Lipide, eine Phasenseparation sowie einer Polaritätsalternation von Zusatzstoffen in den transdermalen Formulierungen aufgebrochen werden. Moleküle wie unter anderem Wasser, Sulfoxide, Alkohole, Azone, grenzflächenaktive Stoffe, Pyrrolidone oder Phospholipide können als Penetrationsbeschleuniger zum Einsatz kommen [27]. Die Wirkung einiger dieser Stoffe im Stratum corneum ist im Folgenden näher beschrieben.

Wasser: Der Wassergehalt im Stratum corneum liegt bei ca. 15-20% des Trockengewichts. Unter Okklusion kann der Wassergehalt jedoch auf bis zu 400% ansteigen. Im Allgemeinen scheint eine erhöhte Feuchtigkeit des Stratum corneum die perkutane Absorption sowohl von hydrophilen, als auch von lipophilen Stoffen zu erhöhen. Der genaue Mechanismus dabei ist noch unklar [27]. Jedoch kann Okklusion zu lokalen Hautirritationen führen [28].

DMSO: Einer der frühesten und am meisten untersuchten Penetrationsbeschleuniger ist Dimethylsulfoxid (DMSO). Eine Erhöhung der perkutanen Absorption von hydrophilen sowie lipophilen Stoffen durch DMSO wurde beobachtet. Jedoch ist eine Konzentration von > 60%

in der Formulierung für einen optimalen Beschleunigungseffekt nötig. Der Mechanismus der Penetrationsbeschleunigung beruht zum einem auf der Veränderung der Konformation des Keratins in der Haut (von α Helix zu β Sheet) und zum anderen auf der Interaktion von DMSO mit den interzellulären Lipiden des Stratum Corneums [27].

Fettsäuren: Die perkutane Absorption kann durch eine Vielzahl von langkettigen Fettsäuren erhöht werden. Die dafür am häufigsten verwendete Fettsäure ist Ölsäure. Für eine penetra-tionsbeschleunigende Wirkung reicht eine Konzentration von <10% Ölsäure in der Formulierung aus [27].

1,2-Propandiol: 1,2-Propandiol ist ein häufig verwendetes Vehikel in transdermalen Formulierungen. Es zeigt synergetische Effekte mit Ölsäure. 1,2-Propandiol wird jedoch auch alleine als Penetrationsbeschleuniger eingesetzt. Wie auch Ethanol diffundiert 1,2-Propandiol gut durch humanes Stratum corneum. 1,2-Propandiol kann dadurch die Löslichkeit eines Stoffes innerhalb des Hautgewebes verbessern. Darüber hinaus kann die schnelle Verdunstung von 1,2-Propandiol aus der Formulierung die thermodynamische Aktivität des Wirkstoffes in der Formulierung erhöhen und somit auch den Wirkstofffluss durch die Haut. Zusätzlich dazu soll auch eine Zerstörung der interzellulären Lipid-Doppelschichten durch 1,2-Propandiol verursacht werden [27].

Isopropylmyristat: Wie bei den vorher beschriebenen Stoffen (z.B. 1,2-Propandiol und Ethanol) findet man grenzaktive Stoffe wie Isopropylmyristat in vielen therapeutischen und kosmetischen Formulierungen. Meist werden diese Moleküle zu Formulierungen dazu gegeben um lipophile Substanzen zu lösen. Darüber hinaus haben sie auch das Potential, lipophile Wirkstoffe innerhalb des Stratum Corneum in Lösung zu halten [27].

Physikalische Methoden zur Penetrationsbeschleunigung

Neben der Verwendung von chemischen Penetrationsbeschleunigern in den transdermalen Formulierungen kann die Hautbarriere natürlich auch durch eine physikalische Verletzung des Stratum corneums überwunden werden. Dabei kommen verschiedenen Techniken wie die Verwendung von Mikronadeln, Iontophorese oder Ultraschall zum Einsatz. Diese unterschiedlichen Methoden werden im Folgenden beschrieben.

Mikronadeln: Eine kleine Fläche in der Größe eines traditionellen transdermalen Pflasters ist hierbei mit hunderten von Mikronadeln bedeckt. Die Haut wird von den Nadeln bei der Applikation des Pflasters nur in den ersten 15 μm , also dem Stratum corneum, durchstoßen. Somit entsteht bei der Anwendung kein Schmerz. Die Nadeln (meist Silikon-Nadeln) sind entweder mit Wirkstoff beschichtet oder es werden mit Wirkstoff gefüllte Hohl-nadeln aus Metall verwendet. Des Weiteren gibt es auch Mikronadeln, die sich während der Applikation in der Haut auflösen und dabei den Wirkstoff direkt in die Haut abgeben [29]. Diese minimal invasive Methode ermöglicht es, Moleküle größer 500 g/mol sowie Makromoleküle über die

Haut zu verabreichen [30]. Bisher gibt es jedoch noch keine transdermalen Produkte mit Mikronadeltechnologie auf dem Markt [1].

Iontophorese: Bei der Iontophorese wird typischer Weise ein niedriger kontinuierlicher Elektrische Fluss angewendet um die Hautbarriere zu überwinden. Der Wirkstoffstrom lässt sich über diesen elektrischen Fluss einstellen. Diese Methode wird derzeit klinisch verwendet um Lidocain zur lokalen Betäubung schnell verabreichen zu können [32].

Ultraschall: Sonophorese ist eine weitere aktive Form der transdermalen Darreichung von Wirkstoffen. Sie beschleunigt den Transport eines Moleküls durch die Zellmembranen mit Hilfe von Ultraschall. Ultraschallwellen verursachen eine akustische Kavitation, die die Lipid-Doppelschichten des Stratum corneums zerreißt und dadurch die Permeabilität des Stratum corneums gegenüber Wirkstoffen erhöht [27].

Alle Methoden ob Okklusion, chemische Penetrationsbeschleuniger, Mikronadeln etc. erhöhen das Risiko von Hautirritationen, die durch das transdermale System hervorgerufen werden können. Das Maß des Einsatzes von penetrationsbeschleunigenden Methoden muss also gegen das Hautirritationsrisiko abgewogen werden.

2.3.3 Theoretische Ansätze zur Beschreibung der transdermalen Route

Die perkutane Absorption ist ein passiver Prozess, der durch einfache Diffusion kontrolliert wird. Allgemein lassen sich solche Diffusionsprozesse mit dem 1. Fickschen Gesetz (für stationäre Diffusion) und dem Fickschen Gesetz 2. Ordnung (für instationäre Diffusionsprozesse) beschreiben. Bei dieser Betrachtung können Prozesse wie die Penetration am Haarfollikel und ekkrine Penetration während der perkutanen Absorption vernachlässigt werden.

Über die gesamte Anwendungsdauer eines transdermalen Systems betrachtet, handelt es sich bei der perkutanen Absorption aus einem TDDS um einen instationären Prozess. Es gilt also das 2. Ficksche Gesetz, welches über folgende Gleichung beschrieben wird [33],

$$\frac{\partial c_A}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c_A}{\partial x^2}, \quad t \geq 0, \quad x \geq 0 \quad (2.)$$

$$c_A(t = 0, x) = c_{A,0} = \text{const} \quad (3.)$$

mit dem Diffusionskoeffizienten D des Wirkstoffes in der Haut und der Wirkstoffkonzentration in der Haut c_A . Die Lösung dieser Differentialgleichung über die Gaußfunktion lautet,

$$c(t, x) = \frac{c_0 d}{\sqrt{\pi D t}} \exp\left(\frac{-x^2}{4Dt}\right) \quad (4.)$$

mit c_0 der Konzentration zum Zeitpunkt $t = 0$.

Während der Anwendung eines transdermalen Pflasters finden unterschiedliche instationäre Diffusionsprozesse statt. Zum einem erfolgt eine Wirkstoffdiffusion im Vehikel, zum anderen findet ein mehrlagiger Diffusionsprozess durch die unterschiedlichen Schichten der Haut, dem Stratum corneum, der Epidermis sowie der Dermis bis zur Resorption in die Blutbahn statt. Hinzu kommt der Übergang vom Vehikel zur Haut.

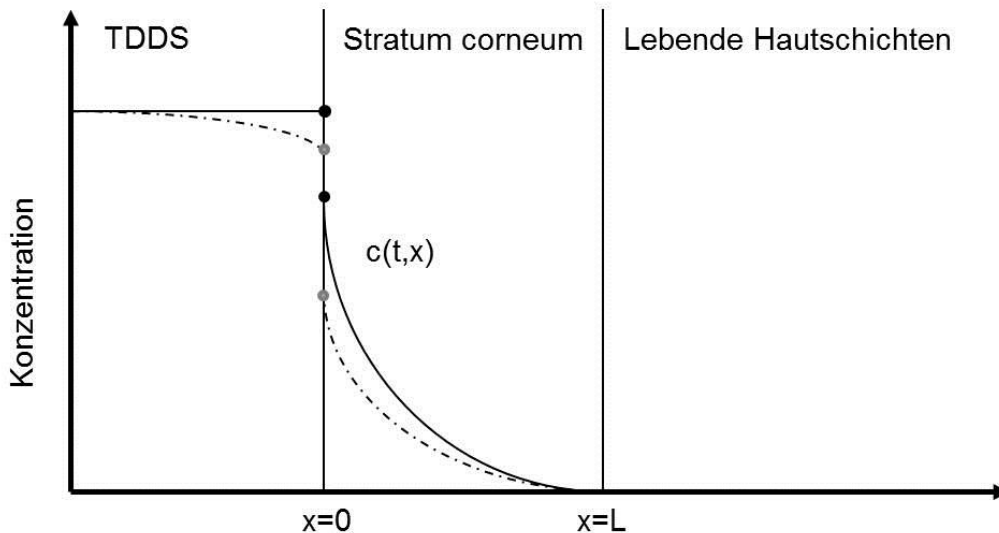


Abbildung 2-7 theoretische Wirkstoffverteilung im Pflaster und in der Haut während der Applikation eines TDDSs (- ohne Diffusionsgradient im TDDS, --- mit Gradient im TDDS)

Der theoretische Verlauf dieser Prozesse im transdermalen System sowie im Stratum corneum ist in Abbildung 2-7 dargestellt. Die durchgezogene Linie vernachlässigt dabei die Bildung eines Diffusionsgradienten im TDDS, die gestrichelte Linie beschreibt den Verlauf der Wirkstoffkonzentration bei Berücksichtigung Gradientenbildung in der Klebmasse des transdermalen Systems. Während der Anwendung eines transdermalen Systems stellt sich zunächst ein Gleichgewicht ein. In dieser Phase kann die perkutane Absorption als quasistationärer Prozess beschrieben werden. Für eine Betrachtung der perkutanen Absorption im Gleichgewicht (konstanter Wirkstofffluss) kann also das erste Ficksche Diffusionsgesetz verwendet werden. Die Gleichung wird dafür zu

$$J = \frac{D K \Delta c}{h} \quad (5.)$$

vereinfacht, mit J dem Wirkstofffluss pro Fläche, K dem Verteilungskoeffizient zwischen Vehikel und Haut, Δc dem Konzentrationsgradienten in der Haut sowie h dem Diffusionsweg. Die treibende Kraft für die Diffusion wird wie in Gleichung (5.) zum Gradienten der Konzentration $\delta c / \delta x$ vereinfacht, genaugenommen sollte jedoch der Gradient des chemischen Potentials $\delta \mu / \delta x$ betrachtet werden. Nach dem ersten Fickschen Diffusionsgesetz sollte der Wirkstofffluss mit der applizierten Konzentration linear ansteigen, bis eine Sättigung des

Wirkstoffes in der Formulierung erreicht ist. In einigen Fällen können jedoch Zusätze in einer Formulierung, wie zum Beispiel grenzflächenaktive Stoffe, die thermodynamische Aktivität des Wirkstoffes in der Formulierung reduzieren. Obwohl die Konzentration des Wirkstoffes in der Formulierung die gleiche bleibt, wird durch die Reduktion der Aktivität des Wirkstoffmoleküles in der Formulierung auch der Fluss des Wirkstoffes durch die Haut reduziert.

Es gibt spezifische Bedingungen, in denen ein Wirkstoff in einem transdermalen System übersättigt vorliegt. Dieser Zustand ist instabil. Kann er jedoch über die Lebenszeit eines Produktes aufrechterhalten werden, können so höhere Wirkstoffflüsse erreicht werden als mit gesättigten Formulierungen [22]. Solche Effekte können nicht durch die vereinfachte Darstellung der perkutanen Absorption über Gleichung (5.) abgebildet werden. Aufgrund der einfachen Struktur dieses Ansatzes wird er jedoch trotzdem meist für eine erste mathematische Beschreibung der perkutanen Absorption verwendet.

Aus dem ersten Fickschen Diffusionsgesetz lässt sich ein Permeabilitätskoeffizient K_P ableiten, wobei J_{ss} den Wirkstofffluss im Gleichgewicht, c_{TDDS} die applizierte Wirkstoffkonzentration und A die effektive Diffusionsfläche beschreibt [34].

$$K_P = \frac{J_{ss}}{c_{TDDS} A} = \frac{K D}{h} \quad (6.)$$

Die perkutane Absorption ist, wie zuvor erläutert, eine Abfolge aus Partition und Diffusion, für die neben der Anwendung von komplexen Lösungen der Fickschen Diffusion eine große Anzahl von physikochemischen Modellen beschrieben wurde. Eine Vielzahl von zum Teil empirischen Modellen existiert, um die Wirkstofffreisetzung aus einem transdermalen System im Vorherein abzuschätzen bzw. die perkutane Absorption vereinfacht zu beschreiben. Einige dieser Ansätze werden im Folgenden genauer betrachtet.

Higuchi (1963) [35]

Higuchi beschreibt die Freisetzung von in einer Formulierung dispergierten Wirkstoffmolekülen. In seinem Model wird die Freisetzungsrage Q (die Menge an freigesetzten Wirkstoff nach einer Zeit t pro Fläche) in Abhängigkeit zur Wurzel der Zeit dargestellt,

$$Q = \sqrt{Dt (2F - c_s)c_s} \quad (7.)$$

wobei D = Diffusionskoeffizient des Wirkstoffes in der Matrix der Formulierung, F = die Menge an Wirkstoff in der Matrix pro Fläche und c_s = die Löslichkeit des Wirkstoffes in der Formulierungsmatrix ist. Es gelten dabei ideale Sinkbedingungen. Die Beschreibung der Freisetzungsrage nach Higuchi in Abhängigkeit von \sqrt{t} findet eine breite Anwendung für die Cha-

rakterisierung monolithischer polymerer Matrixsysteme wie sie für transdermale Pflaster verwendet werden. Die Freisetzung aus Reservoir-Systemen, die über eine Membran kontrolliert wird, folgt jedoch nicht der Higuchi-Kinetik sondern einem mathematischen Ansatz 0. Ordnung [36]. Prozesse während der Applikation von Reservoir-Systemen auf Haut werden vom Modell Higuchis nicht abgebildet.

Kokubo et al. (1991) [37]

Mit Hilfe einer modifizierten WLF-Gleichung beschreiben Kokubo et al. 1991 die Diffusivität eines Wirkstoffes in einem Matrixsystem in Anhängigkeit der Glasübergangstemperatur T_g des Systems. Die Gleichung von Williams, Landel und Ferry (1955) [38] wiederum beschreibt die Viskosität η eines amorphen polymeren Systems über die Glasübergangstemperatur.

$$\log \eta = a + \frac{B}{(T - T_g)} \quad (8.)$$

$$\log \frac{\eta}{\eta_g} = - \frac{40 (T - T_g)}{51,6 + (T - T_g)} \quad (9.)$$

Mit Stockes-Einstein Gleichung $D = \frac{k}{\eta}$ (k = Konstante, D =Diffusionskoeffizient in der Matrix) kann diese Gleichung umgeschrieben werden,

$$\log D - a = - \frac{896,2}{51,6 + (T - T_g)} \quad (10.)$$

wobei die Konstante a eine Aussage über die Wirkstoff-Polymer Interaktion in dem System geben kann. Je größer die Interaktion, desto kleinere Werte von a wurden von Morimoto et al. (1992) [39] beobachtet.

Hinz et al. (1991)[40]

Hinz et al. beschrieben 1991 den Permeabilitätskoeffizienten eines Wirkstoffmoleküls K_p durch Haut mittels physikochemischen Eigenschaften des jeweiligen Moleküls. Sie beschränkten sich dabei auf den Oktanol / Wasserverteilungskoeffizienten für die Berechnung.

$$\log K_p \left[\frac{\text{cm}}{\text{h}} \right] = -5,18 (\pm 0,4) + 2,39 (\pm 0,35) \cdot \log P - 0,36 (\pm 0,07) \cdot (\log P)^2 \quad (11.)$$

Potts & Guy (1992) [41]

Wie auch Hinz et al. beschrieben auch Potts und Guy die Permeation von Wirkstoffmolekülen durch Haut mit Hilfe eines einfachen Modells über die Wirkstoffeigenschaften. Dieses

Modell verwendet mit dem Molekulargewicht MW und dem Oktanol / Wasserverteilungskoeffizienten log P physikochemische Eigenschaften des Wirkstoffes um seinen Permeabilitätskoeffizienten K_p in humaner Haut vorherzusagen bzw. zu beschreiben.

$$\log K_p \left[\frac{\text{cm}}{\text{h}} \right] = -2,7 + 0,71 \cdot \log P - 0,0061 \cdot MW \quad (12.)$$

mit

$$0,71 \cdot \log P - 0,0061 \cdot MW \ll 2,3 \quad (13.)$$

Diese empirische Gleichung besitzt eine physikalische Grundlage. Je lipophiler ein Molekül, desto größer wird seine Permeabilität aufgrund von besserer Partition in die Haut. Limitiert wird dieses durch die vitalen Hautschichten, die eine deutlich geringere Lipophilie aufweisen als das Stratum Corneum. Ab einer bestimmten Lipophilie und Größe eines Moleküls wird die Permeation durch Haut über Partition in die Epidermis und Dermis kontrolliert. Dieser Sachverhalt wird von Gleichung (9.) abgebildet.

Eine Erweiterung dieses Modells erfolgte 1995 [42]. Hier wurde von Potts und Guy statt des Molekulargewichts das molekulare Volumen des Moleküls und statt des Oktanol / Wasserverteilungskoeffizienten ein Verteilungskoeffizient zwischen der organischen Phase des Stratum corneums und Wasser verwendet. Außerdem kam ein Glied in die Gleichung, welches die Diffusivität eines hypothetischen Moleküls mit einem molekularen Volumen von 0 beschreibt.

$$\log P = \alpha \cdot \log K_{\text{org}} - \beta \cdot MV + \log D_0/\delta \quad (14.)$$

Das empirische Modell von Potts und Guy aus dem Jahr 1992 ist durch seine Einfachheit und gute Korrelation mit experimentellen Daten weitverbreitet, um die Permeabilität eines Moleküls durch Haut zu beschreiben und abzuschätzen [43].

Pugh et al. (2000) [44]

Pugh et al. beschrieben im Jahr 2000 die Permeation eines Moleküls durch Haut über das Molekulargewicht MW sowie die Ladung des Moleküls.

$$\log \left(\frac{D}{h} \right) = -2,66 - 0,00269 \cdot MW \cdot \text{Ladung} \quad (15.)$$

Wobei die Ladung die Summe der Moduli der partiell geladenen einzelnen Atome eines Moleküls entspricht. In diesem Modell werden damit auch die Möglichkeit der Wasserstoffbrückenbindungen des Wirkstoffes mit Substanzen in der Haut und der Einfluss der Ladung des Moleküls mit einbezogen.

2.4 Modelle zur Untersuchung der perkutanen Absorption

Für die Entwicklung eines transdermalen Systems benötigt man einfache Modelle, um perkutane Absorption in vivo im Vorherein in vitro gut abschätzen zu können. Die Situation während der Applikation in vivo soll dabei möglichst ideal nachgebildet werden. Verschiedene Methoden stehen hierfür zur Verfügung. Unter anderem kommen unterschiedliche Tiermodelle zum Einsatz, jedoch auch ex vivo Untersuchungen mit humaner oder tierischer Haut werden als Modell für die perkutane Absorption in vivo verwendet. Außerdem können in vitro Versuche mit Zellkulturmodellen für die Untersuchung perkutaner Absorption herangezogen werden. Im Folgenden sind ex vivo und in vitro Modelle zur Abbildung der perkutanen Absorption beschrieben.

2.4.1 Ex vivo Modelle

Ex vivo Modelle zur Abschätzung der perkutanen Absorption beruhen auf der Verwendung von Kadaverhaut. Wie zuvor beschrieben ist die perkutane Absorption ein durch passive Diffusion bestimmter Prozess, daher ist Kadaverhaut ein geeignetes Modell für die in vivo Penetration von Substanzen in die Haut. Das beste Modell ist dabei natürlich Humanhaut. Da Kadaverhaut vom Menschen jedoch nur begrenzt verfügbar ist, sie in ihrer Qualität oft stark variiert und meist von unterschiedlichen Körperregionen stammt, wird häufig auf tierische Haut als Modell für Humanhaut zurückgegriffen. Ratten sowie Mäusehaut als auch Schweinehaut dienen dabei meist als Ersatz für humane Haut, wobei Schweinehaut von den Tierhäuten das beste Modell für menschliche Haut darstellt. Schweinehaut kommt in ihrer Dicke und in ihrem Behaarungszustand der Humanhaut am nächsten. Ein Überblick über die Beschaffenheit von Rattenhaut, Mäusehaut, Schweinehaut und menschlicher Haut ist in Tabelle 2-3 zu sehen.

Tabelle 2-3 Übersicht über die Beschaffenheit von Ratten-, Mäuse-, Schweine- sowie Menschenhaut [45]

	Stratum Corneum	Epidermis	Gesamte Haut
Ratte	18 µm	32 µm	2,09 mm
Maus	9 µm	29 µm	0,7 mm
Schwein	17 µm	70 µm	2,97 mm
Mensch	21-26 µm	66-72 µm	kein Angabe

Es kann bei ex vivo Experimenten zum einen mit Vollhaut (Epidermis und Dermis) sowie mit der epidermalen Membran oder nur mit dem isolierten Stratum Corneum der Haut gearbeitet werden.

Ein Problem bei solchen ex vivo Versuchen ist die hohe Variabilität von Kadaverhaut. Eine Alternative zu Kadaverhaut stellen künstliche Membranen aus Silicon [46], [47], [48], [49], Cellulose-Acetat Membranen, Polycarbonat Membranen [50] oder Lipidmembranen [51] dar. Solche Synthetischen Membranen sind meist deutlich durchlässiger als Kadaverhaut. Da sie künstlichen Ursprungs sind, haben sie jedoch immer eine gleichbleibende Qualität.

Die Verwendung von Franz'schen Diffusionszellen (Franz et al. 1975 [52]) ist die bei weitem am häufigsten verwendete Methode für die Untersuchung von perkutaner Absorption ex vivo. Dieses Modell ist populär aufgrund seiner Einfachheit, seiner Kosteneffizienz und der einfachen Kontrolle der experimentellen Bedingungen. In Franzzellen können sowohl Kadaverhaut als auch synthetische Membranen verwendet werden. Ein Versuchsaufbau mit statischen Franzzellen (die auch als vertikale Diffusionszellen bezeichnet werden) ist in Abbildung 2-8 zu sehen. Bei diesen Diffusionszellen handelt es sich um eine temperierte Glasapparatur mit Rezeptorkammer und Auflagefläche für die Haut bzw. die Membran. Es gibt Franzzellen auch mit Donorkammer und automatischer Probenahme. Die Wahl der Rezeptorphase kann die Freisetzung entscheidend beeinflussen [53]. Als Rezeptorphase wird meist ein Phosphatpuffersystem (PBS) verwendet.

Ex vivo Versuche in Franzzellen zeigen eine gute Korrelation von Daten von Wirkstoffflüssen in vivo.



Abbildung 2-8 statische Franzzelle ohne Donor-Zelle

Wagner et al. 2001 [54] haben die Penetration von Flufenaminsäure in Humanhaut sowohl in vivo als auch ex vivo mit Franzzellen vermessen. Es wurde in vivo Flufenaminsäure auf die Haut aufgetragen, die danach während einer Schönheitsoperation entfernt wurde. Außerdem

wurde unbehandelte Haut von den gleichen Patienten für ex vivo Untersuchungen in Franzzellen verwendet. Bei einem Vergleich der Penetration in vivo und in vitro ergab sich ein Korrelationsfaktor von $r^2 = 0,927$.

2.4.2 In vitro Modelle

Für ein Produkt zur transdermalen Applikation ist es von Vorteil, die Penetrationseigenschaften durch menschliche Haut, das Hautirritationspotential sowie die Wirksamkeit verlässlich in vitro untersuchen zu können. Penetrationsuntersuchungen lassen sich gut an Kadaverhaut vornehmen (s. Ex vivo Modelle), um jedoch eine Aussage über das Irritationspotential und die Wirksamkeit einer Formulierung treffen zu können, werden andere in vitro Methoden benötigt.

Keratinocyten spielen eine wichtige Rolle bei der Initialisierung, Modellierung und Regulation einer Hautirritation in vivo (Coquette et al., 2000), daher bieten sich Untersuchungen an humanen Keratinocyten als Modell hierfür an. Die einfachste Möglichkeit humane Zellen in vitro zu kultivieren stellt der Monolayer dar. Monolayerkulturen bilden die in vivo Situation jedoch nur schlecht ab, die Verwendung humaner Hautmodelle mit humanen, in Multilayern differenzierten, auf einer synthetischen Matrix kultivierten Keratinocyten kommt humaner Haut in vivo deutlich näher [13]. Es gibt bereits diverse kommerziell erhältliche humane Hautmodelle. Die am weitverbreitetsten Hautmodelle sind EpiDerm™ (MatTek, USA), EpiSkin (SkinEthic Laboratories, Frankreich), Apligraf® (Organogenesis Inc., USA) und Skinethic® (SkinEthic Laboratoire, Frankreich) [55]. Auch diese Hautmodelle unterscheiden sich noch von der in vivo Situation. Ein Vergleich des Zellaufbaus von Haut in vivo und in vitro ist am Beispiel des Modells EpiDerm™ in Tabelle 2-4 zusammengefasst.

Tabelle 2-4 Aufbau der humanen Epidermis in vivo und in vitro am Beispiel des EpiDerm™ Modells

	Humane Haut in vivo [56]	EpiDerm™ [57]
Stratum corneum	10-20 Zelllagen	10-15 Zelllagen
Stratum lucidum	3-4 Zelllagen	-
Stratum granulosum	1-3 Zelllagen	} 8-12 Zelllagen
Stratum spinosum	2-5 Zelllagen	

Darüber hinaus besitzen humane Hautmodelle eine ca. 10-30fach erhöhte Permeabilität für Fremdstoffe gegenüber menschlicher Haut in vivo [13]. Die Hautbarriere ist in humanen Hautmodellen durch die Kultivierungsbedingungen im Brutschrank (37°C, hohe Luftfeuchtig-

keit) deutlich geringer als bei humaner oder tierischer Haut in vivo. Daten für die unterschiedlichen Permeabilitätskoeffizienten sind in Tabelle 2-5 zusammengefasst.

Tabelle 2-5 Permeabilitätskoeffizienten in $\text{cm/h} \cdot 10^{-5}$ von Koffein und Testosteron für humane Haut im Vergleich zu Zellkulturmodellen

	Koffein	Testosteron
Humane Epidermis	13,0 [58]	-
	7,6 [59]	9,4 [59]
EpiSkin	724 [58]	598 [58]
EpiDerm™	176,4 [59]	122,4 [59]
SkinEthic®	777,6 [59]	212,4 [59]

Durch die fehlende Interaktion mit der Blutversorgung können für Entzündungsreaktionen in vitro keine optischen Symptome beobachtet werden, daher müssen hier Biomarker wie die Zellviabilität, Entzündungsmediatoren wie IL-1 α , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , PGE₂ verwendet werden, um Entzündungsreaktionen zu betrachten [13].

2.5 Charakterisierungsmethoden für transdermale Pflaster

Unterschiedliche physikalische und chemische Methoden können verwendet werden, um ein transdermales Pflaster abgesehen vom Freisetzungsverhalten zu charakterisieren.

Eine genügende Klebkraft eines TDDS ist essentiell für die Wirksamkeit des Produktes. Durch Klebkraftmessungen in vitro (meist auf Stahl oder PE) sowie in vivo kann während der Entwicklung eines wirkstoffhaltigen Pflasters dieser Parameter abgeschätzt werden [2]. Mittels konfokaler Raman Mikroskopie kann die Wirkstoffverteilung im Pflaster bewertet werden. Mittels Rheologie können Rückschlüsse auf die Kohäsivität und den Tack gewonnen werden [2]. Außerdem werden häufig mittlere Molekulargewichte angegeben um Polymermischungen zu charakterisieren. Im Folgenden wird auf die konfokale Raman Mikroskopie sowie die Rheologie und die Berechnung mittlere Molekulargewichte näher eingegangen.

2.5.1 Konfokale Raman Mikroskopie

Konfokale Raman Mikroskopie kombiniert die dreidimensionale optische Auflösung eines konfokalen Mikroskops mit der Sensitivität der Raman Spektroskopie. So ermöglicht diese Methode es ein dreidimensionales Bild der chemischen Zusammensetzung eines Objektes in einer Mikrometerauflösung zu erstellen [60].

Ein Mikroskop, das konfokal arbeitet ist so aufgebaut, dass nur Strukturen aus der einen optischen Ebene abgebildet werden die unmittelbar in der Brennweite des Objektivs liegt. Im Gegensatz zu einem konventionellen Mikroskop wird nur ein Punkt der Probe fokussiert und anschließend nur das von diesem Punkt zurückgestreute Licht detektiert. Diese Konfokalität wird erreicht, indem mit einer Blende B_1 nur ein Punkt des Objektes zu einem Zeitpunkt beleuchtet wird und mittels einer zweiten Blende B_2 nur der in der Brennweite befindliche Teil des Punktes abgebildet wird. Die von außerhalb des Fokus stammenden Lichtstrahlen werden an der zweiten Blende zurückgehalten. Die Fokussierung des Strahls auf die Probe ist in x-, y- und z-Richtung variierbar. Hierdurch können Abbildungen aus verschiedenen Tiefen einer Probe erhalten und folglich räumliche Informationen über diese gewonnen werden. So entsteht ein dreidimensionales Bild des Objektes [60].

Um die örtliche Auflösung der Probe mit chemischen Informationen zu verbinden, wird bei der konfokalen Raman Mikroskopie der Raman-Effekt verwendet. Dieser basiert auf der inelastischen Streuung von monochromatischer VIS-Strahlung an den Molekülen der Probe. Die Frequenz der Streustrahlung wird durch die inelastischen Stöße der Photonen mit den Molekülen gegenüber der Frequenz der Lichtquelle verschoben. Die Umverteilung der Energie verläuft nach dem Quantengesetzen $\Delta J = \pm 2$.

Beim inelastischen Stoß können zwei Prozesse unterschieden werden:

- Stokes-Streuung - molekulare Energie wird erhöht und die Strahlung mit geringerer Frequenz abgestrahlt
- Anti-Stokes-Streuung - molekulare Energie wird gesenkt und die Strahlung mit höherer Frequenz abgestrahlt

Die Intensität der Streustrahlung korreliert mit der mittleren Polarisierbarkeit der Moleküle und ist dazu frequenzabhängig.

Damit eine Schwingung Raman-aktiv ist, muss die Polarisierbarkeit des Moleküls anisotrop sein.

$$\mu_{\text{ind}} = \alpha E \quad (16.)$$

μ_{ind} : durch die Ladungsverschiebung induzierter Dipolmoment

α : Polarisierbarkeit

E: Feldstärke

Zur Detektion wird ein Photovervielfacher verwendet, der senkrecht zur Probe und Strahlungsquelle angeordnet ist und somit nur von Streulicht erreicht werden kann [61, 62].

Die konfokale Raman-Mikroskopie wird unter anderem dafür verwendet, den Wassergehalt über die Dicke des Stratum corneums zu vermessen. Außerdem wurde mit dieser Methode

die Wirkstoffdiffusion in Haut in vitro sowie in vivo beobachtet. Mit der konfokalen Raman-Mikroskopie lässt sich zu dem die homogene Verteilung von Wirkstoffen in Tabletten und ähnlichen Darreichungsformen überprüfen [63-66].

2.5.2 Rheologie

Klebstoffen bestehen wie zuvor beschrieben aus Kautschuk-, Acrylat- oder Silikonpolymeren, die evtl. mit Vernetzern und Harzen versehen werden, um die Adhäsionseigenschaften des Produktes zu verbessern. Zusätzlich können diese auf Polymeren basierenden Matrixsysteme chemisch, thermisch oder über UV-Strahlung vernetzt werden. Daraus resultiert ein viskoelastisches Material mit einem ausgewogenen Verhältnis von Kohäsion und Adhäsion. Viskoelastisches Verhalten lässt sich mit Hilfe von dynamisch mechanischen Messungen beschreiben, indem die makromolekulare Beweglichkeit der Probe in Abhängigkeit von der Temperatur, der Verformung, der Zeit sowie der Frequenz erfasst wird. Dynamisch-mechanische Messungen sind Scherversuche mit sinusförmiger Änderung der Deformation. Dabei wird das Relaxionsverhalten eines viskoelastischen Materials über die Phasenverschiebung δ zwischen der Schubspannung τ und der Deformation γ beschrieben. Mit solchen Oszillationstests lassen sich alle Arten von viskoelastischen Substanzen von niederviskosen Flüssigkeiten über Polymerlösungen, Elastomeren bis hin zu starren Festkörpern untersuchen. Es gilt das Hookesche Gesetz in der Form für Oszillationsversuche

$$G^* = \frac{\tau(t)}{\gamma(t)} = G' + i G'' \quad (17.)$$

wobei G^* dem komplexen Schubmodul entspricht. Das Speichermodul G' in der Einheit [Pa] gilt als Maß für die während des Scherprozesses im Probenmaterial gespeicherte Deformationsenergie. G' repräsentiert das elastische Verhalten der Probe. Das Verlustmodul G'' in der Einheit [Pa] ist ein Maß für die während der Scherprozesse im Probenmaterial verbrauchte und danach für die Messprobe verlorene Deformationsenergie. Stoffe, die während eines Oszillationsversuches Energie verlieren, zeigen ein irreversibles Deformationsverhalten. Durch G'' wird das viskose Verhalten einer Messprobe beschrieben. Aus dem Quotienten von G''/G' kann der Verlustfaktor $\tan \delta$ gebildet werden [67].

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} \quad (18.)$$

Er gibt das Verhältnis vom viskosen Anteil und dem elastischen Anteil der viskoelastischen Deformation an. Es gilt:

$$0 \leq \tan \delta \leq \infty \quad (19.)$$

Im flüssigem Zustand: $\tan \delta > 1$, da $G'' > G'$

Im festen Zustand: $\tan \delta < 1$, da $G' > G''$

Die am häufigsten eingesetzten dynamisch-mechanischen Methoden sind die Bestimmung der Aktivierungsenergie über die Zeitabhängigkeit (Temperatur, Frequenz und Amplitude sind konstant), die Korrelation zur Scherbelastung über die Frequenzabhängigkeit (Temperatur und Amplitude sind konstant) sowie die Ermittlung der Glasübergangstemperatur über die Temperaturabhängigkeit (Frequenz und Amplitude sind konstant) der Messung. Abbildung 2-9 zeigt den typischen Verlauf des $\tan \delta$ während eines Frequenztestes. Unvernetzte Klebmassen besitzen bei niedrigen Frequenzen einen hohen $\tan \delta$. Im Verlauf des Verlustfaktors über die Frequenz lassen sich Rückschlüsse auf die Scherfestigkeit, den Tack sowie die Klebkraft einer Probe schließen. Unter Tack versteht man eine Art Trennkraft, die benötigt wird um nach kurzer, schneller Kontaktierung die Klebmasse vom Untergrund zu lösen.

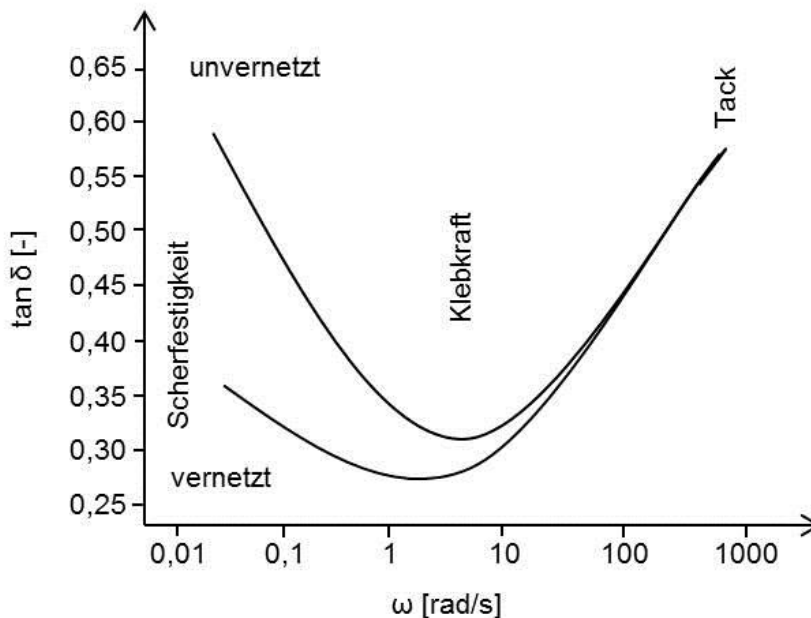


Abbildung 2-9 typischer Verlauf des Verlustfaktors von vernetzten und unvernetzten Proben über die Frequenz

Die Scherfestigkeit korreliert bei Variation der Frequenz mit dem $\tan \delta$ bei niedrigen Frequenzen. Hierbei gilt, je kleiner der Verlustfaktor bei niedrigen Frequenzen, desto höher die Kohäsion in der Klebmasse. Eine weitere wichtige Größe für die Beschreibung einer Klebmasse lässt sich aus Oszillationsversuchen mit variierender Frequenz ablesen, der Tack. Da es sich hier um eine Hochgeschwindigkeitseinwirkung handelt, lässt sich diese Eigenschaft mit $\tan \delta$ Werte bei hohen Frequenzen ablesen. Dabei gilt je höher der $\tan \delta$ desto besser der Tack der Klebmasse. Der Bereich mittlerer Frequenzen gibt Aufschluss über die Klebkraftunterschiede zweier Adhäsive im Vergleich [67, 68].

2.5.3 Mittleres Molekulargewicht

Um ein Polymer oder eine Polymermischung zu charakterisieren wird häufig das mittlere Molekulargewicht angegeben. Dabei gibt es unterschiedliche Methoden diese aus der Verteilung des Gewichts zu berechnen [56].

$$\text{Zahlenmittel} \quad M_n = \sum_{i=1}^{\infty} x_i M_i \quad (20.)$$

$$\text{Massenmittel} \quad M_w = \sum_{i=1}^{\infty} w_i M_i \quad (21.)$$

$$\text{Zentrifugemittel} \quad M_z = \frac{\sum_{i=1}^{\infty} w_i M_i^2}{\sum_{i=1}^{\infty} w_i M_i} \quad (22.)$$

$$\text{Viskositätsmittel} \quad M_v = \left(\frac{\sum_{i=1}^f N_i M_i^{(1+\alpha)}}{\sum_{i=1}^f N_i M_i} \right)^{1/\alpha} \quad (23.)$$

M_i : Molare Masse der Polymere der Fraktion i

x_i : Molenbruch der i -ten Fraktion

w_i : Massenbruch der i -ten Fraktion

N_i : Anzahl der Makromoleküle der Fraktion i

f : Gesamtzahl aller Fraktionen

α : kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen

3 Material und Methoden

3.1 Transdermale Systeme

Verschiedene Klebmassen dienten in dieser Arbeit als Grundlage für transdermale Systeme. Sowohl Acrylat-, Kautschuk-, als auch Silikonmatrices kamen dabei zum Einsatz. Die hergestellten transdermalen Systeme waren nach dem Prinzip monolithischer TDDSs aufgebaut, mit Ausnahme zweier Silikongrundlagen, die als Reservoir-Systeme verwendet wurden. Im Folgenden sind die unterschiedlichen Klebmassen eingeteilt und nach ihrer polymeren Grundlage beschrieben. Die genauen prozentualen Zusammensetzungen der einzelnen Klebmassen sind im Anhang zu finden.

3.1.1 Acrylatmatrices

Bei den verwendeten Acrylatklebmassen handelte es sich um drei zugekaufte Systeme sowie um eine im Labor „Prototyping Health Care“ durch Beiersdorf selbst entwickelte Pflastergrundlage. Die Zusammensetzung und Herstellung dieser vier verschiedenen Systeme werden im Folgenden beschrieben.

Duro-Tak® 180-129A

Duro-Tak® 180-129A wurde von Henkel (Düsseldorf, Deutschland) bezogen. Es handelt sich hierbei um eine auf Lösungsmittel (Ethylacetat, 2-Propanol, Heptan und Toluol) basierte Klebmasse aus 2-Ethylhexylacrylat und Vinylacetat mit einem Feststoffgehalt von 49,0 - 53,0% [69].

Der Wirkstoff und der jeweilige Lösungsvermittler wurden in Duro-Tak 180-129A eingerührt. Anschließend konnte die Masse mit einem Rakel auf Trennpapier ausgestrichen werden. Nach einer Trocknung der Klebmasse im Lüftungsschrank über Nacht bei Raumtemperatur erfolgte ein Transfer der Masse auf einen Viskoseträger.

Gelva® GME 3011

Gelva® GME 3011 (später als GME abgekürzt) wurde von Cytec Industries Inc. (Woodland, NJ, USA) bezogen. Es handelte sich dabei um ein Acrylcopolymer aus n-Butylacrylat, Methylacrylat und Vinylacetat in wässriger Lösung mit einem Feststoffgehalt von 63,5 - 66,5% [70].

Der Wirkstoff und der jeweilige Lösungsvermittler wurden in GME eingerührt. Anschließend konnte die Masse mittels eines Rakels auf Trennpapier ausgestrichen werden. Nach einer

Trocknung der Klebmasse im Lüftungsschrank über Nacht bei Raumtemperatur erfolgte ein Transfer der Masse auf einen Viskoseträger.

Gelva® GMS 737-01

Die Klebmasse Gelva® GMS 737-01 (später als GMS bezeichnet) wurde von Cytec Industries Inc. (Woodland, NJ, USA) bezogen und bestand aus 2-Ethylhexylacrylat, Vinylacetat sowie Hydroxyethylacrylat. Es handelte sich um eine auf Lösungsmittel (Ethylacetat, Ethanol und Toluol) basierte Matrix mit einem Feststoffgehalt von 31 - 34% [71]

Der Wirkstoff und der jeweilige Lösungsvermittler wurden in GMS eingerührt. Anschließend konnte die Masse mit einem Rakel auf Trennpapier ausgestrichen werden. Nach einer Trocknung der Klebmasse im Lüftungsschrank über Nacht bei Raumtemperatur erfolgte ein Transfer der Masse auf einen Viskoseträger.

Feuchtklebender Film (FKF)

Polyvinylalkohol (Mowiol) und Polyacrylsäure (Ultrez) stellten die Grundlage dieser Formulierung. Durch Anfeuchten mit Wasser erhielt dieses transdermale System erst seine Klebrigkeit. Für die Anwendung auf Haut ist diese Klebmasse im Patent DE 10 2010 032 586 [9] beschrieben. Kommerziell erhältliche Systeme ähnlicher Basis werden meist für die Anwendung in der Mundhöhle verwendet, da solche Klebmassen sich bei Kontakt mit Wasser bzw. Speichel auflösen.

Die Herstellung der Klebmasse erfolgte im Laborkneteter. Zunächst wurde der Polyvinylalkohol in Wasser gelöst, daraufhin die Polyacrylsäure hinzugefügt. Nach weiterem Mischen im Kneteter für eine Stunde wurde die Wirkstofflösung dazugegeben. Schließlich folgte die Zugabe von Polynatriumacrylat zur Einstellung eines neutralen pH-Wertes der Klebmasse. Die fertige Masse wurde zwischen zwei Trennpapieren mit Hilfe der Laborpresse auf 0,3 mm Schichtdicke gepresst. Die noch feuchte Masse wurde anschließend auf einen Viskose-Träger überführt und die nun fertigen transdermalen Systeme bei Raumtemperatur getrocknet, ausgestanzt und verpackt.

3.1.2 Silikonmatrices

Es wurden vier verschiedene Silikonmatrices von Dow Corning in dieser Arbeit verwendet. Diese Systeme werden im Folgenden bezüglich ihrer Zusammensetzung und Herstellung beschrieben.

DOW CORNING® BIO-PSA 7-4202

DOW CORNING® BIO-PSA 7-4202 besteht aus Polydimethylsiloxan, dessen Hydroxygruppen durch Trimethylsiloxygruppen geschützt wurden, um eine Stabilität gegenüber Amino-

gruppen zu erhalten. Es handelte sich hierbei um eine auf Lösungsmittel (Ethylacetat) basierende Matrix mit einem Feststoffgehalt von 60%. Das Silikon lag in der Lösung bereits vernetzt vor [72].

Für die Herstellung wirkstoffhaltiger Muster dieses Systems wurde die Silikonlösung mit der Wirkstofflösung in einem Becherglas vermengt und anschließend mit einem Rakel auf einem Trenträger (CLPET-Folie) ausgestrichen. Die Trocknung der Ausstriche erfolgte über Nacht bei Raumtemperatur im Lüftungsschrank. Schließlich wurde der Ausstrich mittels Laborpresse auf einen Viskose-Träger übertragen.

SILASTIC® MDX4-4210 Bio Medical Grade Elastomer

SILASTIC® MDX4-4210 Bio Medical Grade Elastomer (später nur als Bio Medical bezeichnet) ist ein lösungsmittelfreies Zwei-Komponenten-System (Base und Curingagent). Die Base besteht aus Polydimethylsiloxan mit Dimethylvinyl-Endung, Methylsilica und einem Platinkatalysator. Der Curingagent weist ebenfalls Polydimethylsiloxan mit Dimethylvinyl-Endung, sowie Polydimethylsiloxan mit Hydrogen-Endung und Polydimethylmethylhydrogen-Siloxan auf. Durch die Mischung beider Komponenten kommt es zu einer Vernetzung. Diese Vernetzung erfolgt über eine platinkatalysierte Additionsreaktion der Vinyl- und Hydrogen-gruppen. Das Methylsilica verstärkt die Masse [73].

Da Bio Medical selbst nicht klebt, wurde es als Wirkstoffreservoir verwendet. Für die Herstellung der wirkstoffhaltigen Reservoirs aus diesem Silikon wurden die Base und der Curingagent im Verhältnis zehn zu eins in einem Becherglas gemischt. Anschließend folgte ein Ausstrich der Masse per Rakel direkt auf dem Trägermaterial (PE-Folie). Nach dem Ausstreichen wurde das Silikon im Lüftungsschrank bei Raumtemperatur für 3 Tage ausgehärtet. Für das fertige Reservoir-System wurde BIO-PSA mit einem 0,3 mm-Rakel auf CLPET-Folie ausgestrichen, über Nacht im Lüftungsschrank abgedampft und mittels Laborpresse ohne Druck auf das ausgehärtete Bio Medical übertragen.

MG 7-9900 Soft Skin Adhesive A&B

Bei MG 7-9900 Soft Skin Adhesive A&B (weiter nur als Soft Skin Adhesive bezeichnet) handelt es sich um ein lösungsmittelfreies Zwei-Komponenten-System. Komponente A besteht zu einem Großteil aus Polydimethylsiloxan mit Dimethylvinyl-Endung, Komponente B ebenfalls, sowie aus Polydimethylsiloxan mit Hydrogen-Endung und zu unter einem Prozent aus Polydimethyl-methylhydrogen-Siloxan. Weiterhin besitzt sie einen Platinkatalysator. Die Vernetzung erfolgt über eine platinkatalysierte Additionsreaktion der Vinyl- und Hydrogen-gruppen [74].

Für die Herstellung der wirkstoffhaltigen Muster dieser Klebmasse wurden die beiden Komponenten im Verhältnis eins zu eins in das Becherglas eingewogen und vermischt. Es folgte

ein Ausstrich der Dicke 0,3 mm mit einem Rakel direkt auf den Träger aus PU-Folie. Die Masse wurden über 3 Tage im Lüftungsschrank ausgehärtet, um die Wirkstoffe nicht zu schädigen. Es wurde die CLPET-Folie als Trennträger verwendet.

SILASTIC® Medical Adhesive Silicone Type A

SILASTIC® Medical Adhesive Silicone Type A ist ein lösungsmittelfreies Ein-Komponenten-System. Die Masse besteht aus Methyltriacetoxysilanene und Ethyltriacetoxysilanen, die mit der Luftfeuchtigkeit unter Abspaltung von Essigsäure zu Silanolen hydrolysiert werden. Diese sowie ebenfalls vorhandenen Polydimethylsiloxane mit Hydroxy-Endung polymerisieren und vernetzen unter Kondensation. Ein beigemischtes Methylsilica verstärkt die Masse [75].

SILASTIC® Medical Adhesive Silicone Type A selbst klebt im ausgehärteten Zustand nicht und wurde daher als Wirkstoffreservoir verwendet. Für die Herstellung dieses Reservoirs wurde das System Medical Adhesive zunächst in Hexan verdünnt. Hierzu wurde die Masse und Hexan im Verhältnis von eins zu drei in ein Becherglas gegeben und mittels Laborrührer mit Blattrühraufsatz dispergiert, sodass eine Lösung mit 50% Feststoffgehalt entstand. Zu dieser Lösung konnte nun die jeweilige Wirkstofflösung hinzugefügt werden. Anschließend wurde die Masse direkt auf dem Trägermaterial (PE-Folie) mit einem Rakel ausgestrichen. Es erfolgte eine Aushärtung des Materials bei Raumtemperatur im Lüftungsschrank über Nacht. Für transdermale Reservoir System wurde BIO-PSA mit einem 0,3 mm-Rakel auf CLPET-Folie ausgestrichen, über Nacht im Lüftungsschrank abgedampft und mittels Laborpresse ohne Druck auf das ausgehärtete Medical Adhesive übertragen.

3.1.3 Kautschukmatrices

Zwei Eigenentwicklungen sowie eine zugekaufte Kautschukklebmasse wurden in dieser Arbeit untersucht. Die Zusammensetzung und Herstellung dieser Klebmassen wird im Folgenden beschreiben.

Polyisobutylen-Matrix (PIB)

Bei der PIB-Matrix handelt es sich um eine auf Polyisobutylen basierende Klebmasse. Hochmolekulares PIB (Oppanol® B200, B150 oder B80, BASF, Ludwigshafen, Deutschland) wird in dieser Formulierung für die Struktur eingesetzt, niedermolekulares PIB (Oppanol® B12, B10 oder PIB 1000) für den Tack und die Klebrigkeit. Cellulose dient der Matrix als Füllstoff.

Die Herstellung dieser Klebmasse erfolgte im Laborkneteter. Zunächst wurde das hochmolekulare PIB im temperierten Kneteter (80°C Vorlauftemperatur) zerkleinert, dann wurden die niedermolekularen PIB-Bestandteile hinzugefügt. Nach einer kurzen Vermischung für 10 Minu-

ten konnte die Cellulose dazugegeben werden. Schließlich folgte nach einer weiteren Mischzeit von einer Stunde die Wirkstofflösung. Die nun fertige wirkstoffhaltige Klebmasse wurde mit Hilfe der Laborpresse zwischen zwei Trennpapieren auf die gewünschte Schichtdicke ausgepresst. Schließlich erfolgte ein Transfer der Masse auf einen Viskoseträger.

Duro-Tak® H1540

Duro-Tak® H1540 E (später als H1540 bezeichnet) wurde von Henkel bezogen. Es handelte sich hierbei um eine auf einem Styrol-Isopren-Copolymerisat basierte Hotmelt-Klebmasse mit Kohlenwasserstoffharzen [76].

Die Wirkstoffdotierung dieser fertigen Matrix wurde im Laborkneteter vorgenommen. Im Kneteter erfolgte zunächst eine Temperierung der Masse auf ca. 60°C, dann wurde die jeweilige Wirkstofflösung hinzugefügt und für ca. 20 Minuten eingearbeitet. Die nun fertige wirkstoffhaltige Klebmasse wurde mit Hilfe der Laborpresse zwischen zwei Trennpapieren auf die gewünschte Schichtdicke ausgepresst. Schließlich erfolgte ein Transfer der Masse auf einen Viskoseträger.

Styrol-Isopren-Styrol Copolymer / Dimethylsulfoxid (SIS / DMSO)

Bei dieser Klebmasse handelt es sich um eine auf SIS (Kraton® D1161P, Kraton Polymers, Houston, USA) basierende Matrix mit Harzen und einem Polyvinylpyrrolidon (PVP) - DMSO-Gel. Die Formulierung wurde im Patent DE 102 12 864 [77] beschrieben. Das PVP - DMSO-Gel in der Matrix soll dazu dienen das Auskristallisieren von Wirkstoffen zu verhindern.

Auch bei dieser Klebmasse handelt es sich um eine Hotmelt Masse die im Laborkneteter hergestellt wurde. Zunächst wurden Kraton® D1161P und Oppanol® B10 bei 150°C im Kneteter gemischt. Anschließend konnten nach 5 Minuten die Harze hinzugefügt werden. Nun wurde weitere 90 Minuten geknetet. In der letzten halben Stunde dieser 90 Minuten musste der Kneteter auf 100°C herunter gekühlt werden, nun konnte das PVP dazugegeben werden. Die Mischung wurde weitere 90 Minuten geknetet. Daraufhin wurde 1,2-Propandiol hinzugegeben und 30 Minuten geknetet, die Ölsäure wurde hinzugefügt und erneut 30 Minuten geknetet. Abschließend musste der Wirkstoff im PVP / DMSO - Gel gelöst und zur Masse hinzugefügt werden. Nach weiterem Kneten für 30 Minuten konnte die Masse aus dem Laborkneteter entfernt. Die nun fertige wirkstoffhaltige Klebmasse wurde mit Hilfe der Laborpresse zwischen zwei Trennpapieren auf die gewünschte Schichtdicke ausgepresst. Schließlich erfolgte ein Transfer der Masse auf einen Viskose-Träger.

3.2 Wirkstoffe

Es wurden in dieser Arbeit zehn verschiedene Wirkstoffe mit unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften verwendet. Ein breites Spektrum an Oktanol / Wasserverteilungskoeffizienten von -1,5 bis 6 konnte mit diesen Substanzen abgedeckt werden. Das Molekulargewicht der Stoffe lag in einem relativ schmalen Bereich von ca. 140 – 340 g/mol. In Tabelle 3-1 sind die unterschiedlichen verwendeten Wirkstoffe mit dem dazugehörigen log P Wert, dem Molekulargewicht sowie der Wasserlöslichkeit angegeben.

Tabelle 3-1 Oktanol / Wasserverteilungskoeffizient, Molekulargewicht und Wasserlöslichkeit der verschiedenen verwendeten Wirkstoffe

	log P	Molekulargewicht [g/mol]	Wasserlöslichkeit [mg/L]
Aciclovir	-1,5 [□]	225,21 [□]	1620 [□]
Paeonol	1,98 [□]	166,18 [□]	2240 [□]
Salicylsäure	2,26 [□]	138,12 [□]	4970 [□]
Vanillylbutylether	2,59 [♦]	210,27 [□]	236,4 [♦]
Butylresorcinol (Rucinol)	3 [•]	166,22 [□]	3418,5 [♦]
Ibuprofen	4 [□]	206,28 [□]	21 [□]
Magnolol & Honokiol	3,94 [♦]	266,34 [□]	1,913 [♦]
Diclofenac	4,51 [□]	296,15 [□]	2,37 [□]
Licochalcone A	4,9 [•]	338,39 [□]	17,059 [♦]
Bakuchiol	6,15 [•]	256,38 [□]	0,945 [♦]

[□][78], [•][79], [♦][80]

Mit diesen Wirkstoffen wurden vier unterschiedliche Anwendungsgebiete für spätere Produkte abgedeckt. Bei dem Großteil der verwendeten Moleküle handelte es sich um entzündungshemmende Wirkstoffe (Paeonol, Salicylsäure, Ibuprofen, Magnolol & Honokiol, Diclofenac, Licochalcone A, Bakuchiol), mit Aciclovir kam ein antiviraler Wirkstoff zum Einsatz. Butylresorcinol besitzt eine hautaufhellende Wirkung und Vanillylbutylether eine Wärmewirkung. Bei Paeonol, Magnolol & Honokiol, Licochalcone A sowie Bakuchiol handelt es sich um natürlich gewonnenen Pflanzenextrakte. Paeonol ist ein Extrakt aus der Wurzel der Pfingstrose. Magnolol & Honokiol (35/65 Gew%/Gew%) sind die Leitsubstanzen eines aus Magnolienblüten gewonnenen Extraktes. Licochalcone A ist die Leitsubstanz des Extraktes der Süßholzwurzel und Bakuchiol wird aus einer ayurvedischen Heilpflanze gewonnen. Bei Aciclovir, Salicylsäure, Butylresorcinol, Ibuprofen sowie Diclofenac Natriumsalz handelte es sich um synthetische Substanzen.

Die Wirkstoffe wurden vor ihrer weiteren Untersuchung zunächst in Lösung gebracht. Dabei kamen zwei verschiedene Lösungssysteme aus Penetrationsbeschleunigern zum Einsatz.

- IPM und Decyloleat (30,4 Gew. % IPM, 63,3 Gew. % Decyloleat, 6,3 Gew. % Wirkstoff)
- 1,2-Propandiol und Ölsäure (45,45 Gew. % 1,2-Propandiol, 45,45 Gew. % Ölsäure, 9,1 Gew. % Wirkstoff)

Diese Lösungen wurden in die jeweiligen Klebmassen eingearbeitet (s. Anhang). Für die Untersuchung der Penetrationseigenschaften der Wirkstoffe wurden diese Wirkstofflösungen auf Schweinehaut pipettiert (s. Franzzellen).

3.3 Charakterisierung der transdermalen Systeme

Die unterschiedlichen Klebmassen wurden hinsichtlich ihres rheologischen Verhaltens, ihrer Molekulargewichtsverteilung, ihres Glasübergangs sowie der Löslichkeit der verschiedenen Wirkstoffe in den Klebmassen charakterisiert. Die Methoden dazu sind im Folgenden beschrieben.

3.3.1 Rheologie

Die rheologischen Untersuchungen der Klebmassen wurden mit dem Dynamic Analyser RDA II des Herstellers Rheometric Scientific durchgeführt. Die Analysen erfolgten als Oszillationsmessungen in Platte-Platte-Geometrie. Der verwendete Plattendurchmesser betrug 25 mm. Die Charakterisierung erfolgte im Frequenztest mit einer Amplitude innerhalb des viskoelastischen Bereichs der Proben. Dieser wird im vorgelagerten Amplitudentest ermittelt. Zum einen wurde ein solcher Frequenztest bei 25°C durchgeführt, zum anderen wurden Frequenztests von -60°C bis 200°C in 5°C Schritten hintereinander vorgenommen. Somit konnte eine dreidimensionale Beschreibung einer Klebmasse erstellt werden. Die Proben hatten für diese Messungen eine Dicke von 1mm und wurden entweder durch Stapeln von 0,2mm dicken Klebmassen aufeinander generiert (für Lösungsmittelbasierte Systeme) oder auf 1mm ausgepresst. Der typische Verlauf des Verlustfaktors $\tan \delta$ ist in Abbildung 3-1 dargestellt.

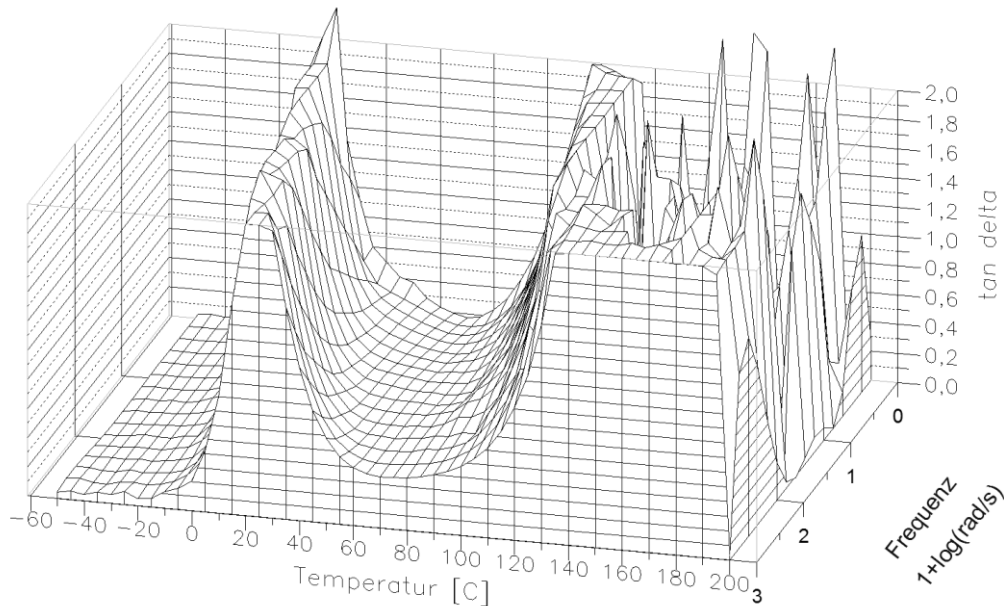


Abbildung 3-1 typischer Verlauf des Verlustfaktors über die Temperatur und die Frequenz

Die Glasübergangstemperatur T_g wurde aus den Daten der dreidimensionalen Analyse abgelesen. Das Maximum des $\tan \delta$ bei niedrigen Temperaturen in Abbildung 3-1 entspricht der Glasübergangstemperatur.

3.3.2 Gelpermeationschromatographie (GPC)

Die Gelpermeationschromatographie ermöglicht gelöste Polymere entsprechend ihres hydrodynamischen Volumens zu trennen. Dieses beschreibt den Raum, den ein Polymer aufgrund der Wechselwirkungen mit dem Lösungsmittel einnimmt. Hauptziel der GPC ist die Bestimmung der Molmassenverteilung von Polymeren. Bei diesem Verfahren handelt es sich um eine spezielle Art der Flüssigkeitschromatographie. Die Proben werden zur Analyse zunächst in einem geeigneten Eluent gelöst und anschließend unter erhöhtem Druck durch eine GPC-Trennsäule gepumpt. Als stationäre Phase dient ein gequollenes Gel, welches eine definierte Porosität aufweist. Große Moleküle können nicht in die Poren der Trennmatrix eindringen und werden zuerst eluiert. Kleinere Moleküle sind hingegen in der Lage in die Poren zu diffundieren. Hierdurch werden sie mit abnehmendem hydrodynamischem Radius immer stärker retardiert und demzufolge später eluiert. Das Ergebnis einer Messung ist ein Elugramm, bei dem das Detektorsignal über dem Elutionsvolumen aufgetragen wird. Mit Hilfe einer zuvor aufgenommenen Kalibrierungskurve ist es möglich die Molmassenverteilung zu berechnen [81].

3.3.3 Löslichkeit von Wirkstoffen in Klebmassen

Die Löslichkeit der Wirkstoffe in den Klebmassen wurde wie bei Kokubo et al 1991 [37] beschrieben ermittelt. Dafür wurde ein Placebo der Klebmasse mit einer Fläche von $0,79 \text{ cm}^2$ in 2 mL einer ausreichend konzentrierten wässrigen Wirkstofflösung in 6 Well Platten eingelegt und für 24 Stunden geschüttelt. Die von der Klebmasse aufgenommene Menge an Wirkstoff wurde über die Konzentration in der Wirkstofflösung vor und nach dem Einstellen des Gleichgewichts über HPLC bestimmt. Für die Untersuchungen des feuchtklebenden Films wurden Wirkstofflösungen in IPM verwendet, da sich dieses Klebmasse-System in wässrigen Lösungen auflöst. Alle Versuche wurden in dreifacher Ausführung durchgeführt.

3.3.4 Dynamische Differentialkalorimetrie (DSC)

Die dynamische Differentialkalorimetrie (engl.: differential scanning calorimetry) ist ein thermischen Verfahren, in dem ein Material einer Aufheizung, Abkühlung oder isothermen Arbeitsweise unterzogen und der resultierende Wärmestrom gemessen wird. An Hand dessen können Glasübergangstemperaturen, Schmelzenthalpien und Kristallisationsgrade eines Materials untersucht werden.

Die Aufnahme solcher Verläufe erfolgt als Differenzmessung zwischen Probensubstanz und einer Bezugssubstanz. Es werden zwei Messprinzipien unterschieden, die Leistungskompensierte DSC (engl.: power compensated DSC) und die Wärmestrom-Differentialkalorimetrie (engl.: heat flux DSC). Für die Leistungskompensierte DSC werden Probe und Bezugssubstanz in zwei unabhängigen, isolierten Öfen auf die gleiche Temperatur geregelt. Die Differenz der Eingangsleistung beider Öfen wird aufgezeichnet. Bei der Wärmestrom-Differentialkalorimetrie befinden sich die Probe und die Bezugssubstanz in Aluminiumpfannen auf derselben beheizten Konstantenscheibe und werden über diese erwärmt. Die Differenz der Wärmeströme ist der aufgenommenen Temperaturdifferenz beider Substanzen proportional [56].

3.4 Perkutane Absorption ex vivo

Die Penetration aller Wirkstoffe wurde ex vivo auf Kadaverhaut vom Schwein untersucht. Die Penetration durch das Stratum Corneum der porzinen Haut und die Penetration durch die Epidermis und Dermis wurden dabei betrachtet. Außerdem wurde die Kontaktfläche der verschiedenen transdermalen Pflaster zur Schweinehaut ermittelt. Die Schweinehaut wurde von einem lokalen Schlachter bezogen. Der Versuchsaufbau dieser ex vivo Versuche sowie die verschiedenen hierbei verwendeten Methoden sind im Folgenden beschrieben.

3.4.1 Franzzellen

Die ex vivo Freisetzungen wurden in statischen Franzzellen ohne Donorkammern durchgeführt. Die dafür verwendete Glasapparatur hatte ein Kammervolumen von 11 mL sowie eine Fläche von 9,39 cm². Die einzelnen Kammern wurden über ein Wasserbad auf 35°C temperiert, um eine konstante Hauttemperatur von 32°C zu erzielen. Die Freisetzungsversuche wurden wie in der OECD-Richtlinie von Diembeck et al. 1999 [82] beschrieben durchgeführt. Als Modell für Humanhaut kam dabei ungebrühte Rückenhaut vom Schwein zum Einsatz. Für die Versuche wurden die Subkutis der Haut sowie die Haare entfernt. Die Schweinehaut konnte bis zum Tag der Untersuchung bei -20°C für bis zu sechs Monate gelagert werden. Der Versuchsaufbau der Freisetzungsanalysen ist schematisch in Abbildung 3-2 dargestellt.

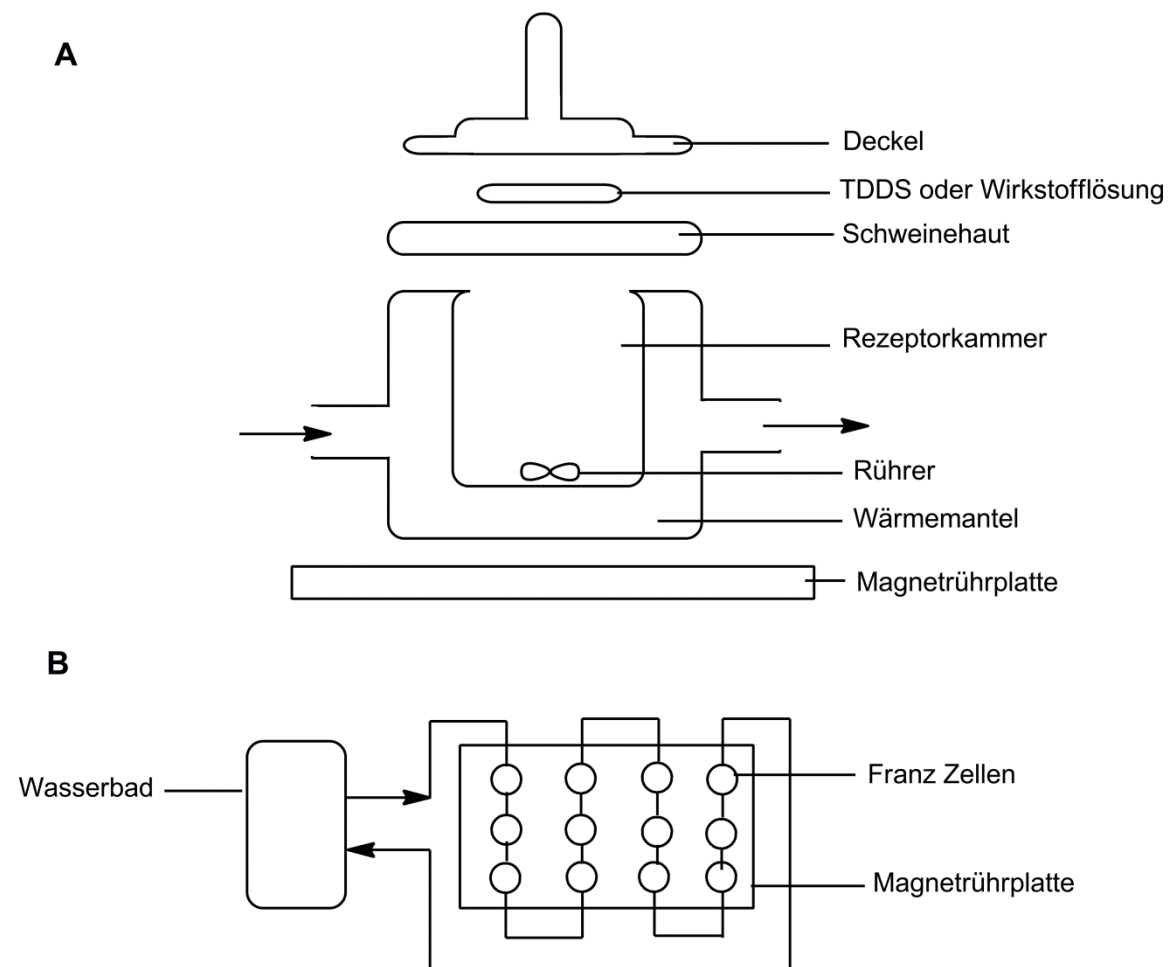


Abbildung 3-2 A: statische Franzzellen, Aufbau der Apparatur; B: Versuchsaufbau

Entweder wurde die Penetration eines Wirkstoffes aus der Wirkstofflösung oder aus den transdermalen Pflastern untersucht. Für die Analyse der Penetration aus einer Wirkstofflösung wurden 10 µL der jeweiligen Lösung auf die Haut pipettiert. Als Rezeptorphase diente ein Phosphatpuffer-System (PBS) mit der in Tabelle 3-2 aufgeführten Zusammensetzung.

Tabelle 3-2 Zusammensetzung der Rezeptorphase

Komponente	Anteil [g/L]
Dinatriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4)	7,58
Natriumdihydrogenphosphat (NaH_2PO_4)	1,62
Natriumchlorid (NaCl)	4,4
Gentamicinsulfat	0,7

Nach der Inkubation für 2, 6, 24 oder 30 Stunden in den Franzzellen erfolgte eine Extraktion des Wirkstoffes aus den einzelnen Hautschichten und dem jeweiligen transdermalen System. Für die getrennte Analyse der verschiedenen Hautschichten wurde zunächst das Stratum corneum mit Hilfe von kommerziell erhältlichen Tapes (tesafilm[®] 4129, tesa SE, Hamburg) entfernt (s. Tape Stripping). Anschließend konnte die Epidermis von der Dermis über eine Hitzespaltung getrennt werden. Dafür musste die Haut auf ca. 80°C für 60s erhitzt werden. Anschließend konnte die Epidermis mit einem Spatel von der Dermis entfernt werden. Alle Untersuchungen wurden mit einer Dreifachbestimmung durchgeführt.

3.4.2 Tape Stripping

Die Diffusion der Wirkstoffe im Stratum corneum wurde mit der Methode des Tape Strippings, wie bei Alberti et al. 2001 [83] beschrieben, ermittelt. Dafür wurde das Stratum corneum Stück für Stück von der mit Wirkstoffen behandelten Haut mit Hilfe eines kommerziell erhältlichen Tapes (tesafilm[®] 4129, tesa SE, Hamburg, Deutschland) entfernt. Das Tape wurde mit einem Spatel auf die Haut angedrückt und dieser fünf Mal hin und her über die Haut geführt. Dieser Vorgang wurde neun Mal wiederholt, wobei die die Richtung des Strippings alternierte. Die Tapes wurden einzeln vor und nach dem Stripping gewogen um die Menge an von der Haut entfernten Stratum corneum zu bestimmen. Über die Gewichte des entfernten Stratum corneums unter der Annahme einer konstanten Dichte von 1 g/cm³ im Stratum corneum und einer konstanten mit Tape entfernten Fläche von 5 cm² konnte die Dicke der entfernten Hautlage ermittelt werden. Der Wirkstoffgehalt auf den einzelnen Strips wurde über HPLC analysiert.

3.4.3 Analytik

Aus den Hautproben sowie den transdermalen Formulierungen wurden nach der Applikation auf Schweinehaut die Wirkstoffe, wie in Tabelle 3-3 beschrieben, extrahiert.

Tabelle 3-3 Extraktion für das Stratum corneum, Epidermis, Dermis und die TDDSs

Stratum corneum	Epidermis	Dermis	TDDS
4 mL EM	4 mL EM	10 mL EM	15 mL LM 5 mL EM
auf 100 mL mit Methanol auffüllen			

Die jeweiligen Extraktionsmittel (EM) für die verschiedenen Wirkstoffe und Lösungsmittel (LM) für die TDDSs sind in Tabelle 3-4 zusammengefasst.

Tabelle 3-4 Extraktionsmittel für Wirkstoffe sowie Lösungsmittel für die verschiedenen TDDSs

Wirkstoff	Extraktionsmittel	TDDS	Lösungsmittel
Aciclovir	3% Essigsäure	180-129A	Tetrahydrofuran
Paeonol	2-Propanol	GME	Tetrahydrofuran
Salicylsäure	2-Propanol	GMS	Tetrahydrofuran
Vanillylbutylether	60% 2-Propanol in Wasser	FKF	Wasser
Butylresorcinol	2-Propanol	PIB	Isohexan
Ibuprofen	Methanol	H1540	Tetrahydrofuran
Magnolol & Honokiol	2-Propanol	SIS/DMSO	Tetrahydrofuran
Diclofenac	Methanol	BIO PSA	Tetrahydrofuran
Bakuchiol	Ethanol	Soft Skin Adhesive	Tetrahydrofuran
Licochalcone A	Methanol	Bio Medical	Tetrahydrofuran
		Medical Adhesive	Tetrahydrofuran

Nach einer Inkubation über Nacht sowie einer 20minütigen Behandlung im Ultraschallbad erfolgte eine Filtration der Proben durch einen 0,2 µm Filter in HPLC-Vials. Die Wirkstoffanalytik erfolgte mittels HPLC oder LC-MS. Das methodische Vorgehen der Analyse mittels HPLC und LC-MS ist im Folgenden beschrieben.

HPLC

Für die Messungen wurde eine HPLC-Anlage von Merck LaChrome Elite mit einer Vierkanalpumpe (L 7100), Auto Sampler (L 7250), Diode Array Detektor (L 7455) sowie Fluoreszenz-Detektor (L 7480) verwendet. Es wurde eine Flussrate von 1 mL/min verwendet. Die jeweiligen Methoden zur Detektion der einzelnen Wirkstoffe sind im Anhang zu finden.

LC-MS

Als Massenspektrometer wurde ein Agilent MSD1 Gerät mit Elektrospray Ionenquelle (ESI) im negativen Modus bei 70 V Fragmenterspannung, 4500 V Kapillarspannung verwendet.

Die Bestimmung von Licochalcone A aus Süßholz Extrakt wurde mittels LC-MS durchgeführt. Die einzelnen Parameter dieser Methode sind im Anhang zu finden.

3.4.4 Kontaktfläche zur Schweinehaut

Die Menge an Keratin auf der Klebmasse nach Applikation der Muster auf Haut ist ein Maß für die Menge an von der Haut abgetragenen Korneocyten. Korneozyten bestehen zu 85% aus Keratin. Daher lassen sich mittels der hier beschriebenen Anfärbemethode mit Chromotrope FB basierend auf den Angaben bei Tregaer & Dirnhuber (1962) [84] Rückschlüsse zur Kontaktfläche des Pflasters zur Schweinehaut ziehen.

Die Bestimmung des Keratins erfolgte photometrisch. Zunächst wurde eine Kalibrierung mit humanem Keratin durchgeführt. Nach Abziehen von der Schweinehaut wurden die Pflaster mit der Trägerseite nach unten in 6 Well Platten gelegt. Daraufhin kamen 4 mL Farblösung (Chromotrope FB, 0,5 g/L in 0,01 N H₂SO₄) in jedes Well. Dabei musste darauf geachtet werden, dass die Klebeflächen der Pflaster vollständig mit Farblösung benetzt wurden. Gegebenenfalls wurden die Muster dafür mit einer Pinzette umgedreht. Anschließend erfolgte eine Inkubation für eine Stunde bei Raumtemperatur auf einem Plattenschüttler. Die Well-Platten wurden dabei abgedeckt. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde die Farblösung abgesaugt und verworfen. Die Muster wurden mit je 2 mL 0,01 N H₂SO₄ kurz gespült um überschüssige Chromotrope FB Lösung zu entfernen. Nun folgten 3-8 Waschschrte mit je 4 mL 0,01 N H₂SO₄ für jeweils 20 Minuten auf dem Plattenschüttler bei Raumtemperatur. Die Proben wurden so oft gewaschen, bis alle Waschlösungen farblos waren. Anschließend wurde der Farbstoff nun mit 1,5 mL 0,24 N NaOH aus den an den Pflastern anhaftenden Korneozyten ausgewaschen. Es erfolgte dafür erneut eine Inkubation für eine Stunde bei Raumtemperatur auf dem Plattenschüttler. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden die Probenüberstände in Einmal-Halbmicro-Küvetten überführt und bei 508 nm gegen Luft vermessen.

3.5 In vitro Untersuchungen

Wirksamkeits- und Freisetzungsversuche wurden in vitro auf dreidimensionalen Gewebekulturen durchgeführt. Die dabei verwendeten Methoden sind im Folgenden dargestellt.

3.5.1 EpiDerm™ und Fibroblasten

Es wurden zwei verschiedene Hautmodelle für die Wirksamkeitstests verwendet, das EpiDerm™ Hautmodell (EPI-200-X) sowie das MelanoDerm™ Hautmodell (MEL-312-B). Bei EpiDerm™ handelte es sich um in Einsätzen von 9 mm Durchmesser auf einer Collagen-Membran dreidimensional kultivierte primäre humane epidermale Keratinozyten, bzw. bei MelanoDerm™ um eine Co-Kultur primärer humaner epidermaler Keratinozyten und Melanozyten im Verhältnis 10:1. Die Modelle besaßen eine 8-12 Zellschichten dicke Epidermis (basale, spinale und granulare Schicht) sowie 10-15 Schichten Stratum Corneum und wurden an der Luft-Flüssigkeitsgrenzfläche kultiviert. Die hierfür verwendeten primären humanen Zellen stammten aus frühkindlichem Vorhautgewebe [85]. Beide Modelle wurden von der Firma MatTek Corporation bezogen.

Des Weiteren wurden primäre humane, aus Hautbiopsien isolierte Fibroblasten verwendet. Die Hautbiopsien wurden an verschiedenen weiblichen Spendern (18-73 Jahre) nach der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Das Vorgehen wurde vom Ethik-Bord der Beiersdorf AG freigegeben. Die adulten humanen Fibroblasten befanden sich für alle Experimente dabei in Passage 3-5. Für die Versuche wurden Monolayerkulturen der Fibroblasten mit einer Zelldichte von 10^5 Zellen pro Well in einer 6 Well-Platte ausgesät. Zunächst erfolgte eine Kultivierung in DMEM (+10% FCS, 10 µg/mL Glutamax und Pen/Strep), während der Co-Kultivierung mit den Hautmodellen wurde das EPI-100 Medium verwendet.

3.5.2 Kultivierung EpiDerm™

Die EpiDerm™ Modelle wurden in 6-Well-Platten mit je 2 mL EPI-100 Kulturmedium (MatTek Corp) bei 37°C und 7% CO₂ entweder mit Süßholz bzw. Magnolien Extrakt dotierten Patches, ohne Patch oder in Co-Kultur mit primären Fibroblasten (mit oder ohne Patch) kultiviert. Um einen Entzündungsreiz auszulösen, wurden sie einer UV-Strahlung mit einer Intensität von $1,36 \cdot 10^{-4}$ W/cm² für 11,02 oder 14,5 Minuten ausgesetzt. Das entsprach einer UVB Dosis von 90 mJ/cm² oder 120 mJ/cm². Für die Bestrahlung wurde ein ORIEL UV-Sonnen-Simulator (Oriel Instruments, Stratford, CT, USA) verwendet, die Hautmodelle und Fibroblasten wurde jeweils in PBS bestrahlt. Erst nach dieser Bestrahlung wurden die Patches appliziert.

Pro Bestrahlungsintensität wurde ohne, mit Magnolia Patch oder Süßholz Patch kultiviert. Parallel dazu wurden weitere Modelle identisch ohne Bestrahlung behandelt. Die Applikation der Patches ist in Abbildung 3-3 dargestellt.

Vor der Applikation wurden Pflaster mit einem Durchmesser von 6 mm mit Hilfe steriler Stanzen (Biopsy Punch, Stiefel) unter der Sterilwerkbank ausgestanzt. Diese Patches konnten dann auf die jeweiligen Hautmodelle aufgelegt werden.

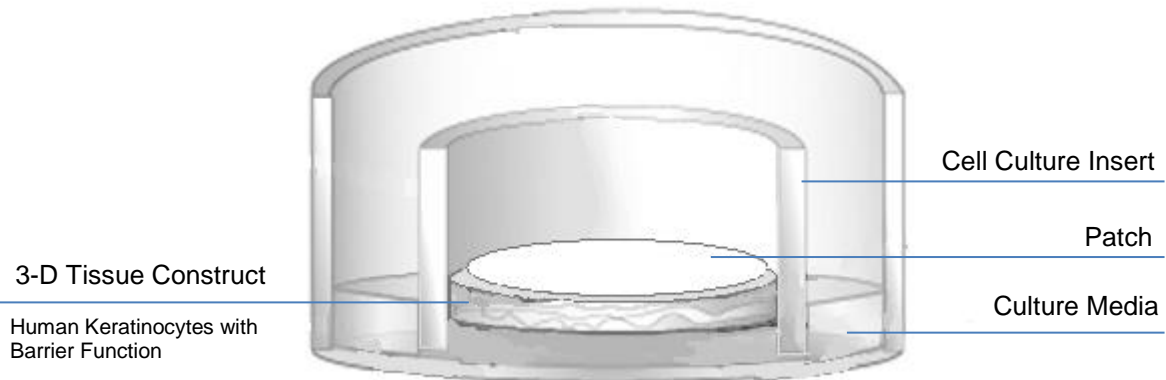


Abbildung 3-3 Versuchsaufbau: Kultivierung von Hautmodellen mit Patch

Für die Co-Kultivierung der Modelle wurden Fibroblasten mit einer Zelldichte von 10^5 Zellen pro Well in 6 Well-Platten ausgesät. Am Tag nach der Aussaat erfolgte eine Kultivierung dieses Monolayers zusammen mit oder ohne EpiDerm™ Hautmodell. Es wurde eine UV-Bestrahlung mit 90 mJ/cm^2 vorgenommen und auf einen Teil der Co-kultivierten Hautmodelle wurden Magnolia Patches appliziert.

Aus dem Kultivierungsmedium wurden jeweils 2, 24 und 48 Stunden nach der Applikation der Patches Proben entnommen ($300 \mu\text{L}$ pro Zeitpunkt). Diese Proben wurden mittels ELISA (HTRF) auf ihren PGE_2 , IL-6 und TNF- α Gehalt hin untersucht. Die Viabilität der Hautmodelle sowie der Monolayer wurde 48 Stunden nach der Bestrahlung mit Hilfe des MTT – Assays bestimmt.

Die Versuche wurden drei Mal hintereinander mit drei unterschiedlichen Hautmodell Chargen durchgeführt. In zwei dieser Versuche wurde eine Co-Kultivierung mit Fibroblasten vorgenommen. Es erfolgte jeweils eine Doppelbestimmung.

3.5.3 Herstellung der TDDSs

Für die Wirksamkeits- und Penetrationsversuche mit humanen Hautmodellen wurden TDDSs auf der Grundlage der PIB-Matrix sowie des feuchtklebenden Films verwendet. Die transdermalen Systeme wurden wie in 3.1.1 und 3.1.3 beschrieben hergestellt. Für die Verwendung der Klebmassen in Zusammenhang mit Zellkulturen mussten die Patches jedoch steril hergestellt werden. Dafür wurde der Knetter vor Gebrauch auf 120°C für eine Stunde erhitzt, das Trägermaterial und das Wasser autoklaviert sowie die Wirkstofflösungen und Öle steril filtriert. Alle Oberflächen sowie das Stanzeisen und die Stanzunterlage wurden mit 70%iger

Ethanol - Lösung abgewischt. Die Herstellung der Masse, das Ausstanzen und das Verpacken der Patches fanden unter einem zuvor mit 70%igen Ethanol gereinigten Abzug statt. Es wurde 0,2% Magnolien Extrakt und 0,4% Süßholz Extrakt in den feuchtklebenden Film eingearbeitet und 0,06%, 0,1% sowie 0,15% Rucinol in die PIB-Matrix inkorporiert.

3.5.4 MTT-Viabilitätsassay

Die Viabilität der Hautmodelle wurde mittels MTT-Assay (3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5diphenyltetrazoliumbromid - Assay) bestimmt.

Wenn eine Kultivierung mit Patches stattfand, mussten für die Durchführung des Assays zunächst die Pflaster entfernt werden. Alle Einsätze wurden nun in PBS gewaschen und in 24 Well – Platten mit je 300 μ L vorgewärmten Medium (EPI-100-LLMM-855, Phenolrotfrei) mit 0,4 mg/mL MTT pro Well umgesetzt. Anschließend fand eine Inkubation der Modelle für 2,5 Stunden im Brutschrank bei 37°C und 7% CO₂ statt. Nach Ablauf dieser Inkubationszeit wurden die Einsätze erneut in PBS gewaschen und in 24 Well-Platten mit 2 mL 2-Propanol pro Well überführt. Nun wurde für 2 Stunden bei Raumtemperatur und leichtem Schütteln (300 rpm) inkubiert. Abschließend wurde die Extinktion des im 2-Propanol gelösten Farbstoffes bei 570 nm vermessen.

Die Viabilität der Fibroblastenmonolayer wurde direkt in der 6 Well-Platte bestimmt. Dafür wurde der Monolayer zunächst mit PBS gewaschen und anschließend konnten 300 μ L vorgewärmtes Medium (EPI-100-LLMM-855, Phenolrotfrei) mit 0,4 mg/mL MTT pro Well direkt in die 6 Well-Platte gegeben werden. Nun folgte eine Inkubation für 2,5 Stunden im Brutschrank bei 37°C und 7% CO₂. Daraufhin wurde das MTT-haltige Medium abgenommen und der Monolayer erneut mit PBS gewaschen. Anschließend wurde mit 2 mL 2-Propanol pro Well der Farbstoff aus den Zellen für 2 Stunden bei leichtem Schütteln (300 rpm) und Raumtemperatur extrahiert. Schließlich konnte wie bei den Hautmodellen die Extinktion des im 2-Propanol gelösten Farbstoffes bei 570nm gemessen werden.

3.5.5 Bestimmung der Zytokine

Die PGE₂, IL-6 und TNF- α Konzentrationen in Zellkulturüberständen konnten mittels kommerziell erhältlichen ELISA-Kits (HTRF) durchgeführt werden (Cisbio international, Frankreich).

3.5.6 Bestimmung Magnolol und Honokiol

Da die Konzentrationen von Magnolol und Honokiol im Kultivierungsmedium, in den TDDs und den MTT-Lösungen in einem Bereich von unter 1 µg/mL lagen, konnte die sonst herangezogene HPLC-Methode zur Quantifizierung während dieser Versuche nicht verwendet werden. Es musste auf eine empfindlichere Methode mit Detektion über ein Massenspektrometer zurückgegriffen werden. Für die Entwicklung dieser Methode wurde sich an der Veröffentlichung von Wu et al 2006 orientiert. Die Leitsubstanzen des Magnolia Extraktes Magnolol und Honokiol wurden mit Hilfe einer Gemini C18 Säule (5 µm, 100 · 4,6 mm) über HPLC getrennt. Als mobile Phase diente dabei ein Gemisch aus Acetonitril und Wasser (75:25 v%/v%) mit einer Flussrate von 1 mL/min. Das Injektionsvolumen betrug 10 µL und die Laufzeit einer Messung 8 Minuten. Nach 2,1 Minuten konnte Honokiol (m/z 265,1) detektiert werden, nach 2,9 Minuten Magnolol (m/z 265,1). Die Detektion erfolgte massenspektrometrisch. Als Massenspektrometer wurde ein Agilent MSD1 Gerät mit Elektrospray Ionenquelle (ESI) im negativen Modus bei 70 V Fragmenterspannung, 4500 V Kapillarspannung verwendet.

3.5.7 Melanininhibitor im MelanoDerm™ Hautmodell

MelanoDerm™ wurde für 14 Tage bei 37°C und 7% CO₂ in 2 mL EPI-100-LLMM-855 Medium (MatTek Corp) kultiviert. Am Tag nach der In-Kultur-Nahme wurde das Medium gewechselt und die Pflaster wurden appliziert. Es wurden Hautmodelle ohne, mit Placebo oder mit 0,06%, 0,1% oder 0,15% dotierten Rucinol Patch kultiviert. Auf jedes Modell (mit oder ohne Patch) wurden 75 µL PBS gegeben. Die Versuchsanordnung war analog zur Kultivierung mit entzündungshemmenden Patches (s. Abbildung 3-3). Alle zwei bis drei Tage mussten das Medium und die Pflaster gewechselt werden.

Zum Vergleich wurden am Tag der In-Kultur-Nahme Totkontrollen der Modelle hergestellt, in dem die Modelle über Nacht in je 2 mL 70% Ethanol eingelegt wurden. Anschließend konnten diese Modelle wie die anderen kultiviert werden.

Die Melanininhibition im Hautmodell MelanoDerm™ wurde auf zwei verschiedene Weisen bestimmt, zum einen über eine optische Grauwertbestimmung des Gewebes und zum anderen über die Messung des Melaningehaltes im Gewebe jeweils nach 14 Tagen Kultivierung in EPI-100-LLMM-855 Kultivierungsmedium (MatTek Corp). Die Viabilität der Modelle wurde ebenfalls am Ende der Kultivierung wie in MTT-Viabilitätsassay beschrieben ermittelt.

Die Versuche wurden dreimal hintereinander mit drei unterschiedlichen MelanoDerm™ Chargen durchgeführt, in allen drei Versuchen wurde das 0,06%ige Rucinol-Patch und ein Placebo verwendet, in zwei Versuchen wurde eine Kultivierung mit drei Rucinolkonzentra-

tionen vorgenommen. Es fand jeweils eine Doppel- bzw. Dreifachbestimmung (für alleinige Verwendung 0,06%iger Patches) statt.

3.5.8 Melaninbestimmung

Zur Bestimmung des Melaningehaltes der Hautmodelle wurden diese bei ca. 60°C getrocknet und anschließend aus ihren Einsätzen ausgeschnitten. Das Gewebe musste nun in 350 µL 7,5M NaOH über Nacht bei 99°C und 800 rpm inkubiert werden. Am darauffolgenden Tag wurden die Proben gut durchmischt und mit je 200 µL Cyclohexan versetzt. Anschließend folgte erneut ein Inkubationsschritt für eine Stunde bei Raumtemperatur ohne Schütteln. Schließlich mussten die Proben für 8 Minuten bei 12000 rpm und 10°C abzentrifugiert werden um eine klare Phasentrennung zwischen NaOH und Cyclohexan zu erreichen. Je 250 µL aus der zweiten Phase wurden für die Messung der Extinktion bei 320-355 nm verwendet.

3.5.9 Grauwert

Der Grauwert der Hautmodelle wurde optisch ermittelt. Nach der Kultivierung wurden Fotos der Modelle angefertigt und diese anschließend mit dem Programm BDF Skin Tools ausgewertet.

3.5.10 Freisetzung

Von den während der Kultivierung 2, 24 und 48 Stunden nach Applikation der Patches genommenen Mediumproben (je 300 µL) wurden je 100 µL auf ihren Magnolol und Honokiol bzw. Licochalcone A Gehalt hin untersucht. Die Proben wurden dazu mit je 100 µL Acetonitril versetzt, um Proteine im Medium auszufällen. Abschließend mussten sie für 10 Minuten bei 12000 rpm und 8°C abzentrifugiert werden. Der Überstand konnte nun direkt zur Analytik verwendet werden. Neben den Mediumproben wurden auch die Patches 48 Stunden nach Applikation auf ihren Restwirkstoffgehalt hin untersucht. Die Extraktion der Wirkstoffe aus den Pflastern erfolgte analog zu dem in 3.4.3 Analytik beschriebenen Verfahren.

Zusätzlich dazu konnte der Wirkstoffgehalt im Gewebe der Hautmodelle nach 48 Stunden Kultivierung mit Patches bestimmt werden. Für den Viabilitätsassay (s. MTT-Viabilitätsassay) wurden die Hautmodelle für 2 Stunden in 2-Propanol inkubiert. Dabei wurde nicht nur der für die Viabilitätsbestimmung benötigte Farbstoff aus dem Gewebe extrahiert, sondern auch der hier enthaltene aus dem Patch freigesetzte Wirkstoff. Die MTT-2-Propanol-Lösung konnte somit nach Filtration direkt für die Analytik verwendet werden, um den Wirkstoffgehalt im

Gewebe zu ermitteln. Licochalcone A - Gehalte wurden mittels LC-MS bestimmt (s. 3.4.3), Magnolol und Honokiol Gehalte wie unter Bestimmung Magnolol und Honokiol beschrieben. Für die Bestimmung der Freisetzung von Rucinol auf humanen Hautmodellen wurden während der 14tägigen Kultivierung über den gesamten Kultivierungszeitraum verteilt Proben aus dem Medium genommen. Die Probennahme (je 100 μL) erfolgte jeweils 2, 6, 24, 48 und 66 Stunden nach Applikation eines Rucinol-dotierten Patches. Die Proben wurden anschließend mit 100 μL Acetonitril versetzt und für 10 Minuten bei 12000rpm und 8°C abzentrifugiert. Der Wirkstoffgehalt im Medium konnte nun direkt vermessen werden. Nach 48 Stunden oder 66 Stunden (je nach Zeitpunkt des Medium- und Pflasterwechsels) wurden auch die applizierten Patches auf ihren Wirkstoffgehalt hin untersucht. Wie oben beschrieben konnte über Extraktion der Modelle in 2-Propanol während des MTT Assays auch der Wirkstoffgehalt im Gewebe bestimmt werden. Rucinolgehalte wurden wie zuvor unter Analytik beschrieben mittels HPLC gemessen.

3.6 Diffusionskoeffizient in Wirkstofflösungen

Die Diffusionskoeffizienten der unterschiedlichen Wirkstoffe in IPM oder 1,2-Propandiol wurden mittels magnetischer Kernresonanz der Protonen an einem AVII⁺ 500 Spektrometer mit abgeschirmtem Magneten ($B_0 = 11,75 \text{ T}$, Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, Deutschland) in einem 5 mm BBOF-Probenkopf mit einem z-Gradienten bei 25 °C bestimmt. Zur Temperaturregelung wurde eine B-VT 3000 Temperatureinheit von Bruker verwendet. In einem DOSY-Experiment mit einem stimulierten Echo und gepulsten sinusförmigen Feldgradientenimpulsen in z-Richtung wurde die Gradientenstärke linear in 8 Schritten von 0,68 G/mm bis zu einem Maximalwert von 3,2 G/mm erhöht. Die Gradientendauer betrug 2 ms und die Diffusionszeit 500 ms. Die Auswertung der Spektren erfolgte mittels Spektrometersoftware Topspin der Firma Bruker Biospin GmbH. 9%ige Lösungen der Wirkstoffe in IPM wurden für die Messungen verwendet. Für die Vermessung von Salicylsäure hingegen kam 1,2-Propandiol zum Einsatz. Die Lösungen wurden vor der Vermessung mit 10 Vol.% deuterierten Methanol zum Locken und konstant halten des Feldes verdünnt.

3.7 Datenauswertung

Aus den wie zuvor beschrieben bestimmten Daten wurden Permeationskoeffizienten der Wirkstoffe in Schweinehaut und humanen Hautmodellen sowie Diffusionskoeffizienten der Wirkstoffe in Klebmassen und porzinen Stratum Cornuem ermittelt. Das Vorgehen während dieser Berechnungen ist im Folgenden beschrieben.

3.7.1 Higuchi

Bei der Verwendung des Ansatzes von Higuchi zur Beschreibung der Freisetzung eines Wirkstoffes in Haut wurden Wirkstoffmengen in der Haut sowie in der Rezeptorphase für jeden Zeitpunkt der Messung kumuliert. Diese kumulierten Wirkstoffmengen konnten nun durch die applizierte Wirkstoffmenge dividiert und gegen die Wurzel der Zeit aufgetragen werden. Die Steigung der daraus resultierenden Geraden entsprach dem Higuchi-Koeffizienten wie in Abbildung 3-4 dargestellt.

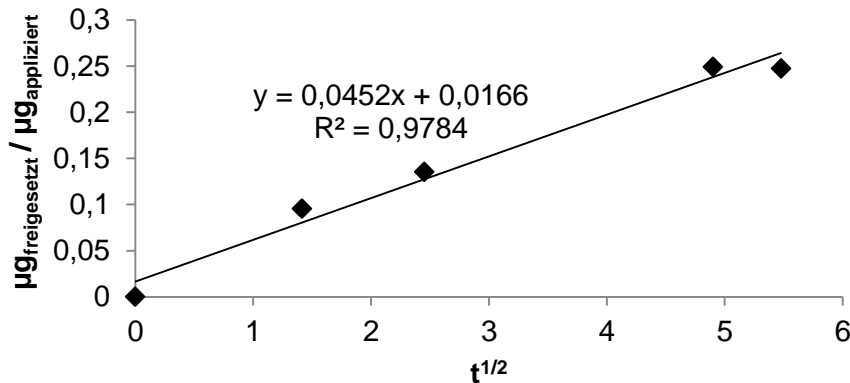


Abbildung 3-4 Bestimmung des Higuchi-Koeffizientens am Beispiel der Freisetzung von Ibuprofen aus einer PIB-Matrix

3.7.2 Permeabilitätskoeffizienten

Die Wirkstoffkonzentrationen wurden in den unterschiedlichen Hautschichten, im TDDS sowie in der Rezeptorphase wie zuvor beschrieben mittels HPLC bestimmt. Aus diesen verschiedenen Wirkstoffgehalten in den unterschiedlichen Schichten während der Applikation eines TDDS konnte der Permeabilitätskoeffizient bestimmt werden. Für die Berechnung des Permeabilitätskoeffizienten wurde dafür zunächst über eine Auftragung der Wirkstoffmenge in der Rezeptorphase (für Humanhautmodelle im Medium) gegen die Zeit vorgenommen. Dabei wurde nur die perkutane Absorption im Gleichgewichtszustand betrachtet. Im Gleichgewicht ergab sich in linearer Zusammenhang zwischen Wirkstoffkonzentration und Zeit, wie in Gleichung (6.) beschrieben. Die Steigung des linearen Bereiches dieser Auftragung entsprach dem Wirkstofffluss durch die Haut im Gleichgewicht (J_{ss}).

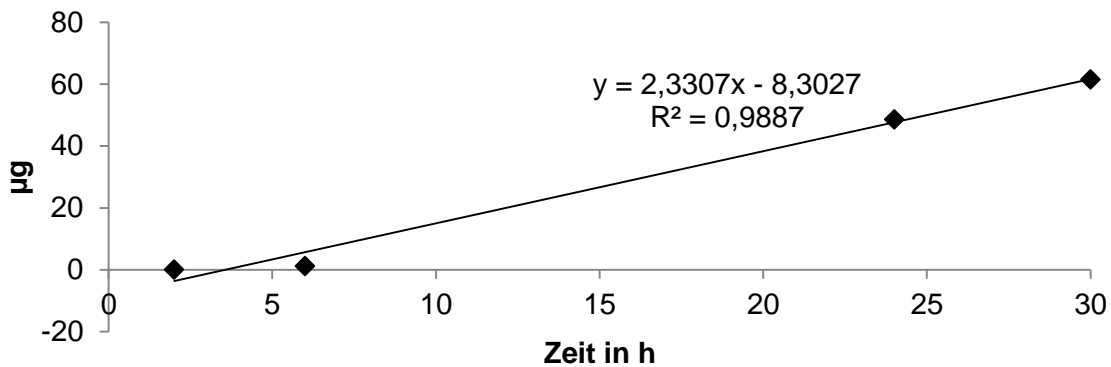


Abbildung 3-5 Bestimmung des Wirkstoffflusses im Gleichgewicht J_{ss} am Beispiel der perkutanen Absorption von Ibuprofen auf Schweinehaut

Mit Hilfe der Gleichung (6.) konnte nun aus diesem Wirkstofffluss, der Diffusionsfläche und der mit dem TDDS applizierten Wirkstoffkonzentration der Permeabilitätskoeffizient berechnet werden. Für die Bestimmung von Permeabilitätskoeffizienten K_p im Stratum corneum der Haut wurden die Wirkstoffmengen in der Epidermis, Dermis und Rezeptorphase für jeden Messzeitpunkt aufaddiert und anschließend gegen die Zeit aufgetragen.

3.7.3 Diffusionskoeffizienten

Klebmassen

Die Ramansignale (s. 4.1) wurden für jeden Messzeitpunkt gegen die Dicke der Klebmasse zum Quadrat aufgetragen. Die daraus resultierenden Kurven wurden die mit Hilfe einer Exponentialfunktion wie in Gleichung (4.) beschrieben angenähert. Aus dem Koeffizienten dieser Exponentialfunktion sowie dem jeweiligen Zeitpunkt der Messung konnte nun der Diffusionskoeffizient berechnet werden.

Stratum Corneum

Die Wirkstoffmenge im Stratum Corneum wurde gegen die Dicke des Stratum Corneums zum Quadrat aufgetragen. Aus dieser Kurve konnte wie oben beschrieben der Diffusionskoeffizient eines Wirkstoffes im Stratum Corneum bestimmt werden.

3.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe des Programmes Statistica. Die Daten wurden zunächst auf Normalverteilung geprüft und anschließend ein ANOVA mit post-hoc Turkey-Test durchgeführt. Es wurde dabei mit einem α von 0,05 gearbeitet.

4 Methodische Entwicklung

In dieser Arbeit wurde eine neue Methode zur Beobachtung von Diffusionsprozessen in Klebmassen transdermaler Systeme entwickelt. Die Entwicklung dieser auf konfokaler Raman Mikroskopie basierender Methode sowie wird im Folgenden beschrieben. Außerdem wird die Durchführung der Messungen mittels konfokaler Raman Mikroskopie in diesem Kapitel erläutert.

4.1 Beobachtung von Diffusionsprozessen mittels konfokaler Raman Mikroskopie

Für die Untersuchung von Diffusionsprozessen in den verwendeten Klebmassen wurde eine neue Methode entwickelt, die im Folgenden beschrieben wird.

Zur Tiefenprofilanalyse eines TDDs wurde das konfokale Raman-Mikroskop alpha500 der Firma WITec (Ulm, Deutschland) verwendet. Dieses ermöglicht mit Hilfe eines motorisierten Probenstisches und einem implementierten piezogetriebenen Scan-Tisches die automatisierte Aufnahme von hochaufgelösten Raman-Spektren an beliebig vielen Positionen. Für die Spektren-Aufnahme wurde ein Muster von 2,3 cm im Durchmesser des zu analysierenden Matrixsystems auf einen Quarzglas-Objektträger (15 mm x 25 mm x 0.5 mm) fixiert. Als Anregungslicht stand bei diesem Gerät ein grüner Laser mit einer Wellenlänge von 533 nm zur Verfügung. Die Aufnahme der Raman-Spektren erfolgte mit einem CCD-Detektor, dessen Informationen mittels der Software Win Spec 32 weiterverarbeitet wurden. Für Raman-Imaging Bilder wurde die Raman-Strahlung zur Avalanche Photodiode gelenkt und die hier empfangenden spektroskopischen Informationen mittels Datenverarbeitung (Software Scan CTRL) zu einem Bild zusammengesetzt. Über die Software wurden auch die Bewegungen des Scan-Tisches, auf dem die Probe befestigt war, gesteuert.

Mit Hilfe der konfokalen Raman-Mikroskopie kann ein dreidimensionales Bild der chemischen Zusammensetzung einer Probe gewonnen werden. So ist es möglich einen Wirkstoff in einer Klebmasse zu detektieren und eine örtliche Verteilung dieses Wirkstoffes in der Klebmasse zu bestimmen. Zum einen ermöglicht es diese Methode, dadurch den Diffusionskoeffizienten eines Wirkstoffes in einer adhäsiven Matrix zu ermitteln, zum anderen können Diffusionsprozesse und Gradientenbildung in einem transdermalen Pflaster während der Applikation betrachtet werden. Im Folgenden werden diese beiden Einsatzmöglichkeiten der konfokalen Raman-Mikroskopie für die Untersuchung von transdermalen Pflastersystemen beschrieben und die Entwicklung dieser Methode für diesen Zweck erläutert.

4.1.1 Bestimmung des Diffusionskoeffizienten

Um einen Wirkstoff in einer Klebmasse detektieren zu können, sollte das Raman-Signal dieses Moleküls möglichst hoch sein und Banden in einem Bereich besitzen, wo die Klebmasse ein möglichst niedriges Signal hat. Schwierigkeiten in der Raman-Mikroskopie von wirkstoff-dotierten Klebmassen können also durch zu schwache Spektren und eine Überlagerung verschiedener Spektren auftreten. Außerdem kann die Aufnahme von Tiefen-Scan durch starke Streuung des Laserstrahls im Material limitiert sein. Für die Bestimmung der Wirkstoffverteilung müssen also folgende Punkte überprüft werden.

- Aufnahme von Tiefenscans ohne Verlust der Intensität des Signals in tieferen Schichten einer Klebmasse
- spezifische Banden in den Raman-Spektren der Klebmasse und des Wirkstoffes überlagern sich nicht
- die Aufnahme eines Raman-Spektrums wird nicht durch die Fluoreszenz der Substanzen (Wirkstoffe oder Klebmassen) verhindert
- ausreichende Intensität des Raman-Signals des Wirkstoffes für die Detektion in der Klebmasse

Es wurden die Spektren von Aciclovir, Paeonol, Rucinol, Salicylsäure, Ibuprofen, Magnolia Extrakt, Süßholz Extrakt sowie Bakuchiol aufgenommen um ihre Eignung für diese Messmethode zu überprüfen. Außerdem wurden die Raman-Spektren zweier auf Kautschuk basierenden Klebmassen (Duro-Tak H1540, PIB-Klebmasse), einer Klebmasse auf Acrylbasis (Duro-Tak 180-129A) sowie einer Silikon-Klebmasse (BIO-PSA 7-4202) gemessen. Im Folgenden wird anhand der Wirkstoffe Paeonol und Rucinol beispielhaft das Auswahlverfahren der Wirkstoffe beschrieben.

Die Abbildung 4-1 zeigt das Raman-Spektrum von Paeonol. Paeonol hat in seinem Spektrum Signale mit einer Intensität von bis zu 7000 CCD cts. Die höchste Bande liegt dabei in einem Wellenzahlenbereich von 1350 cm^{-1} .

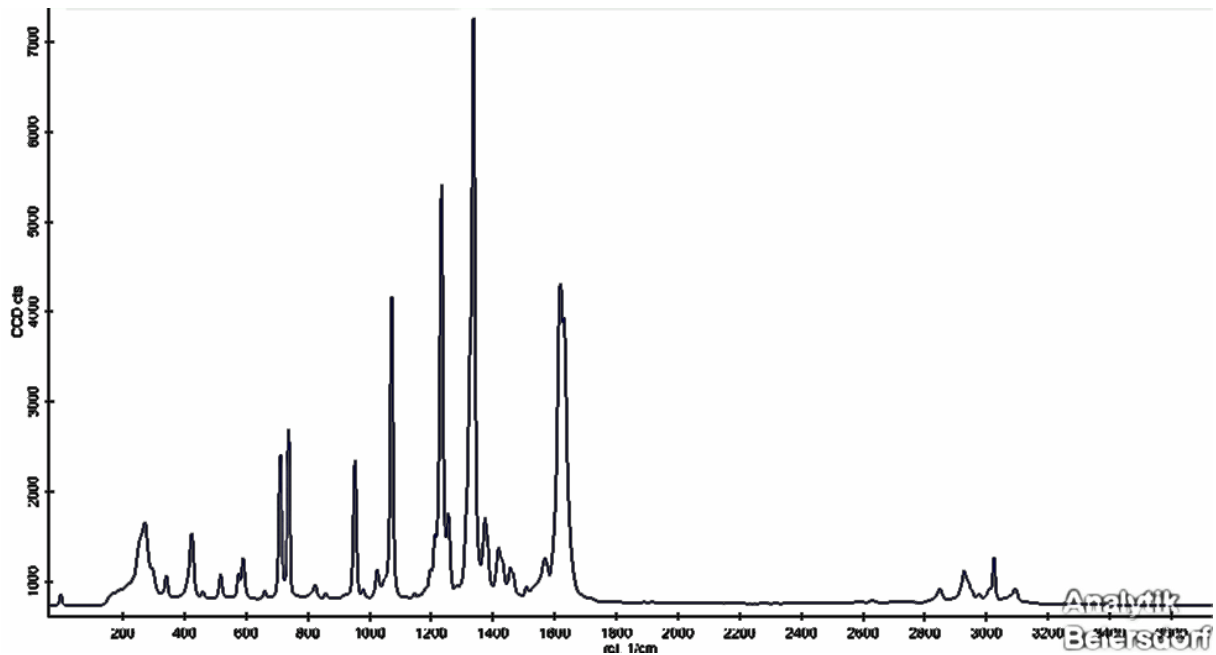


Abbildung 4-1 Raman-Spektrum von Paeonol

In Abbildung 4-2 ist das Raman-Spektrum von Butylresorcinol zu sehen.

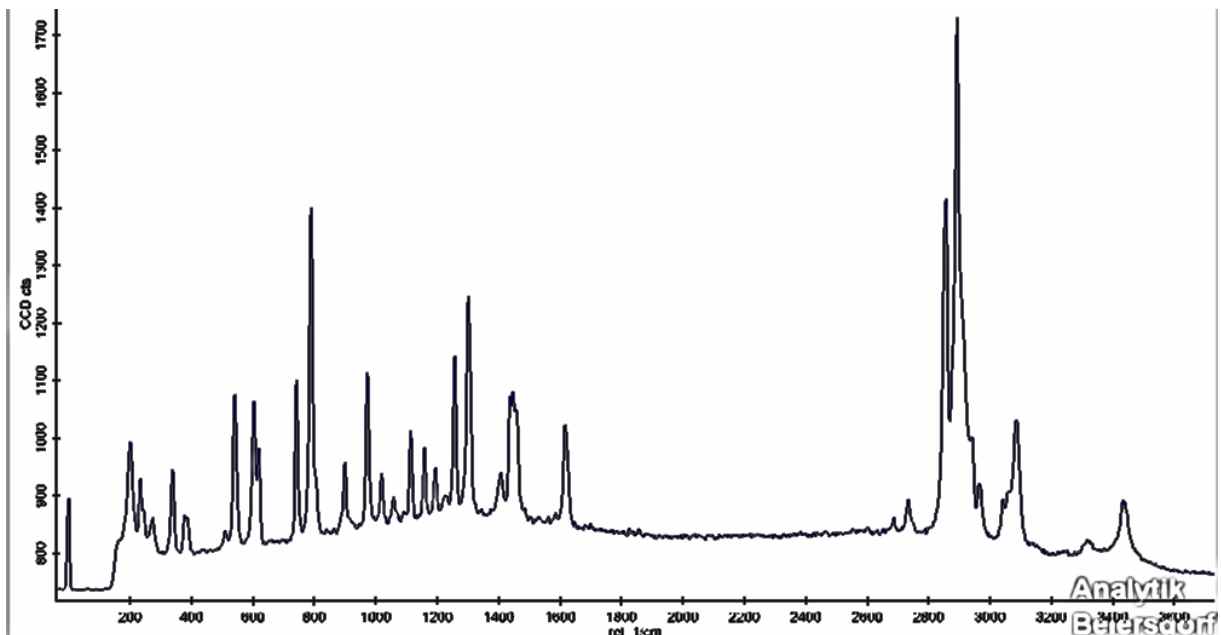


Abbildung 4-2 Raman-Spektrum von Rucinol

Rucinol hingegen weist ein deutlich schwächeres Raman-Signal im Vergleich zu Paeonol auf. Hier hat die höchste Bande nur eine Intensität von ca. 1700 CCD cts und dieses Signal liegt bei einer wesentlich höheren Wellenzahl von ca. 2900 cm^{-1} im Vergleich zu Paeonol. Abbildung 4-3 zeigt die Raman-Spektren von Duro-Tak H1540, Duro-Tak 180-129A sowie von BIO-PSA 7-4202.

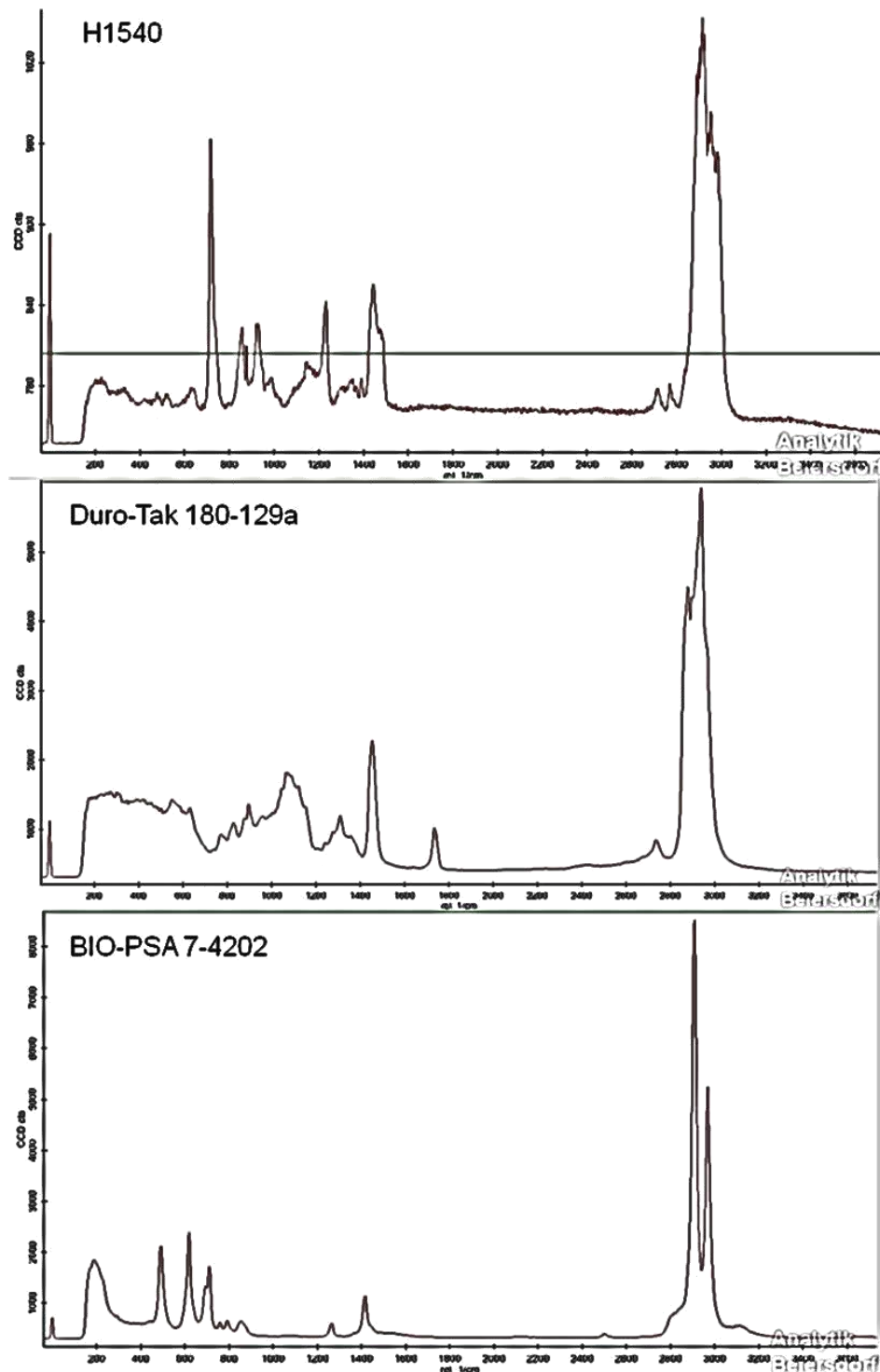


Abbildung 4-3 Raman-Spektren der Klebmassen Duro-Tak H1540, Duro-Tak 180-129A sowie BIO-PSA 7-4202

Alle drei Klebmassen haben die höchsten Banden in ihrem Spektrum in einem Wellenzahlenbereich von $2800\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$. Die Intensität des Signals war dabei bei der Silikonmatrix am stärksten (ca. 9000 CCD cts), gefolgt von Duro-Tak 180-129A (600 CCD cts) und der Si-basierenden Klebmasse (1500 CCD cts). Diese drei Klebmassen enthalten keinen Füllstoff, von diesen Matrix-Systemen konnten problemlos Raman-Tiefenscans bis zu einer Tiefe von

ca. 100 μm aufgenommen werden. Die PIB-Klebmasse hingegen mit 30% Cellulose eignete sich nicht für diese Art von Untersuchung. Wie in Abbildung 4-4 anhand eines Raman-Scans der PIB-Matrix zu sehen, nahm die Intensität des Signals der Klebmasse mit zunehmender Tiefe stark ab. Der hohe Cellulosegehalt störte die Messung.

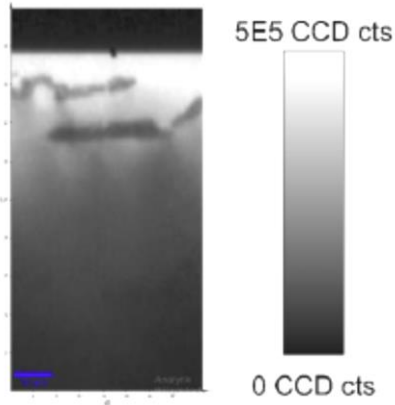


Abbildung 4-4 Raman-Scan der PIB Klebmasse, weiß: Signal des PIBs

Die konfokale Raman-Mikroskopie eignet sich also nur für die Untersuchung von füllstofffreien Klebmassesystemen.

Betrachtet man nun die Raman-Spektren der drei Klebmassen (Abbildung 4-3) und die Spektren von Paeonol und Rucinol (Abbildung 4-1 und Abbildung 4-2), sieht man deutlich, dass sich Paeonol besser für die Messung in diesen Systemen eignet. Paeonol lag mit seiner höchsten Bande in einem schwachen Signal-Bereich der Klebmassen. Bei Rucinol lag die höchste Bande im Bereich der höchsten Intensität der Klebmassen. Darüber hinaus hatte Paeonol die höchste Intensität aller vermessen Wirkstoffe (weitere Raman-Spektren siehe Anhang). Abbildung 4-5 zeigt am Beispiel der Silikonmatrix, dass das Raman-Spektrum von Paeonol in der Klebmasse gut zu detektieren ist. Die spezifischen Banden bei 1100 cm^{-1} , 1350 cm^{-1} sowie 1680 cm^{-1} sind in diesem Ausschnitt des Raman-Spektrums einer mit 5% Paeonol dotierten Klebmasse (blau) im Vergleich zur wirkstofffreien Matrix (rot) klar zu erkennen. Daher wurde Paeonol als Modelwirkstoff für die Messungen ausgewählt.

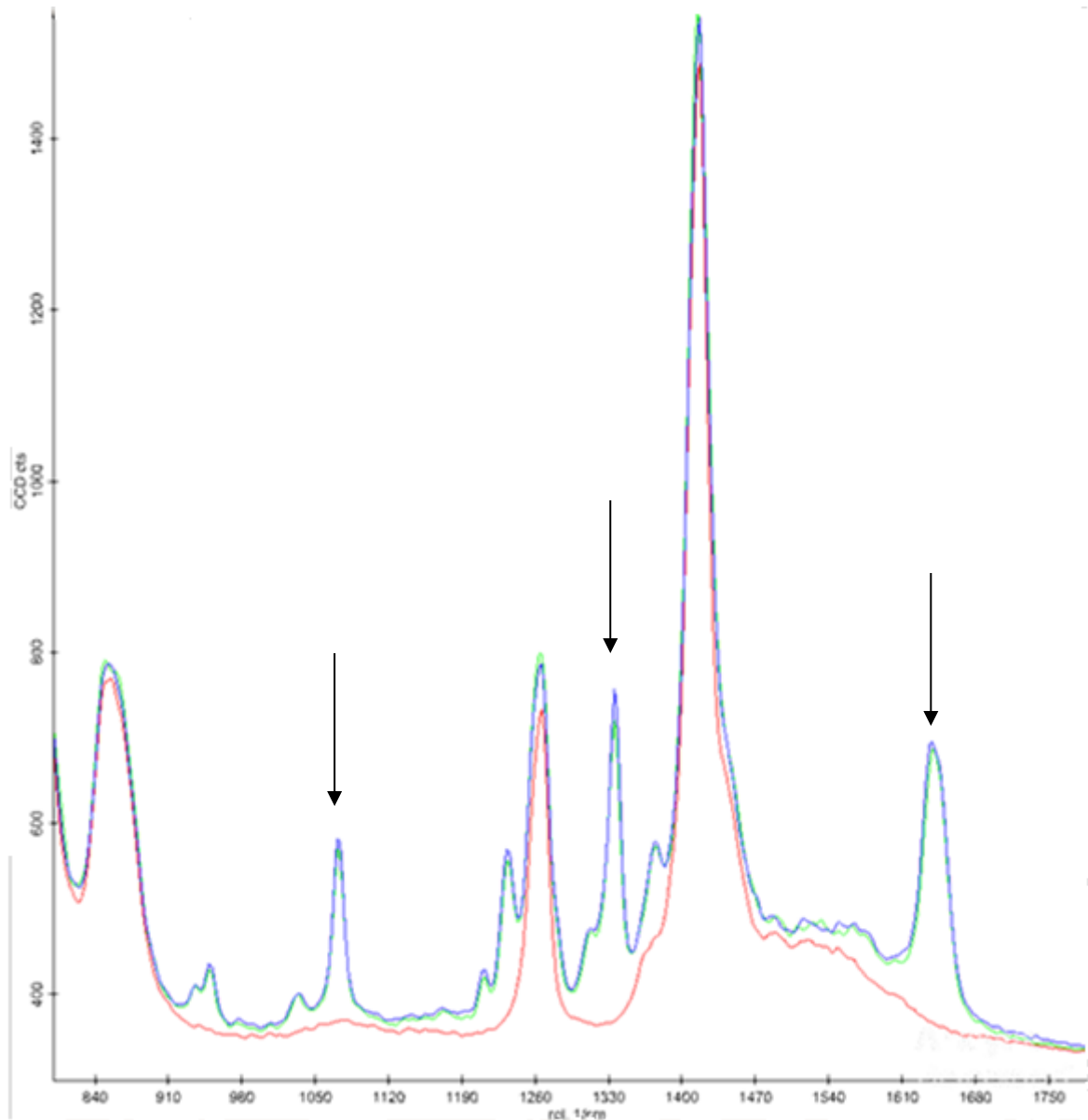


Abbildung 4-5 Ausschnitt aus den Raman-Spektren von BIO-PSA 7-4202 (rot) und BIO-PSA 7-4202 mit 5% Paeonol (blau)

Paeonol hat von seinem log P Wert her sehr gute Penetrationseigenschaften. Um den Einfluss des Diffusionskoeffizienten in Klebmassen auf die Penetration beurteilen zu können, sollte zusätzlich zu Paeonol noch ein weiterer Wirkstoff mit schlechten Penetrationseigenschaften vermessen werden. Bakuchiol besitzt mit einem log P Wert von ca. 6 die benötigten schlechten Voraussetzungen für die Penetration in Haut. Die spezifischen Banden von Bakuchiol überlagern sich jedoch mit den Raman-Signalen der verwendeten Klebmassen. Daher musste hier die Auswertung über die Bildung einer Spektrendifferenz erfolgen. Dies erhöhte die Unsicherheit der Daten.

Um eine ausreichend gute Detektion von Paeonol und Bakuchiol in den jeweiligen Klebmassen zu garantieren, wurden die Massen abweichend von der zu vorigen Zusammensetzung mit 5% Wirkstoffgehalt hergestellt.

Für die Messung des Diffusionskoeffizienten von Paeonol wurde das in Abbildung 4-6 dargestellte Messprinzip verwendet.

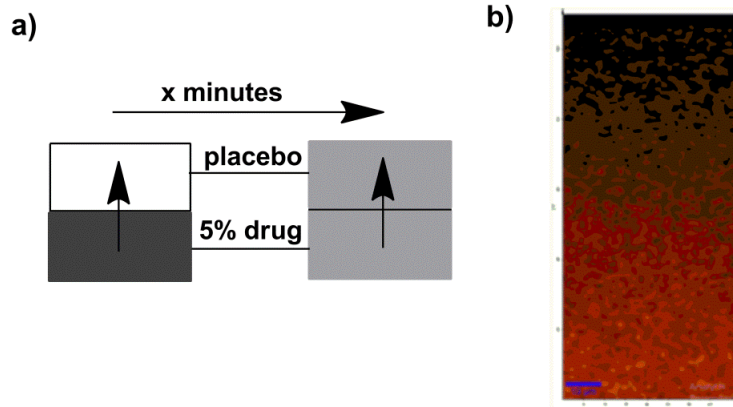


Abbildung 4-6 a) Messprinzip Diffusionskoeffizient, b) Beispiel eines Raman-Scans in einer Klebmasse mit Wirkstoffgradienten

Die wirkstoffdotierte Klebmasse wurde auf einen Objektträger fixiert. Die Dicke dieser Masse betrug dabei ca. 300 μm . Auf diese Matrix wurde nun ein Placebo der jeweiligen Klebmasse aufgeklebt. Dieses Placebo hatte eine Dicke von ca. 100 μm . Nun wurden Raman-Tiefenscans im Placebo zu unterschiedlichen Zeitpunkten vorgenommen. Die Auflösung der Raman-Images betrug dabei 50 x 110 Pixel. Dies entsprach 5500 Einzelspektren. Um Intensitätsschwankungen durch Streuung des Raman-Laserlichts in tieferen Klebmasseschichten auszugleichen, wurden die Wirkstoffsignale auf die C-H-Signale der Klebmasse normiert. Die so gewonnenen Daten wurden mithilfe einer programmierten Excel-Datei ausgewertet. Zugrunde gelegt wurde hier die Ficksche Diffusion (s. 2.4).

4.1.2 Wirkstoffdiffusion während der Applikation auf Schweinehaut

Mittels konfokaler Raman-Mikroskopie können Wirkstoffgradienten in adhäsiven transdermalen Systemen detektiert werden. Dies wurde nun nicht nur dafür genutzt Diffusionskoeffizienten in den Klebmassen der Pflaster zu bestimmen, sondern auch um den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Wirkstofffreisetzung auf Schweinehaut zu ermitteln. Dafür wurden zusätzlich Wirkstoffgradienten im TDDS während der Applikation auf Schweinehaut mittels konfokaler Raman Mikroskopie untersucht.

Für diese Untersuchungen wurden Freisetzungsstudien mit Franz-Diffusionszellen (wie zuvor beschrieben, s. 3.4.1) durchgeführt. Anschließend konnte die Gradienten-Bildung in der

Klebmasse während der Applikation auf Schweinehaut untersucht werden. Hierfür wurde das transdermale Pflaster nach unterschiedlich langer Tragedauer (2, 6, 24 Stunden) von der Schweinehaut entfernt und anschließend auf einen Objektträger überführt. Nun wurden Rama-Tiefenscans in der Klebmasse des Systems wie zuvor unter 3.8 beschrieben durchgeführt. Aufgrund der Fluoreszenz der Schweinehaut konnten keine Wirkstoffsignale in der Schweinehaut gemessen werden. Hier musste die Betrachtung der Diffusion mittels Tape-Stripping vorgenommen werden.

Als transdermales System kam für diese Untersuchungen ein auf Duro-Tak H1540 basierendes mit 5% Paeonol dotiertes Pflaster zum Einsatz. Es wurde hier mit einem PE-Träger gearbeitet.

5 Ergebnisse

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Untersuchungen der Wirkstoffdiffusion ex vivo in Schweinehaut sowie in vitro in humanen Hautmodellen dargestellt.

Die Diffusionseigenschaften verschiedener Wirkstoffe wurden auf Schweinehaut charakterisiert (5.1). Außerdem wurde aus vier Silikon-, vier Acrylate- sowie drei Kautschukklebmassen jeweils ein Matrix-System pro Polymergruppe ausgewählt (5.2) und diese Systeme wurden anschließend auf ihre Wirkstofffreisetzung mit den zuvor charakterisierten Wirkstoffen hin untersucht. Jede dieser Klebmassen wurde auf mechanische Eigenschaften und Löslichkeit der Wirkstoffe in den Systemen hin charakterisiert (5.3). Zusätzlich dazu wurden Diffusionsprozesse in den jeweiligen Klebmassen genauer betrachtet (5.4). Der Einfluss der Kohäsivität einer Klebmasse wurde anhand der Variation einer Kautschukmasse genauer untersucht (5.5). Die Wirksamkeit von entzündungshemmenden sowie hautaufhellenden Wirkstoffen in zwei verschiedenen transdermalen Systemen und die perkutane Absorption wurden in vitro mittels EpiDerm™ und MelanoDerm™ betrachtet (5.6).

5.1 Charakterisierung der Wirkstoffe

Es wurden acht verschiedene Wirkstoffe (s. 3.2) hinsichtlich ihres Permeationsverhaltens auf Schweinehaut charakterisiert, dabei wurde ein umfassender Überblick über die perkutane Absorption der Moleküle erstellt. Diffusionskoeffizienten der Wirkstoffe in den Penetrationsbeschleunigern Isopropylmyristat und 1,2-Propanediol und im porzinen Stratum Corneum wurden ermittelt. In perkutanen Absorptionsstudien mit Schweinehaut wurden die Permeationseigenschaften der Wirkstoffe bestimmt.

Die physikochemischen Kenngrößen der verwendeten Moleküle sind in Tabelle 5-1 zusammengefasst. Der Oktanol / Wasserverteilungskoeffizient $\log P$, das Molekulargewicht sowie die Wasserlöslichkeit wurden aus unterschiedlichen Literaturstellen bezogen. Weitere Kenngrößen zur Beschreibung der verschiedenen Wirkstoffe wurden experimentell ermittelt.

Tabelle 5-1 Oktanol / Wasserverteilungskoeffizient, Molekulargewicht sowie Wasserlöslichkeit

	log P	Molekulargewicht [g/mol]	Wasserlöslichkeit [mg/L]
Aciclovir	-1,5	225,21	1620
Paeonol	1,98	166,18	2240
Salicylsäure	2,26	138,12	4970
Rucinol	3	166,22	3418,5
Ibuprofen	4	206,28	21
Magnolol & Honokiol	3,94	266,34	1,913
Licochalcone A	4,9	338,39	17,059
Bakuchiol	6,15	256,38	0,945

Die Diffusionseigenschaften der verschiedenen Moleküle in Penetrationsbeschleunigern wurden betrachtet. Die Diffusionskoeffizienten der verschiedenen Wirkstoffe bei 25°C in IPM oder 1,2-Propandiol sind in Tabelle 5-2 zusammengefasst. Die Daten wurden mittels NMR ermittelt (s. 3.6).

Tabelle 5-2 Diffusionskoeffizienten in 1,2-Propandiol (Salicylsäure) und IPM (Paeonol, Rucinol, Ibuprofen und Bakuchiol) bei 25°C in m²/s

	Salicylsäure	Paeonol	Rucinol	Ibuprofen	Bakuchiol
m ² /s	$2,76 \cdot 10^{-10}$	$3,46 \cdot 10^{-10}$	$1,44 \cdot 10^{-10}$	$1,96 \cdot 10^{-10}$	$1,48 \cdot 10^{-10}$

Die Diffusionskoeffizienten der Leitsubstanzen des Magnolia sowie Süßholz Extraktes ließen sich mittels NMR nicht bestimmen. Hier überlagerten sich die NMR-Signale der Wirkstoffmoleküle mit den Signalen aus anderen Bestandteilen der Extrakte. Somit konnten nur Diffusionskoeffizienten der als Reinsubstanz verwendeten Wirkstoffe ermittelt werden. Auch Aciclovir konnte nicht vermessen werden, da dieser Wirkstoff eine zu geringe Löslichkeit in IPM oder 1,2-Propandiol aufwies. Es zeigten sich keine großen Unterschiede in den Diffusionskoeffizienten der verschiedenen Moleküle. Die gemessenen Werte lagen alle in einer Größenordnung von 10^{-10} m²/s. Paeonol besaß mit $3,46 \cdot 10^{-10}$ m²/s den höchsten Diffusionskoeffizienten der vermessenen Substanzen, Rucinol mit $1,44 \cdot 10^{-10}$ m²/s den niedrigsten.

Es wurden perkutane Absorptionsstudien auf Schweinehaut mit den acht Wirkstoffen durchgeführt. Für diese Untersuchungen waren die Wirkstoffe in IPM und Decyloleat gelöst. Es wurde zum einen die Permeation im Stratum corneum ($K_{P,SC}$) betrachtet, zum anderen die Permeation in der gesamten Schweinehaut (K_P). Darüber hinaus wurde die Korrelation der Daten aus den perkutanen Absorptionsstudien mit der von Higuchi beschriebenen Kinetik (s. 2.3.3) überprüft. Die resultierenden Permeabilitätskoeffizienten (s. 3.7.2) im porzinem Stra-

tum corneum und die Steigung der Gerade aus dem Higuchi-Fit (s. 3.7.1) sowie dessen Regressionsfaktor sind in Tabelle 5-3 zusammengefasst.

Es konnten deutliche Unterschiede in den Permeabilitätskoeffizienten durch das Stratum Corneum für die unterschiedlichen Wirkstoffe beobachtet werden. Rucinol, Salicylsäure und Paeonol wiesen die höchsten Koeffizienten auf. Die langsamste Permeation durch die Hautbarriere zeigten die beiden lipophilsten Moleküle Licochalcone A und Bakuchiol.

Tabelle 5-3 Permeabilitätskoeffizienten durch porcines Stratum corneum ($K_{P,SC}$), nach 24 Stunden freigesetzte Menge in % sowie durch porcine Haut (K_P) und Koeffizient aus dem Higuchi-Fit mit zugehörigen Regressionsfaktor R^2

	$K_{P,SC} \cdot 10^{-6}$ [cm/h]	% Freisetzung	Higuchi	R^2
Aciclovir	11,3 ± 7,5	10	0,033 ± 0,008	0,918
Paeonol	15,0 ± 4,4	32	0,086 ± 0,017	0,930
Salicylsäure	15,8 ± 6,8	61	0,192 ± 0,048	0,889
Rucinol	17,4 ± 3,2	50	0,102 ± 0,005	0,995
Ibuprofen	12,7 ± 1,1	51	0,085 ± 0,015	0,912
Honokiol	3,79 ± 0,2	20	0,030 ± 0,009	0,949
Licochalcone A	0,44 ± 0,01	10	0,007 ± 0,0004	0,998
Bakuchiol	1,53 ± 0,45	10,7	0,02 ± 0,008	0,883

Für alle Wirkstoffe ließ sich die perkutane Absorption gut mit der Kinetik von Higuchi beschreiben. Es zeigte sich eine gute Korrelation für die experimentell ermittelten Freisetzungsdaten auf Schweinehaut. Lediglich für Salicylsäure und Bakuchiol ergaben sich Regressionsfaktoren von unter 0,9. Die Koeffizienten aus dem Fit waren ein Maß für die Geschwindigkeit der perkutanen Absorption. Je größer der Koeffizient aus der linearen Regression, desto schneller wurde ein Molekül von der Schweinehaut absorbiert. Wie auch schon bei den Permeabilitätskoeffizienten wiesen Salicylsäure, Rucinol und Paeonol hier die höchsten Werte auf, Licochalcone A und Bakuchiol die niedrigsten.

Eine Auftragung der Permeabilitätskoeffizienten im Stratum corneum gegen den log P Wert der unterschiedlichen Wirkstoffe ist in Abbildung 5-1 zu sehen.

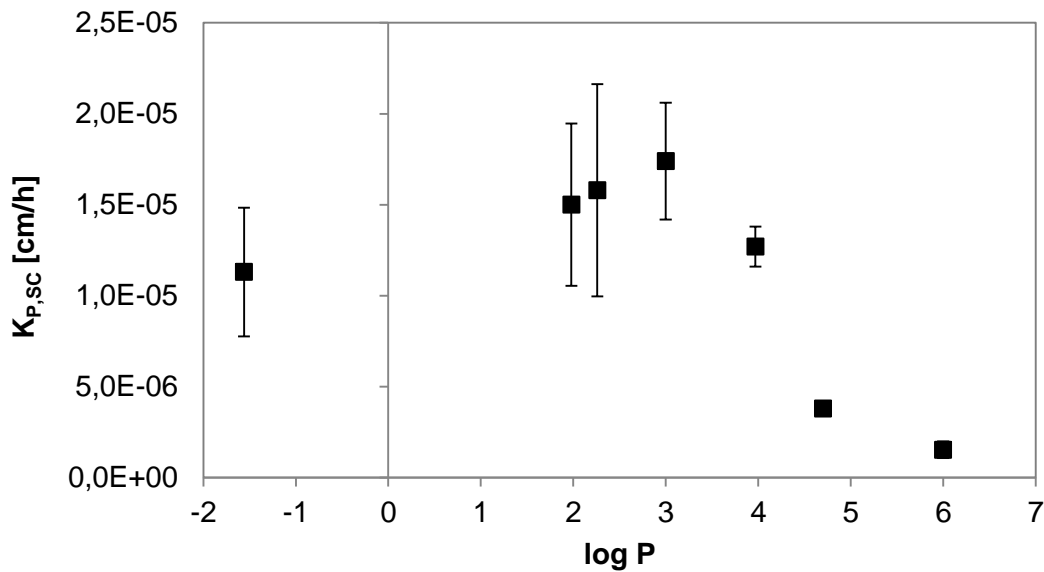


Abbildung 5-1 Permeabilitätskoeffizient $K_{p,sc}$ in cm/h aufgetragen über den log P Wert der Wirkstoffmoleküle, Daten repräsentieren Mittelwerte (\pm Standardabweichung) aus drei unabhängigen Versuchen

Es konnte kein signifikanter Unterschied der Permeabilitätskoeffizienten im log P-Bereich von 2-4 detektiert werden. Im Bereich höherer Oktanol / Wasserverteilungskoeffizienten sank der Permeabilitätskoeffizient jedoch deutlich, dieser Unterschied war signifikant (Licochalcone a: $p=0,011$, Bakuchiol: $p=0,016$).

Nicht nur die Geschwindigkeit der perkutanen Absorption sowie die Permeation im Stratum corneum unterschied sich unterhalb der verwendeten Wirkstoffe, auch der Übergang zwischen den einzelnen Schichten der Haut wies Unterschiede auf. Die Verteilung der Wirkstoffe nach einer 24stündigen Inkubation auf Schweinehaut ist in Tabelle 5-4 zusammengefasst.

Tabelle 5-4 % Verteilung in der Schweinehaut nach 24 Stunden Applikation der Wirkstoffe

	% Stratum corneum	% Epidermis	% Dermis	% Rezeptorphase
Aciclovir	-	38,3	30,7	31,0
Paeonol	4,6	4,4	83,3	7,6
Salicylsäure	3,9	13,6	33,9	48,6
Rucinol	8,4	20,7	66,7	21,1
Ibuprofen	28,1	10,3	46,0	15,6
Honokiol	56,6	23,3	20,1	-
Licochalcone A	77,3	17,9	4,8	-
Bakuchiol	77,0	10,6	12,4	-

Die Wirkstoffe mit dem höchsten Permeabilitätskoeffizienten im Stratum corneum Paeonol, Salicylsäure und Rucinol waren erwartungsgemäß nach 24 Stunden nur noch in geringen Mengen in dieser Hautschicht wiederzufinden. Diese Wirkstoffe penetrierten zu großen Teilen (70 - 90%) innerhalb der Inkubationszeit bis in die Dermis und die Rezeptorphase. Für die sehr lipophilen Wirkstoffe Honokiol, Licochalcone A und Bakuchiol konnte nach 24 Stunden keine Diffusion bis in die Rezeptorphase beobachtet werden. Sie wurden zum größten Teil im Stratum corneum der Haut wiedergefunden (ca. 80%).

Zusätzlich zu den bereits beschriebenen Werten (Permeabilitätskoeffizienten, Higuchi-Fit und Verteilung innerhalb der Haut) wurde auch der Diffusionskoeffizient der verschiedenen Wirkstoffmoleküle im Stratum corneum aus den perkutanen Absorptionsstudien berechnet. Die Diffusionskoeffizienten im porzinen Stratum corneum der unterschiedlichen Wirkstoffe sind in Tabelle 5-5 zu finden.

Tabelle 5-5 Diffusionskoeffizient in porzinem Stratum corneum bei Raumtemperatur in m^2/s

	Salicylsäure	Paeonol	Rucinol	Ibuprofen	Bakuchiol
m^2/s	$1,65 \cdot 10^{-16}$	$2,85 \cdot 10^{-16}$	$1,70 \cdot 10^{-17}$	$5,06 \cdot 10^{-17}$	$3,18 \cdot 10^{-17}$
	$\pm 1 \cdot 10^{-16}$	$\pm 6,5 \cdot 10^{-17}$	$\pm 2,4 \cdot 10^{-18}$	$\pm 1,25 \cdot 10^{-17}$	$\pm 4,1 \cdot 10^{-18}$

Die Diffusionskoeffizienten im Stratum corneum der Schweinhaut zeigten alle deutlich niedrigere Werte als die Diffusionskoeffizienten in IPM oder 1,2-Propandiol. Sie lagen in einer Größenordnung von 10^{-16} bis 10^{-17} m^2/s . Aciclovir Gehalte im Stratum Corneum waren unterhalb der Nachweisgrenze. Die fünf Wirkstoffe zeigten in ihren Diffusionskoeffizienten im Stratum Corneum die gleiche Reihenfolge wie in den Penetrationsbeschleunigern IPM und 1,2-Propandiol (Paeonol > Salicylsäure > Ibuprofen > Bakuchiol > Rucinol).

5.2 Klebmassensysteme

Unterschiedliche Acrylate, Silikone und Kautschuke standen als Basis für adhäsive transdermale Systeme zur Verfügung. Zunächst wurde aus jeder dieser Polymergruppen eine Klebmasse anhand ihres Freisetzungsverhaltens für eine detaillierte Charakterisierung ausgewählt. Die Auswahl der drei Systeme ist im Folgenden beschrieben.

5.2.1 Acrylate

Es standen für die Herstellung transdermaler Systeme vier verschiedene Acrylat-Klebmassen zur Verfügung. Nur eine dieser Klebmassen sollte später genauer hinsichtlich ihrer Freisetzungseigenschaften auf Schweinhaut charakterisiert werden. Zur Auswahl die-

ser Matrix wurden zunächst zwei unterschiedliche Wirkstoffe in alle vier Systeme eingearbeitet. Bei diesen beiden Wirkstoffen handelte es sich um Paeonol und Bakuchiol. Bei der Untersuchung der unterschiedlichen Wirkstoffe (s. 5.1) erwies sich Paeonol mit einem hohen Permeabilitätskoeffizienten im Stratum corneum von $15,0 \cdot 10^{-6}$ cm/h als ein Molekül mit einer hohen perkutanen Absorption. Bakuchiol hingegen zeigte mit einem $K_{P,SC}$ von $1,5 \cdot 10^{-6}$ cm/h deutlich schlechtere Permeationseigenschaften auf Schweinehaut. Mit diesen Wirkstoffen können also beide Extreme der perkutanen Absorption abgebildet werden.

Es wurde die Löslichkeit von Paeonol und Bakuchiol in den Matrix-Systemen bestimmt sowie die Wirkstofffreisetzung auf Schweinehaut nach 24 Stunden Applikation.

Die Löslichkeit von Paeonol und Bakuchiol in den vier verschiedenen Klebmassen ist in Tabelle 5-6 zu sehen.

Tabelle 5-6 Löslichkeit von Paeonol und Bakuchiol in den verwendeten Acrylatklebmassen (Duro-Tak 180-129A, GMS 737-01, GME 3011, FKF) in g/L

	Duro-Tak 180-129A	GMS 737-01	GME 3011	FKF
Paeonol	30,6 g/L	11,2 g/L	23,0 g/L	11,6 g/L
Bakuchiol	409,2 g/L	413,5 g/L	331,2 g/L	25,1 g/L

Bakuchiol war sowohl in Duro-Tak 180-129A, GMS 737-01 sowie in GME 3011 deutlich besser löslich als Paeonol. Hier konnten 300 - 400 g/L Wirkstoff in die Polymer-Matrix ohne ein Auskristallisieren bzw. ein Abscheiden des Wirkstoffes eingearbeitet werden. Bei Paeonol war dies nur in einem Bereich von 10 - 30 g/L möglich. Die Löslichkeit in dem System des feuchtklebenden Films lag für Paeonol mit 11,6 g/L in der gleichen Größenordnung wie die kommerziell erhältlichen Klebmassen, Bakuchiol war mit nur 25,1 g/L jedoch im Vergleich dazu deutlich schlechter im feuchtklebenden Film löslich. Die transdermalen Systeme für die perkutanen Absorptionsstudien auf Schweinehaut wurden mit 10 g/L Wirkstoff hergestellt. Die TDDSs aus den kommerziell erhältlichen Acrylat-Systemen mit Bakuchiol waren während der Studien also weit von einem gesättigten oder gar übersättigten Zustand entfernt. Paeonol lag jedoch nur leicht untersättigt in den Formulierungen vor. Wie anhand der Löslichkeitsdaten zu vermuten war, konnte in keinen der transdermalen Systeme für die Freisetzung eine Wirkstoffkristallisation beobachtet werden.

Die Ergebnisse der perkutanen Absorptionsstudien auf Schweinehaut mit den vier mit Paeonol dotierten Acrylat-Systemen sind in Abbildung 5-2 dargestellt. Zusehen ist die prozentuale Verteilung des mit dem TDDS applizierten Paeonols nach 24 Stunden im transdermalen System sowie in den unterschiedlichen Schichten der Schweinehaut nach Aufarbeitung der Proben. Paeonol zeigte während der Untersuchungen in den Franzzellen eine schlechte analytische Wiederfindung. Die teilweise hohen Verlust-Werte sind dabei durch die hohe

Wasserdampfflüchtigkeit von Paeonol begründet. Die Franzellen waren kein geschlossenes System, was eine Verflüchtigung der Wirkstoffe während der perkutanen Absorptionsstudien ermöglichte.

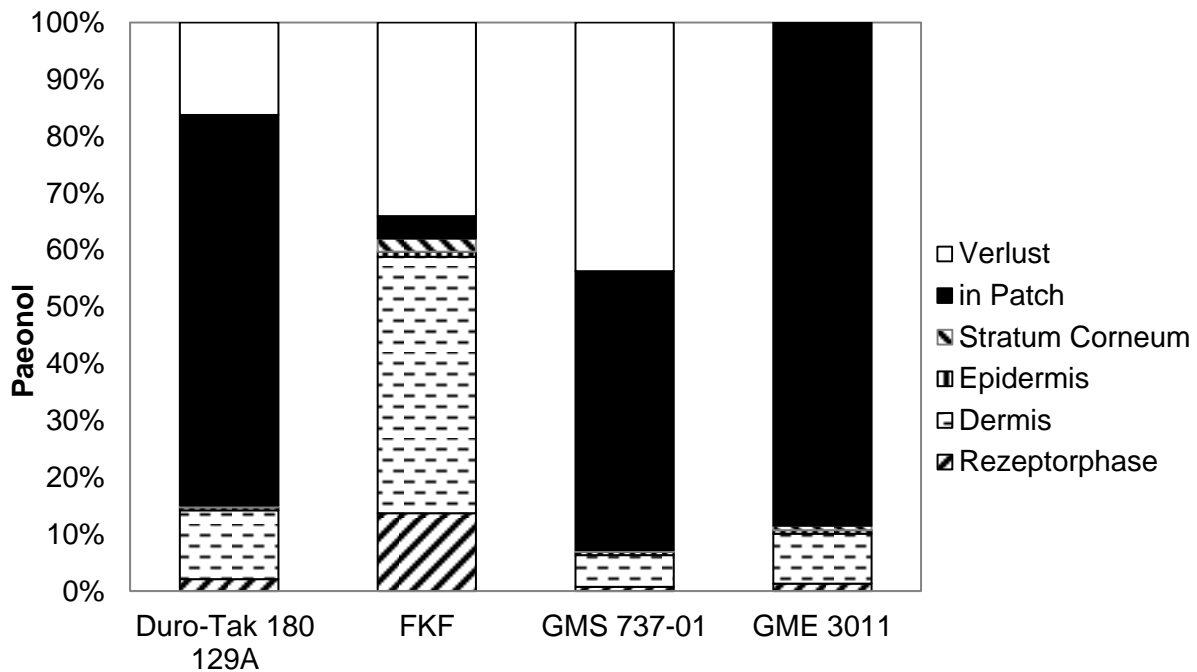


Abbildung 5-2 Verteilung des applizierten Paeonols nach 24stündiger Applikation auf Schweinehaut in % in den transdermalen Acrylat-Systemen sowie in den einzelnen Hautschichten

Im Vergleich der unterschiedlichen Klebmassen zeigte das System des feuchtklebenden Films (FKF) die höchste perkutane Absorption auf Schweinehaut. Die drei verschiedenen kommerziell erhältlichen Acrylat-Systeme unterschieden sich untereinander kaum in ihrem Freisetzungverhalten von Paeonol. 60% des mit dem feuchtklebenden Film applizierten Paeonol konnten nach 24 Stunden Anwendungsdauer auf Schweinehaut in der Haut oder der Rezeptorphase wiedergefunden werden. Bei den drei anderen Klebmassen waren es nur 5 - 15%, wobei die Duro-Tak 180-129A die höchsten Werte zeigte, die Varianz innerhalb der drei kommerziellen Matrix-Systeme entsprach keinem signifikanten Unterschied. Die Freisetzung aus dem feuchtklebenden Film hingegen war signifikant höher (180-129A vs. FKF: $p=0,0003$, GME vs. FKF: $p=0,0002$, GMS vs. FKF: $p=0,001$). Da es sich bei Paeonol um einen wasserdampfflüchtigen Wirkstoff handelte, konnten nach 24stündiger Anwendung auf Schweinehaut zum Teil nur 60% des applizierten Paeonol wiedergefunden werden. Bei dem verwendeten Versuchsaufbau handelte es sich um ein offenes System (s. 3.4.1) indem das Verflüchtigen dieses Wirkstoffes nicht verhindert werden konnte.

Die Ergebnisse der perkutanen Absorptionsstudien mit Bakuchiol sind in Abbildung 5-3 zusammengefasst.

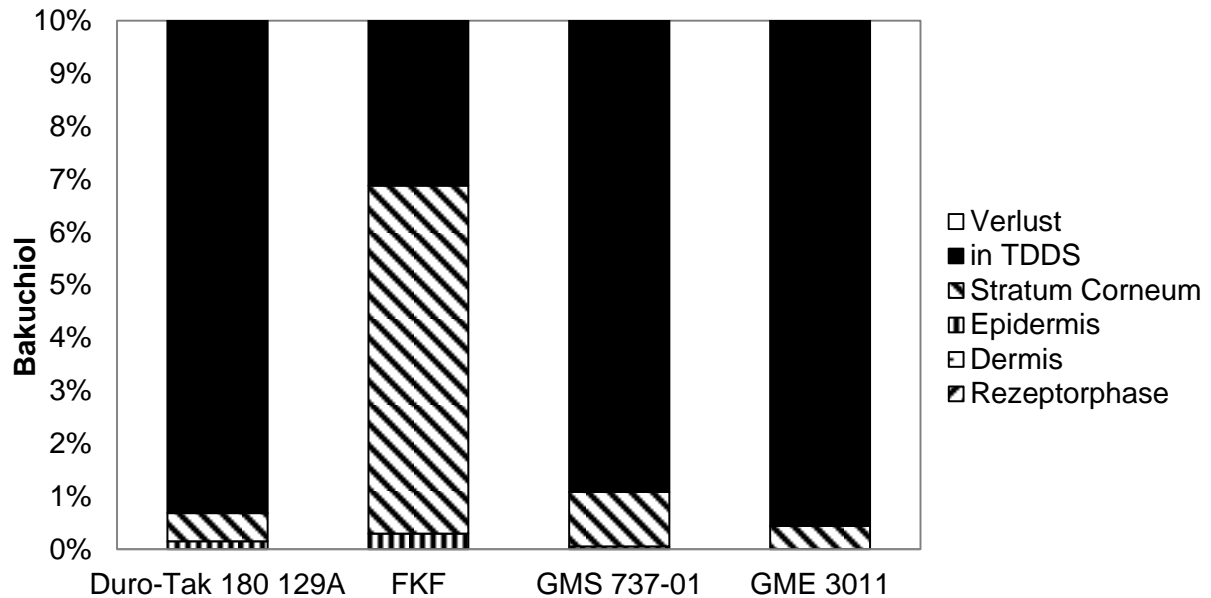


Abbildung 5-3 Verteilung des applizierten Bakuchiols nach 24stündiger Applikation auf Schweinehaut in % in den transdermalen Acrylat-Systemen sowie in den einzelnen Hautschichten, Ausschnitt von 10%

Da Bakuchiol deutlich schlechtere Permeationseigenschaften auf Schweinehaut besitzt, wie bei der Charakterisierung der Wirkstoffe deutlich wurde, konnten in den Absorptionsstudien mit diesem Wirkstoff für alle Acrylat-Systeme nur kleine Mengen in der Schweinehaut wiedergefunden werden (180-129A: 0,68 %, FKF: 6,9%, GMS: 1,1%, GME 0,43%). Erneut zeigte dabei das System auf Grundlage des feuchtklebenden Films die mit Abstand höchsten perkutanen Absorptionen, bei den drei kommerziell erhältlichen Klebmassen konnte kein signifikanter Unterschied innerhalb der Freisetzung detektiert werden. Bakuchiol konnte anders als Paeonol vollständig nach 24stündiger Applikation auf Schweinehaut im TDDS und der Haut wiedergefunden werden. Dieser Wirkstoff nicht ist wasserdampflich und unterlag keiner Abbauprozesse in der Schweinehaut. Der Versuchsaufbau bereitete hier also keine Schwierigkeiten während der Analytik.

Paeonol sowie Bakuchiol wurden aus dem feuchtklebenden Film mit Abstand am besten in Schweinehaut freigesetzt. Innerhalb der drei kommerziell erhältlichen Acrylat-Systeme Duro-Tak 180-129A, GMS 737-01 und GME 3011 konnte kein signifikanter Unterschied in der perkutanen Absorption beobachtet werden. Da es sich beim feuchtklebenden Film um ein selten verwendetes System für transdermale Formulierungen handelte, wurde es trotz seiner guten Freisetzungseigenschaften nicht als Matrix für die spätere detaillierte Charakterisierung ausgewählt. Hierfür wurde auf ein klassisches System Duro-Tak 180-129A zurückgegriffen. Durch das Anfeuchten mit Wasser vor der Applikation verändert das System des feuchtkle-

benden Film über die Dauer der Studien kontinuierlich seinen Wassergehalt. Dies beeinflusst die Diffusionsprozesse während der Anwendung. Daher ist ein Vergleich dieser Matrix mit konventionellen Systemen schwierig. Aufgrund seiner guten Eigenschaften wurden jedoch Wirksamkeitsuntersuchungen mit dotierten feuchtklebenden Filmen durchgeführt (s. 4.6). Der feuchtklebende Film bietet einige Vorteile bei der Anwendung gegen über konventionellen Systemen von seinen Eigenschaften. Da er bei der Anwendung austrocknet, verliert er dabei kontinuierlich an Klebkraft und lässt sich daher schonend von der Haut entfernen. Dies macht dieses System besonders interessant für die Anwendung im Gesicht und an anderen empfindlichen Hautregionen. Für die Firma Beiersdorf standen solche Anwendungen im Fokus bei der Prototypenentwicklung.

5.2.2 Silikone

Vier Silikonklebmassen von Dow Corning standen für die Herstellung transdermaler Systeme zur Verfügung. Dabei handelte es sich um jeweils zwei Klebmassen für monolithische Systeme (BIO-PSA, Soft Skin Adhesive) sowie um zwei für Reservoir-Systeme verwendete Silikone (Bio Medical, Medical Adhesive). Nur eines dieser Silikone sollte später für eine genauere Charakterisierung der Freisetzungseigenschaften ausgewählt werden.

Für diese Auswahl wurde zunächst das Aushärtungsverhalten der unterschiedlichen Systeme bei Anwesenheit der verschiedenen Wirkstoffmoleküle betrachtet. Die Vernetzung von Silikonklebmassen kann durch die Einarbeitung von Wirkstoffen gestört werden. Sowohl der pH-Wert eines Moleküls als auch Verunreinigungen können einen Einfluss auf die Aushärtung eines Silikons haben. Die acht zuvor charakterisierten Wirkstoffe (s. 5.1) umfassen sowohl natürliche Pflanzenextrakte als auch synthetische Moleküle. Die Extrakte waren in ihrer Reinheit unterschiedlich (Licochalcone A war im Extrakt der Süßholzwurzel mit ca. 20% enthalten, Paeonol im Extrakt der Pfingstrose *Paeonia suffruticosa* mit ca. 98%). Außerdem waren Säuren wie Ibuprofen unter den verwendeten Wirkstoffen.

Tabelle 5-7 Vernetzung bei Anwesenheit verschiedener Wirkstoffe (Säuren, natürliche Extrakte und synthetische (basische und neutrale) Moleküle)

	Soft Skin Adhesive	BIO-PSA	Bio Medical	Medical Adhesive
Säuren	Keine Vernetzung	Vernetzung	Vernetzung	Vernetzung
Natürliche Extrakte (niedrige Reinheit)	Keine Vernetzung	Vernetzung	Vernetzung	Vernetzung
Natürliche Extrakte (hohe Reinheit)	Vernetzung	Vernetzung	Vernetzung	Vernetzung
Synth. Wirkstoffe	Vernetzung	Vernetzung	Vernetzung	Vernetzung

Die Vernetzung von Soft Skin Adhesive wurde durch die Einarbeitung der Säure Ibuprofen und des Magnolia Extraktes gestört. Die Verwendung von Extrakten hoher Reinheit wie Paeonol in Soft Skin Adhesive war jedoch möglich. Neutrale bis basische Moleküle wie Rucinol konnten ebenfalls in Soft Skin Adhesive eingearbeitet werden. Die beiden Reservoir-Systeme Bio Medical und Medical Adhesive ließen sich sowohl mit Säuren als auch mit natürlichen Extrakten niedriger Reinheit vernetzen. Auch die Aushärtung von BIO-PSA wurde durch keinen der acht Wirkstoffe verhindert. Nur das System Soft Skin Adhesive zeigte also Limitierungen in der Komptabilität mit Wirkstoffmolekülen.

Neben der Komptabilität der Klebmassen wurde die Löslichkeit von Paeonol, Ibuprofen und Rucinol als Beispielsubstanzen in den vier Systemen sowie die perkutane Absorption dieser Wirkstoffe aus den Systemen verglichen. Rucinol wurde als Ersatz für Bakuchiol verwendet, da das System Soft Skin Adhesive mit Bakuchiol nicht aushärtete. Es konnten daher nicht die gleichen Vergleichssubstanzen wie bei der Untersuchung der Acrylatssysteme verwendet werden.

Die Löslichkeit von Paeonol, Rucinol und Ibuprofen in den vier Silikonem ist in Tabelle 5-8 aufgelistet.

Tabelle 5-8 Löslichkeit von Paeonol, Ibuprofen und Rucinol in den jeweiligen Silikonklebmassen, (-) nicht bestimmt

	BIO-PSA 7-4202	SILASTIC® MDX4- 4210 Bio Medical	MG 7-9900 Soft Skin Adhesive Kit (A & B)	SILASTIC® Medical Adhesive Silicone
Paeonol	5,9 g/L	-	1,4 g/L	-
Ibuprofen	8,4 g/L	6,3 g/L	-	1,2 g/L
Rucinol	7,8 g/L	-	9,7 g/L	-

Es wurde eine niedrige Löslichkeit der Wirkstoffe in allen Silikon-Systemen im Vergleich zu den Acrylat-Systemen beobachtet. Die Löslichkeit lag für Paeonol, Ibuprofen und Rucinol immer unterhalb von 10 g/L. Die transdermalen Pflaster enthielten für alle perkutanen Absorptionsstudien wie auch schon zuvor bei den Acrylat-Systemen 10 g/L Wirkstoff. Alle TDDS lagen für die Studien also in einem übersättigten Zustand vor. Daraus resultierte für die Silikon-Systeme das Problem der Wirkstoffkristallisierung in den dotierten Klebmassen und Silikon-Reservoirs. In den Systemen konnte nach einigen Monaten Lagerzeit ein Auskristallisieren beobachtet werden. Für die Absorptionsstudien auf Schweinehaut wurden jedoch nur kristallfreie transdermale Systeme kurze Zeit nach ihrer Herstellung verwendet.

Für den Vergleich der beiden selbstklebenden Silikon-Systeme BIO-PSA und Soft Skin Adhesive wurden TDDSs mit Paeonol und Rucinol hergestellt. Die Ergebnisse der perkutanen

Absorptionsstudien mit diesen dotierten Systemen sind in Abbildung 5-4 und Abbildung 5-5 zusammengefasst.

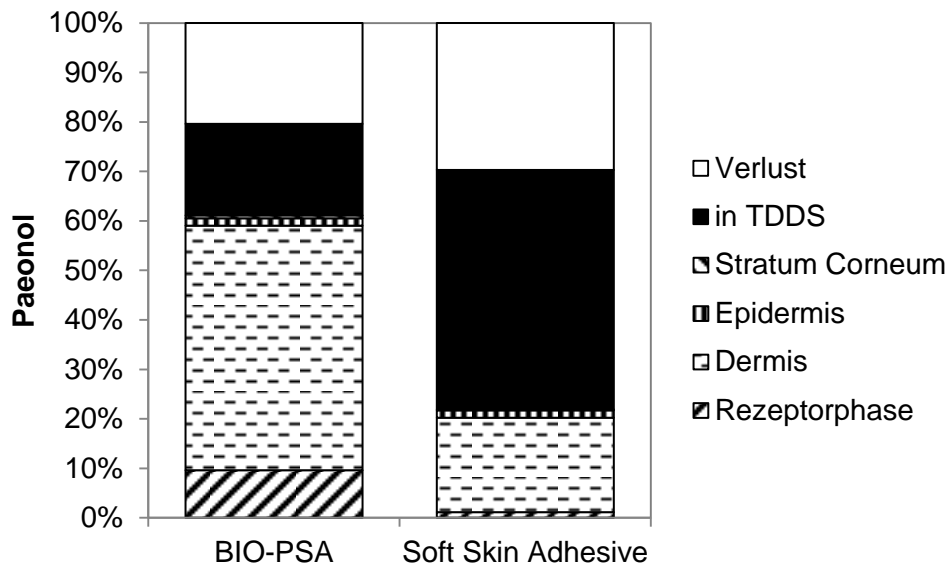


Abbildung 5-4 Verteilung des applizierten Paeonols in % in den transdermalen Silikon-Systemen sowie in den verschiedenen Hautschichten nach 24 Stunden Applikation auf Schweinehaut

Der Wirkstoff Paeonol konnte aus der Klebmasse BIO-PSA deutlich besser freigesetzt werden, als aus Soft Skin Adhesive. 60% des applizierten Paeonols wurden 24 Stunden nach der Applikation in Form eines auf BIO-PSA basierenden TDDSs in der Schweinhaut oder der Rezeptorphase wiedergefunden. Im Vergleich dazu konnten bei den auf Soft Skin Adhesive basierenden Mustern nur 20% des applizierten Wirkstoffes in der Haut oder der Rezeptorphase detektiert werden. Die erneut hohen Verlustwerte sind dabei wieder durch die hohe Wasserdampflichkeit von Paeonol begründet.

Der gleiche Unterschied ließ sich auch bei der Freisetzung von Rucinol aus diesen beiden Systemen beobachten. 40% des mit einem transdermalen System aus BIO-PSA applizierten Rucinols wurden nach 24 Stunden in der Schweinehaut und der Rezeptorphase wiedergefunden, beim System aus Soft Skin Adhesive waren es jedoch nur 5%. Wie auch schon bei den Untersuchungen mit Paeonol im Schweinemodell war die analytische Wiederfindung von Rucinol mit 70-80% schlecht. Zum einen sind diese hohen Verlustwerte durch die Lichtempfindlichkeit des Wirkstoffes Rucinol begründet. Zum anderen wird Rucinol in Schweinehaut durch dort enthaltenen Enzymen (CYP 450) metabolisiert.

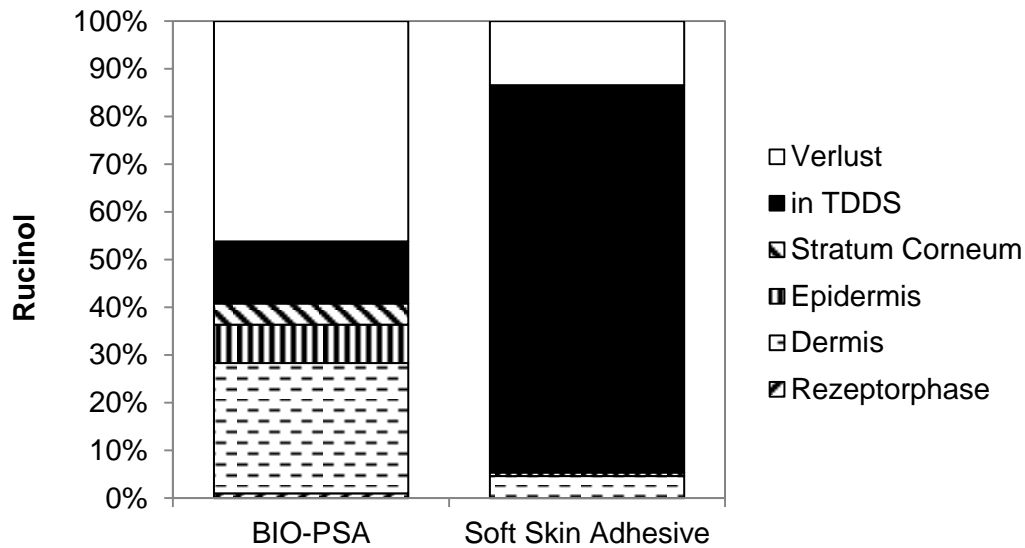


Abbildung 5-5 Verteilung des applizierten Rucinols in % in den transdermalen Silikon-Systemen sowie in den verschiedenen Hautschichten nach 24 Stunden Applikation auf Schweinehaut

Die perkutanen Absorptionsstudien auf Schweinehaut mit den zwei Silikon-Reservoir-Systemen wurden mit dem Wirkstoff Ibuprofen durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind im Vergleich zur Freisetzung aus dem monolithischen System mit der Klebmasse BIO-PSA in Abbildung 5-6 dargestellt.

Die Reservoir-Systeme bestanden aus einem Silikon-Reservoir, das mit der Klebmasse BIO-PSA beschichtet wurde. Bei einem Vergleich der Absorptionsstudien mit den drei Mustern fällt auf, dass die Freisetzung aus dem monolithischen System BIO-PSA sowie den beiden Reservoir-Systemen in der gleichen Größenordnung lagen. 44% des mit dem monolithischen TDDSs applizierten Ibuprofens konnten nach 24 Stunden in der Schweinehaut und der Rezeptorphase wiedergefunden werden. Beim Reservoir-System aus Bio Medical waren es 41,7% und mit dem auf Medical Adhesive basierenden System konnten 31,4% des applizierten Ibuprofens in der Haut wiedergefunden werden. Zwischen den drei Systemen bestand kein signifikanter Unterschied in ihrem Freisetzungsverhalten ($p=0,004$). Dies deutet daraufhin, dass die Wirkstofffreisetzung aus den Reservoir-Systemen über die Klebschicht aus BIO-PSA kontrolliert wurde.

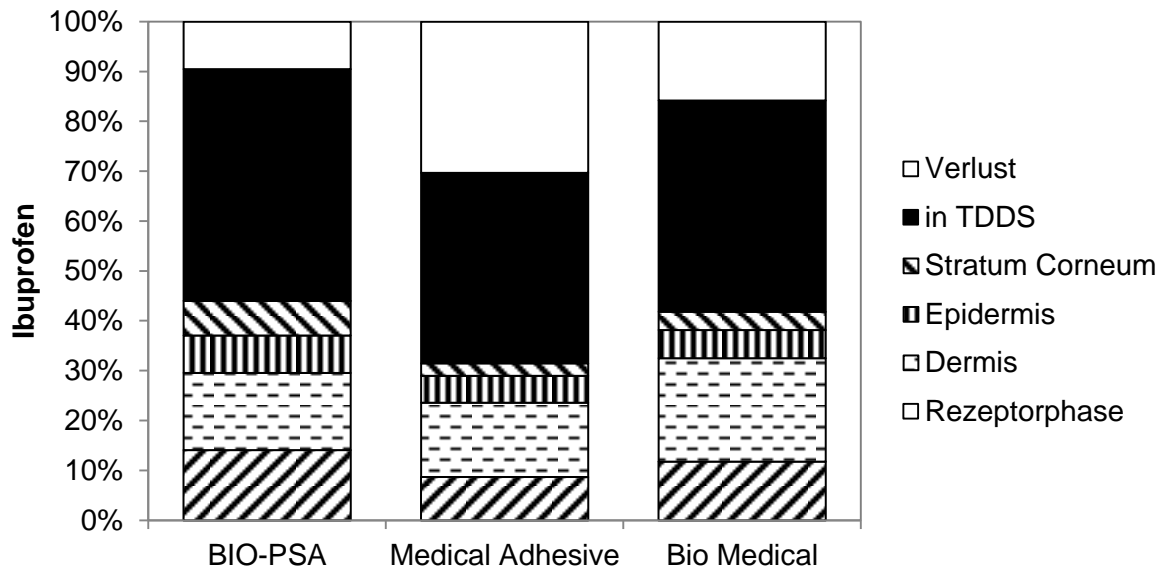


Abbildung 5-6 Verteilung des applizierten Paeonols in % im transdermalen Reservoir-Systemen (Medical Adhesive und Bio Medical) und in BIO-PSA sowie in den verschiedenen Hautschichten nach 24 Stunden Applikation auf Schweinehaut

In Reservoir-Systemen laufen andere Diffusionsprozesse ab als in monolithischen Systemen. Hier erfolgt sowohl eine Diffusion im Silicon-Reservoir als auch eine Diffusion in der Klebmasseschicht. Daraus ergibt sich eine schlechte Vergleichbarkeit mit den anderen Polymergruppen, da hier nur monolithische Systeme zur Verfügung standen. In die Klebmasse Soft Skin Adhesive konnten keine sauren oder verunreinigten Wirkstoffe eingearbeitet werden. Darüber hinaus zeigte BIO-PSA ein deutlich besseres Freisetzungverhalten als Soft Skin Adhesive. Daher wurde BIO-PSA für die weitere Charakterisierung als Silikonssystem ausgewählt. Probleme mit Auskristallisation der Wirkstoffe traten in allen vier Systemen auf. Es wurden nur kristallfreie Muster direkt nach der Herstellung für die Untersuchungen verwendet.

5.2.3 Kautschuke

Drei unterschiedliche Kautschuk-Systeme standen für die Herstellung von transdermalen Systemen zur Verfügung, eine kommerziell erhältliche Klebmasse (Duro-Tak H1540) sowie zwei selbst formulierte Matrices (PIB, SIS/DMSO). Wie zuvor bei den Acrylat- und Silikon-Systemen wurde nur eine dieser Massen für eine detaillierte Charakterisierung hinsichtlich ihrer Freisetzungseigenschaften ausgewählt. Als Wirkstoffe kamen dabei zur Auswahl der Klebmasse erneut Paeonol und Bakuchiol zum Einsatz.

Die Löslichkeit von Paeonol und Bakuchiol in den drei Kautschuk-Matrices ist in Tabelle 5-9 zusammengefasst.

Tabelle 5-9 Löslichkeit von Paeonol und Bakuchiol in den drei verschiedenen Kautschuk-Klebmassen

	PIB	Duro-Tak H1540	SIS/DMSO
Paeonol	4,1 g/L	9,7 g/L	19,0 g/L
Bakuchiol	419,3 g/L	369,4 g/L	410,8 g/L

Wie auch schon in den Acrylat-Systemen wurde eine deutlich höhere Löslichkeit von Bakuchiol im Vergleich zu Paeonol in den Kautschuk-Klebmassen beobachtet. Die Löslichkeit von Paeonol lag mit 9,7 g/L in Duro-Tak H1540 und 4,1 g/L in der PIB-Matrix jeweils unterhalb der für Absorptionsstudien eingesetzten 10 g/L. Mit 19 g/L lag die Löslichkeit von Paeonol in der SIS/DMSO Klebmasse über der Einsatzkonzentration. Die Bakuchiol TDDSs waren damit stark untersättigt, die mit Paeonol dotierten Pflaster auf Basis der PIB-Matrix sowie der Klebmasse Duro-Tak H1540 leicht übersättigt. Es konnte jedoch in den mit Paeonol dotierten Klebmassen keine Wirkstoffkristallisation beobachtet werden.

Die Ergebnisse der perkutanen Absorptionsstudien der drei mit Paeonol dotierten Kautschuk-Systeme sind in Abbildung 5-7 dargestellt.

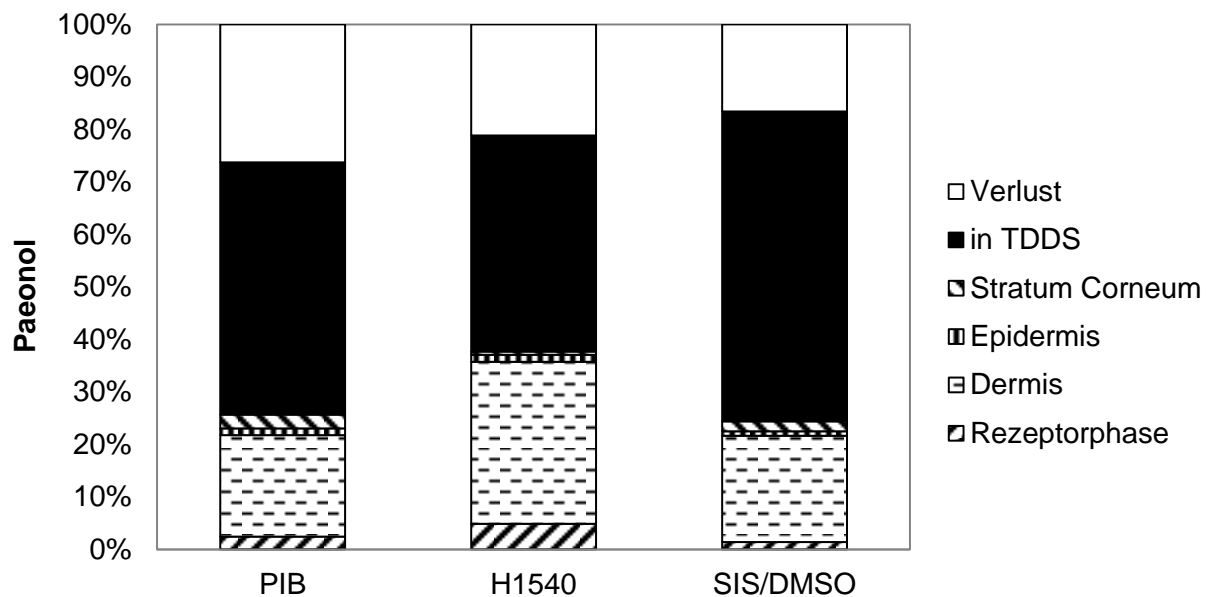


Abbildung 5-7 Verteilung des applizierten Paeonols in % in den transdermalen Kautschuk-Systemen sowie in den verschiedenen Hautschichten nach 24 Stunden Applikation auf Schweinehaut

Die größte Freisetzung von Paeonol konnte aus dem System Duro-Tak H1540 beobachtet werden, zwischen der PIB-Matrix und dem SIS/DMSO-System konnte kein Unterschied detektiert werden. Wieder zeigte sich aufgrund der Wasserdampflichkeit von Paeonol eine schlechte Wirkstoffwiederfindung während der Messungen.

Die Ergebnisse der perkutanen Absorptionsstudien mit den auf Kautschuk basierenden transdermalen Systemen sind in Abbildung 5-8 dargestellt.

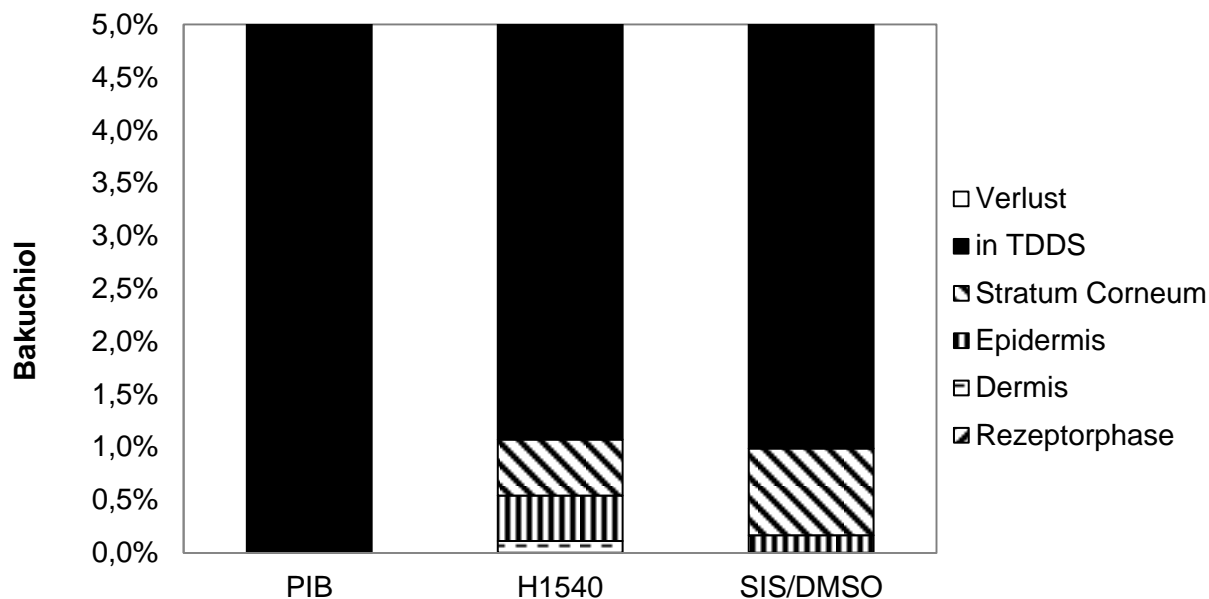


Abbildung 5-8 Verteilung des applizierten Bakuchiols in % in den transdermalen Kautschuk-Systemen sowie in den verschiedenen Hautschichten nach 24 Stunden Applikation auf Schweinhaut, Ausschnitt von 5%

Erneut war die perkutane Absorption von Bakuchiol deutlich niedriger als die von Paeonol, dies war auch schon in den Studien mit den Acrylat-Systemen zu beobachten. Aus der PIB-Matrix konnte keine Freisetzung von Bakuchiol detektiert werden. Bei den beiden SI-basierten Systemen Duro-Tak H1540 und SIS/DMSO wurde nach 24 Stunden Applikation der transdermalen Pflaster auf Schweinhaut ca. 1% des Wirkstoffes in der Haut wiedergefunden.

Duro-Tak H1540 zeigte die besten Eigenschaften während der perkutanen Absorptionsstudien. Hier konnten nach 24 Stunden Applikation auf Schweinhaut sowohl Paeonol als auch Bakuchiol in der Haut wiedergefunden werden. Daher wurde diese Klebmasse für eine genauere Charakterisierung ausgewählt. Die PIB-Matrix lässt sich in ihrer Zusammensetzung einfach variieren und wurde aufgrund dessen später verwendet, um den Einfluss verschiedener Scherfestigkeiten auf die Wirkstofffreisetzung zu untersuchen (4.5).

5.3 Vergleich der unterschiedlichen Klebmasse-Systeme

Die zuvor ausgewählten Klebmassen wurden nun hinsichtlich ihrer mechanische Eigenschaften, ihres Aufnahmevermögens von Wirkstoffen sowie ihren Freisetzungseigenschaften detailliert charakterisiert.

5.3.1 Löslichkeit im Polymer

Die Löslichkeit aller untersuchten Wirkstoffe in den drei verschiedenen Klebmassesystemen wurde mit Hilfe der Absorptionsmethode (s. 3.3.3) bestimmt. Die daraus ermittelten Daten für die Löslichkeit sind in Tabelle 5-10 zusammengefasst.

Tabelle 5-10 Löslichkeit von Aciclovir, Paeonol, Salicylsäure, Butylresorcinol, Ibuprofen, Honokiol, Licochalcone A sowie Bakuchiol in den Klebmatrices Duro-Tak 180-129A, Duro-Tak H1540, BIO-PSA 7-4202

	Duro-Tak 180-129A	Duro-Tak H1540	BIO-PSA 7-4202
Aciclovir	1,32	0,25	0,97
Paeonol	30,65	9,67	5,88
Salicylsäure	15,03	3,16	5,7
Rucinol	35,34	17,99	7,76
Ibuprofen	38,65	8,91	7,99
Honokiol	57,06	5,7	7,8
Licochalcone A	7,22	0,55	0,43
Bakuchiol	429,13	369,37	44,32

Die Löslichkeit der acht Wirkstoffe in dem Acrylatsystem Duro-Tak 180-129A lag in einem Bereich von 1 g/L – 430 g/L. Für das Kautschuksystem Duro-Tak H1540 wurde ein ähnlich großer Bereich von 0,25 g/L – 370 g/L ermittelt. Das Silikonsystem BIO-PSA 7-4202 hingegen zeigte eine deutlich engere Spanne im Bezug auf die Löslichkeit der verschiedenen Wirkstoffe von 0,4 g/L – 45 g/L. Der lipophilste Wirkstoff Bakuchiol konnte in allen drei Systemen in der höchsten Konzentration eingearbeitet werden.

Die Wirkstoffe wurden für die Freisetzungsstudien zu 10 g/L in die jeweiligen Klebmassen eingearbeitet. Der Sättigungsgrad der Muster für die Freisetzung ist zum anderen wichtig für die Bewertung der Stabilität und der thermodynamischen Aktivität eines Wirkstoffes in der jeweiligen Klebmassen. Aus den in Tabelle 5-10 zusammengefassten Daten ließ sich ablesen, dass alle transdermalen Systeme mit BIO-PSA 7-4202 (mit Ausnahme des Systems mit Bakuchiol) an Wirkstoff übersättigt vorlagen. Dies wies, wie schon zuvor unter 4.2.2 beschrieben, auf eine Instabilität dieser Muster auf. Für Ibuprofen sowie für Magnolia Extrakt konnte ein Auskristallisieren in BIO-PSA 7-4202 nach zwei Monaten Lagerung beobachtet werden. Es wurden jedoch nur kristallfreie Muster für die Freisetzungsversuche auf Schweinehaut verwendet. Die transdermalen Systeme auf Silikonbasis sollten durch ihren übersättigten Zustand eine höhere thermodynamische Aktivität in dem Silikonsystem aufwiesen. In Duro-Tak 180-129A hingegen waren, bis auf Aciclovir, alle Wirkstoffe deutlich über 10 g/L

löslich. Die TDDSs mit dieser Klebmasse waren demnach während der perkutanen Absorptionsstudien untersättigt. Ein Auskristallisieren der Wirkstoffe war somit in Duro-Tak 180-129A kein Problem, die Wirkstoffe sollten jedoch eine geringe thermodynamische Aktivität in diesem System als in der Silikonmatrix aufweisen. In der Kautschukklebmasse Duro-Tak H1540 lagen Rucinol und Bakuchiol in den für die Freisetzungen vorgesehenen Mustern untersättigt vor. Alle anderen transdermalen Systeme mit Duro-Tak H1540 waren gesättigt oder leicht übersättigt. Ein Auskristallisieren der Wirkstoffe konnte hier jedoch nicht beobachtet werden.

5.3.2 Rheologische Untersuchung

Die mechanischen Eigenschaften der drei ausgewählten Klebmassen wurden mit Hilfe einer rheologischen Charakterisierung über einen Temperaturbereich von -50°C bis 200°C und einem Frequenzbereich von $0,1 \text{ rad/s}$ bis 100 rad/s durchgeführt. Ein Vergleich der Scherfestigkeit, des Tacks und der Glasübergangstemperatur sowie der Einfluss der Einarbeitung von Wirkstoffen und Penetrationsbeschleunigern in die verschiedenen Klebmassen auf diese Eigenschaften wurde mit dieser Methode vorgenommen. Dafür wurden die drei Klebmassen jeweils mit und ohne Wirkstoff wie unter 3.3.1 beschrieben vermessen.

Der dreidimensionale Verlauf des Verlustfaktors $\tan \delta$ über die Temperatur und die Frequenz der Acrylat-Klebmasse Duro-Tak 180-129A mit und ohne Wirkstoff ist in Abbildung 5-9 zu sehen. Es wurden 1% Bakuchiol sowie 4,8% IPM und 10% Decyloleat in die Klebmasse eingearbeitet.

Der Glasübergang des undotierten Systems lag im Bereich von -30°C bis 0°C . Der Glasübergangsbereich wurde durch die Einarbeitung von Wirkstoff und Penetrationsbeschleunigern auf -35°C bis -15°C verschoben. Es konnte ein gleichbleibendes Verlustmodul $\tan \delta$ beider Systeme über nahezu den gesamten Temperaturbereich beobachtet werden. Die undotierte Klebmasse zeigte eine Nachvernetzung bei hohen Temperaturen (ab 180°C). Dieses Verhalten ließ sich bei der mit Wirkstoff dotierten Duro-Tak 180-129A System nicht beobachten.

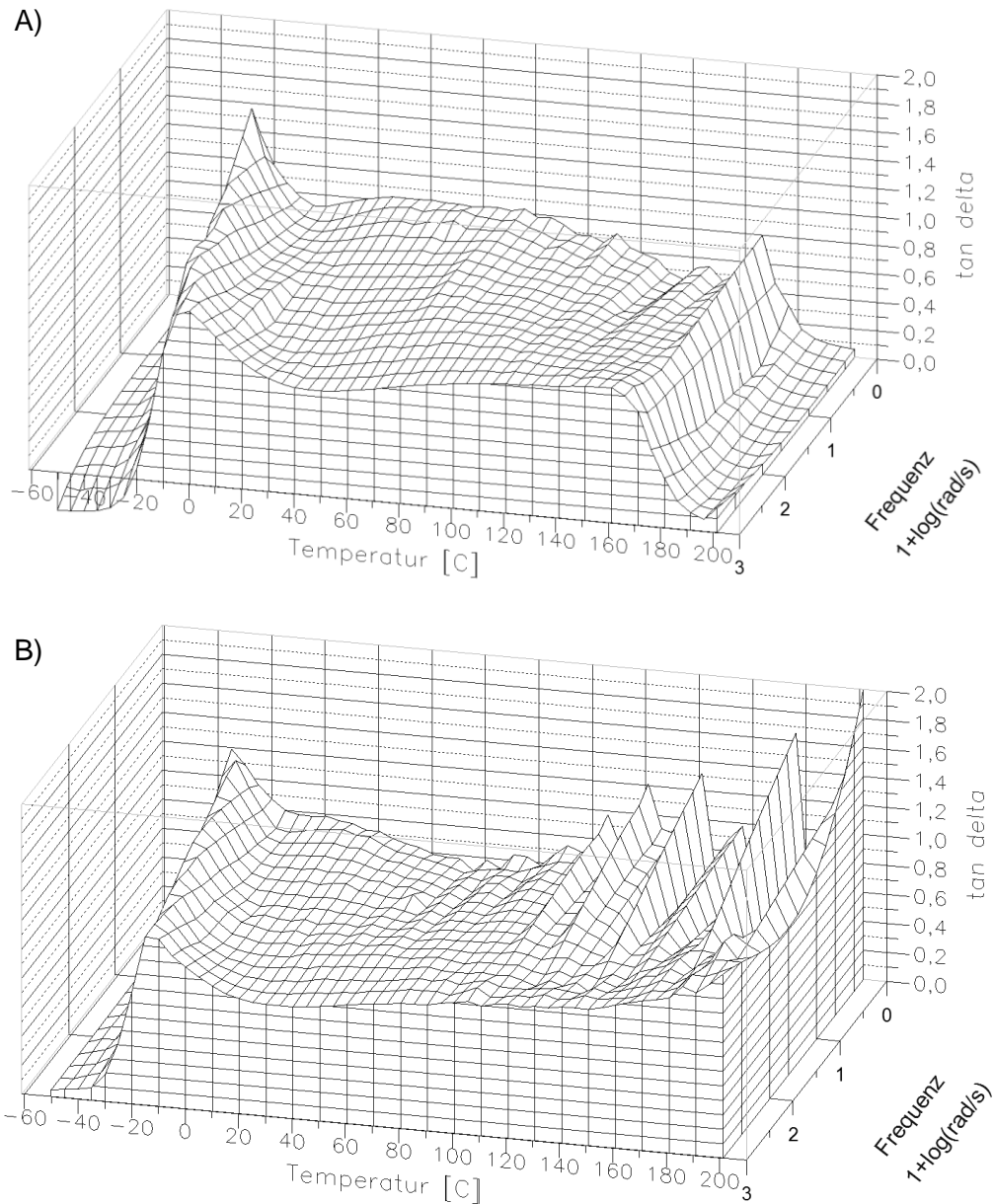


Abbildung 5-9 Duro-Tak 180-129A A) ohne Wirkstoff B) mit 1% Bakuchiol, 4,8% IPM, 10% Decyloleat

Die Ergebnisse der dreidimensionalen Charakterisierung der auf SI-basierenden Klebmasse Duro-Tak H1540 mit und ohne Wirkstoffe sind in Abbildung 5-10 dargestellt. Es wurden 1% Paeonol sowie 4,8% IPM und 10% Decyloleat eingearbeitet.

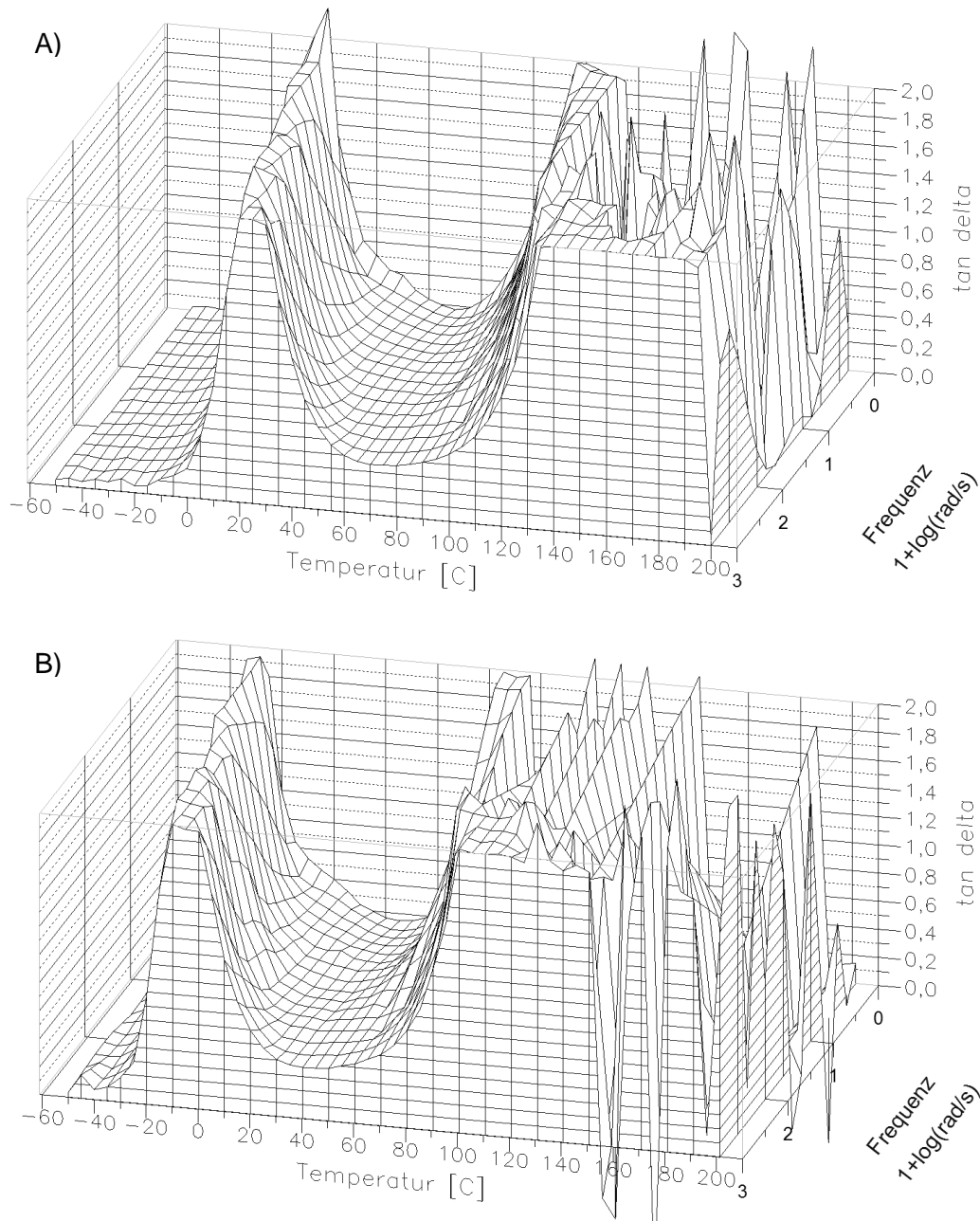


Abbildung 5-10 Duro-Tak H1540 A) ohne Wirkstoff B) mit 1% Paeonol, 4,8% IPM, 10% Decyloleat

Die wirkstofffreie Klebmasse zeigte einen Glasübergangsbereich von 0 - 20°C. Darauf folgte ein kurzes Tableau im Verlustmodul von 60°C bis 100°C. Anschließend war ein Schmelzen der Klebmasse zu beobachten, ab ca. 120°C lag eine Schmelze vor. Duro-Tak H1540 zeigte damit das typische Verhalten einer Hotmelt Klebmasse, die bei einer Temperatur von ca. 120°C flüssig verarbeitet wird. Durch die Einarbeitung von Wirkstoff und Penetrationsbeschleunigern in Duro-Tak H1540 wurde die Klebmasse deutlich weicher. Der Schmelzvorgang begann daher beim wirkstoffdotierten System bereits bei 80°C, ab 100°C lag eine Schmelze vor. Der Glasübergangsbereich verschob sich auf -30°C - -5°C. Die Einarbeitung

der Wirkstofflösung erzeugte somit eine Verschiebung des gesamten 3D-Plots um ca. -30°C . Die undotierte Kautschukklebmasse besaß seinen Glasübergangsbereich der zu dicht an 25°C lag, daher können anhand der hier verwendeten Methode keine Werte für die Scherfestigkeit und den Tack für diese Klebmasse ermittelt werden.

Der dreidimensionale Verlauf des Verlustfaktors $\tan \delta$ über die Temperatur und die Frequenz der Silikonklebmasse BIO-PSA 7-4202 mit und ohne Wirkstoff ist in Abbildung 5-11 zu sehen. Es wurden 1% Salicylsäure und 4% 1,2-Propandiol in die Klebmasse eingearbeitet. Abweichend zu den beiden anderen Klebmassen wurde hier mit 1,2-Propandiol zur Einarbeitung des Wirkstoffes verwendet, da sich Salicylsäure anders im Silikon lösen ließ.

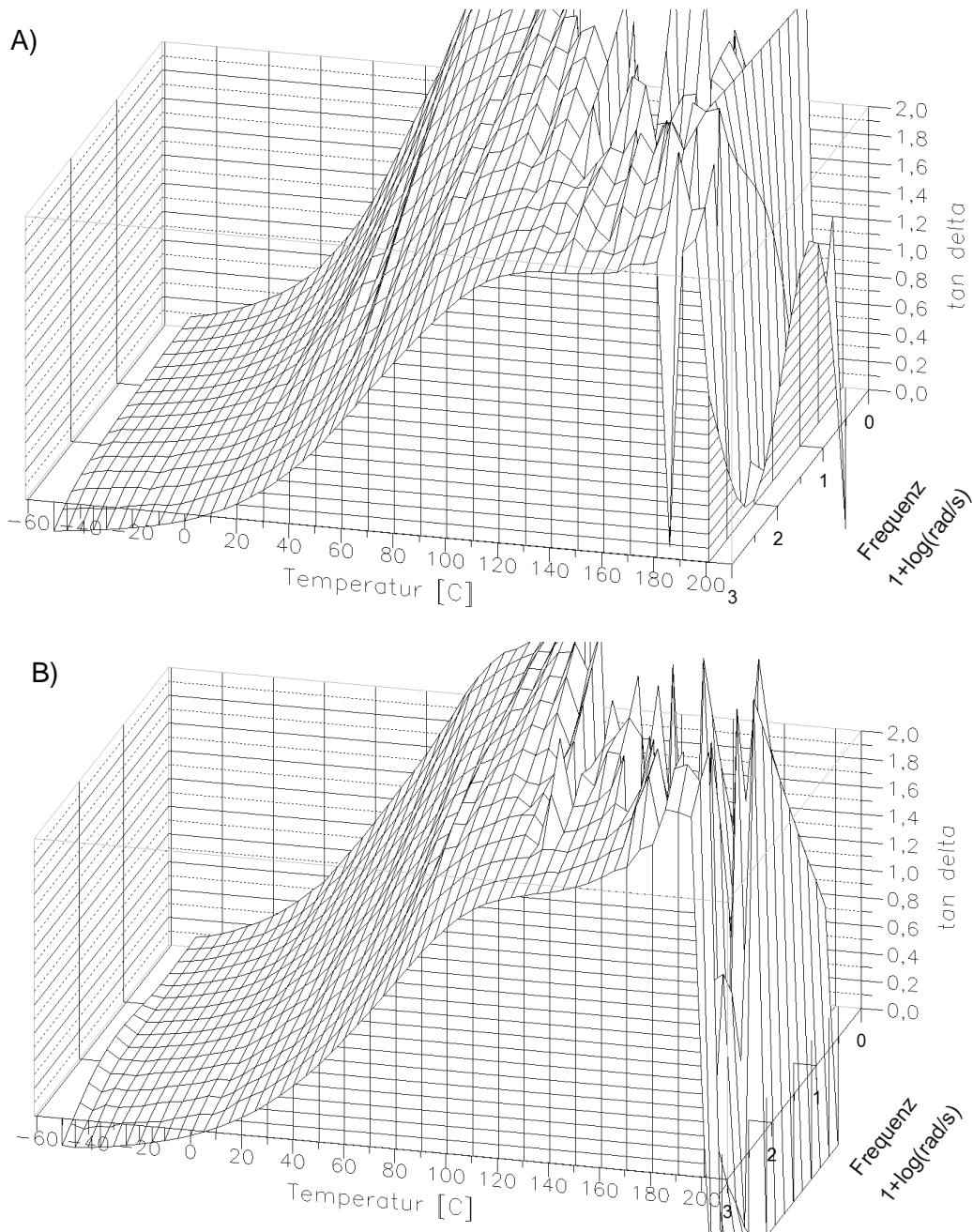


Abbildung 5-11 A) BIO-PSA B) BIO-PSA mit 1 % Salicylsäure, 4 % 1,2-Propandiol

Der Glasübergang des dotierten sowie des undotierten Silikonsystems lag deutlich unterhalb von -50°C und konnte daher von dieser rheologischen Methode nicht abgebildet werden. Eine Untersuchung der Glasübergangstemperatur mittels DSC ergab einen T_g von -120°C für beide Klebmassen. Glasübergangstemperaturen, die über Differential Scanning Calometrie (DSC) ermittelt werden, liegen meist ca. 20°C niedriger als dynamisch durch rheologische Messungen ermittelte T_g s. Bei der DSC werden Proben als starres System ohne Belastung erhitzt und daraus der Glasübergang bestimmt. In den rheologischen Messungen werden die Proben jedoch unter mechanischer Belastung erhitzt. Daher erscheinen hier die Systeme „weicher“ als bei DSC Messungen. Mit den in Abbildung 5-11 dargestellten 3D-Plots ließ sich nur das Verhalten nach dem Glasübergang abbilden. Die Klebmassen wurden bei Erhöhung der Temperatur schnell sehr weich und besaßen bei Raumtemperatur (25°C) fast keinen Tack. Da in diese Klebmasse deutlich weniger Gewichtsprozent Penetrationsbeschleuniger eingearbeitet wurden als bei den beiden Systemen zuvor, zeigt sich kein großer Unterschied zwischen der dotierten und der wirkstofffreien Klebmasse. Es konnte kein Einfluss der Einarbeitung von 1% Salicylsäure und 4% 1,2-Propandiol auf die rheologischen Eigenschaften von BIO-PSA 7-4202 beobachtet werden.

Eine Zusammenfassung der aus den 3D-Plots ermittelten Glasübergangstemperaturen und $\tan \delta$ Werte bei einer Winkelgeschwindigkeit von $0,1 \text{ rad/s}$ und 100 rad/s für die drei dotierten und undotierten Systeme ist in Tabelle 5-11 zu sehen.

Tabelle 5-11 $\tan \delta$ ($\omega=0,1 \text{ rad/s}$, $\omega=100 \text{ rad/s}$ jeweils bei 25°C) sowie Glasübergangstemperatur T_g bei $\omega=0,1 \text{ rad/s}$ von Duro-Tak 180-129A, BIO-PSA 7-4202 und Duro-Tak H1540 dotiert und undotiert

Klebmasse	$\tan \delta$ [-]	$\tan \delta$ [-]	Glasübergangstemperatur [$^{\circ}\text{C}$] (bei $\omega=0,1 \text{ rad/s}$)
	($\omega=0,1 \text{ rad/s}$, 25°C)	($\omega=100 \text{ rad/s}$, 25°C)	
180-129A	0,83	0,84	-30
180-129A Bakuchiol	0,68	0,78	-35
BIO-PSA	1,21	0,16	-120*
BIO-PSA Salicylsäure	1,17	0,18	-120*
H1540	0,36	(2,34)	0
H1540 Bakuchiol	0,20	0,38	-30

*mittels DSC ermittelt

Der Messpunkt zur Bewertung des Tacks einer Klebmasse (25°C und $\omega = 100 \text{ rad/s}$) lag bei Duro-Tak H1540 im Maximum des Verlustfaktors aus dem Glasübergang. Somit konnte dieser Wert nicht mit den anderen Klebmassen verglichen werden. Duro-Tak H1540 war die härteste Klebmasse mit der höchsten Glasübergangstemperatur und der höchsten Scherfes-

tigkeit aller Systeme ob dotiert oder undotiert. Das Silikonsystem BIO-PSA war die weichste Klebmasse mit einem Tg von -120°C und der niedrigsten Scherfestigkeit mit einem $\tan \delta$ von 1,21 bei $\omega = 0,1 \text{ rad/s}$ und 25°C . Die Glasübergangstemperatur lag außerhalb des Temperaturbereichs der Messungen und musste daher über DSC ermittelt werden. BIO-PSA besaß mit einem $\tan \delta$ bei 25°C und 100 rad/s von 0,16 bzw. 0,18 praktisch keinen Tack. Das Kautschuksystem Duro-Tak H1540 wies mit einem Verlustmodul von 0,38 bei 25°C und 100 rad/s einen niedrigen Tack und Duro-Tak 180-129A mit 0,84 und 0,78 einen vergleichsweise hohen Tack auf.

Wie aus den hier dargestellten Messungen deutlich wurde, handelte es sich bei den drei untersuchten Klebmassen nicht nur um chemische unterschiedliche Systeme (Kautschuk, Acrylat und Silikon) sondern auch um mechanisch völlig unterschiedliche Matrices. Die Einarbeitung von Wirkstoffen und Penetrationsbeschleunigern in die Klebmasse führt zu einer Erweichung der Systeme. Dieser Einfluss der Einarbeitung von Additiven war bei allen drei Matrixsystemen identisch.

5.3.3 Perkutane Absorptionsstudien

Perkutane Absorptionsstudien mit TDDs auf Basis der drei Klebmassen Duro-Tak 180-129A, BIO-PSA 7-4202 sowie Duro-Tak H1540 mit allen acht zuvor charakterisierten Wirkstoffen wurden auf Schweinehaut durchgeführt. Die Ergebnisse aus diesen Studien sowie ein Vergleich mit den Untersuchungen der Wirkstofflösungen auf Schweinehaut sind im Folgenden dargestellt.

Duro-Tak 180-129A

Die Ergebnisse der perkutanen Absorptionsstudien mit den Systemen basierend auf der Acrylatklebmasse Duro-Tak 180-129A sind in Tabelle 5-12 zusammengefasst. Die Ergebnisse sind in Form von Permeabilitätskoeffizienten im porzinem Stratum corneum, der Wirkstofffreisetzung nach 24 Stunden sowie der Korrelation mit der Higuchi-Kinetik aus den perkutanen Absorptionsstudien dargestellt.

Tabelle 5-12 Permeabilitätskoeffizienten $K_{P,SC}$, nach 24 Stunden, freigesetzte Menge in % und Higuchi-Fit aus den perkutanen Absorptionsstudien mit dotierten Duro-Tak 180-129A Systemen

	$K_{P,SC} \cdot 10^{-6}$ [cm/h]	% Freisetzung	Higuchi	r^2
Aciclovir	1,32 ± 0,24	3,4	0,0077	0,996
Paeonol	3,62 ± 0,97	9,1	0,0248	0,891
Salicylsäure	5,9 ± 1,7	22,4	0,0438	0,951
Rucinol	0,57 ± 0,05	2,1	0,0059	0,989
Ibuprofen	0,36 ± 0,072	2,1	0,0013	0,984
Honokiol	0,15 ± 0,08	2,2	0,0015	0,952
Licochalcone A	0,08 ± 0,002	0,7	0,0014	0,919
Bakuchiol	0,04 ± 0,001	0,4	0,0001	0,999

Insgesamt konnten (mit Ausnahme von Salicylsäure) für alle Wirkstoffe nur niedrige perkutane Absorptionen aus transdermalen Systemen mit Duro-Tak 180-129A beobachtet werden. Die Permeabilitätskoeffizienten im Stratum corneum und die Koeffizienten aus dem Higuchi-Fit waren deutlich niedriger als zuvor für die Untersuchungen der Wirkstoffe in einer Lösung aus IPM und Decyloleat (s. 4.1). Erneut konnte eine gute Korrelation der experimentellen Daten mit der Kinetik von Higuchi erzielt werden. Nur für Paeonol ergab sich ein Regressionsfaktor unterhalb von 0,9. Abgesehen von Paeonol und Licochalcone A besaßen alle linearen Regressionen der Daten einen Regressionsfaktor größer 0,95. Die deutlich niedrigeren Werte sowohl der Permeabilitätskoeffizienten als auch der Koeffizienten aus dem Higuchi-Fit im Vergleich zur Lösung waren durch eine langsamere Freisetzung der Wirkstoffe in die Schweinehaut aus diesem System begründet. Über diesen Unterschied in der Geschwindigkeit der perkutanen Absorption wurde der retardierende Effekt der Klebmasse auf die Freisetzung der Wirkstoffe beschrieben (s. Gleichung (24.)).

BIO-PSA 7-4202

Die Ergebnisse der perkutanen Absorptionsstudien mit den dotierten BIO-PSA Systemen sind in Tabelle 5-13 zusammengefasst. Sie sind in Form von Permeabilitätskoeffizienten im porzinem Stratum corneum, der Wirkstofffreisetzung nach 24 Stunden sowie der Korrelation mit der Higuchi-Kinetik dargestellt. Für die dargestellten Untersuchungen wurden nur kristallfreie Muster direkt nach der Herstellung verwendet. Aciclovir konnte in die Silikonklebmasse nicht eingearbeitet werden.

Tabelle 5-13 Permeabilitätskoeffizienten $K_{P,SC}$, nach 24 Stunden, freigesetzte Menge in % und Higuchi-Fit aus den perkutanen Absorptionsstudien mit dotierten BIO-PSA 7-4202 Systemen

	$K_{P,SC} \cdot 10^{-6}$ [cm/h]	% Freisetzung	Higuchi	r^2
Aciclovir	-	-	-	-
Paeonol	19,3 ± 2,7	61,4	0,118	0,904
Salicylsäure	7,52 ± 0,42	35,4	0,080	0,695
Rucinol	10,8 ± 6,2	40,9	0,083	0,088
Ibuprofen	12,8 ± 0,8	44,0	0,096	0,998
Honokiol	1,5 ± 0,04	13,3	0,036	0,965
Licochalcone A	0,4 ± 0,05	1,0	0,002	0,937
Bakuchiol	1,7 ± 0,2	11,8	0,019	0,960

Es konnte eine schlechtere Korrelation der Daten mit der Higuchi-Kinetik als bei den zuvor untersuchten Systemen bei BIO-PSA 7-4202 beobachtet werden. Sowohl die perkutane Absorption von Salicylsäure als auch von Rucinol folgten mit einem Regressionsfaktor von 0,695 und 0,088 nicht dieser Beschreibung. Für die anderen Wirkstoffe ergaben sich jedoch erneut Regressionsfaktoren von größer 0,9. Paeonol, Rucinol und Ibuprofen wiesen die höchsten Permeabilitätskoeffizienten und Koeffizienten aus dem Higuchi-Fit auf. Die Koeffizienten waren alle deutlich größer als bei der zuvor betrachteten Acrylat-Klebmasse Duro-Tak 180-129A. Die Silikonklebmasse BIO-PSA 7-4202 besaß also einen deutlich kleineren retardierenden Effekt auf die perkutane Absorption der Wirkstoffe als Duro-Tak 180-129A.

Duro-Tak H1540

Die Ergebnisse der perkutanen Absorptionsstudien mit den dotierten Duro-Tak H1540 Systemen sind in Tabelle 5-14 zusammengefasst. Die Ergebnisse sind in Form von Permeabilitätskoeffizienten im porzinem Stratum corneum, der Wirkstofffreisetzung nach 24 Stunden sowie der Korrelation mit der Higuchi-Kinetik dargestellt.

Tabelle 5-14 Permeabilitätskoeffizienten $K_{P,SC}$, nach 24 Stunden, freigesetzte Menge in % und Higuchi-Fit aus den perkutanen Absorptionsstudien mit dotierten Duro-Tak H1540 Systemen

	$K_{P,SC} \cdot 10^{-6}$ [cm/h]	% Freisetzung	Higuchi	r^2
Aciclovir	3,0 ± 0,56	2,2	0,012	0,998
Paeonol	11,2 ± 1,7	31,2	0,057	0,983
Salicylsäure	8,0 ± 1,4	27,5	0,050	0,959
Rucinol	3,5 ± 0,9	5,5	0,029	0,958
Ibuprofen	3,8 ± 0,55	10,1	0,026	0,922
Honokiol	1,3 ± 0,06	4,1	0,009	0,972
Licochalcone A	0,12 ± 0,03	0,7	0,002	0,968
Bakuchiol	0,08 ± 0,002	0,4	0,0009	0,999

Die Ergebnisse der perkutanen Absorptionsstudien mit den dotierten Duro-Tak H1540 Systemen zeigten die beste Korrelation mit der Higuchi-Kinetik von allen drei Klebmassen. Alle Regressionsfaktoren lagen oberhalb von 0,922. Die Daten der Permeabilitätskoeffizienten sowie der prozentualen Freisetzungen nach 24 Stunden lagen zwischen den Ergebnissen des Silikonsystems BIO-PSA 7-4202 und des Acrylatsystems Duro-Tak 180-129A. Die Klebmasse zeigte somit einen kleineren retardierenden Effekt als das Acrylatsystem und einen höheren retardierenden Effekt als das Silikonsystem. Der Wirkstoff Paeonol besaß erneut die höchsten Permeabilitätskoeffizienten und Freisetzungsdaten aller verwendeten Wirkstoffe, Bakuchiol die niedrigsten.

Vergleich von Duro-Tak 180-129A, BIO-PSA sowie Duro-Tak H1540

Ein Vergleich der Ergebnisse aus den perkutanen Absorptionsstudien mit den drei Klebmassen sowie mit den Wirkstofflösungen ist im Folgenden dargestellt.

In Abbildung 5-12 sind die perkutanen Absorptionen der jeweiligen Wirkstoffe aus den unterschiedlichen Klebmassesystemen sowie aus der Wirkstofflösung (4.1) zusammengefasst. Die prozentuale perkutane Absorption nach 24 Stunden ist dabei gegenüber dem log P Wert der Wirkstoffe aufgetragen.

Die Freisetzung aus der Wirkstofflösung bildete (mit Ausnahme von Paeonol, log P = 1,98) eine Obergrenze für die Freisetzung der Wirkstoffe. Paeonol verhielt sich als einziger wasserdampfvlüchtiger Wirkstoff dieser Reihe anders. Nach Einarbeitung dieses Wirkstoffes in das Silikonsystem BIO-PSA 7-4202 konnte eine höhere perkutane Absorption gemessen werden, als in Studien mit der Wirkstofflösung. In einer festen Formulierung kann die Verflüchtigung von Paeonol während der Absorptionsstudien besser verhindert werden, so kommt eine höhere Wiederfindung des applizierten Wirkstoffes in der Haut zustande als bei der Freisetzung aus einer Lösung. BIO-PSA 7-4202 war für alle Wirkstoffe die Klebmasse

mit der höchsten perkutanen Absorption. Diese Silikonklebmasse übte kaum eine Verlangsamung der Freisetzung im Vergleich zur Wirkstofflösung aus. Duro-Tak 180-129A zeigte den größten retardierenden Effekt auf die perkutane Absorption der drei untersuchten Systeme.

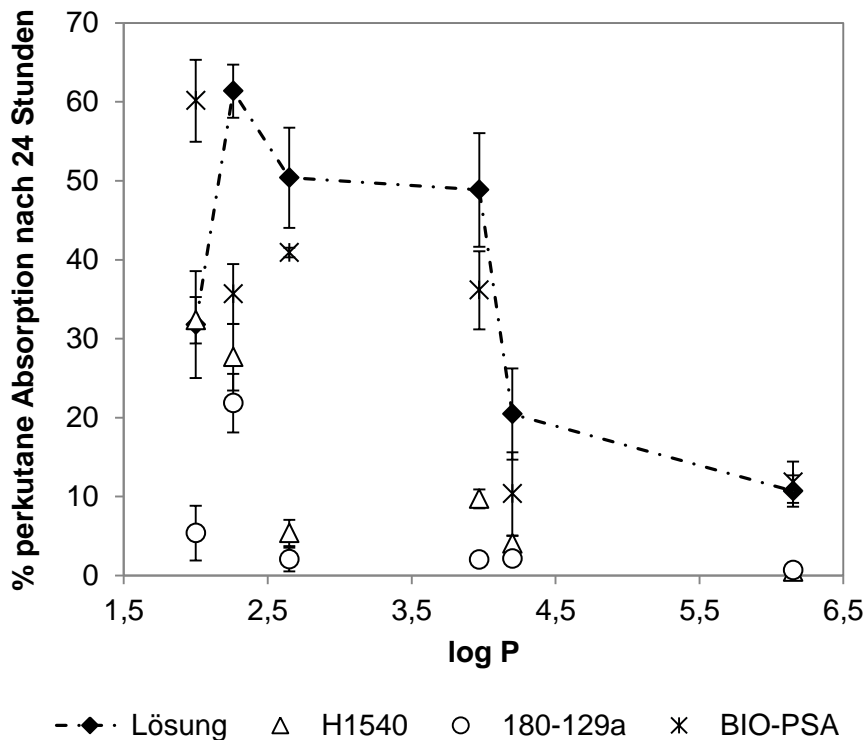


Abbildung 5-12 perkutane Absorption der Wirkstoffe aus einer Lösung sowie aus den drei Klebmassesystemen nach 24 Stunden in % aufgetragen gegen den log P Wert der Wirkstoffe. Daten (\pm Standardabweichung) repräsentieren Mittelwerte aus drei unabhängigen Versuchen

Mit Hilfe der aus den perkutanen Absorptionsstudien gewonnenen Daten konnte ein Faktor für den retardierenden Effekt R einer Klebmasse auf die Freisetzung auf Schweinehaut definiert werden. Hier kamen die aus dem Higuchi-Fit bestimmten Koeffizienten zum Einsatz.

$$R = 1 - \frac{H_{TDDS}}{H_{Lösung}} \quad (24.)$$

H: Koeffizient aus dem Higuchi-Fit der experimentellen Daten

R: retardierender Effekt

Bei einem R von 0 konnte keine Beeinflussung der perkutanen Absorption beobachtet werden, eine Verlangsamung der Absorption war bei einem Wert von R zwischen 0 und 1 gegeben. $R < 0$ bedeutete eine Beschleunigung der perkutanen Absorption aus der Klebmasse im Vergleich zur Wirkstofflösung. Die so bestimmten retardierenden Effekte der drei Matrix-Systeme sind in Tabelle 5-14 für die unterschiedlichen Wirkstoffe zusammengefasst.

Tabelle 5-15 Retardierender Effekt der Klebmassen auf die perkutane Absorption eines Wirkstoffes auf Schweinehaut

	Duro-Tak H1540	Duro-Tak 180-129A	BIO-PSA 7-4202
Paeonol	0,34	0,71	-0,37
Salicylsäure	0,74	0,77	0,58
Rucinol	0,72	0,94	0,19
Ibuprofen	0,96	0,99	0,88
Honokiol	0,70	0,95	-0,20
Licochalcone A	0,71	0,80	0,71
Bakuchiol	0,96	0,995	0,05

Wie schon aus Abbildung 5-12 deutlich wurde, hatte die Klebmasse Duro-Tak 180-129A den größten Einfluss auf die perkutane Absorption. Hier konnten die höchsten retardierenden Effekte beobachtet werden. Die Klebmasse BIO-PSA 7-4202 übte hingegen kaum einen Einfluss auf die Freisetzung der Wirkstoffe aus. Lediglich für die Wirkstoffe Salicylsäure, Ibuprofen und Licochalcone A konnte ein retardierender Effekt dieser Klebmasse auf die perkutane Absorption detektiert werden.

Die perkutane Absorption der drei Klebmassen nach 24 Stunden ist in Abbildung 5-13 einander gegenübergestellt.

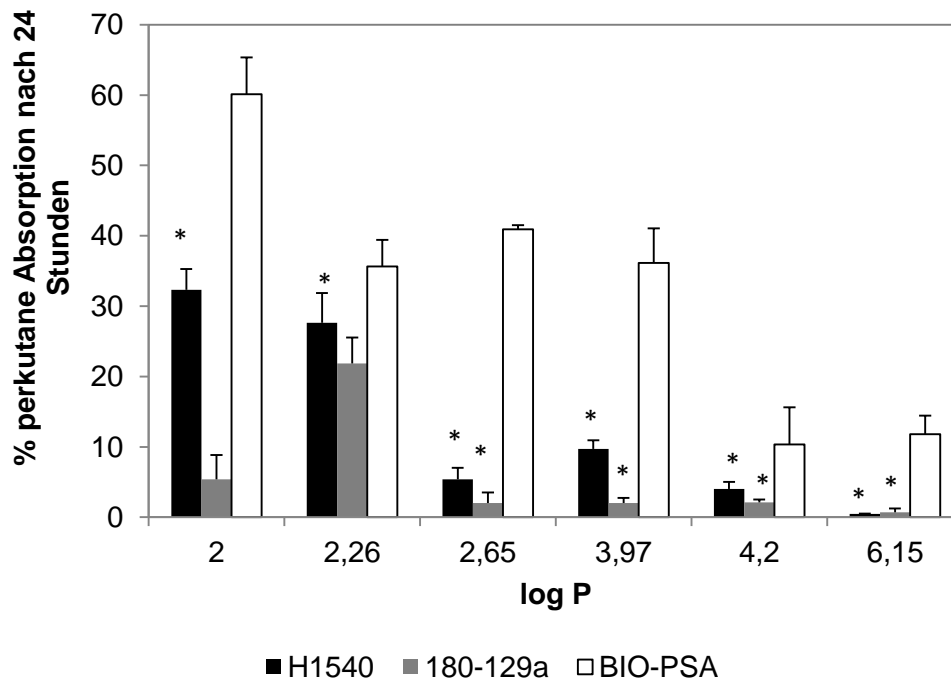


Abbildung 5-13 ANOVA mit post-hoc Turkey Test (*= $P < 0,05$), Daten (\pm Standardabweichung) repräsentieren Mittelwerte aus drei unabhängigen Versuchen, unterschied zu BIO-PSA

Im Vergleich der unterschiedlichen Matrixsysteme besaß das Silikonsystem BIO-PSA 7-4202, mit Ausnahme von Salicylsäure ($\log P = 2,26$), für jeden Wirkstoffe eine signifikant höhere perkutane Absorption nach 24 Stunden als die anderen beiden Klebmassen. In den Untersuchungen mit Salicylsäure war das Acrylat-System Duro-Tak 180-129A signifikant schlechter als BIO-PSA 7-4202 und Duro-Tak H1540. Zwischen BIO-PSA 7-4202 und Duro-Tak H1540 konnte hier kein Unterschied beobachtet werden.

5.4 Diffusionskoeffizient in der Polymergrundlage der TDDSs

Diffusionskoeffizienten von Paeonol und Bakuchiol wurden in verschiedenen Klebmassen mit Hilfe der in 4.1 beschriebenen neu entwickelten Methode basierend auf konfokalem Raman Imaging bestimmt. Im Folgenden sind die Ergebnisse dieser Messungen zusammengefasst.

Paeonol

Der Diffusionskoeffizient von Paeonol wurde in einer SI-basierten Klebmasse (Duro-Tak H1540) sowie in einer Acrylat-Klebmasse (Duro-Tak 180-129A) und einer Silikon-Klebmasse (BIO-PSA 7-4202) bestimmt. Die dafür mittels konfokaler Raman-Mikroskopie aufgenommenen Tiefenprofile sind in Abbildung 5-14 zusammengefasst. Hier ist die Paeonol-Diffusion in den jeweiligen Matrixsystemen bis zum Erreichen eines Gleichgewichtszustands zu sehen. Schwarze Bereiche in den Scans entsprechen den Signalen der reinen Klebmasse, farbige Bereiche korrespondieren mit der Intensität des Raman-Signals von Paeonol in Matrixsystemen.

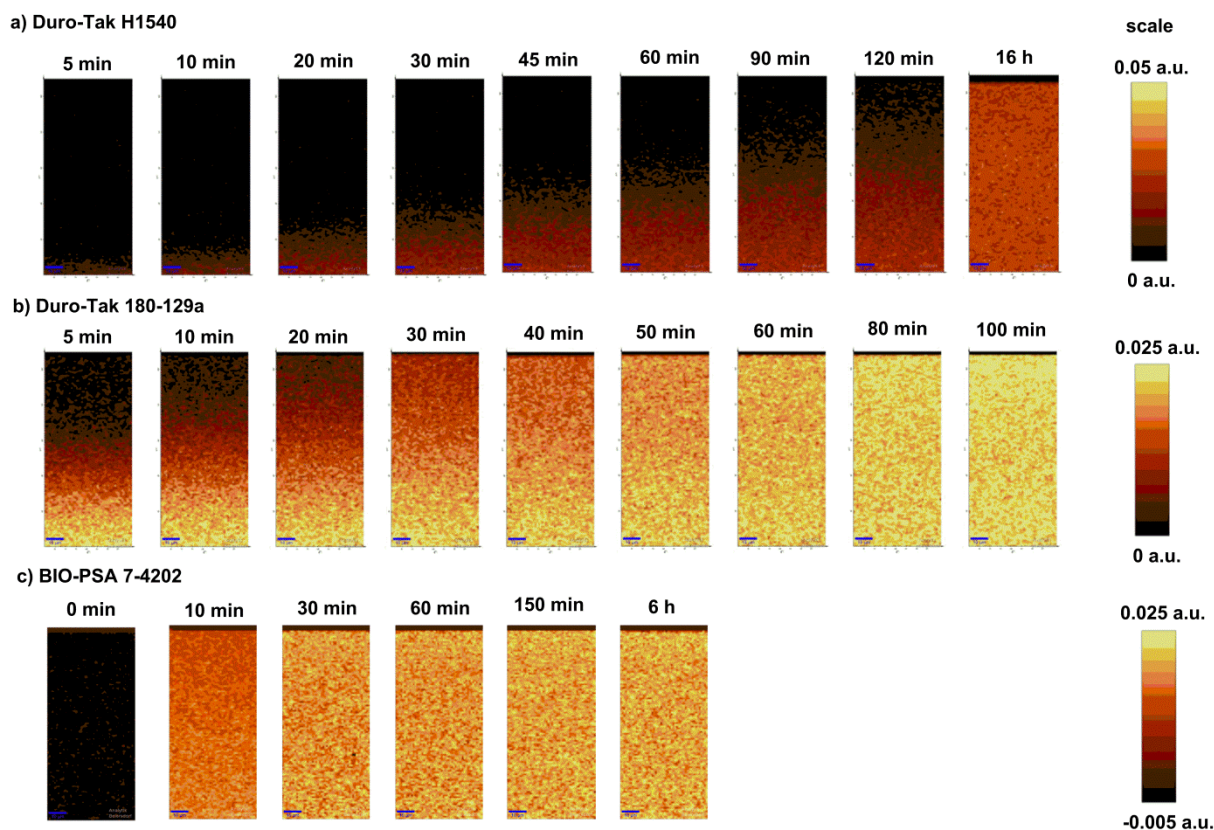


Abbildung 5-14 Raman-Tiefenprofile in a) Duro-Tak H1540, b) Duro-Tak 180-129A und c) BIO-PSA 7-4202 bis zur Erreichung eines Gleichgewichtszustandes in der Paeonol-Diffusion. Schwarze Bereiche in den Scans entsprechen den Signalen der Klebmasse, farbige Bereiche korrespondieren mit den Raman-Signalen von Paeonol wie in der Skala abgebildet. Um Intensitätsschwankungen durch Streuung des Raman-Laserlichts in tieferen Klebmasseschichten auszugleichen, wurden die Wirkstoffsignale auf die C-H-Signale der Klebmasse normiert.

Wie der Abbildung 5-14 deutlich zu entnehmen ist, war die Diffusion von Paeonol in der Silikonklebmasse BIO-PSA 7-4202 am schnellsten, gefolgt von der Paeonol-Diffusion in der Acrylat-Klebmasse Duro-Tak 180-129A und schließlich der Diffusion im SI-basierten System Duro-Tak H1540. Die Paeonol Verteilung in BIO-PSA 7-4202 erreichte schon nach ca. 30 Minuten einen Gleichgewichtszustand. In der Klebmasse auf Acrylatbasis konnte erst nach 80 Minuten eine gleichmäßige Verteilung von Paeonol in der 100 μm dicken Klebmasseschicht beobachtet werden. Im auf SI-basierenden System Duro-Tak H1540 war selbst nach zwei Stunden noch kein Gleichgewicht in der Paeonolverteilung erreicht. Aus den Raman-Scans bis zum Gleichgewichtszustand wurden dreidimensionale Bilder für die Paeonolverteilung in den jeweiligen Klebmassen über die Dicke der Klebmasse und der Zeit erstellt. Diese Verteilungen sind in Abbildung 5-15, Abbildung 5-16 und Abbildung 5-17 zu sehen.

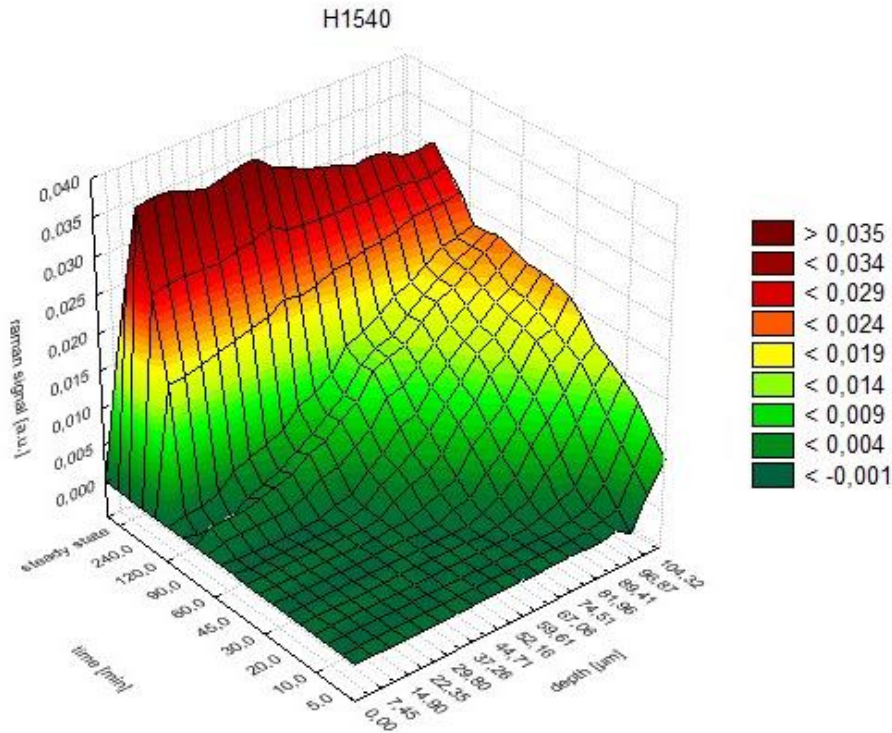


Abbildung 5-15 Diffusionsprofil von Paeonol über die Zeit und die Tiefe in der Duro-Tak H1540 Klebmasse

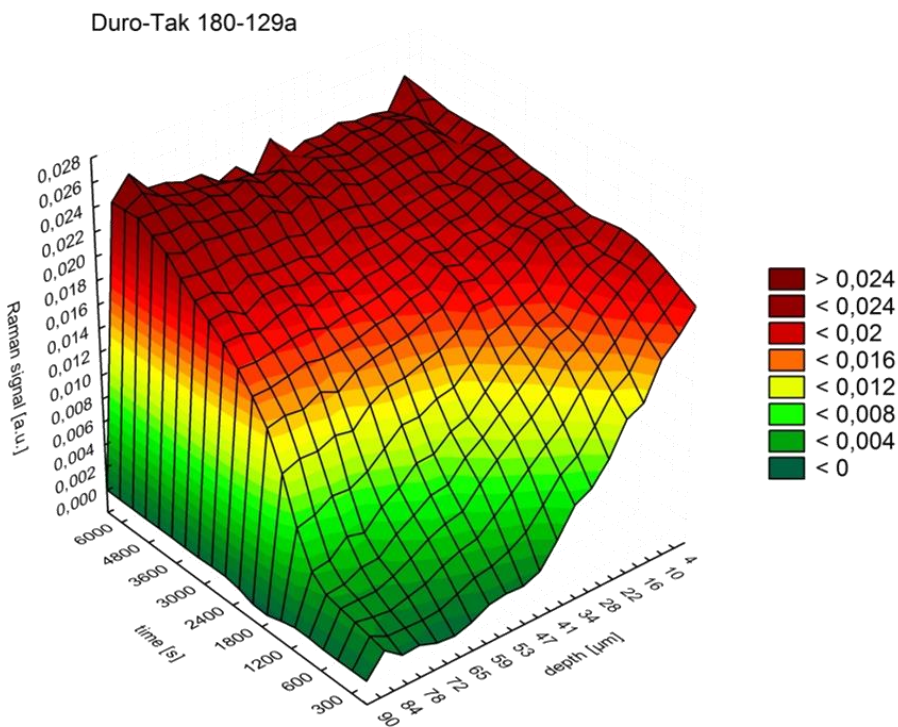


Abbildung 5-16 Diffusionsprofil von Paeonol über die Zeit und die Tiefe in der Duro-Tak 180-129A

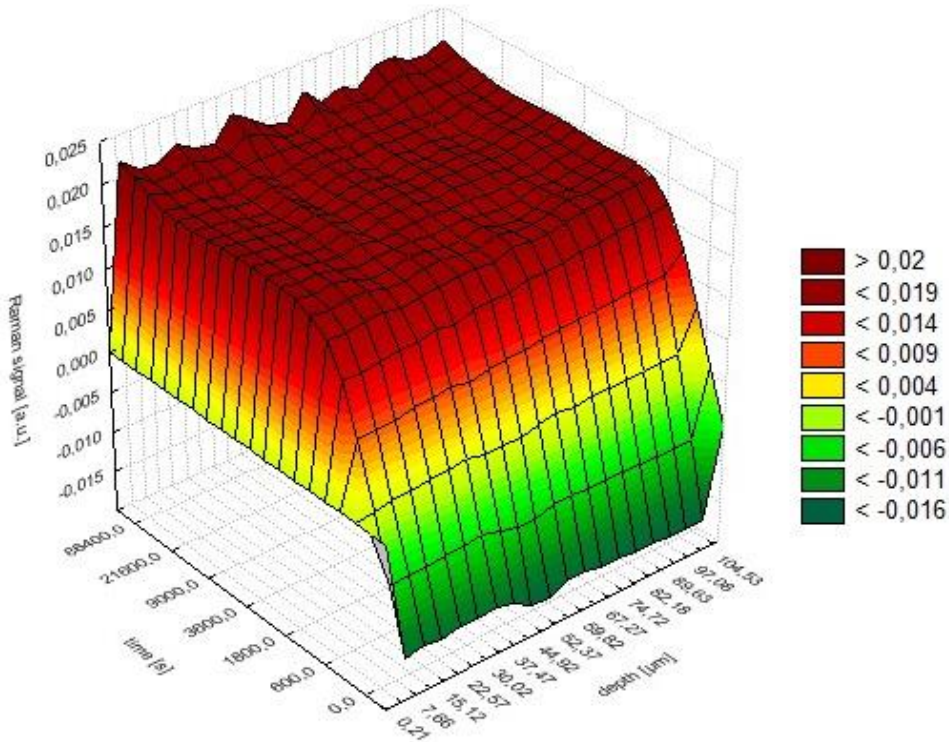


Abbildung 5-17 Diffusionsprofil von Paeonol über die Zeit und die Tiefe in BIO-PSA 7-4202

Tabelle 5-16 Diffusionskoeffizienten von Paeonol in den drei verschiedenen Klebmassen Duro-Tak H1540, Duro-Tak 180-129A sowie BIO-PSA 7-4202 ermittelt aus Raman-Imaging Daten

Paeonol	Duro-Tak H1540	Duro-Tak 180-129A	BIO-PSA 7-4202
Diffusionskoeffizient in	$4,4 \cdot 10^{-13} \text{ m}^2/\text{s} \pm 3,45$	$2,07 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s} \pm 9,3$	$1,86 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$
Klebmasse	$\cdot 10^{-14} \text{ m}^2/\text{s}$	$\cdot 10^{-13} \text{ m}^2/\text{s}$	$\pm 9,69 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$

Die aus den Raman-Signalen berechneten Diffusionskoeffizienten von Paeonol sind in Tabelle 5-16 zusammen gefasst. Es waren signifikante Unterschiede zwischen den Diffusionskoeffizienten in den verschiedenen Klebmassen zu sehen (180-129A – BIO-PSA: $p = 0,004$, BIO-PSA – H1540: $p = 0,003$, H1540 – 180-129A: $p = 0,0031$). Im Vergleich dazu betrug der Diffusionskoeffizient von Paeonol in IPM $3,46 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, und in der Hautbarriere wurde ein Wert von $10^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$ ermittelt. Die Diffusionskoeffizienten in den Klebmassen waren demnach höher als im Stratum corneum und niedriger als im Penetrationsbeschleuniger IPM.

Bakuchiol

Neben Paeonol wurde auch der Diffusionskoeffizient von Bakuchiol in der SI-basierenden Klebmasse Duro-Tak H1540 bestimmt. Die dafür ermittelten Raman-Tiefenprofile bis zum Erreichen eines Gleichgewichtszustandes in der Bakuchiol-Diffusion sind in Abbildung 5-18 zusammengefasst. Schwarze Bereiche in den Scans entsprechen den Signalen der Klebmasse, farbige Bereiche korrespondieren mit den Raman-Signalen von Bakuchiol.

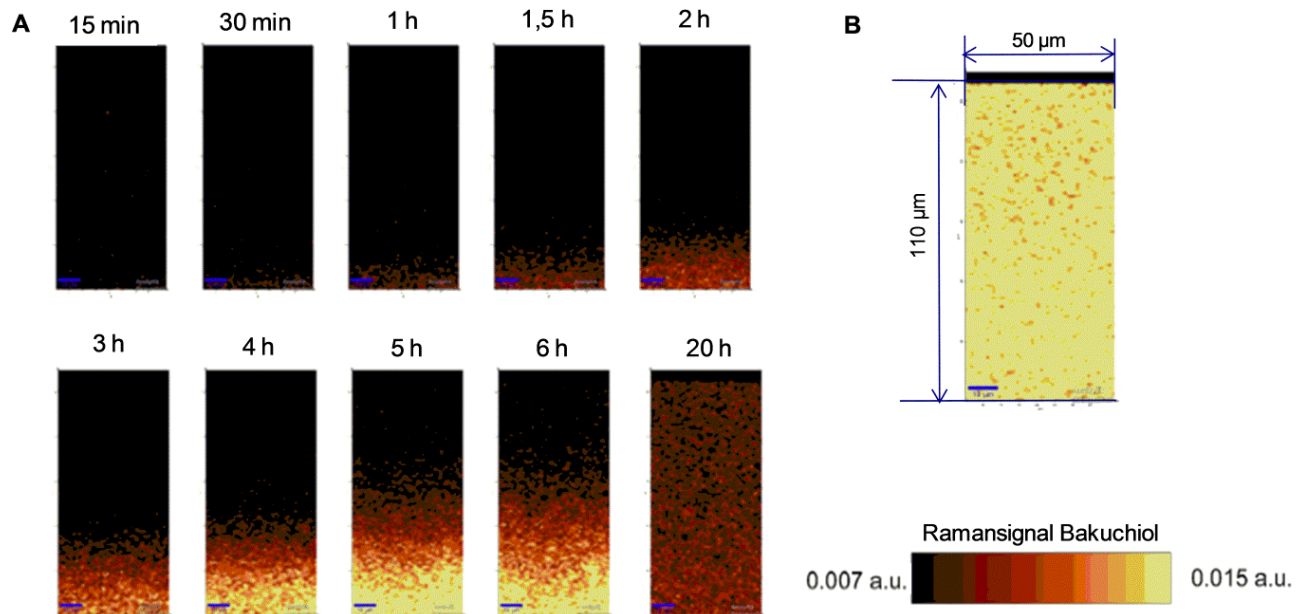


Abbildung 5-18 Raman-Tiefenprofile in A) in Duro-Tak H1540 bis zur Erreichung eines Gleichgewichtszustandes in der Bakuchiol-Diffusion B) einer Klebmasse mit 5% Bakuchiol. Schwarze Bereiche in den Scans entsprechen den Signalen der Klebmasse, farbige Bereiche korrespondieren mit den Raman-Signalen von Paeonol wie in der Skala abgebildet. Um Intensitätsschwankungen durch Streuung des Raman-Laserlichts in tieferen Klebmasseschichten auszugleichen, wurden die Wirkstoffsignale auf die C-H-Signale der Klebmasse normiert.

Wie aus der Abbildung 5-18 deutlich zu entnehmen ist, war die Diffusion von Bakuchiol in Duro-Tak H1540 deutlich langsamer als die Diffusion von Paeonol. Selbst nach 20 Stunden konnte für Bakuchiol ein leichter Konzentrationsgradient in der Klebmasse detektiert werden. Die aus dem Raman-Scans berechnete dreidimensionale Verteilung von Bakuchiol in der Matrix über die Dicke des Klebmasse und der Zeit ist in Abbildung 5-19 dargestellt.

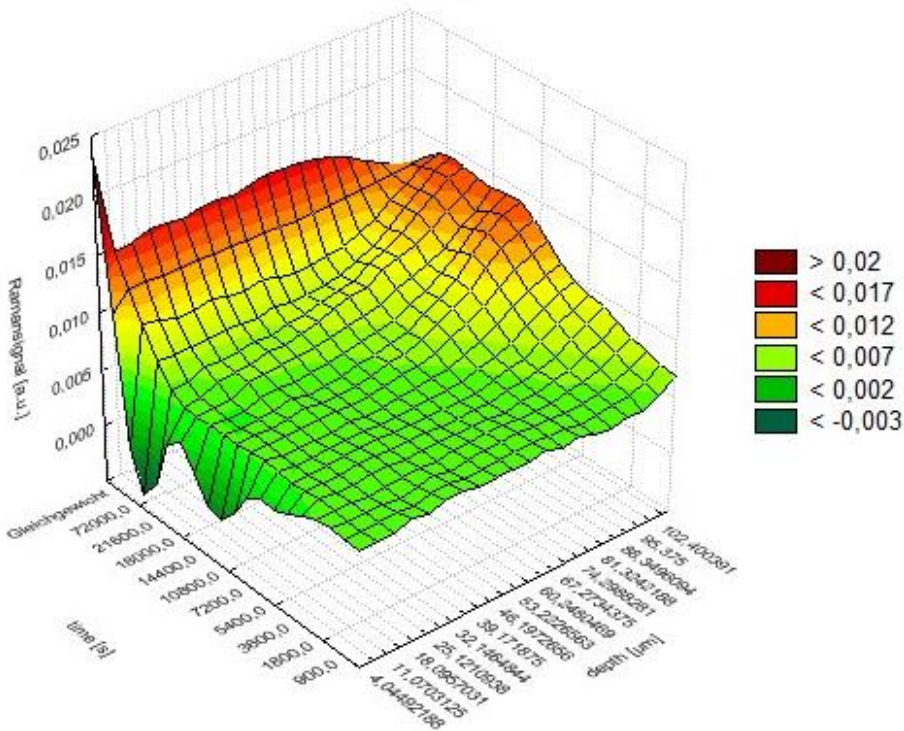


Abbildung 5-19 Diffusionsprofil von Bakuchiol über die Zeit und die Tiefe in Duro-Tak H1540

Der aus der Verteilung über die Dicke und die Zeit berechnete Diffusionskoeffizient von Bakuchiol ist in Tabelle 5-17 im Vergleich zu Paeonol aufgeführt.

Tabelle 5-17 Diffusionskoeffizienten von Bakuchiol und Paeonol in Duro-Tak H1540

	Duro-Tak H1540
Bakuchiol	$5,6 \cdot 10^{-14} \text{ m}^2/\text{s} \pm 1,37 \cdot 10^{-14} \text{ m}^2/\text{s}$
Paeonol	$4,4 \cdot 10^{-13} \text{ m}^2/\text{s} \pm 3,45 \cdot 10^{-14} \text{ m}^2/\text{s}$

Es bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Diffusionskoeffizienten ($p = 0,003$).

Diffusion im Pflastermaterial während der Applikation auf Schweinehaut

Während einer Freisetzungsstudie auf Schweinehaut (wie in 3.4.1 beschrieben) eines mit 5% Paeonol dotierten auf SI-basierenden transdermalen Systems (Duro-Tak H1540) wurden in der Klebmasse nach 2, 6, 24 Stunden Applikation Raman-Tiefenscans aufgenommen. Außerdem wurde nach der Applikation des Pflasters für 2, 6, 24 Stunden über Tape Stripping die Paeonolverteilung im Stratum Corneum untersucht. In Abbildung 5-20 sind die Raman-Scans dieser Messungen sowie die Paeonol-Konzentrationsprofile im porzinem Stratum Corneum einander gegenübergestellt.

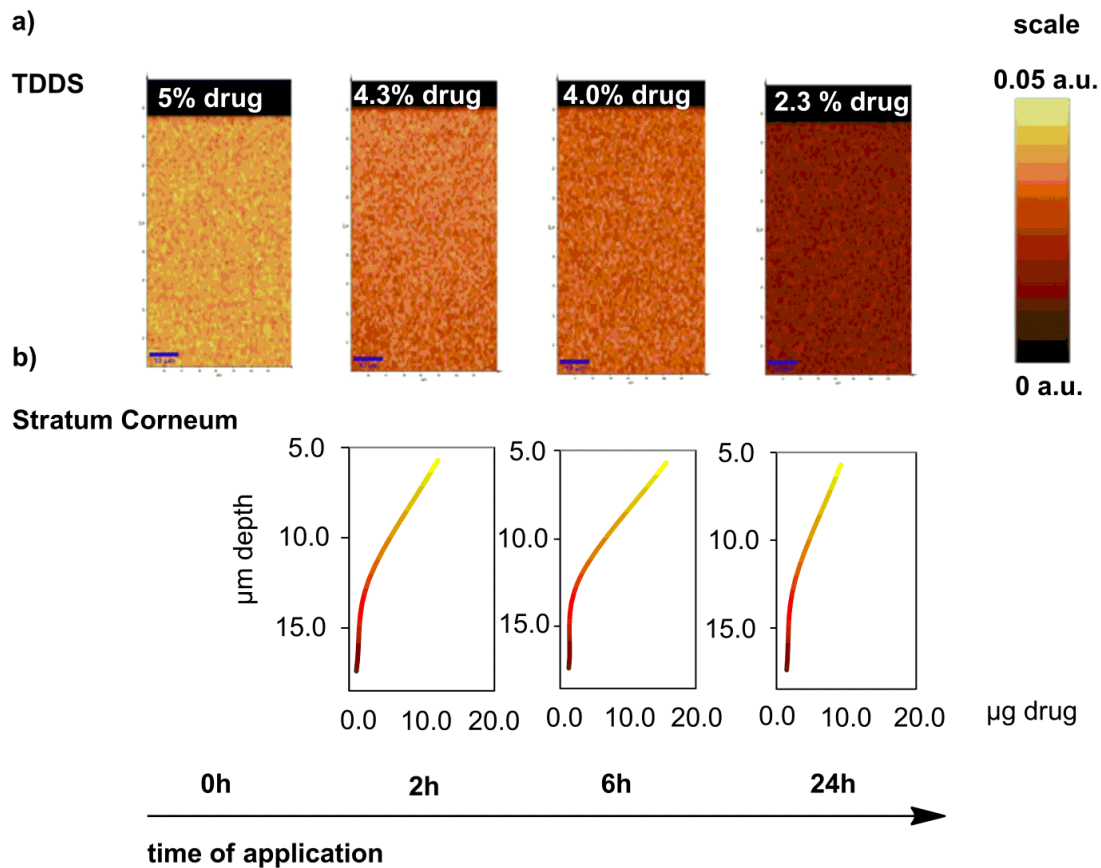


Abbildung 5-20 a) Raman-Tiefenprofile des paeonolhaltigen TDDSs basierend auf Duro-Tak H1540 (5% Paeonol) nach unterschiedlicher Applikationsdauer (0, 2, 6, 24 Stunden) auf Schweinehaut b) Paeonol-Tiefenprofile in porzinem Stratum Corneum nach der Applikation von paeonolhaltigen TDDSs basierend auf Duro-Tak H1540 (5% Paeonol) für 2, 6, 24 Stunden ermittelt über Tape Stripping

Zu keinem Zeitpunkt der perkutanen Absorptionsstudie mit Schweinehaut konnte in der Klebmasse mittels Raman-Imaging ein Wirkstoffgradient beobachtet werden. Die Konzentration an Paeonol nahm wie zu erwarten über die Applikationsdauer kontinuierlich ab. Nach zweistündiger Applikation auf Schweinehaut konnten nur noch 4,3% Paeonol, nach 6 Stunden 4% und nach 24 Stunden 2,3% Paeonol in der Matrix detektiert werden. Der Wirkstoff war jedoch zu jedem Zeitpunkt in der Klebmasse gleichmäßig verteilt. Während der Applikation bildete sich aber ein deutlicher Paeonolgradient im Stratum corneum aus. Nach zweistündiger, sechsstündiger sowie 24stündiger Applikation auf Schweinehaut war ein Konzentrationsgradient von Paeonol über die Dicke des Stratum Corneums zu beobachten. Dies wies daraufhin, dass für das SI-basierte System die Hautbarriere der geschwindigkeitsbestimmende Schritt war.

5.5 Variation der PIB-Klebmasse

Um den Einfluss mechanischer Eigenschaften wie die Kohäsivität und Scherfestigkeit einer Klebmatrix auf die Freisetzung eines Wirkstoffes aus einem adhäsiven transdermalen System zu untersuchen, wurden verschiedene auf PIB basierende Klebmassen unter Verwendung von PIBs mit unterschiedlichen Molekulargewichten hergestellt. Die verschiedenen Basispolymere und ihre mittleren Molekulargewichte (M_v) sind in Tabelle 5-18 zusammengefasst.

Tabelle 5-18 mittlere Molekulargewichte (Viskositätsmittel M_v) der Basispolymere für die unterschiedlichen PIB-Formulierungen [86]

M_v	Oppanol® B12	Oppanol® B80	Oppanol® B150	Oppanol® B200
g/mol	55000	800000	2600000	4000000

Ibuprofen diente als Modelwirkstoff und wurde zu 1% in die jeweiligen Polyisobutylen-Formulierungen eingearbeitet. Außerdem enthielten die Matrices das Penetrationsbeschleunigersystem aus Decyloleat und IPM. Die verschiedenen daraus resultierenden transdermalen Pflaster wurden hinsichtlich ihrer Molekulargewichtsverteilung, ihres rheologischen Verhaltens, der Löslichkeit von Ibuprofen in den Polymermischungen, ihrer Kontaktfläche zu Schweinehaut sowie ihres Freisetzungsverhaltens auf Schweinehaut verglichen. Die genauen Zusammensetzungen der einzelnen Muster sind im Anhang zu finden.

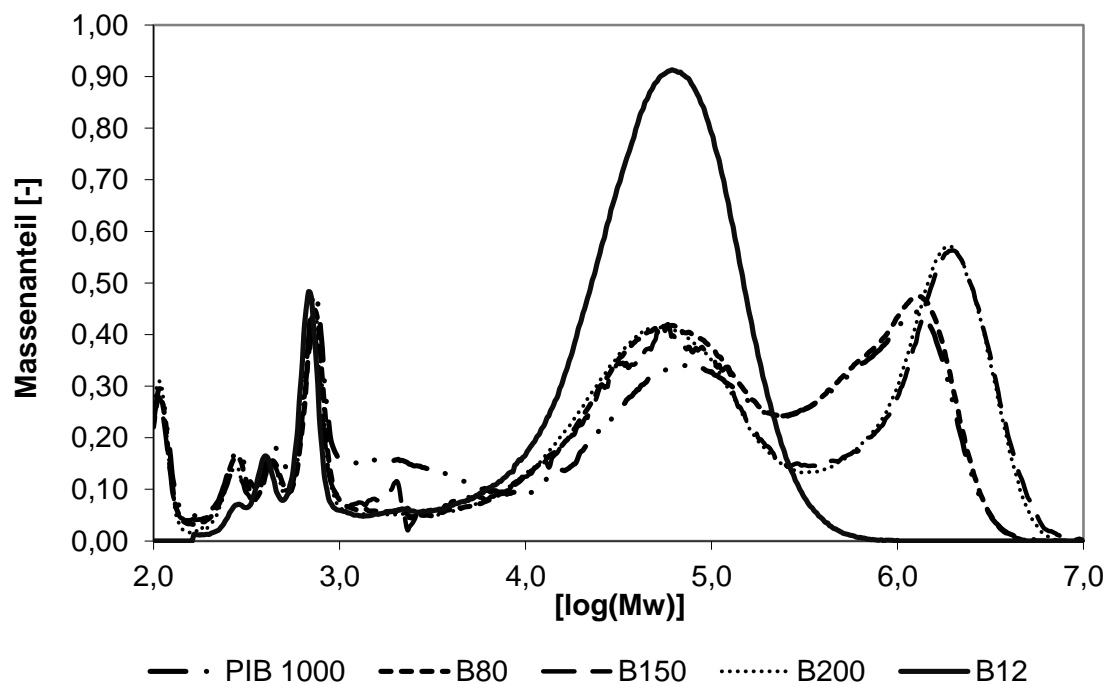


Abbildung 5-21 Molekulargewichtsverteilungen aus GPC-Analyse logarithmisch aufgetragen

In der Abbildung 5-21 sind die aus GPC-Untersuchungen (s. 3.3.2) gewonnenen Molekulargewichtsverteilungen der unterschiedlichen Klebmassen mit verschiedenen PIBs dargestellt. Die beiden Klebmassen mit B200 und B150 zeigten den gleichen Kurvenverlauf. Der Austausch von B10 zu PIB1000 führte zu keiner großen Veränderung in der Molekulargewichtsverteilung der beiden Klebmassen (B80 im Vergleich zu PIB 1000). Die Matrix auf Basis von B12 zeigte wie zu erwarten einen anderen Molekulargewichtsverlauf und wies bei einem geringeren Gewicht sein Maximum auf. Die aus diesen Kurvenverläufen bestimmten mittleren Molekulargewichte (M_w) sind in Tabelle 5-19 zusammengefasst.

Tabelle 5-19 Mittleres Molekulargewicht (Massenmittel M_w) in g/mol der verschiedenen PIB-Formulierungen ermittelt aus GPC-Analyse

M_w	B12	PIB 1000	B80	B150	B200
g/mol	64600	385000	409000	726000	696000

Wie schon aus den Kurvenverläufen in Abbildung 5-21 zu erkennen war, unterschieden sich die Klebmassen B150 und B200 in ihrem mittleren Molekulargewicht kaum. Die B150 Formulierung zeigte sogar ein leicht höheres M_w im Vergleich zu B200, obwohl hier das Basispolymer eine niedrigere Kettenlänge aufwies. Dieser Unterschied könnte im Herstellungsverfahren der Klebmassen begründet sein. Alle PIB-Formulierungen wurden im Hotmelt Verfahren in einem Knetter hergestellt. Durch die Scherbelastung während des Knetvorgangs können sich die Polymerketten der Polyisobutylene unterschiedlich stark abbauen. Dieser Effekt kam bei den weiteren drei PIB-Formulierungen B12, PIB 1000 und B80 nicht zum Tragen, sie entsprechen in der Reihenfolge ihres mittleren Molekulargewichts der Reihenfolge der Kettenlängen der Basispolymere der Matrix-Systeme.

Die Löslichkeit von Ibuprofen in den verschiedenen Klebmassen ist in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 5-20 Löslichkeit in g/L von Ibuprofen in den verschiedenen Kautschukformulierungen mit unterschiedlichem mittleren Molekulargewicht, Mittelwert aus drei unabhängigen Messungen

B12	PIB 1000	B80	B150	B200
4,75 g/L	5,88 g/L	4,58 g/L	4,55 g/L	4,27 g/L

Die Löslichkeit von Ibuprofen in den verschiedenen PIB-Formulierungen lag zwischen 5,8 g/L und 4,27 g/L. Es konnten keine signifikanten Unterschiede in der Löslichkeit von Ibuprofen in den verschiedenen Klebmassen detektiert werden ($p=0,64$).

Die Ergebnisse der rheologischen Untersuchungen sind im Folgenden dargestellt. Der dreidimensionale Verlauf des Verlustfaktors $\tan \delta$ über die Temperatur und die Frequenz der auf Oppanol® B12 und B200 basierenden Klebmassen ist in Abbildung 5-22 dargestellt. Die 3D-Plots der weiteren Formulierungen sind im Anhang zu finden.

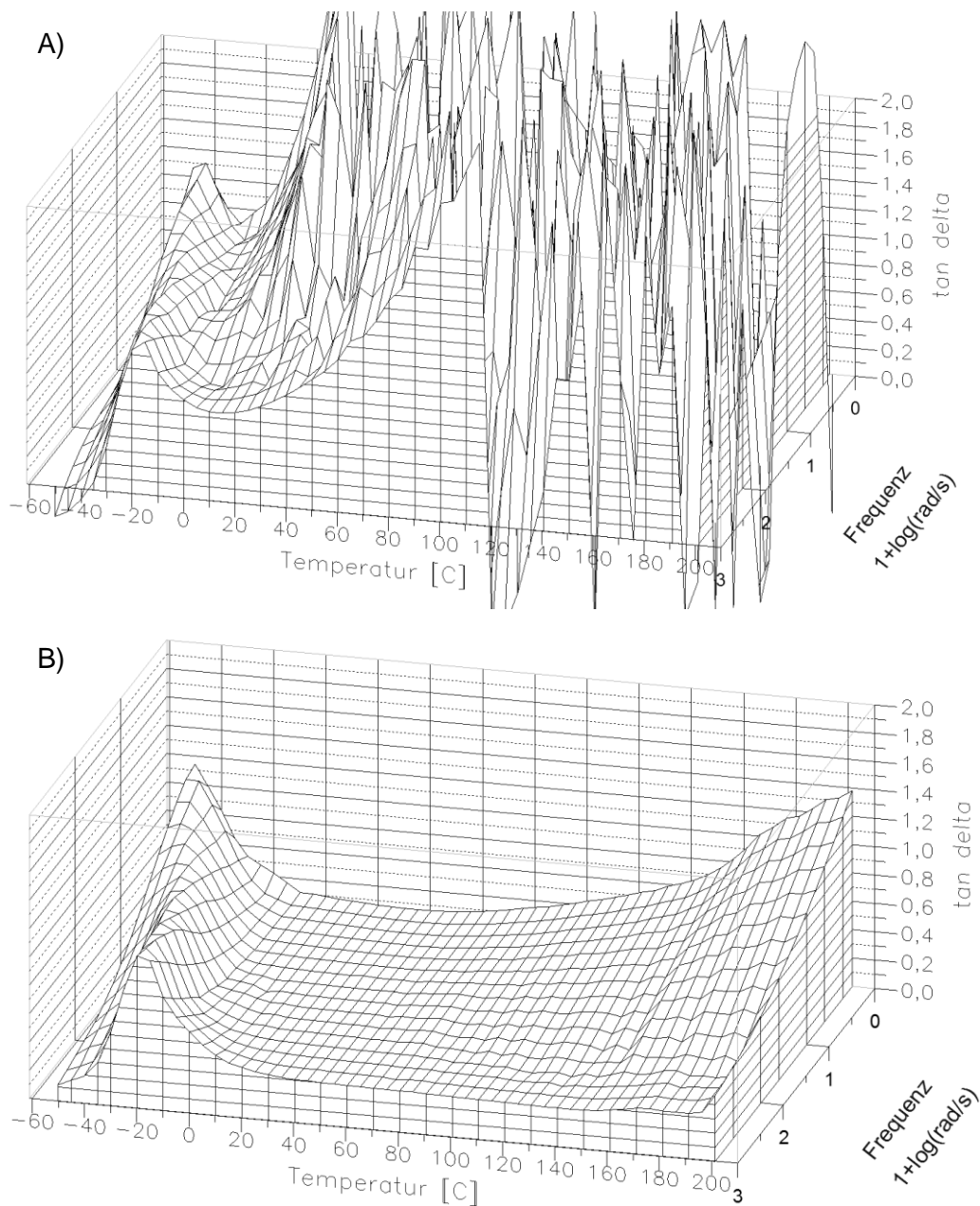


Abbildung 5-22 dreidimensionaler Verlauf des Verlustmoduls $\tan \delta$ über die Temperatur und die Frequenz A) B12 B) B200

Wie aus der Abbildung 5-22 zu erkennen, wiesen die verschiedenen Klebmassen keinen Unterschied im Glasübergang auf. Die Glasübergangstemperatur lag bei beiden Formulierungen bei ca. 50°C. Die Matrices unterschieden sich jedoch aufgrund ihrer unterschiedlichen Basispolymere in ihrem Schmelzverhalten / Erweichungsverhalten bei hohen Temperaturen und in ihrer Scherfestigkeit bei 25°C. Die Formulierung B12 war deutlich weicher als die Klebmasse auf Basis von Oppanol® B200. Die aus den rheologischen Untersuchungen gewonnenen Daten zum Glasübergang und der Scherfestigkeit aller fünf verschiedenen Formulierungen sind in Tabelle 5-21 zusammengefasst.

Tabelle 5-21 Glasübergangstemperatur und Scherfestigkeit ($\tan \delta$ bei $\omega=0,1$ rad/s und 25°C) der fünf verschiedenen PIB-Formulierungen ermittelt aus den 3D-Plots

	B12	PIB 1000	B80	B150	B200
Glasübergangstemperatur T_g [°C]	-50	-50	-50	-50	-50
Scherfestigkeit [$\tan \delta$ bei 25°C und 0,1 rad/s]	6,46	0,39	0,40	0,24	0,26

Wie schon am Beispiel der beiden Klebmassen B12 und B200 in Abbildung 5-22 zu sehen war, wiesen die verschiedenen Formulierungen keinen Unterschied im Glasübergang auf. Es waren jedoch deutliche Unterschiede in der Scherfestigkeit der Klebmassen zu beobachten.

Für aussagekräftige Unterschiede innerhalb der perkutanen Absorptionsstudien muss gewährleistet sein, dass die Muster auch alle die gleiche Kontaktfläche mit der Schweinehaut hatten und eine Veränderung in der Freisetzung nicht durch eine schlechte Kontaktfläche zur Schweinehaut verursacht wurde. Die Kontaktfläche zur Schweinehaut wurde über die Menge von nach dem Abziehen der Pflaster anhaftenden Korneozyten bestimmt. Die Menge an Korneozyten wurde wiederum über den Keratingehalt auf den Mustern quantifiziert (s. 3.4.4). In Abbildung 5-23 ist der Keratingehalt der beschiedenen PIB-Formulierungen nach dem Entfernen von der Schweinehaut gegeneinander aufgetragen. B12 ließ sich nicht in einem Stück von der Haut entfernen. Die Masse war dafür zu weich. Somit war ein Vergleich nicht möglich.

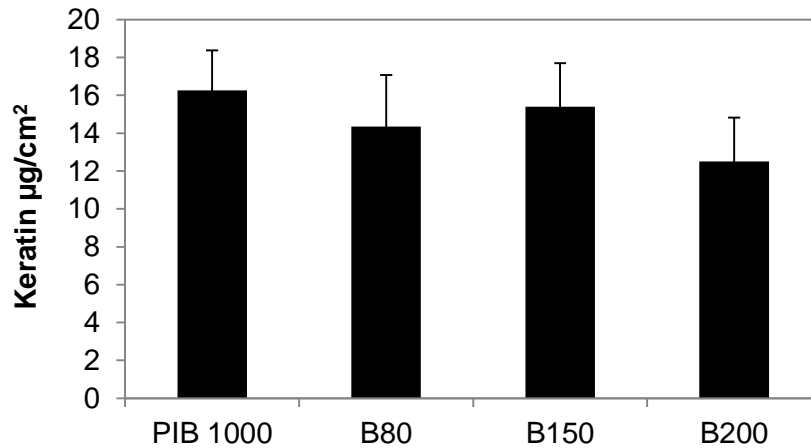


Abbildung 5-23 Keratin-Gehalt auf den Pflastern nach Applikation auf Schweinehaut, Mittelwert (\pm Standardabweichung) aus drei unabhängigen Messungen

Zwischen $13 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ und $16 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ Keratin konnten auf den Mustern nach der Entfernung von Schweinehaut detektiert werden. Es konnte dabei kein signifikanter Unterschied für den Keratin-Gehalt auf den verschiedenen Pflastern beobachtet werden ($p=0,38$). Somit kann eine Beeinflussung der Freisetzung der Muster auf Schweinehaut durch eine unterschiedliche Kontaktfläche zur Haut ausgeschlossen werden.

Mit den fünf verschiedenen mit Ibuprofen dotierten PIB-Formulierungen wurden perkutane Absorptionsstudien auf Schweinehaut durchgeführt. Die prozentuale Freisetzung aus den transdermalen Systemen nach 24 Stunden ist in Abbildung 5-24 zusammengefasst.

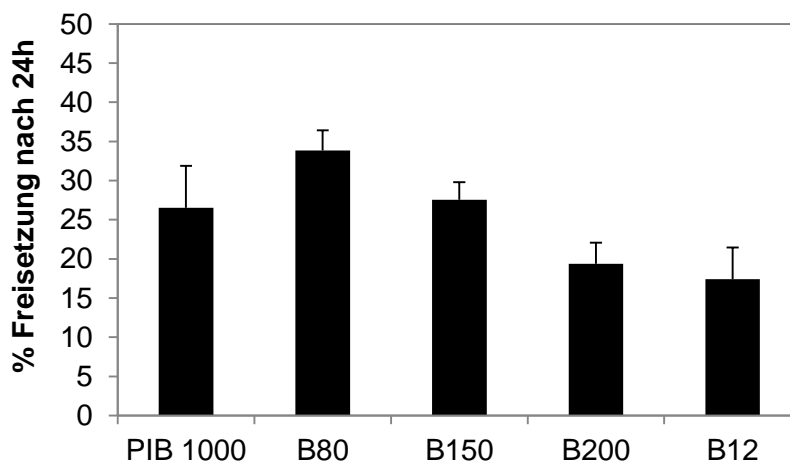


Abbildung 5-24 perkutane Absorption von Ibuprofen aus unterschiedlichen PIB-Formulierungen nach 24 Stunden Applikation, Mittelwert (\pm Standardabweichung) aus drei unabhängigen Messungen

Die perkutane Absorption aus den verschiedenen PIB-Formulierungen lag in einem engen Bereich von 20% bis 35%. Die höchste Freisetzung zeigte das auf Oppanol B80 basierende System. Die niedrigste Freisetzung wurde bei den Formulierungen B200 und B12 beobachtet. Die Untersuchungen wurden auf verschiedenen Chargen von Schweinehaut durchgeführt. Eine Beeinflussung dieser Varianz unterhalb dieser unterschiedlichen Chargen an Schweinehaut auf die Freisetzung kann nicht ausgeschlossen werden.

5.6 Perkutane Absorption in vitro (humane Hautmodelle)

Die Barriereigenschaften zweier humaner Hautmodelle EpiDerm™ und MelanoDerm™ wurden untersucht. Dafür wurde die perkutane Absorption von drei verschiedenen Wirkstoffen (Rucinol in PIB-Matrix, Honokiol und Licochalcone A jeweils in FKF-Matrix) über einen Zeitraum von 48 Stunden betrachtet. Die Versuche mit Honokiol und Licochalcone A wurden mit dem Hautmodell EpiDerm durchgeführt, die perkutane Absorption von Rucinol wurde mit dem Modell MelanoDerm™ gemessen. MelanoDerm™ unterschied sich nur durch die Anwesenheit von Melanozyten vom Hautmodell EpiDerm™. Beide Modelle verfügten durch die Kultivierung an der Luft/Medium-Grenze über ein ausgebildetes Stratum corneum. Außerdem wurden perkutane Absorptionsstudien mit unterschiedlichen Rucinolkonzentrationen in der PIB-Matrix auf dem MelanoDerm™ Hautmodell durchgeführt.

Die Ergebnisse der perkutanen Absorptionsstudien mit den drei verschiedenen Wirkstoffen Honokiol, Licochalcone A und Rucinol sind im Folgenden zusammengefasst.

Die Wirkstoffkonzentrationen über die Kultivierungsdauer 48 Stunden sind in Abbildung 5-25 dargestellt. Es handelt sich dabei jeweils um Werte aus drei unabhängigen Versuchen mit Standardabweichung.

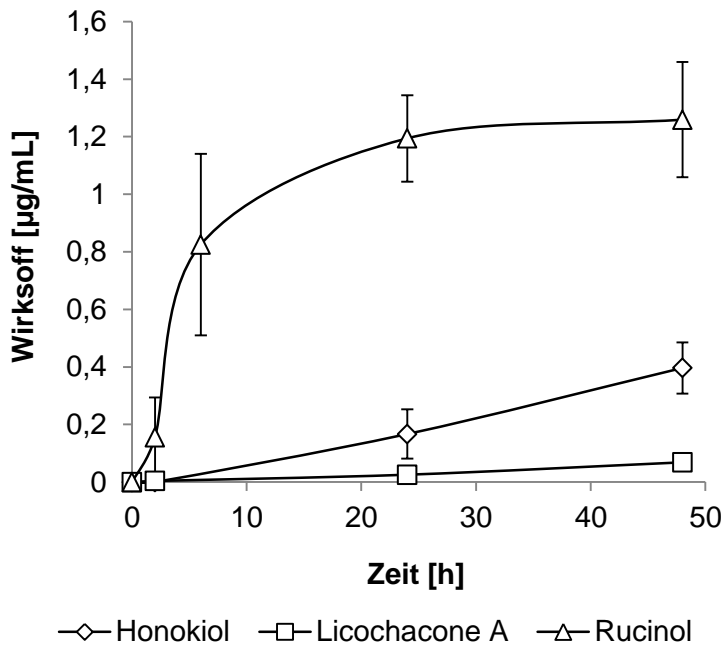


Abbildung 5-25 Perkutane Absorption von Honokiol (\diamond) und Licochalcone A (\square) (0,2% Magnolia und 0,4% Süßholz Extrakt jeweils in der Matrix des feuchtklebenden Films) und Rucinol (Δ) (0,06% in der PIB-Matrix) in $\mu\text{g/mL}$ in das Kultivierungsmedium humaner Hautmodelle über eine Applikationsdauer der transdermalen Systemen von 48 Stunden

Die Freisetzungskinetiken der verschiedenen Wirkstoffe unterschieden sich deutlich voneinander. Rucinol penetrierte wesentlich schneller ins Medium als Honokiol und Licochalcone A. Für alle Wirkstoffe ließ sich eine lineare Freisetzung beobachten, wobei die Rucinolkonzentration schon nach ca. 12 Stunden in eine Sättigung überging und die Gleichgewichtskonzentration von $1,3 \mu\text{g/mL}$ erreichte. Die Freisetzungen der deutlich lipophileren Wirkstoffe Honokiol und Licochalcone A waren noch weit vom Gleichgewichtszustand entfernt. Man konnte deutlich sehen, dass der Wirkstoff mit dem niedrigsten log P Wert (Rucinol, $\log P = 2,6$) am schnellsten in das Kultivierungsmedium freigesetzt wurde. Der Wirkstoff mit dem größten log P (Licochalcone A, $\log P = 4,9$) wurde im Vergleich am langsamsten ins Medium freigesetzt.

Aus dem linearen Bereich der Konzentrationsprofile im Kultivierungsmedium wurden die Permeabilitätskoeffizienten der jeweiligen Wirkstoffe bestimmt. Sie sind in Tabelle 5-22 zusammengefasst.

Tabelle 5-22 Permeabilitätskoeffizienten von Rucinol, Honokiol und Licochalcone A auf humanen Hautmodellen in cm/h

Wirkstoff	Modell	K_p [cm/h]
Rucinol	MelanoDerm™	$180,1 \cdot 10^{-5}$
Honokiol	EpiDerm™	$9,48 \cdot 10^{-5}$
Licochalcone A	EpiDerm™	$2,63 \cdot 10^{-5}$

Wie schon aus Abbildung 5-25 deutlich wurde, besaß Rucinol einen deutlich höheren Permeabilitätskoeffizienten als die anderen beiden Wirkstoffe. Der Permeabilitätskoeffizient von Rucinol war 20-mal größer als der von Honokiol. Honokiol wiederum besaß einen ca. 4,5-mal größeren Permeabilitätskoeffizienten als Licochalcone A.

Die Wiederfindung und Verteilung der verschiedenen Wirkstoffe in Pflaster, Hautmodell sowie Kultivierungsmedium nach 48 Stunden Applikation ist in Abbildung 5-26 dargestellt.

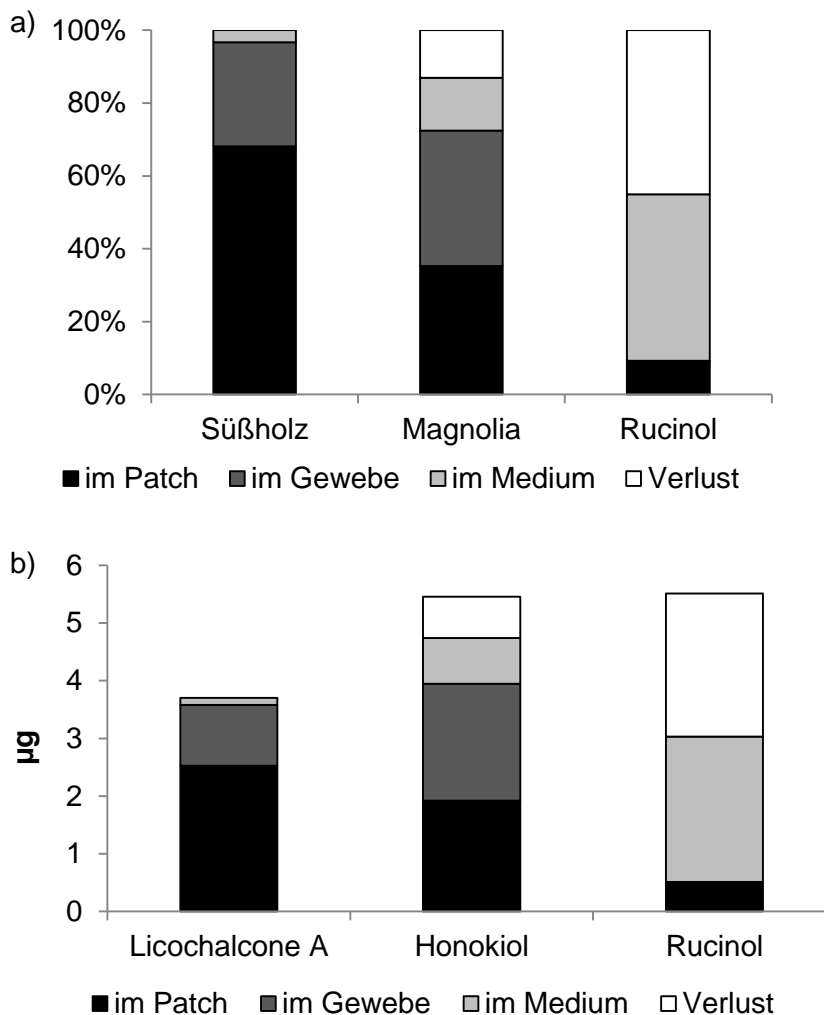


Abbildung 5-26 Wiederfindung von Süßholz Extrakt (Licochalcone A), Magnolia Extrakt (Honokiol), sowie Rucinol a) prozentual und b) absolut in µg nach 48 Stunden Applikation

Die Wiederfindung von Rucinol war mit nur 70% schlecht. Dies ließ sich auch schon bei den perkutanen Absorptionsstudien von Rucinol ex vivo auf Schweinehaut beobachten (s. 5.2.2). Rucinol besitzt eine hohe Lichtempfindlichkeit und konnte daher während der Aufbereitungsschritte der Proben sowie Probennahme selbst durch das Tageslicht geschädigt worden sein. Außerdem wiesen Versuche der Inkubation von Rucinol zusammen mit dem Humanhautmodell MelanoDerm™ auf eine Metabolisierung dieses Wirkstoffes durch Keratinozyten hin. Auch während der Absorptionsstudien mit Schweinehaut wurde ein Abbau von Rucinol beobachtet. Selbst bei einer Abdunkelung während dieser Versuche war die Wiederfindung von Rucinol nur schlecht. Der Abbau von Rucinol in Haut in den Studien war also nicht nur durch die Lichtempfindlichkeit des Wirkstoffes begründet, Rucinol scheint in der Haut verstoffwechselt zu werden.

Die Ergebnisse zum Einfluss unterschiedlicher Rucinolkonzentrationen in der PIB-Matrix auf die perkutane Absorption von Rucinol im MelanoDerm™ Hautmodell sind im Folgenden zusammengefasst. Pflaster mit 0,06% ($19,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$), 0,1% ($26,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) sowie 0,15% ($38,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) Rucinol kamen dabei zum Einsatz. Die Rucinolkonzentrationen im Kultivierungsmedium aus diesen Versuchen sind in Abbildung 5-27 dargestellt.

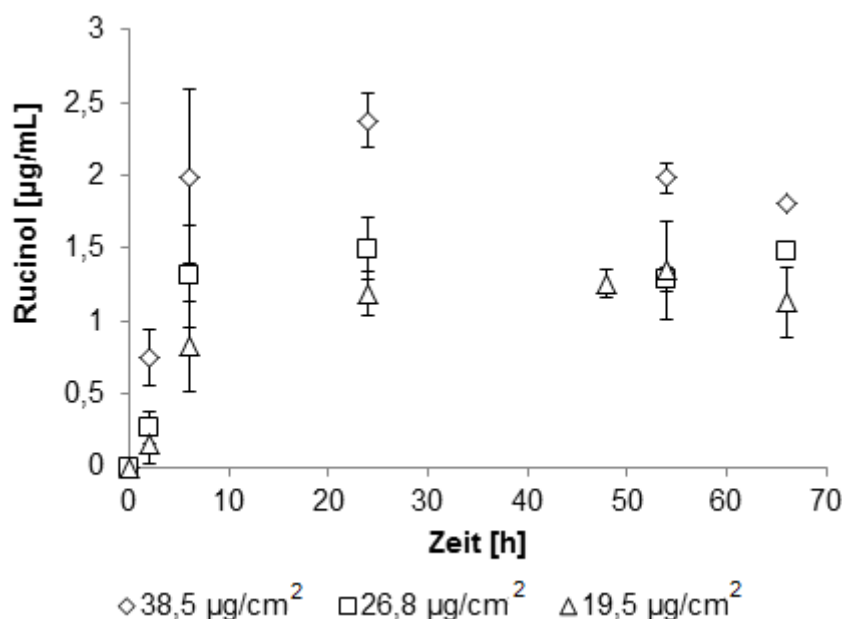


Abbildung 5-27 ins Kultivierungsmedium freigesetztes Rucinol in $\mu\text{g}/\text{mL}$ über 66 Stunden Applikation von transdermalen Pflastern mit unterschiedlichen Rucinolgehalten (\diamond : $38,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, \square : $26,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, Δ : $19,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$)

Für alle drei Konzentrationen zeigte sich das gleiche Konzentrationsprofil im Kultivierungsmedium mit einem zunächst linearen Anstieg sowie Stagnation nach ca. 12 Stunden Applikation und dem Erreichen der Gleichgewichtskonzentration. Wobei die Rucinolkonzentration

bei zunehmender Kultivierungsdauer bei allen Muster wieder leicht abnahm. Dieser Effekt war erneut zum einem über die Metabolisierung des Wirkstoffes durch die Zellen des Hautmodells sowie über die Lichtempfindlichkeit von Rucinol zu erklären.

Die aus den linearen Abschnitten der Konzentrationsverläufe in Abbildung 5-27 bestimmten Wirkstoffflüsse sowie die Permeabilitätskoeffizienten sind in Tabelle 5-23 zusammengefasst.

Tabelle 5-23 Wirkstofffluss und Permeabilitätskoeffizient von Rucinol auf MelanoDerm™

Dosis [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Wirkstofffluss [$\mu\text{g}/(\text{cm}^2\text{h})$]	K_P [cm/h]
$38,5 \pm 0,68$	$2,32 \pm 0,11$	$2,2 \cdot 10^{-3} \pm 0,25 \cdot 10^{-3}$
$26,8 \pm 2,28$	$1,58 \pm 0,21$	$2,1 \cdot 10^{-3} \pm 0,28 \cdot 10^{-3}$
$19,5 \pm 1,86$	$1,00 \pm 0,15$	$1,8 \cdot 10^{-3} \pm 0,27 \cdot 10^{-3}$

Die Permeabilitätskoeffizienten von Rucinol wurden nicht durch die Einsatzkonzentration in den transdermalen Systemen beeinflusst. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Permeabilitätskoeffizienten der verschiedenen Rucinolkonzentrationen gemessen werden (0,06% vs. 0,1%: $p = 0,92$, 0,06% vs. 0,15%: $p = 0,35$, 0,1% vs. 0,15% $p = 0,52$). Die Wirkstoffflüsse nahmen mit zunehmender Rucinolkonzentration kontinuierlich zu.

Eine Auftragung dieser Flüsse durch das Hautmodell MelanoDerm™ gegenüber der Einsatzkonzentration von Rucinol ist in Abbildung 5-28 dargestellt.

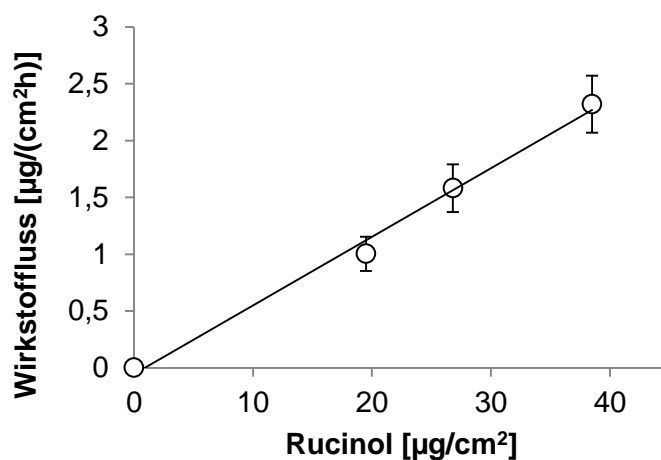


Abbildung 5-28 Wirkstofffluss von Rucinol im MelanoDerm™ Hautmodell in Abhängigkeit der applizierten Rucinolmenge

Es bestand ein linearer Zusammenhang zwischen dem Fluss an Rucinol durch das Hautmodell MelanoDerm™ und der Einsatzkonzentration im transdermalen System.

5.7 Wirksamkeitsuntersuchungen

Die Wirksamkeit gegen eine UV-induzierte Entzündung sowie die hautaufhellende Wirkung transdermaler Systeme auf lebenden humanen Hautmodellen wurden untersucht. Die Ergebnisse dazu sind im Folgenden zusammengefasst.

5.7.1 Entzündungshemmende Wirkstoffe

Die entzündungshemmende Wirkung des mit Magnolien oder Süßholz Extrakt dotierten transdermalen Systems auf Basis des feuchtklebenden Films wurde mit Hilfe des humanen Hautmodells EpiDerm™ untersucht. Dafür wurde der inhibierende Effekt von topisch applizierten adhäsiven TDDSs auf die Ausschüttung der pro-inflammatorischen Zytokine PGE₂, IL-6 sowie TNF-α nach UV-Bestrahlung vermessen (s. 3.5.2). Der spezifische Cyclooxygenasen-Inhibitor Diclofenac diente dabei als Vergleichssubstanz. Diclofenac wurde während der Versuche dabei direkt ins Medium der Hautmodelle gegeben (50 ng/mL). Somit konnte die systemische Wirkung von Diclofenac mit der topischen Applikation zweier natürlicher Extrakte in adhäsiven TDDSs verglichen werden.

Zunächst wurde die Verträglichkeit der TDDSs sowie der Dosis an Diclofenac mit den humanen Hautmodellen mit Hilfe eines MTT-Assay überprüft (s. 3.5.4). Sollten die TDDSs oder das Diclofenac auf EpiDerm™ toxisch wirken, würde die Produktion an pro-inflammatorischen Zytokinen dadurch gesenkt werden. Dies würde die Bewertung der Wirksamkeit anhand dieser beeinflussen.

Tabelle 5-24 Viabilität in % MTT der Kontrolle, die Daten (\pm Standardabweichung) repräsentieren Mittelwerte aus fünf unabhängigen Experimenten.

	ohne	Magnolia	Süßholz	Diclofenac
Kontrolle	100	98.8 \pm 5.6	101.4 \pm 3.2	97.2 \pm 5.6
UV-behandelt (90 mJ/cm ²)	106.3 \pm 10.2	100.1 \pm 14.2	106.2 \pm 9.8	93.8 \pm 9.9

Die über einen MTT-Assay bestimmte Viabilität der Zellen im Hautmodell (s. Tabelle 5-24) zeigte weder Veränderungen durch die Bestrahlung der Keratinozyten noch durch die Kultivierung mit wirkstoffdotierten Pflastern oder Diclofenac im Kultivierungsmedium. Von den hier verwendeten TDDSs sowie der Diclofenac Dosis ging also kein Hautirritationspotential aus. Ein Einfluss der Zellviabilität auf die Produktion pro-inflammatorischer Zytokine konnte somit ausgeschlossen werden.

Abbildung 5-29 zeigt die PGE₂ Produktion der Hautmodelle über die Kultivierungsdauer von 48 Stunden. Die PGE₂ Produktion erhöhte sich über die Dauer der Kultivierung aller Haut-

modelle, jedoch war dieser Anstieg der PGE₂ Freisetzung ins Medium nach Bestrahlung im Vergleich zu den unbehandelten Proben signifikant höher (24h: P = 0,04, 48h: P = 0,002). Nach 48 Stunden Kultivierung erreichten die unbehandelten Kontrollen ein Level von 2580,65 pg/mL PGE₂ im Medium, wohingegen nach Bestrahlung und 48 Stunden Kultivierungsdauer eine PGE₂ Konzentration von 4425,52 pg/mL gemessen werden konnte. Durch die Anwesenheit von entzündungshemmenden Substanzen (Diclofenac im Medium oder Magnolien bzw. Süßholz Extrakt im Form von adhäsiven TDDSs topisch appliziert) wurde sowohl die induzierte als auch die nicht induzierte basale Produktion von PGE₂ über die gesamte Kultivierungsdauer von 48 Stunden inhibiert. Die Inhibition der PGE₂ Produktion war nach 48 Stunden jedoch nicht mehr signifikant.

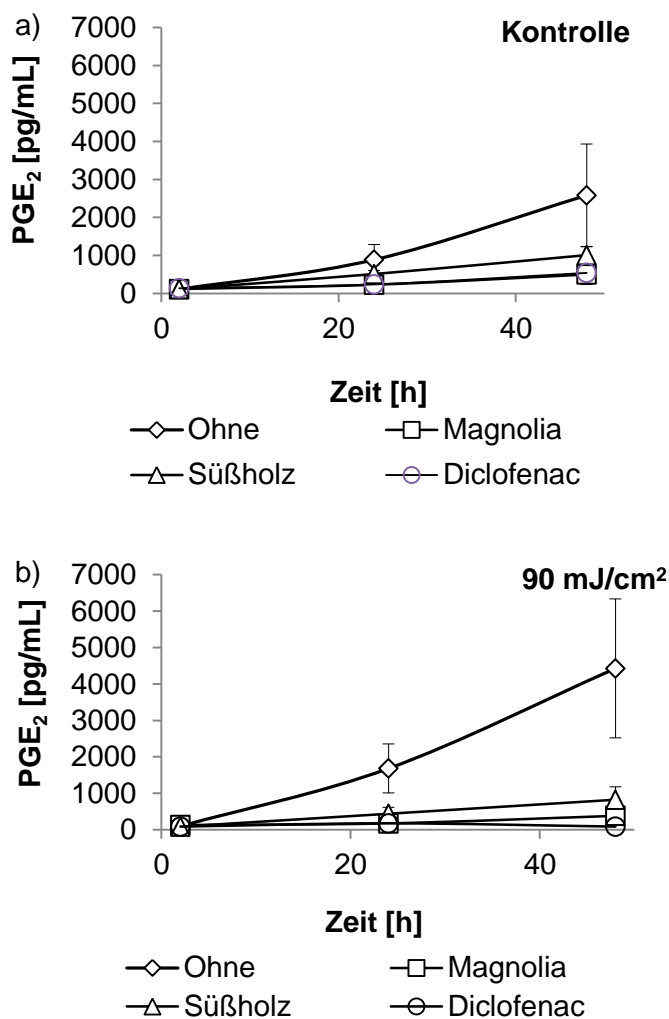


Abbildung 5-29 PGE₂-Produktion in pg/mL von Keratinozyten im Hautmodell EpiDerm™ über eine Kultivierungsdauer von 48 Stunden. Die PGE₂-Produktion ohne UV-Bestrahlung a) sowie nach UV-Bestrahlung b) wurde bestimmt. EpiDerm™ wurde dafür mit TDDS (0,2% Magnolien Extrakt oder 0,4% Süßholz Extrakt), mit 47 ng/mL im Medium oder ohne Wirkstoff (ohne) kultiviert. Die Daten (± Standardabweichung der Mittelwerte) repräsentieren Mittelwerte aus fünf unabhängigen Experimenten

Betrachtet man nun die Situation nach 24 Stunden genauer (s. Abbildung 5-30), zeigte sich eine signifikante Reduktion der Ausschüttung von Zytokinen ins Medium nach der Behandlung mit Diclofenac sowie nach der topischen Applikation der adhäsiven TDDSs mit Magnolien oder Süßholz Extrakt. Die PGE₂ Produktion während der Kultivierung mit Magnolien oder Süßholz Extrakt dotierten Pflastern war signifikant niedriger im Vergleich zur Kultivierung ohne Wirkstoffe.

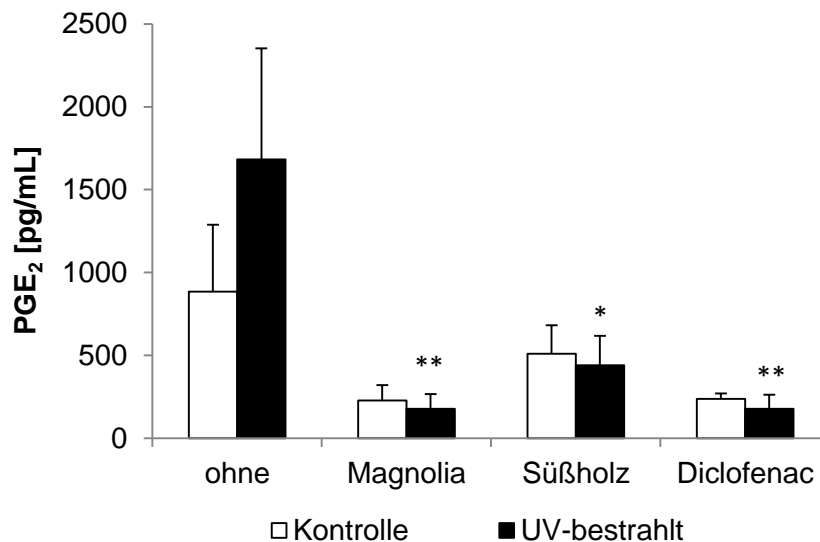


Abbildung 5-30 Effekt von topisch applizierten TDDSs (mit Magnolien Extrakt oder Süßholz Extrakt) oder Diclofenac im Kultivierungsmedium auf die PGE₂-Produktion in pg/mL. Die PGE₂-Produktion des Hautmodells EpiDerm™ ohne UV-Bestrahlung (weiß) und nach UV-Bestrahlung (schwarz) wurde bestimmt. EpiDerm™ wurde dafür mit TDDS (0,2% Magnolien Extrakt oder 0,4% Süßholz Extrakt), mit 47 ng/mL im Medium oder ohne Wirkstoff (ohne) kultiviert. Die Daten (\pm Standardabweichung der Mittelwerte) repräsentieren Mittelwerte aus fünf unabhängigen Experimenten.

Eine Reduktion der PGE₂ Freisetzung 24 Stunden nach UV-Bestrahlung um $86\% \pm 9,3\%$ durch Magnolien Extrakt und um $61\% \pm 2,4\%$ durch Süßholz Extrakt wurden gemessen. 47 ng/mL Diclofenac im Kultivierungsmedium verringerten der PGE₂ Produktion der Keratinozyten im EpiDerm™ Hautmodell 24 Stunden nach UV-Bestrahlung signifikant um $90,9\% \pm 9,6\%$ ($p=0,006$). Beide natürlichen Extrakte Magnolia sowie Süßholz konnten also die PGE₂ Ausschüttung nach UV-Bestrahlung signifikant reduzieren, wobei die Reduktion durch den topisch in Form eines Pflasters applizierten Magnolien Extrakt (10 μ g appliziert) in der gleichen Größenordnung lag wie durch Diclofenac im Medium (47 ng/mL).

In diesem Versuchsaufbau konnte keine IL-6 oder TNF- α Konzentrationen im Medium gemessen werden.

Um neben PGE₂ noch mindestens einen weiteren Entzündungsmediator als Parameter für die Wirksamkeit der transdermalen Pflaster zu haben, wurde nun versucht über die Co - Kultivierung der Hautmodelle mit einem Fibroblasten-Monolayer ein IL-6 und TNF – α Signal zu erhalten (s. 3.5.2). Interaktionen zwischen Epidermis (Keratinocyten) und Dermis (Fibroblasten) haben einen signifikanten Effekt auf die Ausschüttung von Zytokinen nach einem Entzündungsreiz [87]. Die in EpiDerm™ enthaltenen Keratinocyten können über Cross-Talk mit den Fibroblasten dazu angeregt werden, weitere bzw. mehr Entzündungsmediatoren zu bilden. Daher wurde in weiteren Versuchen eine Co - Kultivierung der Hautmodelle mit einem Monolayer primärer humaner Fibroblasten vorgenommen. Die Ergebnisse aus diesen Versuchen mit Magnolien Extrakt dotierten TDDSs sind im Folgenden dargestellt.

Erneut wurde zunächst über einen MTT-Assay der Einfluss der Kultivierungsbedingungen (Kultivierung nach UV-Bestrahlung sowie mit wirkstoffdotierten Pflastern) auf die Zellviabilität überprüft. Dabei wurden der Fibroblasten-Monolayer und das Hautmodell EpiDerm™ getrennt voneinander betrachtet.

Die über einen MTT-Assay bestimmte Viabilität der Keratinocyten im Hautmodell sowie der Fibroblasten im Monolayer ist in Tabelle 5-25 zusammengefasst.

Tabelle 5-25 Viabilität in % MTT der Kontrolle, (-) nicht bestimmt

	ohne	Magnolia
EpiDerm™		
Kontrolle	100	98,8 ± 5,6
UV-behandelt (90 mJ/cm ²)	105,55 ± 1,35	106,18 ± 1,00
Fibroblasten - Monolayer		
Kontrolle	100	-
UV-behandelt (90 mJ/cm ²)	70,74 ± 7,93	73,63 ± 1,04

Wie man der Tabelle 5-25 entnehmen kann, wurde auch in diesem Experiment die Viabilität der EpiDerm™ Hautmodelle durch die UV-Bestrahlung mit einer Intensität von 90 mJ/cm² nicht beeinflusst. Der Fibroblasten-Monolayer hingegen wurde durch diese Bestrahlung geschädigt. Die Viabilität sank hier auf ca. 70% im Vergleich zur Kontrolle. Die Kultivierung mit dem wirkstoffdotierten TDDS hatte jedoch keinen weiteren negativen Einfluss auf die Viabilität der Fibroblasten. Eine Beeinflussung der Zellviabilität durch die Kultivierung mit TDDSs auf beide Zelltypen und somit der Produktion von IL-6 durch das transdermale System konnte somit ausgeschlossen werden.

Wie zuvor beschrieben, konnte für die Kultivierung des EpiDerm™ Hautmodells alleine keine IL-6 Produktion bestimmt werden. Wie in Tabelle 5-26 zu sehen, war auch die Bildung von IL-6 der Fibroblasten alleine niedrig. Ohne eine Induktion durch UV-Bestrahlung lag auch bei dem Monolayer primärer humaner Fibroblasten die IL-6 Produktion unterhalb der Nachweis-

grenze. Nur durch die Co – Kultivierung der beiden Zelltypen konnte ein deutliches Signal gemessen werden. Die Interaktion der Fibroblasten und der Keratinozyten im Hautmodell bedingte also die IL-6 Produktion.

Tabelle 5-26 IL-6 Produktion in pg/mL nach einer 24stündigen Kultivierung ohne UV-Bestrahlung (Kontrolle) und nach UV-Bestrahlung (90 mJ/cm²)

	Fibroblasten-Monolayer	EpiDerm™	Co - Kultivierung
Kontrolle	0	0	303,3 ± 8,4
UV-behandelt (90 mJ/cm ²)	109,7 ± 22,3	0	1534,8 ± 177,6

Durch die Applikation eines mit Magnolien Extrakt dotierten TDDS während der Co – Kultivierung von Keratinozyten (im EpiDerm™ Hautmodell) und Fibroblasten (in Monolayerkultur) konnte die IL-6 Produktion nach UV-Bestrahlung (90 mJ/cm²) signifikant gesenkt werden ($p=0,039$). Die IL-6 Produktion während der Co – Kultivierung mit und ohne TDDS 24 Stunden nach UV-Bestrahlung ist in Abbildung 5-31 zusammengefasst.

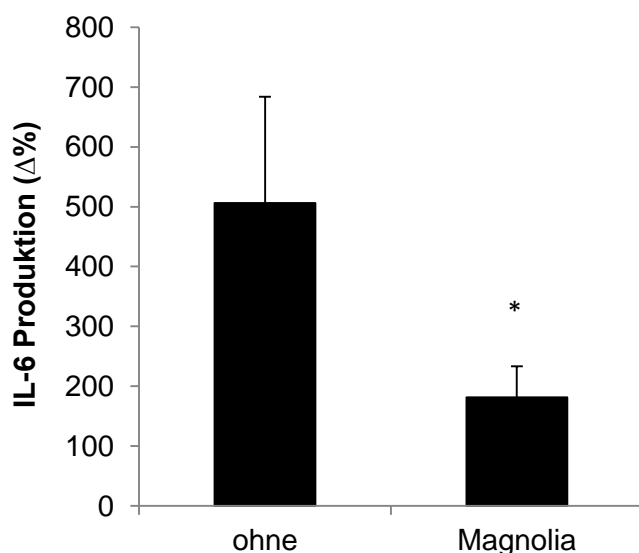


Abbildung 5-31 Effekt von Magnolia (Magnolol und Honokiol) auf die IL-6 Produktion humaner Keratinozyten im EpiDerm™ Hautmodell in Co-Kultivierung mit humanen Fibroblasten in % Erhöhung der IL-6 Produktion der nicht bestrahlten Kontrolle (Kontrolle entspricht 100%) 24 Stunden nach UV-Bestrahlung mit 90 mJ/cm²

Die IL-6 Produktion konnte durch die topische Applikation des Magnolien Extraktes in Form von auf Polyvinylalkohol basierten TDDSs um 55,7% ± 11,9% reduziert werden.

Die hohe Streuung in den Werten ist durch die starke Varianz der unterschiedlichen Spender der Fibroblasten begründet.

Auch für die Co - Kultivierung des EpiDerm™ Hautmodells mit einem Fibroblasten-Monolayer lag das TNF – α Signal des ELISAs unterhalb des niedrigsten Standards und war somit nicht messbar.

5.7.2 Aufhellende Wirkstoffe

Rucinol hemmt die Melaninsynthese in der Epidermis und besitzt somit eine hautaufhellende Wirkung (s. 2.2.2). Es galt nun zu überprüfen, ob ein topisch appliziertes mit Rucinol dotiertes Pflaster genügend Wirkstoff an die Epidermis abgegeben kann, um eine signifikante Hautaufhellung zu erzielen.

Um die hautaufhellende Wirkung rucinoldotierter transdermaler Systeme nachzuweisen, wurden verschiedene Versuche mit dem Hautmodell MelanoDerm™ durchgeführt (s. 3.5.7). Die Ergebnisse aus diesen Experimenten sind im Folgenden dargestellt.

Das Hautmodell MelanoDerm™ wurde für den Wirksamkeitsnachweis der mit Rucinol dotierten transdermalen Systeme über einen Zeitraum von 14 Tage kultiviert. Zum Beginn der Kultivierung waren die MelanoDerm™ Modelle farblos. Erst über die Kultivierungsdauer wurde von den Melanozyten in den Modellen Melanin gebildet, was zu einer Pigmentierung führte. Um die Intensität der Pigmentierung beurteilen zu können, wurden vor der Kultivierung jeweils drei Totkontrollen angefertigt. Anschließend wurden Modelle ohne Behandlung, mit Placebo oder mit 0,06% Rucinol dotierten Pflastern kultiviert.

Die Intensität der Pigmentierung nach 14 Tagen Kultivierung ist in Abbildung 5-32 zu sehen.



Abbildung 5-32 Pigmentierung des MelanoDerm™ Hautmodells nach 14 Tagen Kultivierung und unterschiedlicher Behandlung (Placebo, 0,06% Rucinol TDDS, ohne Behandlung, Totkontrolle) über die Kultivierungsdauer

Abbildung 5-32 zeigt die unterschiedliche Pigmentierung der mit verschiedenen auf PIB basierten transdermalen Systemen (Placebo oder rucinoldotiert) oder ohne Pflaster kultivierten

Hautmodelle (Kontrolle), sowie die Totkontrolle. Die mit Rucinol dotierten TDDSs kultivierten Hautmodelle zeigten nach 14 Tagen eine deutlich niedrigere Pigmentierung als die Kontrolle. Die Kultivierung mit Placebo hingegen zeigte kaum einen Einfluss auf die Intensität der Pigmentierung. Um dieses rein optische Ergebnis zu quantifizieren, wurden aus Bildern der Hautmodelle Grauwerte (s. 3.5.9) bestimmt sowie die Melaninkonzentrationen (s. 3.5.8) im Gewebe der Modelle nach 14 Tagen Kultivierung bestimmt. Daraus konnte die Inhibierung der Melanin-Produktion durch die transdermalen Systeme berechnet werden. In Abbildung 5-33 sind die ermittelten Melanininhibitionen in den Hautmodellen nach 14 Tagen Kultivierung zusammengefasst. Außerdem wurde die Beeinflussung der Pflaster auf die Viabilität des MelanoDerm™ Modells untersucht. Auch eine toxische Wirkung der transdermalen Systeme auf die Melanozyten wurde zu einer Reduzierung der Melanin-Produktion und des Grauwertes in diesem Versuchsaufbau führen.

Versuche mit drei verschiedenen Chargen MelanoDerm™ wurden durchgeführt, die in Abbildung 5-33 dargestellten Werte repräsentieren Mittelwerte aus diesen drei unabhängigen Experimenten. Die dargestellten Signifikanzen wurden mittels T-Test für unabhängige Stichproben bestimmt (Placebo vs. Rucinol).

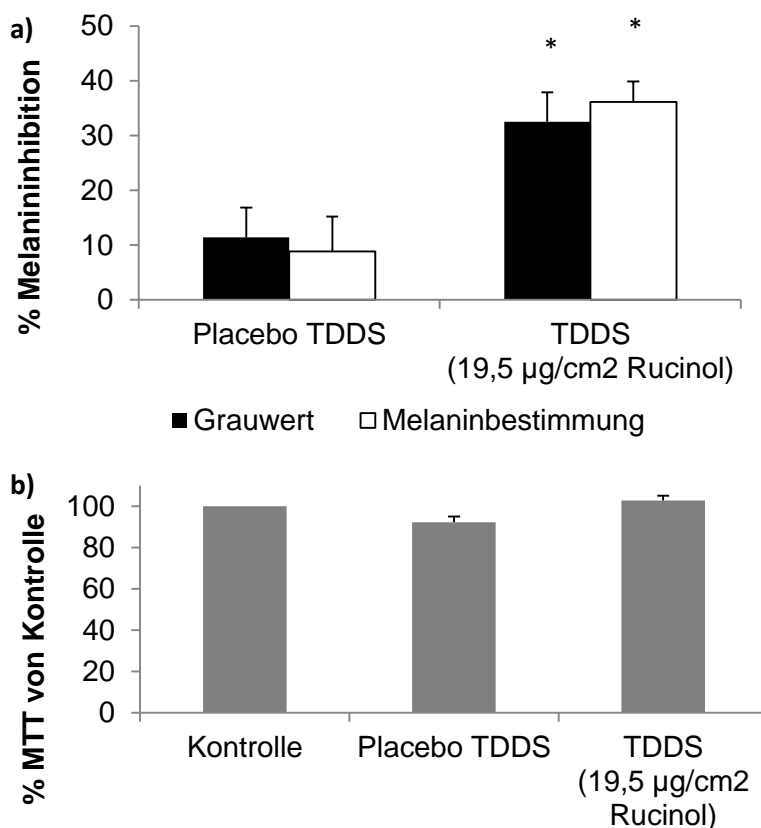


Abbildung 5-33 Effekt von Rucinol appliziert in Form eines wirkstoffdotierten Pflasters auf PIB-Basis a) auf die Melaninproduktion humaner Melanozyten im MelanoDerm™ Hautmodell ermittelt über den Grauwert (schwarz) und den Melaningehalt (weiß), b) auf die Viabilität humaner Melanozyten und Keratinozyten im MelanoDerm™ Hautmodell (grau)

Die Viabilität der Modelle wurde durch die Kultivierung mit transdermalen Systemen nicht beeinflusst. Eine Beeinflussung der Melanin-Produktion durch die Viabilität der Zellen konnte somit ausgeschlossen werden. Man sah eine signifikante Inhibition der Melanin-Produktion durch die Rucinol Patches im Vergleich zur Kultivierung mit Placebo ($p=0,024$). Durch die Applikation eines mit 0,06% Rucinol dotierten Pflaster konnte die Melaninbildung im Hautmodell MelanoDerm™ ca. 35% reduziert (32% aus Grauwert, 35% aus Melaninbestimmung) werden. Die aus den beiden Bestimmungsmethoden gewonnenen Daten bestätigten sich also. Die Wirkung des topisch applizierten, mit Rucinol dotierten transdermalen Systems konnte somit nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse aus diesen Experimenten sind im Folgenden zusammengefasst. Es wurden Kultivierungen mit 0,15%, 0,1% und 0,06% Rucinol dotierten Pflastern durchgeführt.

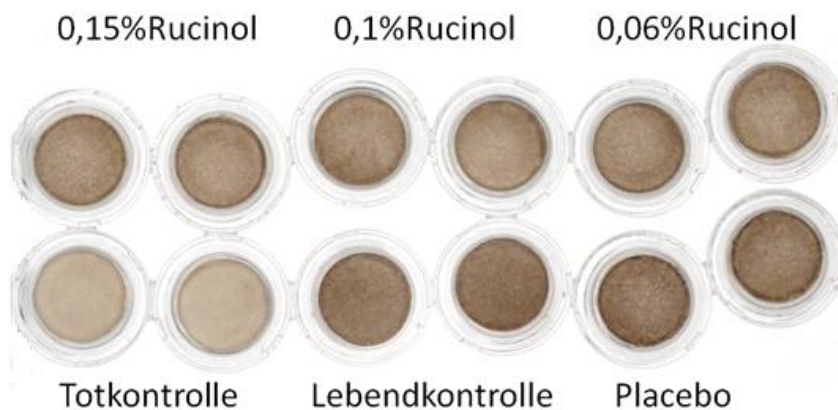


Abbildung 5-34 Pigmentierung des MelanoDerm™ Hautmodells nach 14 Tagen Kultivierung und unterschiedlicher Behandlung (0,15% Rucinol TDDS, 0,1% Rucinol TDDS, 0,06% Rucinol TDDS, Placebo, ohne Behandlung, Totkontrolle) über die Kultivierungsdauer

Durch den Einsatz höherer Rucinolkonzentrationen als zuvor (0,06%) konnten leicht stärkere Aufhellungen der MelanoDerm™ Hautmodelle beobachtet werden. Die Quantifizierung dieses optischen Eindruckes durch die Bestimmung der Melanininhibition über den Grauwert und den Melanin Gehalt des Gewebes sowie die Viabilität der Modelle nach 14 Tagen Kultivierung sind in Abbildung 5-35 dargestellt.

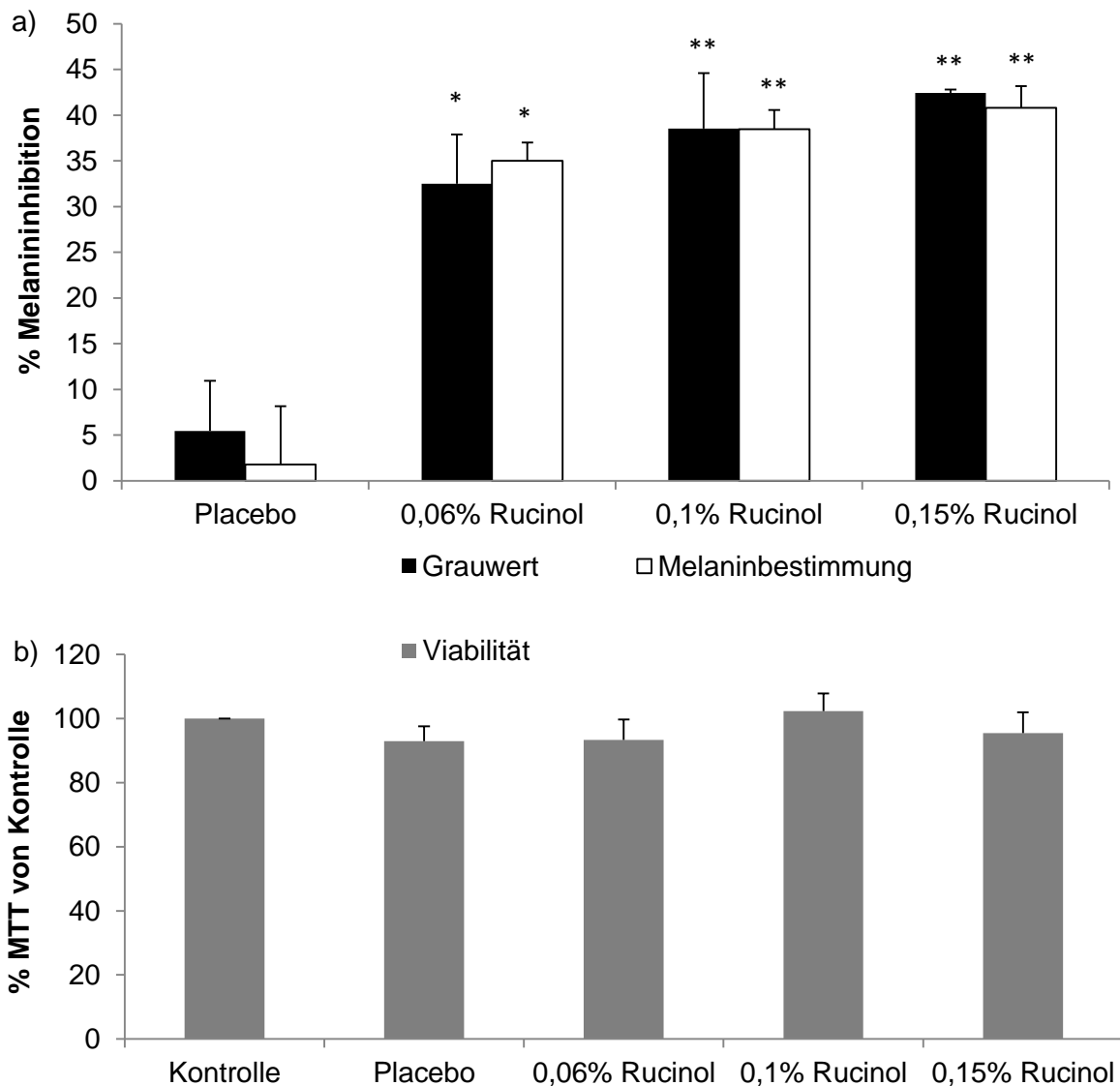


Abbildung 5-35 Effekt von Rucinol appliziert in Form wirkstoffdotierten Pflastern auf PIB-Basis (0,06% Rucinol, 0,1% Rucinol, 0,15% Rucinol) und einer wirkstofffreien PIB-Matrix a) auf die Melaninproduktion humaner Melanozyten im MelanoDerm™ Hautmodell ermittelt über den Grauwert (schwarz) und den Melaningehalt (weiß), b) auf die Viabilität humaner Melanozyten und Keratinozyten im MelanoDerm™ Hautmodell (grau)

Auch die beiden höher konzentrierten Rucinol Pflaster hatten keinen Einfluss auf die Viabilität der Hautmodelle. Eine Beeinflussung der Melanin-Produktion durch die Viabilität der Zellen konnte somit erneut ausgeschlossen werden. Über diese Methode sah man keinen signifikanten Unterschied in der Wirkung der verschiedenen Konzentrationen von Rucinol in den transdermalen Pflastersystemen. Die über den Grauwert ermittelten Melanininhibitionen stiegen von 32% (0,06% Rucinol) über 38% (0,1% Rucinol) auf 42% (0,15% Rucinol) an.

6 Diskussion

Dieses Kapitel greift die in Kapitel 4 dargestellten Ergebnisse auf und stellt verschiedene Aspekte dieser Daten unter Einbeziehung verfügbarer Literatur einander gegenüber.

Die verschiedenen in Kapitel 1 vorgestellten Modelle zur Beschreibung der Permeation von Wirkstoffmolekülen durch Haut werden anhand der experimentellen Daten dieser Arbeit diskutiert. Darüber hinaus wird auf den Einfluss verschiedener Klebmassen auf die Freisetzung aus transdermalen Systemen eingegangen und die Freisetzungsdaten mit unterschiedlichen Eigenschaften der Klebmassen korreliert. Außerdem wird die Eignung von Humanhautmodellen wie EpiDerm™ und MelanoDerm™ für perkutane Absorptionsstudien diskutiert.

6.1 Diffusion durch die Hautbarriere – theoretische Modelle aus der Literatur

Es gibt verschiedene in der Literatur beschriebene Modelle, um den Permeabilitätskoeffizienten eines Wirkstoffes in Haut anhand seiner physikochemischen Eigenschaften zu beschreiben. Im Folgenden werden die experimentell in perkutanen Absorptionsstudien ermittelten Permeabilitätskoeffizienten mit berechneten Daten verglichen. Es wurden dabei Modelle von Potts und Guy (1992) [41] sowie von Hinz et al. (1991) [40] verwendet.

Potts und Guy (1992)[41]

Das Modell von Potts und Guy beschreibt den Permeabilitätskoeffizienten eines Moleküls durch humane Haut bis in die Rezeptorphase anhand des log P Wertes und des Molekulargewichts der Substanz (s. 2.3.3) wie in Gleichung (25.) zu sehen. Mit steigendem Oktanol / Wasserverteilungskoeffizienten und steigendem Molekulargewicht nimmt nach diesem Modell also der Permeabilitätskoeffizient K_p eines Moleküls auf Humanhaut zu.

$$\log K_p \left(\frac{\text{cm}}{\text{s}} \right) = - 6,3 + 0,71 \log P - 0,0061 MW \quad (25.)$$

Die in dieser Arbeit bestimmten Permeabilitätskoeffizienten durch Schweinehaut sind in Abbildung 6-1 gegen den log P Wert der Moleküle aufgetragen. Neben den experimentellen Daten sind ebenfalls die über das Modell von Potts und Guy [41] berechneten Koeffizienten für die jeweiligen Wirkstoffe in dieser Abbildung zu sehen. Außerdem wurden experimentelle Werte und mit dem Modell von Potts und Guy bestimmte Werte aus der Veröffentlichung von Cross et al. (2003) [43] mit in dem Diagramm dargestellt. Cross et al. (2003) [43] vergleichen ebenfalls experimentell ermittelte Permeabilitätskoeffizienten mit berechneten Werten nach Potts und Guy.

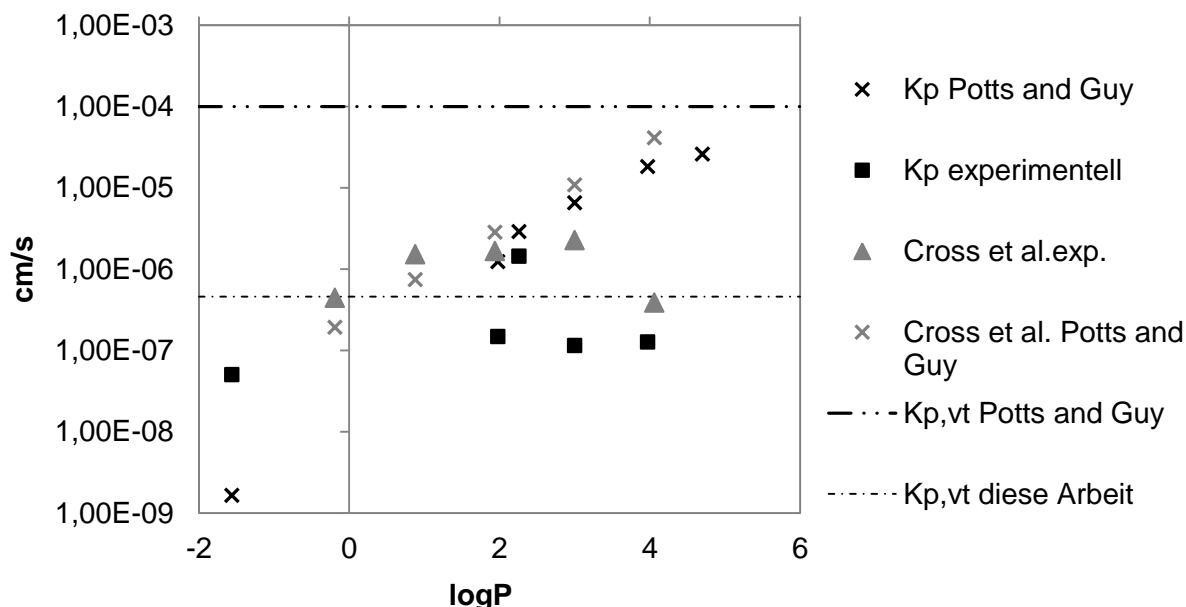


Abbildung 6-1 experimentell ermittelte Permeabilitätskoeffizienten K_p in cm/s aus dieser Arbeit und Cross et al. (2003) im Vergleich zu über das Modell von Potts und Guy berechneten Permeabilitätskoeffizienten aufgetragen gegen der log P Wert der Wirkstoffe

Anders als die mithilfe des Modells berechneten Daten stiegen die experimentell ermittelten Permeabilitätskoeffizienten sowohl in dieser Arbeit als auch bei Cross et al (2003) [43] nicht kontinuierlich mit steigendem log P-Wert der Wirkstoffe an. Die Koeffizienten stagnierten etwa bei einem log P-Wert von 3. Im Modell von Potts und Guy wird eine Limitierung der Permeabilitätskoeffizienten ab einem bestimmten log P Wert und Molekulargewicht mit berücksichtigt. Es wird dabei davon ausgegangen, dass bei hohen Oktanol / Wasserverteilungskoeffizient und einem großen Molekulargewicht die Permeation durch Haut (K_p) von den vitalen Schichten dieser ($K_{p,vt}$) nach oben hin limitiert wird.

$$K_{p,vt}^{-1} \gg K_p^{-1} \quad (26.)$$

$$\log K_{vt}^{-1} \gg 6,3 - 0,71 \log P + 0,0061 MW \quad (27.)$$

Potts und Guy wählten für die Beschreibung dieses Effektes eine empirische obere Grenze des Permeabilitätskoeffizienten von $K_{p,vt} = 10^{-4}$ cm/s. Für diese Grenze würden die Wirkstoffe aus dieser Arbeit sowie die bei Cross et al. untersuchten Substanzen jedoch keiner Limitierung in der Permeabilität unterliegen. Die in Abbildung 6-1 dargestellten experimentellen Daten konnten also nicht durch diesen empirischen Ansatz vorhergesagt werden. Nimmt man jedoch als $K_{p,vt}$ einen neuen empirischen Wert von $4,6 \cdot 10^{-7}$ cm/s an kann das dargestellte Verhalten durch das Modell von Potts und Guy und dieser neuen Obergrenze für die Permeation beschrieben werden.

Ab einem log P Wert von über 5 konnten jedoch noch deutlich niedrigere Permeabilitätskoeffizienten gemessen werden. Ein solches Verhalten für sehr lipophile Wirkstoffe wurde auch

von Funke et al. (2002) [88] beobachtet. Hier wurde der Wirkstofffluss von zwei Antiöstrogenen ($\log P = 5,82$; $\log P = 7,8$) in Mäusehaut untersucht. Das deutlich lipophilere Antiöstrogen besaß dabei den deutlich niedrigeren Wirkstofffluss durch die Haut.

Das Modell von Potts und Guy liefert somit eine gute Abschätzung der Größenordnung eines Permeabilitätskoeffizienten, eine genaue Vorhersage ist jedoch mit diesem einfachen Modell nicht möglich. Für die Beschreibung der Permeation von sehr lipophilen Wirkstoffen in Haut eignet es sich nicht.

Hinz et al. (1991) [40]

Permeabilitätskoeffizienten durch humane Epidermis werden über das Modell von Hinz et al. [40] ausschließlich über den Oktanol / Wasserverteilungskoeffizienten einer Substanz, wie in Gleichung (28.) zu sehen, beschrieben.

$$\log K_P \left[\frac{\text{cm}}{\text{h}} \right] = -5,18 (\pm 0,4) + 2,39 (\pm 0,35) \cdot \log P - 0,36 (\pm 0,07) \cdot (\log P)^2 \quad (28.)$$

Die in dieser Arbeit bestimmten Permeabilitätskoeffizienten durch die Epidermis von Schweinehaut sind in Abbildung 6-2 gegen den $\log P$ Wert der Moleküle aufgetragen. Neben den experimentellen Daten sind ebenfalls die über das Modell von Hinz et al. [40] berechneten Koeffizienten für die jeweiligen Wirkstoffe in dieser Abbildung dargestellt.

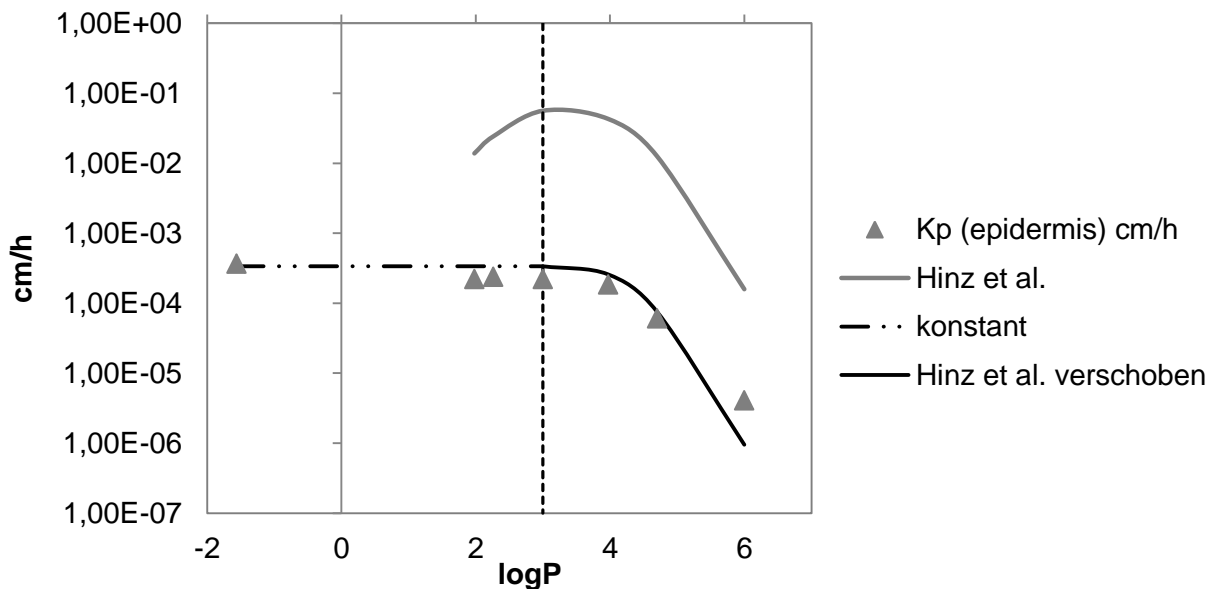


Abbildung 6-2 experimentell ermittelte Permeabilitätskoeffizienten K_P in cm/h im Vergleich zu über das Modell von Hinz et al. berechneten Permeabilitätskoeffizienten aufgetragen gegen den $\log P$ Wert der Wirkstoffe

Der Verlauf der experimentellen Daten wird von dem Modell von Hinz et al. ab einem log P-Wert von 3 beschrieben, jedoch ca. um den Faktor 100 nach unten verschoben. Für log P-Werte kleiner 3 konnte ein konstanter Verlauf des Permeabilitätskoeffizienten beobachtet werden. Die Gleichung von Hinz et al. [40] stützt sich auf Untersuchungen mit Humanhaut. Dabei wurde nur die Permeation durch die Epidermis betrachtet. Für Studien mit humaner Epidermis wird diese vor den perkutanen Absorptionsstudien durch Hitzeseparation oder durch die Verwendung eines Dermatoms von der Dermis getrennt. Durch diese Separationsverfahren kann es zu Beeinträchtigung der Barriereigenschaften der Epidermis kommen. In dieser Arbeit wurde die Epidermis für eine getrennte Betrachtung jedoch erst nach den perkutanen Absorptionsstudien von der Dermis getrennt. Dies könnte die niedrigeren Permeabilitätskoeffizienten im Vergleich zum Modell von Hinz et al. [40] bedingen. Darüber hinaus besitzt Schweinehaut, die in dieser Arbeit verwendet wurde, leicht höhere Barriereigenschaften als humane Haut und die Gleichung von Hinz et al. gilt für Humanhaut. Der Verlauf der experimentellen Daten wird jedoch wiedergegeben. Auch das Absinken der Permeabilität der Haut gegenüber Wirkstoffen mit sehr hohem log P – Wert wird von diesem Modell anders als bei Potts und Guy abgebildet.

$$\log K_P \left[\frac{\text{cm}}{\text{h}} \right] = -0,03 + 0,014 \cdot \log P - 0,00216 \cdot (\log P)^2 \quad (29.)$$

mit $\log P \geq 3$

Das verschobene Modell von Hinz et al. (s. Gleichung (29.)) liefert somit eine gute Abschätzung der Größenordnung eines Permeabilitätskoeffizienten eines Moleküls auf Schweinehaut über das lipophile Spektrum ab einem Oktanol / Wasserverteilungskoeffizienten von drei. Für den Bereich $\log P < 3$ zeigte sich ein konstanter Verlauf des Permeabilitätskoeffizientens.

6.2 Diffusionskoeffizienten im Stratum corneum

Die in dieser Arbeit bestimmten Diffusionskoeffizienten für Wirkstoffe im Stratum corneum von Schweinehaut werden im Folgenden mit in der Literatur beschriebenen Daten für die Diffusion im Stratum corneum verglichen. Tabelle 6-1 fasst Daten aus der Literatur sowie die Daten dieser Arbeit zusammen.

Die durch Tape Stripping gemessenen Diffusionskoeffizienten im Stratum corneum von Schweinehaut liegen in der gleichen Größenordnung wie die von Alberti et al. (2001) [83] für humanes Stratum corneum in vivo bestimmte Daten. Diffusionskoeffizienten, die für Epidermis (Khalil et al. [89] und Cornelissen et al. [90]) ermittelt wurden, waren bis zu fünf Zehnerpotenzen größer als Diffusionskoeffizienten im porzinem Stratum corneum. Die Daten, die

aus Versuchen mit Stratum corneum von Rattenhaut (Yamaguchi [91], Ishii [4] und Sugibayashi [92]) ermittelt wurden, waren im Vergleich dazu um eine bis zwei Zehnerpotenzen größer. Rattenhaut wird als deutlich durchlässiger gegenüber Wirkstoffen als Schweinehaut beschrieben, was durch diese Messungen bestätigt wurde. Yamaguchi et al. (2007) [91] bestimmte ebenfalls Diffusionskoeffizienten von Salicylsäure und Ibuprofen. Yamaguchi maß einen größeren Koeffizienten für Ibuprofen als für Salicylsäure. In dieser Arbeit wurde jedoch ein größerer Diffusionskoeffizient für Salicylsäure als für Ibuprofen beobachtet.

Tabelle 6-1 Diffusionskoeffizienten von Wirkstoffen in Haut aus der Literatur und dieser Arbeit (SC: Stratum corneum)

Molekül	Hauttyp	Diffusionskoeffizient	Temperatur	Referenz
Terbinafine	Humanhaut (SC)	$3,5 \cdot 10^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$	In vivo	[83]
Glucose	Humane Epidermis	$7,5 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$	32°C	[89]
20kD dextran	Porzine Epidermis	$3,9 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$	-	[90]
Salicylsäure	Rattenhaut (SC)	$1,05 \cdot 10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$	37°C	[91]
Ibuprofen	Rattenhaut (SC)	$3,94 \cdot 10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$	37°C	[91]
Koffein	Rattenhaut (SC)	$2,78 \cdot 10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$	37°C	[91]
Triamcinelone acetone	Rattenhaut (SC)	$2,85 \cdot 10^{-15} \text{ m}^2/\text{s}$	32°C	[4]
Methylparaben	Rattenhaut (SC)	$9,38 \cdot 10^{-14} \text{ m}^2/\text{s}$	32°C	[92]
Paeonol	Schweinehaut (SC)	$2,85 \cdot 10^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$	25°C	diese Arbeit
Salicylsäure	Schweinehaut (SC)	$1,65 \cdot 10^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$	25°C	diese Arbeit
Rucinol	Schweinehaut (SC)	$1,70 \cdot 10^{-17} \text{ m}^2/\text{s}$	25°C	diese Arbeit
Ibuprofen	Schweinehaut (SC)	$5,06 \cdot 10^{-17} \text{ m}^2/\text{s}$	25°C	diese Arbeit
Bakuchiol	Schweinehaut (SC)	$3,18 \cdot 10^{-17} \text{ m}^2/\text{s}$	24°C	diese Arbeit

In den Diffusionskoeffizienten im porzinem Stratum corneum der verschiedenen in dieser Arbeit untersuchten Wirkstoffe wurde eine Reihenfolge von Paeonol > Salicylsäure > Ibuprofen > Bakuchiol > Rucinol beobachtet. Diese Reihenfolge der Diffusion folgte nicht der Reihenfolge der Molekulargewichte der Wirkstoffe (Salicylsäure < Paeonol = Rucinol < Ibuprofen < Bakuchiol). Die allgemeine Aussage, kleinere Moleküle penetrieren die Haut schneller als größere, traf demnach so nicht zu. Auch bei Yamaguchi et al. (2007) [91] folgte die Reihenfolge der Diffusionskoeffizienten (Ibuprofen > Koffein > Salicylsäure) nicht der Reihenfolge der Molekulargewichte (Koffein < Salicylsäure < Ibuprofen). Effekte oder Lipophilitäten schienen für die Diffusion im Stratum corneum eine größere Rolle zu spielen als das Molekulargewicht der Moleküle. Die in dieser Arbeit verwendeten Moleküle lagen in einem Moleku-

largewichtsbereich von 170 g/mol - 250 g/mol. In einem Bereich von 200 g/mol - 500 g/mol ist kaum eine Korrelation zwischen der Größe des Moleküls und seiner Penetrationsrate durch Haut zu beobachten [93, 94]. Dies konnte anhand der Daten dieser Arbeit und der Arbeit von Yamaguchi et al. [91] bestätigt werden.

6.3 Diffusionskoeffizienten in Klebmassen

Die in dieser Arbeit bestimmten Diffusionskoeffizienten für Wirkstoffe in unterschiedlichen Klebmassen werden im Folgenden mit in der Literatur beschriebenen Daten verglichen. Die Tabelle 6-2 fasst Diffusionskoeffizienten aus der Literatur und die in dieser Arbeit gemessene Werte zusammen.

Tabelle 6-2 Diffusionskoeffizienten von Wirkstoffen in Klebmassen aus der Literatur und dieser Arbeit

Molekül	Klebmasse	Diffusionskoeffizient [m^2/s]	Referenz
PGE ₁	2-Ethylhexylacrylat	$3 \cdot 10^{-13}$	[37]
Terpineol	Isooctylacrylat	$3,1 \cdot 10^{-12}$	[95]
Testosterone	Isooctylacrylat	$4,9 \cdot 10^{-13}$	
Fentanyl	Acrylat	$1,5 \cdot 10^{-13}$	[96]
	Silikon	$1,1 \cdot 10^{-12}$	
	PIB	$5,7 \cdot 10^{-14}$	
Isosorbiddinitrat	Butylacrylat	$9,9 \cdot 10^{-13}$	[97]
	SIS	$8,4 \cdot 10^{-13}$	
	Silikon	$6,8 \cdot 10^{-12}$	
Paeonol	SI	$4,4 \cdot 10^{-13}$	Diese Arbeit
	2-Ethylhexylacrylat	$2,2 \cdot 10^{-12}$	
	Silikon	$1,9 \cdot 10^{-11}$	
Bakuchiol	SI	$5,6 \cdot 10^{-14}$	Diese Arbeit

Die Diffusionskoeffizienten für Paeonol und Bakuchiol in einer Silikon-, einer Kautschuk- sowie einer Acrylatmatrix lagen in der gleichen Größenordnung wie bereits veröffentlichte Daten für Diffusionskoeffizienten von Wirkstoffen in Klebmassen. Es ergab sich für Paeonol eine Reihenfolge von Silikon > Acrylat > Kautschuk in den Diffusionskoeffizienten. Roy et al. (1996) [96] untersuchte ebenfalls den Diffusionskoeffizienten eines Wirkstoffes (Fentanyl) in drei verschiedenen Klebmassesystemen. Auch er beobachtete dabei den größten Diffusionskoeffizienten in der Silikonmatrix gefolgt von der Acrylatklebmasse und dem Kautschuk-

system. In Untersuchungen von Hatanaka et al. (1991) [97] konnte ebenfalls diese Reihenfolge in der Diffusion von Wirkstoffen in den drei verschiedenen Polymergruppen transdermaler Systeme beobachtet werden. Hatanaka et al. (1991) untersuchte die Diffusionskoeffizienten von Isosorbiddinitrat in einer Butylacrylat-, SIS- und Silikonklebmasse.

6.4 Einfluss der Pflastermatrix auf die perkutane Absorption

Wie unter 5.3 beschrieben beeinflussten die verschiedenen Klebmassen der transdermalen Systeme die perkutane Absorption der verschiedenen Wirkstoffe in unterschiedlicher Weise. Die festen Matrix-Systeme übten meist einen verlangsamenden Effekt auf die Freisetzungen von Wirkstoffen in die Schweinehaut aus.

Abbildung 6-3 fasst noch einmal die Unterschiede in der perkutanen Absorption nach 24 Stunden Applikation der Systeme im Vergleich zur Freisetzung aus einer Wirkstofflösung zusammen.

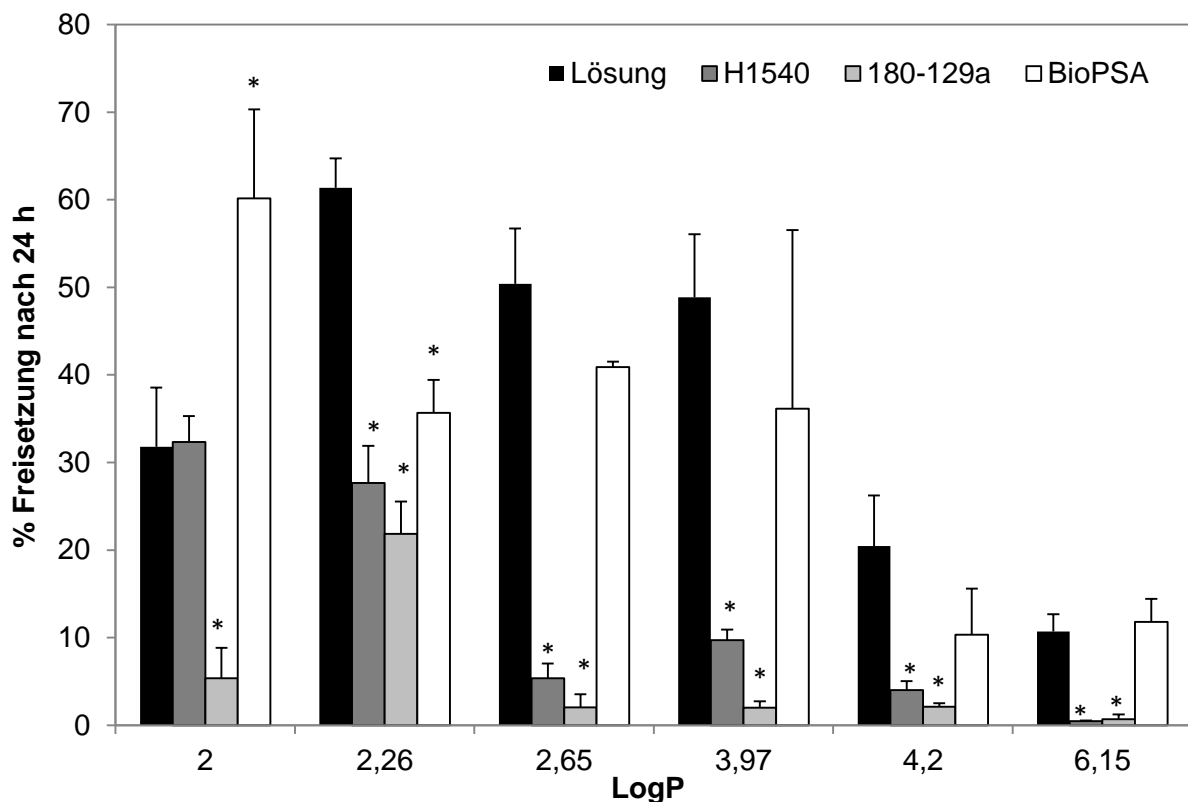


Abbildung 6-3 prozentuale Wirkstofffreisetzung aus unterschiedlichen Klebmasse-Systemen (Duro-Tak H1540, Duro-Tak 180-129A sowie BIO-PSA 7-4202) und einer Wirkstofflösung auf Schweinehaut nach 24 Stunden Applikation. Daten repräsentieren Mittelwerte (\pm Standardabweichung) aus drei unabhängigen Messungen. Signifikante Unterschiede zur Freisetzung aus der Lösung (mit * gekennzeichnet) wurden über eine ANOVA mit posthoc Turkey Test bestimmt.

Es konnten für die Acrylat- und Kautschukklebmassen Duro-Tak 180-129A und Duro-Tak H1540 signifikante Unterschiede zur perkutanen Absorption der verschiedenen Wirkstoffe aus einer Lösung beobachtet werden. Diese Systeme verlangsamten die Freisetzung in die Schweinehaut (mit Ausnahme des mit Paeonol dotierten Duro-Tak H1540 Musters) signifikant. Bei der Silikonklebmasse konnte nur für Salicylsäure ($\log P = 2,26$) ein retardierender Effekt auf die perkutane Absorption beobachtet werden. Für Paeonol ($\log P = 2$) zeigte sich eine Beschleunigung der Freisetzung durch die Einarbeitung in die Silikonmatrix BIO-PSA 7-4202.

Im Folgenden werden der Einfluss der Löslichkeit bzw. der Sättigung der Wirkstoffe in den transdermalen Systemen und der Einfluss des Diffusionskoeffizienten der Wirkstoffe in den Klebmassen und der Scherfestigkeit der Klebmassen auf Veränderungen der perkutanen Absorptionen diskutiert.

6.4.1 Rolle der Wirkstoffsättigung in der Klebmasse

Die treibende Kraft für die Diffusion wird meist zu einem Konzentrationsgradienten $\partial c/\partial x$ vereinfacht. Genau genommen handelt es sich jedoch um einen Gradienten des chemischen Potentials $\partial \mu/\partial x$. In diesem Zusammenhang wird häufig von der thermodynamischen Aktivität eines Wirkstoffes in einem transdermalen System gesprochen. Dies bedeutet, dass eine 1%, 5% und 10% - Einsatzkonzentration in einer Formulierung zu dem gleichen Wirkstofffluss führen können, wenn mit 1% Wirkstoff schon das Löslichkeitslimit des Moleküls in der Formulierung erreicht wurde. Ist ein Wirkstoff in unterschiedlichen Formulierungen unterschiedlich gut löslich, ändern sich dadurch die thermodynamische Aktivität des Wirkstoffes in der Formulierung und somit auch der Wirkstofffluss durch die Haut bei gleicher applizierter Konzentration des Wirkstoffes. Eine Übersättigung des Wirkstoffes in einem transdermalen System kann jedoch die perkutane Absorption stark erhöhen [22].

Unterschiede in perkutanen Absorptionsstudien mit unterschiedlichen Formulierungen und gleicher Einsatzkonzentration der Wirkstoffe lassen sich also über die Löslichkeit eines Moleküls im jeweiligen transdermalen System beschreiben. Für diese Arbeit wurde zur Bewertung des Einflusses der Wirkstoffsättigung in perkutanen Absorptionsstudien ein Sättigungsgrad S der verwendeten Wirkstoffe in den jeweiligen Klebmassen definiert:

$$S = \frac{\text{eingesetzte Konzentration in der Klebmasse}}{\text{Löslichkeit in der Klebmasse}} \quad (30.)$$

Die in Gleichung (30.) bestimmten Sättigungsgrade für die unterschiedlichen Wirkstoffe in den verschiedenen Klebmassen sind in Tabelle 6-3 zusammengefasst.

Die Klebmasse Duro-Tak 180-129A war während der perkutanen Absorptionsstudien für alle Wirkstoffe weit von einem gesättigten Zustand entfernt. Das Silikonsystem BIO-PSA 7-4202 hingegen lag während der Studien für alle Wirkstoffe außer Honokiol und Bakuchiol in einem leicht übersättigten Zustand vor.

Tabelle 6-3 Sättigungsgrad der verschiedenen Wirkstoffe in den unterschiedlichen Klebmassen während der perkutanen Absorptionsstudien

	Duro-Tak 180-129A	Duro-Tak H1540	BIO-PSA 7-4202
Paeonol	0,32	1,03	1,70
Salicylsäure	0,66	3,16	1,75
Rucinol	0,28	0,56	1,29
Ibuprofen	0,25	1,12	1,25
Honokiol	0,09	0,88	0,64
Licochalcone A	0,28	3,64	4,65
Bakuchiol	0,02	0,03	0,23

In Abbildung 6-4 ist der Sättigungsgrad gegen dem unter 5.3.3 definierten retardierenden Effekt einer Klebmasse auf die perkutane Absorption aufgetragen. Es sind Daten aus perkutanen Absorptionsstudien mit Paeonol, Rucinol, Bakuchiol, Honokiol und Ibuprofen in den drei Klebmassen BIO-PSA 7-4202, Duro-Tak 180-129A und Duro-Tak H1540 dargestellt.

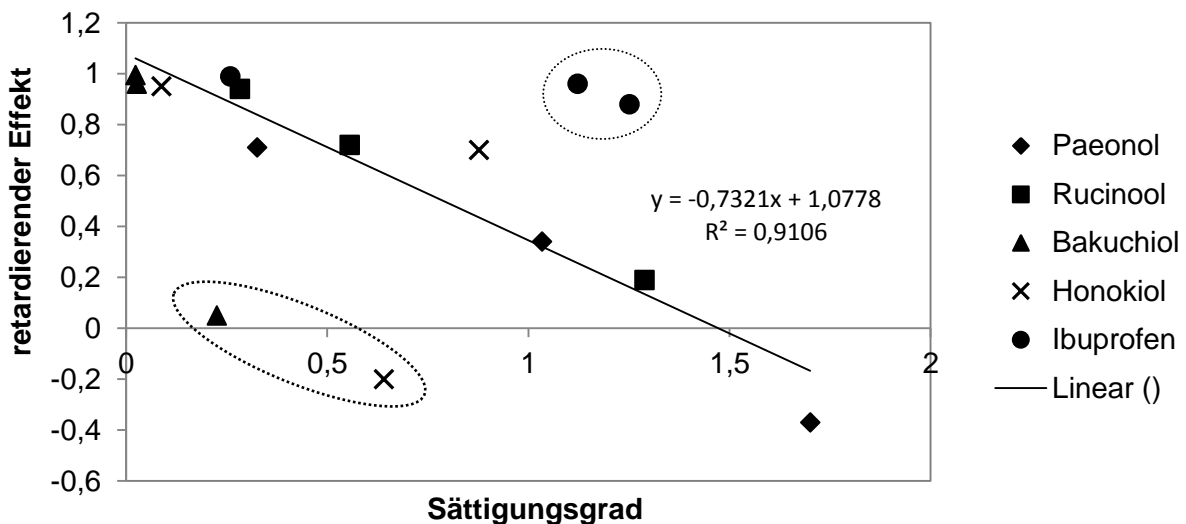


Abbildung 6-4 Sättigungsgrad der Wirkstoffe Paeonol, Rucinol, Bakuchiol, Honokiol und Ibuprofen aufgetragen gegen den retardierenden Effekt der Klebmassen auf die perkutane Absorption

Es ließ sich eine Korrelation zwischen dem Sättigungsgrad des Wirkstoffes in der jeweiligen Klebmasse und dem retardierendem Effekt der Matrix auf die perkutane Absorption beobachten. Durch die Vernachlässigung der vier Ausreißer (in Abbildung 6-4 durch gestrichelte Linie markiert) dieses Datensatzes ergab sich ein linearer Zusammenhang zwischen dem Sättigungsgrad eines Wirkstoffes in einer Klebmasse und dem retardierenden Effekt dieser Klebmasse auf die perkutane Absorption des Wirkstoffes auf Schweinehaut. Ab einer Übersättigung von ca. $S = 1,5$ wurde die perkutane Absorption beschleunigt. Bei den vier Ausreißern handelte es sich zum einem um Daten von Ibuprofen und Honokiol in der Silikon-Klebmasse BIO-PSA. Bei beiden Wirkstoffen wurde ein Auskristallisieren im Silikon während der Lagerung der TDDSs beobachtet (s. 5.3.1.). Für die Untersuchungen wurden nur optisch kristallfreie Muster verwendet. Jedoch ist nicht auszuschließen, dass der Kristallisationsprozess während der Messungen bereits begonnen hatte. Dies kann den deutlich höheren retardierenden Effekt der Silikon-Matrix auf die Freisetzung von Ibuprofen erklären. Honokiol hingegen zeigte einen deutlich niedrigeren retardierenden Effekt als erwartet. Dies könnte auf die Übersättigung in der Klebmasse zurück zu führen sein. Durch einen solchen instabilen Zustand kann die perkutane Absorption stark erhöht werden [22]. Bei den beiden weiteren Ausreißern handelte es sich um Daten aus den Messungen mit Ibuprofen in der Kautschuk-Matrix Duro-Tak H1540 und Bakuchiol im Silikon BIO-PSA. Der hohe retardierende Effekt der Klebmasse Duro-Tak H1540 auf die Freisetzung von Ibuprofen weist daraufhin, dass hier, wie im Silikonsystem, ein Auskristallisieren des Wirkstoffes begann. Es konnten optisch jedoch keine Kristalle wahrgenommen werden. Bei Bakuchiol handelte es sich um den einzigen flüssigen Wirkstoff unter den verwendeten Molekülen. Eventuell stellte daher das flüssige Referenzsystem (IPM und Decyloleat) nicht das Maximum der perkutanen Absorption dieses Wirkstoffes da.

Inoue et al. (2005) [98] beobachteten einen ähnlichen Effekt wie in Abbildung 6-4 dargestellt für die perkutane Absorption von Ketotifen. Bei der Einarbeitung dieses Wirkstoffes in ein Silikon (Q7-2920, Dow Corning) wurde eine Erhöhung des Wirkstoffflusses durch Mäusehaut um den Faktor 8,5 durch eine Übersättigung der transdermalen Systeme mit Ketotifen beobachtet.

Hatanaka et al. (1991) [97] konnten ebenfalls eine Abhängigkeit der perkutanen Absorption von der Wirkstofflöslichkeit in einer Klebmasse feststellen. Hier wurde die ISDN Freisetzung auf Rattenhaut gemessen. Es erfolgte dabei eine Einarbeitung des Wirkstoffes in Acrylat-, Kautschuk- und Silikonklebmassen und es konnte eine höhere perkutane Absorption von ISDN beobachtet werden, je niedriger die Löslichkeit des Wirkstoffes in der Matrix war.

Sato et al. (2001) [99] schlug vor, die Löslichkeit eines Wirkstoffes in einer Klebmasse für die Vorhersage von Freisetzungsraten aus PSA Tapes zu verwenden. Diese Aussage wurde auf Grundlage von Untersuchungen des Wirkstoffes 5-ISMN in Acrylat-Matrices entwickelt. Es

wurde dabei die Freisetzung von 5-ISMN in drei Acrylat-Klebmassen (Gelva 737, Gelva 1430 und Gelva 1753) auf Mäusehaut betrachtet. Die dotierten Pflaster enthielten dabei $500 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ Wirkstoff, was einem Wirkstoffgehalt von 25% (w/w) entsprach. Die Löslichkeit von 5-ISMN in den verschiedenen Systemen wurde aus DSC-Messungen bestimmt. In Tabelle 6-4 sind die von Sato et al. [95] veröffentlichten Löslichkeiten in den drei Klebmassen sowie die Freisetzung aus diesen auf Mäusehaut zusammengefasst. Außerdem wurden für die von Sato et al. [95] veröffentlichten Daten die Sättigungsgrade nach Gleichung (30.) bestimmt.

Tabelle 6-4 Löslichkeit und Freisetzung von 5-ISMN für drei unterschiedliche Acrylat-Klebmassen (Gelva 737, Gelva 1430 und Gelva 1753) aus der Veröffentlichung von Sato et al. (2001) [99] sowie der Sättigungsgrad in den Klebmassen wie in 5.4.1 beschrieben

	Gelva 737	Gelva 1430	Gelva 1753
Löslichkeit	$752 \mu\text{g}/\text{cm}^2$	$818 \mu\text{g}/\text{cm}^2$	$864 \mu\text{g}/\text{cm}^2$
Freisetzung nach 24 h	$850 \mu\text{g}/\text{cm}^2$	$650 \mu\text{g}/\text{cm}^2$	$630 \mu\text{g}/\text{cm}^2$
Sättigungsgrad	0,66	0,61	0,58

Alle drei von Sato et al. [95] untersuchten adhäsiven transdermalen Systeme waren untersättigt. Die Klebmasse mit dem höchsten Sättigungsgrad (Gelva 737) zeigte die Größte Freisetzung nach 24 Stunden. Somit bestätigen diese Daten die in dieser Arbeit gemessenen Zusammenhänge.

Bei Roy et al. (1996) [96] bestimmten Diffusionskoeffizient und Löslichkeit die Freisetzung eines Wirkstoffes aus unterschiedlichen Matrix-Systemen. Hier wurde die Freisetzung von Fentanyl aus unterschiedlichen Klebmassen (Silikon, Acrylat und Kautschuk basiert) auf Humanhaut untersucht. Die transdermalen adhäsiven Systeme enthielten 2% (w/w) Wirkstoff. In Tabelle 6-5 sind die von Roy et al. [92] veröffentlichten Löslichkeiten von Fentanyl in den verwendeten Klebmassen sowie der Wirkstofffluss im Gleichgewicht durch Humanhaut aus diesen zusammengefasst. Außerdem wurde der Sättigungsgrad nach Gleichung (30.) für diese Systeme berechnet.

Tabelle 6-5 Löslichkeit und Freisetzung von Fentanyl für vier unterschiedliche Klebmassen aus der Veröffentlichung von Roy et al. (1996) [99] sowie der Sättigungsgrad in den Klebmassen wie in 5.4.1 beschrieben

	PIB	Acrylat	Silikon 2675	Silikon 2920
Löslichkeit [g/L]	0,8	21,9	20	1,9
Jss [$\mu\text{g}/(\text{cm}^2\text{h})$]	3,1	0,9	1,1	6,3
Sättigungsgrad	22,5	0,82	0,9	9,5

Zwei der von Roy et al. verwendeten transdermalen Systeme waren stark mit Fentanyl übersättigt. Diese beiden Systeme zeigten den größten Wirkstofffluss auf Humanhaut. Somit bestätigen diese Daten erneut die in dieser Arbeit gemessenen Zusammenhänge.

Die perkutane Absorption ist demnach von der Wirkstofflöslichkeit bzw. des Sättigungsgrades in der jeweiligen Klebmasse abhängig. Der Diffusionsdruck ist entscheidend für die Geschwindigkeit der perkutanen Absorption.

6.4.2 Rolle des Diffusionskoeffizienten in der Klebmasse

Der Diffusionskoeffizient von Paeonol in Duro-Tak 180-129A ist signifikant höher als in Duro-Tak H1540, die perkutane Absorption von Paeonol aus dem System Duro-Tak H1540 ist jedoch größer als aus Duro-Tak 180-129A. In Tabelle 6-6 sind noch einmal die verschiedenen Diffusionskoeffizienten von Paeonol in Klebmassen sowie deren retardierender Effekt auf die perkutane Absorption zusammengefasst.

Tabelle 6-6 Diffusionskoeffizient von Paeonol in Duro-Tak H1540, Duro-Tak 180-129A und BIO-PSA 7-4202 sowie der retardierende Effekt der Klebmassen auf die perkutane Absorption

Paeonol	Duro-Tak H1540	Duro-Tak 180-129A	BIO-PSA 7-4202
Diffusionskoeffizient	$4,4 \cdot 10^{-13} \text{ m}^2/\text{s}$	$2,07 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$	$1,86 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$
Retardierender Effekt	0,34	0,71	-0,37

Es konnte somit kein direkter Zusammenhang zwischen dem Diffusionskoeffizienten eines Wirkstoffes in einer Klebmasse und der perkutanen Absorption eines Wirkstoffes aus einer Klebmasse beobachtet werden. Der Sättigungsgrad (s. Gleichung 30.) ist demnach wichtiger für die Größe der perkutanen Absorption als der Diffusionskoeffizient in den jeweiligen Klebmassen. Roy et al. (1996) [96] untersuchten wie schon erwähnt die perkutane Absorption von Fentanyl auf Humanhaut aus unterschiedlichen transdermalen Systemen. Sie sahen bei dem TDDS mit dem höchsten Diffusionskoeffizient von Fentanyl in der Klebmasse des Systems die höchste perkutane Absorption. Die veröffentlichten Daten dazu sind in Tabelle 6-7 zusehen.

Tabelle 6-7 Diffusionskoeffizient von Fentanyl und Wirkstofffluss im Gleichgewicht aus Roy et al. [92]

	PIB	Acrylat	Silikon 2675	Silikon 2920
Diffusionskoeffizient [m^2/s]	$5,7 \cdot 10^{-10}$	$1,5 \cdot 10^{-9}$	$1,4 \cdot 10^{-9}$	$1,1 \cdot 10^{-8}$
Jss [$\mu\text{g}/(\text{cm}^2\text{h})$]	3,1	0,9	1,1	6,3

Auch hier konnte jedoch kein direkter Zusammenhang zwischen dem Diffusionskoeffizienten des Wirkstoffes in der jeweiligen Klebmasse und der perkutanen Absorption beobachtet werden.

6.4.3 Rolle der physikalischen / mechanischen Eigenschaften der Klebmasse

Neben dem Sättigungsgrad eines Wirkstoffes im jeweiligen transdermalen System können auch physikalische und mechanische Eigenschaften der Klebmassen einen Einfluss auf die perkutane Absorption eines Wirkstoffes nehmen. Dieser Einfluss wird im Folgenden anhand der Glasübergangstemperatur und der Scherfestigkeit der Klebmassen diskutiert.

Glasübergangstemperatur

Die Glasübergangstemperatur ist mit entscheidend für die Festigkeit bzw. Härte der Polymere einer Klebmasse. Dabei gilt: Je größer die Glasübergangstemperatur, desto härter ist die Klebmasse (s. 2.1.1). In dieser Arbeit wurde der Glasübergangsbereich T_g der verschiedenen Klebmassen mit Hilfe von rheologischen Messungen bestimmt (s. 5.3.2). Im Folgenden wird der Einfluss des T_g s auf den Diffusionskoeffizienten eines Wirkstoffes in einer Klebmasse sowie der Einfluss auf die perkutane Absorption diskutiert und mit Daten aus der Literatur verglichen.

In der Literatur wird der Einfluss unterschiedlicher Glasübergangstemperaturen von Klebmassen auf den Diffusionskoeffizient eines Wirkstoffes in einem transdermalen System über die WLF-Gleichung beschrieben (s. 2.3.3). Neben der Glasübergangstemperatur beinhaltet diese Gleichung einen Wert für die Affinität des Wirkstoffes zur Matrix.

$$\log D - a = -\frac{896,2}{51,6+(T-T_g)} \quad (31.)$$

Morimoto et al. 1992 [39] untersuchten die Diffusion von Dipropylphthalat, Lidocain, Ketoprofen und Aminopyrine in einer 2-Ethylacrylat Klebmasse und bestimmte daraus über die WLF-Gleichung Werte für die Affinität des jeweiligen Wirkstoffes zur Matrix. Diese Daten sind in Tabelle 6-8 zusammengefasst.

Tabelle 6-8 a-Werte aus der WLF-Gleichung für Dipropylphthalat, Lidocain, Ketoprofen und Aminopyrine in einem 2-Ethylacrylat aus Morimoto et al. (1992) [39]

	Dipropylphthalate	Lidocain	Ketoprofen	Aminopyrine
a - Wert	0,3733	-1,4067	0,1933	-0,2467

Die berechneten Werte für die Affinität zur Matrix eines transdermalen Systems lagen in einem Bereich von 0,4 bis -1,4. Innerhalb des Klebmassensystems aus 2-Ethylacrylat galt bei

Morimoto et al. (1992): je kleiner der a -Wert aus der WLF-Gleichung für die jeweiligen Wirkstoffe, desto höher die Interaktion der Wirkstoffe mit dem Matrixsystem. Morimoto et al. sahen außerdem einen Zusammenhang zwischen der Affinität eines Wirkstoffes zum 2-Ethylacrylat und dessen funktionellen Gruppen.

Taghizadeh et al. (2010) [100] sah einen Einfluss von unterschiedlichen funktionellen Gruppen von auf Acrylat basierenden Klebmassen auf die perkutane Absorption von Fentanyl. Acrylat-Klebmassen mit OH-Gruppen und ohne funktionelle Gruppen zeigten eine höhere perkutane Absorption als Matrixsysteme mit einer COOH-Gruppe. Subedi et al (2011) [101] sah einen ähnlichen Effekt einer COOH-Gruppe in Acrylatklebmassen. Der Wirkstofffluss durch Mäusehaut von Zolmitriptan wurde durch die Anwesenheit einer Carboxylgruppe in der Klebmasse stark verlangsamt im Vergleich zu Acrylaten ohne funktionelle Gruppe oder mit Hydroxygruppen. Auch bei Hai et al. (2008) [102] konnte dieses Verhalten für transdermale Systeme mit Benzotropin beobachtet werden.

Berechnet man nun aus den in dieser Arbeit gemessenen Diffusionskoeffizienten für Paeonol und Bakuchiol in den jeweiligen Klebmassen ebenfalls die Affinitäten, ergeben sich die in Tabelle 6-9 dargestellten Werte.

Tabelle 6-9 a-Wert aus der WLF-Gleichung für Paeonol und Bakuchiol in Duro-Tak H1540, Duro-Tak 180-129A und BIO-PSA 7-4202, T_g aus dynamischer Messung, $T=25^\circ\text{C}$

	SI (Duro-Tak H1540)	2-Ethylacrylat (Duro-Tak 180-129A)	Silikon (BIO-PSA 7-4202)
Paeonol	-0,65	-4,19	-5,66
Bakuchiol	-1,55	-	-

Bakuchiol besitzt demnach eine deutlich größere Affinität zu der Kautschukmatrix Duro-Tak H1540 als Paeonol. Beide Moleküle besitzen eine OH-Gruppe als funktionelle Gruppe, der Unterschied in der Affinität war hier also nicht über funktionelle Gruppen im Wirkstoffmolekül begründet sondern durch andere Effekte wie vermutlich die Lipophilie der Moleküle. Paeonol besaß die niedrigste Affinität zur Kautschukmatrix Duro-Tak H1540, gefolgt von dem Acrylatsystem Duro-Tak 180-129A und dem Silikonssystem. Eine Abhängigkeit der Affinität von unterschiedlichen funktionellen Gruppen in den Klebmassen wie bei Taghizadeh et al. [100], Subedi et al. [101] und Hai et al. [102] konnte auch in dieser Arbeit beobachtet werden. Die Affinität von Paeonol zur Klebmasse ohne funktionelle Gruppe (SI, Duro-Tak H1540) war geringer als die Affinität zur Acrylat-Matrix Duro-Tak 180-129A mit Carboxylgruppe. Die Affinität des Wirkstoffes zur Silikonklebmasse war am größten. Diese Beobachtung lässt sich über die Wechselwirkungen der funktionellen Gruppe von Paeonol und der Carboxylgruppe der Acrylat-Matrix sowie der Hydroxylgruppen der Silikonklebmasse (s. Abbildung 6-5) erklären. Über Wasserstoffbrückenbindungen und anderen Wechselwirkun-

gen ist die Affinität des Wirkstoffes Paeonol zu den Massen höher als bei einer Klebmasse ohne funktionelle Gruppen wie die auf SI basierte Matrix Duro-Tak H1540.

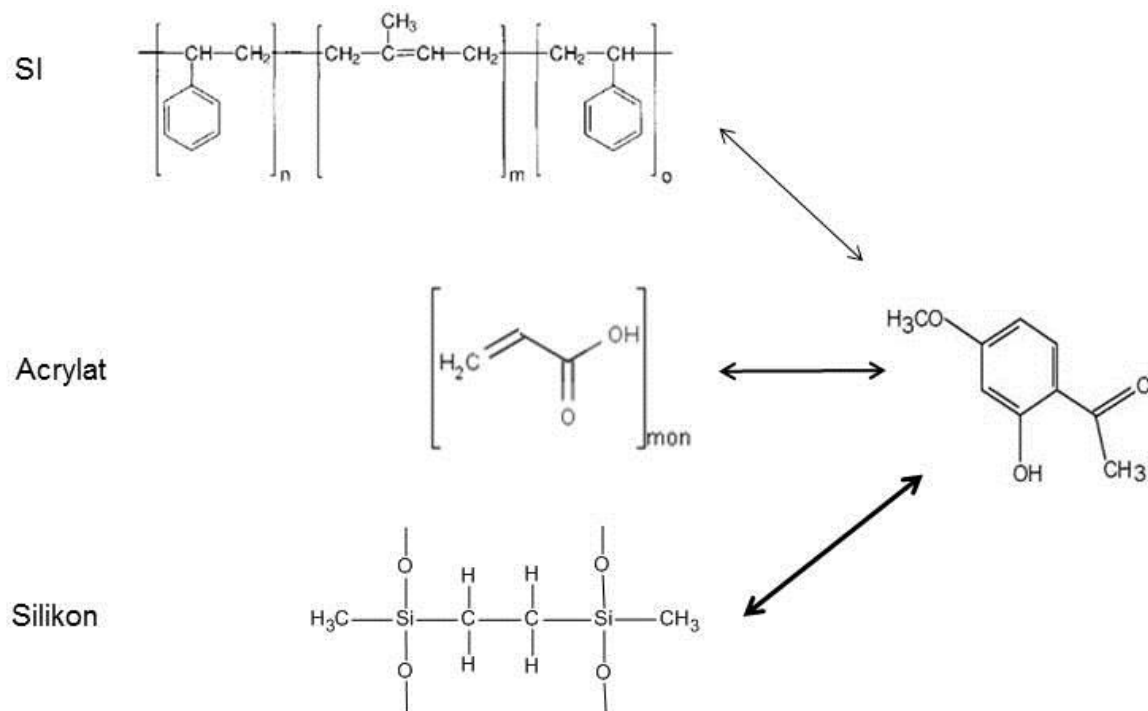


Abbildung 6-5 Wechselwirkung von Paeonol zu unterschiedlichen Klebmassen

Eine Korrelation der Affinität des Wirkstoffes zur jeweiligen Klebmasse des transdermalen Systems zu perkutanen Absorptionsdaten konnte nicht beobachtet werden. Beim Vergleich der drei unterschiedlichen Klebmassen miteinander wurde deutlich, dass die verschiedenen Glasübergangstemperaturen der Systeme wichtiger für die Schnelligkeit von Diffusionsprozessen in der Klebmasse waren als die Affinität der Wirkstoffe zur Matrix des transdermalen Systems. Der Einfluss auf die Diffusionskoeffizienten in der Klebmasse wird vom T_g dominiert. Dies wird in Abbildung 6-6 verdeutlicht. Die drei verschiedenen Zustände von Paeonol in den unterschiedlichen Klebmassen sind hier dargestellt.

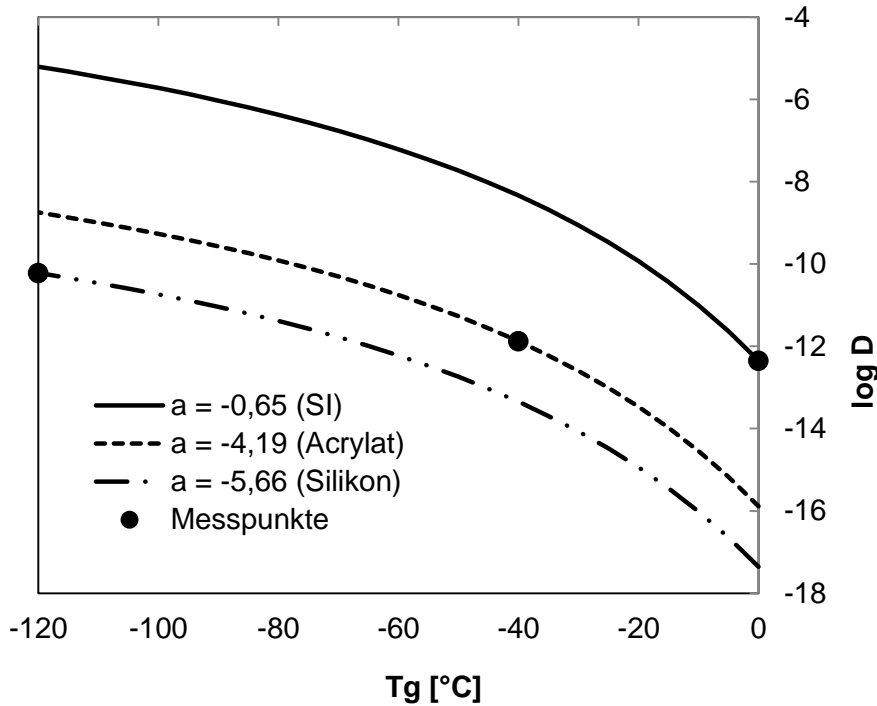


Abbildung 6-6 Abhängigkeit des Diffusionskoeffizienten eines Wirkstoffes in einer Klebmasse in Abhängigkeit der Glasübergangstemperatur nach der WLF-Gleichung ($a=0,65$: Paeonol in SI, $a=-1,55$: Paeonol in Acrylat, $a=-5,66$: Paeonol in Silikon).

Der Unterschied im T_g hat für diese drei Systeme den größeren Einfluss auf den Diffusionskoeffizienten in der Klebmasse als die Affinität des Wirkstoffes zur Klebmasse.

Die Diffusionskoeffizienten von Paeonol in IPM sowie in den drei Klebmassen sind zusammen mit deren Glasübergangstemperatur und Scherfestigkeit in Tabelle 6-10 zusammengefasst.

Tabelle 6-10 Diffusionskoeffizient von Paeonol in IPM, BIO-PSA 7-4202, Duro-Tak 180-129A, Duro-Tak H1540 sowie die Glasübergangstemperatur und die Scherfestigkeit der verschiedenen Klebmassen

	Diffusionskoeffizient [m ² /s]	T _g [°C]	Scherfestigkeit tan δ (ω=0,1 rad/s)
IPM	$3,46 \cdot 10^{-10}$	-	∞
BIO-PSA 7-4202	$1,86 \cdot 10^{-11}$	-120	1,21
Duro-Tak 180-129A	$2,07 \cdot 10^{-12}$	-43	0,83
Duro-Tak H1540	$4,4 \cdot 10^{-13}$	0	0,36

IPM hat kein T_g

Je weicher die Klebmasse war, desto schneller war die Wirkstoffdiffusion in der jeweiligen Matrix. Einen solchen Zusammenhang des Diffusionskoeffizienten von Wirkstoffen mit der Glasübergangstemperatur des transdermalen Systems wurde auch von Hatanaka et al (1991) [97] beobachtet. Je fester ein Material, desto langsamer ist die Diffusion in diesem Material.

Die Unterschiede in den Diffusionskoeffizienten von Paeonol in den Matrix-Systemen lassen sich für die drei verwendeten Systeme also über die verschiedenen Glasübergangstemperaturen der Klebmassen beschreiben. Wie schon zuvor in 6.4.2 diskutiert ließ sich jedoch kein direkter Zusammenhang zwischen der perkutanen Absorption von Paeonol und dem Diffusionskoeffizienten des Wirkstoffes in den jeweiligen Klebmassen beobachten. Der Sättigungsgrad scheint dabei die entscheidende Rolle zu spielen. Der Diffusionsdruck ist also ausschlaggebend für die Geschwindigkeit der perkutanen Absorption.

Scherfestigkeit

Die Scherfestigkeit einer Klebmasse alleine ist nicht nur von der Glasübergangstemperatur der Matrix abhängig, wie die Untersuchungen verschiedener Formulierungen auf PIB-Basis zeigten (s. 5.5). Alle fünf unterschiedlichen transdermalen Systeme besaßen dieselbe Glasübergangstemperatur, jedoch unterschiedliche Scherfestigkeiten. Im Folgenden wird der Einfluss dieser verschiedenen Scherfestigkeiten bei gleichem Tg auf die perkutane Absorption von Ibuprofen diskutiert.

Tabelle 6-11 Scherfestigkeit ($\tan \delta$ bei 25°C und 0,1 rad/s), Freisetzung nach 24 Stunden Applikation auf Schweinehaut verschiedener PIB-Formulierungen sowie Sättigungsgrad von Ibuprofen in diesen Formulierungen

	B12	B200
$\tan \delta$ bei 25°C und 0,1 rad/s]	6,46	0,26
Freisetzung nach 24 Stunden	17 ± 4	19 ± 3
Sättigungsgrad	2,1	2,3

Wie anhand von Tabelle 6-11 deutlich zu sehen ist, hatte die Scherfestigkeit der PIB-Matrix keinen Einfluss auf die perkutane Absorption des Wirkstoffes Ibuprofen. Die Formulierung B12 war mit einem $\tan \delta$ (bei 25°C und 0,1 rad/s) von 6,46 um ein Vielfaches weicher als die Formulierung B200 mit einem $\tan \delta$ von 0,26. Die Freisetzung der beiden Systeme war mit 17% und 19% nach 24 Stunden Applikation auf Schweinehaut jedoch identisch. Der Sättigungsgrad der Formulierungen war somit für die Höhe der perkutane Absorption wichtiger als die Scherfestigkeit des transdermalen Systems.

6.5 Geschwindigkeitsbestimmender Schritt

Die perkutane Absorption aus einem transdermalen System ist aus unterschiedlichen Diffusionsprozessen zusammengesetzt. Zunächst muss der Wirkstoff aus der Klebmasse in das Stratum corneum diffundieren, anschließend findet eine mehrlagige Diffusion in der Haut vom Stratum corneum in die vitalen Schichten Epidermis und Dermis bis in die Blutbahn statt, wie in Abbildung 6-7 dargestellt. Die perkutane Absorption kann dabei an unterschiedlichen Stellen durch die Diffusionsprozesse limitiert sein. Entweder liegt der geschwindigkeitsbestimmende Schritt für die Absorption des Wirkstoffes in der Diffusion in der Klebmasse des transdermalen Systems, im Übergang in die Haut und der Diffusion im Stratum corneum oder in einer Kombination aus beiden. Im Folgenden wird der geschwindigkeitsbestimmende Schritt für die perkutane Absorption aus den in dieser Arbeit verwendeten Systemen diskutiert und mit in der Literatur beschriebenen Daten verglichen.

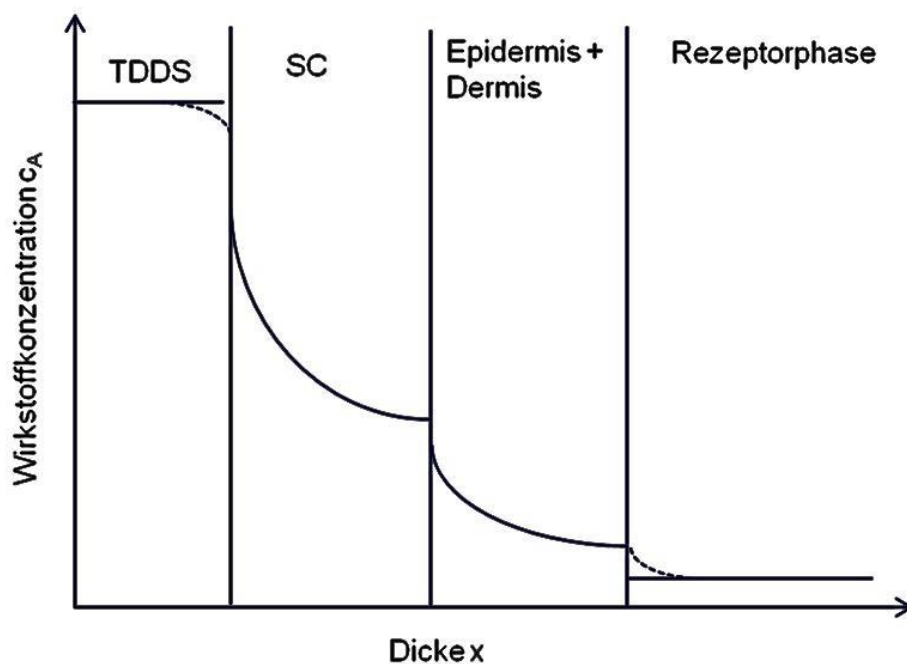


Abbildung 6-7 Diffusionsprozesse während der perkutanen Absorption

Die Diffusionskoeffizienten von Paeonol und Bakuchiol im Penetrationsbeschleuniger, in den Klebmassen sowie im Stratum corneum der Schweinehaut sind in Tabelle 6-12 zusammengefasst.

Tabelle 6-12 Diffusionskoeffizienten [m^2/s] von Paeonol und Bakuchiol in IPM, den Klebmassen BIO-PSA 7-4202, Duro-Tak 180-129A und Duro-Tak H1540 sowie im Stratum corneum der Schweinehaut

	Paeonol	Bakuchiol
IPM	$3,46 \cdot 10^{-10}$	$1,48 \cdot 10^{-10}$
Klebmasse		
• BIO-PSA 7-4202	$1,86 \cdot 10^{-11}$	-
• Duro-Tak 180-129A	$2,07 \cdot 10^{-12}$	-
• Duro-Tak H1540	$4,4 \cdot 10^{-13}$	$5,6 \cdot 10^{-14}$
Porzines Stratum Corneum	$2,85 \cdot 10^{-16}$	$3,18 \cdot 10^{-17}$

Die größten Diffusionskoeffizienten der Wirkstoffe wurden im Penetrationsbeschleuniger IPM detektiert. Dem folgte die Silikonklebmasse BIO-PSA 7-4202, die Acrylat-Klebmasse Duro-Tak 180-129A sowie die Kautschuk-Matrix Duro-Tak H1540. Der niedrigste Diffusionskoeffizient wurde für beide Wirkstoffe im Stratum corneum der Schweinehaut beobachtet. Das Stratum corneum bildete also den langsamsten Schritt in den unterschiedlichen Diffusionsprozessen während der Applikation eines transdermalen Systems auf Schweinehaut.

Über konfokale Raman-Mikroskopie wurde der geschwindigkeitsbestimmende Schritt während der perkutanen Absorption aus transdermalen Systemen untersucht. Es ließ sich kein Wirkstoffgradient innerhalb der Klebmasse während der Applikation auf Schweinehaut beobachten (s. 0). Dies bestätigte die aus dem Vergleich der Diffusionskoeffizienten in den unterschiedlichen Materialien gezogene Schlussfolgerung. Die perkutane Absorption für die hier verwendeten Wirkstoffe wurde also über die Hautbarriere gesteuert. Dies konnte auch von Inoue et al. (2005) [98] beobachtet werden. Inoue et al. untersuchten den Wirkstofffluss von Ketotifen auf Mäusehaut. Das Ketotifen war dabei in ein Siliconsystem eingearbeitet. Der Wirkstofffluss wurde in diesem Versuchsaufbau ebenfalls durch die Haut selbst limitiert. Sato et al. (2001) [99] berichteten ebenso, dass der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der perkutanen Absorption des Wirkstoffes 5-ISMN der Diffusion in der Hautbarriere und nicht der Diffusion in der Klebmasse des transdermalen Systems entsprach. Snorraddottir et al. (2011) [103] konnten auch die Diffusion durch die Hautbarriere als der für die perkutane Absorption limitierende Schritt aus Silikonklebmassen identifizieren.

6.6 Eignung humaner Hautmodelle für perkutane Absorptionsstudien

Perkutane Absorptionsstudien mit drei verschiedenen Wirkstoffen wurden mit humanen Hautmodellen durchgeführt. Dabei konnte eine um einen Faktor 4 - 6 erhöhte perkutane Ab-

sorption bei den Studien mit EpiDerm™ und MelanoDerm™ beobachtet werden. Die in dieser Arbeit auf Hautmodellen gemessenen Permeabilitätskoeffizienten sind im Vergleich zu Daten von Schreiber et al. in Tabelle 6-13 zusammengefasst.

Tabelle 6-13 Permeabilitätskoeffizienten aus Absorptionsstudien mit Schweinehaut und EpiDerm™ und MelanoDerm™ aus dieser Arbeit von aus Schreiber et al. (2005) [59]

Hauttyp	Schreiber et al. [59]		diese Arbeit		
	Koffein K_P [cm/h]	Testosteron	Rucinol	Honokiol	Licochalcone A
Schweinehaut	$31,7 \cdot 10^{-5}$	$11,5 \cdot 10^{-4}$	$2,97 \cdot 10^{-4}$	$2,35 \cdot 10^{-5}$	$4,68 \cdot 10^{-6}$
EpiDerm™	$176,4 \cdot 10^{-5}$	$122,4 \cdot 10^{-4}$	$18,1 \cdot 10^{-4}$	$9,48 \cdot 10^{-5}$	$26,3 \cdot 10^{-6}$
	$K_{P \text{ EpiDerm}}/K_{P \text{ Schwein}} [-]$				
EpiDerm™/ Schweinehaut	5,6	10,7	6,1	4,03	5,6

Die Permeabilitätskoeffizienten für Schweinehaut und EpiDerm™ in dieser Arbeit und bei Schreiber et al. lagen in der gleichen Größenordnung. Für Rucinol, Honokiol und Licochalcone A konnte bei Versuchen mit dem EpiDerm™ Hautmodell eine ca. 5fach erhöhte Permeabilität gegenüber Schweinehaut beobachtet werden. Schreiber et al. sahen für Koffein ebenfalls einen Unterschied in der Permeabilität von EpiDerm™ im Vergleich zu Schweinehaut um den Faktor 5,6. Für Testosteron hingegen beobachteten sie eine 10,7fach erhöhte Permeabilität der Hautmodelle. Die Versuche mit dem EpiDerm™ Hautmodell konnten sowohl in dieser Arbeit als auch bei Schreiber et al. die Unterschiede in den Permeabilitätskoeffizienten der verschiedenen Wirkstoffe richtig vorhersagen. Dreher et al. 2002 [104] untersuchten Koffein und α -Tocopherol in unterschiedlichen Formulierungen auf Humanhaut, EpiDerm™ und EpiSkin. Die Reihenfolge der perkutanen Absorption konnte auch hier mit den Hautmodellen richtig vorhergesagt werden. Es wurden jedoch höhere Wirkstoffflüsse als auf humaner Haut gemessen. Lotte et al. 2002 [105] untersuchten die perkutane Absorption von Laurinsäure, Koffein und Mannitol mit EpiDerm™, EpiSkin und Skinethic. Auch hier konnten Unterschiede in den Permeabilitätskoeffizienten richtig vorhergesagt werden.

Es findet eine Überschätzung der perkutanen Absorption bei Versuchen mit humanen Hautmodellen statt. Durch die Kultivierungsbedingungen (hohe Luftfeuchtigkeit) werden die Barriereeigenschaften des Stratum corneums geschwächt. Die Unterschiede in den Permeabilitätseigenschaften zwischen den verschiedenen Wirkstoffen können jedoch richtig vorhergesagt werden. Bei der Interpretation von perkutanen Absorptionsstudien mit humanen Haut-

modellen muss dieser Unterschied in der Höhe der Permeabilität gegenüber von Wirkstoffen berücksichtigt werden.

6.7 Wirksamkeit der TDDSs

In diesem Abschnitt werden Wirksamkeitsuntersuchungen von entzündungshemmenden Wirkstoffen und von hautaufhellenden Wirkstoffen diskutiert. Außerdem wird die Wirksamkeit der topisch applizierten dotierten transdermalen Systeme im Vergleich zu Wirkstoffzugabe zum Kultivierungsmedium bewertet.

6.7.1 Entzündungshemmende Wirkstoffe

Der Einfluss der Einarbeitung von entzündungshemmenden Wirkstoffen in ein adhäsives transdermales System auf Basis von Polyvinylalkohol wurde im EpiDerm™ Hautmodell hinsichtlich der Wirksamkeit des freigesetzten Wirkstoffes untersucht. Als Wirkstoffe kamen dabei zwei natürliche Pflanzenextrakte (Süßholz und Magnolien Extrakt) zum Einsatz. Die Wirkung der dotierten transdermalen Systeme wurde mit der Wirkung von Diclofenac im Kultivierungsmedium verglichen. Die entzündungshemmende Wirkung der Leitsubstanzen dieser Extrakte ist bereits in der Literatur beschrieben wurden. Entzündungshemmende Eigenschaften der Leitsubstanzen des Magnolien Extraktes Magnolol und Honokiol worden von Lee et al. 2005 [106] ausgeführt. Lee et al. testeten die Entzündungsreaktion von THP1-Zellen hervorgerufen von *P. acnes*. 15 µM Honokiol unterdrückten die Aktivität des Enzyms Cox-2 um 66,3%, 15 µM Magnolol um 45,8%. In der hier diskutierten Arbeit bewirkten 5,63 µM Honokiol eine Reduktion der PGE₂-Ausschüttung von 86,6%.

Kolbe et al. (2006) [15] untersuchten die Wirkung von Süßholz Extrakt (10µg/mL) im Vergleich zu Diclofenac (50 ng/mL) im Kultivierungsmedium des EpiDerm™ Hautmodells. Als Entzündungsreiz diente hier eine UV-Bestrahlung (90 mJ/cm²) der Hautmodelle. Abbildung 6-8 zeigt die bei Kolbe et al. gemessenen PGE₂-Konzentrationen im Kultivierungsmedium in einer Gegenüberstellung zu den in dieser Arbeit detektierten Werten.

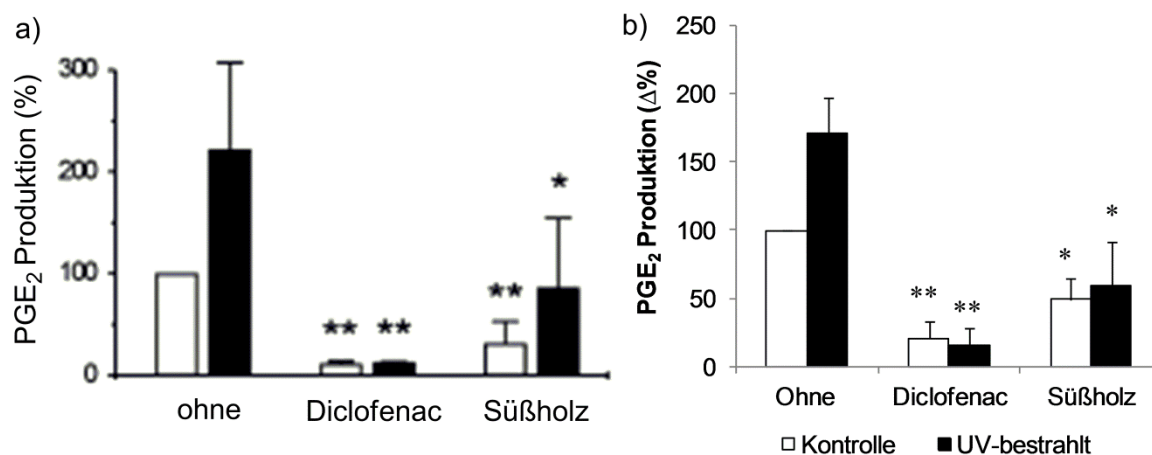


Abbildung 6-8 PGE₂ Produktion des EpiDerm™ Hautmodelles aus Kolbe et al. (2006) a) und dieser Arbeit b)

Eine Reduktion der PGE₂-Produktion in der gleichen Größenordnung konnte durch die topische Anwendung eines mit Süßholz Extrakt dotierten Pflasters im Vergleich zu Süßholz Extrakt im Kultivierungsmedium gemessen werden.

Die in dieser Arbeit gemessenen Inhibitionen der PGE₂-Produktion durch die unterschiedlichen Wirkstoffe sind in Tabelle 6-14 zusammengefasst. Dabei wurde die Wirksamkeit auf die eingesetzte Dosis der Substanzen bezogen.

Tabelle 6-14 Inhibition der PGE₂ Produktion im EpiDerm™ Hautmodell 48 Stunden nach UV-Bestrahlung in Abhängigkeit der Wirkstoffdosis

	Dosis [μ M]	Inhibition von PGE ₂ nach 24h	% Inhibition/Dosis [μ M]
Diclofenac	0,16	90,9% \pm 9,6%	575,3
Magnolia*	5,63 (Honokiol) 3,75 (Magnolol)	86,6% \pm 9,3%	9,2
Süßholz*	3,55 (Licochalcone A)	61% \pm 4,2%	17,2

* Gleichgewichtskonzentration im Medium

Mit den transdermalen Systemen konnte eine ähnliche Wirkung erzielt werden wie mit den Substanzen direkt im Medium. Diclofenac war ein deutlich potenterer Wirkstoff als die beiden natürlichen Extrakte Magnolia und Süßholz, wobei Süßholz ein größeres anti-inflammatorisches Potential besaß als Magnolia. Die Leitsubstanzen des Magnolia Extraktes Magnolol und Honokiol penetrierten jedoch deutlich besser durch die Haut als Licochalcone A (die Leitsubstanz des Süßholz Extraktes), daher eignet sich der Magnolien Extrakt besser für eine topische Behandlung von Entzündungsreaktionen in der Haut. Die mit 0,2% Magno-

lien Extrakt dotierten transdermalen Systeme konnten eine Wirksamkeit gegen ein UV-induziertes Erythem erreichen wie ein Kultivierungsmedium mit einer Konzentration von 47 ng/mL Diclofenac.

6.7.2 Hautaufhellende Wirkstoffe

In dieser Arbeit wurde der Einfluss der Einarbeitung von Rucinol in ein adhäsives transdermales System auf die Wirksamkeit des Moleküls im MelanoDerm™ Hautmodell untersucht. Die Wirkung von Rucinol auf die Melaninsynthese wurde in der Literatur bereits detailliert beschrieben. Kim et al. (2005) [18] untersuchten den Effekt von Rucinol auf die Melaninsynthese in Mel-Ab Zellen (eine Mauszelllinie). 50 µM Rucinol erzielten hier eine 30%ige Reduktion der Melaninsynthese in Mel-Ab, 10µM Rucinol im Kultivierungsmedium hatten eine 15%ige Reduktion der Melaninsynthese zur Folge. Die Wirkung von Rucinol beruhte dabei auf einer Inhibition der Produktion von Melanin (Phenomelanin und Eumelanin) in den Melanozyten durch kompetitive Hemmung des Enzyms Tyrosinase in den Zellen. Durch die Einarbeitung von Rucinol in ein festes transdermales System, musste der Wirkstoff zunächst aus der Kautschuk-Matrix in das Hautmodell diffundieren um eine Hemmung der Tyrosinase erzielen zu können. Wie anhand der im Kultivierungsmedium gemessenen Rucinol Konzentrationen zu sehen war, konnte der Wirkstoff bis zum Erreichen der Gleichgewichtskonzentration aus dem transdermalen System ins Medium freigesetzt werden. Mit einer Gleichgewichtskonzentration von 15 µM Rucinol im Medium wurde eine Inhibition der Melanin-Produktion von 35% im MelanoDerm™ Hautmodell nach 14 Tagen Kultivierung erzielt.

Kolbe et al. (2013) [107] untersuchte die Wirkung von Rucinol in unterschiedlichen Konzentrationen im Kultivierungsmedium auf die Melaninsynthese im MelanoDerm™ Hautmodell. 20 µM Rucinol führten hier zu einer 50%igen Inhibition der Melaninproduktion. Abbildung 6-9 zeigt eine Gegenüberstellung von bei Kolbe et al. (2013) veröffentlichten Daten im Vergleich zu in dieser Arbeit gemessenen Melanininhibitionen im Hautmodell MelanoDerm™. Die Daten wurde dafür jeweils auf die eingesetzte Rucinoldosis normiert.

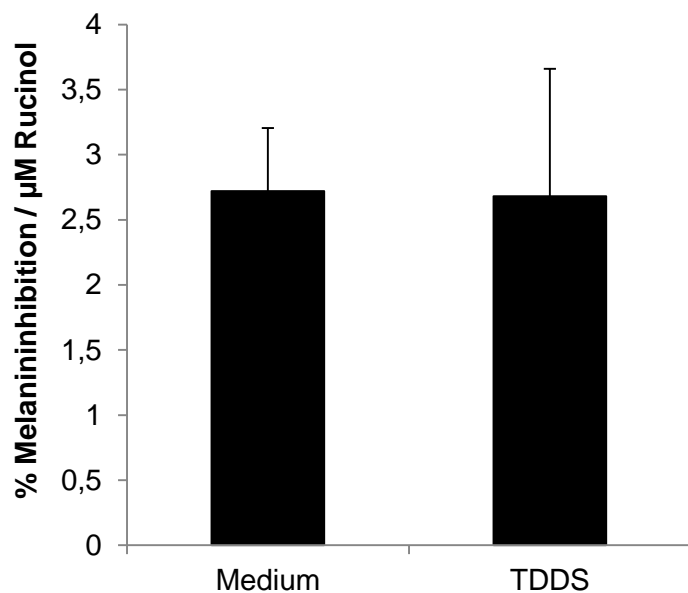


Abbildung 6-9 prozentuale Melanininhibition pro eingesetzter Dosis Rucinol im MelanoDerm™ Hautmodell durch ein mit Rucinol dotiertes transdermales System (Patch, Gleichgewichtskonzentration im Medium 15,03 μM) sowie durch 20 μM Rucinol im Kultivierungsmedium aus Kolbe et al. (2013) [107] nach 14 Tagen Kultivierung

Das mit Rucinol dotierte transdermale System konnte bei einer topischen Applikation auf dem MelanoDerm™ Hautmodell demnach eine ähnlich gute Wirksamkeit wie Rucinol im Kultivierungsmedium erreichen. Die topische Anwendung in Form eines mit Rucinol dotierten transdermalen Pflasters war also genauso effektiv wie die systemische Verabreichung des Wirkstoffes über das Kultivierungsmedium.

7 Protokoll für die Entwicklung eines Prototypen

Die Entwicklung eines adhäsiven transdermalen Systems ist durch eine Vielzahl von Versuchen bestimmt und funktioniert meist nach dem „Trial and Error“-Prinzip. Um dieses Verfahren zu strukturieren und abzukürzen, wurde aus den in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnissen heraus ein Protokoll für die Entwicklung eines Prototypens für ein transdermales System entwickelt. Kernelement war hierbei die Auswahl einer geeigneten Klebmasse für einen vorgegebenen Wirkstoff und einen vorgegebenen retardierenden Effekt des späteren transdermalen Systems auf die perkutane Absorption des Wirkstoffes. Im Folgenden wird dieses Protokoll beschrieben und anschließend anhand der Auswahl einer geeigneten Klebmasse für zwei verschiedene Wirkstoffe auf seine Relevanz hin überprüft.

7.1 Protokoll

Wie in Kapitel 5 deutlich wurde, ist vor allem der Sättigungsgrad an Wirkstoff in der Klebmasse des transdermalen Systems ausschlaggebend für perkutane Absorption eines Moleküls aus dem jeweiligen System (s. 6.4). Der Wirkstofffluss wird dabei wiederum in seinem Maximum durch die Hautbarriere limitiert (s. 6.5). Die Wirkstoffeigenschaften bestimmen daher die perkutane Absorption maßgebend (6.1). Über den Oktanol / Wasserverteilungskoeffizienten und das Molekulargewicht einer Substanz kann deren Permeabilitätskoeffizient in Haut abgeschätzt werden. Dies ist wichtig für die Einschätzung der maximal zu erwartenden perkutanen Absorption eines Wirkstoffes aus einem transdermalen System. Im Folgenden wird das aus diesen Erkenntnissen abgeleitete Vorgehen während des Designs eines neuen Prototypens beschrieben.

Bei der Entwicklung eines neuen adhäsiven, transdermalen Systems sollte zunächst über empirische Modelle der Permeabilitätskoeffizient eines Wirkstoffes in Haut anhand des Oktanol / Wasserverteilungskoeffizienten bestimmt werden. Dieser Koeffizient liefert eine Aussage darüber wie gut sich der jeweilige Wirkstoff für die Verabreichung über die transdermale Route eignet und welche Wirkstoffflüsse bei einer ausgewählten Wirkstoffdosis während der Anwendung des TDDSs zu erwarten sind. Daraufhin sollte die mit dem TDDS zu applizierende Wirkstoffmenge und die gewünschte Geschwindigkeit der perkutanen Absorption festgelegt werden. Durch die Einarbeitung in eine Klebmasse kann dabei eine Verlangsamung und somit eine längere Wirkstofffreisetzung als beispielsweise bei einer Cremeformulierung erreicht werden. Es ist jedoch auch möglich eine perkutane Absorption in derselben Geschwindigkeit wie aus einer Cremeformulierung mit einem adhäsiven TDDS zu erzielen. Anschließend sollte die Löslichkeit des Wirkstoffmoleküls in unterschiedlichen Klebmassen

über die in 3.3.3 beschriebene Absorptionmethode bestimmt werden. Die hier verwendeten Klebmassen müssen sich dabei in ihrer Klebkraft und ihrer Hautverträglichkeit für die Anwendung in einem transdermalen System eignen. Ist die Löslichkeit in den zur Auswahl stehenden Klebmassen ermittelt, wird über die zuvor festgelegte Wirkstoffdosis der Sättigungsgrad des Wirkstoffes in den unterschiedlichen transdermalen Systemen wie unter 6.4.1 beschrieben bestimmt. Nun kann über die in 6.4.1 abgeleitete Gleichung der retardierende Effekt der Klebmassen auf die perkutane Absorption aus den berechneten Sättigungsgraden abgeschätzt werden. Zusammengefasst ergibt sich daraus folgende Reihenfolge der Arbeitsschritte bei der Entwicklung eines adhäsiven transdermalen Systems.

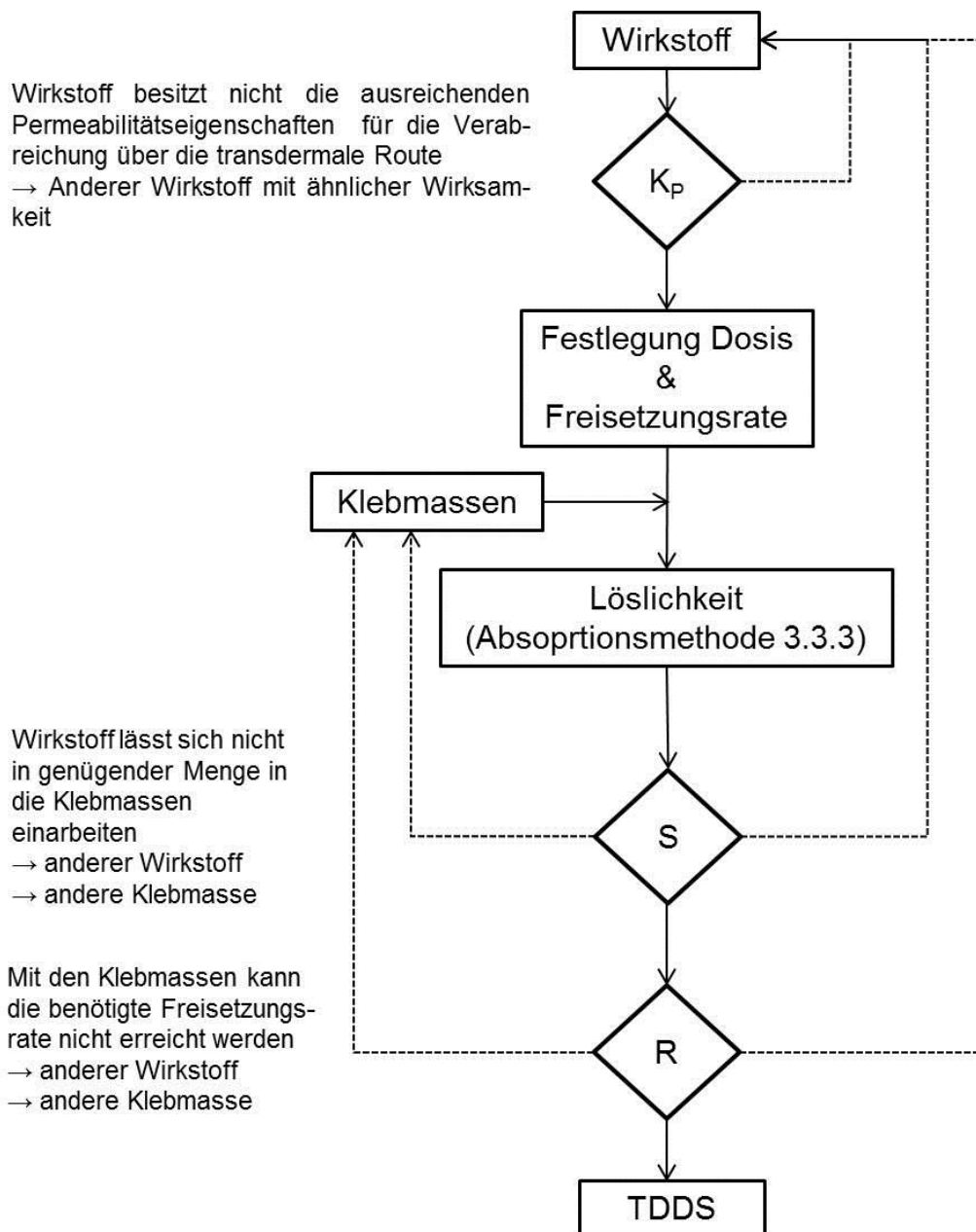


Abbildung 7-1 Fließbild Entwicklung eines Prototypen

7.2 Anwendung des Protokolls

Das zuvor beschriebene Protokoll zur Herstellung eines Prototypens wird im Folgenden anhand von zwei verschiedenen Aufgabenstellungen überprüft.

Aufgabenstellung 1: Entwicklung eines transdermalen Systems mit 10 g/L Vanillybutylether (VBE), das möglichst keinen retardierenden Effekt auf die perkutane Absorption im Vergleich zur Wirkstoffpenetration aus einem flüssigen System aufweisen soll.

Aufgabenstellung 2: Entwicklung eines transdermalen Systems mit 10 g/L Diclofenac Natriumsalz, das möglichst keinen retardierenden Effekt im Vergleich zur Wirkstoffpenetration aus einem flüssigen System aufweisen soll.

Als Klebmassen standen vier verschiedene Matrix-Systeme zur Entwicklung der transdermalen Systeme zur Verfügung. Alle vier Systeme verfügten über eine ausreichende Klebkraft und eine gute Hautverträglichkeit. Es handelte sich dabei um die Acrylat-Matrix Duro-Tak 180-129A, das auf SI- basierende System Duro-Tak H1540, die aus Polyisobutylen bestehende Klebmasse PIB und die Silikon-Matrix BIO-PSA 7-4202.

Im Folgenden wird die Auswahl einer Klebmasse für die Einarbeitung von VBE und Diclofenac Natriumsalz nach dem unter 6.1 beschriebenen Prinzip erläutert und die einzelnen Schritte experimentell überprüft.

7.2.1 Abschätzung der Permeationseigenschaften

Der Permeabilitätskoeffizient in Schweinehaut von VBE und Diclofenac Natriumsalz wurde mit Hilfe der unter 6.1 beschriebenen Gleichung (29.) bestimmt. Außerdem wurde der Permeabilitätskoeffizient der beiden Substanzen auf Schweinehaut experimentell ermittelt. Dafür waren die Wirkstoffe in IPM und Decyloleat gelöst. Die berechneten und experimentell ermittelten Daten sind in Tabelle 7-1 zusammengefasst.

Tabelle 7-1 Permeabilitätskoeffizienten von VBE und Diclofenac Natriumsalz in Schweinehaut berechnet und experimentell ermittelt, sowie der log P und das Molekulargewicht der beiden Substanzen

	log P	Molekulargewicht	K_p , berechnet	K_p , experimentell
VBE	2,59 [73]	210,27 g/mol [73]	$2,4 \cdot 10^{-4}$ cm/h	$1,68 \cdot 10^{-4}$ cm/h
Diclofenac	4,51 [73]	296,27 g/mol [73]	$1,1 \cdot 10^{-4}$ cm/h	$0,5 \cdot 10^{-4}$ cm/h

Beide Wirkstoffe eigneten sich aufgrund ihres Molekulargewichts und ihres Oktanol / Wasser-Verteilungskoeffizienten für die Verabreichung über die transdermale Route, wobei VBE einen höheren Permeabilitätskoeffizienten besaß als Diclofenac Natriumsalz und somit schneller durch Haut penetrieren sollte. Für beide Wirkstoffe lag der über Gleichung (29.) ermittelte Permeabilitätskoeffizient in der gleichen Größenordnung wie der experimentell bestimmte Wert.

7.2.2 Löslichkeit in den jeweiligen Klebmassen

Die Löslichkeit von VBE sowie von Diclofenac Natriumsalz wurde in unterschiedlichen Klebmassen bestimmt. Als Klebmassen kam dabei die Acrylat-Matrix Duro-Tak 180-129A, das auf SI- basierende System Duro-Tak H1540, die auf Polyisobutylen bestehenden Klebmasse PIB und die Silikon-Matrix BIO-PSA 7-4202. In Tabelle 7-2 sind die jeweiligen Löslichkeiten in den Systemen zusammengefasst.

Tabelle 7-2 Löslichkeit von VBE und Diclofenac Natriumsalz in Duro-Tak 180-129A, Duro-Tak H1540, PIB und BIO-PSA 7-4202

	Duro-Tak 180-129A	Duro-Tak H1540	PIB	BIO-PSA 7-4202
VBE	26,6 g/L	18,3 g/L	8,3 g/L	24,6 g/L
Diclofenac	5,2 g/L	3,9 g/L	2,0 g/L	1,7 g/L

In den beiden Aufgabenstellungen wurde jeweils eine Wirkstoffkonzentration von 10 g/L in den transdermalen Systemen vorgegeben. Die Löslichkeit von VBE war nur in der PIB Masse unterhalb dieser vorgegebenen Einsatzkonzentration. In den drei anderen Klebmassen war VBE zu einem Wert höher 10 g/L löslich. Für das Diclofenac Natriumsalz lag die Löslichkeit für alle Systeme deutlich unterhalb der Einsatzkonzentration von 10 g/L. Bei der Herstellung von Mustern aller vier Klebmassen mit Diclofenac Natriumsalz kam es daher zu einem Auskristallisieren des Wirkstoffes. Aufgrund der geringen Löslichkeit von Diclofenac Natriumsalz in den Systemen konnte somit die vorgegebene Wirkstoffdosis nicht erreicht werden. Keine der vorgegebenen Klebmassen eignete sich aufgrund dessen für die Aufgabenstellung mit Diclofenac Natriumsalz. Für den Wirkstoff VBE konnte jedoch mit der Entwicklung des Prototypens fortgefahren werden. Es wurde nun auf Basis der experimentell ermittelten Löslichkeiten in den Klebmassen von VBE der retardierende Effekt der Matrix-Systeme über die Gleichung aus 6.4.1. bestimmt.

$$R = - 0,73 S + 1,078 \quad (32.)$$

Zunächst wurde dafür aus der in der Aufgabenstellung vorgegebenen Wirkstoffkonzentration der Sättigungsgrad an VBE in den Klebmassen bestimmt. Anschließend konnte daraus über Gleichung (32.) der retardierende Effekt der verschiedenen Klebmassen auf die perkutane Absorption von VBE berechnet werden. Die beiden Werte sind in Tabelle 7-3 zusammengefasst.

Tabelle 7-3 Sättigungsgrad und daraus mit Gleichung (32.) berechneter retardierender Effekt für VBE

	Duro-Tak 180-129A	Duro-Tak H1540	PIB	BIO-PSA 7-4202
S	0,38	0,55	1,20	0,41
R	0,80	0,68	0,20	0,78

Die Klebmasse PIB besaß mit 0,2 den, nach diesen Berechnungen, geringsten retardierenden Effekt auf die perkutane Absorption von VBE. Sie eignete sich demnach am besten für die Erfüllung der Aufgabenstellung und wurde daher für den Prototypen als Klebmasse ausgewählt.

Mit Hilfe des in 7.1 beschriebenen Protokolls wurde also ein auf Polyisobutylene basierendes System mit 10 g/L VBE entwickelt. Mit ihm sollten die Vorgaben der Aufgabenstellung am besten zu erfüllen sein.

Für die Einarbeitung von Diclofenac Natriumsalz eignete sich keine der vier vorgegebenen Klebmassen. Der Wirkstoff zeigte eine zu niedrige Löslichkeit in den Systemen und kristallisierte aus. Für die Entwicklung eines Systems mit Diclofenac Natriumsalz müssten daher weitere Klebmassen untersucht werden, diese modifiziert werden oder die Wirkstoffkonzentration im transdermalen System herabgesetzt werden.

7.3 Überprüfung des Protokolls

Für die Überprüfung der Anwendbarkeit des in dieser Arbeit beschriebenen Protokolls für die Entwicklung eines transdermalen Systems wurde der Wirkstoff VBE sowohl in die unter 6.2 ausgewählte Polyisobutylene matrix als auch in die Acrylat-Klebmasse Duro-Tak 180-129A zu je 10 g/L eingearbeitet. Anschließend wurde die perkutane Absorption des Wirkstoffes mit Schweinehaut wie unter 3.4.1 beschrieben untersucht. Außerdem wurde die perkutane Absorption des VBEs aus einer Wirkstofflösung in IPM und Decylololat bestimmt. Aus den Ergebnissen dieser Untersuchungen wurde der jeweilige retardierende Effekt der Klebmassen auf die perkutane Absorption wie unter 5.3.3 beschrieben bestimmt. In Tabelle 7-4 sind die

experimentell ermittelten Daten für die perkutane Absorption von VBE aus dem Acrylat-System und dem PIB-System zusammengefasst. Der retardierende Effekt wurde dabei aus den experimentellen Daten über die Gleichung (24.) bestimmt,

Tabelle 7-4 Sättigungsgrad von VBE in den Klebmassen, Freisetzung nach 24 Stunden Applikation auf Schweinehaut sowie retardierender Effekt der Klebmassen auf die perkutane Absorption (experimentell)

	Sättigungsgrad	Freisetzung nach 24h (experimentell)	Retardierender Effekt (experimentell)
Lösung	-	40,3%	-
PIB-Matrix	1,20	22,0%	0,156
Duro-Tak 180-129A	0,38	3,5%	0,913

Die PIB-Matrix zeigte in den Versuchen einen retardierenden Effekt auf die perkutane Absorption von VBE im Vergleich zur Wirkstofflösung von 0,156. Die Acrylat-Klebmasse Duro-Tak 180-129A verlangsamte die Absorption auf Schweinehaut deutlich stärker mit einem retardierenden Effekt von 0,913.

Vergleicht man nun diese experimentellen Werte mit den in 7.2 errechneten Daten, zeigt sich eine gute Übereinstimmung (s. Abbildung 7-2).

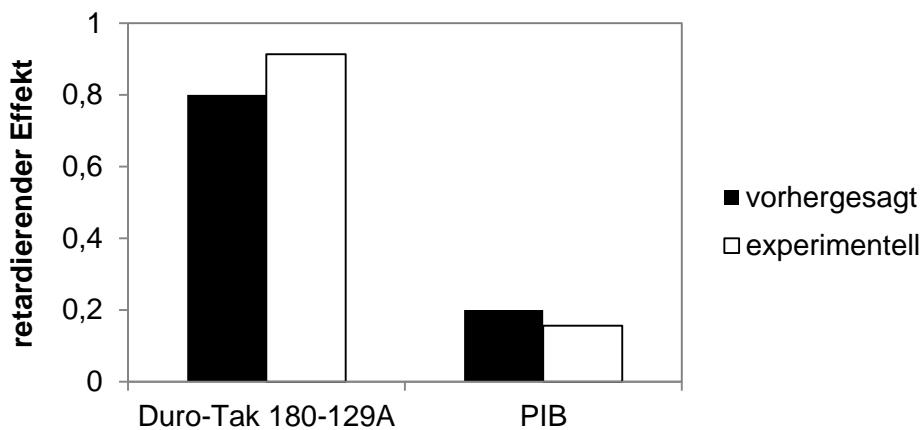


Abbildung 7-2 retardierender Effekt der Klebmassen Duro-Tak 180-129A und PIB auf die perkutane Absorption von VBE experimentell ermittelt und vorhergesagt

Mit dem unter 7.1 beschriebenen Protokoll konnte somit erfolgreich die Aufgabenstellung bearbeitet werden. Es wurde die Klebmasse mit dem niedrigsten retardierenden Effekt richtig vorhergesagt.

8 Schlussbemerkungen

Ziel dieser Arbeit war es ein besseres Verständnis des Einflusses der Einarbeitung eines Wirkstoffes in eine Klebmasse auf die perkutane Absorption eines Wirkstoffes zu erlangen. Hierzu wurde ein methodisches, strukturiertes Vorgehen bei der Entwicklung eines Prototypens eines TDDSs erstellt. Dafür wurden zehn verschiedene Wirkstoffe in Acrylat-, Kautschuk- und Silikon-Klebmassen eingearbeitet. Die dotierten Klebmassen wurden charakterisiert (max. Löslichkeit der Wirkstoffe, rheologisches Verhalten, Diffusionskoeffizienten der Wirkstoffe in den Klebmassen, perkutane Absorption auf Schweinehaut). Außerdem wurde die perkutane Absorption der Wirkstoffe aus einem Penetrationsbeschleunigersystem aus IPM und Decyloleat mit der Absorption aus den verschiedenen dotierten Klebmassen verglichen. Während dieser Arbeit konnte eine neue Methode zur Beobachtung von Diffusionsprozessen während der Anwendung eines transdermalen Systems mittels konfokaler Raman Mikroskopie entwickelt werden.

Es zeigte sich in diesen Untersuchungen, dass im Allgemeinen die Wirkstoffeigenschaften selbst (dominiert durch den Oktanol / Wasserverteilungskoeffizienten und dem Molekulargewicht eines Moleküls) den maximal zu erreichenden Wirkstofffluss bei der Anwendung eines transdermalen Systems definieren. Der Wirkstofffluss, der durch eine gesättigte Wirkstofflösung in perkutanen Absorptionsstudien erzielt wurden konnte, bildete die obere Grenze für spätere Versuche mit den adhäsiven transdermalen Systemen. Durch die Einarbeitung in eine Klebmasse konnte somit die perkutane Absorption eines Wirkstoffes verlangsamt werden. Um die Verlangsamung der perkutanen Absorption durch die Einarbeitung eines Wirkstoffes in ein Klebmasse zu beschreiben, wurde in dieser Arbeit ein retardierender Effekt R definiert. Schließlich wurde der Einfluss verschiedener Eigenschaften einer Klebmasse auf diesen retardierenden Effekt untersucht. Die maximale Löslichkeit der Wirkstoffe in den jeweiligen Klebmassen, physikalischer Größen wie die Scherfestigkeit und der Glasübergangstemperatur der Klebmassen sowie die Diffusionseigenschaften der Wirkstoffe in den Klebmassen wurden dabei betrachtet. Zusätzlich dazu wurde der Einfluss des Sättigungsgrades an Wirkstoff in den Klebmassen und des Diffusionskoeffizientens der jeweiligen Moleküle in den Klebmassen auf die perkutane Absorption untersucht. Es zeigte sich, dass die maximale Löslichkeit der Wirkstoffe in den Klebmassen entscheidend war für die Entwicklung eines transdermalen Systems. Zur besseren Beschreibung dieses Umstandes wurde ein Sättigungsgrad S der Wirkstoffe in den Klebmassen während der perkutanen Absorptionsstudien definiert. Dieser Sättigungsgrad konnte gut mit dem retardierenden Effekt einer Klebmasse auf die perkutane Absorption korreliert werden. Je höher der Sättigungsgrad des Wirkstoffes

in der Klebmasse war, desto kleiner war der retardierende Effekt des transdermalen Systems auf die Wirkstofffreisetzung auf Schweinehaut. Der Übergang des Wirkstoffes von der Klebmasse in die Haut war demnach hauptsächlich durch den Diffusionsdruck während der Anwendung bestimmt. Der Diffusionsdruck während der Applikation eines TDDSs auf Haut war also entscheidender für die perkutane Absorption der Wirkstoffe aus den Systemen, als physikalische Größen wie die Scherfestigkeit und die Glasübergangstemperatur einer Klebmasse. Auch die Diffusionskoeffizienten der Wirkstoffe in den unterschiedlichen Klebmassen hatten keinen direkten Zusammenhang mit der perkutanen Absorption.

Die Beobachtung der Diffusionsprozesse in den Klebmassen mit Hilfe von konfokaler Raman Mikroskopie lieferte jedoch einen neuen Einblick in die Prozesse während der Anwendung eines transdermalen Systems. Bei der Applikation eines transdermalen Systems auf Haut kommt es zu komplexen, mehrlagigen Diffusionsprozessen (in der Klebmasse des TDDS, im Stratum Corneum der Haut, in den vitalen Schichten der Haut). Diese Prozesse konnten mit Hilfe der konfokalen Raman Mikroskopie erstmals in den Klebmassen optisch dargestellt werden. Für die Untersuchung von Diffusionsprozessen in Haut eignete sich diese neue entwickelte Methode nicht, daher wurde die Wirkstoffdiffusion im Stratum Corneum über Tape Stripping betrachtet.

Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt während der perkutanen Absorption aus transdermalen Systemen konnte durch diese Diffusionsuntersuchungen bestimmt werden. Aus den in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnissen konnte schließlich ein neues Protokoll für die Entwicklung eines transdermalen Systems erstellt werden. Dieses Protokoll konnte anhand zweier Wirkstoffe erfolgreich überprüft und bestätigt werden.

Neben der Untersuchung von Diffusionsprozessen während der Anwendung eines transdermalen Systems und der Untersuchung des Einflusses einer Klebmasse auf die perkutane Absorption eines Wirkstoffes wurden in dieser Arbeit auch Wirksamkeitsuntersuchungen einiger TDDSs an humanen Hautmodellen durchgeführt. Zum Einsatz kamen dabei das Modell EpiDerm™ sowie das MelanoDerm™ Hautmodell der Firma Mattek. Anhand von drei Wirkstoffen (Rucinol, Magnolien Extrakt, Süßholz Extrakt) konnte erfolgreich die Wirksamkeit von den transdermalen Systemen mit Hilfe von Humanhautmodellen gezeigt werden. Für alle drei Wirkstoffe wurde eine Wirksamkeit mit topisch applizierten transdermalen Systemen erzielt, wie sie mit systemisch dargereichten Wirkstoffen erreicht wurde. Außerdem zeigte keines der untersuchten Systeme in diesen in vitro Untersuchungen ein Hautirritationspotential. EpiDerm™ konnte während der Versuche nur in einer Co-Kultivierung mit primären humanen Fibroblasten IL-6 produzieren.

Zusätzlich zu den Wirksamkeitsuntersuchungen wurde während der Studien mit EpiDerm™ und MelanoDerm™ die perkutane Absorption von Wirkstoffmolekülen auf Hautmodellen mit den Absorptionsstudien auf Schweinehaut verglichen werden. Die Permeabilität der Haut-

modelle war dabei ca. 5-mal größer im Vergleich zu Schweinehaut. Dies deckte sich mit bereits veröffentlichten Daten zur Permeabilität von EpiDerm™ und anderen kommerziell erhältlichen humanen Hautmodellen. Die verwendeten kommerziell erhältlichen humanen Hautmodelle eigneten sich also nicht für die Anwendung in Absorptionsstudien.

In dieser Arbeit wurde hauptsächlich mit lipophilen Substanzen ($\log P > 0$) gearbeitet. Nur einer der zehn verwendeten Wirkstoffe (Aciclovir) besaß einen negativen Oktanol / Wasserverteilungskoeffizient. Da auch hydrophile Substanzen, wie zum Beispiel Koffein, für die Verabreichung über die transdermale Route eine Rolle spielen, sollte in weiteren Versuchen der $\log P$ – Bereich der untersuchten Substanzen im Negativen ausgeweitet werden. So sollte sichergestellt werden, dass die hier gewonnenen Erkenntnisse auch für hydrophile Substanzen anwendbar sind. Außerdem wurden die Untersuchungen in dieser Arbeit hauptsächlich mit Kadaverhaut vom Schwein durchgeführt. Aufgrund der einfachen Verfügbarkeit eignete sich dieses Modell am besten für den hier dargestellten hohen Messaufwand. Eine Überprüfung der Anwendbarkeit der hier entwickelten Korrelation zwischen Sättigungsgrad an Wirkstoff in einer Klebmasse und retardierenden Effekt auf die Wirkstofffreisetzung des Wirkstoffes auf Humanhaut wäre sehr interessant. Eventuell müsste nur eine Parameteranpassung innerhalb der erstellten Gleichung geschehen. Es wäre zudem interessant, die in dieser Arbeit *in vitro* mit humanen Hautmodellen unternommenen Wirksamkeitsstudien mit *in vivo* Daten zu vergleichen. Besteht zwischen den Daten eine *in vivo* / *in vitro* Korrelation? Auch bei den perkutanen Absorptionsstudien wäre eine solche Korrelation mit *in vivo* Daten interessant. Inwiefern besteht eine Korrelation zwischen den *ex vivo* in statischen Diffusionszellen gewonnenen Werten zu der perkutanen Absorption *in vivo*? Wie sieht ein Vergleich *ex vivo* (Schweinehaut) / *in vitro* (EpiDerm™) / *in vivo* (am Menschen) aus?

Abschließend lässt sich bemerken, dass die vorliegende Arbeit neue Eindrücke in die Diffusionsprozesse während der Applikation eines transdermalen Systems lieferte. Durch die Anwendung der konfokalen Raman Mikroskopie wurde erstmals die Wirkstoffverteilung in einem adhäsiven TDDS während der Anwendung visualisiert. Außerdem konnte ein einfaches, funktionierendes Protokoll für die Entwicklung eines transdermalen Systems aus den hier dargestellten Ergebnissen entworfen werden. Die Anwendbarkeit dieses Protokolls wurde mit Hilfe von zwei Wirkstoffen erfolgreich bewiesen. Desweiteren konnte die Wirksamkeit von adhäsiven transdermalen Systemen *in vitro* demonstriert werden. Die topische Anwendung von dotierten TDDSs erzielte dabei eine *in vitro* Wirksamkeit in der gleichen Größenordnung wie bei der systemischen Verabreichung der verwendeten Wirkstoffe.

9 Literaturverzeichnis

1. Tanner, T. and R. Marks, *Delivering drugs by the transdermal route: review and comment*. *Skin Res Technol*, 2008. **14**(3): p. 249-60.
2. Cilurzo, F., C.G. Gennari, and P. Minghetti, *Adhesive properties: a critical issue in transdermal patch development*. *Expert Opin Drug Deliv*, 2012. **9**(1): p. 33-45.
3. Benson, H.A. and S. Namjoshi, *Proteins and peptides: strategies for delivery to and across the skin*. *J Pharm Sci*, 2008. **97**(9): p. 3591-610.
4. Ishii, H., H. Todo, and K. Sugibayashi, *Effect of thermodynamic activity on skin permeation and skin concentration of triamcinolone acetone*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2010. **58**(4): p. 556-61.
5. Venkatraman, S. and R. Gale, *Skin adhesives and skin adhesion. 1. Transdermal drug delivery systems*. *Biomaterials*, 1998. **19**(13): p. 1119-36.
6. Noll, W., *Chemie und Technologie der Silikone*. 1968, Leverkusen: Verlag Chemie GM Wenching.
7. Lin, S.B., *Handbook of Pressure-Sensitive Adhesives and Products: - Three Volume Set*, in *TECHNOLOGY OF PRESSURE-SENSITIVE ADHESIVES AND PRODUCTS*, I. Benedek and M. Feldstein, Editors. 2008, CPR Press.
8. Kruse, I., R. Wolber, and K.H. Wöller, *Selbstklebende Polymermatrix mit einem Gehalt an Meeresalgenextrakt und Glycerin*, D.P.-u. Markenamt, Editor. 2004: Deutschland.
9. Wöller, K.-H., et al., *Hautauflage mit optimierter Wirkstofffreisetzung*, D.P.-u. Markenamt, Editor. 2012: Deutschland. p. 1-15.
10. Diaz del Consuelo, I., et al., *Ex vivo evaluation of bioadhesive films for buccal delivery of fentanyl*. *J Control Release*, 2007. **122**(2): p. 135-40.
11. Brockmann, W., et al., *Klebtechnik: Klebstoffe, Anwendungen und Verfahren*. Vol. 1. 2008, Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
12. Schütt, C.B., *Grundwissen Immunologie*. 2009, Heidelberg: Spektrum akademischer Verlag.
13. Welss, T., D.A. Basketter, and K.R. Schröder, *In vitro skin irritation: facts and future. State of the art review of mechanisms and models*, in *Toxicology in Vitro*. 2004. p. 231-243.
14. Bannenberg, G., M. Arita, and C.N. Serphan, *Endogenous receptor agonists: resolving inflammation*. *Scientific World Journal*, 2007: p. 1440-1462.
15. Kolbe, L., et al., *Anti-inflammatory efficacy of Licochalcone A: correlation of clinical potency and in vitro effects*. *Arch Dermatol Res*, 2006. **298**(1): p. 23-30.
16. Lee, J., et al., *Anti-Inflammatory Effects of Magnolol and Honokiol are through Inhibition of the Downstream Pathway of MEKK-1 in NF- κ B Activation Signaling*, in *Planta Med*. 2005. p. 338-343.
17. wordpress.com. 2013 [cited 2013 14.09.2013]; Available from: http://gamzeeee.files.wordpress.com/2012/08/fv_melanozyt_epid_326x2181.jpg
18. Kim, D.-S., et al., *Inhibitory Effects of 4-n-Butylresorcinol on Tyrosinase Activity and Melanin Synthesis*. *Biol. pharm. Bull* 2005: p. 2216-2219.
19. Kerscher, M., *Dermatokosmetik* Vol. 1. 2004, Darmstadt: Steinkopff.
20. Bleck, O., et al., *Two ceramide subfractions detectable in Cer(AS) position by HPTLC in skin surface lipids of non-lesional skin of atopic eczema*. *J Invest Dermatol*, 1999. **113**(6): p. 894-900.
21. Williams, A.C., *Transdermal and Topical Drug Delivery*. Vol. 1. 2004, London: Pharmaceutical Press.
22. Hadgraft, J., *Skin, the final frontier*. *Int J Pharm*, 2001. **224**(1-2): p. 1-18.
23. Beetge, E., et al., *The influence of the physicochemical characteristics and pharmacokinetic properties of selected NSAID's on their transdermal absorption*. *Int J Pharm*, 2000. **193**(2): p. 261-4.

24. Seydel, J.K. and M. Wiese, *Drug-Membrane Interactions*. Vol. 15. 2002, Weinheim: Wiley_VCH.
25. Benson, H.A.E. and S. Namjoshi, *Proteins and Peptides: Strategies for Delivery to and Across the Skin*, in *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008. p. 3591-3610.
26. Goosen, C., et al., *Correlation between physicochemical characteristics, pharmacokinetic properties and transdermal absorption of NSAID's*. international journal of pharmaceutics, 1998: p. 203-209.
27. Williams, A.C. and B.W. Barry, *Penetration enhancers*. Adv Drug Deliv Rev, 2004. **56**(5): p. 603-18.
28. Bronaugh, R.L. and H.I. Maibach, *Percutaneous Absorption; Drugs-Cosmetics-Mechanisms-Methodology*. Vol. 3. 1999, New York: Marcel Dekker.
29. Lee, J.W., J.-H. Park, and M.R. Prausnitz, *Dissolving microneedles for transdermal drug delivery*. Biomaterials, 2008. **29**(13): p. 2113-2124.
30. Verbaan, F.J., et al., *Assembled microneedle arrays enhance the transport of compounds varying over a large range of molecular weight across human dermatomed skin*. Journal of Controlled Release, 2007. **117**(2): p. 238-245.
31. Cormier, M., et al., *Transdermal delivery of desmopressin using a coated microneedle array patch system*. Journal of Controlled Release, 2004. **97**(3): p. 503-511.
32. Zempsky, W.T., et al., *Evaluation of a low-dose lidocaine iontophoresis system for topical anesthesia in adults and children: a randomized, controlled trial*. Clin Ther, 2004. **26**(7): p. 1110-9.
33. Baehr, H.D. and K. Stephan, *Wärme- und Stoffübertragung*. Vol. 5. 2006, Heidelberg: Springer Verlag.
34. Barry, W.B., *Dermatological Formulations: Percutaneous Absorption (Drugs and the Pharmaceutical Sciences)*. Vol. 18. 1983, New York: Marcel Dekker.
35. Higuchi, T., *Mechanism of Sustained-Action Medication. Theoretical Analysis of Rate of Release of Solid Drugs Dispersed in Solid Matrices*. J Pharm Sci, 1963. **52**: p. 1145-9.
36. Costa, P. and J.M. Sousa Lobo, *Modeling and comparison of dissolution profiles*. Eur J Pharm Sci, 2001. **13**(2): p. 123-33.
37. Kokubo, T., K. Sugibayashi, and Y. Morimoto, *Diffusion of drug in acrylic-type pressure-sensitive adhesive matrices. I. Influence of physical property of the matrices on the drug diffusion*. J Control Release, 1991. **17**: p. 69-78.
38. Williams, M., L., R. Landel, F., and J.D. Ferry, *The Temperature Dependence of Relaxation Mechanisms in Amorphous Polymers and Other Glass-forming Liquids*. J. Am. Chem. Soc, 1955. **77**: p. 3701-3707.
39. Morimoto, Y., T. Kokubo, and K. Sugibayashi, *Diffusion of drugs in acrylic-type pressure-sensitive adhesive matrix. II. Influence of interaction*. J Control Release, 1992. **18**: p. 113-122.
40. Hinz, R.S., et al., *Percutaneous penetration of para-substituted phenols in vitro*. Fundam Appl Toxicol, 1991. **17**(3): p. 575-83.
41. Potts, R.O. and R.H. Guy, *Predicting skin permeability*. Pharm Res, 1992. **9**(5): p. 663-9.
42. Potts, R.O. and R.H. Guy, *A predictive algorithm for skin permeability: the effects of molecular size and hydrogen bond activity*. Pharm Res, 1995. **12**(11): p. 1628-33.
43. Cross, S.E., et al., *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, 2003. **120**(5): p. 759-64.
44. Pugh, W.J., I.T. Degim, and J. Hadgraft, *Epidermal permeability-penetrant structure relationships: 4, QSAR of permeant diffusion across human stratum corneum in terms of molecular weight, H-bonding and electronic charge*. Int J Pharm, 2000. **197**(1-2): p. 203-11.

45. Godin, B. and E. Touitou, *Transdermal skin delivery: predictions for humans from in vivo, ex vivo and animal models*. *Adv Drug Deliv Rev*, 2007. **59**(11): p. 1152-61.
46. Herkenne, C., et al., *Ibuprofen transport into and through skin from topical formulations: in vitro-in vivo comparison*. *J Invest Dermatol*, 2007. **127**(1): p. 135-42.
47. Romonchuk, W.J. and A.L. Bunge, *Permeation of 4-cyanophenol and methyl paraben from powder and saturated aqueous solution through silicone rubber membranes and human skin*. *J Pharm Sci*, 2006. **95**(11): p. 2526-33.
48. Oliveira, G., J. Hadgraft, and M.E. Lane, *The role of vehicle interactions on permeation of an active through model membranes and human skin*. *International Journal of Cosmetic Science*, 2012. **34**(6): p. 536-545.
49. Ng, S.-F., et al., *The relevance of polymeric synthetic membranes in topical formulation assessment and drug diffusion study*. *Archives of Pharmacal Research*, 2012. **35**(4): p. 579-593.
50. Gabbanini, S., et al., *Analysis of in vitro release through reconstructed human epidermis and synthetic membranes of multi-vitamins from cosmetic formulations*. *J Pharm Biomed Anal*, 2010. **52**(4): p. 461-7.
51. Lee, D., et al., *Permeability of model stratum corneum lipid membrane measured using quartz crystal microbalance*. *Langmuir*, 2009. **25**(10): p. 5762-6.
52. Franz, T.J., *PERCUTANEOUS ABSORPTION. ON THE RELEVANCE OF IN VITRO DATA*. *J Invest Dermatol*, 1975. **64**(3): p. 190-195.
53. Baert, B., et al., *A new discriminative criterion for the development of Franz diffusion tests for transdermal pharmaceuticals*. *J Pharm Pharm Sci*, 2010. **13**(2): p. 218-30.
54. Wagner, H., et al., *Human skin penetration of flufenamic acid: in vivo/in vitro correlation (deeper skin layers) for skin samples from the same subject*. *J Invest Dermatol*, 2002. **118**(3): p. 540-4.
55. Poumay, Y. and A. Coquette, *Modelling the human epidermis in vitro: tools for the basic and applied research*. *Arch Dermatol Res*, 2007: p. 361-369.
56. Kardorff, B., *Gesunde Haut*. Vol. 1. 2004, Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
57. MatTek. *EpiDerm Technical Specifications 2012* [cited 2012 18.12.2012]; Available from: <http://www.mattek.com/pages/products/epiderm/specification>.
58. Netzlaff, F., et al., *Permeability of the reconstructed human epidermis model Episkin in comparison to various human skin preparations*. *Eur J Pharm Biopharm*, 2007. **66**(1): p. 127-34.
59. Schreiber, S., et al., *Reconstructed epidermis versus human and animal skin in skin absorption studies*. *Toxicol In Vitro*, 2005. **19**(6): p. 813-22.
60. Demtröder, W., *Experimentalphysik 2*. Vol. 5. 2009, Heidelberg: Springer.
61. Atkins, P. and J. de Paula, *Physikalische Chemie*. Vol. 4. 2006, Weinheim: Wiley-VCH.
62. Wedler, G., *Lehrbuch der physikalischen Chemie*. Vol. 5. 2004, Weinheim: Wiley-VCH.
63. Boncheva, M., et al., *Depth profiling of Stratum corneum hydration in vivo: a comparison between conductance and confocal Raman spectroscopic measurements*. *Exp Dermatol*, 2009. **18**(10): p. 870-6.
64. Mélot, M., et al., *Studying the effectiveness of penetration enhancers to deliver retinol through the stratum corneum by in vivo confocal Raman spectroscopy*. *Journal of Controlled Release*, 2009. **138**(1): p. 32-39.
65. Allakhverdiev, K.R., et al., *CONFOCAL RAMAN MICROSCOPY: NON-DESTRUCTIVE MATERIALS ANALYSIS WITH MICROMETER RESOLUTION*. *Rev Adv Mater Sci*, 2009. **20**: p. 77-84.
66. Egawa, M. and T. Kajikawa, *Changes in the depth profile of water in the stratum corneum treated with water*. *Skin Res Technol*, 2009. **15**(2): p. 242-9.
67. Mezger, T., G., *Das Rheologie-Handbuch*. Vol. 2. 2006, Hannover: Vincentz Network.

68. Brummer, R., F. Hetzel, and C. Harder, *Korrelation von Polymereigenschaften mit dynamische mechanischen Messergebnissen*. Appl. Rheol, 1997. 7(4): p. 173-178.
69. Henkel, *Adhesives Division Product Data Sheet: DURO-TAK 180-129A*. 2009.
70. CYTEC, *Sicherheitsdatenblatt: GELVA GME 3011 adhesive*. 2009.
71. CYTEC, *Material Safety Data Sheet: GELVA MULTIPOLYMER SOLUTION 737*. 2006.
72. DowCorning, *Dow Corning BIO-PSA Amine-Compatible Silicone Adhesives*, in *Product Information Healthcare*. 2008.
73. DowCorning, *SILASTC MDX4-4210 BioMedical Grade Elastomer*, in *Product Information*. 2005.
74. DowCorning, *Dow Corning Sof Skin Adhesives Part A & B*, in *Product Information Healthcare*. 2009.
75. DowCorning, *Trade Name SILASTIC Medical Adhesive Silicone, Type A*, in *Production Information Healthcare*. 2007.
76. Henkel, *Adhesives Division Product Data Sheet: DURO-TAK H1540*. 2009.
77. Nierle, J. and C. Gäde, *Mischsystem zur Löslichkeitsvermittlung von pharmazeutischen Wirkstoffen in Polymermatrizes D.P.-u. Markenamt*, Editor. 2002: Deutschland.
78. Online-Datenbank, *ChemIDplus Advanced*. 2012, U.S. National Library of Medicine.
79. Online-Datenbank, *ChemExper Chemical Directory*. 2012, ChemExper.
80. Online-Datenbank, *ChemSpider*. 2012, Royal Society of Chemistry.
81. Mori, S. and H.G. Barth, *size exclusion chromatography*. Vol. 1. 1999, Berlin, Heidelberg: Springer.
82. Diembeck, W., et al., *Test guidelines for in vitro assessment of dermal absorption and percutaneous penetration of cosmetic ingredients*. *European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association*. Food Chem Toxicol, 1999. 37(2-3): p. 191-205.
83. Alberti, I., et al., *In vivo assessment of enhanced topical delivery of terbinafine to human stratum corneum*. J Control Release, 2001. 71(3): p. 319-27.
84. Tregear, R.T. and P. Dirnhuber, *The mass of keratin removed from the stratum corneum by stripping with adhesive tape*. J Invest Dermatol, 1962. 38: p. 375-81.
85. *mattek.com*. 2010.
86. BASF. *Product Information Oppanol B*. 2013 [cited 2013 20.02.2013]; Available from: http://worldaccount.basf.com/wa/NAFTA~en US/Catalog/ChemicalsNAFTA/pi/BASF/Brand/oppanol_b/brand_top/.
87. Mallampati, R., et al., *Evaluation of EpiDerm full thickness-300 (EFT-300) as an in vitro model for skin irritation: Studies on aliphatic hydrocarbons*. Toxicol in vitro, 2010: p. 669-676.
88. Funke, A.P., et al., *Transdermal delivery of highly lipophilic drugs: in vitro fluxes of antiestrogens, permeation enhancers, and solvents from liquid formulations*. Pharm Res, 2002. 19(5): p. 661-8.
89. Khalil, E., K. Kretsos, and G.B. Kasting, *Glucose partition coefficient and diffusivity in the lower skin layers*. Pharm Res, 2006. 23(6): p. 1227-34.
90. Cornelissen, L.H., et al., *Diffusion measurements in epidermal tissues with fluorescent recovery after photobleaching*. Skin Res Technol, 2008. 14(4): p. 462-7.
91. Yamaguchi, K., et al., *Analysis of in vitro skin permeation of 22-oxacalcitriol from ointments based on a two- or three-layer diffusion model considering diffusivity in a vehicle*. Int J Pharm, 2007. 336(2): p. 310-8.
92. Sugibayashi, K., et al., *Mathematical model to predict skin concentration of drugs: toward utilization of silicone membrane to predict skin concentration of drugs as an animal testing alternative*. Pharm Res, 2010. 27(1): p. 134-42.

93. Liron, Z. and S. Cohen, *Percutaneous absorption of alkanolic acids I: A study of operational conditions*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1984. **73**(4): p. 534-537.
94. Guy, R.H. and J. Hadgraft, *Transdermal drug delivery: a simplified pharmacokinetic approach*. International Journal of Pharmaceutics, 1985. **24**(2-3): p. 267-274.
95. Cantor, A.S., *Drug and excipient diffusion and solubility in acrylate adhesives measured by infrared-attenuated total reflectance (IR-ATR) spectroscopy*. J Control Release, 1999. **61**(1-2): p. 219-31.
96. Roy, S.D., et al., *Controlled transdermal delivery of fentanyl: characterizations of pressure-sensitive adhesives for matrix patch design*. J Pharm Sci, 1996. **85**(5): p. 491-5.
97. Hatanaka, T., et al., *Influence of Isosorbide Dinitrate Concentration on Its Skin Permeability from Adhesive Matrix Devices*. CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN, 1991. **39**(7): p. 1802-1805.
98. Inoue, K., et al., *Enhancement of skin permeation of ketotifen by supersaturation generated by amorphous form of the drug*. J Control Release, 2005. **108**(2-3): p. 306-18.
99. Sato, K., et al., *Potential usefulness of solubility index for prediction of the skin permeation rate of 5-ISMN from pressure-sensitive adhesive tape*. J Control Release, 2001. **73**(2-3): p. 269-77.
100. Taghizadeh, S.M., A. Soroushnia, and F. Mohamadnia, *Preparation and in vitro evaluation of a new fentanyl patch based on functional and non-functional pressure sensitive adhesives*. AAPS PharmSciTech, 2010. **11**(1): p. 278-84.
101. Subedi, R.K., et al., *Influence of formulation variables in transdermal drug delivery system containing zolmitriptan*. Int J Pharm, 2011. **419**(1-2): p. 209-14.
102. Hai, N.T., et al., *Formulation and biopharmaceutical evaluation of transdermal patch containing benztropine*. Int J Pharm, 2008. **357**(1-2): p. 55-60.
103. Snorraddottir, B.S., et al., *Experimental design for optimizing drug release from silicone elastomer matrix and investigation of transdermal drug delivery*. Eur J Pharm Sci, 2011. **42**(5): p. 559-67.
104. Dreher, F., et al., *Comparison of cutaneous bioavailability of cosmetic preparations containing caffeine or alpha-tocopherol applied on human skin models or human skin ex vivo at finite doses*. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol, 2002. **15 Suppl 1**: p. 40-58.
105. Lotte, C., et al., *Permeation and skin absorption: reproducibility of various industrial reconstructed human skin models*. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol, 2002. **15 Suppl 1**: p. 18-30.
106. Lee, J., et al., *Anti-inflammatory effects of magnolol and honokiol are mediated through inhibition of the downstream pathway of MEKK-1 in NF-kappaB activation signaling*. Planta Med, 2005. **71**(4): p. 338-43.
107. Kolbe, L., et al., *4-n-butylresorcinol, a highly effective tyrosinase inhibitor for the topical treatment of hyperpigmentation*. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2013. **27**: p. 19-23.

10 Abkürzungsverzeichnis

a.u.	willkürliche Einheit (arbitrary unit)
ANOVA	Varianzanalyse (Analysis of variant)
B12	PIB Klebmasse mit Oppanol B12
B80	PIB Klebmasse mit Oppanol B80
B150	PIB Klebmasse mit B150
B200	PIB Klebmasse B200
BDF	Beiersdorf AG
CCD	Charge-couple-device
DMSO	Dimethylsulfoxid
DSC	Differential Scanning Calometry
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EM	Extraktionsmittel
FCS	Fötale Kälberserum
FKF	Feuchtklebender Film
GPC	Gelpermeationschromatographie
HPLC	High Performance Liquid Chromatographie
IL-6	Interleukin 6
IPM	Isopropylmyristat
LC-MS	Liquid Chromatographie Massenspektroskopie
LM	Lösungsmittel
log P	Oktanol / Wasserverteilungskoeffizient
MTT	-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5diphenyltetrazoliumbromid
MW	Molekulargewicht
PBS	Phosphatpuffersystem
PE	Polyethylen
PGE ₂	Prostaglandin
PIB	Polyisobutylene
PIB 1000	Klebmasse mit PIB 1000
PSA	Pressure Sensitive Adhesive
PU	Polyurethan
PVA	Polyvinylalkohol
PVP	Polyvinylpyrrolidone
SC	Stratum corneum
SI	Styrol-Isopren Copolymerisat

SIS	Styrol-Isopren-Styrol Blockcopolymer
TDDS	Transdermales Delivery System
T _g	Glasübergangstemperatur
TNF- α	Tumornekrose Faktor α
UV	Ultraviolett
VBE	Vanillylbuthylether
WLF	Gleichung nach Williams, Landel und Ferry

11 Symbolverzeichnis

A	Fläche
a	Affinität
c	Konzentration
c_A	Wirkstoffkonzentration in Haut
c_0	Konzentration zum Zeitpunkt $t=0$
c_S	max. Löslichkeit eines Wirkstoffes in einer Matrix
c_{TDDS}	Wirkstoffkonzentration im TDDS
D	Diffusionskoeffizient
d	Dicke
F	Masse an Wirkstoff pro Fläche
H	Higuchi-Koeffizient
h	Diffusionsweg
J	Wirkstofffluss
J_{SS}	Wirkstofffluss im Gleichgewicht
K_P	Permeabilitätskoeffizient
$K_{P,SC}$	Permeabilitätskoeffizient im Stratum corneum
K	Verteilungskoeffizient
k	Konstante
MV	Molekulares Volumen
MW	Molekulargewicht
R	Retardierender Effekt
r^2	Regressionsfaktor
S	Sättigungsgrad
t	Zeit
T_g	Glasübergangstemperatur
T	Temperatur
Q	Freisetzungsrate
ω	Winkelgeschwindigkeit
$\tan \delta$	Verlustfaktor
μ	Chemisches Potential
η	Viskosität

12 Anhang

12.1 Verwendete Materialien

12.1.1 Chemikalien

Es wurden folgende Chemikalien in dieser Arbeit verwendet.

Tabelle 12-1 Chemikalien

Material	Hersteller
Additive/Penetrationsbeschleuniger	
Decyloleat	BASF Personal Care and Nutrition, Ludwigshafen, Deutschland
Isopropylmyrisate	BASF Personal Care and Nutrition, Ludwigshafen, Deutschland
1,2 Propandiol	BASF, Ludwigshafen
Ölsäure	Merck, Darmstadt, Deutschland
DMSO	Merck, Darmstadt, Deutschland
<i>Kautschuke</i>	
Oppanol B200	BASF Chem Trade GmbH, Burgheim, Deutschland
Oppanol B150	BASF Chem Trade GmbH, Burgheim, Deutschland
Oppanol B80	BASF Chem Trade GmbH, Burgheim, Deutschland
Oppanol B12	BASF Chem Trade GmbH, Burgheim, Deutschland
Oppanol B10	BASF Chem Trade GmbH, Burgheim, Deutschland
PIB 1000	BASF Chem Trade GmbH, Burgheim, Deutschland
Kraton D1161P	Kraton Polymers, Houston, TX, USA
<i>Harze</i>	
Regalite™ 7100	Eastman, Kingsport, Tennessee, USA
Harz SE 10	Keyser & Mackay, Amsterdam, Niederlande
Feuchtklebender Film	
Mowiol 18-88	Ter Hell & Co GmbH, Hamburg, Deutschland
Carbopol Ulterz 21	Lubrizol Advanced materials
Favor T	Evonic Industries AG, Krefeld, Deutschland
<i>Wirkstoffe</i>	
Aciclovir	Prochem GmbH, Wesel, Deutschland

Paeonol	Xuancheng Baicao Plants Industry & Trade co.lid, Shanghai, China
Salicylsäure	GfM, Bremen, Deutschland
Ibuprofen	Sigma Aldrich, Steinheim, Deutschland
Butylresorcinol	Hangzhou Dayangchem Co, Hangzhou, China
Magnolia Extrakt	Layn Natural Ingredients Corp., Guangxi, China
Süßholz Extrakt	Maruzen Chemicals Co., Osaka, Japan
Diclofenac Natriumsalz	Sigma Aldrich, Steinheim, Deutschland
Vanillylbutylether	Lipo Chemicals, Paterson, USA
Bakuchiol	Natural Remedies, Bangalore, Indien
<i>Organische Lösungsmittel</i>	
2-Propanol, LiChrosolv	Merck, Darmstadt, Deutschland
Ethanol, LiChrosolv	Merck, Darmstadt, Deutschland
Methanol, LiChrosolv	Merck, Darmstadt, Deutschland
Acetonitril, LiChrosolv	Merck, Darmstadt, Deutschland
Tetrahydrofuran, LiChrosolv	Merck, Darmstadt, Deutschland
Ethylacetat	Merck, Darmstadt, Deutschland
Isohexan	Merck, Darmstadt, Deutschland
Cyclohexan	Merck, Darmstadt, Deutschland
<i>Säuren</i>	
Phosphorsäure, LiChrosolv	Merck, Darmstadt, Deutschland
Ameisensäure, LiChrosolv	Merck, Darmstadt, Deutschland
<i>Füllstoffe</i>	
Cellulose Vitacel L 600-30	J. Rettenmaier & Söhne GmbH&Co. KG, Rosen- berg, Deutschland
Polyvinylpyrrolidon Luviskol K30	BASF SE, Ludwigshafen, Deutschland
<i>Trennpapiere und Trägermaterial</i>	
CLPET	Loparex, Apledoorn, Niederlande
Viskose/Polyester 70/30 Flies Jakob Holm	Jacob Holm, Mildenau, Deutschland
<i>Salze</i>	
NaCl	Merck, Darmstadt, Deutschland
Dinatriumhydrogenphosphat (Na ₂ HPO ₄)	Merck, Darmstadt, Deutschland

Natriumdihydrogenphosphat (NaH ₂ PO ₄)	Merck, Darmstadt, Deutschland
<i>Keratinbestimmung</i>	
humanes Keratin	Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland
Chromotrope FB	Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland
H ₂ SO ₄	Merck, Darmstadt, Deutschland
NaOH	Merck, Darmstadt, Deutschland

12.1.2 Klebmassen

Es wurden folgende kommerziell erhältliche Klebmassen in dieser Arbeit verwendet.

Tabelle 12-2 kommerziell erhältliche Klebmassen

Material	Hersteller
Duro-Tak H1540	Henkel, Düsseldorf, Deutschland
Duro-Tak [®] 180-129A	Henkel, Düsseldorf, Deutschland
Gelva [®] GMS 737-01	Cytec Industries Inc., Woodland, NJ, USA
Gelva [®] GME 3011	Cytec Industries Inc., Woodland, USA
BIO-PSA 7-4202	Dow Corning, Midland, MI, USA
MDX4-4210 Bio Medical Grade Elastomer	Dow Corning, Midland, MI, USA
MG 7-9900 Soft Skin Adhesive A&B	Dow Corning, Midland, MI, USA
Medical Adhesive Silicone Type A	Dow Corning, Midland, MI, USA

12.1.3 Zellkulturmaterialien

Tabelle 12-3 verwendete Zellkulturmaterialien

Material	Hersteller
<i>Zellen</i>	
EpiDerm [™] EPI-200-X	MatTek Corp., Ashland, USA
MelanoDerm [™] MEL-312-B	MatTek Corp., Ashland, USA
Fibroblasten	BDF, Beiersdorf, Deutschland
<i>Medium</i>	
EPI-100	MatTek Corp., Ashland, USA
EPI-100-LLMM-855	MatTek Corp., Ashland, USA
DMEM	Gibco, Karlsruhe, Deutschland
Trypsin	PAA, Linz, Österreich

MTT	Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland
PBS (steril)	MatTek Corp., Ashland, USA
Stanzen (steril)	Biopsy Punch, Stiefel, Deutschland
Fötales Kälberserum (FCS)	PAA, Linz, Österreich
Glutamax	Invitrogen, Karlsruhe, Deutschland
Penicillin-Streptomycin	Invitrogen, Karlsruhe, Deutschland
DMSO Zellkultur grade	AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland

12.1.4 Analysekits

Es wurde HTRF ELISA-Kits für PGE₂, TNF- α und IL-6 der Firma Cisbio international (Frankreich) verwendet.

12.2 Geräte

Es wurden folgende Geräte in dieser Arbeit verwendet.

Tabelle 12-4 verwendete Geräte

Gerät	Hersteller
Analysenwaage AT 460 Delta Range	Mettler, Gießen, Schweiz
Laborwaage LE 4202 S	Sartorius AG, Göttingen, Deutschland
Zentrifuge 5417 R	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Brutschrank HERAcell	Heraeus, Hanau, Deutschland
Pipette 10-100 μ L, 200-1000 μ L	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Multipette xx μ L-50 mL	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
SAFIRE	Tecan, Männedorf, Deutschland
Trockenschrank LUT 6050	Heraeus, Hanau, Deutschland
Stanzeisen (10mm, 22mm, 25mm Durchmesser)	BDF, Hamburg, Deutschland
Ultraschallbad Branson 5510E-MT	Emerson Electric Co., USA
Raman-Mikroskop alpha500	WITec, Ulm, Germany
UV-Simulator Oriel	Oriel Instruments, Stanford, CT, USA
Franzzellen	Glasbläserei Brunswieg, Hamburg
RheoStress 6000	Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA

12.3 Analytik

Folgende Geräte und Methoden wurden zur Analyse der Wirkstoffgehalte in dieser Arbeit verwendet.

Tabelle 12-5 Analytikgeräte

Gerät	Hersteller
<i>HPLC</i>	
Merck LaChrome Elite HPLC System	Merck Hitachi, Pleasanton, Kanada
Pumpe L 7100	Merck Hitachi, Pleasanton, Kanada
Autosampler L 7250	Merck Hitachi, Pleasanton, Kanada
Diode Array Detektor L 7455	Merck Hitachi, Pleasanton, Kanada
Floureszenz Detektor L 7480	Merck Hitachi, Pleasanton, Kanada
<i>LC-MS</i>	
Agilent HPLC System	Agilent, Waldbronn, Deutschland
Massenspektrometer Agilent MSD1	Agilent, Waldbronn, Deutschland
<i>Säulen</i>	
Gemini C18 (5µm, 100 · 4,6 mm)	Phenomenex, USA
Purospher RP 18e (5µm, 125 · 4 mm)	Merck KGaA, Darmstadt
Purospher RP 8e (5µm, 125 · 4 mm)	Merck KGaA, Darmstadt
Synergie Hydro RP (150x4,6 mm, 4µm)	Phenomenex, USA
Lichrosphere-100 (250 mm × 4.6 mm, 5 µm)	Merck KGaA, Darmstadt

12.3.1 Methoden

Tabelle 12-6 verwendete Säule und Wellenlänge zur Detektion für die unterschiedlichen Wirkstoffe

	Säule	Wellenlänge
Rucinol	Gemini C18	282nm
Paeonol	Gemini C18	275nm
Salicylsäure	Gemini C18	205nm
Magnolia	Gemini C18	292nm
Ibuprofen	Purospher RP 18e	214nm
Bakuchiol	Synergie Hydro RP	262nm
VBE	Purospher RP 8e	280nm
Diclofenac	Lichrosphere-100	280nm

Aciclovir	Synergie Hydro RP	
-----------	-------------------	--

Tabelle 12-7 HPLC-Methode Rucinol

Zeit [min]	Methanol [%]	H ₂ O + 0,1% H ₃ PO ₄ [%]
0	70	30
10	90	10
10,1	100	0
15	100	0
15,5	70	30
20	70	30

Tabelle 12-8 HPLC-Methode Magnolia

Zeit [min]	Methanol [%]	H ₂ O + 0,1% H ₃ PO ₄ [%]
0	30	70
7	100	0
13,5	100	0
14	30	70
20	30	70

Tabelle 12-9 HPLC-Methode Salicylsäure

Zeit [min]	Acetonitril [%]	H ₂ O + 0,1% H ₃ PO ₄ [%]
0	25	75
5	25	75
7	90	10
10	25	75

Tabelle 12-10 HPLC-Methode Ibuprofen

<u>min</u>	H ₂ O + 0,1% H ₃ PO ₄ [%]	Acetonitril [%]
0	55%	45%
14	55%	45%
15	0%	100%
20	0%	100%
21	55%	45%

Tabelle 12-11 HPLC-Methode VBE

Zeit [min]	H ₂ O + 0,1% H ₃ PO ₄ [%]	Acetonitril [%]
0	65	35
4	0	100
7	0	100
8	65	35
11	65	35

Tabelle 12-12 HPLC-Methode Bakuchiol

Zeit [min]	Methanol [%]	H ₂ O + 0,1% H ₃ PO ₄ [%]
0	60	40
14	85	15
20	95	5
26	60	40
32	60	40

Tabelle 12-13 HPLC-Methode Diclofenac

Zeit [min]	Methanol [%]	H ₂ O + 0,1% H ₃ PO ₄ [%]
0	80	20
20	80	20
21	100	0
25	100	0
26	80	20
30	80	20

Aciclovir wurde mit einer mobilen Phase von 98% H₂O, 2% Methanol (+0,08% Trifluoressigsäure) detektiert. Dabei wurde kein Gradient verwendet.

12.4 Musterherstellung

Während der Herstellung der TDDSs wurden die folgenden Geräte verwendet.

Tabelle 12-14 Geräte zur Herstellung von TDDSs

Gerät	Hersteller
Laborkneiter MKD 0,6 - H60	IKA, Staufen, Deutschland
Thermalbad MV-4	Julabo, Seelbach, Deutschland
Drehzahlregler RE162/P	IKA, Staufen, Deutschland
Temperaturfühler DTM 12	IKA, Staufen, Deutschland
Rührer	IKA, Staufen, Deutschland
Rakel	BDF, Hamburg, Deutschland
Streichtisch	BDF, Hamburg, Deutschland
Presse Servitec Polystat 200 T	Servitec Maschinenservice, Wustermark, Deutschland

12.4.1 Zusammensetzungen

Die unterschiedlichen Zusammensetzungen der in dieser Arbeit verwendeten TDDSs sind im Folgenden zusammengefasst.

Tabelle 12-15 Zusammensetzung in Gew. % bei der Herstellung der TDDSs von zugekauften Systemen

	Klebmasse	IPM	Declyoleat	1,2-Propandiol	Ölsäure	Wirkstoff
Duro-Tak [®] H1540	84,2	4,8	10	-	-	1
Duro-Tak [®] 180-129A	84,2	4,8	10	-	-	1
	83,5	-	-	8	7,5	1
Gelva [®] GMS 737-01	84,2	4,8	10	-	-	1
	83,5	-	-	8	7,5	1
Gelva [®] GME 3011	84,2	4,8	10	-	-	1
	83,5	-	-	8	7,5	1
BIO-PSA 7-4202	94,2	4,8	-	-	-	1
	92,8	-	-	6,2	-	1
MDX4-4210	91,6	2,4	5	-	-	1
MG 7-9900	91,6	2,4	5	-	-	1
Medical Adhesive Silicone Type A	91,6	2,4	5	-	-	1

Tabelle 12-16 Zusammensetzung der verschiedenen Polyisobutylen Klebmassen in Gew.%

	PIB	B200	B150	B80	PIB 1000	B12
Oppanol B200	-	45,2	-	-	-	-
Oppanol B150	-	-	45,2	-	-	-
Oppanol B80	21	-	-	45,2	45,2	-
Oppanol B12	22	27	27	27	27	84,2
Oppanol B10	12	12	12	12	-	-
PIB 1000	-	-	-	-	12	-
Cellulose	29,2	-	-	-	-	-
Decyloleat	10	10	10	10	10	10
IPM	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8	4,8
Wirkstoff	1	1	1	1	1	1

Tabelle 12-17 Zusammensetzung des feuchtklebenden Films in Gew. %

Wasser	Natriumpolyacrylat	PVA	PAS	Propandiol	Ölsäure	Wirkstoff
49	4	32	4	5	5	1

Tabelle 12-18 Zusammensetzung der SIS/DMSO Klebmasse in Gew.%

B10	Kraton	Regalite	SE10	PVP	Propandiol	DMSO	Ölsäure	Wirkstoff
21,75	15	16	9,75	17	8	4	7,5	1

12.5 Software

Excel

Statstica

ChemBio Draw

EndNote X2, Niles (CA), USA

BDF Skin Tools

12.6 Raman-Spektren

Die Raman-Spektren der verschiedenen Wirkstoffe sind im Folgenden dargestellt.

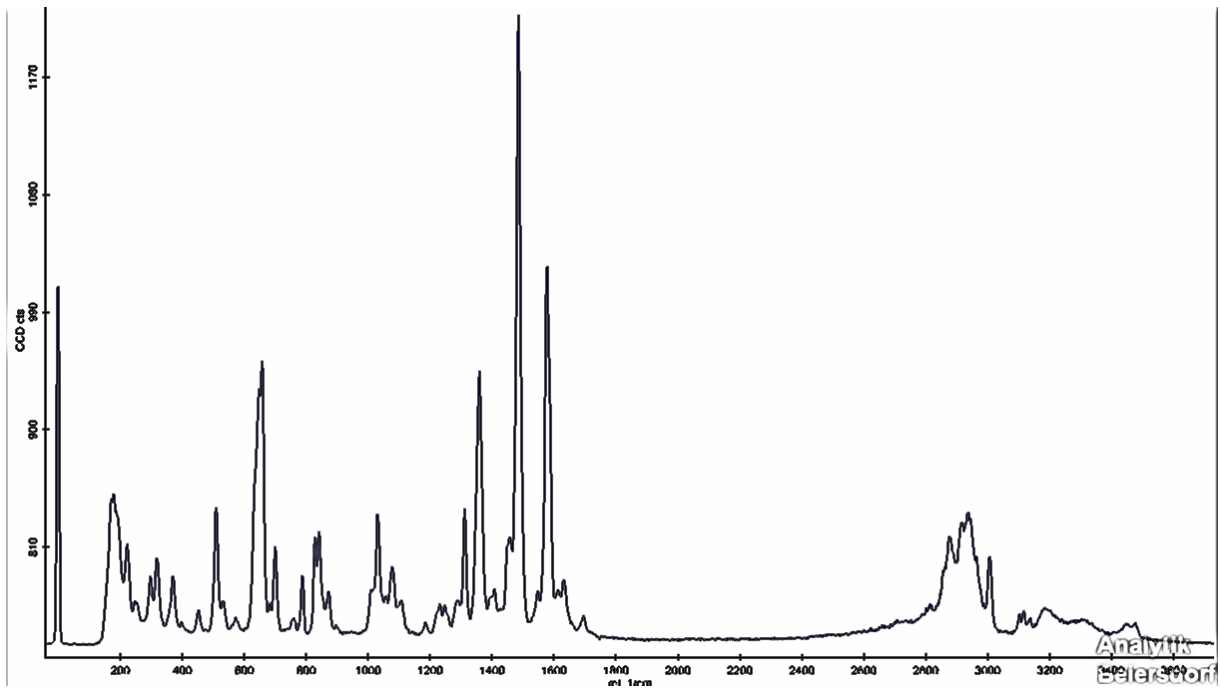


Abbildung 12-1 Raman-Spektrum von Aciclovir

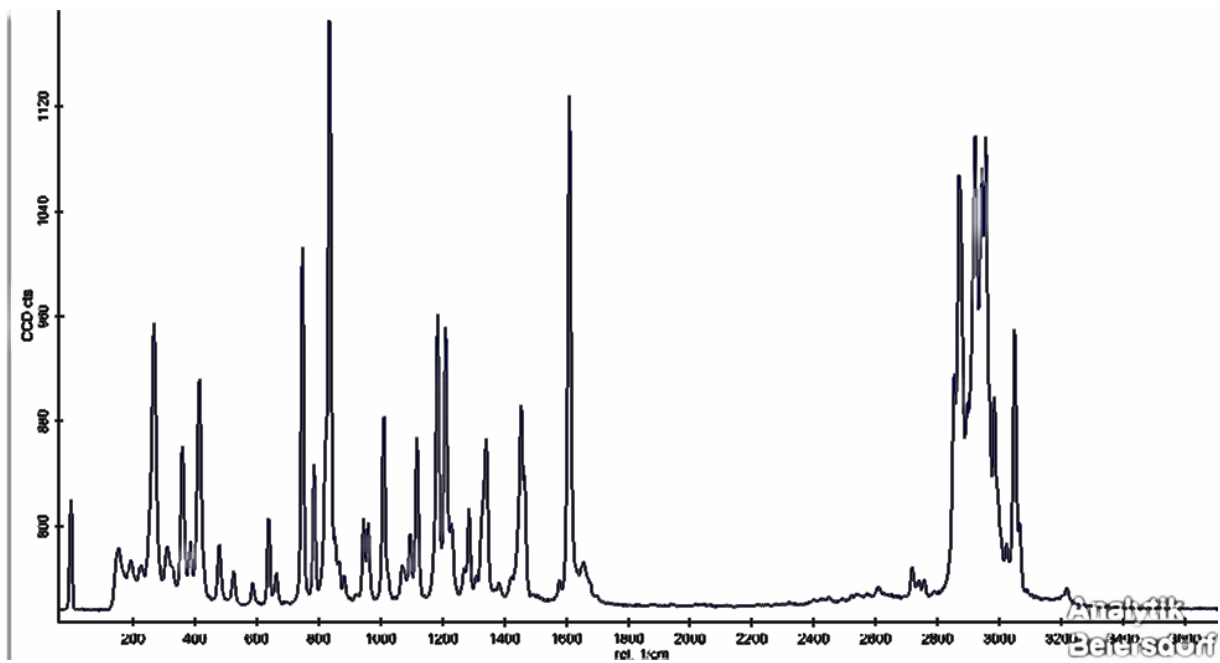


Abbildung 12-2 Raman-Spektrum von Ibuprofen

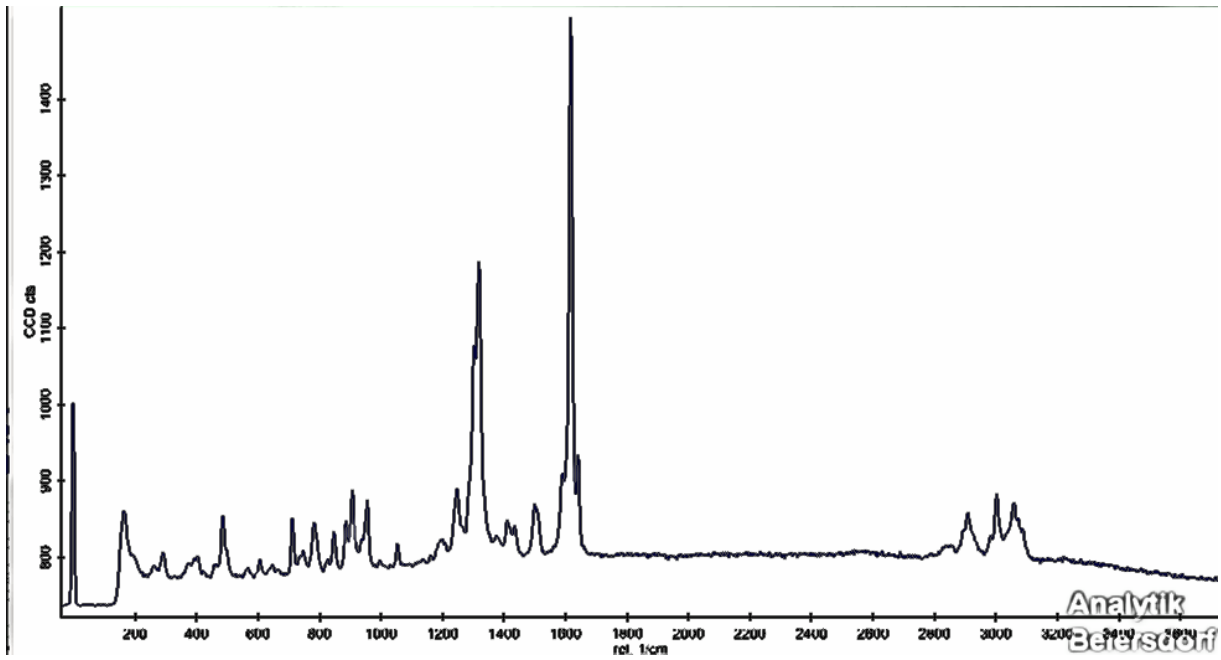


Abbildung 12-3 Raman-Spektrum des Magnolia Extraktes

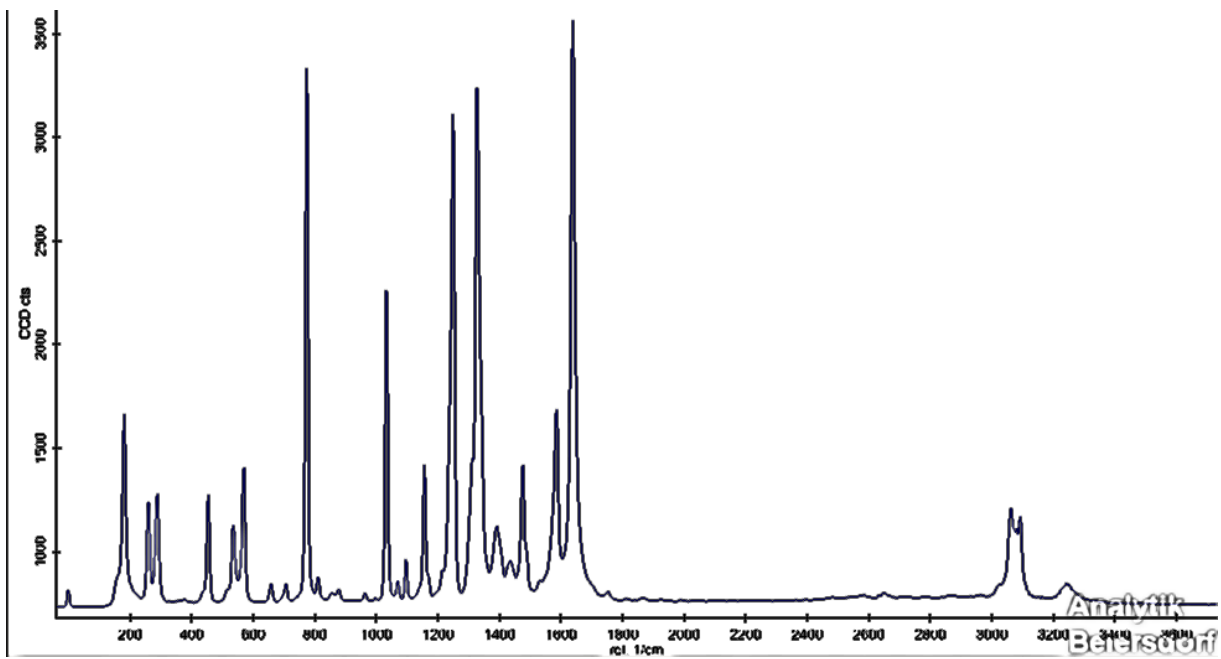


Abbildung 12-4 Raman-Spektrum von Salicylsäure

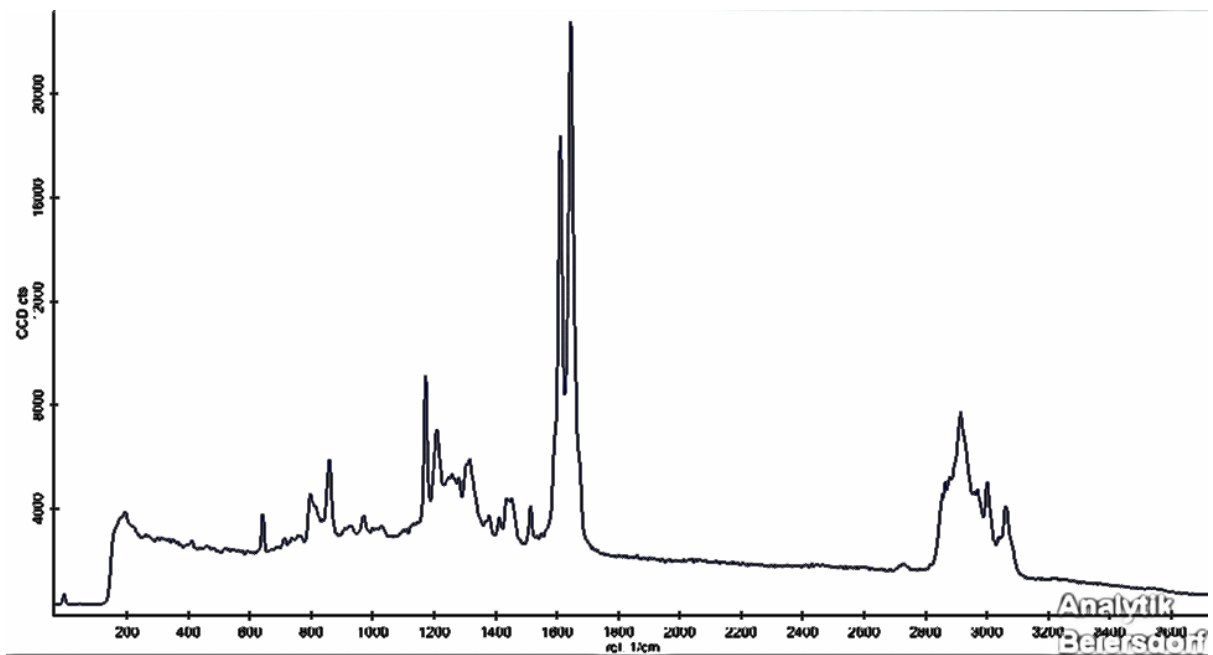


Abbildung 12-5 Raman-Spektrum von Bakuchiol

12.7 3D-Plots PIB-Masse

Die weiteren 3D-Plot der verschiedenen PIB-Massen sind im Folgenden dargestellt.

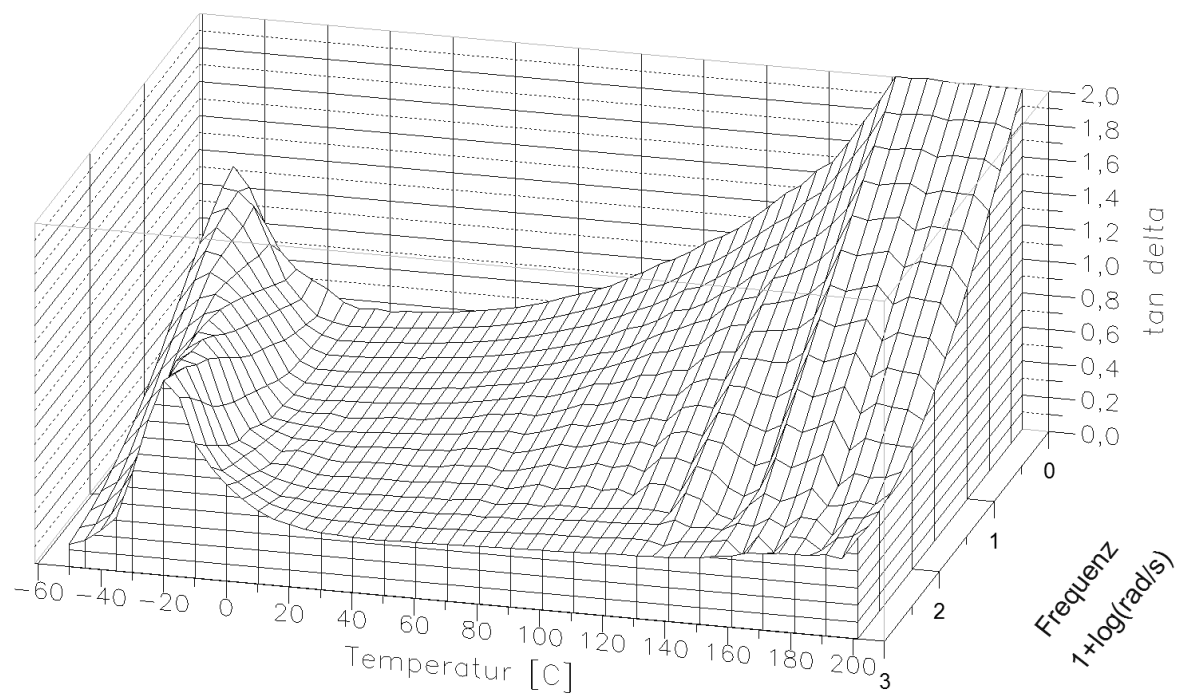


Abbildung 12-6 B80

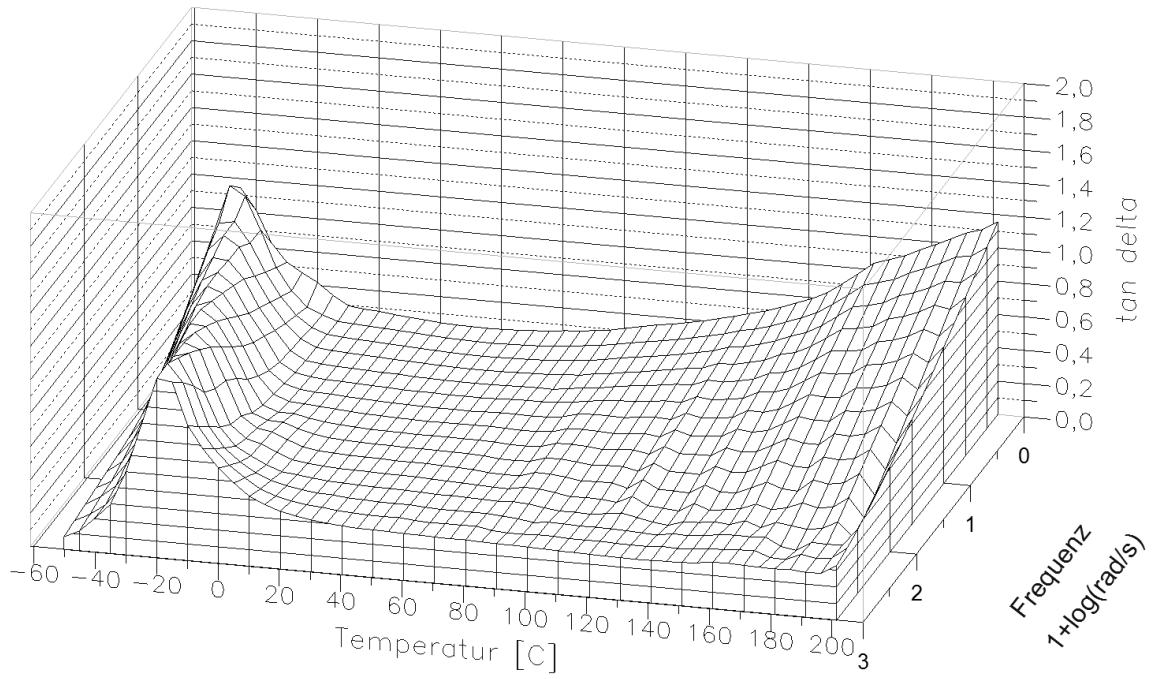


Abbildung 12-7 B150

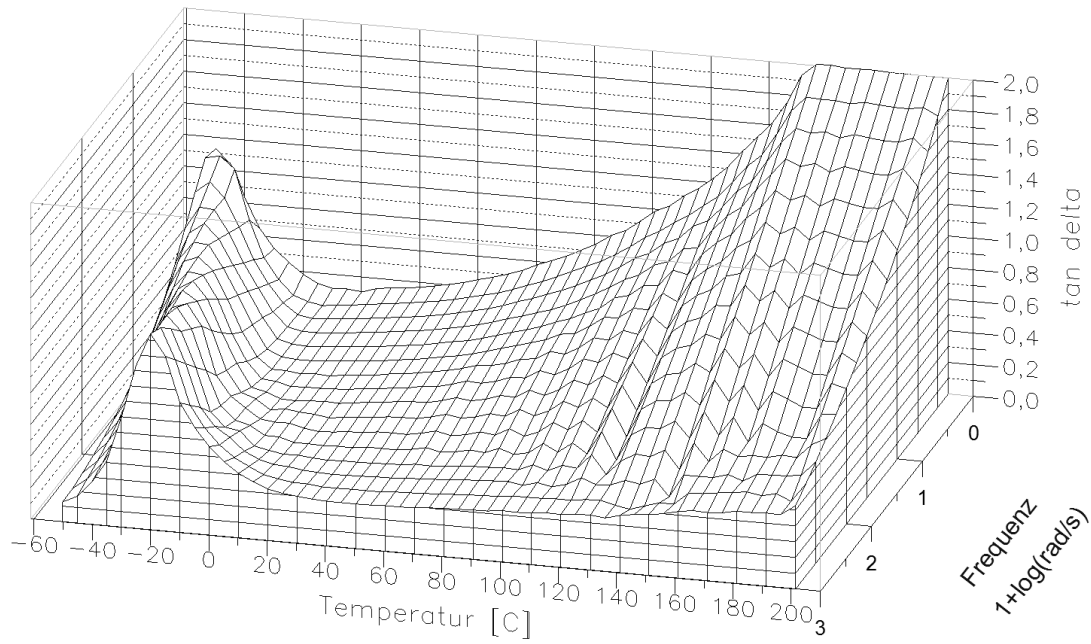


Abbildung 12-8 PIB 1000

12.8 Veröffentlichungen

Meyer, S., Peters, N., Mann T., Wolber, R. Pörtner, R., Nierle, J.: In vitro efficacy and release study of anti-inflammatory drugs incorporated in an adhesive using human skin models (Supplement of International Journal of Cosmetic Science, 7th Stratum Corneum Conference 2012 (Poster Nr. 30))

Meyer, S., Peters, N., Mann, T., Wolber, R., Pörtner, R., Nierle, J.: In vitro efficacy and release study with anti-inflammatory drugs incorporated in adhesive transdermal drug delivery systems. *Journal of pharmaceutical science* (2014), 103 (4), p. 1142-1148.

Meyer, S., Heinsohn G., Wolber, R., Pörtner, R., Nierle, J.: Confocal Raman investigation of diffusion processes in monolithic type transdermal drug delivery systems. *Drug Delivery* (2014), doi:10.3109/10717544.2014.889778.

Meyer, S., Heinsohn, G., Wolber, R., Pörtner, R., Nierle, J.: Transdermale Pflaster Systeme: Untersuchung von Diffusionsprozessen während der Applikation auf Schweinehaut, Vortrag 9. Hamburger Studententagung zur Medizin- und Biotechnologie (2012).

Wöller, K.-H., Meyer, S., Peters N., Eckert, J., Neufang, G.: DE 10 2010 032 586: Hautauflage mit optimierter Wirkstofffreisetzung, Deutsches Patent und Markenamt (2012)

12.9 Lebenslauf

Geburtsdatum/-ort 09.06.1985, Hamburg

Berufstätigkeit & Praktika

Seit 04/2013 Labor- und Projektmanagerin Qualitätsmanagement,
BSN medical GmbH

01/2010 – 03/2013 Wissenschaftliche Mitarbeiterin im Bereich Prototyping
Health Care der Beiersdorf AG in Kooperation mit dem
Institut Bioprozess und Biosystemtechnik an der Tech-
nischen Universität Hamburg-Harburg

11/2008 – 03/2009 Fachpraktikum bei der Beiersdorf AG im Bereich Health
Care

09/2008 – 10/2008 Grundpraktikum bei Phoenix Compounding GmbH

Ausbildung

10/2004 – 11/2009 Studium der Biotechnologie - Verfahrenstechnik an der
Technischen Universität Hamburg-Harburg
Abschluss: Diplom Ingenieur, Note 1,8

05/2009 – 11/2009 Diplomarbeit am Institut Bioprozess und Biosystem-
technik
Thema: Konstruktion und Betrieb eines Bioreaktors zur
3D Kultivierung humaner und tierischer Zellen für Toxi-
zitätstests

10/2006 Erhalt des Vordiploms, Note 2,0

1997-2004 Gymnasium Neu Wulmstorf
Abschluss: Abitur, Note 1,9