



DIPLOMARBEIT

Einfluss kationischer Polymere und Phytosphingosin auf die Hautdiffusion von Minoxidil- und Aciclovir-hältigen DPPC-Liposomen

zur Erlangung des akademischen Grades
Magister/a Pharmaciae (Mag.pharm.)
an der Fakultät für Lebenswissenschaften
der Universität Wien

Verfasser/in: Kerstin FISCHINGER
Matrikelnummer: 0303943
Studienrichtung: Pharmazie (A449)
Begutachter: Ao. Univ-Prof. Dr. Claudia Valenta

Wien, im Oktober 2009

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung	4
2. Allgemeiner Teil.....	7
2.1. Die Haut	7
2.2. Liposomen.....	10
2.3. Hilfsstoffe	12
2.3.1. Polymere	12
2.3.1.1. Chitosan.....	12
2.3.1.2. Eudragit EPO.....	14
2.3.1.3. Phytosphingosin	15
2.4. Modellwirkstoffe.....	16
2.4.1. Minoxidil.....	16
2.4.2. Aciclovir	18
3. Formulierungen	20
3.1. Herstellung der DPPC Liposomen.....	20
3.2. Einarbeitung der Wirkstoffe	20
3.3. Zugabe von Phytosphingosin.....	20
3.4. Zugabe der Polymere.....	21
4. HPLC Analytik.....	23
4.1. Minoxidil	23
4.2. Aciclovir.....	25
5. Physikalisch - chemische Stabilität	28
5.1 Teilchengröße, Zetapotential und Polydispersitätsindex.....	28
5.2. Durchführung der Stabilitätsmessungen.....	29
6. Hautdiffusionsstudien.....	30

6.1. Durchführung	31
7. Thermoanalytische Analyse	33
8. Ergebnisse	36
8.1. Physikalisch-chemische Stabilität.....	36
8.2 Hautdiffusionsstudien mit Minoxidil	39
8.3 Hautdiffusionsstudien mit Aciclovir.....	40
8.4 Micro-DSC-Messungen.....	42
9. Diskussion	45
10. Zusammenfassung	47
11. Anhang	49
11. Literaturverzeichnis.....	66
12. Lebenslauf.....	72

1. Einleitung

Aufgrund des immer größeren Verständnisses von Krankheiten und auch des höheren Anspruches an Medikamente am Ort des Geschehens zu wirken, sind Entwicklungen im Gange, neue Abgabesysteme zu entwickeln. Zu diesen gehören Liposomen. Eines der ersten liposomal verpackten Medikamente war das Breitband-Antimykotikum Amphotericin B mit dem Handelsnamen AmBisome®, das bei schweren systemischen Mykosen als Infusionslösung verabreicht wurde. Bei liposomalem Amphotericin konnte die Nephrotoxizität des herkömmlichen, gelösten Amphotericin B um ein Vielfaches gesenkt werden. Zur Behandlung des bei Krebs häufig auftretenden Kaposi-Sarkoms wurde Daunorubicin in Liposomen verpackt und damit die Kardiotoxizität drastisch reduziert. Der Vorteil der Liposomen liegt darin, dass die verwendeten Liposomen so groß sind, dass sie zwar nicht in gesundes Gewebe eindringen können, sehr wohl aber in das poröse Endothel einer Krebszelle. Amphotericin B wird beispielsweise in die Doppelschicht der unilamellaren Liposomen eingebaut und durch Interaktion mit der Pilzzelle aus diesen wieder freigesetzt. Bei Daunorubicin wiederum stellte sich anhand von Studien heraus, dass durch Einlagerung in den wässrigen Innenraum eine weitaus bessere Freisetzung und Wirksamkeit erzielt werden konnte, da die Liposomen über einen längeren Zeitraum im Plasma stabil waren und ein geringerer Substanzverlust auf dem Weg zum Tumor verzeichnet werden konnte. Ausserdem zeigte sich, dass liposomales Daunorubicin nur zu einem geringen Anteil in das Herzgewebe, aber verstärkt in Tumorzellen, aufgenommen wird. Die Stabilität beider Zubereitungen ist über einen längeren Zeitraum nicht gewährleistet, sodass sie im Handel als Lyophilisate verfügbar sind

und erst kurz vor ihrem Einsatz zu einer liposomalen Dispersion umgewandelt werden (1).

Neben der parenteralen Anwendung können Liposomen auch in Dermatika und Kosmetika angewendet werden. Auch ohne Wirkstoff finden sie in der Kosmetik als hautbildverbessernde Formulierungen Verwendung (2). Als topische Präparate sind Liposomen ein ideales Hilfsmittel damit hydrophile Substanzen besser in die Haut diffundieren können, sowie zur Inkorporation von dermatologischen Problemwirkstoffen. Es wird auch diskutiert, ob Liposomen hydrolyseempfindliche, oder zur Instabilität neigende Stoffe, schützen könnten (3). Als registriertes topisches Arzneimittel findet man Pevaryl Lipogel® zur Behandlung von Mykosen, oder Diclofenac ratiopharm Gel® und noch viele weitere (4). Es gibt auch Sonnencremes mit Liposomen, wie etwa Daylong® oder Ateia®. Bei Ateia® kommen gleich zwei verschiedene Liposomenvarianten zum Einsatz. Zum einen Photosome®, die bei Tageslicht aktiviert werden sollen und Ultrasome®, die bei Nacht den Reparaturmechanismus der Haut anregen sollen, zusammengefasst unter dem Namen Nopasome®, wobei ein DNA-Reparaturenzym mit einem Spezial-Extrakt aus dem Nopal-Kaktus in Liposomen verpackt ist und über 24 Stunden seine Wirkung entfalten soll (5). Durch Sanosop® wurde in der Therapie der androgenen Alopezie ein weiterer Fortschritt durch in Liposomen verpacktes Minoxidil erzielt. Die Liposomen, die aus Sojalecithin bestehen, sollen den Wirkstoff zur Haarwurzel transportieren und gleichzeitig die Kopfhaut pflegen. Bei dem registrierten Präparat Regaine®, bei dem Minoxidil in einer Lösung von Alkohol und Propylenglycol auf die Kopfhaut aufgetragen wird, kommt es immer wieder bei einigen Patienten zu Schuppenbildung und Rötungen (6).

Ein großes Problem bei den Liposomen stellt ihre unzureichende physikalische Stabilität dar. Daher sollte in der vorliegenden Arbeit untersucht werden, ob ein Zusatz der beiden kationischen Polymere Chitosan und Eudragit EPO diese erhöhen können. In einer vorhergegangenen Arbeit konnte gezeigt werden, dass Phytosphingosin, ein natürlich in der Haut vorkommendes Sphingoid, einen positiven Einfluss auf die Wirkstoffpermeation verschiedener Arzneistoffe ausüben kann. Daher sollte auch der Einfluss von Phytosphingosin auf die physikalische Stabilität und die Hautpermeation untersucht werden. Als Modellarzneistoffe wurden das hydrophile Aciclovir und das hydrophobere Minoxidil eingesetzt.

2. Allgemeiner Teil

2.1. Die Haut

Die Haut ist das größte menschliche Organ und bietet Schutz gegenüber schädlichen äußeren Einflüssen. So können beispielsweise durch den Säureschutzmantel der Haut bakterielle Gefahren abgewehrt werden.

Die Haut wird in drei Schichten eingeteilt: die Epidermis (Oberhaut), Dermis oder Corium (Lederhaut) und die Subkutis (Unterhaut). Die Epidermis ist ein je nach Hautareal zwischen 0,1 mm bis 1 mm dickes, nach außen verhorntes Plattenepithel, in dem sich keine Blutgefäße befinden. Als äußerste Abgrenzung zur Umwelt befindet sich das Stratum corneum, auch Hornschicht genannt, das eine starke Barrierefunktion für die Arzneistoffdiffusion darstellt. Es besteht aus Korneozyten, die nach Umwandlung von Protein zu Keratin vollständig verhornte Zellen darstellen, die in eine Lipiddoppelschicht eingebettet sind. Das Stratum corneum unterscheidet sich deutlich vom Aufbau anderer Membranen in der Hinsicht, dass keine lebenden Zellen und keine Phospholipide, jedoch Ceramide, Cholesterolester, freie Fettsäuren und Cholesterol vorhanden sind (2, 7). Oft wird es auch als Ziegel-Mörtel-Prinzip beschrieben, wobei die Korneozyten die Ziegel und die Ceramiddoppelschichten den Mörtel darstellen sollen. Die große Stabilität und Elastizität kann dadurch begründet werden, dass die Korneozyten kleine Haken besitzen mit denen sie sich miteinander verbinden (8). Eine andere Erklärung dafür, könnte auch Ceramid 1 sein, eines von zahlreichen Lipiden, das den Raum zwischen den Korneozyten ausfüllt und das durch seine lange Fettsäurekette bis in die nächste Ceramiddoppelschicht hineinragt und so das gesamte System stabilisiert (8, 7).

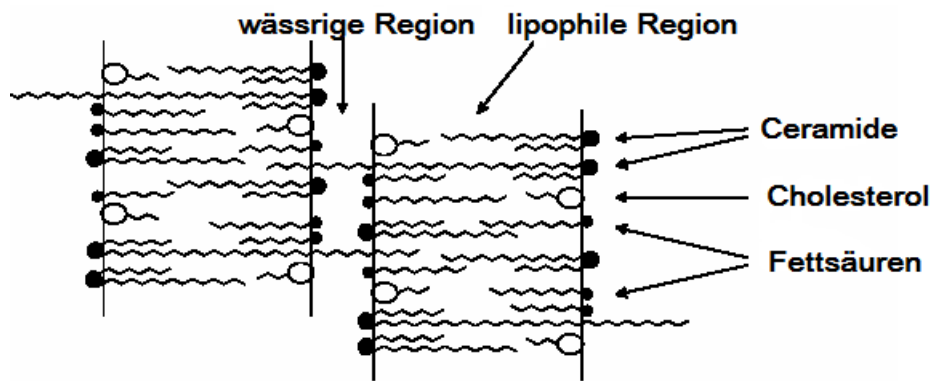


Abb. 1: Ceramiddoppelschicht des Stratum corneums (7)

Die Ceramiddoppelschicht des Stratum corneum stellt durch ihre lipophilen und hydrophilen Bereiche eine Barriere für rein lipophile und rein hydrophile Substanzen dar. Am „leichtesten“ können lipophile Substanzen, die zugleich eine gewisse Wasserlöslichkeit aufweisen, durch das Stratum corneum permeieren. Da Haarfollikel (transfollikulär), Schweiß- und Talgdrüsen (transglandulär) prozentual gesehen nur einen sehr geringen Teil der Hautoberfläche ausmachen, fällt der durch diesen Weg aufgenommene Arzneistoff kaum ins Gewicht (1).

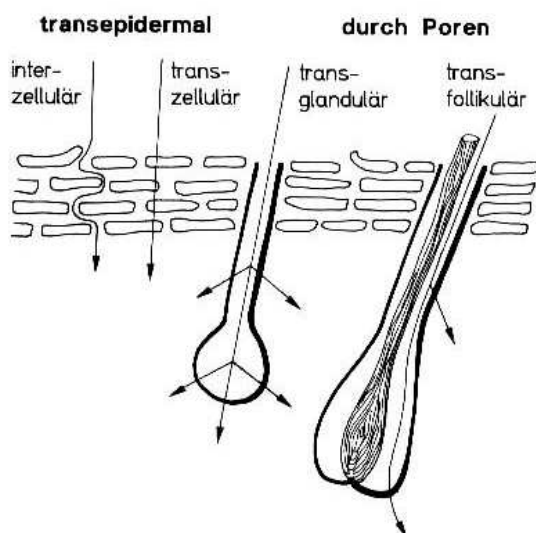


Abb. 2: Transportwege verschiedener Substanzen durch die Haut (9)

Eine weit wichtigere Rolle bei der Permeation durch das Stratum corneum spielt der interzelluläre Weg. Man fand heraus, dass durch Extraktion der Lipide aus der Haut die Permeation verbessert werden konnte, während durch den Einsatz keratolytischer Mittel kein so guter Erfolg erzielt wurde. In Abhängigkeit der chemischen Eigenschaften, dem O/W Verteilungskoeffizienten und dem Diffusionskoeffizienten diffundiert die Substanz durch die lipophilen Bereiche oder entlang der hydrophilen Gruppen. Polare Arzneistoffe benützen meist den transzellulären Weg durch die Haut, während apolare meist den interzellulären Weg wählen (10).

Um nun die Diffusion durch das Stratum corneum zu erleichtern, stehen mehrere Möglichkeiten zur Verfügung. Zum einen kann man durch eine Okklusionsschicht die Diffusion verbessern, da durch die mangelhafte Abgabe von Wasserdampf die Haut „quillt“ (11). Zum anderen können Enhancer eingesetzt werden, die, so wird vermutet, durch Wechselwirkung mit den Korneozyten die Bindungskräfte schwächen und zu einer Änderung der Helixkonformation führen. Auch eine gewisse Fähigkeit zur Porenbildung wird diskutiert (7). Ebenso können Phospholipide und andere Substanzen, wie etwa Ölsäure, als Penetrationsförderer fungieren, da sie durch Wechselwirkung mit den Bestandteilen des Stratum corneums in dieses eingebaut werden und so die Lipidstruktur der Haut auflockern (3). Ethylalkohol verfügt ebenfalls über die Eigenschaft eines Penetrationsenhancers. Er löst die Lipide und Proteine aus dem Stratum corneum heraus und erhöht somit die Hautdiffusion verschiedener Substanzen (7). Eine Penetrationserhöhung von Stoffen durch das Stratum corneum kann ebenfalls dadurch erfolgen, dass Enhancer mit polaren Eigenschaften, wie etwa Wasser, mit den polaren Kopfgruppen des Lipids interagieren und als Folge dessen die Hydratationssphäre dieser Gruppen und auch

ihre Wechselwirkungen untereinander nicht mehr einwandfrei funktionieren können und dadurch eine Änderung der Packungsordnung auf polarer Ebene resultiert, die wiederum eine größere laterale Beweglichkeit der lipophilen Reste bewirkt (12).

2.2. Liposomen

Liposomen werden spontan aus ambiphilen Lipiden in wässrigem Milieu gebildet.

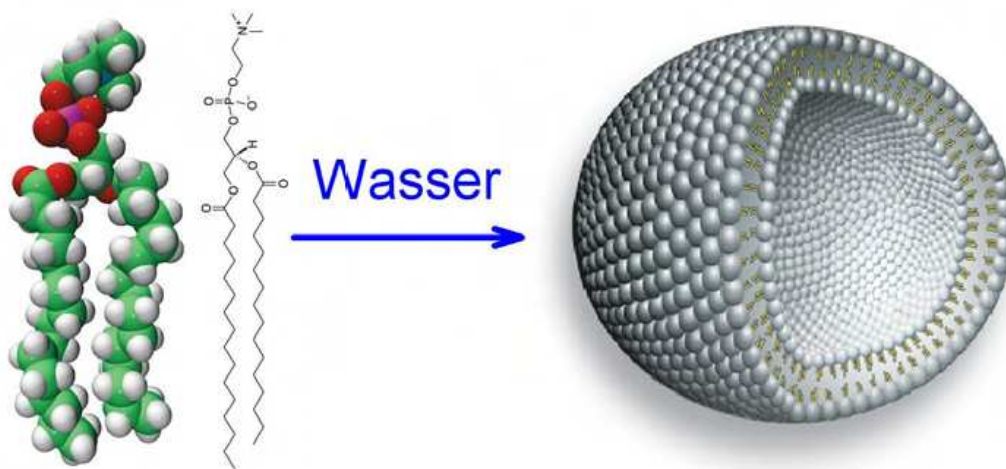


Abb. 3: Entstehung von Liposomen in wässrigem Medium aus Phospholipiden (13)

Liposomen bestehen aus Phospholipiden, die eine hydrophile Kopfgruppe und eine hydrophobe Endgruppe aufweisen. Die hydrophilen Köpfchen umhüllen im wässrigen Medium einen wässrigen Kern und können eine oder mehrere Lipiddoppelschichten, die auch als Bilayer bezeichnet werden, ausbilden.

Es gibt unilamellare Liposomen, die nur aus einer Phospholipiddoppelschicht aufgebaut sind, die wiederum in kleine unilamellare Liposomen (small unilamellar vesicles, SUV) mit einem Durchmesser von 20 nm bis 50 nm und in große

unilamellare Liposomen (large unilamellar vesicles, LUV) mit einem Durchmesser von bis zu einigen μm eingeteilt werden können. Andererseits existieren multilamellare Liposomen, die aus mehreren Phospholipiddoppelschichten unterbrochen von wässrigen Schichten bestehen, sowie multivesikuläre Liposomen (multivesicular vesicles, MVV), bei denen mehrere kleine Vesikel von größeren Liposomen umhüllt sind (14).

Bei den Phospholipiden unterscheidet man Glycerophospholipide und Sphingophospholipide. Das hydrophile Köpfchen der Phospholipide besteht aus einem Phosphorsäurediester eines Glycerols, wobei die Phosphatgruppe mit Cholin, Ethanolamin (Colamin), Serin, Inositol oder Glycerol verestert sein kann. Demzufolge werden Phospholipide in Phosphatidyl-Cholin, Phosphatidyl-Ethanolamin, Phosphatidyl-Serin, Phosphatidyl-Inositol und Phosphatidyl-Glycerol eingeteilt (15). Das lipophile Schwänzchen besteht aus zwei, bei den natürlichen Phospholipiden meist unterschiedlichen und bei den synthetischen meist aus zwei identischen Fettsäureresten, die mit den Hydroxylgruppen des zentralen Glycerols verestert sind (16). Liposomen besitzen einen hohen Anteil an Phosphatidylcholin, das sich auch in den menschlichen Zellmembranen befindet. Phosphatidylcholin wird aus der Sojapflanze hergestellt und ist durch den hohen Anteil an Linolsäure, einer ungesättigten essentiellen Fettsäure in der Lage, den daraus gebildeten Liposomen eine gewissen Stabilität und Flexibilität zu verleihen (17).

Das in dieser Arbeit verwendete Dipalmitoylphosphatidylcholin (DPPC) besteht zu 99% aus Phosphatidylcholin.

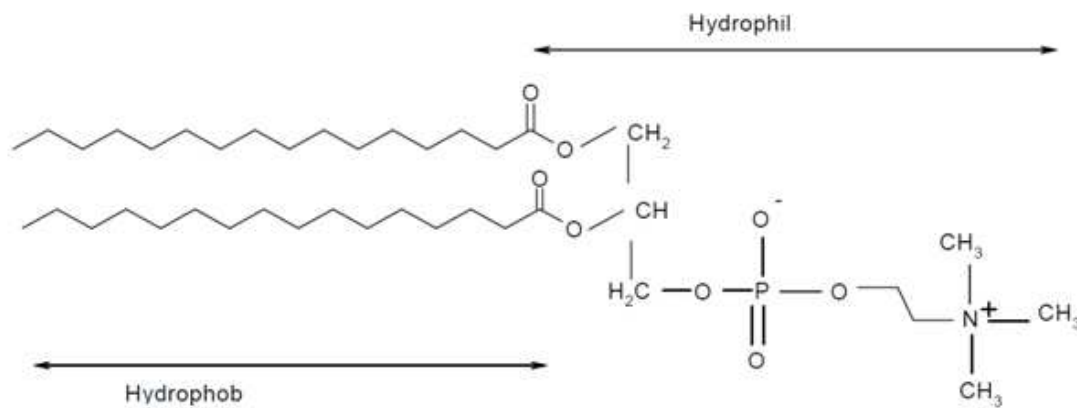


Abb. 4: Chemische Struktur von DPPC (18)

Liposomen können durch ihren amphiphilen Aufbau hydrophile Wirkstoffe in ihrem wässrigen Innenraum und gegebenenfalls Zwischenräumen, lipophile Wirkstoffe in den lipophilen Strukturen der Membran aufnehmen und amphiphile oder geladene Moleküle an ihre Membran adsorbieren (14, 1).

2.3. Hilfsstoffe

2.3.1. Polymere

2.3.1.1. Chitosan

Chitosan ist ein durch Deacetylierung aus Chitin, dem Gerüstpanzer vieler Krustentiere, technisch gewonnenes Biopolymer.

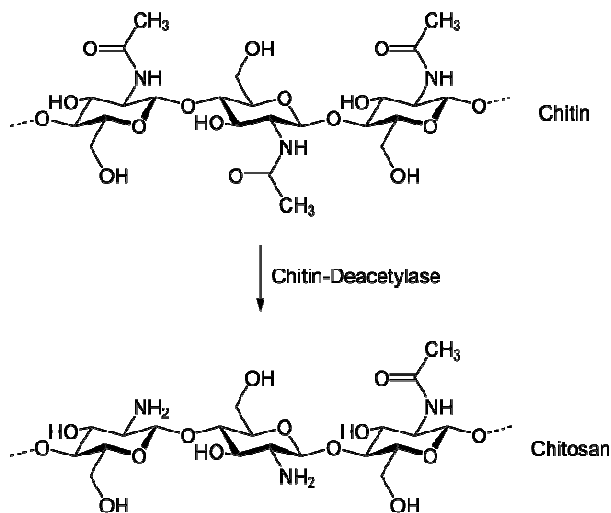


Abb. 5: Umwandlung von Chitin in Chitosan (19)

Die genaue chemische Bezeichnung lautet (1,4)-2-Amino-2-desoxy-β-D-glucan und die Summenformel ist $(C_6H_{11}NO_4)_n$, wobei das "n" für die unterschiedlichen Deacetylierungsgrade steht. Es gibt verschiedene Deacetylierungsgrade von 70% bis 95% im Handel. Das in dieser Arbeit verwendete Chitosan hat einen Deacetylierungsgrad von 95% mit einem Molekulargewicht < 500 kDa. Der Vorteil von Chitosan liegt darin, dass es zum einen biologisch abbaubar und erst ab einer Dosis von 16 g/kg Körpergewicht toxisch ist und zum anderen über bakteriostatische, fungistatische, antiphlogistische und wundheilende Eigenschaften verfügt (19). Es besitzt ebenfalls mucoadhäsive Eigenschaften, die mitunter durch ein hohes Molekulargewicht und die Fähigkeit H-Brücken zu bilden, begründet werden. Eine Substanz mit mucoadhäsiven Eigenschaften besitzt möglicherweise eine längere Verweilzeit an der Schleimhaut, eine verbesserte Lokalisation am gewünschten Applikationsort sowie unter Umständen einen intensivierten Kontakt mit dem betroffenen Hautareal (1, 20, 21, 22, 23).

2.3.1.2. Eudragit EPO

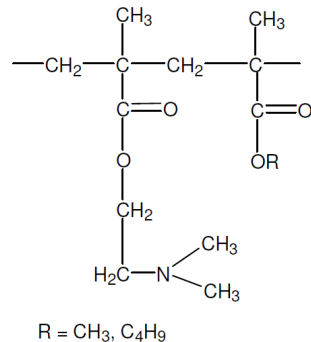


Abb. 6: Chemische Struktur von Eudragit EPO (24)

Eudragit®-Polymere sind Copolymere von Estern von Acryl- und Methacrylsäuren, deren physikochemischen Eigenschaften durch die funktionellen Gruppen bestimmt werden. Eudragit RL und RS mit basischen und NE mit neutralen Gruppen, sind unlöslich, aber werden im Verdauungssaft durchlässig. Polymethacrylate mit sauren oder basischen Gruppen sind im Verdauungssaft durch Salzbildung löslich und ermöglichen eine pH-abhängige Freisetzung von Wirkstoffen. Dazu gehören Eudragit L, S, FS und EPO, das auch in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde. Eudragit EPO ist die pulverisierte Form von Eudragit E100, das als Granulat im Handel erhältlich ist (25). Die genaue chemische Bezeichnung lautet Butyl-methacrylat-(2-Dimethylaminoethyl)methacrylat-Methylmethacrylat-Copolymer. Eudragit EPO besteht aus Methyl- und Butylmethacrylat sowie Dimethylaminoethylmethacrylat im Verhältnis 1:1:2 und ist in saurem Medium bei einem pH unter 5 gut löslich (26). Eudragit EPO verfügt ähnlich wie Chitosan über mucoadhäsive Eigenschaften und soll die Löslichkeit von Substanzen, die in Wasser sehr schlecht löslich sind verbessern (27, 28, 29).

2.3.1.3. Phytosphingosin

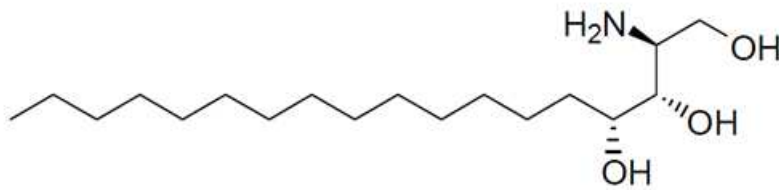


Abb. 7: Phytosphingosin (30)

Phytosphingosin gehört zur Gruppe der Ceramide, die bis zu 50% der Stratum corneum Lipide ausmachen. Es bildet über eine Amidbindung mit Fettsäuren die Ceramide 3 und 6 (31). Alle Ceramide bestehen aus Sphingoidbasen, wobei man zwischen Phytosphingosinen (4-Hydroxysphinganine), Sphingosinen (Sphingenine und Sphinganine) und 6-Hydroxysphingosine differenziert, an deren Stickstoff Fettsäuren gebunden sind (7).

Phytosphingosin hat antimikrobielle Eigenschaften, wirkt sich positiv bei Akne aus und ist antiphlogistisch wirksam (31). Bei physiologischem pH der Haut ist die Aminogruppe von Phytosphingosin protoniert. Phytosphingosin besetzt vermehrt die O/W-Grenzfläche von Liposomen und führt zu einer positiven Oberflächenladung der Liposomen und somit zu einer möglichen Anziehungskraft des negativ geladenen Stratum corneum bei physiologischem pH (7, 32, 33, 34). Phytosphingosin kann zudem die hydrophilen Eigenschaften der Stratum-corneum-Lipide mildern, mit der Konsequenz, dass die Hautdiffusion steigt (31).

2.4. Modellwirkstoffe

2.4.1. Minoxidil

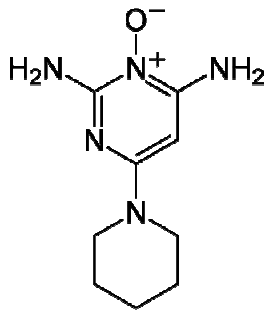


Abb. 8: Strukturformel von Minoxidil (35)

Chemische Eigenschaften (36)

pKa Wert = 4,61

log P* = - 1,61 ± 1,37

Löslichkeit: schwer löslich in Wasser, gut in Methanol, in Wasser-Alkohol-Mischungen und Propylenglycol löslich

Molekulargewicht: 209,3 (g/mol)

Schmelzpunkt: 248 °C

Pharmakologische Wirkung

Minoxidil, ein Piperidino-pyrimidin-diamin-Derivat, steigert die Öffnungswahrscheinlichkeit ATP-abhängiger K-Kanäle und bewirkt infolge dessen eine

* ACD-labs, Version 10.0

Zunahme des Membran-Ruhepotentials (Hyperpolarisation). Dies bewirkt einen verringerten Einstrom von Ca^{2+} -Ionen durch spannungsabhängige Ca^{2+} -Kanäle und durch die dadurch verringerte intrazelluläre Ca^{2+} -Ionenkonzentration kommt es zu einer Abnahme des Tonus der glatten Muskulatur, vor allem in den Arteriolen. All dies hat zur Folge, dass der Blutdruck gesenkt wird. Minoxidil wirkt zwar, im Gegensatz zu den anderen Vertretern aus der Gruppe der Vasodilatoren, mit direktem Angriff an der glatten Muskulatur, länger, doch ist seine Anwendung durch die zahlreichen, mitunter schweren, Nebenwirkungen auf Hypertoniker beschränkt, bei denen die herkömmliche antihypertensive Therapie versagt hat.

Eine der Nebenwirkungen, die medikamentös nicht verhindert werden kann, ist die Hypertrichose und bei Nierenerkrankungen ist genauso wie bei Aciclovir und vielen anderen Arzneistoffen, Vorsicht geboten (35).

Man hat eher durch Zufall herausgefunden, dass nach einer lokalen Anwendung einer entweder zweiprozentigen oder fünfprozentigen Minoxidil-Lösung bereits nach acht bis sechzehn Wochen ein verstärkter Haarwuchs auftrat. Diese Tatsache ist wahrscheinlich auf eine Veränderung der Haarwachstumszyklen zurückzuführen.

Nun handelt es sich bei Minoxidil ja in erster Linie um eine blutdrucksenkende Substanz, wo sich natürlich die Frage aufdrängt, ob es nicht auch bei topischer Anwendung zu einer blutdrucksenkenden Wirkung kommen kann. Studien die sich genau mit dieser Problematik auseinandergesetzt haben, ergaben, dass sowohl bei zweiprozentiger als auch bei fünfprozentiger Lösung Plasmaserumspiegel im Bereich von 0,7 bis 2,2 ng/ml nachweisbar waren und somit keine Puls- oder Blutdruckveränderungen, die erst bei ungefähr der zehn- bis 30-fachen Konzentration auftreten, zu befürchten sind (37, 38). Wichtig für eine bedenkenlose

Anwendung sind die Einhaltung der Dosierung und eine Beschränkung der Anwendung auf die gesunde Kopfhaut.

2.4.2. Aciclovir

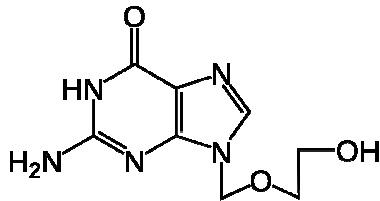


Abb. 9: Strukturformel von Aciclovir (35)

Chemische Eigenschaften (36)

pKa Wert = 2,52 (schwache Base); 9,35 (NH-acide schwache Säure)

$\log P^{\dagger} = -1,76 \pm 0,49$

Löslichkeit: schwer löslich in Wasser zu 0,13%

Molekulargewicht: 225,2 (g/mol)

Schmelzpunkt: 256,5 - 257 °C

Pharmakologische Wirkung

Aciclovir, ein Guanosin-Derivat, ist zur intravenösen Gabe bei schweren Herpes-simplex- und Varizella-Zoster-Infektionen, oral bei Herpes-genitalis-Infektionen und

[†] ACD-labs, Version 10.0

bei Herpes-Zoster, sowie zur Infektionsprophylaxe Immunsupprimierter indiziert. Zur lokalen Anwendung kann es auch bei Herpes-labialis und Augen-Infektionen lokal in fünfprozentiger Konzentration benutzt werden. Um antiviral wirken zu können, muss Aciclovir erst durch die viruscodierte Thymidinkinase, die sich in virusinfizierten Zellen befindet, zum Monophosphat und anschließend zum Triphosphat durch wirtszelleigene Enzyme phosphoryliert werden. Nach der Umwandlung zum Triphosphat bindet Aciclovir an die wachsende Virus-DNA, wobei es eine 30-fach höhere Affinität zur viralen als zur wirtszelleigenen DNA-Polymerase aufweist, und verhindert somit die weitere Bindung von Nucleotiden, da die 3'-Hydroxylgruppe bei Aciclovir durch eine acyclische Gruppe ersetzt ist (35).

3. Formulierungen

In einer vorangegangenen Arbeit wurde die Herstellung von DPPC Liposomen entwickelt. Diese Liposomen dienten als Basis für die vorliegende Arbeit.

3.1. Herstellung der DPPC Liposomen

Es wurden 2 g DPPC genau eingewogen und auf 40 g mit frisch destilliertem und keimfiltriertem Aqua dest., aufgefüllt und anschließend bei 60°C auf der Heizrührplatte gerührt, bis alles gelöst war. Die Lösung wurde danach auf 40°C abgekühlt und mit dem Ultraturrax fünf Minuten lang auf Stufe 2 homogenisiert. Anschliessend wurde die Emulsion mit dem Hochdruckhomogenisator, bei einem Druck von ca. 1100 bar, 16 min lang bearbeitet. Die entstandenen Liposomen wurden bis zur Weiterverarbeitung im Kühlschrank aufbewahrt.

3.2. Einarbeitung der Wirkstoffe

Die Wirkstoffe wurden jeweils direkt zu den Liposomen gegeben und mindestens 12h lang bei 50°C gerührt. Die Endkonzentration des Wirkstoffs betrug immer 1% (g/g).

3.3. Zugabe von Phytosphingosin

Um eine entsprechende Zubereitung mit 2,5% DPPC Liposomen mit 2,5 Mol% Phytosphingosin herzustellen, wurden 25 mg Phytosphingosin genau eingewogen

und mit 5 ml 5% DPPC Liposomen versetzt. Diese Mischung wurde 24 Stunden lang auf der Magnetührplatte bei 60°C gerührt. Anschließend erfolgte die Weiterverarbeitung und Einarbeitung des Wirkstoffs.

3.4. Zugabe der Polymere

Die Polymere wurden in Form einer sauren wässrigen Lösung zu den fertigen Liposomen gegeben, sodass die Endkonzentration der Polymere 0,125% (g/g) und die Grundkonzentration von DPPC in allen Formulierungen 2,5% (g/g) betrug.

Herstellung einer 0,125%igen Chitosan-Lösung

25 mg Chitosan werden genau eingewogen und mit Acetatpuffer (pH 3) auf 20 g aufgefüllt und anschließend, bis zur vollständigen Lösung, auf der Magnetührplatte gerührt.

Herstellung einer 0,125%igen Eudragit-Lösung

Die Herstellung erfolgte analog der Chitosan Lösung.

Herstellung des Acetatpuffers mit pH 3

30 mg Essigsäure und 7,3 mg Natrium-acetat werden eingewogen mit destilliertem Wasser auf 500 ml aufgefüllt. Danach wird der pH-Wert überprüft und falls notwendig auf den vorgegebenen Wert unter Zuhilfenahme von 1M HCl oder 1M NaOH eingestellt.

Es ergaben sich nun folgende Zubereitungen für alle weiteren Versuche. In all diesen Formulierungen war der Gehalt in % (g/g) an DPPC jeweils 2,5%, an

Phytosphingosin jeweils 2,5%, an Wirkstoff jeweils 1% und an Polymer jeweils 0,125%.

Tab. 1: Abkürzungen der untersuchten Formulierungen

Zubereitung	Abkürzung
DPPC Liposomen, Minoxidil, Wasser	Lipos-Min-Wasser
DPPC Liposomen, Chitosan, Minoxidil	Lipos-CS-Min
DPPC Liposomen, Eudragit EPO, Minoxidil	Lipos-EPO-Min
DPPC Liposomen, Chitosan, Minoxidil, Phytosphingosin	Lipos-CS-Min-PS
DPPC Liposomen, Eudragit EPO, Minoxidil, Phytosphingosin	Lipos-EPO-Min-PS
DPPC Liposomen, Minoxidil, Phytosphingosin	Lipos-Min-PS
DPPC Liposomen, Aciclovir, Wasser	Lipos-Acv-Wasser
DPPC Liposomen, Chitosan, Aciclovir	Lipos-CS-Acv
DPPC Liposomen, Eudragit EPO, Aciclovir	Lipos-EPO-Acv
DPPC Liposomen, Chitosan, Aciclovir, Phytosphingosin	Lipos-CS-Acv-PS
DPPC Liposomen, Eudragit EPO, Aciclovir, Phytosphingosin	Lipos-EPO-Acv-PS
DPPC Liposomen, Aciclovir, Phytosphingosin, Wasser	Lipos-Acv-PS
DPPC Liposomen, Wasser	Lipos-Wasser
DPPC Liposomen, Chitosan	Lipos-CS
DPPC Liposomen, Eudragit EPO	Lipos-EPO
DPPC Liposomen, Phytosphingosin	Lipos-PS

4. HPLC Analytik

Apparatur: Perkin-Elmer Serie 200 mit einem Säulenofen und einer Zweikanalpumpe

Detektion: Perkin-Elmer Diode Array Detector 235 C

Autosampler: Perkin-Elmer 200 Series

Analysensoftware: Totalchrom, Version 6.2.0

Säule: Nucleosil 100-5 C18 (der Firma Machery-Nagel)

Vorsäule: CC8/4 Nucleosil 100-5 C18

4.1. Minoxidil

Es wurde folgende in der Arbeitsgruppe entwickelte und bewährte Methode angewendet.

Mobile Phase: Methanol/Aqua dest./Essigsäure 75/25/1

Flussrate: 1 ml/min

Ofentemperatur: 40°C

Injektionsvolumen: 20 µl

Kalibrierung: externer Standard

Druck: 2700 PSI

Wellenlänge: Detektion bei 280 nm und 250 nm

Retentionszeit: vier bis fünf Minuten

Erstellung der Eichgerade für Minoxidil

Zur quantitativen Bestimmung von Minoxidil wurde eine Eichgerade erstellt. Zunächst wurde eine Stammlösung von Minoxidil in einer 96%igen Alkohol-Wasser-Mischung (60/40) in einer Konzentration von 1,08 mg/ml hergestellt. Anschließend wurde die Stammlösung 1:20, 1:40, 1:80 und 1:160 mit destilliertem Wasser verdünnt. Von diesen Verdünnungen wurden jeweils 20 µl in das HPLC-Gerät eingespritzt.

Tab. 2: Verdünnungen für die Eichgerade

Verdünnungen	mg	Peakfläche
1:20	0,054	6135301
1:40	0,027	3015648
1:80	0,0135	1480027
1:160	0,00675	723129

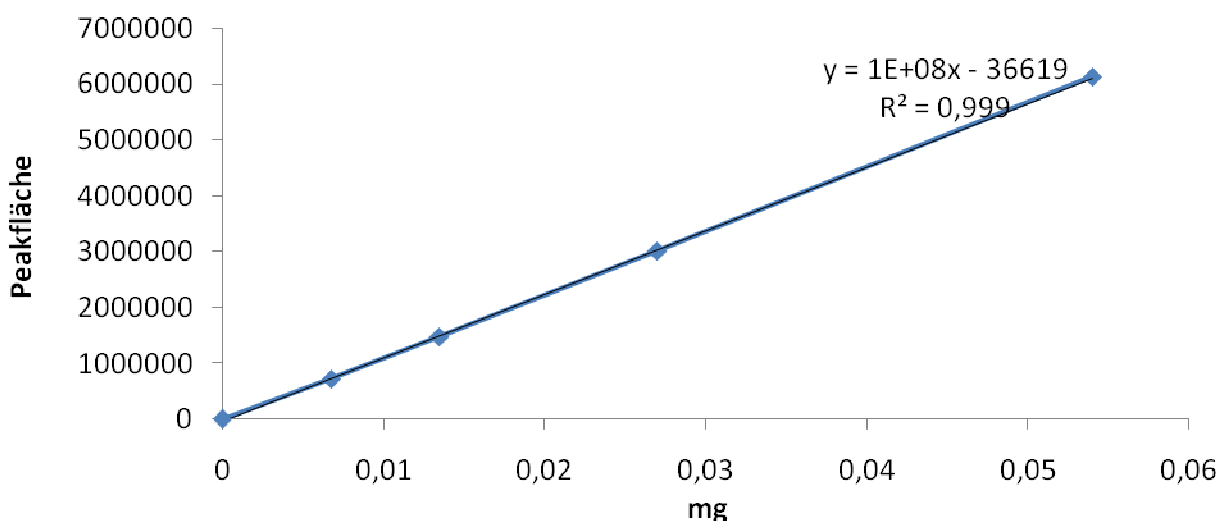


Abb. 10: Eichgerade für Minoxidil mit Geradengleichung und Varianz

Wie in Abb. 10 ersichtlich ergab sich eine optimale lineare Abhängigkeit mit einem Korrelationskoeffizienten von $R^2=0,999$.

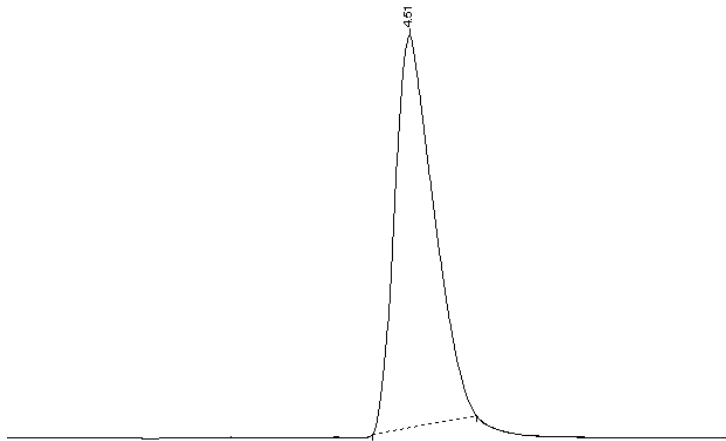


Abb. 11: HPLC Chromatogramm von Minoxidil in 96% Alkohol und gereinigtem Wasser im Verhältnis 60/40 bei 280 nm

4.2. Aciclovir

Es wurde folgende in der Arbeitsgruppe entwickelte und bewährte Methode verwendet.

Mobile Phase: Methanol/Aqua dest. 10/90

Flussrate: 1 ml/min

Ofentemperatur: 40°C

Injektionsvolumen: 20 µl

Kalibrierung: externer Standard

Druck: 2700 PSI

Wellenlänge: 2 Kanalsystem: 280 nm und 250 nm

Retentionszeit: fünf bis sechs Minuten

Erstellung der Eichgerade für Aciclovir

Zur quantitativen Bestimmung von Aciclovir wurde eine Eichgerade erstellt. Zunächst wurde eine Stammlösung von Aciclovir in gereinigtem Wasser in einer Konzentration von 1,04 mg/ml hergestellt. Anschließend wurde die Stammlösung 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 und 1:160 mit destilliertem Wasser verdünnt. Von diesen Verdünnungen wurden jeweils 20 µl in das HPLC-Gerät eingespritzt.

Tab. 3: Verdünnungen für die Eichgerade

Verdünnungen	mg	Peakfläche
1:10	0,104	2763806
1:20	0,052	1370660
1:40	0,026	651079
1:80	0,013	317629
1:160	0,0065	140627

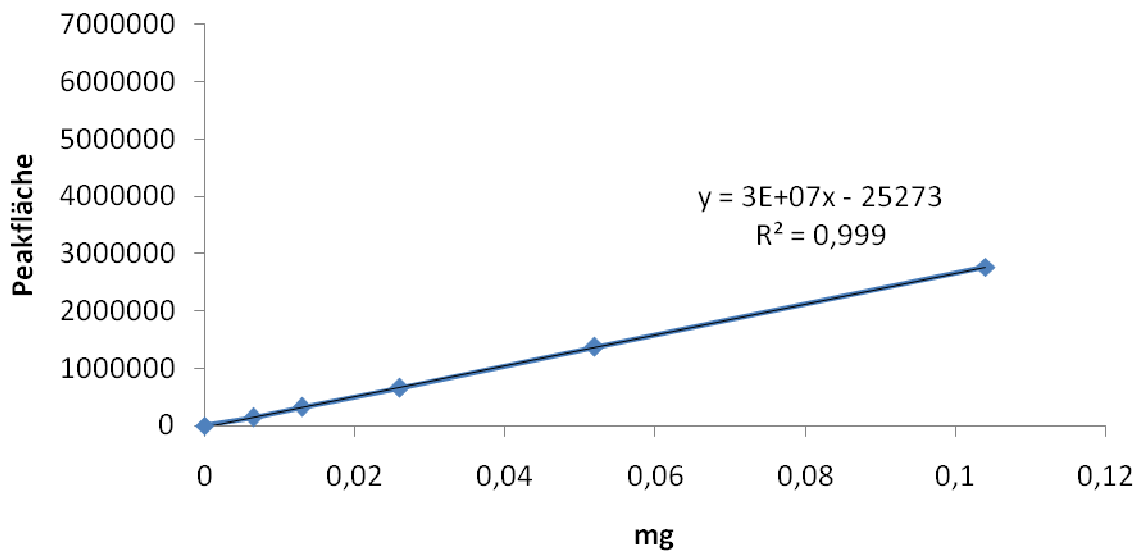


Abb. 12: Eichgerade für Aciclovir mit Geradengleichung und Varianz

Wie in Abb. 12 ersichtlich ergab sich eine optimale lineare Abhängigkeit mit einem Korrelationskoeffizienten von $R^2=0,999$.

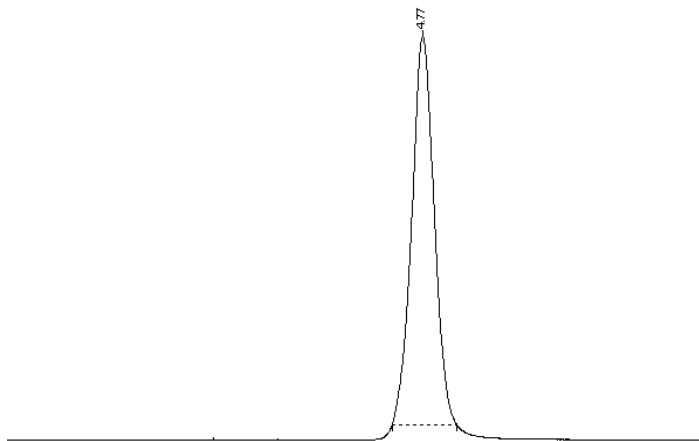


Abb. 13: HPLC Chromatogramm von Aciclovir in gereinigtem Wasser bei 280 nm

5. Physikalisch - chemische Stabilität

Um die physikalisch-chemische Stabilität zu untersuchen, wurden die Teilchengröße, der Polydispersitätsindex und das Zetapotential von den Formulierungen Lipos-CS-Min, Lipos-EPO-Min, Lipos-CS-Acv und Lipos-EPO-Acv über einen Zeitraum von 8 Wochen überprüft.

5.1 Teilchengröße, Zetapotential und Polydispersitätsindex

Die Bestimmung der Teilchengröße (TG), des Zetapotentials (ZP) und des Polydispersitätsindex (PDI) erfolgte mithilfe des Zetasizers (der Firma Malvern).

Der PDI diente als Maß für die Größenverteilung. Je kleiner der Wert, desto weniger unterscheiden sich die einzelnen Partikel hinsichtlich ihrer Größenverteilung. Es wurde ein PDI im Bereich von 0,1 bis 0,2 angestrebt, da damit eine enge Teilchengrößenverteilung vorliegt (39).

Das ZP bezeichnet den Potentialunterschied zwischen Partikel und Lösung. Jedes Partikel hat nach außen eine positive oder negative Ladung. Das ZP kann als Kennparameter für die Stabilität von Dispersionen herangezogen werden. Ein hohes $ZP \pm 30 \text{ mV}$ deutet auf eine große Stabilität des Systems hin (39).

Die Bestimmung der TG erfolgte durch Photonenkorrelationsspektroskopie und beruht auf der Brownschen Molekularbewegung.

5.2. Durchführung der Stabilitätsmessungen

Die Proben wurden im Verhältnis 1:30 mit Aqua dest. verdünnt, um eine gleichbleibende Leitfähigkeit von $< 0,05$ zu erreichen, da dies auf einen konstanten Elektrolytgehalt hinweist. Die Leitfähigkeit der Probe lag bei den zu vermessenden Proben im Bereich zwischen 0,02 und 0,03.

Ein Verlust der physikochemischen Stabilität von DPPC Liposomen zeigt sich darin, dass die Teilchengröße, die bei den DPPC Liposomen im Bereich von etwa 90 nm liegt, mit der Zeit stark ansteigt. Ebenso kommt es zu einer Abnahme des ZP und einer dadurch verminderten elektrostatischen Abstoßung, die wiederum meistens zu einer Aggregation der DPPC Liposomen führt (39).

Die diesbezüglichen Tabellen 6-9 befinden sich im Anhang.

6. Hautdiffusionsstudien

Für die Überprüfung der Hautdiffusion wurden Franz-Diffusionszellen verwendet, deren Aufbau in den Abbildungen 9 und 10 dargestellt ist. Diese in-vitro Modelle werden zur Untersuchung der Hautdiffusion verwendet und stellen ein Zweikompartmentmodell dar. Sie bestehen aus einem gläsernen Unterteil, aus dem durch ein seitliches Röhrchen Proben gezogen werden können und einem Oberteil, auf dessen zylinderförmige Öffnung Zubereitungen aufgetragen werden können. Als Membranen wurden ca. 1 cm² große, porcine Hautstücke mit der epidermalen Seite nach oben, in die Franz-Zelle eingespannt und nach Aufsetzen des Oberteils mit einer Metallklammer fixiert. Als Akzeptormedium fungierte Phosphatpuffer mit einem pH-Wert von 7, der luftblasenfrei mit einer Pasteurpipette eingebracht und mit einem kleinen Magnetrührstäbchen versehen wurde.

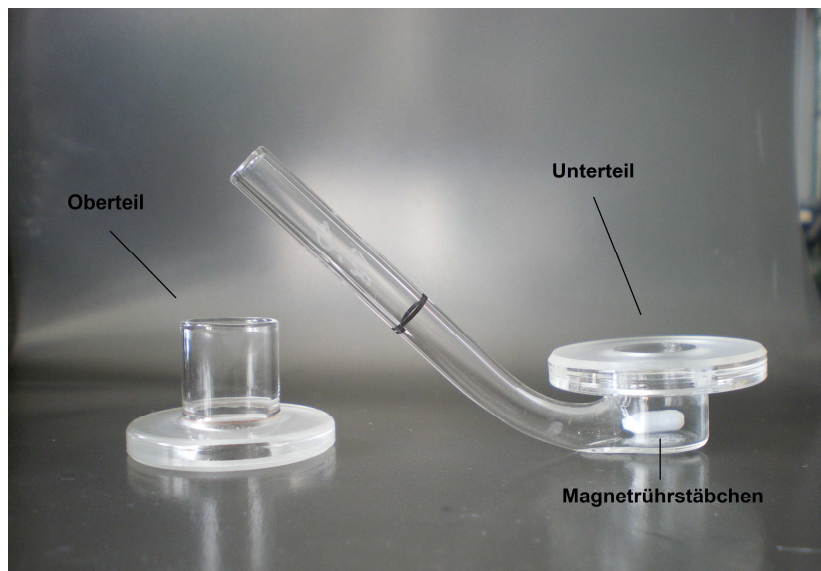


Abb. 14: Einzelteile der Franz-Diffusionszelle



Abb. 15: Zusammengebaute Franz-Diffusionszelle

6.1. Durchführung

Mit allen in Tabelle 1 angegebenen Formulierungen die einen Wirkstoff enthalten wurden Hautdiffusionstests durchgeführt.

Mit jeder Formulierung wurden jeweils drei Parallelversuche durchgeführt. Auf die porcine Hautoberfläche wurden 0,5 ml der Formulierung aufgebracht und mit einem Deckglas abgedeckt, um etwaige Verdunstung zu verhindern. Anschließend wurden die Franz-Zellen auf 32°C temperiert. Der Diffusionstest erstreckte sich über einen Zeitraum von zehn Stunden, wobei alle zwei Stunden das Akzeptormedium durch frischen Phosphatpuffer ersetzt wurde. Die entnommene Menge von ungefähr 2 ml wurde in ein Eppendorfgefäß gegeben und 6 min lang bei 11000 rpm, zur Abtrennung von in der Probe gelösten Proteinen, zentrifugiert. Der Überstand wurde dann in HPLC-Vials pipettiert um die penetrierte Wirkstoffmenge mittels HPLC analysiert.

Die Auswertung der Parallelversuche erfolgte durch Ermittlung des Mittelwerts und der anschließenden Erstellung von Diagrammen in denen die diffundierte Wirkstoffmenge pro Zeit aufgetragen wurde. Diese sind im Anhang aufgelistet.

Herstellung des Phosphatpuffers mit pH 7:

Etwa 85 mg Kaliumdihydrogenphosphat (wasserfrei) und 89 mg Dinatriumhydrogenphosphat (wasserfrei) werden eingewogen und mit destilliertem Wasser auf 500 ml aufgefüllt und der pH-Wert überprüft und gegebenenfalls auf den gewünschten Wert eingestellt. Der pH-Wert des Phosphatpuffers stellt somit annähernd die physiologischen Bedingungen des Blutes dar.

7. Thermoanalytische Analyse

Bei der Differential Scanning Calorimetry (DSC) wird die Energiedifferenz zwischen Probe und Referenz bei linear steigender Temperatur gemessen. Durch Integration über die Zeit erhält man die Enthalpieänderung.

Für die vorliegende Arbeit wurde ein Mikrokalorimeter (der Firma Setaram III) verwendet. Das Mikrokalorimeter besitzt eine Referenzzelle und eine Probenzelle. Bei den durchgeführten Messungen wurden jeweils 450 μl Probe und 450 μl destilliertes Wasser eingefüllt und vermessen. Die Scanning-Rate betrug $1^\circ\text{C}/\text{min}$. Die Messung erfolgte bei einem Temperaturanstieg von 15°C auf 65°C . DPPC Liposomen zeigen bei diesem Temperaturgradienten einen typischen Hauptphasenübergang bei 41°C von flüssig zu flüssig-kristallin (L_α). In dieser Phase sind die Fettsäureketten weitgehend ungeordnet und es findet eine trans-gauche-Isomerisation der Alkylketten statt, was auch als Kettenschmelzen bezeichnet wird (bei T_{max}) (40). Die Lipide stehen parallel zur Membrannormalen und bilden eine planare Membran (41). Sie sind zur lateralen Diffusion innerhalb des Bilayers befähigt und können längs und senkrecht zur eigenen Achse rotieren. Das hat eine Erhöhung der Elastizität und Fluidität der Phospholipiddoppelschicht zur Folge (42, 40, 44, 12, 31). Neben diesem Hauptphasenübergang gibt es auch noch eine Prä-Transition, die im Bereich von etwa $38,5^\circ\text{C}$ stattfindet und den Übergang der lamellaren Gel-Phase L_β' zur P_β' Phase beschreibt. Es finden Änderungen in der Oberflächenstruktur, wie etwa Rotationen der Phospholipid-Kopfgruppen statt, oder auch Umwandlungen in der lamellaren Struktur und Änderungen der Fettsäurekettenpackung (31). In der P_β' Phase, oder auch rippled-gel Phase, liegen die Fettsäureketten sowohl in

geordneter, in all-trans Konformation, als auch in ungeordnetem Zustand vor (40). Die Oberfläche der Liposomen ist unsymmetrisch gerippt (41).

Bei sehr tiefen Temperaturen liegen DPPC-Doppelschichten in einer lamellar kristallinen Phase L_c vor, bei der die lipophilen Fettsäureketten in all-trans Konformation vorliegen, was sich in einem sehr hohen Ordnungsgrad und einer dadurch verminderten Beweglichkeit verdeutlicht (40). Bei steigender Temperatur neigen sich die meist gesättigten Fettsäureketten aufgrund ihres geringeren Platzbedarfs gegenüber den polaren Kopfgruppen zur Oberflächennormalen, welches nun als $L_{\beta'}$ Phase bezeichnet wird, wobei die Beweglichkeit der Seitenketten immer noch stark eingeschränkt ist (12).

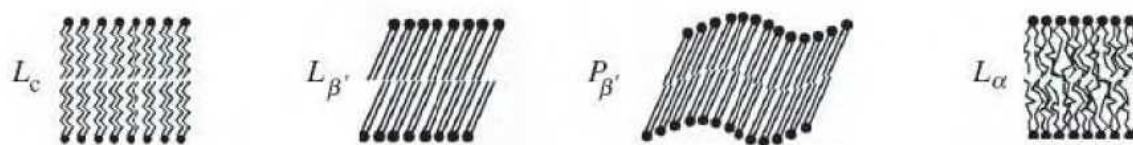


Abb. 16: Verschiedene temperaturabhängige Phasen von Liposomen (13)

Wenn die C-Atome einer Alkylkette mit einfachen C-C-Bindungen einen Torsionswinkel von 180° aufweisen, wird dies als trans-Konformation bezeichnet, die minimale Enthalpie besitzt. In der gauche – bzw. gauche + Konformation beträgt der Torsionswinkel entweder 60° oder 120° , mit etwas höherer Enthalpie (13). Befinden sich alle Lipidketten im sogenannten all-trans Zustand, so haben alle C-C-Bindungen ein absolutes Energieminimum und die Lipidketten liegen im gezackten Zustand vor, was auch als geordneter Zustand bezeichnet wird. Der all-trans-Zustand liegt bei

tiefen Temperaturen vor. Kommt es zu einer Temperaturerhöhung, so nehmen immer mehr C-C-Bindungen einen der beiden anderen Konformationen ein. Es kommt zu einem Übergang vom geordneten zu einem ungeordneten Zustand. Nahe der Hauptphasenübergangstemperatur (T_{max}) treten schon Änderungen in der Membranorganisation auf, die eine höhere Permeabilität zur Folge haben. In der Zukunft könnte dies ermöglichen, dass durch Erwärmung bestimmter Stellen im Körper Liposomen die inkorporierten Substanzen temperaturabhängig freisetzen (41).

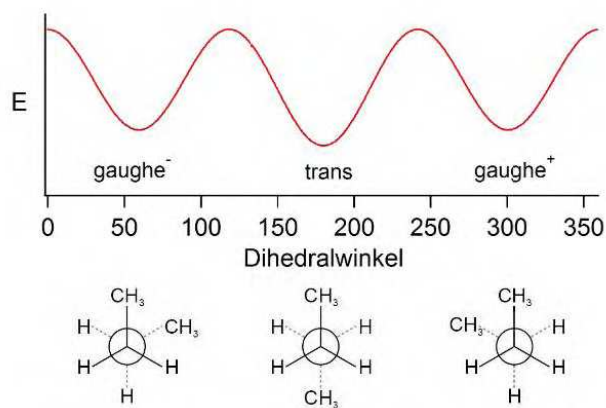


Abb. 17: Verschiedene Konformationen der Fettsäureketten und Torsionswinkel der C-C-Bindungen (13)

8. Ergebnisse

8.1. Physikalisch-chemische Stabilität

Unmittelbar nach Herstellung aller Formulierungen ergaben sich für TG, PDI und ZP die Werte, die in der folgenden Tabelle 4 angegeben sind.

Tab. 4: Partikelgröße, PDI, ZP verschiedener Formulierungen

Formulierung	Teilchengröße (nm) ± STABW	PDI (nm) ± STABW	Zetapotential (mV) ± STABW
Lipos-Min-Wasser	115,17 ± 1,81	0,33 ± 0,03	7,34 ± 0,64
Lipos-CS-Min	84,59 ± 0,25	0,13 ± 0,01	11,00 ± 1,04
Lipos-EPO-Min	83,64 ± 0,29	0,11 ± 0	16,67 ± 0,90
Lipos-CS-Min-PS	88,92 ± 0,83	0,15 ± 0	60,30 ± 3,38
Lipos-EPO-Min-PS	86,03 ± 1,52	0,09 ± 0,02	54,27 ± 0,61
Lipos-Min-PS	87,01 ± 0,90	0,19 ± 0,02	62,23 ± 1,25
Lipos-Acv-Wasser	108,57 ± 1,47	0,35 ± 0	5,04 ± 0,29
Lipos-CS-Acv	89,78 ± 0,21	0,19 ± 0,01	38,07 ± 6,60
Lipos-EPO-Acv	89,63 ± 0,54	0,16 ± 0,02	32,17 ± 0,83
Lipos-CS-Acv-PS	101,20 ± 0,50	0,24 ± 0	68,93 ± 3,88
Lipos-EPO-Acv-PS	89,49 ± 0,27	0,14 ± 0,01	67,20 ± 3,45
Lipos-Acv-PS	87,27 ± 0,50	0,15 ± 0,01	55,83 ± 2,31
Lipos-PS	93,53 ± 0,54	0,20 ± 0,01	52,03 ± 2,45

Wie in Tabelle 4 ersichtlich, zeigte sich, dass bei den Formulierungen Lipos-Min-Wasser und Lipos-Acv-Wasser der PDI schon am Tag der Herstellung über einem Wert von 0,2 lag. Das ZP dieser beiden Zubereitungen lag bei ca. 7 mV bzw. 5 mV. Dieser Wert zeigt deutlich dass es sich um physikalisch instabile Zubereitungen handelt. Eine Zugabe der kationischen Polymere Chitosan und Eudragit EPO führte sowohl bei Aciclovir-hältigen als auch bei Minoxidil-hältigen Zubereitungen zu einer signifikanten Erhöhung des ZP, wobei diese Erhöhung bei den Aciclovir-hältigen Zubereitungen ausgeprägter war. Diese Tatsache kann als deutliches Indiz für eine Umhüllung der Liposomen erklärt werden.

Nach einer zusätzlichen Zugabe von Phytosphingosin zu den Polymer-hältigen Formulierungen konnten diese ZP-Werte noch weiter gesteigert werden.

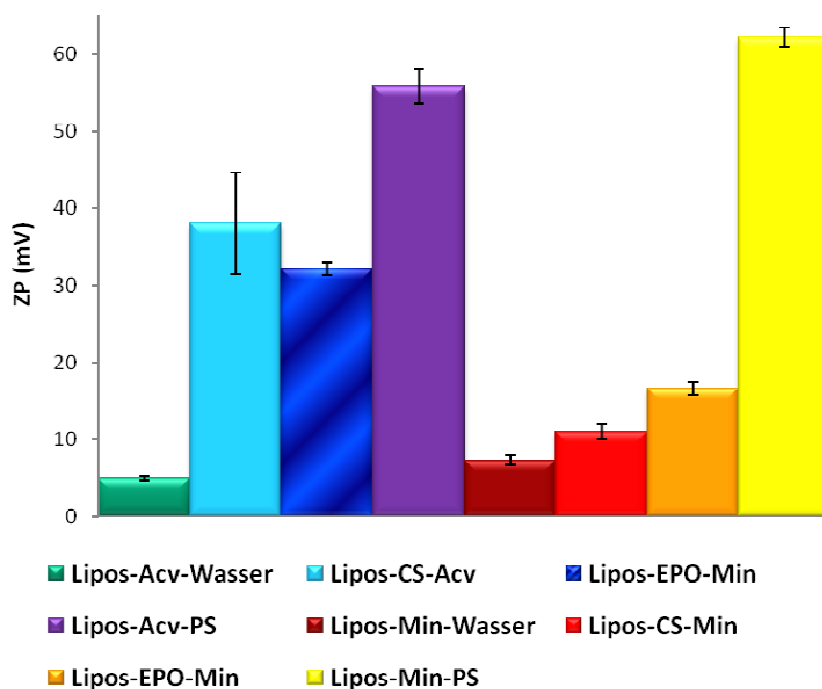


Abb.18 : Einfluss von Chitosan und Eudragit EPO sowie von Phytosphingosin auf das ZP von Aciclovir- und Minoxidil-hältigen Liposomen unmittelbar nach Herstellung

Wie in Abbildung 18 eindrucksvoll gezeigt, ist es durch den Einsatz der beiden Polymere gelungen physikalisch stabile Liposomen herzustellen.

Daher war es interessant von den Formulierungen Lipos-CS-Min, Lipos-EPO-Min, Lipos-CS-Acv und Lipos-EPO-Acv TG, PDI und ZP über einen längeren Zeitraum zu vermessen. Die Werte sind in den Tabellen 6-9 im Anhang zu finden.

In Tabelle 6 und 7 sieht man deutlich, dass sowohl Chitosan als auch Eudragit EPO in den Aciclovir-hältigen Formulierungen die physikalische Stabilität über einen Zeitraum von 7 Wochen gewährleisten, wobei ein schwacher Trend zur Vergrößerung der Partikel sichtbar wurde. Die PDI Werte waren in allen Zubereitungen unabhängig vom Polymerzusatz etwa 0,2. Das ZP verringerte sich im Falle von Chitosan Zusatz ab Woche 6 geringfügig. Auch in den Zubereitungen Lipos-EPO-Acv zeigte sich nach einem Beobachtungszeitraum von 5 Wochen eine Abnahme des ZP.

Bei den Minoxidil-hältigen Zubereitungen (Tabelle 8 und 9) ergab die Langzeitstudie, dass die TG, unabhängig vom Polymerzusatz, über den gesamten Beobachtungszeitraum konstant blieb. Der PDI war ebenfalls über die gesamte Lagerzeit stabil. Wie schon bei den Aciclovir-hältigen Zubereitungen sieht man auch bei den Minoxidil-hältigen Zubereitungen deutlich einen geringen ZP Abfall nach 5 Wochen.

8.2 Hautdiffusionsstudien mit Minoxidil

In Abbildung 19 sind die Hautdiffusionen von Minoxidil aus den verschiedenen Formulierungen dargestellt.

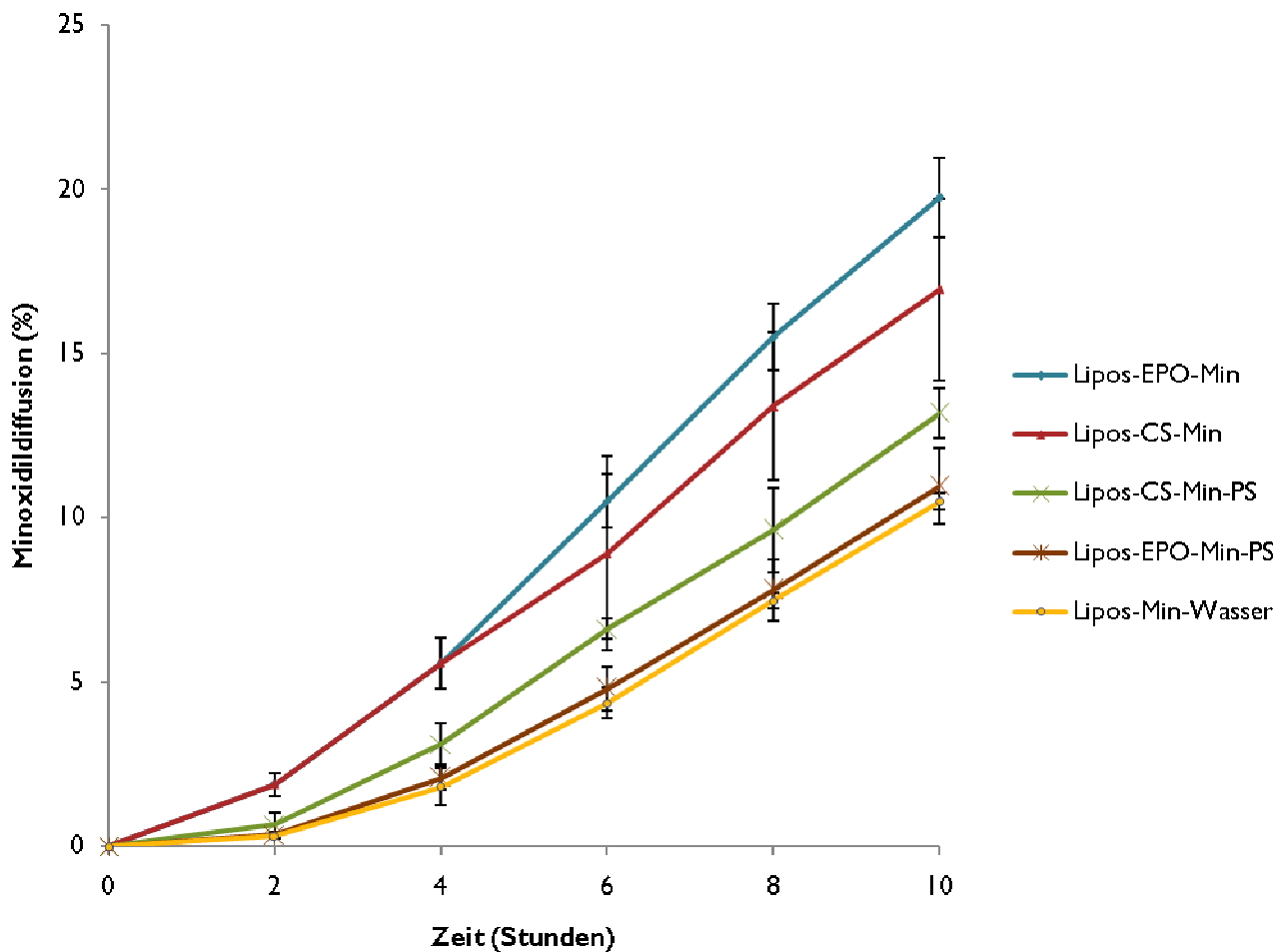


Abb. 19: Einfluss von Chitosan, Eudragit EPO und Phytosphingosin auf die Minoxidil-Hautpermeation

Wie aus Abbildung 19 ersichtlich, konnte durch einen Zusatz von 0,125% Eudragit EPO die Minoxidildiffusion fast um das Doppelte innerhalb von zehn Stunden gesteigert werden, während diese bei einem Zusatz von 0,125% Chitosan nur um

das 1,5-fache gesteigert werden konnte. Im Gegensatz dazu kam es durch die Beimengung des sehr lipophilen Phytosphingosins zu widersprüchlichen Ergebnissen. Während ein Zusatz von Phytosphingosin zu den Eudragit EPO-hältigen Liposomen zu keiner Steigerung der Hautpermeation von Minoxidil führte, konnte, verglichen mit Lipos-Min-Wasser, durch Zusatz von Phytosphingosin zur Chitosan-hältigen Formulierung eine Steigerung der Hautpermeation von Minoxidil um das 1,3-fache erreicht werden. Auch Phytosphingosin alleine konnte die Minoxidilhautpermeation steigern, wobei über den Wirkungsmechanismus noch diskutiert wird. Wie in Abbildung 18 ersichtlich, ergab sich bei den Hautpermeationen folgende Reihenfolge:

Lipos-EPO > Lipos-CS > Lipos-CS-PS > Lipos-EPO-PS > Lipos-Wasser

8.3 Hautdiffusionsstudien mit Aciclovir

In Abbildung 20 sind die Hautdiffusionen von Aciclovir aus den verschiedenen Formulierungen dargestellt.

Wie aus Abbildung 20 ersichtlich konnte durch einen Zusatz von 0,125% Eudragit EPO die Aciclovirdiffusion um das 1,5-fache und beim Zusatz von 0,125% Chitosan um das 1,4-fache innerhalb von zehn Stunden gesteigert werden. Im Gegensatz dazu kam es durch den Zusatz vom sehr lipophilen Phytosphingosin zu widersprüchlichen Ergebnissen. Während eine Zugabe von Phytosphingosin zu den Eudragit EPO-hältigen Liposomen zu keiner Steigerung der Hautpermeation von Aciclovir führte, konnte, verglichen mit Lipos-Acv-Wasser, durch Zusatz von

Phytosphingosin zur Chitosan-hältigen Formulierung eine Steigerung der Hautpermeation von Aciclovir um das 1,2-fache erzielt werden. Auch Phytosphingosin alleine konnte die Aciclovirhautpermeation steigern, wobei über den Wirkungsmechanismus noch diskutiert wird. Wie in Abbildung 20 ersichtlich, ergab sich die gleiche Reihenfolge wie bei Minoxidil-hältigen Zubereitungen, nämlich:

Lipos-EPO > Lipos-CS > Lipos-CS-PS > Lipos-EPO-PS > Lipos-Wasser

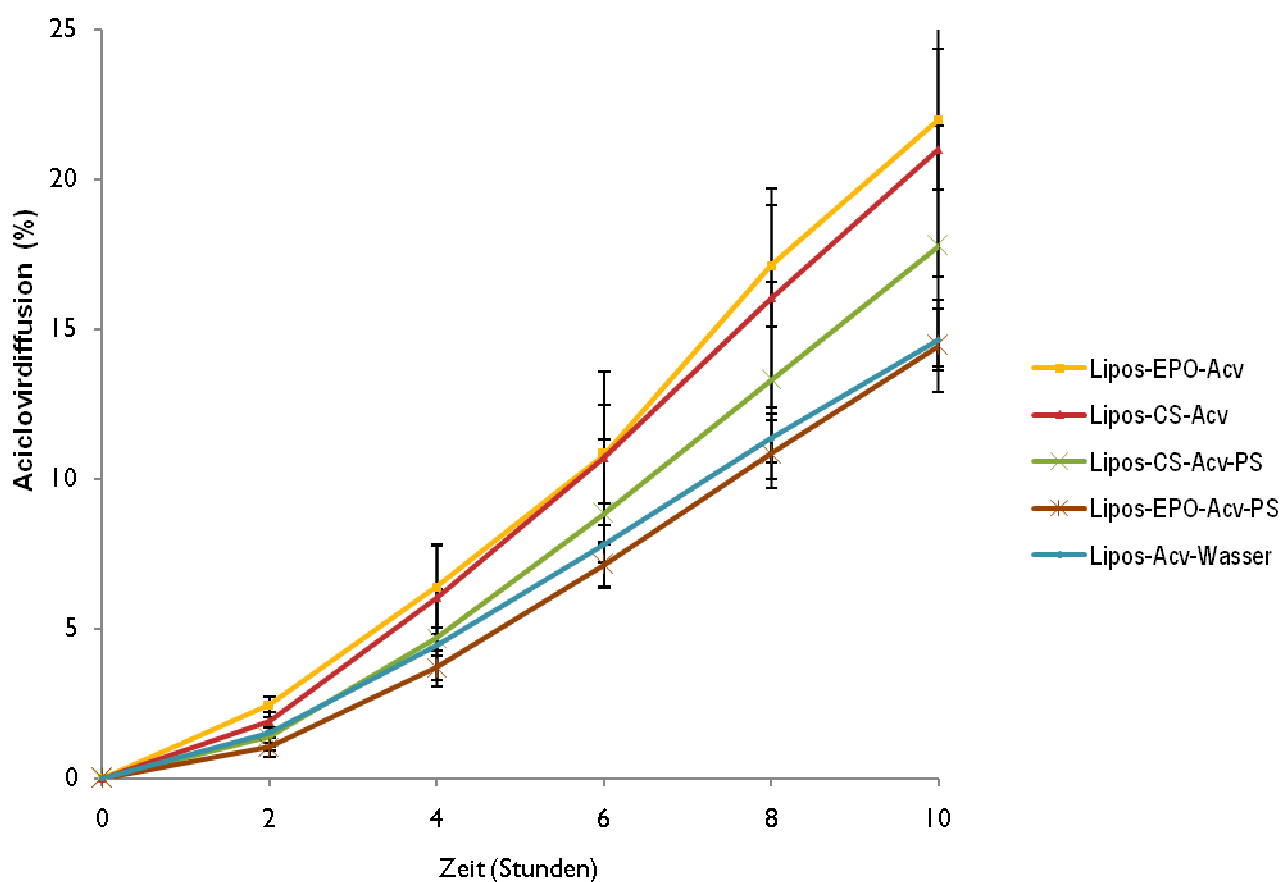


Abb. 20: Einfluss von Chitosan, Eudragit EPO und Phytosphingosin auf die Aciclovir-Hautpermeation

8.4 Micro-DSC-Messungen

Wie unter Punkt 7 beschrieben konnte die charakteristische Phasenübergangstemperatur von DPPC Liposomen mittels Micro-DSC sichtbar gemacht werden.

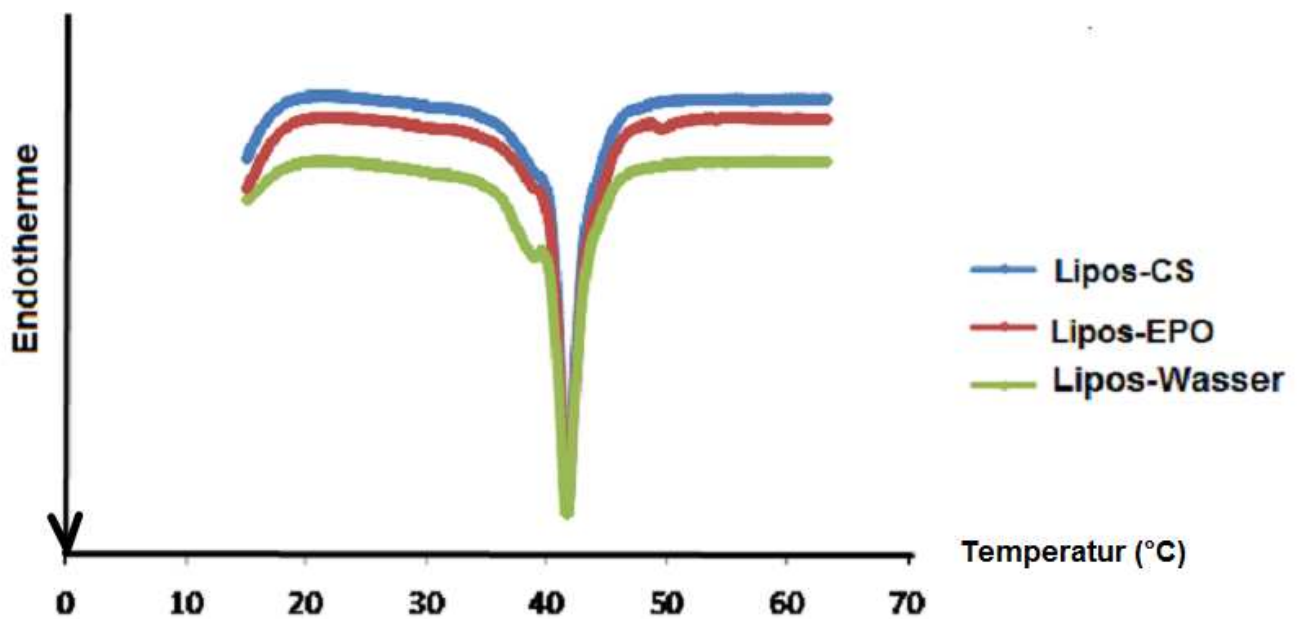


Abb. 21: Ergebnisse der thermoanalytischen Analyse von Lipos-CS, Lipos-EPO und Lipos-Wasser

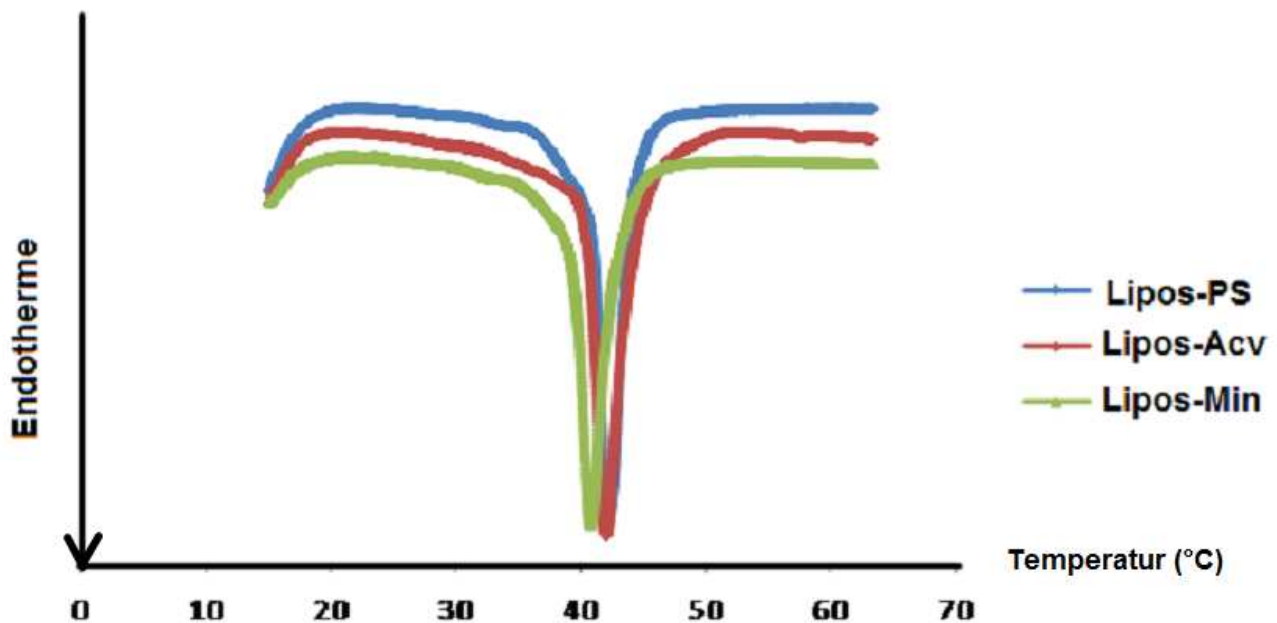


Abb. 22: Ergebnisse der thermoanalytischen Analyse von Lipos-PS, Lipos-Acv und Lipos-Min

Wie in den Abbildungen 21 und 22 ersichtlich bewirkt eine Zugabe der kationischen Polymere Chitosan und Eudragit EPO, dass der Hauptphasenübergang geringfügig zu höheren Temperaturen verschoben wird. Interessanterweise führt auch eine Zugabe von Aciclovir und Phytosphingosin zu einer geringfügigen Zunahme der Hauptphasenübergangstemperatur, demgegen bewirkt eine Zugabe von Minoxidil eine Verschiebung des Hauptphasenübergangs zu geringfügig kleineren Werten. Eine Erhöhung der Enthalpie, wie sie vor allem beim Zusatz von Phytosphingosin und Aciclovir auftrat, beschreibt eine Zunahme der Stabilität der Liposomen. Bei der Zugabe der beiden Modellarzneistoffe Minoxidil und Aciclovir war die Prä-Transition weitgehend verschwunden, was darauf hindeutet, dass die Substanzen mit der

polaren Region der Phospholipidbilayer interagieren. Durch eine Verschiebung der $T_{\max}$, wie es beim Zusatz von Phytosphingosin zu DPPC Liposomen geschieht, kann vermutet werden, dass es zu einer Wechselwirkung mit den lipophilen Bereichen der DPPC Liposomen kommt und ein Kippen der Alkylketten bewirkt wird.

Tab. 5: Ergebnisse der thermoanalytischen Analyse

Probe	Hauptübergangstemperatur (°C) $T_{\max}$	Onset point (°C)	Enthalpie/J/g (endotherme Effekt)
Lipos-Wasser	pre-transition $38,98 \pm 0,61$	$36,63 \pm 0,24$	$1,19 \pm 0,24$
	$41,60 \pm 0,08$	$39,89 \pm 0,37$	$53,15 \pm 0,37$
Lipos-CS	pre-transition $38,45 \pm 0$	$37,98 \pm 0,03$	$0,17 \pm 0,01$
	$41,63 \pm 0,03$	$40,13 \pm 0,48$	$53,33 \pm 0,48$
Lipos-EPO	pre-transition $38,67 \pm 0,07$	$37,94 \pm 0$	$0,15 \pm 0$
	$41,67 \pm 0,02$	$40,11 \pm 0,97$	$51,77 \pm 0,97$
Lipos-Acv	$41,93 \pm 0,08$	$40,27 \pm 4,21$	$64,97 \pm 4,27$
Lipos-Min	$40,69 \pm 0,05$	$39,36 \pm 0,83$	$54,83 \pm 0,83$
Lipos-PS	$42,18 \pm 0,01$	$40,68 \pm 1,07$	$57,39 \pm 1,07$

Der Onset point bezeichnet die Temperatur, bei der der Hauptphasenübergang beginnt (13).

9. Diskussion

Liposomen stellen durch ihre interessante kolloid-chemische Struktur und mit ihrer Fähigkeit lipophile Substanzen zwischen ihren Phospholipiddoppelschichten und hydrophile Substanzen in ihrem inneren Kern einzuschließen ein interessantes Arzneistofftransportsystem dar. Generelle Probleme stellen jedoch ihre physikalische Instabilität und die daraus resultierende Agglomeration, die Gefahr des mikrobiellen Befalls, sowie ihre geringe Beladungskapazität dar. Bisher wurden zahlreiche Strategien entwickelt um die physikalische Stabilität zu erhöhen. Eine solche Strategie stellt der Einsatz verschiedener Polymere dar. In einer vorangegangenen Studie konnte bewiesen werden, dass Polycarbophil und Chitosan-EDTA sowohl die Stabilität der Liposomen als auch die Hautdiffusion von 17- β -Estradiol, Progesteron und Cyproteronacetat verbessern konnten. Auch dem mikrobiellen Befall konnte durch diese Maßnahmen erfolgreich entgegengewirkt werden (45). Das kationische Polymer Chitosan zeigte bereits stabilitätsverbessernde Eigenschaften (21).

In der vorliegenden Arbeit konnte bewiesen werden, dass durch den Zusatz der beiden kationischen Polymere Chitosan und Eudragit EPO die physikalisch-chemische Stabilität von Liposomen signifikant gesteigert werden konnte. Auch eine Inkorporation der beiden Modellarzneistoffe Minoxidil und Aciclovir in diese Zubereitungen bewirkte keine Verringerung der guten physikalisch-chemischen Stabilität.

Weiters wurde der Einfluss des in der Haut natürlich vorkommenden Phytosphingosins, von dem ein penetrationsfördernder Effekt auf die Hautdiffusion von Flumetasonpivalat und Fludrocortisonacetat nachgewiesen werden konnte, auf die Minoxidil- und Aciclovir-Hautdiffusion untersucht (31).

Zunächst wurde eine Permeationssteigerung von Minoxidil und Aciclovir aufgrund des Zusatzes der Polymere bestätigt. Allerdings ergab eine zusätzliche Zugabe von Phytosphingosin keine weitere Steigerung der Hautpermeation. Demgegenüber zeigte Phytosphingosin ohne Polymerzusatz eine deutliche Steigerung der Minoxidil- und Aciclovir-Hautpermeation.

Auch der Einfluss von Phytosphingosin auf die physikalisch-chemische Stabilität der DPPC-Liposomen wurde getestet. Es wurde eine deutliche Steigerung des ZP beobachtet, wodurch man davon ausgehen kann, dass es wie erwartet in die DPPC-Liposomen eingebaut wird.

Weiters stellte sich die Frage, ob man mit biophysikalischen Messmethoden herausfinden kann, wie die kationischen Polymere Chitosan und Eudragit EPO sowie Phytosphingosin mit den DPPC-Liposomen interagieren und sich vielleicht dadurch die Hautpermeationssteigerung und die Stabilitätsverbesserung erklären lassen könnten. DPPC-Liposomen besitzen im Bereich von etwa 41°C einen typischen Hauptphasenübergang, der die Umwandlung der flüssigen in die flüssig-kristalline Phase beschreibt und eine Prä-Transition bei etwa 38,5°C, die den Übergang der Gel-Phase zur rippled-gel Phase beschreibt. Durch eine Verschiebung des Hauptphasenübergangs zu höheren Temperaturen, wie es minimal bei Lipos-CS und Lipos-EPO, etwas ausgeprägter bei Lipos-Acv und vorallem bei Lipos-PS kam, kann eine Interaktion mit den Alkylketten der DPPC Liposomen begründen. (46,47) Bei Lipos-Min dahingegen kam es zu einer Verschiebung zu niedrigeren Temperaturen. Ein Verschwinden der Prä-Transition, wie es beim Zusatz von Minoxidil, Aciclovir und Phytosphingosin kam, kann Wechselwirkungen mit den polaren Regionen der Phospholipidbilayer vermuten lassen.

10. Zusammenfassung

Liposomen besitzen durch ihre hydrophilen und lipophilen Bereiche die Fähigkeit Arzneistoffe in ihrem Inneren oder zwischen den Phospholipiddoppelschichten einzuschließen. Sie stellen Arzneistoffabgabesysteme dar, die eine geringe physikalisch-chemische Stabilität besitzen.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht durch Zugabe der kationischen Polymere Chitosan oder Eudragit EPO diese zu erhöhen. Dazu wurden DPPC Liposomen mit und ohne Polymer hergestellt und über einen Zeitraum von 7 Wochen hinsichtlich TG, PDI und ZP untersucht. Zusätzlich wurden in diese Zubereitungen entweder der Modellarzneistoff Minoxidil oder Aciclovir eingearbeitet.

Durch diesen Polymerzusatz konnte erfolgreich über einen Zeitraum von mindestens 6 Wochen die Stabilität der Zubereitungen Lipos-CS-Min, Lipos-EPO-Min, Lipos-CS-Acv und Lipos-EPO-Acv gewährleistet werden.

In zusätzlichen Studien wurde die Hautpermeation der beiden Modellarzneistoffe Minoxidil und Aciclovir an porciner Haut in Franz-Diffusionszellen gemessen.

Es konnte sowohl für die Minoxidil- als auch für die Aciclovir-hältigen Zubereitungen folgende Rangfolge der Hautpermeation ermittelt werden.

Lipos-EPO > Lipos-CS > Lipos-CS-PS > Lipos-EPO-PS > Lipos-Wasser

Aufgrund von vorangegangenen Arbeiten erschien die Untersuchung des Einflusses auf die Hautpermeation interessant. Allerdings bewirkte eine Kombination der Polymere mit Phytosphingosin keine weitere Hautpermeationssteigerung von Minoxidil und Aciclovir. Ein Grund dafür könnte sein, dass Phytosphingosin aufgrund

des sauren Mediums besser gelöst und somit besser in die DPPC Liposomen eingebaut wurde und nur langsam freigegeben werden kann.

Desweiteren wurden zum besseren Verständnis der Wechselwirkungen zwischen den kationischen Polymeren und Phytosphingosin, sowie den beiden Modellwirkstoffen mit den DPPC-Liposomen Micro-DSC Messungen durchgeführt. Dabei konnte bewiesen werden, dass Interaktionen mit den Alkylketten und den polaren Regionen der DPPC-Liposomen stattfinden, da es zu einer Verschiebung der Hauptphasenübergangstemperatur und zum Verschwinden der Prä-Transition kam.

In der vorliegenden Arbeit ist es gelungen DPPC-Liposomen, durch den Zusatz von Chitosan und Eudragit EPO, über einen längeren Zeitraum zu stabilisieren und die Hautpermeation von Minoxidil und Aciclovir zu erhöhen. Auch Phytosphingosin konnte die Hautpermeation bei alleinigem Zusatz steigern.

Es wäre nun interessant mittels FTIR zu untersuchen, ob die durch die Micro-DSC gefundenen Interaktionen genauer interpretiert werden können.

11. Anhang

In den folgenden Tabellen 6 - 9 sind die Ergebnisse der physikalisch – chemischen Stabilitätsmessungen zusammengefasst.

Tab. 6: Partikelgröße, PDI und ZP von DPPC Liposomen mit Chitosan gecoatet und Aciclovir inkorporiert über einen Zeitraum von 7 Wochen (Lipos-CS-Acv)

Zeit (Wochen)	Partikelgröße (nm) ± STABW	PDI ± STABW	ZP ± STABW
0	90,06 ± 4,86	0,19 ± 0,01	23,88 ± 4,49
1	87,81 ± 4,65	0,16 ± 0,01	20,11 ± 3,45
2	88,70 ± 4,09	0,17 ± 0,01	22,70 ± 6,73
3	88,15 ± 4,00	0,17 ± 0,01	23,06 ± 2,62
4	89,48 ± 0,94	0,16 ± 0,02	28,28 ± 3,75
5	86,32 ± 3,84	0,16 ± 0,02	23,46 ± 1,49
6	86,58 ± 3,16	0,23 ± 0,08	20,93 ± 5,38
7	94,85 ± 1,17	0,19 ± 0,01	16,80 ± 1,40

Tab. 7: Partikelgröße, PDI und ZP von DPPC Liposomen mit Eudragit EPO gecoatet und Aciclovir inkorporiert über einen Zeitraum von 7 Wochen (Lipos-EPO-Min)

Zeit (Wochen)	Partikelgröße (nm) ± STABW	PDI ± STABW	ZP ± STABW
0	85,92 ± 4,10	0,15 ± 0,01	37,81 ± 2,81
1	87,00 ± 4,53	0,16 ± 0,02	41,83 ± 3,95
2	87,35 ± 3,83	0,16 ± 0,02	34,76 ± 9,01
3	84,01 ± 3,29	0,16 ± 0,02	31,78 ± 1,02
4	84,55 ± 4,36	0,17 ± 0,01	28,42 ± 2,08
5	83,57 ± 3,84	0,19 ± 0,02	20,88 ± 3,62
6	86,51 ± 4,15	0,20 ± 0,01	23,89 ± 3,21
7	94,42 ± 5,24	0,22 ± 0,02	24,80 ± 1,04

Tab. 8: Partikelgröße, PDI und ZP von DPPC Liposomen mit Chitosan gecoatet und mit Minoxidil inkorporiert über einen Zeitraum von 7 Wochen (Lipos-CS-Min)

Zeit (Wochen)	Partikelgröße (nm) ± STABW	PDI ± STABW	ZP ± STABW
0	84,97 ± 4,23	0,16 ± 0,03	10,80 ± 1,37
1	86,73 ± 3,87	0,13 ± 0,02	10,51 ± 0,39
2	86,76 ± 3,96	0,14 ± 0,03	11,41 ± 0,57
3	86,32 ± 3,85	0,14 ± 0,02	15,62 ± 8,43
4	86,18 ± 3,06	0,15 ± 0,02	11,06 ± 0,89
5	84,83 ± 3,51	0,14 ± 0,03	10,87 ± 1,29
6	85,52 ± 3,31	0,14 ± 0,02	10,92 ± 0,59
7	85,27 ± 3,07	0,13 ± 0,02	9,87 ± 1,30

Tab. 9: Partikelgröße, PDI und ZP von DPPC Liposomen mit Eudragit EPO gecoatet und mit Minoxidil inkorporiert über einen Zeitraum von 7 Wochen (Lipos-EPO-Min)

Zeit (Wochen)	Partikelgröße (nm) ± STABW	PDI ± STABW	ZP ± STABW
0	84,65 ± 4,33	0,13 ± 0,02	23,84 ± 5,77
1	83,94 ± 4,89	0,14 ± 0,02	22,80 ± 0,35
2	85,76 ± 4,89	0,13 ± 0,01	23,96 ± 1,42
3	84,60 ± 4,87	0,14 ± 0,02	23,06 ± 2,87
4	85,06 ± 4,09	0,14 ± 0,02	27,10 ± 2,98
5	83,71 ± 4,01	0,13 ± 0,03	19,31 ± 2,86
6	83,74 ± 5,15	0,17 ± 0,02	24,84 ± 2,64
7	84,56 ± 4,21	0,15 ± 0,02	21,22 ± 1,22

Die folgenden Tabellen 10 – 33 beinhalten die Ergebnisse der Hautdiffusionsstudien von Minoxidil- sowie von Aciclovir-hältigen Formulierungen (Tab.1).

n.d. = nicht detektierbar

Tab. 10: Ergebnisse der Hautpermeation von Minoxidil aus Lipos-Min-Wasser in mg/cm²

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0,02	0,01	0,01	0,02	0
4	0,06	0,11	0,10	0,09	0,03
6	0,19	0,24	0,23	0,22	0,02
8	0,36	0,39	0,37	0,37	0,01
10	0,53	0,53	0,51	0,52	0,01

Tab. 11: Ergebnisse der Hautpermeation von Minoxidil aus Lipos-Min-Wasser in % der aufgetragenen Menge

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0,38	0,27	0,29	0,31	0,06
4	1,15	2,24	2,03	1,81	0,57
6	3,84	4,72	4,52	4,36	0,46
8	7,27	7,74	7,42	7,47	0,24
10	10,57	10,69	10,23	10,50	0,24

Tab. 12: Ergebnisse der Hautpermeation von Minoxidil aus Lipos-Min-CS in mg/cm²

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0,09	0,08	0,11	0,09	0,02
4	0,26	0,25	0,32	0,28	0,04
6	0,48	0,28	0,58	0,45	0,15
8	0,68	0,55	0,78	0,67	0,11
10	0,85	0,71	0,99	0,85	0,14

**Tab. 13: Ergebnisse der Hautpermeation von Minoxidil aus Lipos-Min-CS in %
der augetragenen Menge**

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	1,71	1,65	2,27	1,88	0,34
4	5,27	5,00	6,47	5,58	0,78
6	9,52	5,70	11,53	8,92	2,96
8	13,39	11,04	15,57	13,40	2,27
10	16,90	14,21	19,33	16,95	2,76

**Tab. 14 : Ergebnisse der Hautpermeation von Minoxidil aus Lipos-Min-EPO in
mg/cm²**

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0,09	0,08	0,11	0,09	0,02
4	0,26	0,25	0,32	0,28	0,04
6	0,54	0,48	0,56	0,53	0,04
8	0,82	0,72	0,79	0,77	0,05
10	1,05	0,93	0,98	0,99	0,06

**Tab. 15: Ergebnisse der Hautpermeation von Minoxidil aus Lipos-Min-EPO in %
der aufgetragenen Menge**

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	1,71	1,65	2,27	1,88	0,34
4	5,27	5,00	6,47	5,58	0,78
6	10,85	9,58	11,11	10,51	0,81
8	16,36	14,37	15,75	15,44	1,07
10	21,02	18,63	19,61	19,75	1,20

**Tab. 16: Ergebnisse der Hautpermeation von Minoxidil aus Lipos-Min-CS-PS in
mg/cm²**

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0,02	0,05	0,02	0,03	0,02
4	0,12	0,18	0,17	0,16	0,03
6	0,32	0,35	0,33	0,33	0,02
8	0,52	0,51	0,41	0,48	0,08
10	0,96	0,67	0,62	0,66	0,04

Tab. 17: Ergebnisse der Hautpermeation von Minoxidil aus Lipos-Min-CS-PS in % der aufgetragenen Menge

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0,40	0,48	1,07	0,65	0,37
4	2,39	3,40	3,55	3,11	0,63
6	6,31	6,60	6,93	6,61	0,31
8	10,44	8,15	10,28	9,62	1,28
10	13,75	12,31	13,45	13,17	0,76

Tab. 18: Ergebnisse der Hautpermeation von Minoxidil aus Lipos-Min-EPO-PS in mg/cm²

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01
4	0,12	0,10	0,09	0,10	0,02
6	0,28	0,23	0,21	0,24	0,03
8	0,44	0,38	0,35	0,39	0,05
10	0,61	0,54	0,50	0,55	0,06

**Tab. 19: Ergebnisse der Hautpermeation von Minoxidil aus Lipos-Min-EPO-PS
in % der aufgetragenen Menge**

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0,47	0,29	0,27	0,34	0,11
4	2,48	1,96	1,80	2,08	0,35
6	5,51	4,63	4,25	4,80	0,65
8	8,79	7,60	6,98	7,79	0,92
10	12,17	10,79	9,91	10,96	1,14

**Tab. 20: Ergebnisse der Hautpermeation von Minoxidil aus Lipos-Min-PS-
Wasser in mg/cm²**

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0,08	0,07	0,07	0,08	0
4	0,28	0,26	0,27	0,27	0,01
6	0,51	0,49	0,50	0,50	0,01
8	0,74	0,71	0,74	0,73	0,01
10	0,96	0,94	0,98	0,96	0,02

Tab. 21: Ergebnisse der Hautpermeation von Minoxidil aus Lipos-Min-PS-Wasser in % der aufgetragenen Menge

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	1,57	1,49	1,44	1,50	0,06
4	5,56	5,47	5,25	5,46	0,20
6	10,15	10,00	9,70	9,95	0,23
8	14,75	14,77	14,30	14,60	0,27
10	19,26	19,55	18,75	19,19	0,41

Tab.22 : Ergebnisse der Hautpermeation von Aciclovir aus Lipos-Acv-Wasser in mg/cm²

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0,09	0,07	0,08	0,08	0,01
4	0,25	0,21	0,22	0,23	0,02
6	0,43	0,37	0,39	0,40	0,03
8	0,62	0,54	0,57	0,58	0,04
10	0,80	0,70	0,74	0,74	0,05

**Tab. 23: Ergebnisse der Hautpermeation von Aciclovir aus Lipos-Acv-Wasser
in % der aufgetragenen Menge**

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	1,73	1,41	1,47	1,54	0,17
4	4,89	4,18	4,30	4,45	0,38
6	8,51	7,36	7,62	7,83	0,61
8	12,29	10,71	11,09	11,36	0,83
10	15,82	13,84	14,29	14,65	1,04

**Tab. 24: Ergebnisse der Hautpermeation von Aciclovir aus Lipos-CS-Acv in
mg/cm²**

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0,03	0,10	0,13	0,09	0,06
4	0,10	0,32	0,38	0,27	0,14
6	0,19	0,57	0,66	0,47	0,25
8	0,30	0,84	0,97	0,70	0,35
10	0,41	1,08	1,25	0,91	0,44

**Tab. 25: Ergebnisse der Hautpermeation von Aciclovir aus Lipos-CS-Acv in %
der aufgetragenen Menge**

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	1,01	2,01	2,67	1,90	0,84
4	4,14	6,36	7,61	6,04	1,76
6	7,57	11,35	13,24	10,72	2,89
8	12,09	16,72	19,33	16,05	3,67
10	16,48	21,61	25,00	21,03	4,29

**Tab. 26: Ergebnisse der Hautpermeation von Aciclovir aus Lipos-EPO-Acv in
mg/cm²**

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0,11	0,14	0,12	0,12	0,01
4	0,25	0,38	0,33	0,32	0,07
6	0,45	0,62	0,55	0,54	0,08
8	0,75	0,96	0,85	0,86	0,10
10	0,99	1,22	1,09	1,10	0,12

**Tab. 27: Ergebnisse der Hautpermeation von Aciclovir aus Lipos-EPO-Acv in %
der aufgetragenen Menge**

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	2,23	2,75	2,40	2,46	0,27
4	4,92	7,62	6,65	6,40	1,37
6	9,10	12,38	10,98	10,82	1,65
8	15,09	19,18	17,09	17,12	2,04
10	19,80	24,49	21,76	22,01	2,35

**Tab. 28: Ergebnisse der Hautpermeation von Aciclovir aus Lipos-CS-Acv-PS in
mg/cm²**

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0,09	0,03	0,09	0,07	0,03
4	0,29	0,14	0,28	0,23	0,08
6	0,52	0,30	0,50	0,44	0,12
8	0,78	0,48	0,74	0,67	0,16
10	1,03	0,66	0,98	0,89	0,20

Tab. 29: Ergebnisse der Hautpermeation von Aciclovir aus Lipos-CS-Acv-PS

in % der aufgetragenen Menge

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	1,76	0,61	1,78	1,38	0,67
4	5,70	2,82	5,55	4,69	1,62
6	10,44	6,01	10,09	8,85	2,46
8	15,51	9,53	14,87	13,30	3,29
10	20,62	13,19	19,58	17,80	4,02

Tab. 30: Ergebnisse der Hautpermeation von Aciclovir aus Lipos-EPO-Acv-PS

in mg/cm²

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0,05	0,05	0,06	0,05	0,01
4	0,19	0,16	0,20	0,18	0,02
6	0,36	0,32	0,39	0,36	0,04
8	0,55	0,48	0,60	0,54	0,06
10	0,73	0,64	0,80	0,72	0,08

**Tab. 31: Ergebnisse der Hautpermeation von Aciclovir aus Lipos-EPO-Acv-PS
in % der aufgetragenen Menge**

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	1,08	0,92	1,15	1,05	0,12
4	3,77	3,26	4,07	3,70	0,41
6	7,25	6,31	7,85	7,14	0,78
8	10,96	9,64	11,92	10,84	1,14
10	14,60	12,86	15,92	14,46	1,54

**Tab. 32: Ergebnisse der Hautpermeation von Aciclovir aus Lipos-Acv-PS-
Wasser in mg/cm²**

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	0,11	0,10	0,10	0,10	0,01
4	0,37	0,35	0,35	0,35	0,02
6	0,67	0,63	0,62	0,64	0,03
8	0,98	0,94	0,90	0,94	0,04
10	1,27	1,24	1,17	1,23	0,05

Tab. 33: Ergebnisse der Hautpermeation von Aciclovir aus Lipos-Acv-PS-Wasser in %

Stunden	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	MW	STABW
0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	2,20	1,92	2,10	2,06	0,14
4	7,47	6,91	6,91	7,19	0,32
6	13,47	12,62	12,37	13,05	0,57
8	19,57	18,82	17,91	19,19	0,83
10	25,50	24,84	23,44	25,17	1,05

11. Literaturverzeichnis

- (1) R.H. Müller, G.E. Hildebrand, Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen, 1997, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart
- (2) U. Schöffling, Arzneiformenlehre: Lehrbuch der Galenik für Theorie und Praxis, 4. Auflage, 2007, Deutscher Apothekerverlag Stuttgart
- (3) S. A. Krause, Entwicklung und Charakterisierung von Mikroemulsionen zur dermalen Applikation von Arzneistoffen, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2001
- (4) V. Hengst, Bisphosphonatliganden für die zielgerichtete Applikation liposomaler Trägersysteme an den Knochen, Dissertation, Philipps-Universität Marburg, 2007
- (5) www.ateia.info (Stand September 2009)
- (6) www.haarausfall-info.at (Stand September 2009)
- (7) E. Yilmaz, H. H. Borchert, Design of a phytosphingosine-containing, positively-charged nanoemulsion as a colloidal carrier system for dermal application of ceramides, Eur. J. Biopharm., 60, 91-98, 2005
- (8) R. H. H. Neubert , R. Wepf, Struktur und Morphologie einer Barriere, Pharmazeutische Zeitung, 152, 17, 14-21, 2007

- (9) S. Latsch, Einsatz der isothermen Wärmeleitungsmikrokalrimetrie zur Stabilitätsbeurteilung von Transdermalen Therapeutischen Systemen (TTS), Dissertation, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main, 2003
- (10) R. Voigt, A. Fahr, Pharmazeutischen Technologie für Studium und Beruf, 10. Auflage, 2006, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart
- (11) R. H. H. Neubert, W. A. Wohlrab, W. Ch. Marsch, Dermatopharmazie: Vehikel-Wirkstoffe- Pharmakologie, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 2001
- (12) B. Glombitza, Lipidsysteme als Stratum corneum Modelle, Dissertation, Technischen Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig, 2001
- (13) C. Leirer, Dynamik und Struktur in der Phasenkoexistenz von Lipidmembranen, Dissertation, Universität Augsburg, 2008
- (14) K. H. Bauer, K-H. Frömmling, C. Führer, Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie, 8. Auflage, 2006, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart
- (15) A. Burger, H. Wachter, Hunnius: Pharmazeutisches Wörterbuch, 8. Auflage, 1998, de Gruyter
- (16) A. Neub, Synthese eines Polymerskeletts im hydrophilen Innenraum von Liposomen, Dissertation, Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg, 2007
- (17) G. Blume, Liposom ist nicht gleich Liposom, Pharmazeutische Zeitung, 151, 6, 21-23, 2006

- (18)** H. Kell, Wechselwirkung des Lipoheptapeptides Surfactin mit Lipiddoppelschichten aus DMPC und DPPC, Dissertation, Technischen Universität Berlin, 2006
- (19)** <http://www.medical-chitosan.de/cms/de/chitosan/zeige-alle-produkte.html>
(Stand August 2009)
- (20)** P. Perugini, I. Genta, F. Pavanetto, B. Conti, S. Scalia, A. Baruffini, Study on glycolic acid delivery by liposomes and microspheres, Int. J. Pharm., 196, 51-61, 2000
- (21)** C. Laye, D. J. McClements, J. Weiss, Formation of Biopolymer-Coated Liposomes by Electrostatic Deposition of Chitosan, J. Food Sci., 73, N7-N15, 2008
- (22)** N.Fang, V. Chan, H.-Q. Mao, K.W. Leong, Interactions of Phospholipid Bilayer with Chitosan: Effect of Molecular Weight and pH, Biomacromolecules, 2 (4), 1161-1168, 2001
- (23)** B. Biruss, Vergleichende Hautpermeationen von Estradiol und Progesteron aus verschiedenen Gelen, Diplomarbeit, Universität Wien, 2004
- (24)** Produktbroschüre der Firma Röhm GmbH & Co. KG, Pharma Polymers, Specifications and test methods for EUDRAGIT® E100, EUDRAGIT® EPO and EUDRAGIT® E 12,5
http://www.rohacell.com/en/pharmapolymers/eudragit/quality/spezifikationen_neu.Par.0001.TRow.0017.TCell.0002.File.tmp/7.1.01_INFO7.1e_E100_EPO_E12_5_200409.pdf
(Stand August 2009)

- (25)** A. Michalk, Geschmacksmaskierung durch Festfett-Extrusion, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, 2007
- (26)** D. A. Quinteros, Interaction between a cationic polymethacrylate (Eudragit E100) and anionic drugs, Eur. J. Pharm. Sci., 33, 72-79, 2008
- (27)** A. Lopedota, A. Trapani, A. Cutrignelli, L. Chiarantini, E. Pantucci, R. Curci, E. Manuali, G. Trapani, The use of Eudragit® RS 100/ cyclodextrin nanoparticles for the transmucosal administration of glutathione, Eur. J. Pharm. Biopharm., 72, 509-520, 2009
- (28)** Produktbroschüre der Firma Evonik Röhm GmbH, Pharma Polymers http://www.pharma-polymers.com/NR/rdonlyres/3D19A053-7628-41B1-BC52-123763B75566/0/090821FinalEUDRAGIT_online.pdf (Stand August 2009)
- (29)** R. V. Alasino, S. F. Ausar, I. D. Bianco, L. F. Castagna, M. Contigiani, D. M. Beltrano, Amphipathic and Membrane-Destabilizing Properties of the Cationic Acrylate Polymer Eudragit® E100, Macromol. Biosci., 5, 207-213, 2005
- (30)** S. Raudenkolb, Untersuchungen zur strukturellen und physikochemischen Charakterisierung von Stratum corneum Lipiden und deren Mischsystemen, Dissertation, Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg, 2002
- (31)** S. Hoeller, A. Sperger, C. Valenta, Lecithin based nanoemulsions: A comparative study of the influence of non-ionic surfactants and the cationic phytosphingosine on physicochemical behaviour and skin permeation, Int. J. Pharm. 370, 181-186, 2009-11-10

- (32)** E.Yilamz, H.B. Borchert, Design of a phytosphingosine-containing, positively-charged nanoemulsions as a colloidal carrier system for dermal application of ceramides, Eur. J. Pharm. Biopharm., 60, 91-98, 2005
- (33)** E.Yilamz, H.Borchert, Effect of lipid-containing, positively charged nanoemulsions on skin hydration, elasticity and erythema – An in vivo study, Int. J.Pharm. 307, 232-238, 2006
- (34)** S. Höller, Cubic gels, microemulsions and nanoemulsions for optimised skin penetration/ permeation of active molecules and improved chemical stability, Dissertation, Universität Wien, 2008
- (35)** E. Mutschler, G. Geisslinger, H. K. Kroemer, P. Ruth, M. Schäfer-Korting, Mutschler Arzneimittelwechselwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, 9.Auflage, 2008, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart
- (36)** Europäisches Arzneibuch, 6. Auflage, Grundwerk 2008
- (37)** http://www.dermotopics.de/german/ausgabe_1_2000_d/minoxidil_1_d.htm
(Stand August 2009)
- (38)** C.-J. Estler, H. Schmidt, Pharmakologie und Toxikologie für Studium und Praxis, 6.Auflage, 2007, Schattauer
- (39)** R.H. Müller, Zetapotential und Partikelladung in der Laborpraxis, Band 37, 1996, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart
- (40)** L. Kalie, Einfluss des Serum-Komplementsystems auf die Permeabilität von Liposomenmembranen, Dissertation, Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg, 2006

- (41) H. Ebel, Kalorische und strukturelle Umwandlung von Lipid-Membranen: Kopplung von Wärmekapazität und Volumenexpansionskoeffizienten, Diplomarbeit, Georg-August-Universität zu Göttingen, 1999
- (42) S. Hatziantoniou, C. Demetzos, Phasenübergänge von Lipiden und Liposomen, Dissertation, Universität, Athen, 2005
- (43) F. Gruber, Untersuchungen zur Enkapsulierung von Paclitaxel in kationische Liposomen, Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität, München, 2004
- (44) S. Faiß, Untersuchung des Adsorptionsverhaltens von Phospholipidvesikeln mit Hilfe der Quarzmikrowaage und Herstellung eines Gradientenmischers für festkörperunterstützte Lipiddoppelschichten, Diplomarbeit, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz, 2003
- (45) B. Biruss, C. Valenta, Skin permeation of different steroid hormones from polymeric coated liposomal formulations, Eur. J. Pharm. Biopharm., 62, 210-219, 2006
- (46) A. Hasanovic, S. Hoeller, C.Valenta, Analysis of skin penetration of phytosphingosine by fluorescence detection and influence of the thermotropic behaviour of DPPC liposomes, Int. J. Pharm., 383, 14-17, 2010
- (47) L. Panicker, Interaction of propyl paraben with dipalmitoyl phosphatidylcholine bilayer: a differential scanning calorimetry and nuclear resonance study, Colloids Surf. B61, 145-152, 2008

12. Lebenslauf

Kerstin Fischinger

Dittesgasse 6/9, A-1180 Wien

Geboren am: 14.6.1985

Staatsbürgerschaft: Österreich

Mobil: 0676/4350627

E-Mail: kerstin@cottage.at

Ausbildung

	derzeit III. Studienabschnitt
05/2009	2. Diplomprüfung
09/2005	1. Diplomprüfung
10/2003	Beginn des Pharmaziestudiums
1995 – 2003	Bundesgymnasium Wien XVIII
1991 - 1995	Volksschule in 1180 Wien

berufliche Praktika

SS09	Tutorium Magistrale Arzneimittelherstellung
seit 07/08	Schutzengel Apotheke 1180 Wien
03/08 – 06/08	Leonhardus Apotheke 1200 Wien
07/2006	Ferialpraxis Schwan-Apotheke 1020 Wien
07/2002	Ferialpraxis Bank Austria
07/2001	Ferialpraxis Bank Austria

Sprachkenntnisse

Englisch in Wort und Schrift
Französisch in Wort und Schrift

Sonstige Kenntnisse

EDV-Kenntnisse: MS-Office
Führerschein B