

2 Allgemeiner Teil

2.1 Die Haut

2.1.1 Funktion und Aufbau der menschlichen Haut

Die Haut ist mit einer Fläche von fast 2 m² und einer Masse von ca. 4 kg beim erwachsenen Menschen das größte Organ des menschlichen Körpers und bildet die Barriere zwischen der Umwelt und dem inneren Milieu des Organismus. Sie schützt gegen chemische, physikalische und mechanische Schädigungen und vor dem Eindringen von Mikroorganismen. Sie verhindert ein zu starkes Austrocknen des Körpers, lässt aber eine physiologische Wasserverdunstung zu. Weiterhin wirkt sie über eine Verengung oder Erweiterung der Blutgefäße sowie durch die Schweißsekretion als Wärmeregulator des menschlichen Körpers. Daneben vermittelt die Haut als wichtiges Sinnesorgan mit Hilfe spezifischer Rezeptoren Druck-, Temperatur- und Schmerzreize und spielt ebenso eine wesentliche Rolle bei zahlreichen immunologischen Prozessen [Barker et al. 1991, Merk und Bickers 1992, Bos und Kapsenberg 1990, 1993].

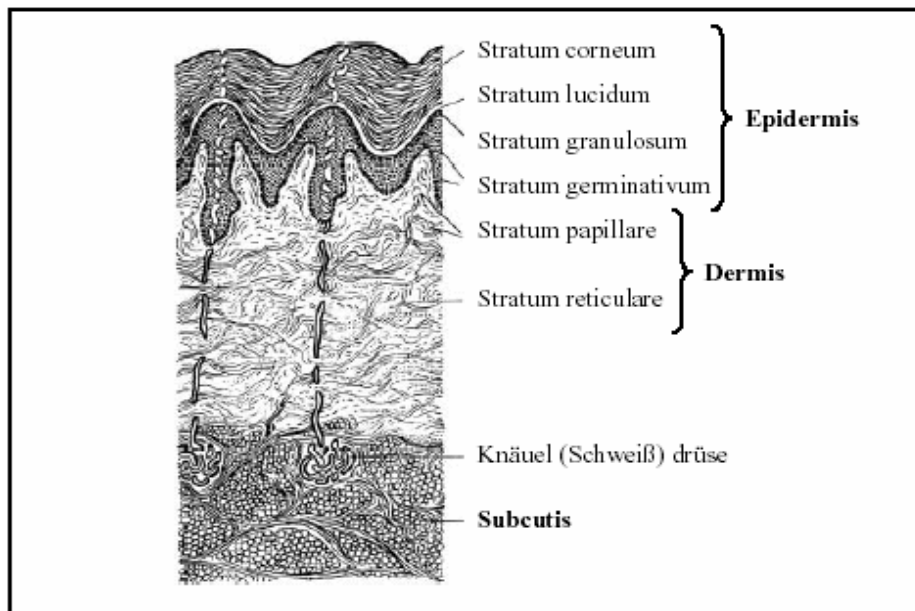


Abb. 2.1.1.1: Querschnitt durch die menschliche Haut [Junqueira und Carneiro 1991]

Die menschliche Haut gliedert sich in die Epidermis (Oberhaut), Dermis (Corium, Lederhaut) und die Subcutis (Unterhaut) (Abb. 2.1.1.1). Die Subcutis ist ein läppchenartig aufgebautes

Fettgewebe mit bindegewebigen Septen als Träger der Gefäß- und Nervenversorgung und dient im Wesentlichen als Kälteschutz, Energiereserve und Druckpolster. Sie verbindet die Haut locker mit darunter liegenden Strukturen wie z.B. Knochenhaut und Muskulatur. An die Subcutis schließt sich die Dermis als Stütz- und Bindegewebe von hoher mechanischer Festigkeit an. In der Dermis sind als Zelltyp Fibroblasten enthalten, die in eine Matrix aus Strukturproteinen wie Kollagen, Elastin und einer amorphen Grundsubstanz aus wasserbindenden Mucopolysacchariden eingebettet sind.

Die Epidermis, die in ihrer Dicke zwischen 40 μm an den Augenlidern und 1,5 mm an Handflächen und Fußsohlen variiert, besteht aus verhorntem Plattenepithel, das mehrere deutlich unterscheidbare Schichten erkennen lässt: Stratum basale, Stratum spinosum, Stratum granulosum und Stratum corneum (Abb. 2.1.1.2).

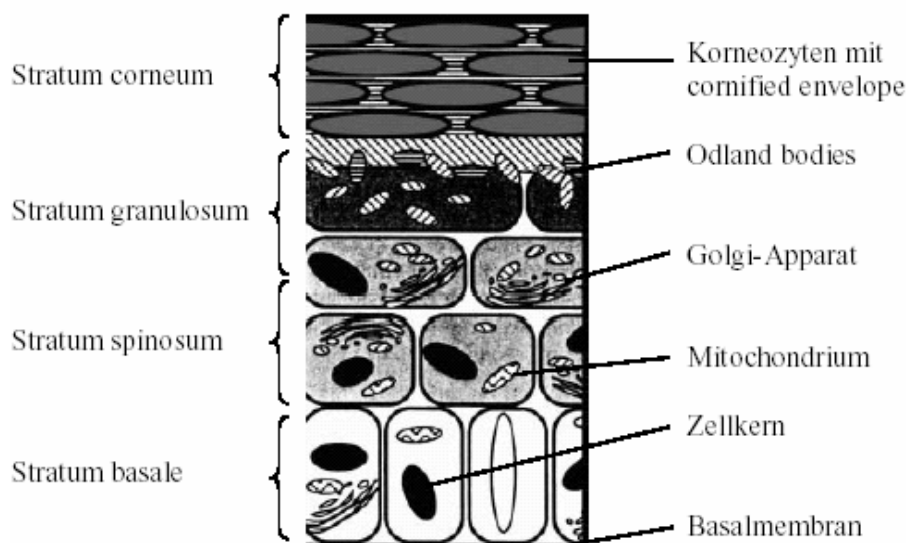


Abb. 2.1.1.2: Schematischer Aufbau der Epidermis [Schürer und Ruzicka 1999]

Insgesamt überwiegen in der Epidermis sich während ihrer Entwicklung zunehmend keratinisierende Zellen – die Keratinozyten. Daneben kommen im basalen Bereich der Epidermis Melanozyten, Langerhans-Zellen und Merkel-Zellen als nicht-keratinisierende Zellarten vor (ca. 15 %).

Während des epidermalen Differenzierungsprozesses, der insgesamt ca. 28 – 30 Tage dauert, erfahren die Keratinozyten eine drastische morphologische und histochemische Veränderung, indem sich die mitotisch aktiven Zellen der Basalzellschicht zu toten kernlosen, verhornten Korneozyten umwandeln, die an der Oberfläche abgeschuppt werden. Diese stark abgeflachten Korneozyten, die eine hexagonale Form aufweisen [Mackenzie 1973, Plewig und Marples 1970], sind in eine Lipidmatrix geordneter Struktur eingebettet. Im Inneren der Korneozyten befindet sich quervernetztes Keratin in eine amorphe Grundsubstanz aus cystin- und prolinreichen Proteinen eingelagert [Fritsch 1990]. Anstelle der üblichen Zellmembran werden die Korneozyten nach außen hin durch eine Hornhülle, den "cornified envelope", abgegrenzt. Sie besteht unter anderem aus durch Transaminasen vernetzten glutaminreichen Proteinen wie dem Involucrin [Simon und Green 1984] und dem Keratolinin [Fritsch 1990], an die kovalent Lipide gebunden sind [Swartzendruber et al. 1987] und stellt den chemisch widerstandsfähigsten Teil der Korneozyten dar. Desmosomen halten die Korneozyten zusammen und stabilisieren die Struktur des Stratum corneums.

Die Bildung der zwischen den Korneozyten befindlichen Lipiden, die sich hauptsächlich aus Ceramiden, Cholesterol, Cholesterolestern und freien Fettsäuren zusammensetzen (Abb. 2.1.1.3), beginnt bereits im Stratum spinosum und im Stratum granulosum mit dem vermehrten Auftreten spezieller sekretorischer Zellorganellen, den Odland-Körpern [Odland 1960].

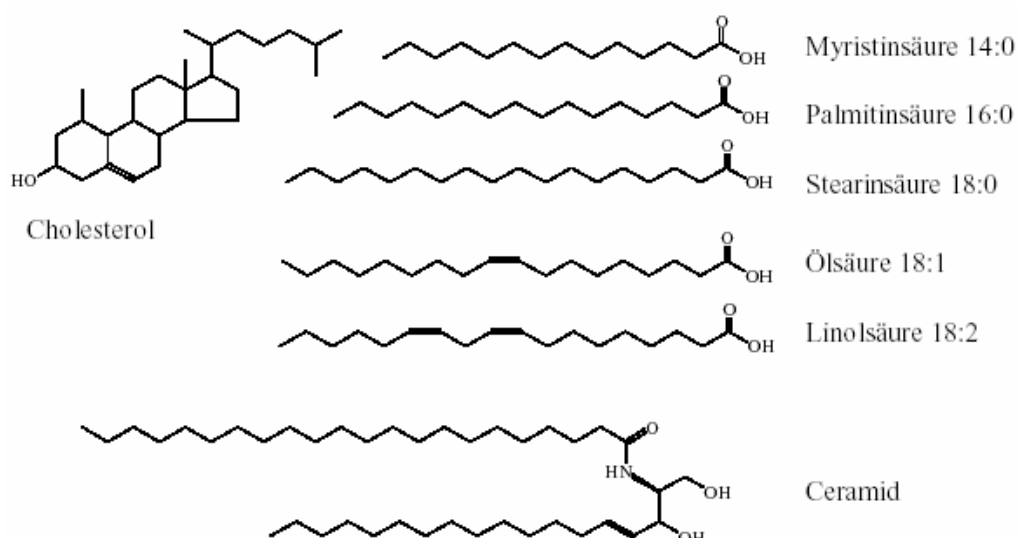


Abb. 2.1.1.3: Molekülstruktur der wichtigsten Stratum-corneum-Lipide

Diese werden im Golgi Apparat gebildet und enthalten hydrolytische Enzyme, Glykoproteine und Lipide [Elias 1981]. Die Lipide sind innerhalb dieser Granula in einer membranähnlichen kontinuierlichen Doppelschicht in Form von abgeflachten unilamellaren Lipidvesikeln übereinandergestapelt. Kurz vor der terminalen Differenzierung der Epidermis verschmilzt die Membran der Granula mit den Zellmembranen der Stratum-granulosum-Zellen und die Lipidvesikel werden in den Interzellularraum der Grenzschicht zwischen Stratum granulosum und Stratum corneum exozytiert [Mao-Qiang et al. 1995]. Dort ordnen sie sich parallel zur Zellmembran der verhornten Zellen an, wobei sie durch Schrumpfung der Korneozyten während der Verhornung näher aneinander rücken und schließlich zu kontinuierlichen Lipidlamellen verschmelzen [Landmann 1986].

Während in den Schichten der lebenden Epidermis polare Lipide wie Phospholipide und Glykolipide (Glykosylceramide) dominieren [Wertz und Downing 1983a, b], findet man im Stratum corneum vorwiegend Ceramide, freie Fettsäuren und Cholesterol, sowie Derivate des Cholesterols. Die stoffliche Zusammensetzung dieser Lipidschicht spielt eine wesentliche Rolle bei der Aufrechterhaltung der Barriereigenschaften des Stratum corneums [Mao-Qiang et al. 1993a, Norlen et al. 1999].

Sämtliche Lipide des Stratum corneums sind in der Lage, ein hochgeordnetes multilamellares System zu bilden, das den Raum zwischen den Korneozyten vollständig ausfüllt. Abb. 2.1.1.4 gibt die postulierte Anordnung der einzelnen Bestandteile innerhalb der Lipidlamellen schematisch wieder.

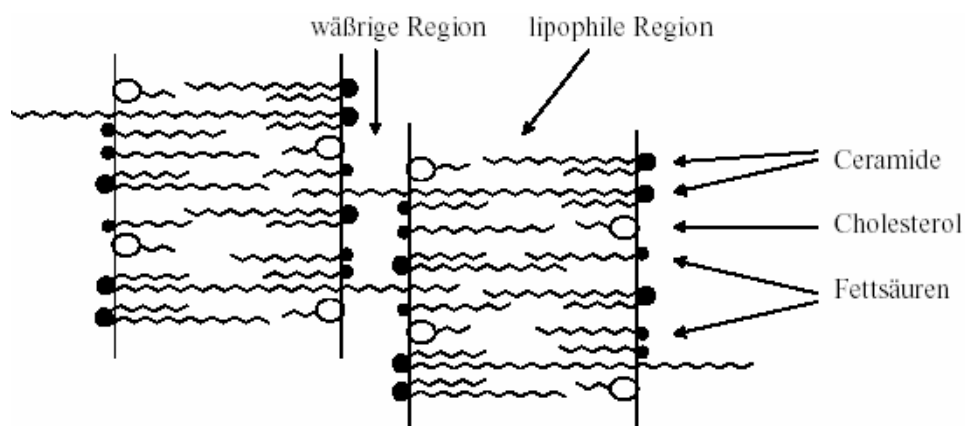


Abb. 2.1.1.4: Vereinfachte Darstellung der möglichen Anordnung der einzelnen Lipidkomponenten innerhalb des Bilayers im Stratum corneum

Dabei bilden Ceramide, Cholesterol und freie Fettsäuren das Grundgerüst, wobei die polaren Kopfgruppen einer Schicht an die polaren Gruppen der anderen Schicht grenzen. Die unpolaren Kohlenwasserstoffketten zeigen in die jeweils entgegengesetzte Richtung und treffen sich in der Mitte des Bilayers, wobei die unterschiedlich langen Ketten der Ceramide ineinander greifen und die Bilayer durch Van-der-Waals-Wechselwirkungen seitlich stabilisieren. Unpolare Bestandteile wie Kohlenwasserstoffe werden bevorzugt in die unpolaren Bereiche zwischen den Kohlenwasserstoffketten eingebaut, polare Bestandteile wie Wasser dagegen im Bereich der polaren Kopfgruppen. Das Acylceramid, Ceramid 1, ragt durch die ganze hydrophobe Region des Bilayers und mit der Linolsäurekette in den angrenzenden Bilayer hinein und stabilisiert so das gesamte multilamellare System.

Diese lamellaren Strukturen konnten mittels Röntgenstrukturanalyse bestätigt werden. Dabei wurde festgestellt, dass im Stratum corneum lamellare sich wiederholende Abstände von 13 nm dominieren [White et al. 1988, Bouwstra et al. 1991], die von 6 nm dicken hydrophilen Bereichen unterbrochen werden. Nach dem „sandwich model“ von Bouwstra et al. [2000, 2001], welches die elektronenmikroskopisch sichtbare „breit-schmal-breit“-Abfolge der lamellaren Schichten einbezieht, befindet sich innerhalb des 13 nm Wiederholabstandes der Stratum-corneum-Lipidschichten eine fluide Phase (schmal), die von hexagonal und/oder orthorhombisch geordneten Lipidstrukturen (breit) umgeben ist. Die 13 nm Struktur im Stratum corneum spielt bei der Ausbildung der Barrierefunktion der Haut eine wichtige Rolle [Bouwstra et al. 1998]. Bei Temperaturerhöhung wird eine Abnahme der orthorhombischen Strukturen zu Gunsten einer hexagonalen Anordnung beobachtet. Über eine Tiefenprofilierung des Stratum corneums ließ sich feststellen, dass bei physiologischer Temperatur (32 °C) der Anteil der hexagonalen Kettenpackung im Vergleich zur orthorhombischen Anordnung in den äußeren Schichten des Stratum corneums dominiert [Pilgram et al. 1998, 1999]. Bei Temperaturen von über 90°C sind nur noch fluide Phasen zu finden. Die Permeation von Substanzen durch das Stratum corneum soll nach diesem Modell hauptsächlich im Bereich dieser fluiden Phase erfolgen. Experimentelle Ergebnisse liegen zu dieser Vorstellung jedoch noch nicht vor.

Beim „mortar-brick model“ [Elias 1983] werden die Korneozyten als Backsteine für die chemische und mechanische Stabilität der Haut verantwortlich gemacht, und der interzellulären

Lipidmatrix wird als Mörtel die eigentliche Barrierefunktion hinsichtlich Wasserhomöostase und dem Eindringen von fremden Substanzen zugeschrieben (Abb. 2.1.1.5).

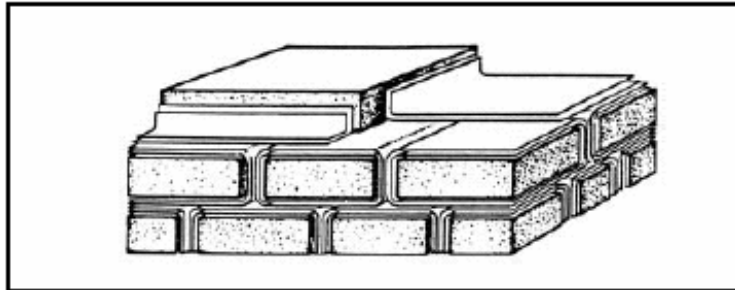


Abb. 2.1.1.5: Modellhafte Vorstellung des Stratum corneums [Landmann 1991]

Im „Domain mosaic model“ [Forslind 1994] wird die Lipidmatrix des Stratum corneums als ein diskontinuierliches System dargestellt, indem kristalline Domänen über Lipide flüssigkristalliner Phasen zusammengehalten werden. Modifizierte Varianten dieses Modells wurden von Norlen [2001a, b] vorgeschlagen und als „membrane folding model“ und „single gel phase model“ betitelt. Nach dem Modell von Forslind soll der Permeationsweg entlang fluider Domänen stattfinden. Diese Vorstellung wird von einigen Arbeiten an künstlichen Modellsystemen gestützt, in welchen festgestellt wurde, dass Stratum-corneum-Lipide unter bestimmten Versuchsbedingungen entmischte Phasen bilden [Wegener 1997, Ekelund et al. 2000; Engström et al. 2000; Sparr et al. 2001, Percot et al. 2001].

Der Vollständigkeit halber soll an dieser Stelle kurz auf die Lipide eingegangen werden, die sich auf der Oberfläche der Haut befinden und Bestandteile des sogenannten Hydrolipidfilmes der Haut sind. Sie bestehen u.a. aus Squalen, Wachsestern, Triglyceriden, Cholesterol und Cholesterolestern und werden hauptsächlich von den Schweiß- und Talgdrüsen sezerniert [Nicolaidis et al. 1968]. Auf der Oberfläche der Haut erfolgt dann eine teilweise Spaltung der Triglyceride durch bakterielle Lipasen in Mono- und Diglyceride und freie Fettsäuren, wodurch der pH-Wert auf Werte zwischen 5,5 – 6,5 absinkt. Der Hydrolipidfilm, der außerdem noch verschiedene hydrophile Substanzen wie organische Carbonsäuren, Aminosäuren und Salze enthält, besitzt eine gewisse antimikrobielle Schutzwirkung ("Säureschutzmantel") und hält die Haut geschmeidig, hat aber kaum Einfluss auf die Barrierefunktion, da nach einer Entfernung der

Oberflächenlipide kein Anstieg des transepidermalen Wasserverlustes, als Maß für die Permeabilität der Haut, resultierte [Rougier et al. 1987].

2.1.2 Hautfeuchtigkeit

Betrachtet man den Wassergehalt des Stratum corneums, so liegt dieser zwischen 10 und 40 % [Warner et al. 1988]. Die innerste Zellschicht des Stratum corneums steht mit der hohen Feuchte der Zellen des Stratum granulosums, die bis zu 70 % betragen kann, im Gleichgewicht, die äußerste Schicht dagegen mit der meist trockeneren Umgebungsluft. Dieser Konzentrationsgradient führt zu einer kontinuierlichen Wasserabgabe an die Umgebung, die auch als transepidermaler Wasserverlust bezeichnet wird (transepidermal water loss = TEWL) und die hauptsächlich von der Struktur des Stratum corneums beeinflusst wird [Wertz 1996, Elias und Feingold 1992, Grubauer et al. 1989]. Für die Verhinderung eines unkontrollierten TEWL sind wasserbindende Substanzen, wie Korneosomen, Proteine, Aminosäuren und natürliche Feuchthaltefaktoren (natural moisturizing factor = NMF), die sich im Stratum corneum befinden, verantwortlich. NMF setzen sich aus Bestandteilen von Schweiß (Harnstoff, organische Säuren, Ionen), Talg und aus Produkten des Verhornungsprozesses (Harnstoff, Pyrrolidincarbonsäure, Emulgatoren) zusammen.

Die interzellulären, lamellar vorliegenden Lipide spielen eine wichtige Rolle in der Barrierefunktion der Haut und begrenzen maßgeblich den TEWL [Sweeney und Downing 1970]. In diesem Zusammenhang sind zahlreiche Hautkrankheiten wie trockene Haut, atopische Dermatitis, Psoriasis und Ichthyosis mit einem Mangel an Ceramiden und damit durch eine gestörte Stratum-corneum-Barrierefunktion verbunden. Dies führt zu einem erhöhten TEWL und einem starken Abfall des Wassergehaltes der Epidermis [Paige et al. 1994, Motta et al. 1994, Rawlings et al. 1994, Di Nardo et al. 1998]. Die Wiederherstellung des ursprünglichen Hydratationszustandes ist nun auf mehrere Weise möglich. Zum einen kann der Feuchtigkeitsgehalt der Haut durch dermal applizierte Substanzen erhöht werden, die entweder in ihrer Zusammensetzung dem NMF ähneln und Wasser zu binden vermögen oder die die Lipidlamellenarchitektur im Stratum corneum normalisieren. So führt beispielsweise ein Mangel an essentiellen Fettsäuren wie der Linolsäure (essential fatty acid deficiency = EFAD), die auch

Bestandteil der Stratum-corneum-Lipide ist, zu einer starken Zunahme der Permeabilität des Stratum corneums mit einer 5- bis 8-fachen Erhöhung des TEWL und einer fehlerhaften Differenzierung der Korneozyten [Lowe und Stoughton 1977, Elias et al. 1980]. Die topische und systemische Supplementierung der fehlenden Fettsäure bewirkte eine Verbesserung der Hautsymptome [Prottey et al. 1975, Hansen und Jensen 1985]. Die Bedeutung der Ceramide auf die Barriereigenschaften wird im Abschnitt 2.4 ausführlich behandelt. Eine andere Möglichkeit ist, durch die Applikation okklusiver Materialien, die Wasserabgabe an die Atmosphäre zu reduzieren und so den Wassergehalt anzuheben.

2.1.3 Viskoelastizität der Haut

Die Haut stellt ein viskoelastisches System dar, d.h. sie weist sowohl viskose als auch elastische Komponenten auf. Die biomechanischen Eigenschaften der Haut hängen in erster Linie von der Dermis ab [Leveque et al. 1980, Elsner et al. 1990, Cua et al. 1990]. Die intra- und intermolekulare Verknüpfung von kollagenen, elastischen und retikulären Fasern, die in einer viskosen Matrix eingebettet sind, bestimmt weitestgehend ihren Zustand. Die Fasersysteme in der Dermis bilden parallele Netze aus, die in Richtung Epidermis „reißverschlussähnlich“ verzahnt sind [Cua et al. 1990, Edwards und Marks 1995]. Relaxationsvorgänge innerhalb der Kollagenfasern bzw. an der Grenzfläche zwischen Fasern und Matrix, die u.a. vom Wassergehalt abhängig sind, werden für die viskoelastischen Eigenschaften verantwortlich gemacht [Purslow et al. 1998]. Ist die Haut entspannt, so liegen die Faserbündel locker vor. Durch Dehnung des Gewebes erfolgt eine gerade Ausrichtung und Dehnung der Fasern, die dann zur Spannungsübertragung beitragen [Cua et al. 1990]. Eine Dehnung der Haut über ihre natürliche Dehnfähigkeit hinaus führt zu Wasserverschiebung aus dem Kollagennetzwerk und daraus resultierend zu einer langsamen Rückbildung des Ausgangszustandes der Haut, die als mechanisches Kriechen bezeichnet wird [Purslow et al. 1998, Wilhelmi et al. 1998]. Mit zunehmendem Alter nimmt der absolute Kollagengehalt der Haut ab.

Die Epidermis scheint für die gesamte Hautmechanik von untergeordneter Bedeutung zu sein [Leveque et al. 1980, Vogel 1987, Daly und Odland 1979], jedoch ist es aufgrund ihrer geringen Dicke und der Verzahnung mit dem Stratum papillare schwierig, ihre Einflüsse von denen der

Dermis zu trennen. Der geringe Einfluss der Epidermis auf die viskoelastischen Eigenschaften der Haut wird vor allem auf die Rigidität des Stratum corneums zurückgeführt. Die Einbettung der stark keratinisierten Korneozyten in eine lamellare Matrix aus Lipiddoppelschichten führt zur Bildung einer Lipidbarriere, die die Haut vor erhöhtem TEWL schützt. Der Einfluss des Feuchtigkeitsgehaltes der Hornschicht auf die Viskoelastizität wurde intensiv untersucht [Leveque und De Rigal 1985, Hargens 1981]. Je höher der Feuchtigkeits- und Lipidgehalt, desto größer ist der Verformungswiderstand. Weiterhin ist die Epidermis durch enthaltene faserartige Keratine (Skleroproteine) zäh und elastisch federnd [Christensen et al. 1999].

Ungeachtet der Komplexität des viskoelastischen Eigenschaften der Haut kann zusammenfassend festgestellt werden, dass die Elastizität vorwiegend durch kollagene und elastische Fasern im Bereich der Dermis hervorgerufen und die Viskosität durch die innere Reibung einerseits der Kollagenfasern andererseits der Bindegewebszellen untereinander, der Zellen und Kollagenbündel sowie der Matrixkomponenten bestimmt wird. Andererseits ist der Beitrag der Epidermis am viskosen Widerstand gegenüber einer Verformung zwar kleiner, jedoch nicht zu vernachlässigen.

Schließlich müssen Einflussgrößen wie Geschlecht, Alter, Körperregion, genetische Faktoren, Krankheiten und Sonnenexposition erwähnt werden, die ebenfalls einen maßgeblichen Einfluss auf die Viskoelastizität und andere Hautfunktionen haben.

2.1.4 Grundlagen der dermalen Arzneistoffaufnahme

Arzneistoffe, die auf die Haut appliziert werden, sollen entweder lokal in der Haut oder transdermal, d.h. systemisch, wirken. Wenn eine topische Zubereitung auf die Haut appliziert wird, verteilt sie sich auf der Hautoberfläche mit direktem Kontakt zum Stratum corneum. Anschließend werden Bestandteile der Zubereitung (u.a. der Arzneistoff) aus der Formulierung ins Stratum corneum freigesetzt. Das Stratum corneum stellt die Hauptbarriere für die Aufnahme topisch applizierter Arzneistoffe dar, wobei diese in Abhängigkeit von ihren physikochemischen Eigenschaften durch passive Diffusion entlang eines Konzentrationsgefälles das Stratum corneum überwinden können [Scheuplein und Blank 1971]. Hierbei erfolgt die Diffusion entweder

transzellulär abwechselnd durch die Kerneozyten und die multilamellare Lipidmatrix oder nur interzellulär (parazellulär) durch die Lipidmatrix unter Umgehung der Kerneozyten [Elias 1981] (Abb. 2.1.4).

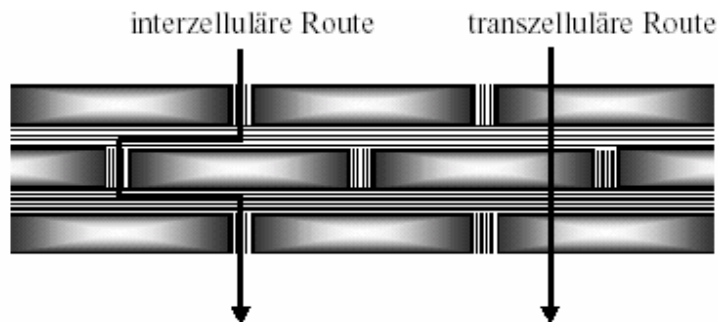


Abb. 2.1.4. Schematische Darstellung der Permeationswege durch das Stratum corneum

Da die Hautanhangsgebilde wie Haarfollikel, Schweiß- und Talgdrüsen beim Menschen nur ca. 0,1 % der Hautoberfläche ausmachen, wird dem transfollikulären bzw. transglandulären Weg nur eine geringe Bedeutung bei der Hautpermeation von Arzneistoffen beigemessen. Diese Wege scheinen nur eine gewisse Rolle bei der Aufnahme von großen polaren oder ionischen Molekülen und bei kurzen Diffusionszeiten zu spielen [Grimnes 1984, Loth 1986, Barry 1987].

Verschiedene Untersuchungen belegen, dass die interzelluläre Route durch die Lipidmatrix für Arzneistoffe von größerer Bedeutung ist. So steigt die Permeabilität des Stratum corneums nach Extraktion der Lipide mit Lösungsmitteln an, während keratolytische Reagentien nur einen geringen Effekt haben [Sweeney und Downing 1970, Maltotsy et al. 1968, Harada et al. 1992, Lieckfeldt und Lee 1994]. Weiterhin konnte durch optische Methoden das Diffusionsverhalten von verschiedenen Substanzen durch die multilamellaren Strukturen sichtbar gemacht werden [De Haan et al. 1989, Bodde et al. 1991, Simonetti et al. 1995]. Innerhalb der Lipidlamellen kann die Diffusion, in Abhängigkeit von den physikochemischen Eigenschaften des Arzneistoffes, entweder durch die polaren Regionen entlang der hydrophilen Kopfgruppen oder durch die lipophilen Bereiche des Bilayers stattfinden. Nach dem 1. Fickschen Gesetz spielen dabei neben dem Konzentrationsgradienten und dem Diffusionskoeffizienten u.a. auch der Verteilungskoeffizient des Arzneistoffes zwischen den Grenzphasen, häufig durch den Öl/Wasser Verteilungskoeffizienten ausgedrückt, eine Rolle.

Innerhalb der Korneozyten können Wechselwirkungen von topisch applizierten Stoffen mit ihren geringen lipophilen Anteilen der Zellen und den Proteinen stattfinden und so zu einer Schwächung der Bindungskräfte und Änderung der Helixkonformationen mit resultierender Porenbildung führen. Weiterhin kann durch topisch applizierte Stoffe eine Extraktion von Lipiden und Proteinen stattfinden, wodurch die Porosität des Stratum corneums erhöht wird [Friend et al. 1988]. Kommt es durch die beschriebenen Wechselwirkungen von Teilen der applizierten Zubereitung mit den Stratum-corneum-Bestandteilen zu einer Steigerung der Permeabilität für andere Stoffe, so spricht man von einer Permeationsförderung durch sogenannte Enhancer, die insbesondere bei der transdermalen Anwendung von solchen Arzneistoffen erwünscht ist, die das Stratum corneum nicht oder nur in geringem Ausmaß penetrieren können [Neubert et al. 1996].

Für besonders lipophile Arzneistoffe wird eine Depotbildung in den unteren Schichten des Stratum corneums beschrieben, da die lebenden Anteile der Epidermis eine höhere Polarität besitzen und solche Stoffe daher entsprechend ihrem Verteilungskoeffizienten im Stratum corneum angereichert werden [Wiechers 1989]. Diese Strategie wird bei der Entwicklung von topischen Arzneiformen zur dermalen Therapie verfolgt. So wird für die pathologischen Veränderungen der Hornschicht oder der Epidermis ein gutes Eindringen in die oberflächlichen Hautschichten angestrebt, ohne dass der Arzneistoff die Haut durchdringt (z.B. oberflächliche Mykosen, Psoriasis). Bei Erkrankung im kutan-vaskulären Bereich dagegen sollte der Arzneistoff schnell die oberflächlichen Hautschichten durchdringen, um in den tiefen Hautarealen wirksam werden zu können. Neben den Eigenschaften des Arzneistoffes beeinflussen physiologische Faktoren wie Hautzustand, Applikationsort und Alter und vor allem die Wahl des Vehikels das Ausmaß der Arzneistoffpenetration bzw. -permeation. [Maibach et al. 1971, Ziegenmeyer 1986, Bonina et al. 1983].

2.2 Nanoemulsionen als kolloidale Arzneistoffträgersysteme

Die intensive Entwicklung positiv geladener Nanoemulsionen wurde durch zahlreiche Publikationen in der Liposomenforschung angestoßen [Gregoriadis und Neerunjum 1974; Steger und Desnick 1977; Meisner et al. 1989]. Dabei wurde herausgefunden, dass die Eliminationsrate

von Liposomen aus der systemischen Zirkulation nicht nur von der Vesikelgröße, sondern auch von der Oberflächenladung abhängig war. Positiv geladene Liposomen wurden dabei langsamer aus dem Blutkompartiment entfernt [Gregoriadis und Neerjunum 1974] und verzögerten die intratumorale Clearance im Vergleich zu negativ geladenen Liposomen [Nomura et al. 1998].

Da positiv geladene Liposomen langsamer aus dem Blut eliminiert wurden als negativ geladene, wurde angenommen, dass positiv geladene Nanoemulsionen ebenfalls die Pharmakokinetikprofile von selektiv eingearbeiteten Arzneistoffen verändern und im gewissen Umfang eine Anreicherung in bestimmten Zielorganen (Drug Targeting; siehe Abschnitt 2.2.2) begünstigen würden, da sich die Struktur beider Systeme sehr ähnelt. Diese Hypothese wurde von anderen Autoren bestätigt, die positiv und negativ geladene Nanoemulsionen untersuchten [Davis et al. 1992]. Auf den Überlegungen basierend wurden zahlreiche Formulierungen entwickelt, die im Folgenden ausführlich besprochen werden.

2.2.1 Topische Anwendung

Bei der topischen Anwendung von Arzneizubereitungen stellt die Hornschicht, das Stratum corneum, die Hauptpenetrationsbarriere für Arzneistoffe dar. Um diese Barriere durch Beeinflussung des Stratum corneums zu überwinden, werden physikalische Verfahren (Hydratation, Iontophorese, Phonophorese, Wärme usw.) oder chemische Methoden (Prodrugs, chemische Modifizierung, Penetrationsenhancer) ausgenutzt [Kalbitz et al. 1996]. Penetrationsenhancer werden häufig zur Verbesserung der dermalen Penetration von Arzneistoffen verwendet [Neubert et al. 1996]. Jedoch ist der Einsatz von Penetrationsenhancern häufig mit Hautirritationen, Toxizität und Sensibilisierung verbunden. Da die Unbedenklichkeit von Arzneistoffträgersystemen gewährleistet sein muss, ist die Suche nach wirksamen, physiologisch vorkommenden, nicht irritierenden Enhancern sehr intensiv.

Liposomen stellen kugelförmige Vesikel dar, die aus einer (unilamellar) oder mehreren (multilamellar) Lipiddoppelschichten aufgebaut sind. Ihr grundsätzlicher Aufbau gleicht der Struktur biologischer Membranen (Abb. 2.2.1.1).

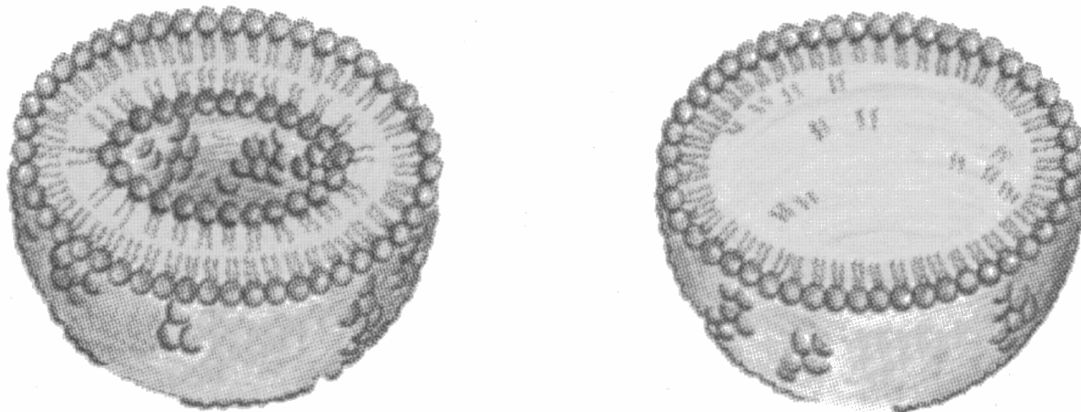


Abb. 2.2.1.1: Modelle der aus Phosphatidylcholin hergestellten vesikulären Strukturen „Liposom“ (links) und „Nanoemulsionstropfen“ (rechts) [GareiB et al. 1994]

Die Grundbausteine für die Herstellung von Liposomen sind Phospholipide. Die ersten liposomalen Zubereitungen wurden als Kosmetika für die allgemeine Verbesserung des Hautzustandes angewandt [Neubert et al. 1998]. Da in der Medizin und Pharmazie bei der Anwendung von mit Arzneimitteln beladenen Liposomen die Arzneistoffabgabe an die Zelle beschrieben wurde [Raab 1991], haben sich die Produktaussagen bei Kosmetika in ähnlicher Richtung entwickelt. Umfangreiche Untersuchungen existieren hinsichtlich der Erhöhung der Penetration von Arzneistoffen für die dermale Applikation nach deren Einarbeitung in Liposomen [Neubert et al. 1998]. Die Erhöhung der Penetration kommt durch eine verstärkte Wechselwirkung der Phospholipide mit dem Stratum corneum zustande, die zu einer vollständigen Fusionierung der Phospholipide mit den lamellaren Lipidstrukturen der Haut führt (Abb. 2.2.1.2) [Braun-Falco et al. 1992, Blume et al. 1993]. Diese Fusion sorgt für eine strukturelle Neugestaltung der Lipidschichten des Stratum corneums mit anschließender Hydratation. Darüber hinaus wird auch über die Bildung von sogenannten „Löchern“ in den Lipidschichten des Stratum corneums diskutiert, die einen erhöhten Arzneistoffflux durch die Haut verursacht. Essenzielle Voraussetzung für eine dermale und kosmetische Wirkung ist, dass die Fusion nahezu vollständig in den äußeren Lagen der Hornschicht stattfindet, so dass topisch aufgetragene liposomale Formulierungen zu mehr als 99 % in der Hornschicht verbleiben.

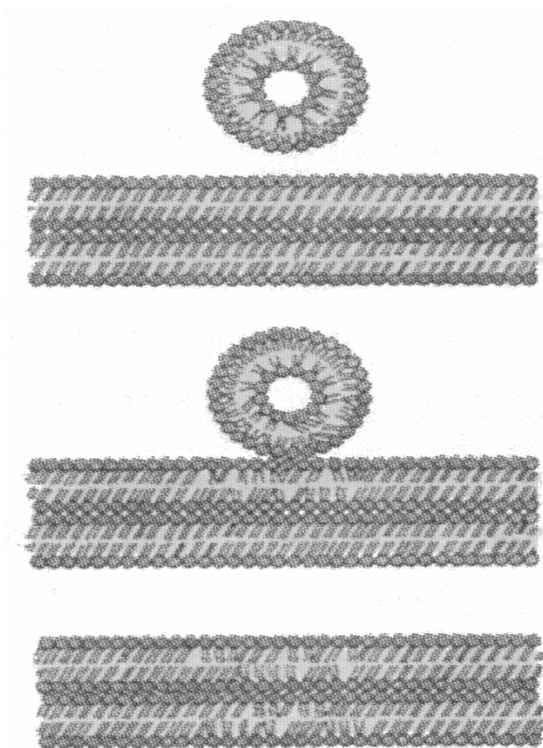


Abb. 2.2.1.2:

1. Das Liposom ist elektronenmikroskopisch nicht von der Mikrostruktur der Lipidschutzschicht des Stratum corneums zu unterscheiden [Braun-Falco et al. 1992]

2. Aufgrund der Strukturähnlichkeit kommt es zu einer starken Anziehung zwischen Liposom und Stratum corneum-Lipiden. Hierbei wird ein Austausch der Lipide diskutiert. [Ghyczy und Gareiß 1994]

3. Das Liposom fusioniert vollständig mit der lamellaren Lipidstruktur des Stratum corneums, die eine starke Fluidisierung erfährt [Blume et al 1993]

Um den Transport lipophiler Arzneistoffe, der beim Einsatz von Liposomen aufgrund eines hydrophilen Zentrums begrenzt ist, zu verbessern, wurden Trägersysteme entwickelt, die dem Mechanismus des Lipidtransports zwischen den Organen über die Blutbahn ähneln. Nanoemulsionen haben gegenüber Liposomen den Vorteil, dass sie aufgrund des höheren Ölanteils größere Mengen an lipophilem Arzneistoff aufnehmen und im Großmaßstab hergestellt werden können. Nanoparts[®], 1990 erstmals in der Kosmetik verwendete Nanoemulsionen, sind Vesikel mit nur einer Phospholipidschicht mit nach innen gerichtetem lipophilen Teil. Die Öltröpfchenoberfläche von Nanoemulsionen wird vollständig durch Cholin Kopfgruppen des üblicherweise verwendeten Emulgators, Phosphatidylcholin, abgedeckt, so dass die Nanoemulsionströpfchen die liposomalen Oberflächenstrukturen imitieren (Abb. 2.2.1.1). Somit könnten auch Nanoemulsionen wie Liposomen mit der lamellaren Lipidstruktur der Hornschicht interagieren und zu einem erhöhten Arzneistoffflux in die Haut führen. In einigen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die Penetration von schwer wasserlöslichen Arzneistoffen durch Nanoemulsionen verbessert werden konnte [Duncan et al. 1990, Driller 1995, Friedman et al. 1995, Schwarz et al. 1995]. Diese Nanoemulsionen zeigten auch in einem 48-Stunden-Versuch

nur eine geringe Hautirritation und eine exzellente Akzeptanz bei den Probanden [Benita et al. 1999], was die Entwicklung von Nanoemulsionen zur topischen Applikation attraktiv macht.

Die Epithelzellen verschiedener Organe und Gewebe, einschließlich Schleimhäute und Haut, tragen nach außen, aufgrund von negativ geladenen Proteinbestandteilen der Membran und von selektiven, aktiven Ionenpumpen, eine negative Ladung. Deshalb haben alle Epithelzellen eine hohe Affinität zu positiv geladenen, gelösten Stoffen [Rojanasakul et al. 1992]. Auf diesen Überlegungen und Ergebnissen basierend sind Phytosphingosin-enthaltende, positiv geladene Nanoemulsionen für die topische Arzneimittelabgabe mit dem Ziel der verbesserten Hautpenetration zur Erhöhung von lokalen therapeutischen Konzentrationen vielversprechend.

2.2.2 Parenterale Anwendung

Die Entwicklung von Intralipid[®] und Lipofundin[®] als kolloidale Nanoemulsionen zur parenteralen Fetternährung hat die Möglichkeit der Nutzung der inneren Ölphase von O/W-Nanoemulsionen als Träger für lipophile Arzneistoffe eröffnet. Hauptgründe für den Einsatz der i.v. applizierten arzneistoffhaltigen Nanoemulsionen sind die Stabilisierung von hydrolyseempfindlichen Arzneistoffen, Reduzierung der Irritationen, der Schmerzen oder der Toxizität von i.v. applizierten Arzneistoffen, die Möglichkeit der kontrollierten Arzneistofffreigabe und „Drug targeting“ [Kurihara et al. 1996b, Sorkine et al. 1996, Klang et al. 1998, Klang und Benita 1998]. Zudem sind Nanoemulsionen bioabbaubar, biokompatibel, physikalisch bzw. kinetisch stabil und einfach im Großmaßstab herzustellen.

Die Öltröpfchen von konventionellen, negativ geladenen O/W-Emulsionen werden nach i.v.-Injektion schnell durch das retikuloendotheliale System (RES) in der Leber oder der Milz abgefangen und abgebaut. Dies kann ein Vorteil bei der Behandlung von Krankheiten sein, bei der das RES beteiligt ist, aber es ist problematisch bei der gezielten Freigabe in nicht RES-Gewebe. Zusätzlich verhindert die schnelle Elimination der Öltröpfchen die Verwendung der Emulsionen für die kontrollierte Freisetzung des Arzneistoffes im Blutgefäßsystem. Deshalb ist es notwendig, O/W-Emulsionen zu entwickeln, die sich dem RES entziehen und eine verlängerte Verweildauer im Blut aufzeigen können. Verschiedene Ansätze zur Veränderung des

Verteilungsmusters von Emulsionen im Körper wurden untersucht, um eine hohe Konzentration des Arzneistoffes im Plasma und in den Geweben und eine geringe Konzentration in den RES-reichen Organen zu erhalten [Kakutani et al. 1991, Takino et al. 1994, Lee et al. 1995, Liu und Liu 1995, Sakaeda und Hirano 1998, Kurihara et al. 1996a,b,c]. Ein Ansatz beschäftigte sich mit der Tatsache, dass Fettemulsionen an den Apolipoproteinanteil von Lipoproteinen binden können, um anschließend durch Lipolyse gespalten zu werden [Hirata et al. 1999]. Dieser Abbau würde den partikulären Charakter der Fettemulsionen und folglich ihr Verteilungsverhalten im Körper verändern. Dieser Ansatz wurde durch den Effekt von Sphingomyelin und Cholesterol auf die Plasmaclearance von Lipidemulsionen im Rattenmodell untersucht. Die Gegenwart von Cholesterol begünstigte das Entfernen der Emulsionspartikel aus dem Plasma, wohingegen Sphingomyelin die Partikelelimination verzögerte. Sphingomyelin, das an der Oberfläche der Emulsionströpfchen lokalisiert war, reduzierte die Anheftung an Apolipoprotein E, was zu einer verlängerten Zirkulation der Emulsionspartikel im Plasma führte. Gleichzeitig verminderte Sphingomyelin das Verhältnis von Apolipoprotein C zu Apolipoprotein E, das eine Emulsionsaufnahme über die Apolipoprotein-E-Rezeptoren begünstigte [Arimoto et al. 1998]. Ein weiterer Ansatz zur Veränderung des Verteilungsmusters von Lipidemulsionen beschäftigte sich mit der Entwicklung von positiv geladenen Nanoemulsionen [Elbaz et al. 1993; Klang et al. 1994]. Eine Studie über die Organverteilung von positiv und negativ geladenen Nanoemulsionen darunter die negativ geladene Nanoemulsion Intralipid[®], die alle [¹⁴C]Cholesteryloleat enthielten, wurde durchgeführt [Klang und Benita 1998]. Es konnte gezeigt werden, dass die Injektion von [¹⁴C]Cholesteryloleat via positiv geladener Nanoemulsionen im Vergleich zu negativ geladenen Nanoemulsionen (u.a. Intralipid[®]) zu einer beträchtlichen Aufnahme des Arzneistoffes in die Lunge und zu einer längeren Verweildauer in der systemischen Zirkulation führte. Diese Ergebnisse könnten neue therapeutische Möglichkeiten für die Chemotherapie mit gezieltem Lungentargeting eröffnen. Daneben wurden Komplexe aus kationischen Lipiden mit Oligonukleotiden und DNA-Vektoren [Litzinger et al. 1996, Hara et al. 1997, Rädler et al. 1997, Mahato et al. 1997, Koltover et al. 1998, Teixeira et al. 1999, 2001, Yi et al. 2000] als nichtvirale Träger für die Gentherapie entwickelt. Diese Ergebnisse zeigen, dass die Entwicklung von positiv geladenen Vehikelsystemen für die i.v.-Applikation von zahlreichen Arzneistoffen mit dem Ziel des Drug Targetings und der verlängerten Verweildauer in der systemischen Zirkulation vielversprechend ist.

2.2.3 Perorale Anwendung

Zahlreiche Arbeitsgruppen haben das Potenzial von Nanoemulsionen als Arzneistoffträgersystem für die Verlängerung des pharmakologischen Effektes von Arzneistoffen mit kurzer Halbwertszeit oder geringer Bioverfügbarkeit nach peroraler Applikation untersucht. Es wurde gezeigt, dass die Einarbeitung von Arzneistoffen in O/W-Nanoemulsionen die Resorption nach peroraler Gabe im Vergleich zu wässrigen Lösungen signifikant erhöhte [Constantinides 1995]. Eine Ölsäure-haltige O/W-Nanoemulsion, die Tacrolimus enthielt, zeigte in Tierversuchen eine Verbesserung der oralen Resorption des Arzneistoffes im Vergleich zu kommerziell erhältlichen Formulierungen [Uno et al. 1999]. Jedoch wurden Emulsionen aufgrund der Einfachheit und der verbesserten Compliance durch selbstemulgierende Arzneistoffträgersysteme (SEDD) ersetzt, die isotrope Mischungen aus Ölen und Emulgatoren darstellen und die die orale Bioverfügbarkeit von inkorporierten, schwer wasserlöslichen Arzneistoffen verbesserten. Im Gegensatz zu Emulsionen, die metastabile Arzneiformen darstellen, sind SEDD physikalisch stabile Lösungen, die leicht herzustellen sind. In Weichgelatine kapsel eingearbeitet, werden diese Formulierungen im gastrointestinalen Trakt nach Auflösen der Kapsel dispergiert, um nach Verdünnung mit dem Magen-Darmsaft eine feine Emulsion zu bilden [Wakerly et al. 1986, Charman et al. 1992, Craig et al. 1993, Shah et al. 1994, Tenjarla 1999].

Die neue, oral applizierte, selbstemulgierende Mikroemulsionsformulierung mit dem peroral schlecht verfügbaren Cyclosporin A (Sandimmun Neoral[®]), die Vorteile, wie nahezu vollständige und vorhersehbare Resorption und geringere Variabilität in der Pharmakokinetik, gegenüber der konventionellen Formulierung, Sandimmun[®] (SIM) besitzt, geht als gutes Beispiel für ein akzeptiertes SEDD-Handelspräparat voran [Vondercher und Meizner 1994, Meizner et al. 1995, Ritschel 1996 Keown und Niese 1998]. Zahlreiche Formulierungen [Gursoy und Benita 2004] wurden erfolgreich in den Markt eingeführt oder sind in der Entwicklung, was die Bedeutung der SEDD zur peroralen Applikation von schwerlöslichen Arzneistoffen verdeutlicht.

SEDD, die eine positive Ladung auf der Oberfläche tragen, wurden mit dem Ziel der verbesserten elektrostatischen Wechselwirkung der gebildeten Öltröpfchen mit der Magenschleimhaut entwickelt. Ein positiv geladenes, Progesteron enthaltendes SEDD, das Tween 80[®], Benzylalkohol, Ethyloleat und Oleylamin enthält, wurde entwickelt und charakterisiert

[Gershanik und Benita 1996]. Vergleichende Bioverfügbarkeitsstudien an jungen, weiblichen Ratten mit verschiedenen flüssigen Arzneiformen von Progesteron zeigten, dass nur positiv geladene SEDD das Potenzial hatten, als wirksame, perorale Arzneiform von Progesteron angesehen zu werden. Denn SEDD wies die höchsten und befriedigendsten Resorptionsprofile auf. In einer zweiten Studie wurde Cyclosporin A als Modellarzneistoff verwendet [Gershanik et al. 1998]. Die verbesserte Interaktion der Öltröpfchen mit der Mukosaoberfläche, die zu einer erhöhten Adhäsion der positiv geladenen Öltröpfchen an die intestinale Mukosa von Ratten mit gesteigerter Arzneistoffaufnahme führte, wurde durch eine elektrostatische Anziehung der positiv geladenen Öltröpfchen mit den negativ geladenen Oberflächen der Epithelzellen begründet. Dies macht die Entwicklung von positiv geladene SEDD für die perorale Applikation von schwer wasserlöslichen Arzneistoffen interessant.

2.2.4 Ophthalmologische Anwendung

Die meisten ophthalmologischen Arzneistoffe werden mit Hilfe von wässrigen Vehikeln auf das Auge appliziert. Jedoch sorgen solche Vehikel für eine geringe Bioverfügbarkeit und eine kurze Wirkdauer des Arzneistoffes. Zusätzlich haben zahlreiche Arzneistoffe, die ophthalmologisch appliziert werden, eine geringe Wasserlöslichkeit, was deren Anwendung am Auge ernsthaft limitiert. Um intraokular wirksam zu sein, müssen die Arzneistoffe durch die Gewebsbarrieren des Auges (z.B. Hornhaut und Konjunktiva) penetrieren, um den Wirkort zu erreichen. Diese Permeation durch die Gewebe stellt meist den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt dar. Zusätzlich kommt dazu, dass aufgrund des schnellen Ausschwemmens durch die Tränenflüssigkeit nur eine geringe Menge der applizierten Dosis am Auge verbleibt [Fitzgerald et al. 1987, Mughtar und Benita 1994]. Folglich ist die okulare Bioverfügbarkeit eines topisch applizierten Arzneistoffes gering, was gut dokumentiert und sehr ausführlich diskutiert worden ist [Prausnitz und Noonan 1998]. Um die ophthalmologische Bioverfügbarkeit von lipophilen Arzneistoffen zu verbessern, wurden Mizellen [Saettone et al. 1988], Inserte, halb feste Arzneistoffsysteme, in situ gelierende Systeme [Balasubramaniam und Pandit 2003, El-Kamel 2002, Srividya et al. 2001], Mikroemulsionen [Kawakami und Yoshikawa 2001, Zabka 2003], Liposomen [Meisner et al. 1989], Nanopartikel [Harmia et al. 1987] und Nanoemulsionen [Mughtar et al. 1992, Cevc et al. 1992, Naveh et al. 1994, Cohen et al. 1996, Mughtar et al.,

1997], die die okulare Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen im Vergleich zu wässrigen Lösungen signifikant erhöhten, entwickelt.

Es wurde berichtet, dass Atropin-beladene, positiv geladene Liposomen einen längeren pharmakologischen Effekt bewirkten als neutrale oder negativ geladene Liposomen und Lösungen [Meisner et al. 1989], denn die Korneaoberfläche ist bei physiologischem pH-Wert negativ geladen [Rojanasakul and Robinson 1989]. Diese Ladung wurde bei der Herstellung von positiv geladenen Nanoemulsionen zur okularen Applikation von Piroxicam ausgenutzt [Klang et al. 1999]. Dabei wurde gezeigt, dass nach Verätzung der Kornea von Kaninchen mit Alkali eine positiv geladene Nanoemulsion die wirksamste Formulierung für die Behandlung der geschädigten Kornea darstellte. Eine andere Studie an männlichen Albinokaninchen verglich die korneale Penetration von Indomethacin aus Indocollyre[®] (eine auf dem Markt befindliche PEG-haltige Lösung) und einer negativ oder positiv geladenen Nanoemulsion [Klang et al. 2000]. Dieser Vergleich zeigte den Einfluss der Oberflächenladung der Nanoemulsion auf die okulare Penetration auf. Alle Formulierungen zeigten höchste Konzentrationen in der Kornea, gefolgt von der Konjunktiva, der Retina und dem Kammerwasser. Jedoch sorgte die positiv geladene Nanoemulsion im Vergleich zu der Kontrolllösung und der negativ geladenen Nanoemulsion für signifikant höhere Arzneistoffkonzentrationen im Kammerwasser und der Retina. Zusätzlich war die Spreitfähigkeit der positiv geladenen Nanoemulsion viermal höher als die der negativ geladenen. Somit verlängert die positive Ladung die Verweildauer des Tropfens auf der Epithelschicht der Kornea und ermöglicht aufgrund der besseren Spreitfähigkeit eine verbesserte Arzneistoffpermeation durch die Kornea in die inneren Gewebe des Auges. Dies konnte tierexperimentell bestätigt werden. Weiterhin wurde an Zellkulturen gezeigt, dass positiv geladene Nanoemulsionen mit α -Tocopherol eine stärkere antioxidative Wirkung auf Fibroblasten zeigten als negativ geladene Nanoemulsionen [Klang et al. 1994, Benita 1999]. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass positiv geladene Nanoemulsionen vielversprechende ophthalmologische Arzneistoffträgersysteme darstellen, die die Verweildauer am Auge verlängern und so die Arzneistoffresorption durch die Kornea verbessern.

2.3 Stabilität von Emulsionen

Aus thermodynamischen Gründen ist eine Emulsion instabil, d.h. sie würde sich mit der Zeit in die Öl- und Wasserphase trennen. Diese Instabilität ist zurückzuführen auf Flockung (Aggregation durch interpartikuläre Kollision), Aufrahmen (Dichteunterschiede), Koaleszenz (Fusion von getrennten Tropfen) oder Ostwald-Reifung (Abbau von kleinen Partikeln zu Gunsten von großen durch molekulare Diffusion) [Higuchi und Misra 1962, Lieberman et al. 1988, Larsson und Friberg 1990]. Jedoch kann die Stabilität von Emulsionen durch den Zusatz von Emulgatoren oder Emulgatorsystemen gewährleistet werden. Es handelt sich hierbei um Substanzen, die aufgrund ihres chemischen Aufbaus voneinander räumlich getrennte lipophile und hydrophile Molekülregionen aufweisen. Demzufolge ordnen sich die Moleküle so an der Grenzfläche an, dass ihre hydrophilen Bereiche in die hydrophile Emulsionsphase ragen und die hydrophoben in die lipophile Emulsionsphase. Die Grenzflächenspannung wird herabgesenkt, und bei gleicher Oberfläche sinkt die Grenzflächenenergie. Diese Grenzflächenaktivität führt zu einer Vermittlung zwischen den beiden nicht miteinander mischbaren Flüssigkeiten. Die Emulsionen werden aus diesem Grund durch den Zusatz von Emulgatoren stabilisiert. Das Bestreben der Systeme, durch Koaleszenz der Emulsionströpfchen und der damit verbundenen Verminderung der Grenzfläche, die Grenzflächenenergie weiter zu minimieren, wird herabgesetzt. Desweiteren beeinflusst die Anwesenheit der Emulgatoren bei der Herstellung auch die Teilchengröße und die Teilchengrößenverteilungen der Emulsionen: Durch das Absenken der Grenzflächenspannung wird bei gleichem Energieeintrag in die Emulsion die Tröpfchengröße reduziert, d.h. es werden während der Herstellung größere Grenzflächen geschaffen.

Kritische Vorgänge hinsichtlich der Instabilität von Emulsionen sind die Ostwald-Reifung und die Koaleszenz, da sie im Gegensatz zur Flockung und zum Aufrahmen, bei denen durch Schütteln der Emulsion wieder eine gleichmäßige Verteilung der Öltröpfchen erfolgen kann, irreversibel sind. Koaleszieren disperse Tröpfchen nach Flockung, Aufrahmen oder Sedimentation, so reicht einfaches Mischen nicht aus, um sie wieder in Form einer haltbaren Emulsion zu dispergieren, weil der die Tröpfchen umgebende, schwache Emulgatorfilm zerstört ist. Um die Koaleszenz im Vorfeld zu verhindern, werden folgende Mechanismen zur Stabilitätsverbesserung von Emulsionen herangezogen:

1. Der Terminus **sterische Stabilisierung** beschreibt die Stabilisierung kolloidaler Systeme durch Moleküle mit großen hydrophilen und lipophilen Bereichen [Heller und Pugh 1960, Napper 1983] wie z.B. ethoxylierte Tenside (z.B. Poloxamere, Tweene). Bei einer O/W-Emulsion ragen die lipophilen Propylenoxidketten in die Ölphase hinein und die hydrophilen Bereiche, die aus frei beweglichen Ethylenoxidketten bestehen, reichen weit ins wässrige Dispersionsmedium. Nähern sich Partikel oder Tröpfchen einander an, so ist aus sterischen Gründen ein direkter Kontakt nicht möglich. Bei Annäherung durchdringen sich die Ethylenoxidketten gegenseitig und vermindern so ihre Beweglichkeit, also ihre Entropie. Das dabei freigegebene Wasser erzielt jedoch gleichzeitig einen Entropiegewinn. Das Wasser andererseits versucht aufgrund des osmotischen Gefälles zwischen freier Wasserphase und dem mit Ethylenoxidketten gefüllten Raum, letzteren zu verdünnen. Eine treibende Kraft für die Abstoßung ist somit der osmotische Druck.

2. Eine weitere stabilisierende Kraft in kolloidalen Dispersionen ist die **elektrostatische Abstoßung** gleichsinnig geladener Partikel. Diese Stabilisierung wird durch die DLVO – Theorie beschrieben. Da sich gleichsinnige Ladungen gegenseitig abstoßen, kann eine Annäherung der Teilchen in Emulsionen dadurch limitiert werden, dass die Emulsionströpfchen elektrisch gleichsinnig geladen werden. Durch Zumischen geeigneter Ladungsträger oder Verwendung von Emulgatoren, die selber Ladungsträger enthalten, erhalten die Kolloide Oberflächenladungen, die durch das Zetapotenzial beschrieben werden [Müller 1996]. Sind die resultierenden Ladungen der Emulsionströpfchen dem Betrag nach ausreichend hoch, können sie zu einer elektrostatischen Stabilisierung der dispersen Systeme führen.

In dieser Arbeit besitzen die Nanoemulsionen eine positive Oberflächenladung, die auf den physiologischen Stoff, Phytosphingosin zurückzuführen ist. Phytosphingosin, eine freie Sphingoidbase (D-erythro-2-Aminooctadecan-1,3,4-triol) mit einem pK_b -Wert von ungefähr 9, ist aufgrund seiner amphiphilen Struktur an der O/W-Grenzfläche der Nanoemulsionen lokalisiert. Bei pH-Werten kleiner 9 wird Phytosphingosin an der Aminogruppe protoniert, was zur positiven Aufladung der Nanoemulsionströpfchen führt.

3. Auch die **Rigidität** des die Emulsionströpfchen umgebenden Emulgatorfilms beeinflusst die Stabilität von Emulsionen: Prallen zwei Öltröpfchen aufeinander, so muss der Emulgatorfilm

fluide sein, um die auftretenden Verformungen ausgleichen zu können. Er muss aber auch hinreichend rigide sein, damit bei solchen Belastungen die Emulgatorhüllen der Fetttropfchen nicht miteinander interagieren und es so zu einer Koaleszenz kommt.

Auch wenn der Emulgator für eine genügende kolloidale Stabilität der dispersen Tropfchen sorgt, wird bei sehr feinen Emulsionen wie Nanoemulsionen die Tropfchengrößenverteilung durch unterschiedlichen Laplace-Druck der dispergierten Öltröpfchen bestimmt. [Higuchi und Misra 1962]. Da mit abnehmender Tropfchengröße der Laplace-Druck und damit die Löslichkeit der inneren Phase zur äußeren Phase zunimmt, führt eine Homogenisation der Emulsionstropfchen in den Nanometerbereich mit geringer Tropfchengrößenverteilung zu einer Diffusion der kleinen Tropfchen in Richtung der großen (Ostwald-Reifung), um diesen Druck durch Vergrößerung der Tropfchen zu reduzieren, was durch die Kelvin-Gleichung erklärt werden kann. Um dieses Problem zu lösen, sollten daher entweder die Tropfchen sehr eng verteilt sein oder es sollten sehr lipophile Ölphasen bzw. Inhibitoren („ultrahydrophobe“ Stoffe) verwendet werden, die eine geringe Löslichkeit in der äußeren, wässrigen Phase besitzen bzw. die die Löslichkeit der inneren Phase zur äußeren reduzieren [Higuchi und Misra 1962, Davis et al. 1981].

Bei hohem Energieeintrag (z.B. Hochdruckhomogenisation) kommt es unmittelbar nach der Herstellung von Nanoemulsionen, d.h. direkt nach der Zerteilung der dispersen Emulsionstropfchen in Bruchteile von Sekunden zur Koaleszenz. Diese ist vor allem davon abhängig, wie schnell der Emulgator an die bei der Herstellung neu entstehende Grenzfläche diffundiert und diese stabilisiert. Aber auch die Desaggregationsgeschwindigkeit von Emulgatorassoziaten wie Mizellen, in denen die Emulgatormoleküle oberhalb der kritischen Mizellkonzentration gebunden sind, bestimmt die Geschwindigkeit der Grenzflächenstabilisierung. Diese Kurzzeitstabilität der Emulsionen wird in aller Regel um so höher sein, je schneller die Emulgatormoleküle die neu entstandenen Grenzflächen erreichen und stabilisieren können; je schneller also die Auflösung der Mizellen erfolgt und die Moleküle diffundieren können [Schubert und Armbruster 1989, Heusch 1981].

Die Stoffeigenschaften des Emulgators spielen eine große Rolle für die Kurzzeitstabilität, denn wird der lipophile Emulgator in der inneren Phase der Emulsion kolloidal verteilt, ist der Diffusionsweg bedingt durch die kleine Teilchengröße der dispersen Phase sehr kurz, was zu

einer schnellen Besetzung der Grenzfläche mit Emulgatormolekülen und zu einer daraus resultierenden hohen Kurzzeitstabilität führt. Aber auch die disperse Phase beeinflusst über ihre Viskosität die Diffusionsgeschwindigkeit der Emulgatormoleküle zu den entstandenen Grenzflächen.

2.4 Ceramide

Während das erste Glykosphingolipid im Hirngewebe entdeckt und deshalb Cerebrosid genannt wurde, blieb noch lange Zeit die Funktion dieser Moleküle rätselhaft, weshalb sie nachfolgend nach der Sphinx der griechischen Mythologie als „Sphingolipide“ bezeichnet wurden. Heute kennt man die strukturgebenden Eigenschaften dieser Lipide im Aufbau von Biomembranen. Die Entdeckung der Hemmung der Proteinkinase C durch Sphingosin und die daraus resultierende „Second Messenger“-Funktion der Sphingolipide [Huwiler et al. 2000] zeigt zusammen mit der essenziellen Bedeutung dieser Substanzen für die Barriereigenschaften der Haut deutlich die Wichtigkeit dieser Lipide für den menschlichen Organismus.

2.4.1 Biosynthese der Ceramide

Die de-novo-Synthese der Ceramide an der cytoplasmatischen Seite des endoplasmatischen Reticulums wird durch die Synthese von 3-Oxosphinganin aus Palmitoyl-CoA und L-Serin über die Serin-Palmitoyl-Transferase eingeleitet (Abb. 2.4.1.1). Anschließend wird die Carbonylgruppe durch die 3-Oxosphinganin-Reduktase zur sekundären Hydroxylgruppe, D-erythro-Sphinganin, reduziert. Mit der Ceramid-Synthase (N-Acyltransferase) wird die NH₂-Gruppe des entstandenen D-erythro-Sphinganins mit Fettsäuren (Acyl-Coenzym A) verestert und gleichzeitig die Fettsäuren mit Hilfe der Ceramidase durch Spaltung verkürzt [Mandon et al. 1992]. Es entstehen die N-Acyl-Sphinganine (Dihydroceramide). Die Dihydroceramid-Desaturase fügt die trans-4,5-Doppelbindung ein zur Bildung des Ceramid [NS] [Rother et al. 1992]. Werden die Ceramide im Golgiapparat an ihrer primären Hydroxylgruppe glykosidiert, bilden sich die Glykosphingolipide (Cerebroside) [Madison et al. 1998]. Die durch Saposin C (Sphingolipid Aktivator Protein) regulierte Glucocerebrosidase spaltet die Cerebroside

[Wilkening et al. 1998, Doering et al. 1999] wieder zu den Ceramiden. Durch Reaktion mit CDP-Cholin werden aus den Ceramiden die Sphingomyeline gebildet. Die Sphingomyelinase spaltet die Sphingomyeline zu den Ceramiden [Mathias et al. 1998; Sandhoff et al. 1998]. Daneben kommen auch Ganglioside vor, in denen Oligosaccharide, die mindestens einen sauren Zucker wie N-Acetylneuraminsäure oder N-Glykolyneuraminsäure enthalten, mit dem Ceramid verbunden sind. Die höchste Konzentration an Gangliosiden findet man im Nervensystem.

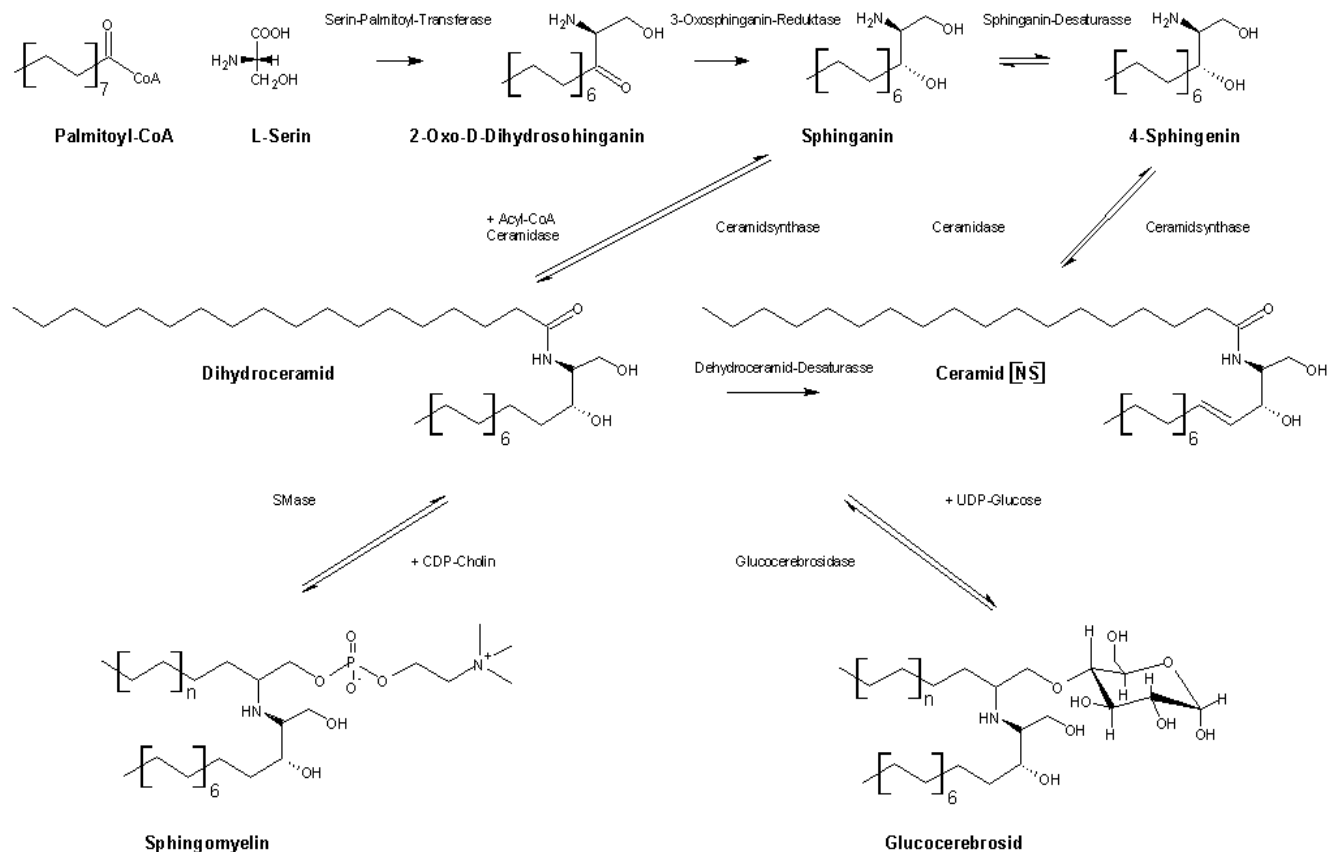


Abb. 2.4.1.1: Biosynthese der Ceramide im Säugetierorganismus

2.4.2 Struktur und Nomenklatur der Ceramide

Ceramide bilden mit bis zu 50 % den größten Anteil der Stratum-corneum-Lipide und zeichnen sich durch eine ausgesprochene strukturelle Heterogenität aus. Gemeinsam ist allen Ceramiden, dass sie aus Spingoidbasen aufgebaut sind, deren Stickstoffatome mit Fettsäuren amidiert sind (Abb. 2.4.2). Bei den Spingoidbasen der Stratum-corneum-Ceramide unterscheidet man Phytospingosine (4-Hydroxyspinganine), Spingosine (Spingonine und Spinganine) und die

6-Hydroxysphingosine. Für die Bindung am Stickstoffatom kommen Nonhydroxy-, α -Hydroxy- und ω -Hydroxyfettsäuren in Betracht. Letztere können mit einer weiteren Fettsäure verestert sein. Unter den in der Natur vorkommenden α -Hydroxyfettsäureceramiden existieren nur die D-Komponenten [Karlsson et al. 1974].

In den letzten Jahren sorgten Fortschritte in der Lipidanalytik für Änderungen in den Ansichten über die Ceramid-Zusammensetzungen. Ceramide wurden nach Extraktion mit polaren Lösungsmitteln chromatografisch in sechs Lipidbanden aufgetrennt, denen chemische Strukturen zugeordnet wurden. Da die neu gefundenen Ceramidstrukturen die Hauptkomponenten in den Ceramidfraktionen waren, musste die Auffassung über das Ceramidmuster aufgrund der Fehlinterpretationen der Lipidbanden mehrmals grundlegend revidiert werden. Zur quantitativen Zusammensetzung der Lipidfraktionen liegen in der Literatur sehr unterschiedliche Angaben vor [Robson et al. 1994, Stewart und Downing 1999, Chopart et al. 2002]. Die Ceramide [AH], [AP], [NH] und [NP] stellen nach gegenwärtigem Kenntnisstand die mengenmäßig größten Fraktionen dar. Die aktuelle Einteilung nach Stewart und Downing [1999] anhand des chromatografischen Verhaltens umfasst den Zahlenbereich 1 bis 7. Eine generell gültige Terminologie, die sich an der chemischen Struktur der Ceramide orientiert, führten Motta et al. [1993] ein. Dabei gibt ein kombinatorisches Buchstabensystem die Struktur der Ceramide wieder. Der letzte Buchstabe bezeichnet nach dieser Terminologie die Struktur der Sphingoidbase (S: Sphingosin, P: Phytosphingosin und H: 6-Hydroxysphingosin). Die amidierten Fettsäuren können über ihre Hydroxylierung unterschieden werden (N: Nichthydroxyfettsäuren, O: ω -Hydroxyfettsäuren, A: α -Hydroxyfettsäuren). Somit handelt es sich bei Ceramid 3 [NP] um das Amid der Nichthydroxyfettsäure Stearinsäure mit Phytosphingosin.

Allgemeiner Teil

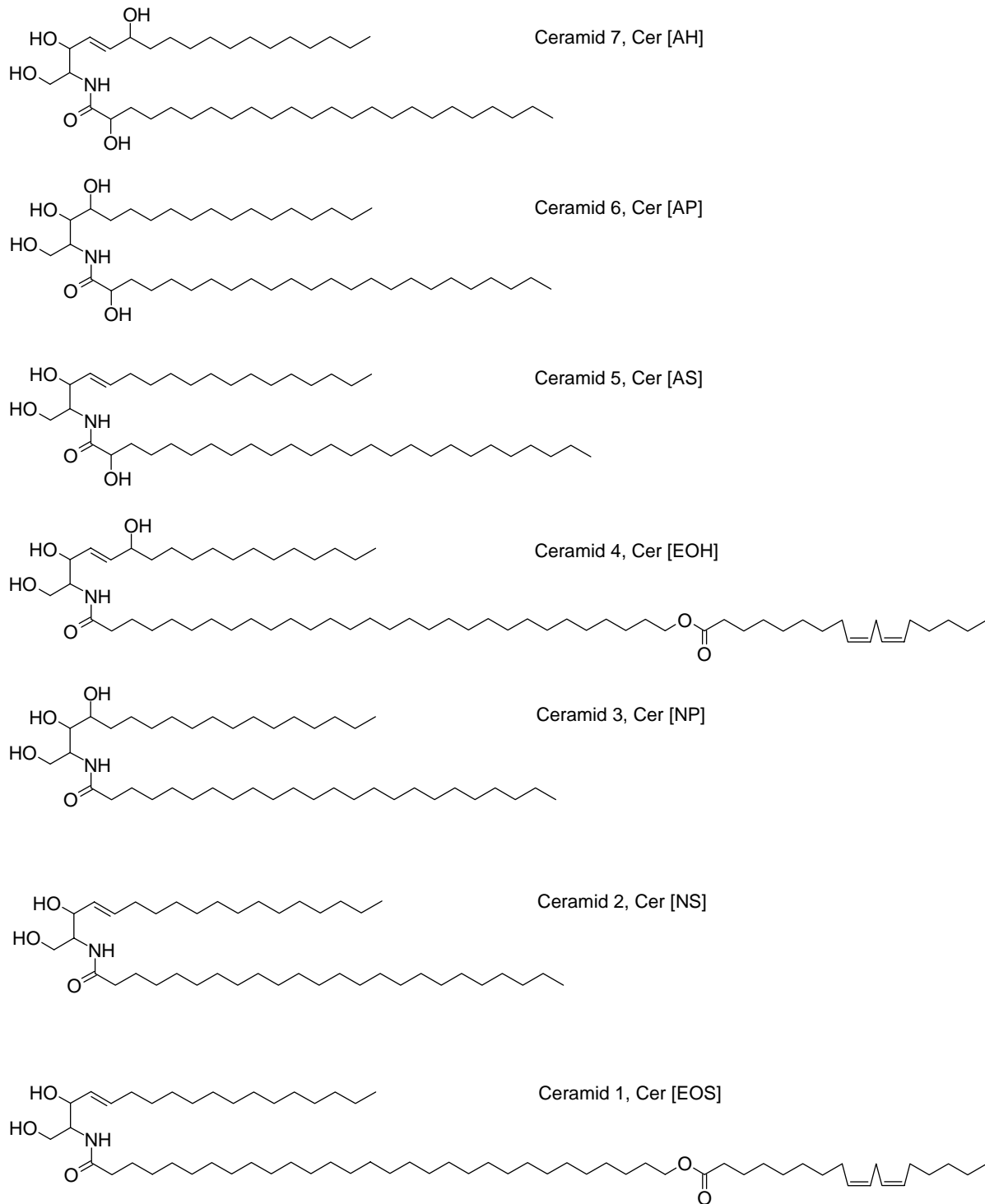


Abb. 2.4.2: Identifizierte molekulare Strukturen der aus dem Stratum corneum extrahierbaren Ceramide [Chopart et al. 2002]. Die Zahlen entsprechen der Klassifizierung in Anlehnung an das chromatografische Laufverhalten [Stewart und Downing 1999]. Die Bezeichnungen nach Motta et al. [1993] wurden in Klammern gesetzt.

2.4.3 Physiologische Bedeutung der Ceramide

Ceramide entfalten in der Epidermis ihre Wirkungen entweder als intrazelluläre Botenstoffe oder extrazellulär als die Hautbarriere bildende Lipide, deren gemeinsame intrazelluläre Herkunft durch die de-novo-Synthese angenommen wird [Geilen et al. 1997]. Intrazellulär modulieren Ceramide als zentrale Moleküle im Sphingolipid-Stoffwechsel die Aktivität von verschiedenen Enzymen, die schließlich zu der typischen zellulären Antwort führen. Zu dieser gehören die Hemmung des Zellwachstums, die Induktion der Apoptose, die Förderung der Zelldifferenzierung, Zellalterung und entzündliche Reaktionen. Genauere Angaben hierzu finden sich in dem Übersichtsartikel von Huwiler et al. [2000].

Im Golgi-Apparat werden auszuschleusende Ceramide zu polaren, z.B. glykosylierten Derivaten umgesetzt [Madison und Howard 1996] und extrazellulär wieder durch enzymatische Hydrolyse zu Ceramiden umgewandelt [Doering et al. 1999]. Die Rolle des Ceramids in der Barrierebildung zeigt sich darin, dass nach Störung der obersten Schichten der Epidermis die Synthese von Ceramiden und anderen Sphingolipiden ansteigt [Proksch und Brasch 1997]. Außerdem ist die Aktivität des Schlüsselenzyms der Ceramid-Synthese, der Serinpalmitoyltransferase, in der Epidermis viel höher als in anderen Geweben [Holleran et al. 1991]. Bei vielen Hautkrankheiten scheint eine veränderte Lipidzusammensetzung pathogenetisch zu sein. So gehen die meisten epidermalen Erkrankungen, wie z.B. atopische Dermatitis, Ichthyosen und Psoriasis mit einem signifikant erniedrigten Ceramid-Gehalt einher, wobei der genaue Defekt im Sphingomyelin-Metabolismus unbekannt ist [Geilen et al. 1997]. Paige et al. [1994] konnten zeigen, dass bei verschiedenen Formen der Ichthyose ein Mangel an bestimmten Acylceramidfraktionen zu erkennen ist, und Motta et al. [1994] beobachteten eine Veränderung in der Verteilung der Ceramide bei psoriatischen Patienten. Desweiteren führte eine Entfernung der Hautlipide durch Extraktion mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln ebenfalls zu einer Erhöhung der Permeabilität des Stratum corneums mit einem deutlichen Anstieg des TEWL [Smith et al. 1982]. Zahlreiche andere Studien verdeutlichten die fundamentale Rolle der Ceramide in der Hautbarrierefunktion [Berardesca et al. 2001, Kucharekova et al. 2002, De Paepe et al. 2002, Chamlin et al. 2002]. Demzufolge ist die Entwicklung ceramidhaltiger Formulierungen in der Kosmetik und der Dermatologie von großer Bedeutung. Jedoch erweist sich die Einarbeitung der Ceramide in topischen Formulierungen als sehr schwierig, denn sie sind sehr schlecht löslich;

eine Eigenschaft, die direkt mit deren intrinsischer Funktionalität, der Bildung einer für Wasser impermeablen Barriere, verbunden ist. Um dieses technologische Problem in der Formulierung der Ceramide zu lösen, wurden zahlreiche Produkte auf dem Markt präsentiert, die den Ceramiden ähnelten, aber nicht identisch waren. Ceramid-ähnliche Substanzen, welche heute kommerziell erhältlich sind, sind Glykosylceramide [Bowser et al. 1994, Kashibuchi et al. 1996] oder Pseudoceramide, die ceramidanaloge Strukturen aufweisen [Baik et al. 2001]. Im Gegensatz zu Ceramiden haben Glykosylceramide eine relativ hohe Löslichkeit und sind folglich leichter zu verarbeiten. Allerdings zeigten Glykosylceramide die Hautschutzbarriere schwächende Eigenschaften [Holleran et al. 1993]. Auch die Pseudoceramide haben im Vergleich zu Ceramiden eine höhere Löslichkeit, mit dem Nachteil, dass sie nicht bioabbaubar sind und folglich sehr leicht in der Haut akkumulieren. Um Ceramide dennoch ohne Rekrystallisation in eine Zubereitung einzuarbeiten, werden zahlreiche hautfremde Emulgatoren eingesetzt, deren Wirkungen auf die Hautverträglichkeit noch nicht vollständig untersucht sind [Lambers und Roehl 1999].

Aus diesen Gründen ist die Entwicklung von Arzneistoffträgersystemen mit gut verträglichen, physiologischen (Phytosphingosin) und natürlich vorkommenden Stoffen (Lipoid E-80[®]), die in der Lage sind, Ceramide gelöst an den Wirkort zu befördern, um die Wirksamkeit zu garantieren, äußerst wichtig. In dieser Arbeit wurden Ceramid 3 und Ceramid 3B verwendet (Goldschmidt Personal Care, Degussa, Essen). Ceramid 3B, das Amid der Ölsäure mit Phytosphingosin, hat aufgrund der ungesättigten Fettsäure eine bessere Löslichkeit als Ceramid 3, ist aber nicht hautidentisch. Einige Studien zeigten, dass auch Ceramid 3B wie Ceramid 3 die Hauteigenschaften verbesserten [De Paepe et al. 2002, Produktinformation Goldschmidt Personal Care, Degussa, Essen]. Um annähernd den physiologischen Zustand der Haut zu imitieren und das Risiko der Rekrystallisation der Ceramide zu verhindern, wurden beide Sphingolipide zusammen mit den anderen Stratum-corneum-Lipiden eingesetzt.

2.5 Azol-Antimykotika

1969 wurden die zwei topisch applizierbaren Antimykotika, Miconazol und Clotrimazol, eingeführt; 1974 folgte dann Econazol [Gupta et al. 1994] und in den späten Siebzigern eine

parenterale Formulierung mit Miconazol [Bonnotte et al. 1994, Graybill 1996]. Heute stellen diese drei Arzneistoffe die Hauptstützen in der topischen Behandlung der verschiedenen Dermatophytosen dar. In den Achtzigern wurden die Leitstrukturen der vier Hauptklassen der Antimykotika (Polyene, Azole, Morpholine und Allylamine) identifiziert und bis heute weiterentwickelt [Ghannoum et al. 1996, Kauffman und Carver 1997]. Neue Klassen von Antimykotika [Fung-Tomc und Bonner 1997, Ghannoum et al. 1996, Kauffman und Carver 1997], wie die Kandine (Pneumocandine und Echinocandine), die Nikkomycine und die Paradamicinbenanomicine, die die Zellwandsynthese durch Hemmung der β -1,3-Glucansynthase inhibieren, werden aufgrund der geringen Resistenzentwicklung untersucht. Jedoch sind die Azole mit 15 Arzneistoffen auf dem Weltmarkt [Kauffman und Carver 1997] die momentan am meisten verwendeten und untersuchten Antimykotika.

2.5.1 Wirkmechanismus von Azol-Antimykotika

Alle Azol-Antimykotika wirken durch Hemmung der Biosynthese von Ergosterol fungistatisch. Ergosterol erfüllt zwei Hauptfunktionen in der Zellmembran von Pilzen [Georgopapadakou und Walsh 1996]: Einerseits hat es eine wichtige Funktion in der Modulation der Membranfluidität, indem es in den Phospholipid-Bilayer der Zellmembran eingebaut wird. Ergosterol sorgt hierbei für die nötige Festigkeit und Struktur, um die Membranpermeabilität und eine optimale Funktion der zahlreichen membranständigen Enzyme (Chitinsynthase, Membran-ATPase u.a.) zu gewährleisten. Die zweite Aufgabe des Ergosterols ist die Induzierung von Wachstum und Proliferation.

Essenziell für die Wirkung der Azol-Antimykotika ist der Imidazol- bzw. Triazolring. Diese Stickstoff-Heterocyclen haben eine hohe Affinität zum Häm-Eisen der Cytochrom P450-abhängigen Monooxygenase, die in Pilzen die Demethylierung von Lanosterol zum 4,4-Dimethylcholesta-8,14,24-trienol katalysiert (Abb. 2.5.1) [White et al. 1998]. Dadurch kommt es, wie auch bei anderen Inhibitoren der Ergosterolbiosynthese, in der Pilzzelle zu einer Verarmung an Ergosterol und zur Akkumulation untypischer Sterole. Wenn die Azol-Antimykotika über ihrer therapeutischen Wirkkonzentrationen angewendet werden, wirken sie am Wirkort auch fungizid. Der zusätzliche fungizide Effekt einiger Vertreter, wie z.B. Miconazol, resultiert aus

einer Strukturänderung der Zytoplasmamembran bei Einlagerung dieser Azole, die zum Austritt essenzieller Zellbestandteile führt. Daneben werden auch mitochondriale peroxisomale Enzyme beeinflusst bzw. blockiert, was zu einer Erhöhung der intrazellulären Konzentration toxischer Peroxide und damit zum Zelltod führt [Georgopapadakou und Walsh 1996, White et al. 1998].

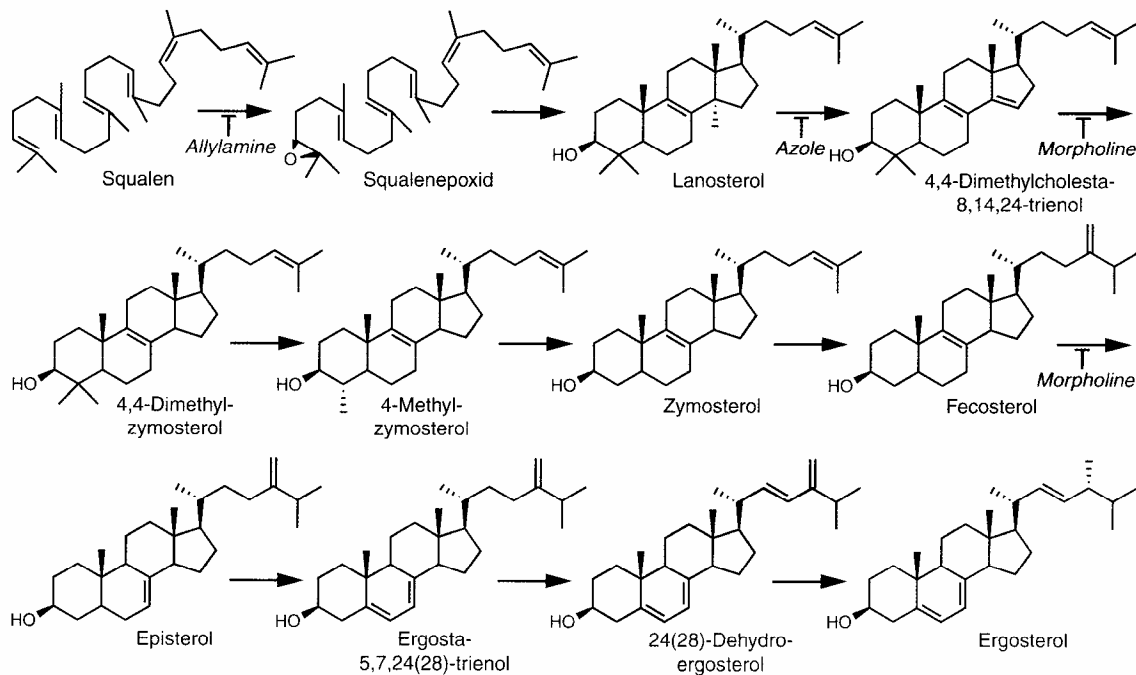


Abb.2.5.1: Biosyntheseweg von Ergosterol (vereinfacht) ausgehend von Squalen und Angriffspunkte der einzelnen Klassen von Ergosterolbiosynthese-Inhibitoren

2.5.2 Miconazolnitrat

In dieser Arbeit wurde Miconazolnitrat der Firma Synopharm GmbH & Co. KG, Barsbüttel (Abb. 2.5.3), ein Breitspektrum-Antimykotikum mit antibakterieller Aktivität [Plumb 1999], das gegen die meisten pathogenen Pilze wirksam [McEvoy 1992] ist, verwendet.

Früher wurde Miconazolnitrat zur parenteralen Behandlung von systemischen Pilzinfektionen eingesetzt [Riviere 1995]. Doch die pharmakokinetischen Eigenschaften bei der systemischen Applikation wie langsamer Wirkungseintritt und schlechtere Verfügbarkeit im Gegensatz zu anderen gut verträglichen Azolen machen die Anwendung in der Praxis ungeeignet.

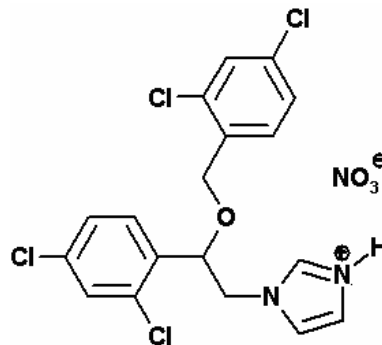


Abb. 2.5.2: Struktur von Miconazolnitrat

Jedoch kann Miconazolnitrat systemisch genutzt werden, wenn Amphotericin B und Ketoconazol unwirksam oder kontraindiziert sind. Zur Zeit wird das Antimykotikum hauptsächlich topisch zur Behandlung lokaler oberflächlicher Pilzinfektionen, die von Dermatophyten, Hefe- und Schimmelpilzen und anderen Pilzen, wie beispielsweise *Malassezia furfur* verursacht werden [Heit und Reviere 1995] (Daktar[®], Micotar[®]), genutzt. Ferner ist Miconazol bei Hautinfektionen mit dem *Corynebacterium minutissimum* wirksam und auch bei so genannten Superinfektionen der Haut durch andere grampositive Bakterien. Weitere Anwendungen von Miconazol erfolgen zur Behandlung von akuten und chronischen Pilzinfektionen im Genitalbereich, wobei in erster Linie Vaginalkandidosen behandelt werden (Gyno-Daktar[®]). Zusätzlich wird Miconazol zur Behandlung der Soor im Mund- und Rachenraum vor allem von Säuglingen in Form eines Mundgels angewendet (Micotar[®] Mundgel, Daktar[®] Mundgel). Bei Mundsoor handelt es sich um Erkrankungen durch den Hefepilz *Candida albicans*, die sich durch weißliche Beläge auf der Mundschleimhaut und der Zunge äußern.

Unerwünschte Wirkungen sind nach einer topischen Applikation selten, obwohl Irritationen an der Behandlungsstelle wie Erytheme, Ödeme, Pruritus und Exsudation beschrieben sind [Sawyer et al. 1975, Allen et al. 1993, Riviere 1995]. Die topisch angewendeten Präparate werden gut toleriert [Sawyer et al. 1975].

Das Problem bei der Entwicklung von topischen Miconazolnitrat-Präparaten ist die sehr schlechte Löslichkeit des Arzneistoffes in vielen hydrophilen und lipophilen Lösungsmitteln und daraus

resultierend die schlechte Bioverfügbarkeit. Um schwere Mykosen zu behandeln, müssen höhere Arzneistoffkonzentrationen an den Wirkort (unterer Bereich der Epidermis) gelangen. Bisher konnten nur wenige Arzneiformen entwickelt werden, die die Löslichkeit erhöhten und gleichzeitig die Hautpenetration verbesserten. In den meisten topischen Zubereitungen, die momentan auf dem Markt sind, ist der Arzneistoff lediglich suspendiert, wobei die Aufnahme in das Stratum corneum durch die geringe Löslichkeit in den Formulierungen limitiert ist. Dieser begrenzende Faktor sorgt für eine langsame Penetration in die betroffenen Hautschichten. Cyclodextrine konnten zwar die Löslichkeit erhöhen, aber nach topischer Applikation blieb die Penetration in das Stratum corneum vernachlässigbar niedrig [Tenjarla et al. 1998]. Ölige Lösungen erhöhten zwar die Penetration [Fujii et al. 2001], wiesen aber aufgrund des verbleibenden Ölfilmes nach topischer Anwendung eine schlechte Compliance auf. Eine kürzlich entwickelte Liposomen-Formulierung mit Miconazolnitrat [Agarwal und Katare 2002] besaß lediglich eine geringe Beladungseffizienz. Folglich könnte die Entwicklung von topischen Formulierungen aus O/W-Nanoemulsionen eine gute Alternative für die dermale Applikation von Miconazolnitrat darstellen.