

5 SLN / NLC-haltige O/W-Cremes

Wie bereits einleitend diskutiert, verfolgt der Zusatz von Lipidnanopartikeln zu handelsüblichen Cremegrundlagen unterschiedliche Ziele. Vorrangiges Ziel dieser Arbeit war Untersuchung der Frage, ob durch Sättigung der Grundlage mit Arzneistoff und zusätzliche Einarbeitung von wirkstoffhaltigen Partikeln ein lagerstabiles und nach Applikation übersättigtes System gebildet werden kann, da ein Arzneistoff im Zustand der Übersättigung bekanntermaßen einen erhöhtem Penetrationsdruck erfährt [90].

Im ersten Teil der Arbeit wurde bereits eine direkte Kopplung von Modifikationsumwandlung und Freisetzungverhalten von Cyclosporin-SLN und -NLC ausgeschlossen, so daß das einleitend postulierte Konzept der „getriggerten Übersättigung“ als für dieses System teilweise unzutreffend bezeichnet werden muß.

Es stellte sich stattdessen die Frage, ob der aufgrund der bisherigen Ergebnisse dieser Arbeit postulierte Partikelbau mit hoher Arzneistoffkonzentration im Randbereich auch nach Einarbeitung in die Cremes erhalten bleibt und eine Arzneistoffkristallisation verhindert werden kann. Blicke zusätzlich der bei Freisetzung der flüssigen Dispersionen beobachtete initiale Burst erhalten, sollte es ebenfalls nach Applikation zu Übersättigung des Systems kommen. Als Ursache wären dann Destabilisierung der Partikelrandbereiche durch Wasserverdunstung und Filmbildung zu nennen.

Es sollte außerdem geklärt werden, ob analog Jenning das Auftreten von polymorphen Transformationen der Lipidpartikel durch Einbettung in die Cremegrundlage verzögert werden kann, und ob dies für die Langzeitstabilität der Formulierungen von Bedeutung ist. Auch für die topischen Systeme wurde in diesem Zusammenhang nach den Abfüll- und Lagerbedingungen gesucht, die eine Kristallisation des Arzneistoffs Cyclosporin A verhindern oder zumindest verzögern können.

5.1 Sättigung der Cremegrundlage mit Arzneistoff

Grundvoraussetzung für die Erzeugung einer Übersättigung der Cremegrundlage mit Arzneistoff nach Applikation ist eine zuvor bestehende Sättigung. Der aus den Partikeln zusätzlich freigesetzte Arzneistoff sollte bereits in geringer Prozentzahl zu einer Übersättigung des Systems führen, da über einen therapeutisch sinnvollen Anwendungszeitraum nicht mit vollständiger Freisetzung aus den Partikeln gerechnet werden kann.

Die optimale Arzneistoffmenge wurde in zwei Experimenten ermittelt. Zunächst wurden Lösungsversuche mit der Lipidphase der im Rahmen dieser Arbeit verwendeten, kommerziellen O/W-Cremegrundlage (s. Kapitel 3.3) durchgeführt. Die Vorgehensweise entsprach dabei derjenigen in Kapitel 4.2. Es ergab sich eine ungefähre Löslichkeit von 12 % in der Lipidphase der Cremegrundlage nach Abkühlen auf Raumtemperatur. Da zur Herstellung der Creme weitere Komponenten (u. a. Tween 80) zum Einsatz kommen, die Einfluß auf die Löslichkeit des Arzneistoffes in der endgültigen Formulierung haben, wurden in einem zweiten Experiment nanopartikelfreie Cremes mit unterschiedlicher Arzneistoffbeladung hergestellt. Die Konzentrationen lagen bei 12, 14, 16 und 18 % bezogen auf die Lipidphase der Cremes. Es wurden jeweils drei Tuben abgefüllt und diese bei 4 °C, Raumtemperatur und 40 °C gelagert, um den Einfluß der Temperatur auf die Kristallbildung zu untersuchen. Die Proben wurden direkt nach der Herstellung, an Tag 1, 3, 5 und 7 sowie anschließend ein Mal pro Woche über 3 Monate mittels Polarisationsmikroskopie auf Kristalle untersucht. Direkt nach der Herstellung konnten in der 12 und 14%igen Creme keine, in den höher konzentrierten vereinzelt Kristalle detektiert werden. Im weiteren Verlauf des Experimentes wurde der starke Einfluß der Lagertemperatur offensichtlich. Während bereits nach einem Tag alle bei 40 °C gelagerten Proben große Kristalle (bis 80 µm) aufwiesen, waren bei Raumtemperatur nach einer Woche erst ab 14 % Kristalle (bis 35 µm) zu entdecken. Bei gekühlter Lagerung traten zu diesem Zeitpunkt erst ab 16 % kleinere Kristalle auf. Über den Verlauf der Lagerung blieb das Bild bei 4 °C-Lagerung unverändert, bei Raumtemperatur traten mit der Zeit auch bei 12 %-Beladung vereinzelt Kristalle auf. Die Bestimmung einer Sättigungskonzentration erwies sich folglich aufgrund der starken Temperaturabhängigkeit der Cyclosporin A-Kristallisation als sehr schwierig. Lagerung der Proben unter Kühlung erschien für eine Reproduktion der Ergebnisse und geringe Kristallisation am besten geeignet. Zur Sättigung der Grundlage wurde eine Konzentration von 12 % Cyclosporin A bezogen auf die Lipidphase gewählt, da diese auch eine Aufbewahrung der Proben bei Raumtemperatur über einige Tage möglich machen sollte.

Bezogen auf die fertige Creme entspricht diese Beladung einer Arzneistoffkonzentration von 3 %.

Um Aufschluß darüber zu erhalten, ob Kristallisationen während der Lagerung alleine auf dem in der Grundlage gelösten Arzneistoff oder aber auf dem in den Partikeln zusätzlich enthaltenen Anteil beruhen, wurde für jedes der folgenden Experimente eine lipidpartikelfreie Formulierung als Vergleich hergestellt (Tabelle 5-1).

5.2 Einarbeitung von arzneistofffreien und – beladenen SLN-Dispersionen

Untersucht wurden hier vor allem Cremes mit einem 40 %igen Zusatz von den in Kapitel 4.1 ausgiebig charakterisierten 20 %igen Imwitor 900-SLN stabilisiert mit 5 % Tagat S und 1 % Natriumcholat mit oder ohne eine Cyclosporin-Beladung von 20 % bezogen auf die Lipidphase (= 4 % in der SLN-Formulierung).

Die untersuchten Parameter waren:

- 1.) Lagerstabilität der Formulierungen im Vergleich (5.2.2 und 5.2.3)
- 2.) Einfluß der Kristallmodifikation auf die Stabilität (5.2.4)
- 3.) Einfluß des Arzneistoffes auf Veränderungen der Kristallmodifikation (5.2.4)
- 4.) Einfluß der Cremegrundlage auf Veränderungen der Kristallmodifikation und Vergleich mit den entsprechenden flüssigen Dispersionen (5.2.5)
- 5.) Trocknungsverhalten (5.2.6) und
- 6.) Arzneistofffreisetzung (5.4)

Die Arzneistofffreisetzung wird in Kapitel 5.4 für SLN- / NLC- und Nanoemulsions-haltige Systeme gemeinsam vergleichend diskutiert.

Verschiedene Cremeformulierungen wurden hergestellt, um Aufschluß über die einzelnen Parameter zu erhalten. Tabelle 5-1 enthält die hergestellten Kombinationen.

Tabelle 5-1: Hergestellte Cremeformulierungen dargestellt als Kombination von Cremegrundlage (GL) und eingearbeiteter flüssiger Phase (CsA = Cyclosporin A, NE = Nanoemulsion, X = hergestellte Kombination)

	zu 40 % eingearbeitet			
	CsA-SLN	Placebo-SLN	NE	Wasser
GL mit CsA	X	X	X	X
GL ohne CsA	X		X	
GL mit CsA und um Lipidmenge der SLN erhöhtem Lipidgehalt				X

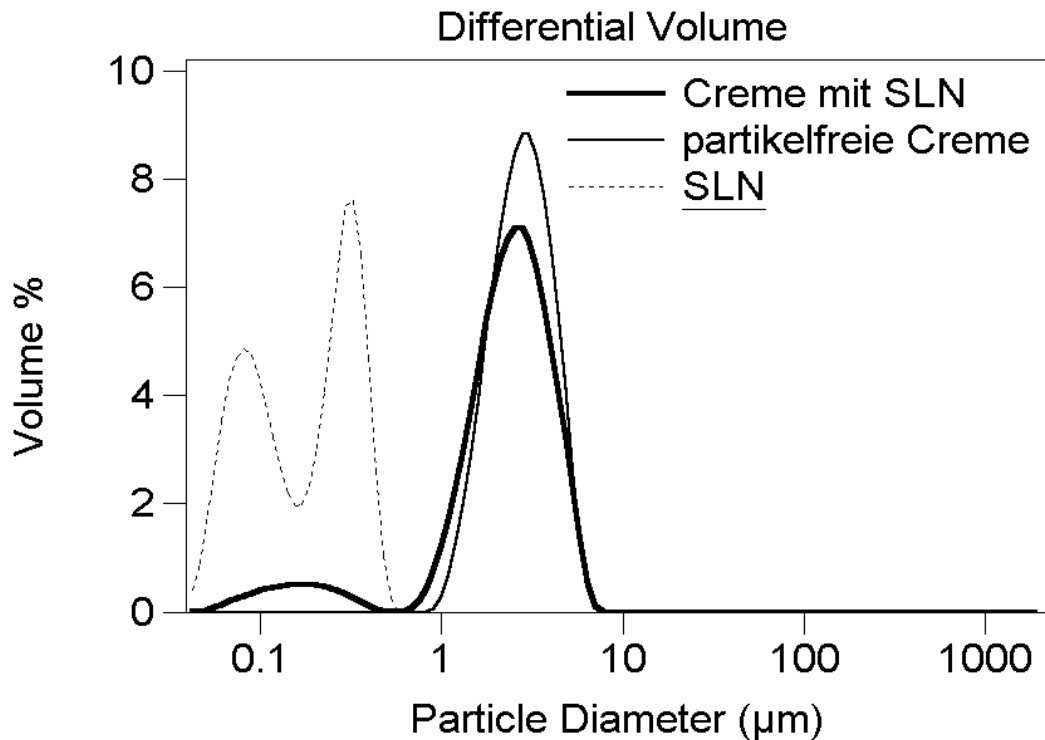


Abbildung 5-1: LD-Partikelgrößenverteilung der Creme ohne SLN, der Creme mit beladenen SLN und der reinen Cyclosporin A-SLN-Formulierung jeweils an Tag 1 nach der Herstellung

5.2.1 Charakterisierung der Systeme

Vorrangig bei der Einarbeitung von SLN / NLC in topische Formulierungen ist die Frage, ob diese in der resultierenden Formulierung noch als individuelle Nanopartikel vorliegen. Dies konnte durch die bisherigen Forschungsergebnisse belegt werden [12, 29, 55]. Auch im Rahmen dieser Arbeit zeigen die in Abbildung 5-1 dargestellten LD-Messungen deutlich, daß die Nanopartikel in den SLN-Cremes weder aggregieren noch sich in den Öltröpfen auflösen. Die bimodale Partikelgrößenverteilung der SLN-Creme setzt sich aus den Verteilungen der SLN und der Öltröpfen der Creme zusammen. Beide Peaks stimmen in ihrer Lage mit der jeweiligen Einzelformulierung überein und sind klar voneinander getrennt. Untersuchung der placebohaltigen Cremes führte zu analogen Ergebnissen.

Die hier beschriebenen Formulierungen wurden mit $n = 3$ hergestellt. Solange nicht ausdrücklich auf eine andere Grundlagen-Zusammensetzung hingewiesen wird, ist in den nächsten Teilkapiteln von einer mit Arzneistoff gesättigten Grundlage auszugehen.

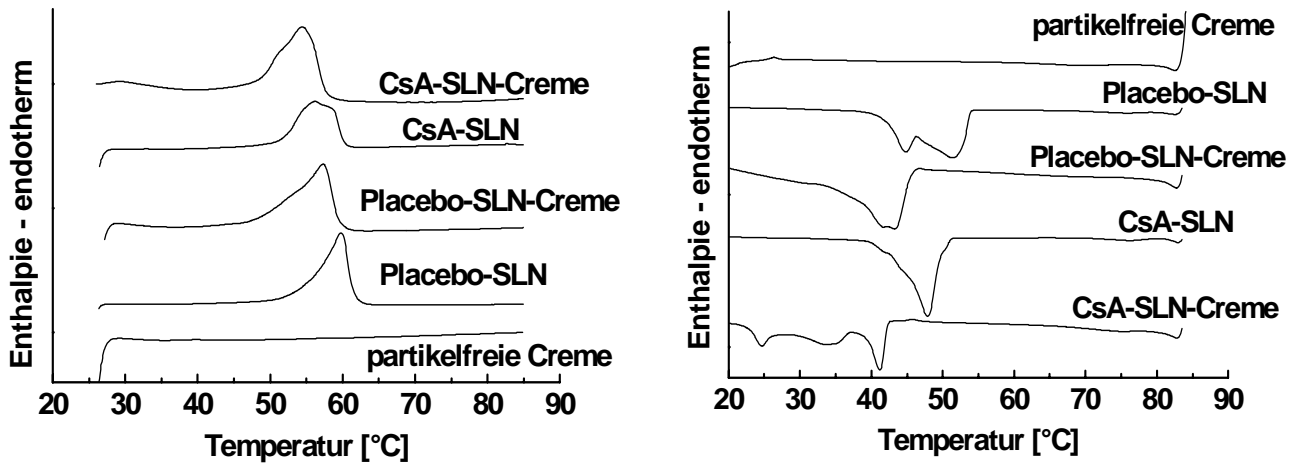


Abbildung 5-2: Schmelzkurven (links) und Kristallisationskurven (rechts) der hergestellten Formulierungen, die Intensität der SLN wurde zum direkten Vergleich mit den Cremes auf deren SLN-Gehalt standardisiert

Als weiterer Beleg dafür, daß die Lipidpartikel nach Einarbeitung ihre kristalline Form beibehalten, können die Ergebnisse der DSC-Messungen in Abbildung 5-2 herangezogen werden. Die Kurven der jeweiligen SLN-Dispersionen wurden für die graphische Auswertung auf 40 % ihrer Intensität reduziert, um einen direkten Vergleich mit den Cremes (40 % SLN-Gehalt) zu ermöglichen. Die gemessenen Werte der Thermoanalyse finden sich in Tabelle 5-2. Es ist deutlich zu erkennen, daß die Kristallinität der SLN durch den Einarbeitungsprozeß nicht reduziert wird, nach Standardisierung der Enthalpie ist sogar eine geringfügige Erhöhung festzustellen. Nach Einarbeitung in die Cremes beginnt der Schmelzprozeß der SLN früher (Absenkung des Onset), die Kristallisation erfolgt dagegen leicht verzögert. Auch das Peakmaximum wird jeweils schwach abgesenkt.

Tabelle 5-2: Onset, Peakmaximum und Schmelzenthalpie der Aufheizkurven von SLN und SLN-haltigen Cremes im Vergleich. Die Werte in Klammern entsprechen 40 % der für die SLN-Dispersionen angegebenen Werte. Diese sind mit den Enthalpien der Creme direkt vergleichbar.

	Placebo-SLN	Creme mit Placebo-SLN	Cyclosporin-SLN	Creme mit Cyclosporin-SLN
Onset [°C]	53,5	50,6	50,2	48,1
Peakmaximum [°C]	58,2	56,9	55,4	54,2
Peakenthalpie [J/g]	24,9 (10,0)	11,2	20,5 (8,2)	9,2

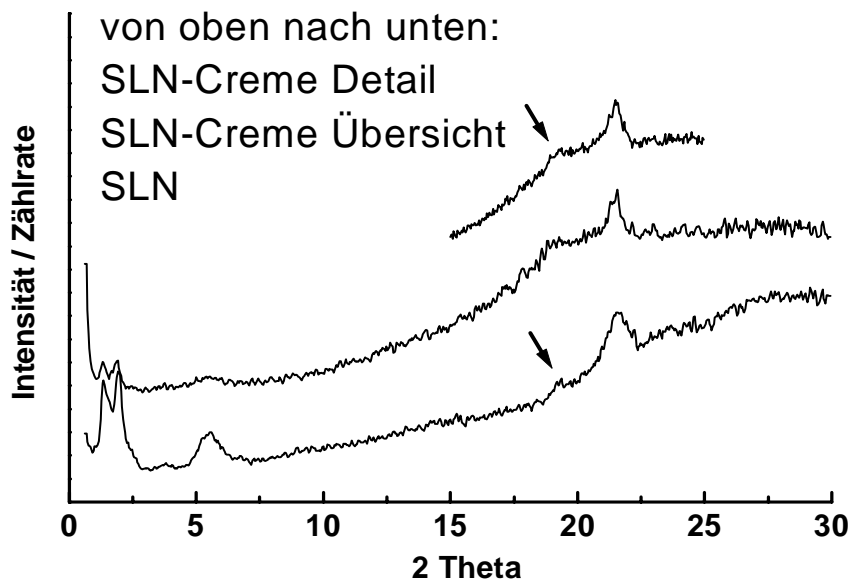


Abbildung 5-3: Röntgenstreuungsmuster der Cyclosporin A-haltigen Formulierungen an Tag 1 nach Herstellung (Übersichtsmessungen mit $0,04^\circ / 2 \text{ sec}$ aufgenommen, Detailmessung mit $0,04^\circ / 10 \text{ sec}$) (Pfeil = leichter β_1 -Reflex bei $d = 0,46$)

Die in Abbildung 5-3 dargestellten Röntgendiffraktogramme der Formulierungen belegen darüber hinaus, daß es durch die Cremeherstellung zu keiner Veränderung des polymorphen Status der SLN-Probe kommt. Da die partikelfreie Creme keinerlei Kristallinität aufweist (kein Schmelzpeak in der Thermoanalyse, keine Reflexe im Röntgenstreuungsmuster), kann der bei $d = 0,415\text{-}0,42$ befindliche Reflex eindeutig den Lipiden der SLN zugeordnet werden. Diese liegen demnach auch in der Creme hauptsächlich als α -Polymorph vor. Ein sehr schwacher Reflex bei einem Netzebenenabstand von $0,46$ (s. Pfeile), der auf einen geringen Teil der β_1 -Modifikation hinweist, ist in Analogie zu den SLN auch in der Creme auszumachen. Bei Einarbeitung von Placebo-SLN kam es ebenfalls zu keiner Veränderung der Kristallmodifikation.

Eine mikroskopische Untersuchung der Cremes mittels polarisiertem Licht an Tag 1 nach Herstellung ergab keine Anzeichen von auskristallisierendem Arzneistoff. Der mittels HPLC bestimmte Gehalt lag jeweils bei $> 94 \%$. Die hergestellten Cremes waren von homogenem Erscheinungsbild. SLN-Cluster konnten nicht detektiert werden (s. Kapitel 3.3).

5.2.2 Physikalische Langzeitstabilität

Lagerung der Cremes bei 40 °C führte nach ca. 18 Monaten zu Phasentrennung der Emulsion. Die bei Raumtemperatur und 4 °C gelagerten Proben wiesen dagegen keine optischen Veränderungen auf. Um die Wahrscheinlichkeit einer Partikelaggregation innerhalb der Cremes abzuschätzen, wurde die Leitfähigkeit der SLN-Creme bestimmt und das Zetapotential der Cyclosporin-SLN in auf diese Leitfähigkeit eingestelltem Wasser vermessen. Es wurde ein neutraler pH gewählt, der dem der Creme entsprach (pH = 7,3). Die Leitfähigkeit der gesättigten und mit Cyclosporin-SLN beladenen Creme betrug 525 $\mu\text{S} / \text{cm}$ ($n = 3$). Das Zetapotential sank von $-18,6 \text{ mV}$ bei 50 $\mu\text{S} / \text{cm}$ auf nur $-5,5 \text{ mV}$ bei dieser ca. zehnfachen Leitfähigkeit. Stabilisierung der Partikel kann folglich nur noch auf sterischem Weg durch Tagat S erfolgen. Abbildung 5-4 enthält die Partikelgrößenverteilungen der SLN-Creme an Tag 1 im Vergleich zu denjenigen nach 2 Jahren Lagerung bei Raumtemperatur und 4 °C.

Man kann erkennen, daß der SLN-Peak im Nanometerbereich und der Peak der Creme-Öltropfen nicht mehr klar voneinander abgegrenzt sind. Das kann einerseits auf eine Verbreiterung der Öltropfen-Größenverteilung zurückgeführt werden, andererseits ist auch eine Partikelaggregation nicht auszuschließen. Das Ausmaß muß in Anbetracht des Lagerzeitraumes von zwei Jahren aber als gering eingestuft werden. Ein Großteil der Partikel ist noch im Nanometerbereich angesiedelt.

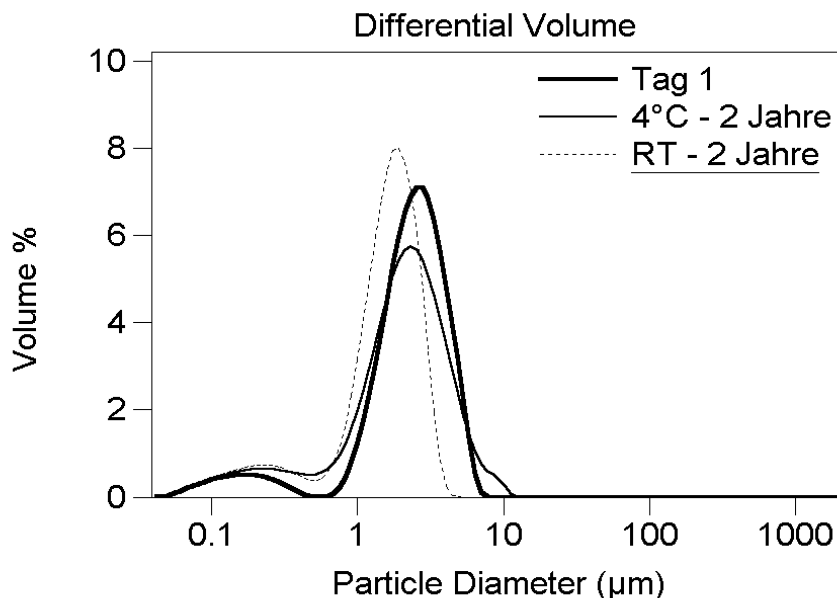


Abbildung 5-4: LD-Partikelgrößenverteilung der Cyclosporin A-SLN-Cremes an Tag 1 und 2 Jahre nach Herstellung mit Lagerung bei 4 °C oder Raumtemperatur

5.2.3 Arzneistoffkristallisation

Wie bereits für die partikelfreien Cremes diskutiert, war die Kristallisation von Cyclosporin A auch in den SLN-haltigen Formulierungen in erster Linie eine Funktion der Lagertemperatur. Zur Erzielung von langzeitstabilen Systemen war eine gekühlte Aufbewahrung (4 °C) unbedingt erforderlich. Je höher die Lagertemperatur, desto schneller traten Kristalle auf und desto größer waren diese.

Im Vergleich der Cremes mit Cyclosporin-SLN (Gesamtgehalt an Arzneistoff = 4,6 %) mit Placebo-SLN-Cremes (3,0 %) konnte lediglich bei 40 °C-Lagerung ein geringer Einfluß der zusätzlichen Arzneistoffmenge festgestellt werden. Kristalle traten hier - wie auch in der zur Herstellung verwendeten SLN-Suspension - bereits nach wenigen Tagen auf: In den placebohaltigen Cremes war der Arzneistoff erst nach 2 Wochen zu detektieren.

Wurden die Proben bei Raumtemperatur gelagert, wiesen beide Formulierungen ab Tag 35 vereinzelt Kristallnester auf. Eine Zunahme der Kristallisation wurde jedoch über die folgenden 2 Jahre nicht beobachtet.

Lagerung bei 4 °C konnte ein Auskristallisieren von Cyclosporin A über mindestens 1 Jahr in beiden Creme-Formulierungen verhindern. Das ist eine deutliche Steigerung gegenüber der reinen SLN-Formulierung, wo es bereits nach 3 Monaten zu starker Aggregation verbunden mit Arzneistoffausstoß kam.

Besonders überraschend waren die mikroskopischen Ergebnisse für SLN-Cremes ohne zusätzliches Cyclosporin in der Grundlage. Auf Grund der hohen thermodynamischen Aktivität des Arzneistoffs in den Lipidpartikeln und dessen beträchtlicher Löslichkeit im Vehikel Cremegrundlage, wäre mit einer Diffusion aus den SLN in die Ölphase der Cremegrundlage zu rechnen, bis die Konzentrationen in beiden Kompartimenten im Verhältnis ihrer Sättigungslöslichkeiten stehen [182].

Da die in den SLN enthaltene Arzneistoffmenge weit unter der Beladungskapazität der Creme-Ölphase liegt, wäre hier keine Kristallisation zu erwarten. Kristalle wurden jedoch nach Zeiträumen detektiert, die denen der beschriebenen gesättigten SLN-Cremes entsprachen. Demzufolge kam es während der Lagerung nicht zu der erwarteten Umverteilung. Eine mögliche Erklärung ist die niedrige Löslichkeit von Cyclosporin A in wäßrigen Medien. Während des Diffusionsprozesses muß sich der Arzneistoff zunächst in die Wasserphase der Creme verteilen, um in dieser zu den Öltröpfchen vorzudringen. Zusätzlich erschwert wird die Diffusion an dieser Stelle durch den verwendeten, makromolekularen Gelbildner Carbopol 940. Offensichtlich kristallisiert in dieser Phase zumindest ein Teil des aus den Partikeln diffundierenden Arzneistoffs aus.

Als Konsequenz dieser Beobachtung stellt sich die Frage, ob es während der Freisetzung überhaupt zu einer Wechselwirkung der beiden Arzneistofffraktionen mit Übersättigung der Grundlage kommen kann. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß die Bedingungen für die Diffusion des Arzneistoffes im offenen System durch Wasserverdunstung und Filmbildung grundlegend verändert werden. Aufschluß über diese Frage kann also letztendlich nur die beobachtete Freisetzung liefern (s. Kapitel 5.4).

Auch eine gesättigte Creme, die statt SLN die in Kapitel 4.1.6 charakterisierte Octyldodecanol-Nanoemulsion enthielt, wurde während der Lagerung mikroskopisch untersucht. In ihrer Zusammensetzung entsprach die Nanoemulsion der SLN-Formulierung, das feste Lipid Imwitor 900 wurde lediglich durch den verzweigt-kettigen Alkohol Octyldodecanol ausgetauscht. Wie bereits diskutiert liegt die resultierende 20 %ige Beladung des Öls im Sättigungsbereich. Eine ausreichende Stabilisierung dieses Systems war auch in der Creme über einen längeren Zeitraum nicht möglich. Nach 4 Monaten konnten selbst bei gekühlter Lagerung Kristalle in der Formulierung detektiert werden.

In allen Cremes, die Imwitor-Partikel enthielten, kam es nach einigen Monaten zur Ausbildung faseriger Strukturen, die den Lipidaggregaten gelagerter Imwitor-SLN (dargestellt in Abbildung 4-6 c)) entsprachen (Abbildung 5-5). Im polarisierten Licht zeigten diese Strukturen ebenfalls Doppelbrechung, was eine Detektion von Arzneistoffkristallen erschwerte. Wie die Ergebnisse der LD-Partikelgrößenanalytik bereits angedeutet hatten, kann folglich eine Aggregation der Nanopartikel durch Einarbeitung in Cremegrundlagen nicht vollständig unterbunden werden. Ob diese Aggregation mit Veränderungen der Kristallstruktur einhergeht, sollte durch Thermoanalyse und Röntgendiffraktometrie geklärt werden.

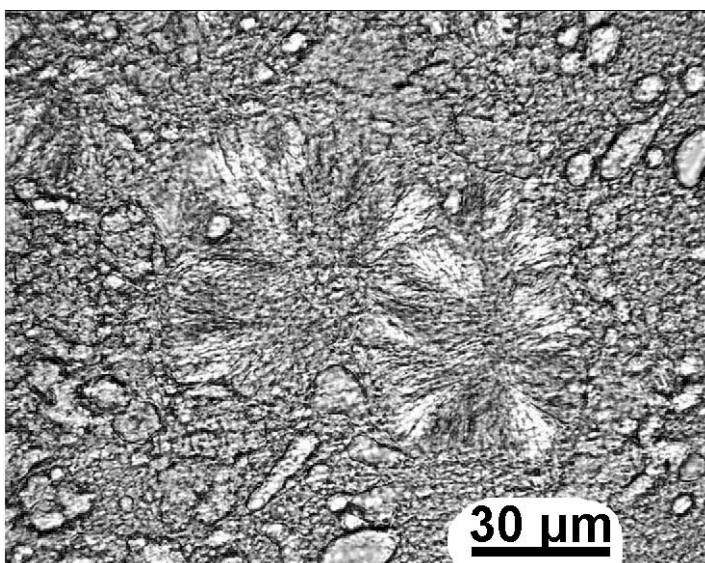


Abbildung 5-5:

Faserig erscheinende Imwitor-Aggregate in einer Cyclosporin A-SLN enthaltenen gesättigten Cremeformulierung nach sechs Monaten Lagerung bei Raumtemperatur (Vergrößerung 400fach)

5.2.4 Untersuchung polymorpher Transformationen

Die Ergebnisse der thermoanalytischen Langzeitstudie sind in Tabelle 5-3 zusammengefaßt. Besonders auffällig ist hier die starke Abnahme der Schmelzenthalpie der bei 40 °C gelagerten Cremeproben. Die Aufheizkurven der Formulierungen mit Cyclosporin-beladenen SLN sind zur Verdeutlichung in dargestellt.

Bereits nach 6 Wochen ist die Aufspaltung des Schmelzpeaks in einen niedriger und einen höher schmelzenden Bereich (Pfeil) erkennbar. Diese Aufspaltung setzt sich im Verlauf der Lagerung weiter fort, die Enthalpie beider Bereiche nimmt stark ab. Innerhalb der Cremes scheint die Lagerung bei erhöhten Temperaturen folglich einerseits zur Abnahme der Gesamtkristallinität und andererseits zur Ausbildung verschieden strukturierter Teilbereiche innerhalb der Partikel zu führen.

Tabelle 5-3: Thermoanalytische Ergebnisse der Langzeituntersuchung SLN-haltiger Cremes nach Lagerung bei verschiedenen Temperaturen. Dargestellt sind die Parameter Onset, Peakmaximum und Schmelzenthalpie der entsprechenden DSC-Aufheizkurven

		Tag 1	6 Monate			1 Jahr			2 Jahre		
			RT	4°C	40°C	RT	4°C	40°C	RT	4°C	40°C
Creme mit Placebo-SLN	Onset [°C]	50,6	49,5	46,0	45,7	50,4	48,6	46,6	49,7	49,2	38,2 61,5
	Peakmax. [°C]	56,9	55,0	53,7	53,5 57,2	56,1	54,3	48,2 56,3 62,1	55,5 62,3	54,9	43,9 55,7 64,9
	Enthalpie [J/g]	11,2	14,2	13,1	9,4	14,9	13,6	9,8	14,7	14,4	0,25 4,45
Creme mit Cyclosporin-SLN	Onset [°C]	48,1	49,8	47,5	44,3	51,7	48,9	43,7	49,5	48,1	38,85 55,12
	Peakmax. [°C]	54,2	56,2	53,2	51,1 57,9 62,0	57,6	54,8	48,9 64,2	56,6 62,7	55,2	43,7 63,6
	Enthalpie [J/g]	9,2	10,7	10,6	7,3	11,4	11,9	4,8	11,5	11,2	0,42 1,64

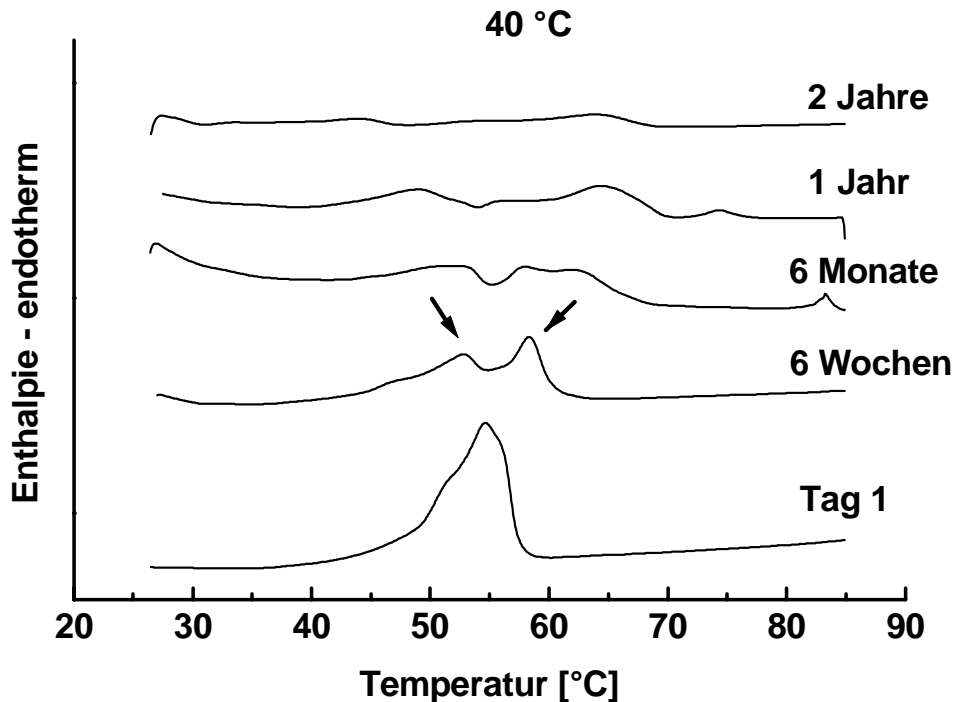


Abbildung 5-6: DSC-Aufheizkurven der über einen Zeitraum von 2 Jahren bei 40 °C gelagerten SLN-Cremes mit Cyclosporin A-haltigen SLN

Weiterer Aufschluß über dieses Verhalten konnte durch Bestimmung der Löslichkeit von Imwitor in der Lipidphase der Cremegrundlage gewonnen werden. Da diese bei 40 °C noch in halbfestem Zustand vorliegt, wurde sie mit einer Aufheizgeschwindigkeit von 1 °C / 5 min im Inkubationsschrank auf eine Temperatur gebracht, bei der sämtliche Bestandteile klar geschmolzen vorlagen. Dies war bei 54 °C der Fall. Über einen Zeitraum von 24 Stunden konnten in dieser Schmelze ca. 15 % festes Imwitor 900 gelöst werden. Der Anteil von Imwitor 900 an der Lipidphase der Creme beträgt nach Herstellung 22,4 %. Auch wenn davon auszugehen ist, daß der Wert für die Löslichkeit bei 40 °C niedriger liegt, ist anzunehmen, daß sich über einen derartig langen Lagerzeitraum eine erhebliche Lipidfraktion in der Grundlage löst. Wie in Kapitel 4.1.4.2 beschrieben, führt Tempern bei 40 °C auf Grund der erhöhten Beweglichkeit der Moleküle auch bei den reinen SLN-Formulierungen zu Umlagerungen im Partikel und Abnahme der Seitenkettenkristallinität. Durch Einarbeitung in die Cremegrundlage mit Anlösen der Partikel wird dieser Prozeß noch verstärkt.

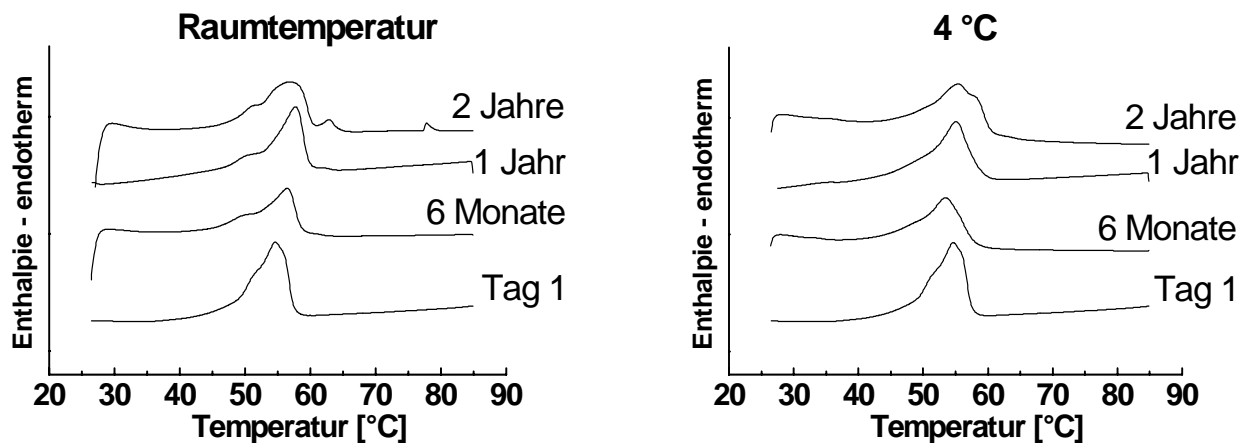


Abbildung 5-7: DSC-Aufheizkurven der über einen Zeitraum von 2 Jahren bei Raumtemperatur und 4 °C gelagerten Cyclosporin A-SLN-Cremes

Betrachtet man dagegen die Aufheizkurven der bei Raumtemperatur und 4 °C gelagerten Cremeproben über den Verlauf von 2 Jahren (Tabelle 5-3, Abbildung 5-7), sind die Veränderungen bezüglich Peakform und Peaklage relativ gering. Die Enthalpie nimmt leicht zu, die Onsettemperatur sinkt im Gegensatz zu den reinen SLN geringfügig ab. Lagerung bei Raumtemperatur führt zu einem Anstieg des Peakmaximums, bei 4 °C bleibt dessen Lage annähernd konstant.

Die thermoanalytischen Werte der placebohaltigen Formulierungen (Abbildung 5-8) ergeben ein ähnliches Bild. Bei Raumtemperatur kommt es hier jedoch nicht zu einer Erhöhung des Peakmaximums.

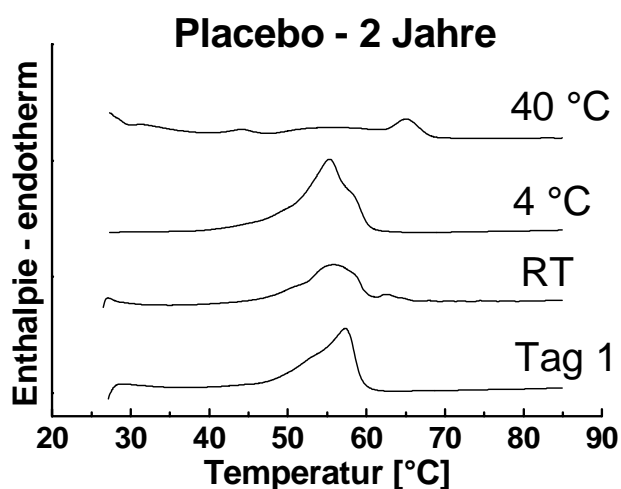


Abbildung 5-8: DSC-Aufheizkurven der über einen Zeitraum von 2 Jahren bei Raumtemperatur, 4 °C und 40 °C gelagerten Placebo-SLN-Cremes

Aufgrund der steigenden Schmelzenthalpie kann ein Auflösen der SLN-Lipidmatrix in der Cremegrundlage bei diesen Temperaturen ausgeschlossen werden. Die leichte Verschiebung des Peakmaximums der beladenen SLN bei Raumtemperatur könnte auf eine im Vergleich zur gekühlten Lagerung und zu den wirkstofffreien SLN beschleunigte Modifikationsumwandlung hindeuten. Eine sichere Aussage ist jedoch nur anhand röntgendifraktometrischer Untersuchungen möglich, da ein Einfluß der Grundlage auf diesen Parameter nicht auszuschließen ist.

Vergleich der wirkstofffreien und –haltigen SLN Dispersionen hatte ergeben, daß das Vorhandensein von Cyclosporin A die Umwandlung der α -Modifikation des Lipids in die geordneteren β -Modifikationen verzögert. Dieses Phänomen konnte für die in den Cremes eingeschlossenen Partikel ebenfalls nachgewiesen werden. Abbildung 5-9 enthält die Streumuster der jeweils über 6 Monate bei Raumtemperatur und 4 °C gelagerten Proben. Es handelt sich dabei um die durch Subtraktion der Intensitätswerte der partikelfreien Creme von denen der identisch gelagerten partikelhaltigen Formulierungen gewonnenen Spektren. Störungen durch die Cremegrundlage können somit ausgeschlossen werden. Bei allen Proben ist ein Übergang zur β -Modifikation erkennbar. Das Ausmaß dieses Übergangs ist im Fall von Imwitor 900 durch das Verhältnis der Intensität des abnehmenden Reflexes bei $2\text{ Theta} \approx 21,4$ ($d = 0,415$) zu den Intensitäten der zusätzlich entstehenden Reflexe charakterisiert.

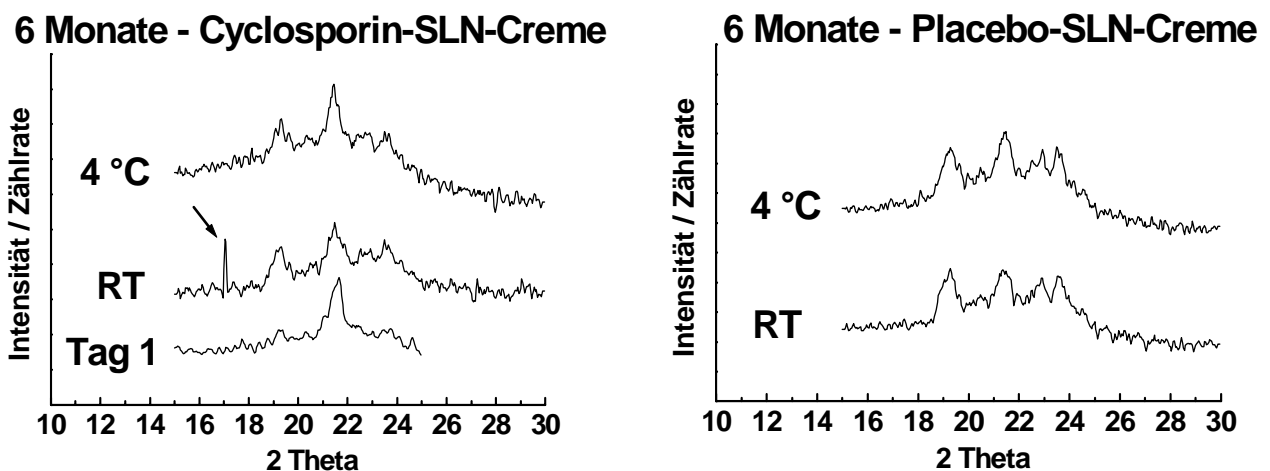


Abbildung 5-9: Durch Subtraktion der Intensitätswerte der partikelfreien Creme von denen der identisch gelagerten partikelhaltigen Formulierungen gewonnene Streumuster der über 6 Monate gelagerten Cremes mit wirkstoffhaltigen SLN (links) und wirkstofffreien SLN (rechts) (Meßdauer: 10 sec / $0,04^\circ$) (Pfeil = Cyclosporinreflex)

Im Vergleich der vier Spektren treten deutliche Unterschiede auf, wobei das Ausmaß der Umwandlung in der Reihenfolge 4 °C mit Cyclosporin < RT mit Cyclosporin ~ 4 °C Placebo < RT Placebo zunimmt. Die Anwesenheit von Arzneistoff führt demzufolge auch bei den in der Creme eingeschlossenen SLN zu einer Verzögerung der polymorphen Transformation. Das dennoch bei Raumtemperatur auskristallisierende Cyclosporin ist im Spektrum durch den typischen Reflex bei ca. 17° gekennzeichnet (s. Pfeil).

Die Ergebnisse der Röntgendiffraktometrie bezüglich des Kristallstatus belegen, daß das Ausmaß der Verschiebung des Peakmaximums im Rahmen der Thermoanalyse für die Beurteilung von Lipidmodifikationen innerhalb topischer Systeme nur begrenzt herangezogen werden kann. Eine stärkere Umwandlung der Cyclosporin A-haltigen Probe wäre danach zu erwarten gewesen.

Die Streumuster der bei 40 °C gelagerten Proben belegen die Abnahme der Kristallinität der Nanopartikel und deren allmähliches Auflösen in der Lipidgrundlage. Der zu Beginn starke α -Reflex nimmt in seiner Intensität kontinuierlich ab und ist nach zwei Jahren nicht mehr vorhanden.

Lagerung der Cremes in Glasvials statt in Metalltuben führte in jedem Fall zu einer wesentlich schnelleren Umlagerung und Kristallisation des Arzneistoffs, was auf den Einfluß von Sauerstoff und Licht zurückgeführt werden kann. Eine gekühlte Lagerung in Metalltuben ist demzufolge für die Langzeitstabilität von entscheidender Bedeutung.

Die zu Beginn des Kapitels gestellte Frage, ob der Kristallstatus der Partikel und dessen Veränderungen die Stabilität des Cremesystems beeinflussen, konnte nur schwer beantwortet werden, da das Auftreten von Arzneistoffkristallen in erster Linie mit der Lagertemperatur verknüpft war. Auch in den bei Raumtemperatur gelagerten Cremes, deren Partikel nach drei Monaten keine oder nur schwache Umwandlungen zeigten, konnten zu diesem Zeitpunkt bereits Kristalle detektiert werden. Dies ist ein weiterer Beleg dafür, daß der in Kapitel 4.1.6 postulierte Partikelbau mit Arzneistofflokalisierung in den nicht kristallinen Randbereichen den tatsächlichen Zustand beschreibt.

Das Auftreten von doppelbrechenden Lipidaggregaten war jedoch stärker an Veränderungen der Kristallstruktur geknüpft. Lagen die Partikel noch hauptsächlich in α -Modifikation vor, konnten die beschriebenen Strukturen nicht beobachtet werden. Erst nach Umwandlung in die höherkristallinen Formen, die mit Veränderung der Partikelgestalt in Richtung Plättchenform einhergehen [63], kam es zur sichtbaren Ausbildung der Aggregate. Eine verzögerte Modifikationsumwandlung ist folglich weniger zur Verhinderung der Arzneistoffkristallisation, dafür aber für den Erhalt des Aufbaus und der Individualität der Nanopartikel von Bedeutung.

5.2.5 Stabilitätsvergleich mit entsprechenden flüssigen SLN-Dispersionen

Jenning konnte im Rahmen seiner Arbeit feststellen, daß ölhaltige Nanopartikel in Cremes eine geringere Umwandlungsrate aufwiesen als die entsprechenden flüssigen NLC-Dispersionen. Imwitor / Miglyol-NLC zeigten nach 168 Tagen in Cremes keine für die β -Modifikation charakteristischen Reflexe, während die nicht eingearbeiteten Partikel bereits nach wenigen Tagen eine starke Modifikationsumwandlung erfuhren [12].

Es stellte sich die Frage, ob dieses Phänomen auch bei den hier untersuchten Cyclosporin A-SLN beobachtet werden kann. Während in Jennings Formulierungen der NLC-Gehalt 20 % betrug, wurden hier 40 % SLN-Dispersion eingearbeitet. Ein Teil der zur Creme-Herstellung verwendeten Partikeldispersion wurde in silanisierten Glasvials zurückbehalten und analog den damit hergestellten Cremes unter Lichtausschluß gelagert. Abbildung 5-10 links enthält die Röntgenstreuungsmuster der Formulierungen nach 100 Tagen Lagerung im Vergleich. Die rechts dargestellten Streumuster stellen die zur besseren Verdeutlichung gebildeten Differenzen der Streumuster partikelhaltiger und partikelfreier Cremes dar. Während die SLN-Dispersionen bereits eine deutliche Transformation in Richtung β_i / β mit ausgeprägten Reflexen bei $d = 0,46$ und $0,38$ (Pfeil) erfahren haben, ist die Umwandlung bei den in den Cremes befindlichen SLN noch zu vernachlässigen.

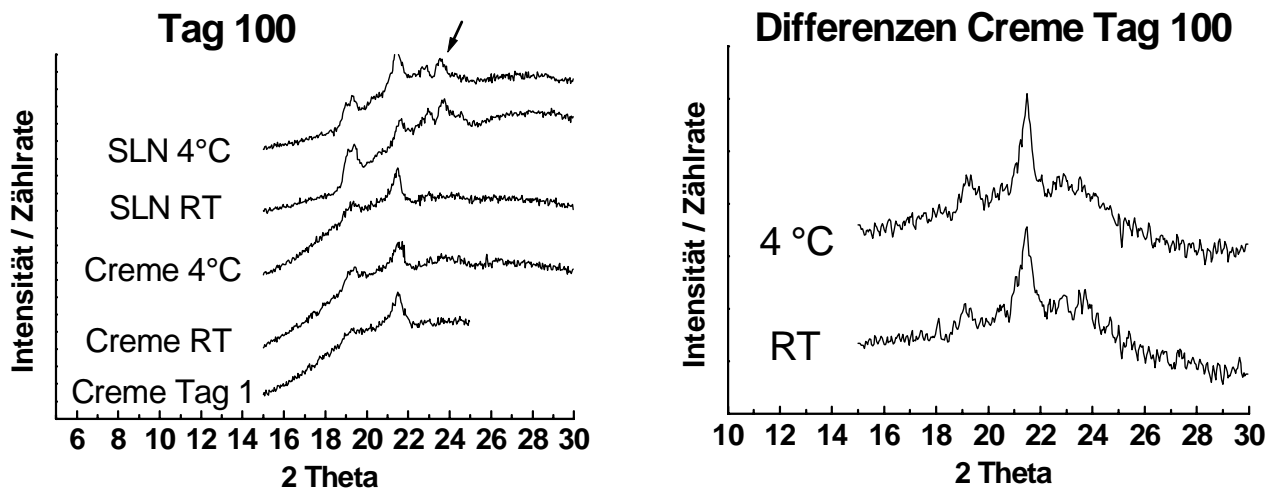


Abbildung 5-10: Vergleich der Modifikationsumwandlung von Cyclosporin A-SLN mit in Cremes enthaltenen SLN derselben Charge. Links sind die an Tag 100 gemessenen Streumuster im direkten Vergleich abgebildet, rechts die Differenzen der Streumuster partikelhaltiger und partikelfreier Cremes (Meßdauer: 10 sec / $0,04^\circ$)

Die genannten Reflexe sind hier noch gar nicht oder nur sehr schwach ausgeprägt. Selbst nach 6 Monaten ist die polymorphe Verschiebung in den wirkstoffhaltigen SLN der Cremes nicht entsprechend fortgeschritten (s. Abbildung 5-9).

Besonders markant ist der Unterschied in den bei Raumtemperatur gelagerten Proben. Hier zeigen die reinen SLN bereits nach 1-2 Wochen erste Veränderungen. Die Anwesenheit der Cremegrundlage mit Tensiden, Ölkomponente, Verdicker und Feuchthaltemittel stabilisiert folglich auch in den mit 40 % SLN-Dispersion beladenen Cremes die orthorhombische α -Modifikation der Partikel. Ein Ölzusatz analog Jenning ist für die Verzögerung dagegen nicht erforderlich.

5.2.6 Trocknungsverhalten

In Analogie zu den flüssigen Formulierungen wurde auch das Trocknungsverhalten der Cremes und dessen Einfluß auf die Freisetzung untersucht.

Problematisch war hier jedoch die Trocknungscharakteristik der Cremegrundlage. Über den beobachteten Zeitraum von 24 Stunden kristallisierte durch Wasserverdunstung der Emulgator Glycerolstearatcitrat aus, der im Röntgenstreumuster den SLN vergleichbare Reflexe zeigte. Eine Auswertung wurde dadurch erschwert.

Abbildung 5-11 (rechts) erläutert das beschriebene Verhalten der Cremegrundlage.

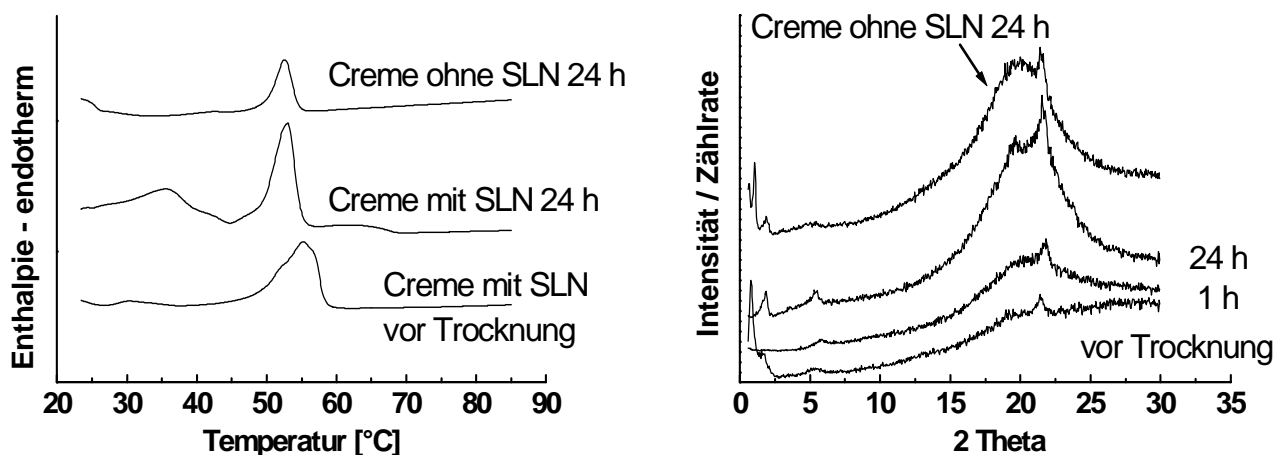


Abbildung 5-11: DSC-Schmelzkurven (links) und Röntgenstreumuster (rechts) des Trocknungsprozesses von Cyclosporin A-haltigen SLN-Cremes im Vergleich zu den getrockneten SLN-freien Cremes (jeweils oberste Kurve)

Der sich in der partikelfreien Creme ausbildende Reflex weist ebenfalls einen Netzebenenabstand von $d = 0,415$ auf, lediglich die Peakintensität ist geringer. Auch die Aufheizkurve der partikelfreien Creme belegt das Auskristallisieren des Emulgators durch Entstehung eines Schmelzpeaks mit einem Maximum von 52 °C (Abbildung 5-11, links). Da bei den für die β -Modifikation charakteristischen Winkeln in der SLN-haltigen Creme jedoch keine weiteren Reflexe erkennbar sind und es im Rahmen der Thermoanalyse eher zu einer starken Absenkung des Schmelzpeak-Maximums kommt, ist nicht von einer Umwandlung der Lipidmatrix zu kristallineren Modifikationen auszugehen. Ein Einfluß auf die Freisetzung ist auch hier nicht zu erwarten. Auffällig ist weiterhin, daß es innerhalb der Cremes im Unterschied zu den reinen SLN-Formulierungen nicht zu einer Zunahme der Reflexe im Kleinwinkelbereich kommt. Die Ausbildung größerer lamellarer Strukturen im Rahmen der Filmbildung wird folglich durch die Cremegrundlage verhindert.

Cyclosporin A-Kristalle konnten über den beobachteten Zeitraum röntgen-diffraktometrisch nicht detektiert werden. Ein sofortiges Auskristallisieren ist unter den gegebenen Bedingungen folglich nicht zu erwarten.

Zum direkten Vergleich wurden zusätzlich Cremes unter Verwendung der in den Kapiteln 4.1.5 und 4.1.7 beschriebenen 15 %igen SLN-Formulierungen folgender Zusammensetzung hergestellt:

Cyclosporin 1 %, Imwitor 14 % (Formulierung A) oder Compritol 14 % (B), Poloxamer 188 2,5 %, Natriumcholat 0,125 %, Wasser ad 100 %.

Beide SLN-Formulierungen hatten im Gegensatz zur zuvor beschriebenen Rezeptur bereits während der ersten Trocknungsphase eine ausgeprägte Modifikationsumwandlung gezeigt. Darüber hinaus konnten wesentlich früher Cyclosporin A-Kristalle detektiert werden. Der Arzneistoffflux war vor allem in den ersten Freisetzungsstunden stark erhöht.

Auch innerhalb der Cremes zeigten diese Formulierungen eine schlechtere Langzeitstabilisierung des Wirkstoffs. Bereits nach einer Woche waren in den bei Raumtemperatur gelagerten Proben erste Kristalle detektierbar. Bei Verwendung von Compritol trat selbst bei Kühlschrank-Lagerung nach 3 Monaten ein Kristallwachstum auf. Im Verlauf der Trocknungsexperimente konnte das Auskristallisieren von Wirkstoff ebenfalls beobachtet werden (Abbildung 5-12). Bei Einarbeitung von Formulierung A waren die Reflexe schwächer (s. kleine Pfeile, links), bei Formulierung B waren sie dagegen bereits nach einer Stunde deutlich zu erkennen (rechts). Dies veranschaulicht wiederum das schlechtere Cyclosporin-Lösungsvermögen von Compritol gegenüber Imwitor.

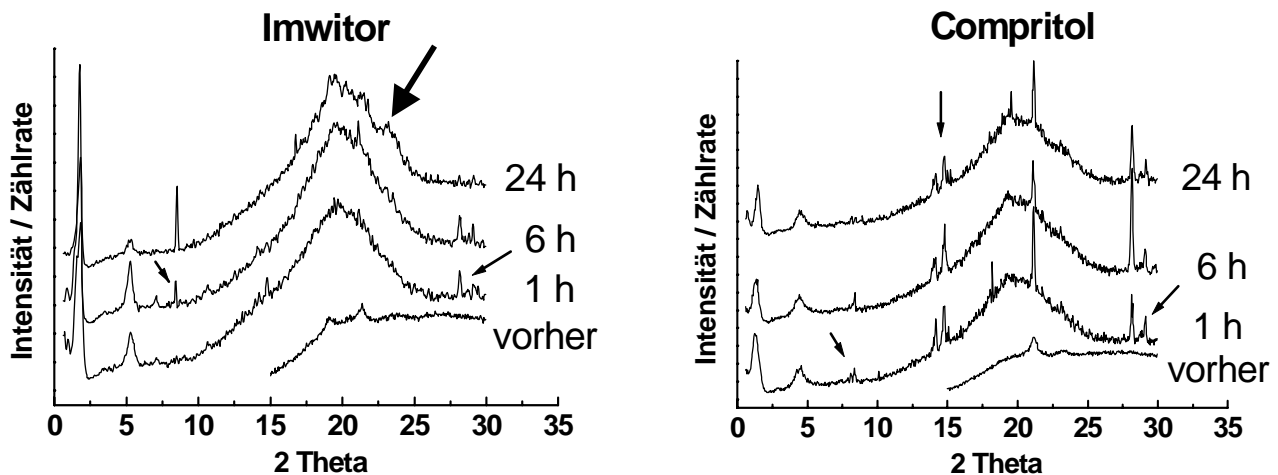


Abbildung 5-12: Röntgenstreuungsmuster des Trocknungsprozesses von Cyclosporin A-haltigen Imwitor-SLN-Cremes (Formulierung A, links) und Compritol-SLN-Cremes (Formulierung B, rechts). Die kleinen Pfeile weisen auf Arzneistoffreflexe hin, der Große auf den für die β -Modifikationen typischen Reflex bei $d = 0,38$.

Bezüglich der Kristallstruktur lassen die durch die Cremegrundlage und den Arzneistoff verursachten Reflexe kaum eine Aussage zu. Von einer starken Umwandlung ist jedoch bei beiden Formulierungen nicht auszugehen. Der bei Formulierung A nach 24 h auftretende Reflex bei $23,4^\circ$, entsprechend einem Netzebenenabstand von $0,38$ (dicker Pfeil links), könnte jedoch auf eine gewisse polymorphe Transformation hindeuten, da an dieser Stelle die Cremegrundlage keine störenden Reflexe aufweist.

Diese Annahme wird durch die Ergebnisse der Thermoanalyse weiter bestätigt. Der Schmelzpeak von Formulierung A sank in den ersten sechs Stunden um ca. 4°C auf $52,6^\circ\text{C}$ ab, anschließend stieg er jedoch wieder auf $56,3^\circ\text{C}$ nach 24 h an. Dies legt die Entstehung einer höheren kristallinen Ordnung der Lipide während der Trocknung nahe.

Der Schmelzpeak von Formulierung B dagegen sinkt über den gesamten Trocknungszeitraum von $66,6^\circ\text{C}$ auf $57,8^\circ\text{C}$ ab. Die detektierte Kristallisation von Cyclosporin A ist folglich nicht an eine polymorphe Veränderung geknüpft, sondern beruht in erster Linie auf zu hoher Beladung der ölfreien Partikel.

In wie weit die beobachteten Eigenschaften der einzelnen Formulierungen ihre Freisetzung beeinflussen, wird in Kapitel 5.4 untersucht.

5.3 Einarbeitung von arzneistofffreien und – beladenen NLC-Dispersionen

Es wurden primär Cremes mit einem 40 %igen Zusatz von den in Kapitel 4.2.3 ausgiebig charakterisierten 15 %igen Compritol / Octyldodecanol-NLC stabilisiert mit Poloxamer 188 (2,5 %) und Natriumchololat (0,125 %) mit einer Cyclosporin-Beladung von 6,7 % bezogen auf die Lipidphase (= 1 % in der NLC-Formulierung) untersucht. Als Basis wurde auch hier die in Kapitel 3.3 beschriebene O/W-Grundlage verwendet. Um den Einfluß des Cyclosporin-Sättigungsgrades der Creme-Ölphase auf die Freisetzung zu erfassen, wurden neben der Formulierung mit der ermittelten Sättigungskonzentration von 3 % bezogen auf die Gesamtformulierung auch Cremes mit einem durch die Grundlage hervorgerufenen Arzneistoffanteil von 0 %, 1,5 % und 4 % Cyclosporin hergestellt. Der aus den NLC stammende Arzneistoffanteil betrug 0,4 % bezogen auf die Gesamtformulierung, d. h. die Endkonzentrationen in den Cremes lagen bei 0,4 %, 1,9 %, 3,4 % und 4,4 %. Für die Freisetzungen wurde als Vergleich eine Creme mit entsprechender Nanoemulsion herangezogen. Die über HPLC ermittelten Gesamtgehalte lagen für alle Formulierungen bei >93 %.

5.3.1 Charakterisierung der Systeme

Untersuchung der hergestellten NLC-Cremes mittels Laserdiffraktometrie konnte erneut belegen, daß die NLC auch nach der Einarbeitung als individuelle Partikel vorliegen (Abbildung 5-13).

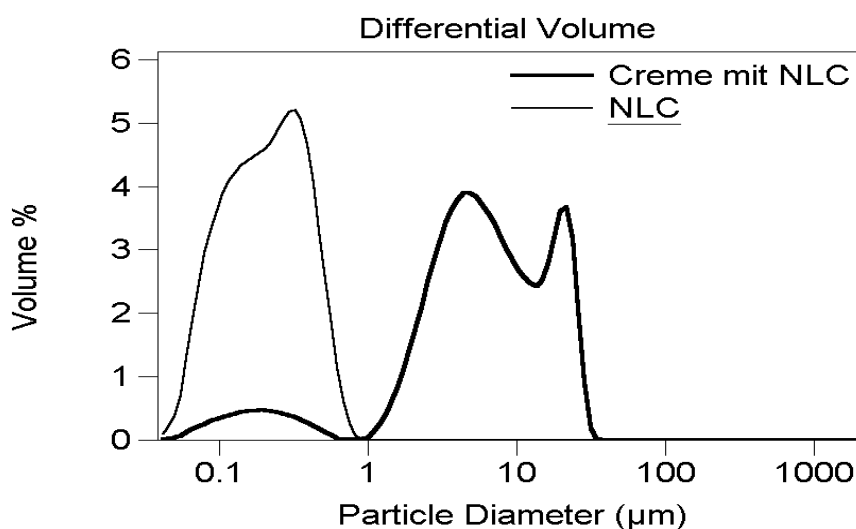


Abbildung 5-13: LD-Partikelgrößenverteilung der reinen NLC-Formulierung und der Creme mit NLC (3,4 % Cyclosporin) jeweils an Tag 1 nach der Herstellung (reine Creme vergleiche Abbildung 5-1)

Tabelle 5-4: Vergleich der thermoanalytischen Parameter von wirkstoffhaltigen Compritol-SLN und Compritol / Octyldodecanol-NLC sowie der jeweils damit hergestellten partikelhaltigen Cremes an Tag 1 nach der Herstellung. Die Werte in Klammern entsprechen 40 % der für die Dispersionen angegebenen Werte. Diese sind mit den Enthalpien der Creme direkt vergleichbar.

	Onset [°C]	Peakmax. [°C]	Enthalpie [J/g]
Cyclo.-Compritol-SLN	66,2	69,2	16,9 (6,8)
Creme mit 40 % SLN	60,1	66,2	6,2
Cyclo.-OD-Compritol-NLC	49,2	63,3	10,7 (4,3)
Creme mit 40 % NLC	57,9	66,7	4,2

Die thermoanalytische Untersuchung des Schmelzverhaltens der 3,4 %igen NLC-haltigen Creme führte nicht wie erwartet zu einer Absenkung des Peakmaximums gegenüber der NLC-Dispersion. Wie in Tabelle 5-4 dargestellt, kommt es im Gegensatz zu der vergleichbaren SLN-Formulierung sogar zu einem Anstieg von Onset und Peakmaximum um 8,7 bzw. 3,4 °C. Das Schmelzverhalten ähnelt anschließend dem der SLN-Formulierung. Die Schmelzenthalpie der Partikel in der Creme beträgt mit 39,3 % bezogen auf die Intensität der reinen Partikel dagegen fast der theoretischen (40 %). Durch Röntgenmessungen konnte ein Einfluß der Lipidmodifikation auf das Peakmaximum ausgeschlossen werden. Abbildung 5-14 belegt deutlich, daß die Partikel vor und nach Einarbeitung in der für Compritol typischen β' -Modifikation vorliegen.

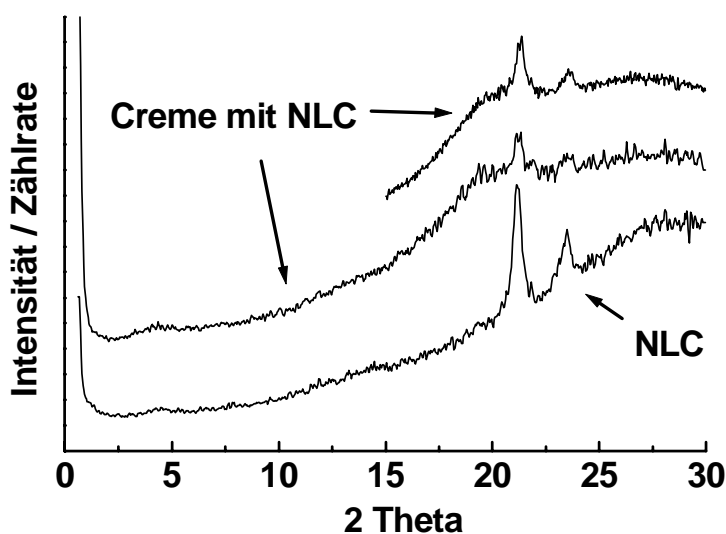


Abbildung 5-14: Röntgenstreuungsmuster der Cyclosporin A-haltigen Formulierungen an Tag 1 nach Herstellung (Meßdauer oben: 10 sec/0,04°, Meßdauer Mitte und unten: 2 sec/0,04°)

Da polymorphe Umwandlungen nicht als Erklärung für die Verschiebung des Schmelzpeaks in Frage kommen, ist eine verstärkte Entmischung von Octyldodecanol und Compritol innerhalb des Partikels bei Einarbeitung in die Cremegrundlage nicht auszuschließen. Die Ähnlichkeit zur entsprechenden Cyclosporin-SLN-enthaltenden Formulierung untermauert diese Überlegungen.

Das Freisetzungsverhalten der NLC hatte bereits eine Anreicherung der Ölphase in den Randbereichen der Partikel nahe gelegt. Bei Stabilisierung durch Poloxamer konnte eine vollständige Entmischung im Partikel über einen Lagerungszeitraum von mindestens 6 Monaten jedoch vermieden werden. Hochtouriges Rühren während der Cremeherstellung und der Kontakt zu deren Ölphase könnten dagegen die Abscheidung des Octyldodecanol an der Oberfläche fördern. Auch eine Vermischung der beiden Ölphasen ist anhand der Datenlage nicht auszuschließen. Weiteren Aufschluß sollten die Freisetzungsuntersuchungen liefern (s. Kapitel 5.4.1.2).

5.3.2 Physikalische Langzeitstabilität und Untersuchung der Arzneistoffkristallisation

Es wurde auch für NLC-haltige Systeme untersucht, wie stark deren Zetapotential durch die Überführung in ein Medium mit hoher Leitfähigkeit beeinflusst wird. In Wasser von $\text{pH} = 7,3$ und einer der Creme entsprechenden Leitfähigkeit von $525 \mu\text{S} / \text{cm}$ sank das gemessene Potential von $-18,6 \text{ mV}$ ($50 \mu\text{S}$ -Wasser) auf $-7,2 \text{ mV}$. Die Stabilisierung der Partikel gegen Aggregation innerhalb des topischen Systems kann folglich primär durch den sterischen Stabilisator gewährleistet werden. Analog den SLN-haltigen Cremes führte Lagerung bei $40 \text{ }^\circ\text{C}$ zu einer Verflüssigung und Phasentrennung innerhalb der Proben. Diese Destabilisierung trat jedoch hier bereits nach 3 Monaten auf. Lipidaggregate konnten dagegen - im Gegensatz zu den mit Imwitor-SLN beladenen Systemen - bei keiner Lagertemperatur beobachtet werden.

Das Auftreten von Arzneistoffkristallen war in erster Linie eine Funktion der Lagertemperatur, es konnte aber darüber hinaus einen Einfluß der Arzneistoffbeladung festgestellt werden. Im Unterschied zu den entsprechenden SLN-Cremes, wurden bei alleiniger Arzneistoffbeladung der enthaltenen NLC (Gesamtkonzentration $0,4 \%$) selbst bei $40 \text{ }^\circ\text{C}$ keine Kristalle über einen Lagerzeitraum von 18 Monaten detektiert.

Während bei gekühlter Lagerung auch keine der höher beladenen Proben Kristalle aufwies, führte Lagerung bei Raumtemperatur und 40 ° zu einem unterschiedlich schnellen Kristallwachstum. Bei einer Gesamtkonzentration von $4,4 \%$ dauerte dieser Prozeß wenige Wochen, betrug die Gesamtkonzentration nur $1,9 \%$ waren nach 6 Monaten erst einzelne Kristalle detektierbar.

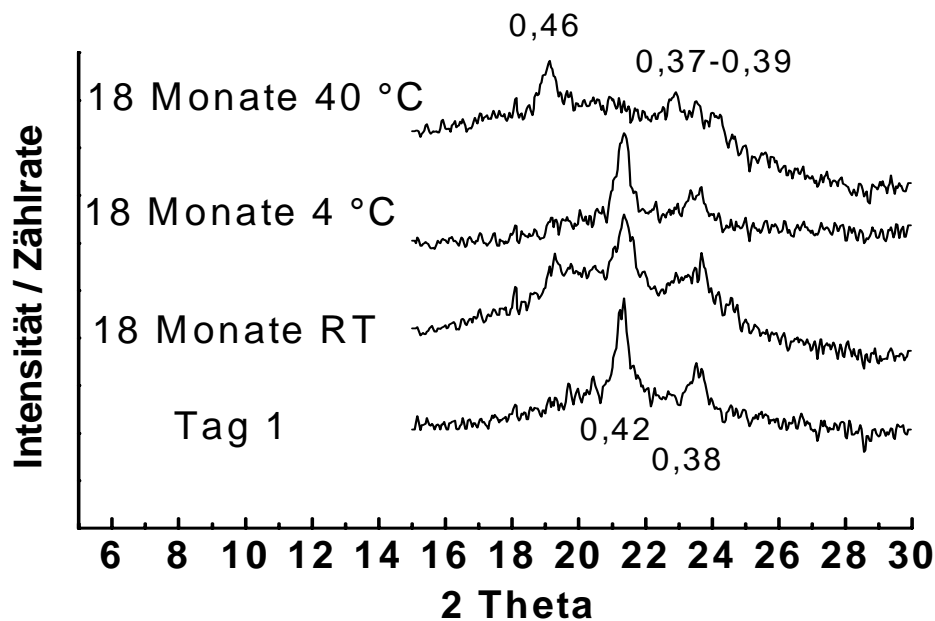


Abbildung 5-15: Röntgenstreuungsmuster der durch Subtraktion der Intensitätswerte der partikelfreien Cremes von denen der identisch gelagerten NLC-haltigen Formulierungen gewonnenen Streumuster (Meßdauer: 10 sec / 0,04°) an Tag 1 und nach 18 Monaten Lagerung bei Raumtemperatur, 4 °C und 40 °C (NLC = Cyclosporin A-haltige Compritol / Octyldodecanol-NLC mit 15 % Lipidgehalt, stabilisiert mit Poloxamer 188 2,5 % und Natriumchololat 0,125 %)

Wurden statt NLC die vergleichbaren Compritol-SLN eingearbeitet, kam es auch bei Kühlschranklagerung zum geringfügigen Auskristallisieren des Arzneistoffs nach ca. 4 Wochen. Da hier die Beladungskapazität der Partikel auf Dauer überschritten ist, könnte der ausgestoßene Arzneistoff als Kristallisationskeim für den in der Grundlage gelösten Cyclosporin-Anteil dienen.

5.3.3 Untersuchung polymorpher Transformationen

Während sich Imwitor-SLN bei leicht erhöhten Temperaturen teilweise in der Grundlage auflösten, zeigten die auf Compritol basierenden NLC bei 40 °C eine starke Zunahme der Kristallinität. Bereits nach 4 Wochen begann die polymorphe Transformation in die höher geordnete β_i -Modifikation.

Nach 18 Monaten entsprach das durch Subtraktion der Cremegrundlage gewonnene Streumuster einer reinen β -Modifikation. Der Reflex bei $d = 0,42$ war nicht mehr vorhanden, derjenige bei 0,38 hatte sich in drei kleinere aufgespalten (Abbildung 5-15, oben).

Tabelle 5-5: Thermoanalytische Parameter der DSC-Aufheizkurven von wirkstoffbeladenen Compritol-NLC-Cremes an Tag 1 und nach 18 Monaten bei Raumtemperatur, 4 °C und 40 °C

	Onset [°C]	Peakmaximum [°C]	Enthalpie [J/g]
Tag 1	57,9	66,7	4,19
18 Monate 4 °C	58,7	66,5	4,51
18 Monate RT	57,8	65,4 ; 70,0	5,08
18 Monate 40 °C	64,2	70,5	5,10

Die DSC-Daten in Tabelle 5-5 belegen die Modifikationsumwandlung durch eine starke Zunahme von Onset, Peakmaximum und Enthalpie. Bestimmung der Löslichkeit von Compritol in der lipophilen Phase der Cremegrundlage ergab bei 52 °C eine Löslichkeit von 7 % in 24 Stunden, d. h. die Löslichkeit ist wesentlich geringer als die für Imwitor ermittelte (15 %). Es kam folglich weder zum Anlösen der Partikel noch ist eine Auftrennung der Lipide in Bereiche unterschiedlicher Kristallinität erkennbar. Bei Raumtemperatur war der polymorphe Übergang nach 18 Monaten erst zum Teil erfolgt, die Aufheizkurve zeigt zwei getrennte Maxima bei 65,4 °C (β') und bei 70,5 °C, das dem der β -Modifikation entspricht.

Lagerung bei 4 °C konnte die polymorphe Umwandlung des Lipids über 18 Monate verhindern. Sowohl die thermoanalytischen Parameter als auch die Streukurven blieben nahezu unverändert.

5.3.4 Stabilitätsvergleich mit entsprechenden flüssigen NLC-Dispersionen

Die in Kapitel 4.2 beschriebenen NLC-Dispersionen weisen auch in flüssigem Zustand eine sehr gute Stabilität in Bezug auf Größe und Kristallmodifikation auf. In Abhängigkeit vom verwendeten Tensidgemisch und dem Vorhandensein von Cyclosporin beträgt sie mindestens 6 Monate bis 3 Jahre. Über den Untersuchungszeitraum von 18 Monaten konnte daher kaum eine Aussage darüber getroffen werden, ob durch den Einfluß der Cremegrundlage eine weitere Stabilisierung erfolgt. Die leichte Modifikationsumwandlung bei Raumtemperatur setzte jedoch sowohl in der flüssigen NLC-Probe als auch bei den in der Creme eingeschlossenen Partikeln nach ca. 6 Monaten ein.

Differenzen waren nach 40 °C-Lagerung zu verzeichnen. Während in den NLC der Ausgangsdispersion der Umwandlungsprozeß nach 4 Wochen fast vollständig abgeschlossen ist, liegen die Partikel in den Cremes noch hauptsächlich in β' -Modifikation vor.

In Bezug auf die Arzneistoffkristallisation konnten keine Unterschiede ermittelt werden. In Abhängigkeit von der Lagertemperatur kam es jedoch bei den Poloxamer-stabilisierten flüssigen NLC-Proben spätestens nach 1 Jahr zur Gelbildung, so daß anschließend lediglich ein Vergleich zweier halbfester Systeme möglich war.

5.3.5 Trocknungsverhalten

Die in Abbildung 5-16 wiedergegebenen Röntgenstreumuster der gesättigten NLC-Creme belegen einerseits, daß es im Unterschied zu der beinahe identischen Compritol-SLN-Creme nicht zu einer detektierbaren Kristallisation des Arzneistoffs kommt (vergleiche Abbildung 5-12, rechts).

NLC besitzen folglich nicht nur während der Lagerung eine besseres Inkorporationsvermögen für Cyclosporin A sondern auch während der Trocknung vergleichbarer Cremesysteme. Da der Trocknungsprozeß den Bedingungen der Freisetzung nachempfunden ist, sollte die NLC-Formulierung entsprechend besser geeignet sein, eine Arzneistoffkristallisation auf der Membran zu verhindern.

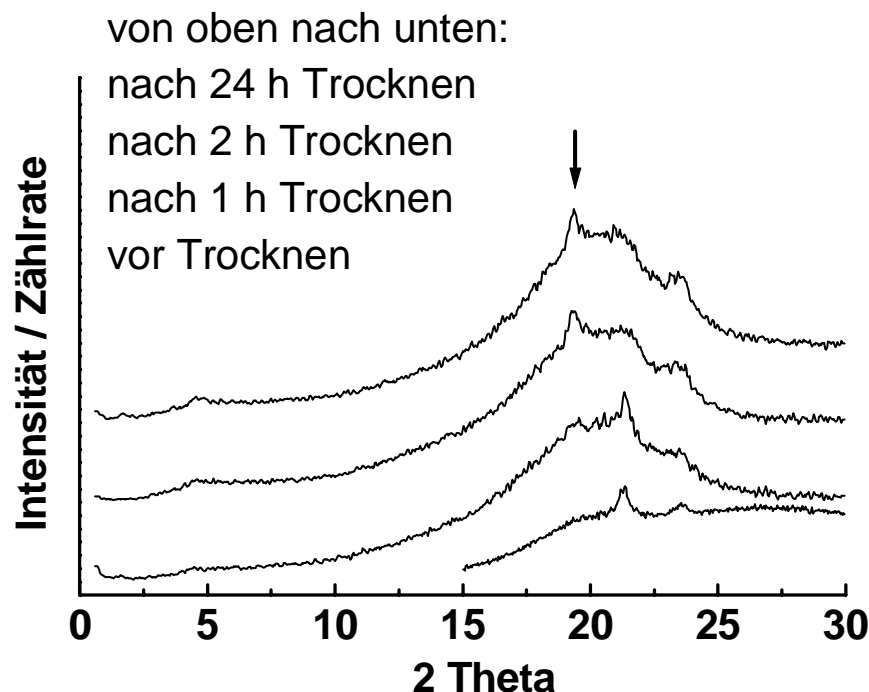


Abbildung 5-16: Röntgenstreumuster des Trocknungsprozesses von Cyclosporin A-haltigen Compritol / Octyldodecanol-NLC-Cremes mit 3,4 % Gesamtgehalt (Pfeil = β_i -Reflex bei $d = 0,46$)

Zu beachten ist jedoch, daß geringe Mengen an Arzneistoffkristallen (<2 %) unterhalb der Detektionsgrenze des Diffraktometers liegen. Da der Gesamtgehalt in beiden Formulierungen 3,4 % Cyclosporin A beträgt, müßten in den wasserhaltigen Proben >50 % des Arzneistoffs auskristallisiert sein, um diesen durch Reflexe detektieren zu können. Selbst unter Annahme einer Verdunstung des gesamten Wassers während des 24stündigen Trocknungsprozesses liegt der berechnete Grenzwert bei ca. 25 % des Arzneistoffs. Untersuchung der während des Experimentes entstandenen Filme unter polarisiertem Licht führte jedoch zu keinem Ergebnis, da die Lipidfilme selbst eine starke Doppelbrechung aufwiesen.

Zwischen Stunde 1 und Stunde 2 der Trocknung kam es zu einer Abnahme des Reflexes mit einem Netzebenenabstand von 0,42 und der Entstehung des für die β_i / β -Modifikation typischen Reflexes bei $d = 0,46$ (Pfeil). Da die Cremegrundlage bei diesem Winkel keinen Reflex ausbildet, kann von einer polymorphen Umwandlung ausgegangen werden. Detektion dieser Umwandlung war im Rahmen der Thermoanalyse jedoch nicht möglich. Der DSC-Schmelzpeak verlagerte sich im Verlauf der Trocknung von 66,7 auf 56,0 °C. Eine mögliche Begründung für diesen Widerspruch ist die Überlagerung der Schmelzprozesse des in der Grundlage enthaltenen Emulgators Glycerolstearatcitrat (Maximum bei ca. 50 °C) und der eingeschlossenen NLC-Partikel.

Ob die beobachtete Modifikationsumwandlung Einfluß auf die Freisetzung des Arzneistoffes hat, wird vergleichend im folgenden Kapitel untersucht.

5.4 Arzneistofffreisetzung

Vorrangiges Ziel bei der Bestimmung des Freisetzungsverhaltens in Franz-Zellen war es festzustellen, ob durch Einarbeitung partikulärer Arzneistoffträger in gesättigte Cremegrundlagen übersättigte Systeme mit erhöhtem Arzneistoffflux erzeugt werden können. Auch sollte geklärt werden, in wie weit sich die beobachteten Unterschiede zwischen SLN und NLC auf die Freisetzung auswirken.

5.4.1 Vergleich mit analogen nanoemulsionshaltigen Systemen

Zur Beurteilung der Freisetzung des Arzneistoffes aus den partikelhaltigen Cremes wurde als Vergleich die 1 oder 4 %ige Nanoemulsion aus Kapitel 4.1.6 auf analoge Weise eingearbeitet und parallel freigesetzt. Wie bereits diskutiert konnte die Arzneistoffkristallisation in der Creme mit hochgesättigter Nanoemulsion (4 %) auch unter Kühlung über einen längeren Zeitraum nicht vermieden werden.

Die Formulierungen mit der nur 1 % Cyclosporin enthaltenden Nanoemulsion entsprachen in ihrer Stabilität dagegen den entsprechenden NLC-Formulierungen (s. Kapitel 5.3.2).

5.4.1.1 Imwitor-SLN-Cremes mit 4 %iger Cyclosporin-Beladung der Partikeldispersion

Es wurden die bereits ausgiebig charakterisierten Dispersionen folgender Zusammensetzung eingearbeitet:

Cyclosporin A 4 %, Imwitor 900 16 % (SLN) oder Octyldodecanol 16 % (Nanoemulsion), Tagat S 5 %, Natriumcholat 1 % und MilliQ-Wasser ad 100 %

Verglichen wurden jeweils die Formulierungen mit und ohne Cyclosporin-Beladung der Cremegrundlage. Die erhaltenen Freisetzungskurven sind in Abbildung 5-17 dargestellt.

Im Unterschied zu den flüssigen Dispersionen setzen hier die nanoemulsionshaltigen Systeme im Vergleich zu den SLN-haltigen über den gesamten Freisetzezeitraum von 24 Stunden stärker frei.

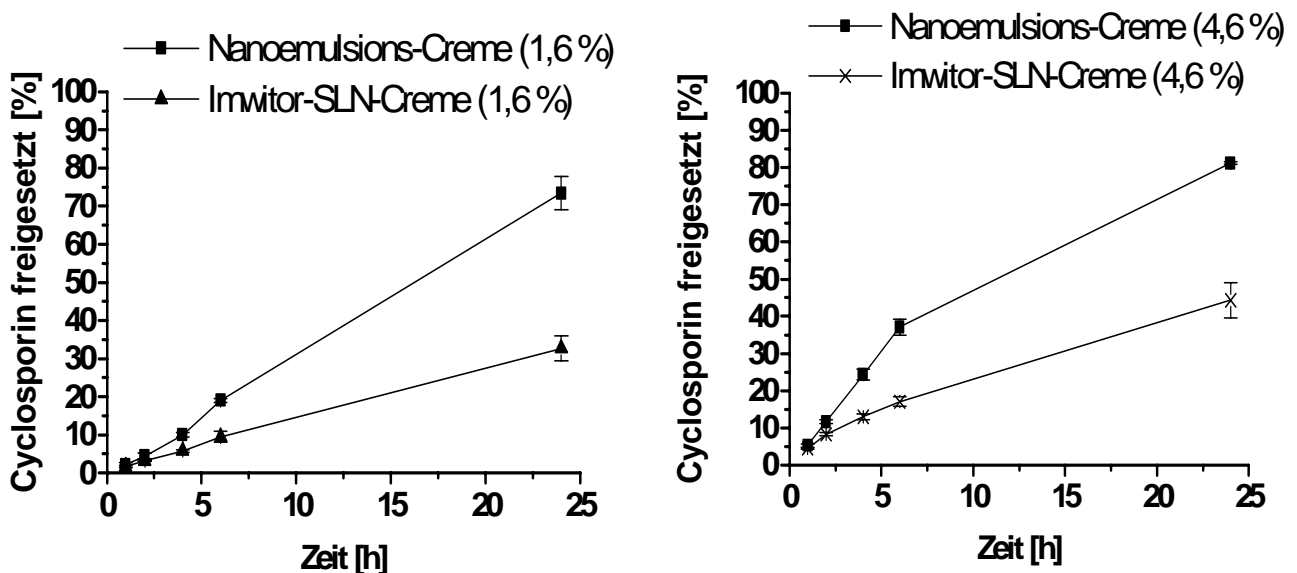


Abbildung 5-17: Freisetzung der Cyclosporin-Imwitor-SLN-haltigen Formulierungen ohne zusätzliches Cyclosporin A in der Grundlage (links) und mit annähernder Sättigung der Grundlage (rechts) jeweils im Vergleich zur entsprechenden Nanoemulsions-Formulierung

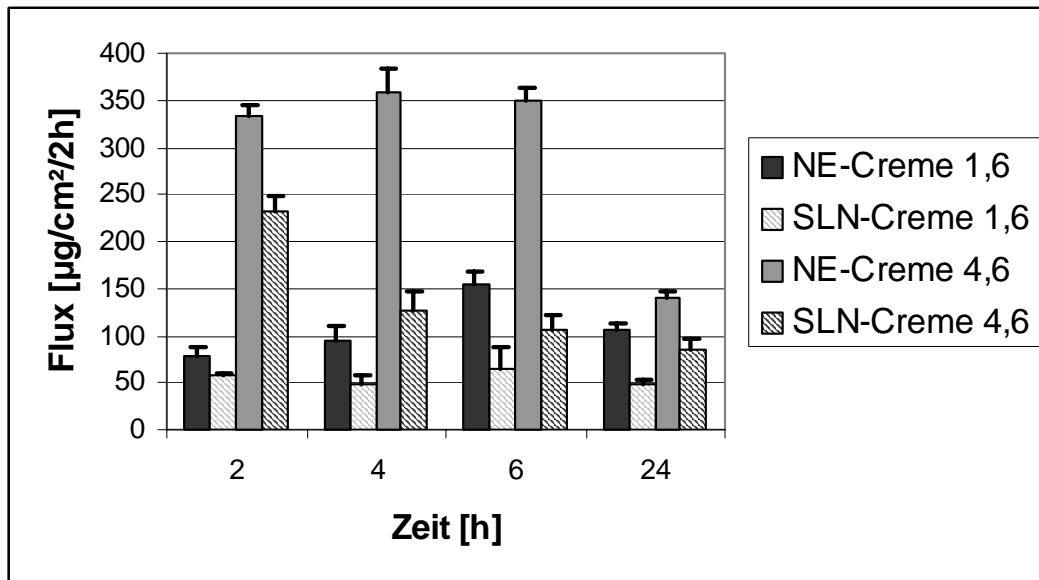


Abbildung 5-18: Cyclosporin A-Flux aus den gesättigten (4,6) und ungesättigten (1,6) Creme-Formulierungen in $\mu\text{g}/\text{cm}^2/2\text{h}$ nach 2, 4, 6, und 24 Stunden (NE = Nanoemulsion)

In Abhängigkeit vom Sättigungsgrad zeigten die Systeme ein unterschiedliches Freisetzungsprofil. In Abbildung 5-18 ist der Cyclosporin-Flux aus den einzelnen Formulierungen gegen die Zeit aufgetragen.

Ohne zusätzliche Beladung der Grundlage war der Flux aus der SLN-Creme (1,6 %) über den gesamten Zeitraum annähernd konstant, während der höchste Wert in der Nanoemulsions-Formulierung erst nach 6 Stunden erreicht wurde.

War die Grundlage durch weitere 3 % Arzneistoff gesättigt (entsprechend einer Zunahme der Arzneistoffkonzentration um den Faktor 2,875), war der Flux aus den Cremes (4,6 %) nach 2 Stunden jeweils um das ca. 4-fache erhöht. Dies kann damit begründet werden, daß zu Beginn der Freisetzung bereits eine Arzneistoffsättigung der Grundlage bestand und eine Umverteilung aus den Partikeln / Emulsionstropfen in die Grundlage sofort zu einer Erhöhung der thermodynamischen Aktivität des Arzneistoffes führte. Es wird darüber hinaus deutlich, daß der aus den eingearbeiteten Dispersionen stammende Arzneistoffanteil (Partikel oder Emulsionstropfen) einen sofortigen und starken Einfluß auf die Freisetzung hatte. Nach zwei Stunden wurde aus der nanoemulsionshaltigen Creme bereits eine Cyclosporinmenge von $210 \mu\text{g}$ freigesetzt, aus der SLN-haltigen dagegen nur $150 \mu\text{g}$. Auch im weiteren Verlauf zeigten sich deutliche Unterschiede. Während die Freisetzung aus der Emulsionsformulierung (NE-Creme 4,6 %) in den ersten 6 Stunden konstant ablief und erst anschließend eine Abnahme des Flux zu verzeichnen war, kam es durch Verwendung des festen Lipids Imwitor bereits nach 2 Stunden zu einer starken Abnahme des Flux (SLN-Creme 4,6 %).

Dies kann darauf zurückgeführt werden, daß die festen Lipidpartikel in der Creme mit zunehmender Wasserverdunstung eine Diffusionsbarriere für den Arzneistoff darstellen. Darüber hinaus ist die Löslichkeit von Cyclosporin in Imwitor geringfügig größer als in Octyldodecanol. Die Umverteilung und Freisetzung des Wirkstoffs wird folglich entsprechend geringer sein. Der aus der hochgesättigten Nanoemulsion in die Grundlage abgegebene Wirkstoff mit hoher thermodynamischer Aktivität, führt dagegen über einen längeren Zeitraum zu einem gesteigerten Arzneistoff-Flux.

Einarbeitung von SLN ergab folglich eine gegenüber der Nanoemulsion verzögerte Freisetzung. Eine Zunahme des Flux aufgrund von Modifikationsumwandlungen analog Jennings konnte nicht beobachtet werden, war jedoch anhand der kristallographischen Daten und der postulierten Struktur der Partikel auch nicht zu erwarten. Der in den Randbereichen der Partikel lokalisierte Arzneistoff diffundiert langsamer in und durch die Ölphase der Creme als der in der Nanoemulsion befindliche.

Auch die Freisetzung des in der Grundlage befindlichen Arzneistoffanteils wurde durch den Einfluß der festen SLN-Lipide (Filmbildung und Diffusionseinschränkung) zunehmend erschwert. Um eine grobe Quantifizierung dieses Prozesses zu ermöglichen, wurde die aus den Cremes ohne zusätzliche Beladung der Grundlage freigesetzte Arzneistoffmenge von den Werten der mit Cyclosporin A gesättigten abgezogen. Die ermittelten Differenzen stellten demzufolge den Arzneistoffanteil dar, der nicht aus den Dispersionen sondern nur aus der Grundlage stammte. Die Differenzen nach 6 Stunden betragen 450 µg für das Nanoemulsions-System und 200 µg für das SLN-haltige, d. h. es kam zu einer um mehr als 50 %igen Reduktion der zusätzlich freigesetzten Arzneistoffmenge.

Neben einer reduzierten Freisetzung aus der SLN-Formulierung durch eingeschränkte Diffusion kann zur Erklärung auch eine verstärkte Permeation aus der Nanoemulsionsformulierung herangezogen werden. Erwärmung der Creme in der Franz-Zelle auf ca. 32 °C führt zu einer Abnahme der Löslichkeit von Cyclosporin, wie durch die verstärkte Kristallbildung in den bei höheren Temperaturen gelagerten Proben belegt wurde. Die thermodynamische Aktivität des Arzneistoffes in der gesättigten Nanoemulsion nimmt weiter zu. Es kommt zu einer forcierten Freisetzung von Wirkstoff in die ebenfalls nahezu gesättigte Grundlage, die diesen wiederum verstärkt an das Rezeptormedium abgibt.

Auch im Fall der Nanoemulsion wäre demzufolge eine sich ausbildende Übersättigung des Systems nicht auszuschließen. Ob der postulierte Prozeß tatsächlich für die starke Arzneistofffreisetzung verantwortlich ist, sollte durch Vergleich mit dem Freisetzungsprofil einer Creme mit geringerer Arzneistoffbeladung der Dispersionen abgesichert werden.

5.4.1.2 SLN / NLC-Cremes mit 1 %iger Cyclosporin-Beladung der Partikeldispersion

Bei den eingearbeiteten Systemen handelt es sich um die bereits beschriebenen Formulierungen mit 15 % Lipidgehalt folgender genereller Zusammensetzung:

Cyclosporin A 1 %, Lipid oder Lipidgemisch 14 %, Poloxamer 188 2,5 %, Natriumchoolat 0,125 %, MilliQ-Wasser ad 100 %

Für die Herstellung von SLN wurden als Lipide Imwitor und Compritol verwendet, die Lipidphase der NLC setzte sich aus Compritol 10 % und Octyldodecanol 4 % zusammen, Die Nanoemulsion enthielt ausschließlich Octyldodecanol. Die NLC- und Nanoemulsions-Formulierungen wurden in Cremes mit und ohne Beladung der Grundlage eingearbeitet, die Endkonzentration der Systeme betrug folglich 3,4 % oder 0,4 %.

Als weiterer Vergleich wurde eine dispersionsfreie Creme hergestellt, die ebenfalls über einen Gehalt von 3,4 % Cyclosporin verfügte. Der Anteil der Lipidphase der Creme wurde entsprechend erhöht, die komplette Arzneistoffmenge wurde bei Herstellung der Creme in dieser Lipidphase gelöst.

Abbildung 5-19 enthält die Freisetzungsprofile der NLC-haltigen Cremeformulierungen im Vergleich zu den Nanoemulsionssystemen mit und ohne Beladung der Cremegrundlage.

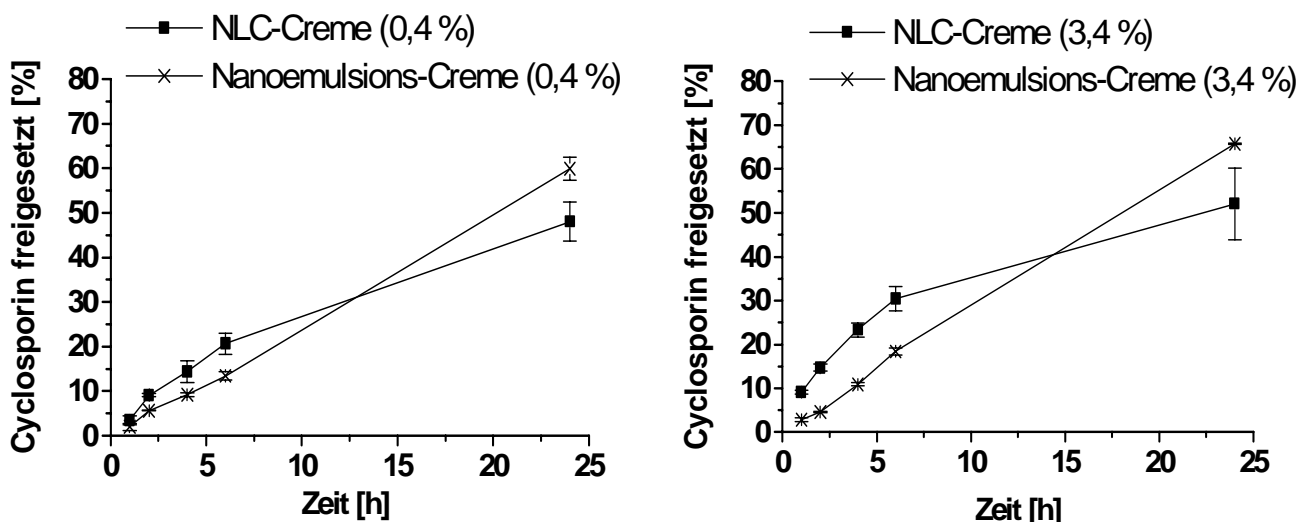


Abbildung 5-19: Freisetzung der NLC-haltigen Formulierungen ohne zusätzliches Cyclosporin A in der Grundlage (links) und mit annähernder Sättigung der Grundlage (rechts) jeweils im Vergleich zur entsprechenden Nanoemulsions-Formulierung

Es ist deutlich zu erkennen, daß hier - im Unterschied zu den entsprechenden SLN-Formulierungen – die partikelhaltigen Cremes den Emulsionssystemen deutlich überlegen sind.

In Abbildung 5-20 ist der Cyclosporin A-Flux aus den Formulierungen mit Grundlagenbeladung im Vergleich nach 2, 6, und 24 Stunden aufgetragen. Obwohl nur ca. 12 % der gesamten Arzneistoffmenge aus den entsprechenden Dispersionen stammen, war der Flux aus der NLC-Creme nach 2 Stunden etwa dreimal so hoch wie aus der Nanoemulsionscreme. Daraus ergab sich eine zu diesem Zeitpunkt freigesetzte Menge von 14,7 % (NLC-Creme) gegenüber 4,6 % aus der Nanoemulsionscreme.

Der ermittelte Flux von 315 $\mu\text{g} / \text{cm}^2 / 2\text{h}$ aus der 3,4 %igen NLC-Creme entsprach in etwa dem für die 4,6 %ige Nanoemulsionscreme aus Kapitel 5.4.1.1 nach 2 Stunden ermittelten Wert von 334 $\mu\text{g} / \text{cm}^2 / 2\text{h}$, obwohl diese ca. 30 % mehr Arzneistoff enthielt. Dem für die 4,6 %ige Imwitor-SLN-Creme erhaltenen Wert von 231 $\mu\text{g} / \text{cm}^2 / 2\text{h}$ war er sogar deutlich überlegen.

Die gemessenen Werte können leicht durch den Sättigungsgrad der eingearbeiteten Dispersionen erklärt werden. Wie bereits in Kapitel 4.2.6 für die reinen NLC diskutiert, ist mit der Anreicherung einer mit Cyclosporin A gesättigten Octyldodecanolphase im Außenbereich der Partikel zu rechnen. Die Konzentration entspricht hier folglich derjenigen der gesättigten Nanoemulsion. Die analoge Freisetzung der beiden Cremeformulierungen in den ersten zwei Stunden liegt darin begründet.

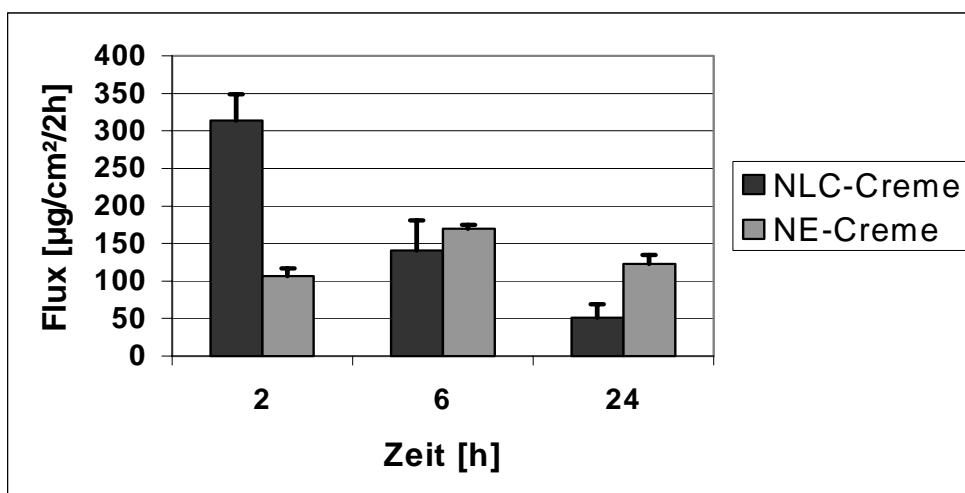


Abbildung 5-20: Cyclosporin A-Flux aus den gesättigten Creme-Formulierungen (3,4 %) in $\mu\text{g} / \text{cm}^2 / 2\text{h}$ nach 2, 6, und 24h (NE = Nanoemulsion)

Im NLC-System nimmt der Flux jedoch innerhalb der nächsten vier Stunden stark ab, da diese Formulierung im direkten Vergleich mit der hochkonzentrierten Nanoemulsion aus Kapitel 5.4.1.1 lediglich 25 % der Menge an arzneistoffhaltigem Octyldodecanol enthält. In der dort beschriebenen Nanoemulsionscreme stammten 35 % des gesamten Arzneistoffs aus der Nanoemulsion, während dieser Anteil im NLC-System lediglich 12 % beträgt. Ein direkter Vergleich der langfristig freigesetzten Mengen ist folglich nicht möglich.

Die Abnahme des Flux aus der NLC-Creme ist darüber hinaus durch die zunehmende Behinderung der Diffusion durch das feste Lipid (Filmbildung) zu erklären. Nach Abschluß des Experimentes bildeten alle partikelhaltigen Cremeformulierungen feste Filme, die sich mit Hilfe einer Pinzette von der Membran abheben ließen.

Das Freisetzungsprofil der Nanoemulsionscreme, deren Octyldodecanolfraktion nur mit 6,7 % beladen war und die in ihrer Zusammensetzung der NLC-Formulierung direkt vergleichbar war (beide 3,4 % Cyclosporin A bezogen auf die Gesamtformulierung), zeigte eine gänzlich veränderte Charakteristik. Die thermodynamische Aktivität des Arzneistoffes als treibende Kraft der Freisetzung war in der Nanoemulsion entsprechend reduziert, es kam zu einer nahezu kontinuierlichen Freisetzung des Arzneistoffs über den kompletten Beobachtungszeitraum (Abbildung 5-20). Insbesondere zu Beginn des Experimentes zeigte sie im Verhältnis zur 4,6 %igen, gesättigten Nanoemulsionsformulierung aus Kapitel 5.4.1.1 einen wesentlich geringeren Arzneistoff-Flux. Nach Standardisierung der nach 2 Stunden ermittelten Werte konnte für die 4,6 %ige Nanoemulsionscreme eine Steigerung des Flux um den Faktor 2,3 gegenüber der 3,4 %igen ermittelt werden. Diese überproportionale Steigerung könnte auf eine eintretende Übersättigung im System zurückgeführt werden. Eine Quantifizierung des Sättigungsgrades war jedoch aufgrund der Komplexität des sich in der Franz-Zelle verändernden, stark temperaturabhängigen Systems nicht möglich.

Erhöhung der Nanoemulsionsbeladung in den Cremes ohne zusätzlichen Arzneistoff in der Grundlage führte dagegen nur zu einer dem Gesamtgehalt proportionalen Steigerung des Arzneistoff-Flux in den ersten Stunden, so daß ein Einfluß permeationsfördernder Übersättigungsphänomene im Fall der Cremes mit zusätzlichem Cyclosporin A in der Grundlage wahrscheinlich ist.

Für die Cremes mit 1 %igen Dispersionen konnten ohne zusätzliche Beladung der Cremegrundlage ähnliche Freisetzungsprofile ermittelt werden wie mit weiterer Beladung. Während der Flux aus der NLC-Creme abnahm, blieb er in der Nanoemulsionscreme konstant. Die quantitativen Unterschiede waren jedoch wesentlich geringer (Abbildung 5-19, links).

Das Freisetzungsprofil der untersuchten topischen Systeme wurde hier demzufolge primär durch die eingearbeitete Dispersion und weniger durch den Arzneistoff der Grundlage bestimmt.

In weiteren Experimenten wurde die Freisetzung der NLC-Creme mit derjenigen der analog zusammengesetzten SLN-Cremes (Imwitor und Compritol) und der partikelfreien Creme verglichen. Im Vergleich der flüssigen Lipidpartikel-Dispersionen hatte die Compritol-SLN-Formulierung die höchste Freisetzungsrates gezeigt, was auf die geringe Beladungskapazität dieses Lipids zurückgeführt wurde. Abbildung 5-21 zeigt die ermittelten Freisetzungskurven der entsprechenden topischen Formulierungen in Prozent des an diesem Tag bestimmten Gesamtgehaltes gegen die Zeit im Vergleich. Den Kurven ist deutlich zu entnehmen, daß lediglich die NLC-Formulierung in den ersten Stunden über eine erhöhte thermodynamische Aktivität des Arzneistoffes mit höherer Freisetzungsrates verfügt. Sowohl Einarbeitung von SLN als auch Lösen des gesamten Arzneistoffes in der Lipidphase der Cremegrundlage führte zu einem ähnlichen Freisetzungsprofil wie Einarbeitung der 1 %igen Nanoemulsion mit relativ konstanter Wirkstofffreisetzung. Es stellt sich die Frage, weshalb die flüssigen SLN-Dispersionen eine wesentlich höhere Freisetzungsrates zeigen als die entsprechende NLC-Formulierung, während es nach Einarbeitung in die Cremes zu einer im Vergleich verminderten Freisetzung kommt.

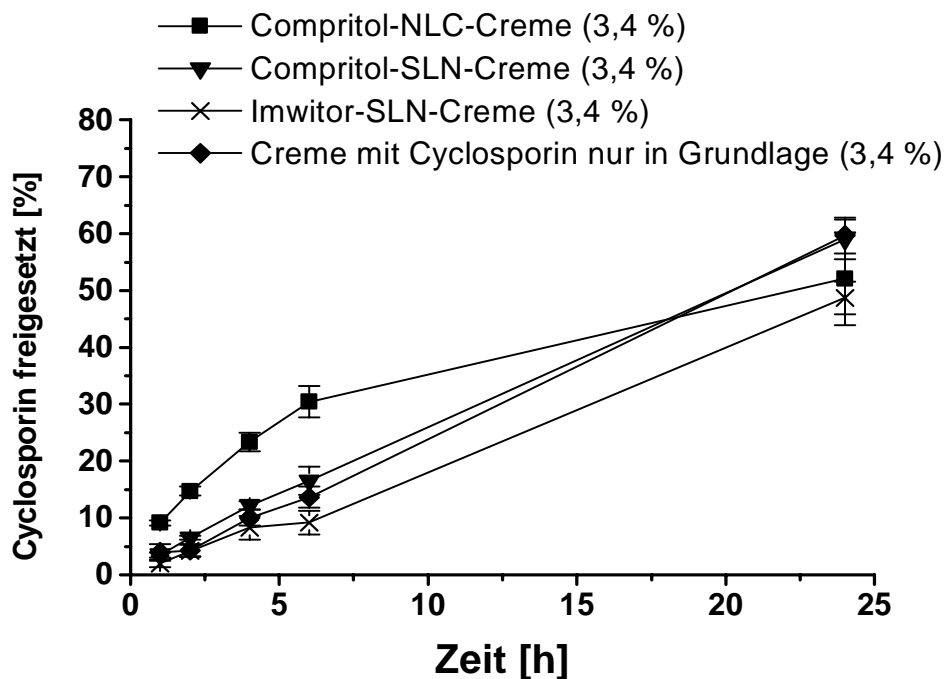


Abbildung 5-21: Cyclosporin A-Freisetzung aus den 3,4 %igen, topischen Formulierungen im Vergleich (die Cremes mit eingearbeiteten NLC oder SLN enthalten jeweils 11,8 % des Arzneistoffs in den Partikeln)

Als vorrangige Begründung können die Ergebnisse der Trocknungsstudien herangezogen werden. Die Streukurven der SLN-haltigen Cremeproben hatten gezeigt, daß es bereits nach einer Stunde zu starker Cyclosporin A-Kristallbildung im System kommt, d. h. die aus diesen Partikeln freigesetzte Arzneistoffmenge kann innerhalb der Cremeformulierung nicht stabilisiert werden.

Der in der Ölphase der NLC befindliche Arzneistoff kristallisiert dagegen über den Trocknungszeitraum nicht entsprechend aus. Der hohe Sättigungsgrad bleibt im Cremesystem erhalten und führt zu einem gesteigerten Flux innerhalb der ersten Stunden.

Die langfristig höchste Freisetzungsrates ließ sich - wie bereits erwähnt - durch Einarbeitung einer gesättigten Nanoemulsion (20 % Arzneistoff bezogen auf das flüssige Lipid Octyldodecanol, insgesamt 4,6 % Cyclosporin A in der Creme) erzielen. Als Nachteil dieser Emulsionscreme ist jedoch ihre geringe Lagerstabilität zu nennen. Selbst durch gekühlte Aufbewahrung konnte hier eine Arzneistoffkristallisation nicht vermieden werden. Die 3,4 %ige NLC-Formulierung, mit ähnlich hoher Arzneistoffbeladung der Octyldodecanolphase innerhalb der Partikel, wies dagegen bei 4 °C eine gute Lagerstabilität auf. Die teilweise feste Struktur der NLC scheint demzufolge ein Auskristallisieren von Cyclosporin A zu verhindern. Eine vollständige Trennung der arzneistoffbeladenen NLC-Ölphase und der Compritolphase während der Herstellung und Lagerung ist daher nicht anzunehmen.

Ob die erst bei Trocknung einsetzende Modifikationsumwandlung des Compritol und die damit einhergehende Struktur- und Formveränderung der Partikel einen Einfluß auf die Freisetzungsrates hatten, konnte nicht eindeutig geklärt werden. Da jedoch anhand des gemessenen Flux davon ausgegangen werden muß, daß die Ölbeladung analog der hochkonzentrierten Nanoemulsion bei ~20 % liegt, wäre in den NLC-Partikeln nahezu der gesamte Arzneistoff in der Ölphase lokalisiert. Der Einfluß des festen Lipids auf die Freisetzungsrates kann folglich sekundär sein. Es ist jedoch denkbar, daß sich die NLC-Ölphase erst durch die mit der Transformation einhergehende Formveränderung des festen Lipidkerns von sphärisch zu polyedrisch vollständig abscheidet, eine Destabilisierung der Partikelgrenzfläche auftritt und so der Übergang des Arzneistoffes in die Grundlage durch direkten Kontakt der beiden Ölphasen erleichtert und gefördert wird.

Schlußfolgernd läßt sich jedoch an dieser Stelle festhalten, daß als Hauptvorteil der Herstellung von NLC mit kombiniertem flüssigen und festen Lipidanteil eher die Stabilisierung einer hochkonzentrierten Ölphase während der Lagerung zu nennen ist als die Modulation der Freisetzung durch auftretende Modifikationsumwandlung des Lipids.

5.4.2 Einfluß des Sättigungsgrades der Cremegrundlage auf die Arzneistofffreisetzung von NLC-Cremes

Abschließend sollte der Einfluß des Sättigungsgrades der Cremegrundlage auf die Freisetzung überprüft werden. Daß das beobachtete Freisetzungprofil hauptsächlich von der eingearbeiteten Dispersion abhängt, konnte bereits im vorangegangenen Kapitel festgestellt werden. Es wurde daher zusätzlich zu den Cremes ohne zusätzlichen Arzneistoff (0,4 %) und mit Sättigung der Grundlage (3,4 %) zwei weitere Cremes hergestellt. Diese enthielten 1,9 % und 4,4 % Cyclosporin, entsprechend einer Grundlagenbeladung deutlich unter Sättigung und mit Übersättigung.

Die erhaltenen Freisetzungskurven sind Abbildung 5-22 zu entnehmen. Es wird deutlich, daß die Freisetzungprofile einen ähnlichen Verlauf zeigen. Der Flux nimmt jeweils im Verlauf des Experimentes ab. Die absoluten Werte des gemessenen Flux sind in Abbildung 5-23 dargestellt.

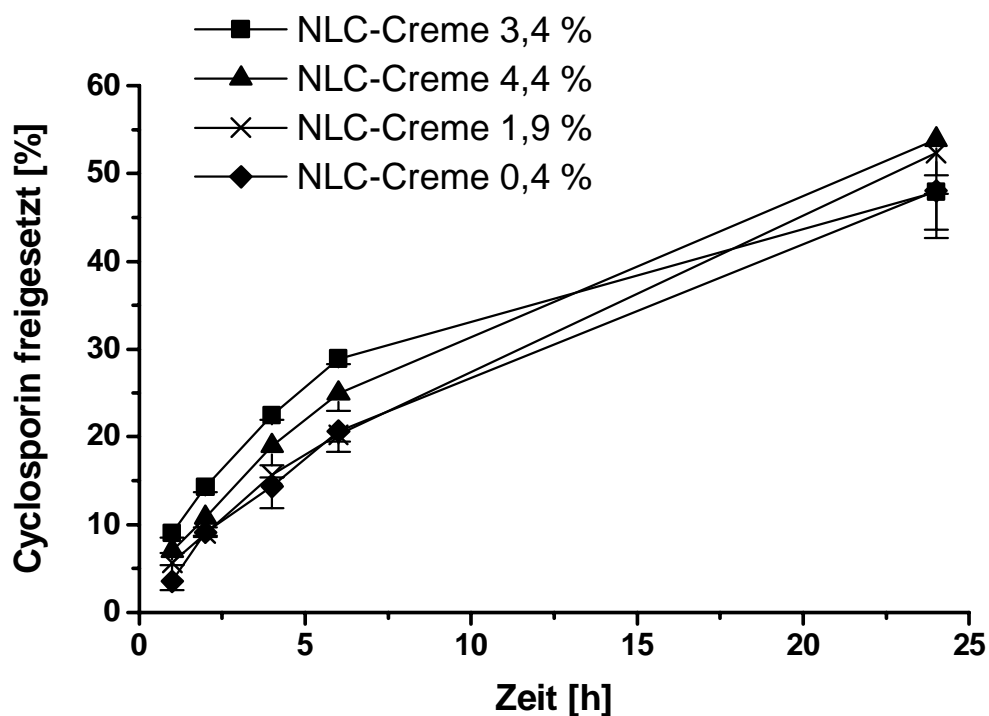


Abbildung 5-22: Cyclosporin A-Freisetzung aus vier NLC-Cremes mit unterschiedlichem Sättigungsgrad der Cremegrundlage. Jeweils 0,4 % des angegebenen Arzneistoff-Gesamtgehalts stammen aus der Partikeldispersion, die übrigen 1,5 %, 3 % oder 4 % wurden in die Grundlage eingearbeitet

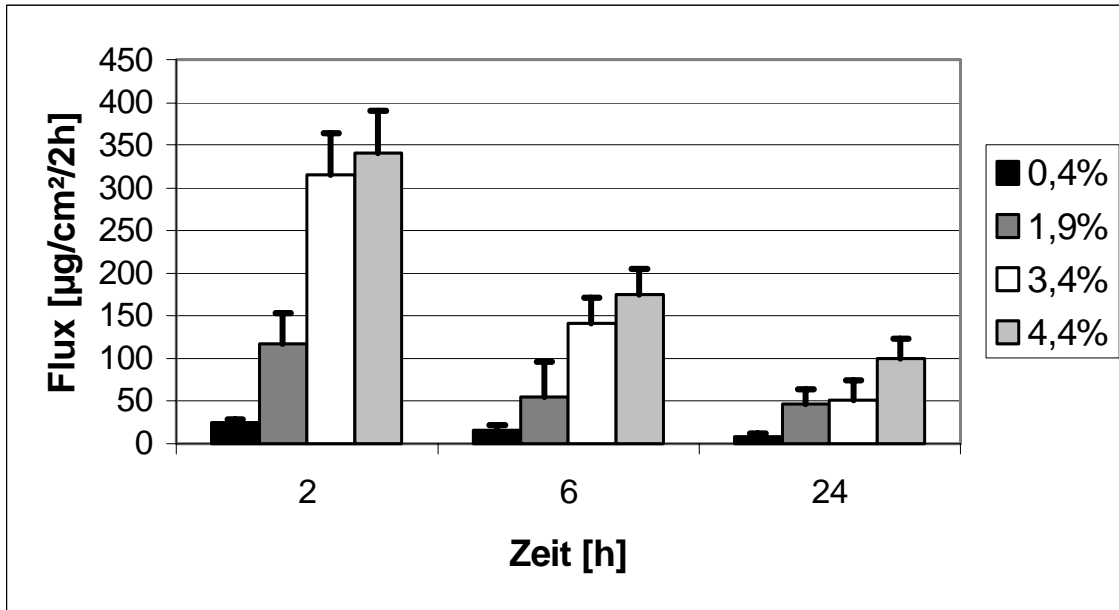


Abbildung 5-23: Cyclosporin A-Flux aus vier NLC-Cremes mit unterschiedlichem Sättigungsgrad der Cremegrundlage. Jeweils 0,4 % des angegebenen Arzneistoff-Gesamtgehalts stammen aus der Partikeldispersion, die übrigen 1,5 %, 3 % oder 4 % wurden in die Grundlage eingearbeitet

Nach Standardisierung der 2-Stunden-Werte der 0,4, 1,9, 3,4, und 4,4 %igen Cremes erhielt man mit ansteigender Konzentration ein Verhältnis des Flux von 1 : 1 : 1,5 : 1,25. Nach 24 Stunden setzte die nicht gesättigte Creme (0,4 %) dagegen nach Standardisierung am stärksten frei.

Ansteigende Beladung der Cremegrundlage mit Arzneistoff führte demzufolge erst zu einer linearen, gehaltsabhängigen Zunahme des Flux. Durch Sättigung der Cremegrundlage konnte jedoch eine überproportionale Steigerung des Cyclosporinflux erzielt werden, die auf einer erhöhten thermodynamischen Aktivität des Wirkstoffs beruhte. Diese könnte wiederum durch zeitweilige Übersättigung des Systems erklärt werden.

Bei weiterer Erhöhung der Cyclosporin-Konzentration in der Grundlage, kam es dagegen im Verhältnis wieder zum Absinken der maximalen Freisetzungsrates. Im polarisierten Licht waren in dieser Creme bereits einen Tag nach der Herstellung erste Arzneistoffkristalle detektierbar. Es ist folglich davon auszugehen, daß auch in der Franz-Zelle Kristallbildung eintritt, was mit einer Abnahme der thermodynamischen Aktivität des Arzneistoffs im System verbunden ist. Eine polarisationsmikroskopische Detektion der Arzneistoffkristalle im entstandenen Film war aufgrund der dominierenden, doppelbrechenden Lipidaggregate nicht möglich.

5.5 Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse

Sowohl durch Einarbeitung arzneistoffhaltiger SLN- als auch NLC-Dispersionen in eine kommerzielle O/W-Grundlage konnten lagerstabile, topische Formulierungen mit unterschiedlichem Sättigungsgrad hergestellt werden. In allen Systemen blieb die individuelle und kristalline Form der Nanopartikel erhalten. Im Vergleich zu den in Kapitel 4 beschriebenen Ausgangsdispersionen konnte durch Einarbeitung in die Cremegrundlage eine zusätzliche Stabilisierung des Arzneistoffs erreicht werden. Die Lagertemperatur erwies sich dabei als entscheidender Faktor für eine Unterbindung der Arzneistoffkristallisation in den Systemen. Bei gekühlter Aufbewahrung konnten die Formulierungen über mehrere Monate bis hin zu mehr als einem Jahr stabil gehalten werden.

Eine direkte Kopplung des kristallinen Status der Partikel mit dem Auftreten von Kristallen war nicht möglich. Für den Erhalt der individuellen Partikelstruktur und zur Verhinderung von Partikelaggregation in den Cremes war der Kristallstatus dagegen von Bedeutung. Doppelbrechende Lipidaggregate konnten in den Imwitor-SLN-Systemen erst nach Umwandlung der α in die β_1 -Modifikation nachgewiesen werden. Durch Einarbeitung in die Cremegrundlage gelang es, die polymorphe Transformation von Imwitor im Vergleich zur reinen SLN-Dispersion stark zu verzögern. Das Vorhandensein von Arzneistoffmolekülen in den Partikeln konnte auch hier den Prozeß weiter verlangsamen, was auf eine zusätzliche Störung des Kristallgitters zurückgeführt wurde.

Für die an sich schon sehr gut lagerstabilen NLC-Dispersionen konnte nach Einarbeitung in die Cremes lediglich bei 40 °C-Lagerung eine Verzögerung der Umwandlung durch die Grundlage ermittelt werden.

Während die auf Compritol basierenden Nanopartikel in der Creme bei erhöhter Temperatur eine Zunahme der Kristallinität und eine Umwandlung in eine reine β -Modifikation zeigten, lösten sich die auf Imwitor basierenden SLN nach anfänglicher Bildung unterschiedlich kristalliner Bereiche mit zunehmendem Ausmaß in der Ölphase der Grundlage.

Durch Untersuchung des Trocknungsverhaltens der Cremesysteme konnten nur schwer Aussagen über potentiell ablaufende polymorphe Umwandlungen getroffen werden, da es zu Störungen durch die Cremegrundlage kam. Es konnten jedoch Unterschiede in Bezug auf das Ausmaß der Arzneistoffkristallisation festgestellt werden. Während die hauptsächlich mit Poloxamer stabilisierten SLN-haltigen Formulierungen bereits in den ersten Stunden der Trocknung bei 32 °C starke Arzneistoffreflexe in den gemessenen Streumustern aufwiesen, konnte dies durch den Ölzusatz innerhalb der NLC vermieden werden.

Dies ging einher mit einem wesentlich besseren Stabilisierungsvermögen für den Arzneistoff während der Lagerung.

Die Untersuchung des Freisetungsverhaltens der unterschiedlich zusammengesetzten Cremesysteme in Franz-Zellen ließ Schlußfolgerungen über Sättigungsgrad und Aufbau der Formulierungen zu. Nach Einarbeitung hochbeladener Nanoemulsionen und NLC konnte der Arzneistoffflux innerhalb der ersten Stunden im Vergleich zu SLN-haltigen und herkömmlichen Cremes gleicher Konzentration überproportional gesteigert werden. Eine Sättigung der Cremegrundlage mit Arzneistoff war dafür eine Grundvoraussetzung. Der für die beiden Systeme ermittelte, fast identische hohe Flux-Wert in den ersten Stunden wurde auf einen analogen Sättigungsgrad der beiden Octyldodecanolphasen zurückgeführt. In der Nanoemulsion betrug die Beladung 20 % bezogen auf die Ölphase. Unter Annahme einer hauptsächlichen Lokalisation der Cyclosporinmoleküle in der Ölfraction der NLC-Partikel errechnet sich auch für diese eine Beladung von maximal 20 %. Durch die gemessene Freisetzung konnte demzufolge der postulierte NLC-Partikelbau weiter bestätigt werden.

Die für Nanoemulsions- und NLC-haltige Cremes beobachtete, überproportionale Steigerung des Arzneistoff-Flux konnte durch Einarbeitung eines gesättigten Compritol-SLN-Systems nicht erzielt werden. Dies wurde auf die in dieser Formulierung auftretende Arzneistoffkristallisation während der Trocknungsphase zurückgeführt.

Zur Stabilisierung des gesättigten Cremesystems während Lagerung und Freisetzung scheint demzufolge ein Ölanteil in den Partikeln erforderlich zu sein. Einarbeitung der reinen Nanoemulsionsformulierung mit hoher Beladung führte zwar zu einem langanhaltenden hohen Arzneistoff-Flux, während der Lagerung konnte das Auskristallisieren von Cyclosporin A in diesem metastabilen System dagegen auch unter Kühlung nicht verhindert werden.

Da eine entsprechende Kristallisation im NLC-System nicht beobachtet werden konnte, wurde eine vollständige Trennung der beiden Lipidphasen der NLC in der Creme ausgeschlossen. Der Anstieg des Schmelzpeakmaximums der NLC-Formulierung nach Einarbeitung in die Creme legt jedoch nahe, daß die Trennung der beiden Phasen durch den Herstellungsprozeß zumindest gefördert wird. Erst durch Wasserverdunstung und leichte Erwärmung kommt es dagegen zur vollständigen Umstrukturierung und Destabilisierung des Partikels. Die Freisetzung des Wirkstoffs aus der Ölphase der NLC kann analog der Freisetzung aus der eingearbeiteten Nanoemulsion erfolgen.

Zusammenfassend läßt sich festhalten, daß es sowohl durch Einarbeitung von Nanoemulsionen als auch von NLC möglich war, hochgesättigte Systeme mit gegenüber herkömmlichen Cremes gesteigerter Cyclosporin A-Freisetzungsrates herzustellen.

Aufgrund der Komplexität der sich in der Franz-Zelle verändernden Systeme konnte ein potentieller Übersättigungsgrad dagegen nicht exakt bestimmt werden. Die in den ersten Stunden beobachtete überproportionale Steigerung der Arzneistoffpermeation durch die Membran legt jedoch eine zeitweilige Übersättigung nahe.

Eine auf Polymorphie beruhende Steigerung des Arzneistoffflux während der Freisetzung konnte auch für die partikelhaltigen Cremeformulierungen nicht beobachtet werden. Der einleitend diskutierte getriggerte Freisetzungsmechanismus zur Erzeugung übersättigter topischer Systeme mußte daher für die untersuchte Cyclosporin A-haltige Formulierung modifiziert werden: Bei Applikation der Probe wird die Freisetzung aus dem lagerstabilen NLC-System nicht primär dadurch gesteigert, daß Arzneistoff aus dem Inneren der zuvor ungeordneten Matrix langsam nach außen gedrängt wird, sondern eher dadurch, daß die mit der Modifikationsumwandlung einhergehende Formveränderung des festen Lipidkerns eine weitere Abscheidung der im Randbereich lokalisierten, gesättigten Ölphase bewirkt. Dieser Prozeß erfolgt wesentlich schneller als die von Jennings beschriebene Verdrängung aus dem Inneren der Partikel, so daß die NLC-Creme bereits nach einer Stunde eine wesentlich höhere Freisetzungsrates zeigt als die entsprechende Nanoemulsionsformulierung.

Während die gesättigten Nanoemulsionssysteme selbst unter Kühlung nur über kurze Zeit stabil gehalten werden konnten, war durch den Einfluß der festen Glyceride innerhalb der NLC eine langfristige Stabilisierung des gelösten Arzneistoffs möglich.

Eine weiterführende Untersuchung der Systeme *in vivo* erscheint aufgrund der Datenlage sinnvoll. Insbesondere stellt sich die Frage, ob auch die Hautpenetration gegenüber herkömmlichen Cremes gesteigert werden kann, und somit eine *in vitro* / *in vivo*-Korrelation möglich ist.