

2 Transdermale Applikation von Protergurid

2.1 Eigenschaften von Protergurid

2.1.1 Physiko-chemische Eigenschaften von Protergurid

Es handelt sich bei Protergurid, 1,1-Diethyl-3-(6-n-propyl-8 α -ergoliny)-harnstoff, um ein 8 α -Aminoergolinderivat (Abbildung 10). Aufgrund der tertiären Aminfunktion in Position 6 des Ergolingrundgerüsts weist die Verbindung einen basischen Charakter auf und zeigt dementsprechend bei sauren pH-Werten durch Protonierung eine verbesserte Löslichkeit. Der pK_s -Wert, bestimmt nach der Methode von Zimmermann (1983), basierend auf der pH-abhängigen Löslichkeit, betrug 7,8. In Phosphatpuffer bei pH 7,4 war die Löslichkeit des Wirkstoffs mit 2,6 mg/100 mL ausgesprochen gering. Um dennoch eine ausreichende Löslichkeit im Rezeptormedium bei in vitro Hautpermeationsexperimenten zu erzielen, wurden dem Phosphatpuffer pH 7,4 Polyethylenglykol 400 (PEG 400, 20% (m/V)) und 2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin (HPCD, 2% (m/V)) zugesetzt. In polaren organischen Lösungsmitteln wie Aceton oder 2-Propanol ist Protergurid hingegen gut löslich.

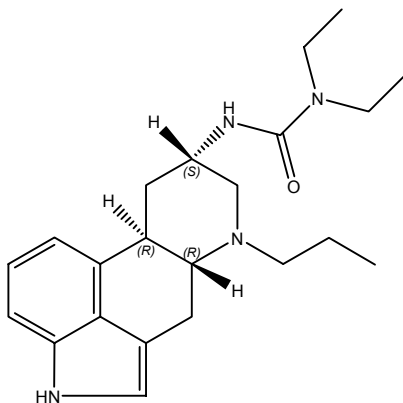


Abbildung 10: Strukturformel von Protergurid.

Der dekadische Logarithmus des Verteilungskoeffizienten ($\log P$) von Protergurid in n-Octanol/Wasser (Phosphatpuffer pH 7) beträgt 1,39. Dieser ist eine essentielle Größe,

welche unmittelbar Einfluss auf das Permeationsverhalten der Substanz nimmt und zwischen 1 und 3 liegen sollte (Naik et al., 2000; siehe auch Kapitel 1.3.7). Tabelle 3 fasst die wichtigsten physiko-chemischen Daten von Protergurid vergleichend mit für transdermal zu applizierenden Arzneistoffen, optimalen Eigenschaften zusammen.

Tabelle 3: Physiko-chemische Eigenschaften von Protergurid und Richtdaten für transdermale Kandidaten.

Parameter	Protergurid	Erstrebenswerter Richtwert (nach Naik et al., 2000)
Summenformel	C ₂₂ H ₃₂ N ₄ O	---
Molmasse	368 g/mol	< 500 g/mol
logP (n-Octanol/Wasser)	1,39 (pH 7,4)	1-3
Schmelzpunkt	114 °C	< 200 °C
Tägliche Dosis	< 0,25 mg ^{a)}	< 10 mg
pH einer gesättigten, wässrigen Lösung	7,1	5 - 9
Löslichkeit in Wasser	2,6 mg/100mL (pH 7,4)	100 mg/100mL
Löslichkeit in 2-Propanol ^{b)}	22,5 g/100mL	---
Löslichkeit in Phosphatpuffer mit Zusatz von 20% (m/V) PEG 400 und 2% (m/V) HPCD ^{b)}	32,6 mg/100mL	---

^{a)} Geschätzte orale Gesamtdosis für 24 Stunden bei Morbus Parkinson.

^{b)} näherungsweise bestimmt.

Hertzsch (1984) zeigte, dass Protergurid nach oraler Verabreichung von 50 µg oder nach 10 µg i.v. bei gesunden Probanden deutliche dopaminerge Wirkungen hervorrief. Die maximalen Plasmakonzentrationen nach oraler Applikation lagen bei etwa 50 bis 60 pg/mL. Diese starke Wirkung an Dopaminrezeptoren konnte ebenfalls an Nagern und an mit MPTP (1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin) behandelten Affen in vivo, als auch durch Rezeptorbindungsstudien am menschlichen Putamen nachgewiesen werden (Kehr, et al., 1983; Löschmann et al., 1990; Riederer, 1986; Wachtel, 1983; Wachtel et al., 1984), wobei sich Protergurid als potenter als Lisurid und mindestens ebenso potent sowie länger wirksam als Pergolid zeigte. Trotz seiner terminalen Halbwertszeit von lediglich zwei Stunden vermag Protergurid die Prolaktinspiegel bei einer Dosis von 50 µg p.o. langanhaltend für mindestens sechs bis zu zehn Stunden zu senken (Hertzsch, 1984).

Aufgrund der stark schwankenden oralen Bioverfügbarkeit und der Möglichkeit einer kontinuierlichen dopaminergen Stimulation basierend auf konstanten Plasmaspiegeln stellt die Verabreichung von Protergurid auf der transdermalen Route eine attraktive Alternative dar, sofern therapeutisch wirksame Plasmakonzentrationen erzielt werden können.

2.1.2 Kurzzeitstabilität

Um einen Eindruck der Stabilität von Protergurid in Lösung zu erhalten, wurde der Wirkstoff in unterschiedlichen Lösungsmitteln gelöst und durch Vergleich von Gehaltsbestimmungen unmittelbar nach Herstellung der Lösungen und nach einer Woche die Stabilität beurteilt. Abbildung 11 zeigt die Ergebnisse nach einer Woche Lagerung von Lösungen von Protergurid in 2-Propanol, Aceton und 0,1 N Salzsäure unter unterschiedlichen Lagerbedingungen.

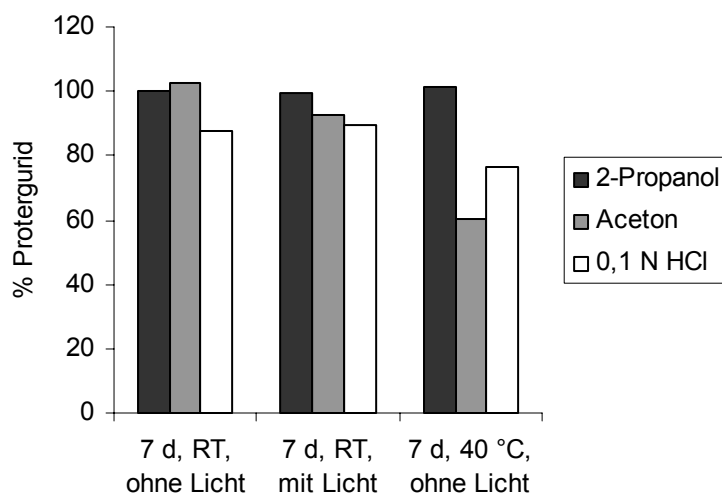


Abbildung 11: Stabilität von Protergurid in unterschiedlichen Lösungsmitteln nach Lagerung über eine Woche.

Während der Gehalt an Protergurid in den polaren, organischen Lösungsmitteln 2-Propanol und Aceton bei Lagerung bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss unverändert blieb, erfolgte in 0,1 N Salzsäure eine Reduktion des Gehaltes um über 10% aufgrund einer Zersetzung des Wirkstoffs. Wurde die Lösung von Protergurid in 2-Propanol während der Lagerungsperiode den schwankenden Lichtverhältnissen im Labor ausgesetzt oder diese

Lösung unter Lichtausschluss im Trockenschrank bei 40 °C gelagert, so konnte ebenfalls keine Abnahme des Gehaltes festgestellt werden. Eine Zufuhr von Licht oder eine Erhöhung der Lagertemperatur beschleunigte jedoch den Wirkstoffabbau in der Lösung von Protergurid in Aceton. Eine weitere Gehaltsabnahme konnte auch beobachtet werden, wenn die salzsaure Lösung bei 40 °C unter Lichtausschluss gelagert wurde. 2-Propanol gewährleistete demzufolge die Stabilität von Protergurid in Lösung über mindestens eine Woche unter den untersuchten Lagerbedingungen.

2.2 Matrix-Transdermalsysteme auf Basis unterschiedlicher Hauthaftkleber

2.2.1 Hautpermeation

Prinzipiell stehen zur Herstellung von Transdermalsystemen drei Gruppen von Hauthaftklebern zur Verfügung: Polyisobutylene, Silikone und Polyacrylate (siehe auch Kapitel 1.3.6). Aus jeder Gruppe wurde mindestens ein Kleber ausgewählt. Das Polyisobutylene Oppanol[®] B 15 SFN (BASF, Ludwigshafen am Rhein, Deutschland, im folgenden: Oppanol[®]) ist ein in polaren, organischen Lösungsmitteln wie Ethanol oder Aceton unlösliches, weichharziges Polymer (Kundeninformation Oppanol[®] Stand 1984, BASF). Für die Herstellung von Transdermalsystemen nach dem „Solvent Evaporation“-Verfahren wurde das Polymer in n-Hexan unter Rühren gelöst. Die lipophilen Polymere Oppanol[®] und Bio-PSA[®] erwiesen sich als inkompatibel mit Aceton oder niedermolekularen Alkoholen. Um dennoch eine ausreichende Löslichkeit des Wirkstoffes während des Herstellungsprozesses gewährleisten, wurde der Wirkstoff separat in Dichlormethan gelöst und in einem nächsten Schritt der Polymer-Lösung zugeführt. Dichlormethan ist toxikologisch nicht unbedenklich und wurde hier aus einem rein experimentellen Aspekt eingesetzt. Bei einem Einsatz als Prozesslösungsmittel bei der Arzneimittelherstellung müssen die engen Grenzen bezüglich Restlösungsmittelgehalt beachtet werden. Aus der Gruppe der Silikone wurde der aminkompatible Bio-PSA[®] 7-4202 Hauthaftkleber (Dow Corning, Midland, USA, im folgenden: Bio-PSA[®]) ausgewählt. Er wurde als Lösung in Ethylacetat bezogen. Aus der Gruppe der Polyacrylate wurde zum einen das ebenfalls in Ethylacetat gelöste Polyacrylat-

Vinylacetat-Copolymer Gelva[®] 7883 Multipolymer solution (Solutia Inc., St. Louis, USA, im folgenden: Gelva[®]) und zum anderen das basisch substituierte Spezialacrylat Eudragit[®] E 100 (Röhm GmbH, Darmstadt, Deutschland, im folgenden: Eudragit[®]) verwendet. Da reine Eudragit[®]-Matrizes sehr spröde Eigenschaften aufweisen, wurden dem Polymer Zusätze von Dibutylsebacat, welches als Weichmacher fungiert und Bernsteinsäure, welches durch ionische Wechselwirkung das Polyacrylat über dessen basische funktionelle Gruppen quervernetzt und somit den inneren Zusammenhalt der Matrix („cohesive strength“) fördert, zugegeben. Die Struktur von Eudragit[®] ist in Abbildung 12 wiedergegeben. Die Klebstoffbasis setzte sich in diesem Fall aus 65% Eudragit[®], 29,2% Dibutylsebacat und 5,8% Bernsteinsäure zusammen. Das feste Eudragit[®] wurde in einer Mischung aus Aceton, 2-Propanol und Ethanol (60% / 6,6% / 33,4% (m/m)), welche die vorsuspendierte Bernsteinsäure enthielt, gelöst. Anschließend wurde das Dibutylsebacat unter Rühren zugegeben.

Um die Gefahr einer Rekristallisation des Arzneistoffs in den fertigen Matrizes zu minimieren, wurden Acrylat-basierte Pflaster auch mit 10% (m/m) Polyvidon 25 (im folgenden PVP), dessen Wirkung als Kristallisationsinhibitor bereits beschrieben wurde, formuliert (Kim und Choi, 2002; Ma et al., 1996). Die lipophilen Polymere Bio-PSA[®] und Oppanol[®] zeigten sich als nicht-kompatibel mit dem hydrophilen PVP, so dass Transdermalsysteme auf deren Basis ausschließlich ohne PVP-Zusatz hergestellt wurden.

Nach Untersuchung der wirkstoffhaltigen, flüssigen Klebstofflösungen mittels Polarisationsmikroskopie, um die Anwesenheit von Wirkstoffkristallen auszuschließen, wurden auf Basis dieser vier Hauthaftkleber mit Hilfe des „Solvent Evaporation“-Verfahrens „drug in adhesive“-Matrix-Transdermalsysteme mit einem Wirkstoffgehalt von 3% (m/m) hergestellt. Als Schutzschicht (Backing) diente ein Polyethylen-Film (CoTran[®] 9720, 3M, St. Paul, USA) und als Abziehschicht (Release liner) eine mit Fluorpolymer beschichtete Polyesterfolie (ScotchPak[®] 1022, 3M, St. Paul, USA). Das Matrixgewicht wurde durch Adjustieren der Raketelhöhe, welche die Beschichtungsdicke reguliert, auf etwa 50 mg/10 cm² eingestellt.

Alle Pflaster wiesen eine homogene Matrix auf. Die Anwesenheit von Wirkstoffkristallen konnte unmittelbar nach der Herstellung polarisationsmikroskopisch ausgeschlossen werden. Aus dem fertigen Laminat wurden Pflaster mit einem Durchmesser von 3,6 cm für

Gehaltsbestimmungen und weitere polarisationsmikroskopische Untersuchungen nach Lagerung und von 1,2 cm für in vitro Permeationsversuche durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus ausgestanzt. Tabelle 4 zeigt zu jeder Formulierung den experimentell bestimmten Gehalt an Protergurid sowie die entsprechenden Matrixgewichte.

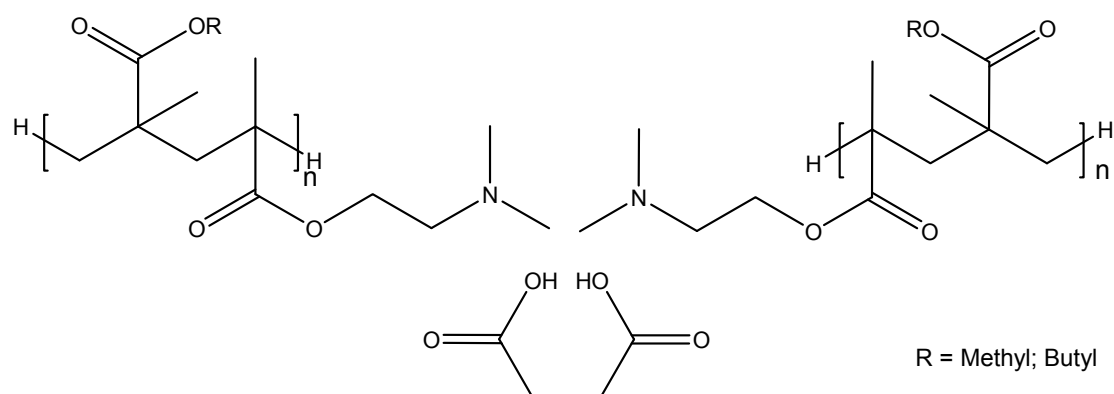


Abbildung 12: Chemische Struktur von Eudragit[®] und dem zugesetzten Crosslinker Bernsteinsäure.

Tabelle 4: Experimentell bestimmte Matrixgewichte und Wirkstoffgehalte der Pflasterformulierungen. Angaben als Mittelwert (Standardabweichung) von n = 6 Bestimmungen.

Formulierung	Klebstoff	PVP % (m/m)	Matrixgewicht mg/10,2 cm ²	Gehalt Protergurid % (m/m)
1	Gelva [®]	10	45,4 (2,0)	3,04 (0,17)
2	Gelva [®]	---	65,8 (1,1)	2,53 (0,03)
3	Eudragit [®]	10	45,6 (7,6)	3,20 (0,03)
4	Eudragit [®]	---	51,1 (2,2)	2,65 (0,06)
5	Bio-PSA [®]	---	58,4 (7,2)	3,17 (0,39)
6	Oppanol [®]	---	43,0 (10,4)	3,24 (0,24)

Zunächst wurde untersucht, ob die Einarbeitung von PVP einen Einfluss auf das Permeationsverhalten von Protergurid in vitro durch die Haut der haarlosen Maus ausübt. Abbildung 13 zeigt, dass PVP in einer Konzentration von 10% in den Polyacrylat-basierten Formulierungen den steady state Fluss von Protergurid nicht signifikant beeinflusste. Die Permeationsprofile, welche von den eher lipophilen Formulierungen auf Basis von Silikon- und Polyisobutylenkleber sowie den Acrylatpflastern mit PVP erhalten wurden, sind in

Abbildung 14 dargestellt. Die Daten bezüglich steady state Flüßen, 48-Stunden-Durchschnittsflüssen und Latenzzeiten (lag times) sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

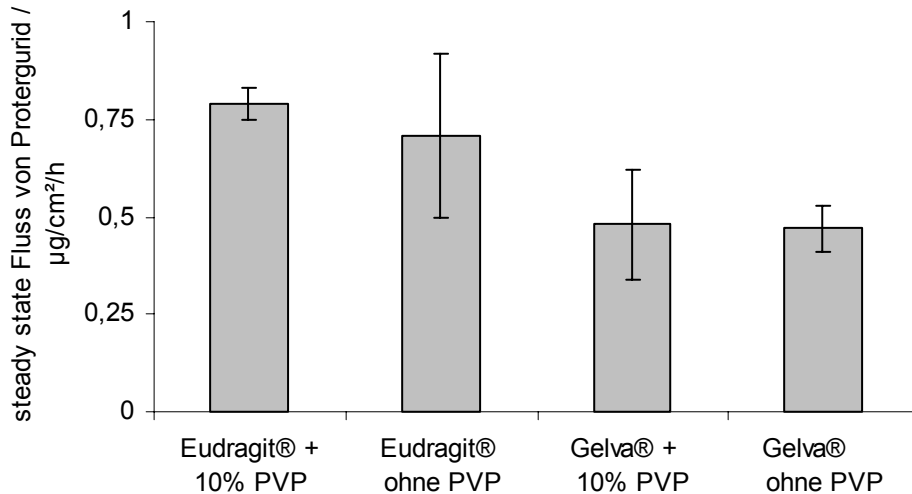


Abbildung 13: Einfluss von PVP in Acrylat-basierten Pflastern auf den steady state Fluss von Protergurid. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von mindestens n = 3 Versuchen.

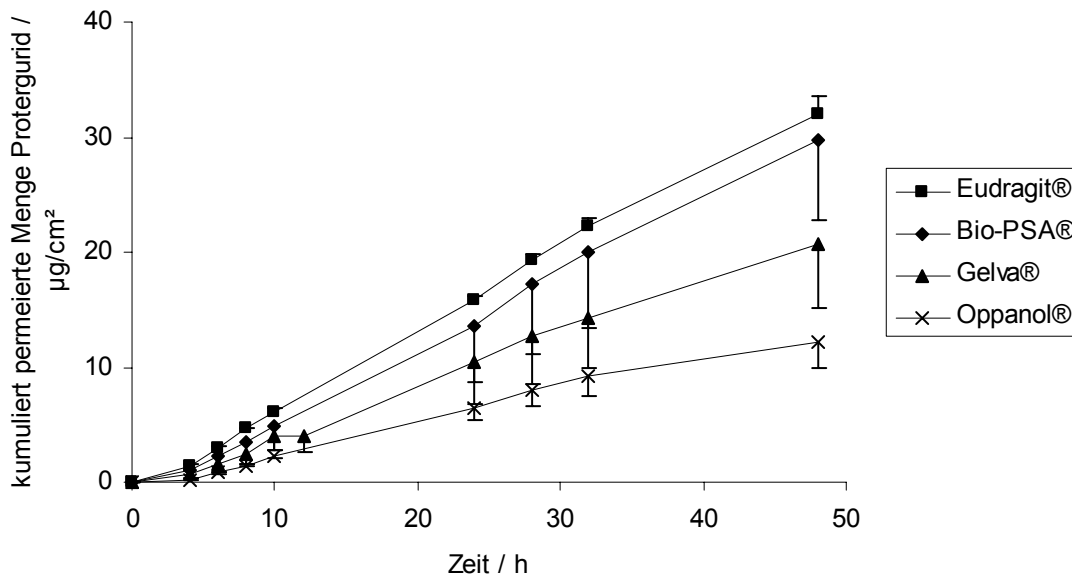


Abbildung 14: Permeationsprofile von Protergurid basierend auf Pflastern unterschiedlicher Polymere mit einem Wirkstoffgehalt von etwa 3% (m/m). Acrylate mit 10% PVP. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von mindestens n = 3 Versuchen.

Tabelle 5: Permeationsdaten von Protergurid, ermittelt aus den Permeationsprofilen basierend auf Pflastern unterschiedlicher Polymere mit einem Wirkstoffgehalt von etwa 3% (m/m). Angaben als Mittelwert (Standardabweichung).

Formulierung	Klebstoff	n	Steady state Fluss $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$	48 h-Durchschnittsfluss $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$	Lag-time h
1	Gelva [®]	8	0,48 (0,14)	0,44 (0,10)	2,41 (0,65)
3	Eudragit [®]	3	0,79 (0,04)	0,67 (0,03)	2,19 (0,15)
5	Bio-PSA [®]	3	0,66 (0,26)	0,62 (0,15)	2,71 (0,54)
6	Oppanol [®]	3	0,36 (0,05)	0,25 (0,07)	3,78 (0,75)

Aus Abbildung 14 und Tabelle 5 geht hervor, dass der Polyisobutylen-Kleber Oppanol[®] im Vergleich die geringsten transdermalen Flüsse ermöglichte. Der steady state Fluss von Protergurid betrug 0,36 (0,05) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$. Diese Formulierung zeigte mit 3,78 (0,75) Stunden auch die längste Latenzzeit bis zum Einsetzen des steady state Flusses. Bei den anderen Pflastern lag diese deutlich unter drei Stunden. Die Formulierung basierend auf Eudragit[®] war der Oppanol[®]-Formulierung bezüglich der Permeationsparameter steady state Fluss, 48-Stunden-Durchschnittsfluss und lag time im Sinne einer raschen und hohen Permeation von Protergurid signifikant überlegen. Der zweite Acrylatkleber (Gelva[®]) ermöglichte mit 0,48 (0,14) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ einen etwas geringeren steady state Fluss als der Silikonkleber (Bio-PSA[®]), so dass die erzielten transdermalen Flüsse als moderat eingestuft werden konnten. Die Latenzzeiten bis zum Einsetzen des steady state Flusses waren bei den Acrylatformulierungen vergleichbar und lagen jeweils bei etwas über zwei Stunden. Die gesamten absorbierten Mengen an Protergurid binnen 48 Stunden lagen, bezogen auf die applizierten Dosen, zwischen 7,7% (Oppanol[®]) und 19,9% (Eudragit[®]).

Die Leistungsfähigkeit eines Transdermalsystems wird jedoch nicht ausschließlich durch das in vitro Permeationsverhalten des inkorporierten Wirkstoffs charakterisiert. Auch die physikalische Stabilität, insbesondere bezüglich Wirkstoffrekristallisation während der Lagerung und die Hautadhäsion sind Parameter primärer Bedeutung bei der Evaluierung von arzneistoffhaltigen Pflastern (Abbildung 15), welche im folgenden untersucht wurden.

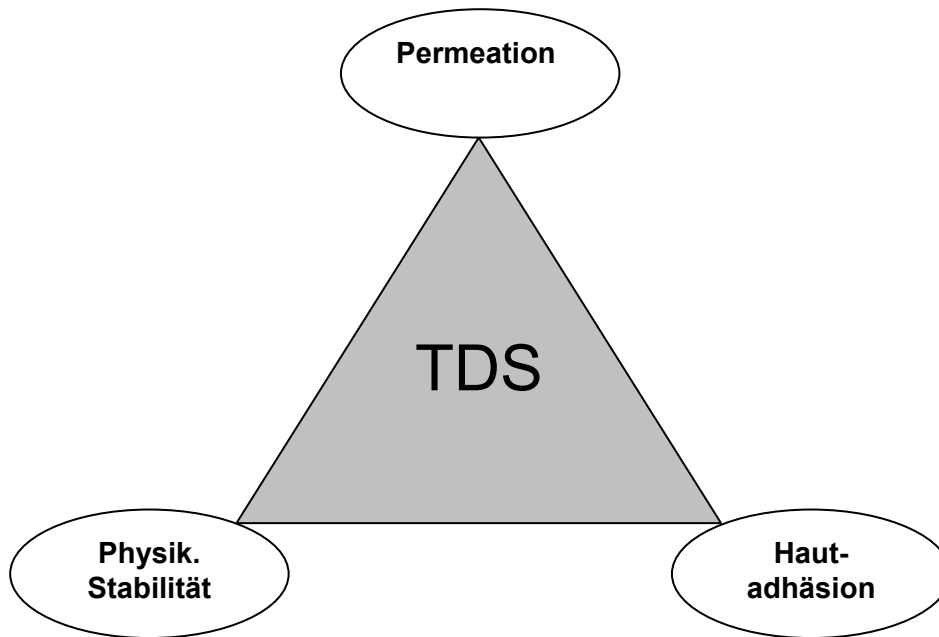


Abbildung 15: Wichtige Aspekte zur Beurteilung der Leistungsfähigkeit eines Transdermalsystems.

2.2.2 Physikalische Stabilität

Da nur gelöster Arzneistoff zur Diffusion befähigt ist, ist eine Rekristallisation während der Lagerung mit einer nach dem Fick'schen Diffusionsgesetz verbundenen Abnahme des Substanzflusses durch eine Membran (bzw. durch die Haut) unerwünscht. Von jeder Formulierung wurden in Aluminiumverbundfolie eingesiegelte Muster über einen Zeitraum von 30 Tagen sowohl bei Raumtemperatur (18 bis 25 °C) als auch in einem Trockenschrank bei konstant 40 °C gelagert und anschließend polarisationsmikroskopisch auf Wirkstoffkristalle untersucht. Die Polyacrylat-basierten Formulierungen zeigten sich bei beiden Lagerbedingungen über den untersuchten Zeitraum als stabil, unabhängig ob PVP in die Matrix integriert wurde oder nicht. Die Lamine der lipophilen Polymere Bio-PSA[®] und Oppanol[®] wiesen nach der Lagerperiode von 30 Tagen Wirkstoffkristalle sowohl bei 40 °C als auch bei Raumtemperatur auf (Abbildung 16).

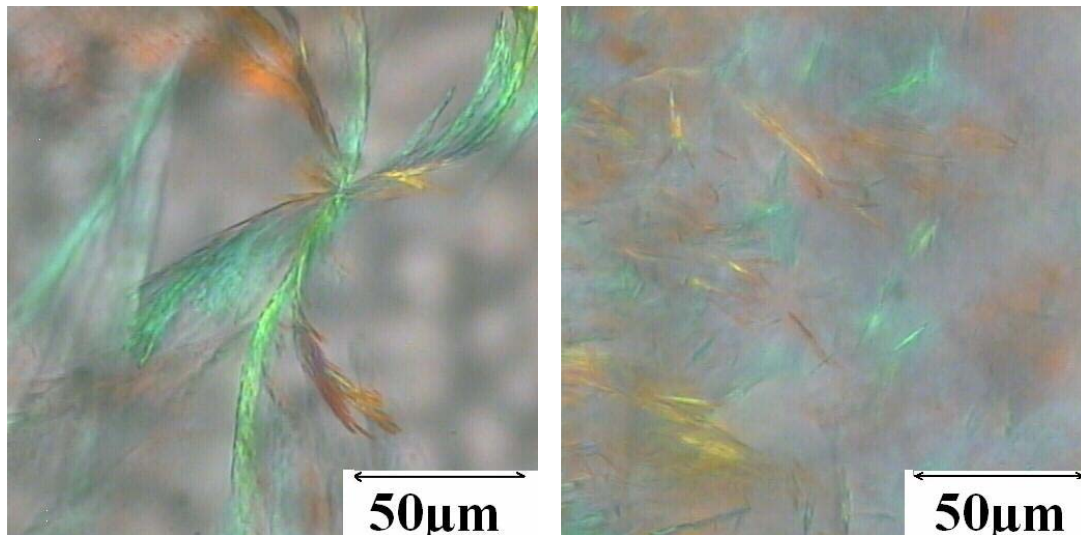


Abbildung 16: Protergurid-Kristalle in anfangs kristallfreien Formulierungen nach Lagerung über 30 Tage bei 40 °C (links: in Bio-PSA[®], rechts: in Oppanol[®]).

Diese Ergebnisse belegen bereits, dass die lipophilen Hauthaftkleber für eine weitere Entwicklung einer „drug in adhesive“-Matrixformulierung nicht geeignet waren. Um auf deren Basis dennoch stabile Systeme zu erhalten, wäre eine Reduktion des Wirkstoffgehaltes notwendig, welcher mit einer Verringerung des transdermalen Flusses einhergehen würde.

2.2.3 Hautadhäsion und Hautirritation in vivo

Das dritte Kriterium, welchem eine essentielle Bedeutung bei der Entwicklung einer transdermalen Darreichungsform beizumessen ist, ist, wie in Kapitel 2.2.1 bereits erwähnt, die Adhäsion des Systems auf der Haut in vivo. Ein transdermales therapeutisches System soll über mindestens 24 Stunden den inkorporierten Wirkstoff durch die Haut abgeben, so dass für dieses Applikationsintervall eine ausreichende Klebkraft gewährleistet sein muss.

Von jedem Hauthaftkleber wurden Placebo-Pflaster, im Falle der Acrylate mit und ohne Zusatz von 10% (m/m) PVP, mit einem Matrixgewicht von etwa 50 mg/10 cm² hergestellt. Diese wurden auf den inneren Unterarm von vier Probanden appliziert, nach 24 Stunden entfernt und nach ihrer Hautadhäsion (Abbildung 17) und Hautirritation (Abbildung 18) auf einer Skala von 1 (mangelhafte Klebkraft / mangelhafte Hautverträglichkeit) bis 5 (gute Klebkraft/ gute Hautverträglichkeit) bewertet.

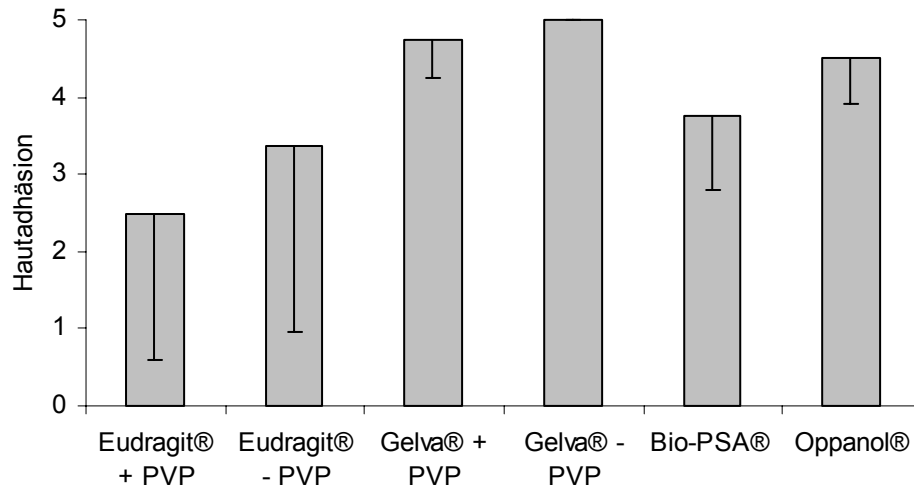


Abbildung 17: Hautadhäsion in vivo von Placebo-Pflastern auf Basis unterschiedlicher Hauthaftkleber. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung).

Aus Abbildung 17 geht hervor, dass die Placebo-Pflaster auf Basis von Gelva[®], Bio-PSA[®] und Oppanol[®] prinzipiell gute bis sehr gute Hautadhäsion in vivo zeigten, wobei der Zusatz an PVP nahezu keinen Einfluss in den Gelva[®]-Matrizes ausübte. Die Eudragit[®]-Pflaster hingegen zeigten nur eine schwache Klebkraft, welche durch PVP tendenziell leicht verringert wurde. Die Hautadhäsion für ein mindestens 24 Stunden zu applizierendes Transdermalsystem konnte als zu gering angesehen werden.

Als Kriterien zur Bewertung der Hautirritation wurden zum einen die Entwicklung von Rötungen und leichten Erythemen bei Inspektion des Applikationsareals und zum anderen der Tragekomfort bezüglich eines eventuellen Juckreizes herangezogen. Die Hautverträglichkeit konnte für alle Placebo-Pflaster als gut bis sehr gut bewertet werden (Abbildung 18).

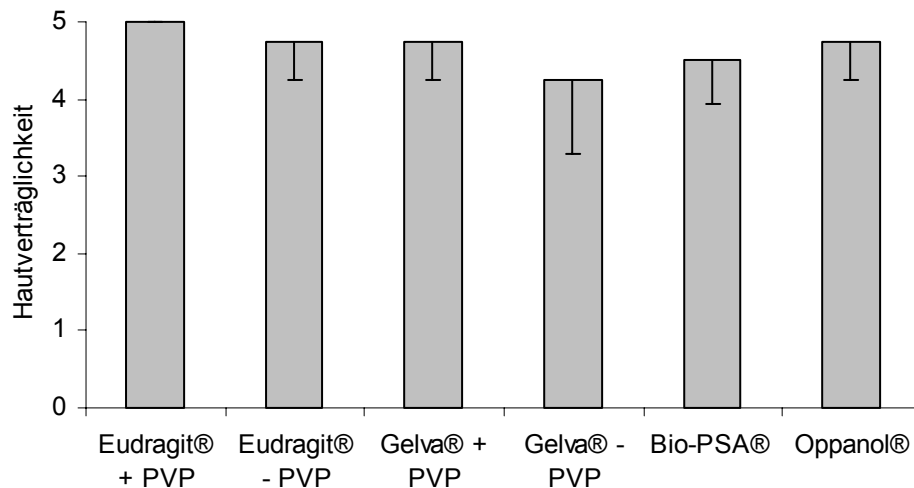


Abbildung 18: Hautverträglichkeit in vivo von Placebo-Pflastern auf Basis unterschiedlicher Hauthaftkleber. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung).

2.2.4 Diskussion

Aufgrund der unzureichenden physikalischen Stabilität der Transdermalsysteme auf Basis von Bio-PSA[®] und Oppanol[®] bereits während der kurzen Lagerperiode von 30 Tagen erschienen diese lipophilen Hauthaftkleber als Grundlage für eine weitere Entwicklung einer „drug in adhesive“-Matrixformulierung nicht geeignet. Die Eudragit[®]-Formulierung ermöglichte in der Permeationsstudie durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus in vitro zwar sehr gute transdermale Flüsse von Protergurid, jedoch zeigten entsprechende wirkstofffreie Pflaster in vivo nur eine unzureichende Klebkraft für ein attraktives und effizientes Transdermalsystem. Die Herstellung von Matrices auf Basis von Eudragit[®] ohne Zusatz von Bernsteinsäure und Dibutylsebacat resultierte in spröden, brüchigen Filmen, welche bei Entfernung vom Release liner splitterten und somit nicht in eine Bewertung von in vitro Permeation, Stabilität nach Lagerung, Hautadhäsion und Hautirritation eingeschlossen werden konnten.

Die Gelva[®]-Formulierung zeigte, ebenso wie die Eudragit[®]-Formulierung, eine ausreichende Kurzzeitstabilität und gute Hautverträglichkeit der korrespondierenden Placebo-Pflaster und überzeugte im Gegensatz zu dem Eudragit[®]-Polymer weiterhin durch eine sehr gute Hautadhäsion in vivo. Die erzielten transdermalen Flüsse von Protergurid waren etwas

geringer als jene der Eudragit[®]-Pflaster (vgl. Tabelle 5), dennoch wurde der Gelva[®]-Hauthaftkleber favorisiert und als Grundlage für eine Formulierungsoptimierung mit dem Ziel, den transdermalen Durchsatz an Protergurid weiter zu erhöhen, ausgewählt.

2.3 Einfluss der Arzneistoffkonzentration

Gemäß dem Fick'schen Diffusionsgesetz (vgl. Gleichung 1 in Kapitel 1.2.5) ist durch eine Erhöhung der Arzneistoffkonzentration im Vehikel ein erhöhter transdermalen Fluss erzielbar. Um diese Möglichkeit der Permeationssteigerung auszuschöpfen, wurden Acrylatpflaster mit unterschiedlichen Wirkstoffgehalten und jeweils 10% PVP hergestellt und diese auf ihre Leistungsfähigkeit im in vitro Permeationsexperiment und auf ihre Stabilität untersucht. Um eine eventuelle Abhängigkeit des transdermalen Arzneistoffflusses von der Wirkstoffbeladung der Pflaster zu bestätigen, wurde für diese Versuchsreihe neben dem favorisierten Gelva[®]-Kleber auch der zweite Acrylat-Hauthaftkleber (Eudragit[®]), welcher ebenfalls stabile Pflastersysteme ermöglichte, herangezogen. Tabelle 6 gibt Aufschluss über die Zusammensetzung der einzelnen Transdermalsysteme und die korrespondierenden Matrixgewichte.

Tabelle 6: Experimentell bestimmte Matrixgewichte und Wirkstoffgehalte der Pflasterformulierungen. Angaben als Mittelwert (Standardabweichung) von n = 6 Bestimmungen.

Formulierung	Klebstoff	Matrixgewicht mg/10,2 cm ²	Gehalt Protergurid % (m/m)
7	Gelva [®]	47,0 (3,5)	1,05 (0,04)
1	Gelva [®]	45,4 (2,0)	3,04 (0,17)
8	Gelva [®]	49,1 (3,6)	3,84 (0,08)
9	Gelva [®]	59,3 (2,9)	5,54 (0,15)
10	Gelva [®]	50,3 (3,4)	10,43 (0,18)
11	Eudragit [®]	49,9 (7,9)	1,21 (0,03)
3	Eudragit [®]	45,6 (7,6)	3,20 (0,03)
12	Eudragit [®]	53,1 (4,0)	5,81 (0,08)
13	Eudragit [®]	17,9 (1,2) ^a	11,05 (0,39)

^a Geringes Matrixgewicht, da zum Lösen des Wirkstoffs mehr Lösungsmittel benötigt wurde; die Klebstofflösung war zu niedrig-viskos, um ein höheres Matrixgewicht zu erzielen.

Die Permeationsprofile für Protergurid durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus aus den anfangs kristallfreien Formulierungen sind in Abbildung 19 und Abbildung 20 dargestellt. Es lässt sich erkennen, dass mit steigender Konzentration an Protergurid in dem Pflaster die gesamten, binnen 48 Stunden permeierten Arzneistoffmengen tendenziell stiegen. Tabelle 7 fasst die Daten bezüglich der erzielten transdermalen Flüsse und lag times zusammen.

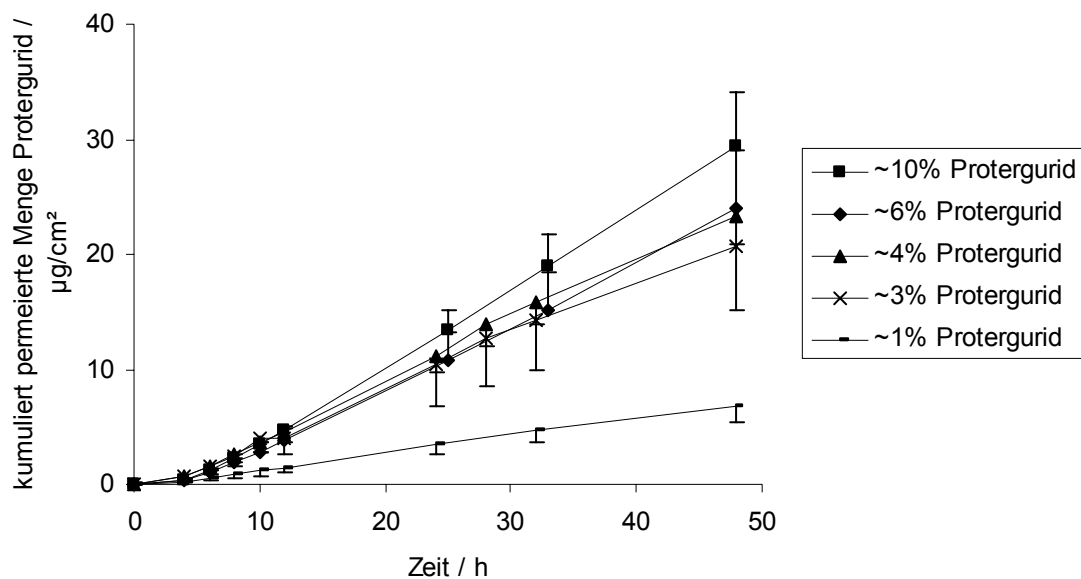


Abbildung 19: Permeationsprofile von Protergurid basierend auf Gelva[®]-Pflastern mit unterschiedlichem Wirkstoffgehalt. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von mindestens n = 3 Versuchen.

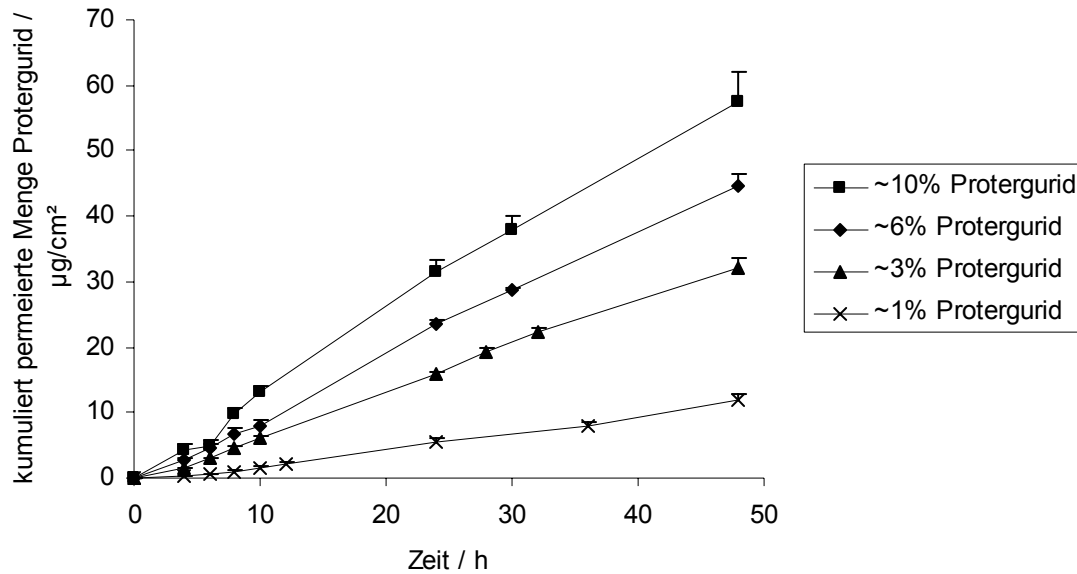


Abbildung 20: Permeationsprofile von Protergurid basierend auf Eudragit[®]-Pflastern mit unterschiedlichem Wirkstoffgehalt. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von n = 3 Versuchen.

Tabelle 7: Permeationsdaten von Protergurid, ermittelt aus den Permeationsprofilen basierend auf Acrylatpflastern mit unterschiedlichen Wirkstoffgehalten. Angaben als Mittelwert (Standardabweichung).

Formulierung	Klebstoff	Protergurid % (m/m)	n	Steady state Fluss µg/(cm ² · h)	48 h-Durchschnittsfluss µg/(cm ² · h)	Lag-time h
7	Gelva [®]	1,05 (0,04)	3	0,17 (0,04)	0,14 (0,04)	3,20 (0,51)
1	Gelva [®]	3,04 (0,17)	8	0,48 (0,14)	0,44 (0,10)	2,41 (0,65)
8	Gelva [®]	3,84 (0,08)	5	0,53 (0,06)	0,48 (0,05)	3,22 (0,93)
9	Gelva [®]	5,54 (0,15)	3	0,47 (0,11)	0,50 (0,11)	3,90 (0,50)
10	Gelva [®]	10,43 (0,18)	3	0,60 (0,06)	0,61 (0,10)	4,20 (0,02)
11	Eudragit [®]	1,21 (0,03)	3	0,28 (0,02)	0,25 (0,02)	4,39 (0,58)
3	Eudragit [®]	3,20 (0,03)	3	0,79 (0,04)	0,67 (0,03)	2,19 (0,15)
12	Eudragit [®]	5,81 (0,08)	3	1,38 (0,00)	0,93 (0,04)	1,53 (0,09)
13	Eudragit [®]	11,05 (0,39)	3	1,41 (0,10)	1,20 (0,10)	1,47 (0,48)

Wird der steady state Fluss als Funktion der Arzneistoffkonzentration in einem kartesischen Koordinatensystem dargestellt (Abbildung 21), so ist deutlich zu erkennen, dass nach einem anfangs linearen Anstieg des steady state Flusses ein maximaler Fluss erreicht wurde, der durch eine weitere Erhöhung der Arzneistoffkonzentration nicht weiter gesteigert werden konnte. Im Falle der Pflaster auf Basis des Gelva[®]-Hauthaftklebers war der maximale steady

state Fluss bei einer Konzentration an Protergurid von etwa 3,5 bis 4% (m/m) erreicht. Bei den Eudragit[®]-Pflastern hingegen setzte der maximal erzielbare, transdermale steady state Fluss bei Formulierungen mit einem Gehalt von etwa 5,5 bis 6% (m/m) Protergurid ein. Ab diesen Schwellenkonzentrationen erreichten die Kurven ein Plateau.

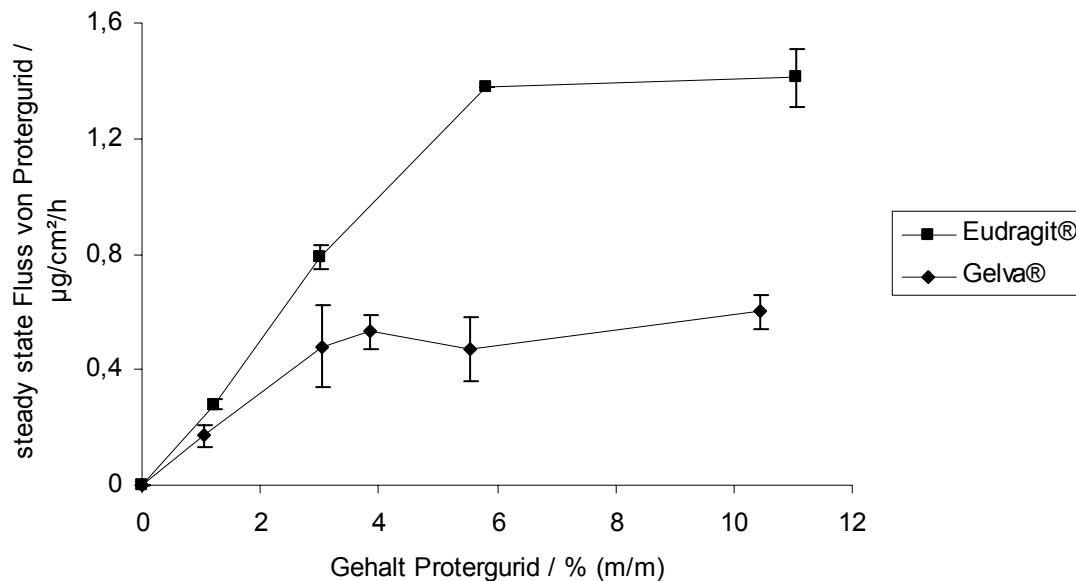


Abbildung 21: Darstellung des steady state Flusses von Protergurid in Abhängigkeit von der Konzentration in Transdermalsystemen auf Acrylatbasis. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von mindestens $n = 3$ Versuchen.

Sowohl Gelva[®]- als auch Eudragit[®]-Formulierungen mit einem Wirkstoffgehalt von 6% (m/m) bzw. 10% (m/m) wiesen nach 30 tägiger Lagerung bei 40 °C Kristallite in den Matrices auf (Abbildung 22). Bei einer Beladung von 10% (m/m) waren sowohl in Gelva[®]- als auch in Eudragit[®]-Pflastern erste Kristalle bereits nach 30 Tagen Lagerung bei Raumtemperatur nachweisbar, während niedrig beladene Pflaster ($\leq 4\%$) kristallfrei blieben. Da, wie bereits erläutert, nur gelöster Wirkstoff diffusionsfähig ist, und ferner ungelöster Wirkstoff nicht zu einer Erhöhung der thermodynamischen Aktivität, der treibenden Kraft für den Permeationsprozess, beiträgt, erklärt dies das Erreichen der Plateaus der Kurven in Abbildung 21. Die Transdermalsysteme waren unmittelbar nach der Herstellung kristallfrei. Eine Kristallisation vor dem Beginn des Permeationsexperimentes, welches in der Regel zwei bis drei Tage nach Herstellung durchgeführt wurde, kann jedoch nicht ausgeschlossen werden. Des weiteren wurden die Permeationsstudien bei 32 °C an der Diffusionsfläche

durchgeführt, was eine Kristallisation im Vergleich zu niedrigeren Temperaturen begünstigt (Kotiyani und Vavia, 2000; Ma et al., 1996). Somit war das Erreichen des maximalen steady state Flusses von Protergurid bei Konzentrationen von etwa 3,5 bis 4% (m/m) in Gelva[®]-Matrizes bzw. 5,5 bis 6% (m/m) in Eudragit[®]-Matrizes höchstwahrscheinlich Folge einer Wirkstoffrekristallisation aufgrund von Übersättigungen der höher beladenen Matrizes. Dies wurde durch die detektierten Wirkstoffkristalle in den hoch beladenen Matrizes (6% (m/m) bzw. 10% (m/m)) bestätigt.

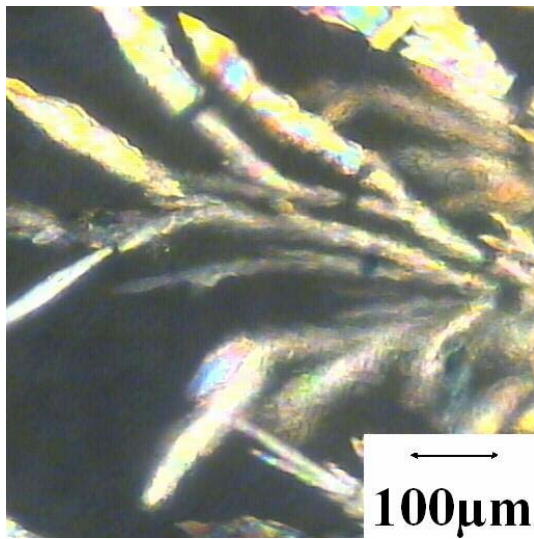


Abbildung 22: Protergurid-Kristalle in einer Eudragit[®]-Matrix mit einem Wirkstoffgehalt von 11,05 (0,39)% (m/m), gebildet während einer 30 tägigen Lagerung bei 40 °C in versiegelten Beuteln aus Aluminiumverbundfolie.

Eine ähnliche Abhängigkeit zwischen dem transdermalen Fluss und der Beladung der Matrizes wurde von Gondaliya und Pundarikakshudu (2003) gefunden. Sie untersuchten das Permeationsverhalten des Antidepressivums Bupropion aus Eudragit[®] E 100-Matrizes in vitro. Nach einem beginnenden linearen Anstieg des transdermalen Flusses ließ sich dieser ab einer Grenzkonzentration nur noch bedingt steigern. Auch die Resultate von Roy et al. (1996), welche das Opioid-Analgetikum Fentanyl als Modellarzneistoff und Polyisobutylennmatrizes in ihrer Studie untersuchten, bestätigen die hier erzielten Ergebnisse mit Protergurid. Sie konnten Fentanyl-Kristalle in den untersuchten Transdermalsystemen nachweisen, welche sich aufgrund von Sättigung in hochbeladenen Pflastern gebildet hatten und somit einen weiteren Anstieg des steady state Flusses von Fentanyl verhinderten. Wester und Maibach

(1996b) zeigen anhand von Daten von Roberts und Horlock (1978), welche die Permeation von Salicylsäure aus hydrophilen Salben durch exzidierte Rattenhaut untersuchten, dass sich der transdermale Salicylsäurefluss mit steigender Konzentration in der Salbe zwar steigerte, sich jedoch über den gesamten untersuchten Konzentrationsbereich keine lineare Abhängigkeit zwischen der Salicylsäurekonzentration im Vehikel und dem transdermalen Wirkstofffluss ergab. Chien (1991) beschreibt den Zusammenhang zwischen transdermalen Wirkstofffluss und Konzentration im Vehikel anhand von in vivo Daten aus einer Studie von Sanvordeker et al. (1982) mit dem Ergebnis, dass wenn eine Schwellenkonzentration von Glyceroltrinitrat in der verwendeten Flüssigformulierung erreicht wurde, die transdermale Permeation des Wirkstoffs durch die Haut von Rhesus-Affen ihr Maximum erreichte.

Die Datenlage impliziert folglich, dass abhängig von dem Arzneistoff und dem Vehikel eine optimale Arzneistoffkonzentration ermittelt werden kann, welche stabile Formulierungen mit maximalen transdermalen Flüssen ermöglicht. Für den favorisierten, und im folgenden für die Herstellung von „drug in adhesive“-Matrixformulierungen ausschließlich verwendeten Gelva[®]-Hauthaftkleber betrug diese 3,5 bis 4% Protergurid, sofern 10% PVP in die Matrix inkorporiert wurden.

2.4 Freisetzung von Protergurid aus Gelva[®]-Matrizes

Aufgrund der erzielten Ergebnisse bezüglich der in vitro Hautpermeation von Protergurid, der Stabilität der Transdermalsysteme und der in vivo Hautadhäsion wurde, wie bereits erwähnt, der Gelva[®]-Hauthaftkleber für eine weitere Formulierungsoptimierung ausgewählt. Es wurde in einem folgenden Schritt untersucht, mit welcher Kinetik der Wirkstoff Protergurid aus Gelva[®]-basierten Transdermalsystemen freigesetzt wird und welchen Einfluss der Kristallisationsinhibitor PVP ausübt. Der Freisetzungstest wurde nach der im Ph. Eur. 5.0 beschriebenen „disk assembly“-Methode mit Pflastern (3,6 cm Durchmesser) mit einer Arzneistoffbeladung von 3% (m/m) in einem Phosphatpuffer pH 5,5 bei 32 °C durchgeführt. In Abbildung 23 sind die kumulativen Freisetzungprofile von Protergurid bezogen auf den effektiven Gehalt der Pflaster dargestellt.

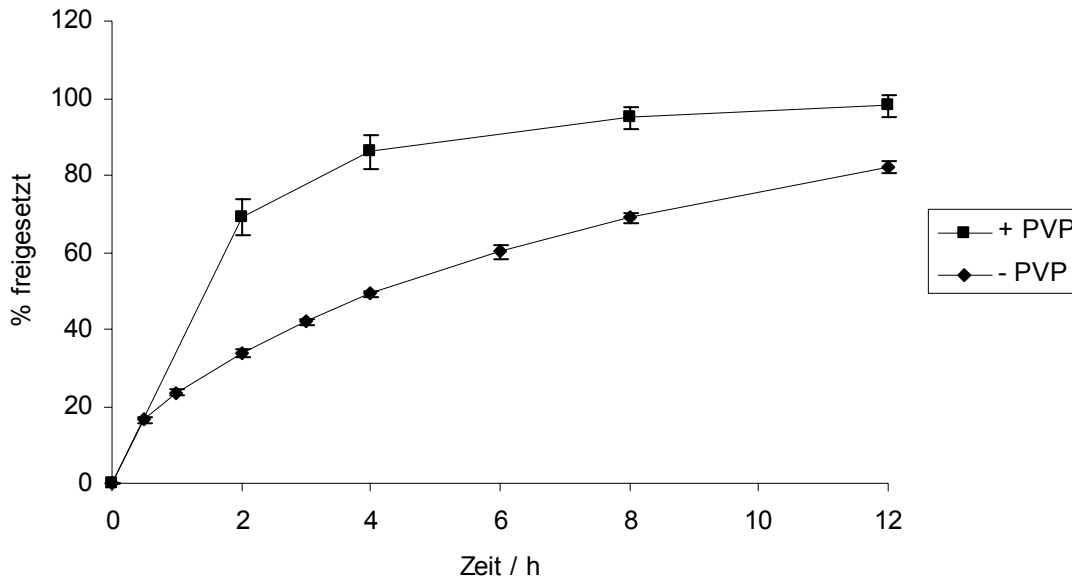


Abbildung 23: In vitro Freisetzung von Protergurid aus Gelva[®]-basierten Pflastern mit einem Wirkstoffgehalt von ~3% (- PVP: ohne PVP; + PVP mit 10% (m/m) PVP), bezogen auf den effektiven Gehalt an Protergurid. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von n = 6 Bestimmungen.

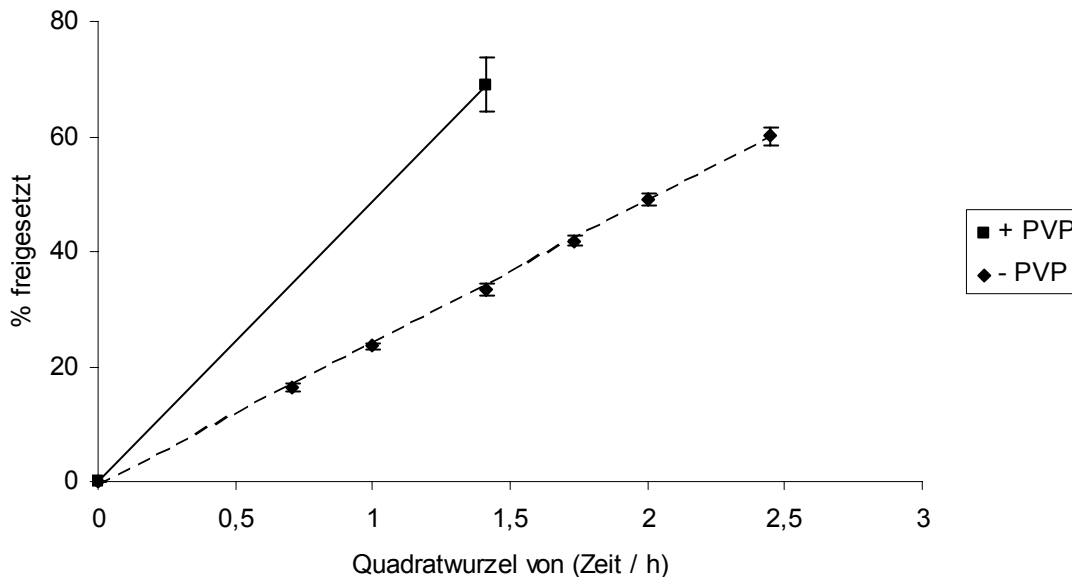


Abbildung 24: In vitro Freisetzung von Protergurid aus Gelva[®]-basierten Pflastern mit einem Wirkstoffgehalt von ~3% (- PVP: ohne PVP; + PVP: mit 10% (m/m) PVP), bezogen auf den effektiven Gehalt an Protergurid. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von n=6 Bestimmungen und die lineare Regressionsgerade für den Bereich bis etwa 60% des Arzneistoffs freigesetzt sind. Darstellung gegenüber der Quadratwurzel der Zeit.

Die Formulierung mit dem Zusatz an PVP setzte den Arzneistoff deutlich schneller frei. So waren nach vier Stunden bereits über 80% der ursprünglichen Arzneistoffmenge freigesetzt, während es bei der Formulierung ohne PVP lediglich etwa 50% waren. Die Freisetzung erfolgte nach einer für Matrixsysteme typischen linearen Abhängigkeit von der Quadratwurzel der Zeit, sofern der freigesetzte Arzneistoffanteil unter ca. 60% lag (Abbildung 24).

Die schnellere Wirkstofffreisetzung aus der PVP enthaltenen Formulierung konnte zurückgeführt werden auf dessen sehr gute Wasserlöslichkeit. PVP wird in Filmüberzügen für orale Arzneiformen erfolgreich als Porenbildner eingesetzt. Es konnte hier bereits gezeigt werden, dass PVP die Arzneistofffreisetzung deutlich beschleunigt (Verma et al., 2004). Der Mechanismus beruht auf einer Erhöhung der Porosität durch Lösen des PVP aus dem Überzug, sobald die Formulierung mit dem wässrigen FreisetzungsmEDIUM in Kontakt kommt. Dieses Prinzip scheint hier auf die Freisetzung von Protergurid aus den untersuchten Matrix-Transdermalsystemen übertragbar zu sein. Während des Freisetzungstests könnte PVP aus der Matrix des Pflasters unter Bildung von Poren herausgelöst werden. Die damit verbundene Vergrößerung der Oberfläche bzw. Diffusionsfläche würde zu einer beschleunigten Freisetzung des Wirkstoffs führen. Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen von Rao Rama et al. (2000). Sie untersuchten das Freisetzungsverhalten des β -Blockers Propranololhydrochlorid aus transdermalen Polymermatrizes und fanden ebenfalls, dass die Inkorporation von PVP die Arzneistofffreisetzung in vitro beschleunigte.

In vitro Freisetzungstests für Transdermalsysteme stellen jedoch lediglich einen Parameter für die Qualitätskontrolle des Produktes dar (Hadgraft et al., 1991), um beispielsweise Unterschiede im Freisetzungsprofil nach Lagerung aufzuweisen. Sie geben keinen Aufschluss über die Leistungsfähigkeit von Formulierungen bezüglich des transdermal zu erzielenden Arzneistoffflusses. Dies beruht auf der Tatsache, dass bei Transdermalsystemen der geschwindigkeitsbestimmende und somit limitierende Schritt der Hautpermeation nicht zwingend die Freisetzung des Arzneistoffs aus seiner Formulierung, sondern vor allem die Diffusion desselben durch die Haut darstellt. Ferner unterscheiden sich die Kontaktmedien mit dem Transdermalsystem beim in vitro Freisetzungstest und dem in vitro (oder auch in vivo) Hautpermeationsexperiment erheblich. Dies erklärt, dass trotz schnellerer Freisetzung von Protergurid aus der Matrix mit inkorporiertem PVP im Vergleich zu der PVP-freien

Formulierung kein signifikanter Unterschied im steady state Fluss durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus festgestellt werden konnte (vgl. Abbildung 11 in Kapitel 2.2.1).

2.5 Chemische Permeationssteigerung bei Matrixsystemen

2.5.1 Maximaler transdermaler Fluss

Um die Leistungsfähigkeit eines chemischen Permeationsverstärkers qualitativ beurteilen zu können, ist es notwendig, den maximalen transdermalen Fluss des Arzneistoffs aus einer Basisformulierung zu kennen. Da das Stratum corneum der Haut für die meisten Arzneistoffe die eigentliche Permeationsbarriere darstellt und die Zielstruktur der meisten chemischen Permeationsverstärker repräsentiert, ist dieser maximale transdermale Fluss charakterisiert durch die Permeation des Arzneistoffs durch Haut ohne Stratum corneum. In der folgenden Studie wurde das Stratum corneum mittels der „tape-stripping“-Methode mechanisch entfernt (Surber et al., 1999). Dies erfolgte durch 15-maliges, gleichmäßiges Andrücken und abruptes Wiederabziehen handelsüblicher Klebestreifen (Tesa[®]-Film, tesa AG, Hamburg, Deutschland). Als Formulierung diente eine Gelva[®]-Formulierung (Formulierung 8) mit dem ermittelten optimalen Gehalt an Protergurid von 4% (m/m) und 10% PVP (m/m), welche in den folgenden Kapiteln als Kontrollformulierung fungierte, sofern nicht explizit auf eine andere Referenz verwiesen ist. In Abbildung 25 sind die Permeationsprofile durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus mit und ohne Stratum corneum dargestellt.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Flussparameter steady state Fluss und 48-Stunden-Durchschnittsfluss signifikant höher waren, wenn Haut ohne Stratum corneum verwendet wurde. Dies unterstreicht die ausgeprägte Barrierefunktion dieser äußersten Schicht der Haut. In Tabelle 8 sind die Permeationsdaten zusammengefasst, welche eine Basis für die Evaluierung der Leistungsfähigkeit von chemischen Permeationsverstärkern in den folgenden Kapiteln bilden. Ein um einen Faktor von etwa sechs erhöhter transdermaler steady state Fluss von Protergurid (3,33 (0,79) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$) entspricht dem Maximalfluss aus einem Gelva[®]-Pflaster mit 4% (m/m) Beladung, welcher durch Zusatz eines chemischen Permeationsverstärkers in der Regel nicht erzielt werden kann. Deshalb kann eine Erhöhung

des Flusses um einen Faktor von zwei bis drei durch einen chemischen Permeationsverstärker bereits als moderate bis stark ausgeprägte Permeationssteigerung gewertet werden.

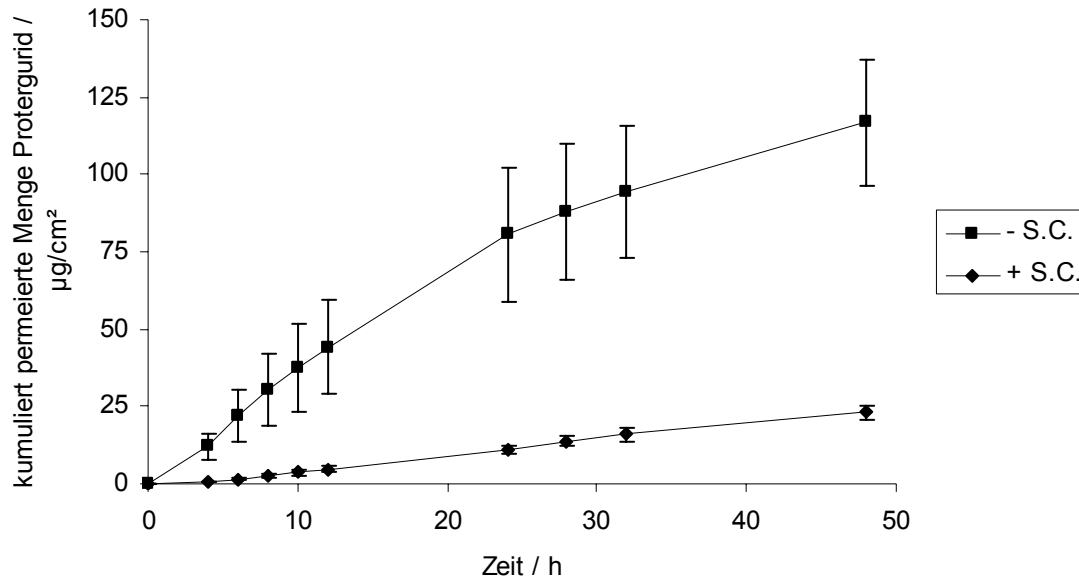


Abbildung 25: Permeationsprofile von Protergurid basierend auf Gelva[®]-Pflastern mit einem Wirkstoffgehalt von ~4% (m/m) durch exzidierte Haut der haarlosen Maus (- S.C.: ohne Stratum corneum; + S.C.: mit Stratum corneum). Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von mindestens n = 5 Versuchen.

Tabelle 8: Permeationsdaten von Protergurid, ermittelt aus den Permeationsprofilen basierend auf Gelva[®]-Pflastern mit einem Wirkstoffgehalt von ~4% (m/m) durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus mit und ohne Stratum corneum (S.C.). Angaben als Mittelwert (Standardabweichung).

Formulierung	Haut	Gehalt an Protergurid % (m/m)	n	Steady state Fluss	48 h-Durchschnittsfluss	Lag-time
				$\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$	$\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$	h
8	+ S.C.	3,84 (0,08)	5	0,53 (0,06)	0,48 (0,05)	3,22 (0,93)
8	- S.C.	3,84 (0,08)	6	3,33 (0,79)	2,44 (0,42)	n.b. ^{a)}

^a n.b.: nicht bestimmt.

2.5.2 N-Alkylpyrrolidone als Permeationsverstärker

Zur Steigerung der Permeation von Protergurid durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus *in vitro* wurden in einer ersten Studie N-Alkylpyrrolidone mit unterschiedlichen Kettenlängen eingesetzt. N-Methylpyrrolidon, N-Octylpyrrolidon und N-Dodecylpyrrolidon (Abbildung 26) wurden jeweils in einer Konzentration von 5% (m/m) in eine mit 4% (m/m) Protergurid und 10% (m/m) PVP beladene Gelva[®]-Matrix inkorporiert.

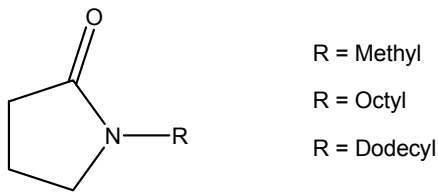


Abbildung 26: Strukturen der verwendeten N-Alkylpyrrolidone.

In Vorversuchen stellte sich heraus, dass N-Methylpyrrolidon während des Trocknungsprozesses bei der Herstellung der Matrices zu etwa 50% verdampft, so dass ein entsprechender Überschuss dieses Permeationsverstärkers bei der Berechnung des Ansatzes dieser Formulierung einkalkuliert werden musste. Die experimentell bestimmten Matrixgewichte sowie die Gehalte an Protergurid und N-Alkylpyrrolidon der einzelnen Formulierungen sind in Tabelle 9 wiedergegeben.

Tabelle 9: Experimentell bestimmte Matrixgewichte und Gehalte an Protergurid und N-Alkylpyrrolidon der Pflasterformulierungen. NAP: N-Alkylpyrrolidon; NMP: N-Methylpyrrolidon; NOP: N-Octylpyrrolidon; NDP: N-Dodecylpyrrolidon. Angaben als Mittelwert (Standardabweichung) von n = 6 Bestimmungen.

Formulierung	NAP	Matrixgewicht mg/10,2 cm ²	Gehalt Protergurid % (m/m)	Gehalt NAP % (m/m)
8	---	49,1 (3,6)	3,84 (0,08)	---
14	NMP	51,6 (1,3)	3,80 (0,05)	4,60 (0,57)
15	NOP	50,1 (1,3)	4,00 (0,06)	4,63 (0,16)
16	NDP	55,9 (2,9)	3,74 (0,05)	4,79 (0,17)

Den in Abbildung 27 dargestellten Permeationsprofilen kann entnommen werden, dass mit steigender Kettenlänge des N-Alkylpyrrolidons eine Erhöhung des transdermalen Arzneistoffflusses erfolgte. Die Formulierung mit N-Dodecylpyrrolidon zeigte sowohl einen signifikant höheren steady state Fluss ($0,89 (0,15) \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$) als auch einen signifikant höheren 48-Stunden-Durchschnittsfluss ($0,75 (0,10) \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$) im Vergleich zu der permeationsverstärkerfreien Kontrollformulierung ($J_{\text{ss}}: 0,53 (0,06) \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$; $J_a: 0,48 (0,10) \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$). Der durch den Zusatz von N-Octylpyrrolidon erzielte Anstieg des steady state Flusses ($0,65 (0,07) \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$) unterschied sich zwar signifikant von dem der Kontrolle, jedoch waren die Flussparameter ähnlich derer, welche durch Einarbeitung von N-Methylpyrrolidon erreicht werden konnten. In Tabelle 10 sind die aus den Permeationsprofilen ermittelten Parameter zusammengefasst.

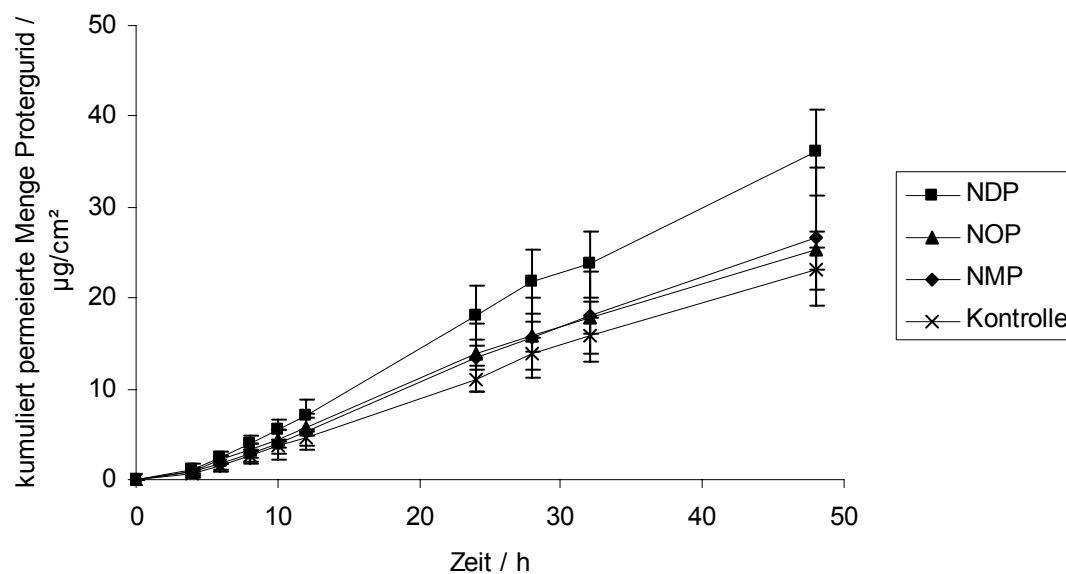


Abbildung 27: Permeationsprofile von Protergurid basierend auf Gelva®-Pflastern mit ~4% (m/m) Protergurid und ~5% (m/m) N-Alkylpyrrolidon (NMP: N-Methylpyrrolidon, NOP: N-Octylpyrrolidon; NDP: N-Dodecylpyrrolidon). Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von mindestens $n = 3$ Versuchen.

Tabelle 10: Permeationsdaten von Protergurid, ermittelt aus den Permeationsprofilen basierend auf Gelva[®]-Pflastern mit ~4% (m/m) Protergurid und ~5% (m/m) N-Alkylpyrrolidon (NAP: N-Alkylpyrrolidon; NMP: N-Methylpyrrolidon; NOP: N-Octylpyrrolidon; NDP: N-Dodecylpyrrolidon). Angaben als Mittelwert (Standardabweichung).

Formulierung	NAP	n	Steady state Fluss μg/(cm ² · h)	48 h-Durchschnittsfluss μg/(cm ² · h)	Lag-time h
8	---	5	0,53 (0,06)	0,48 (0,05)	3,22 (0,93)
14	NMP	3	0,67 (0,14)	0,56 (0,16)	4,31 (1,40)
15	NOP	3	0,65 (0,07)	0,53 (0,05)	2,87 (0,48)
16	NDP	3	0,89 (0,15)	0,75 (0,10)	3,85 (0,38)

N-Alkylpyrrolidone entfalten ihre permeationsverstärkende Wirkung für transdermal applizierte Substanzen, indem sie sich mit ihrer polaren Kopfgruppe so an die hydrophilen Bereiche der Lipiddoppelschichten des Stratum corneums anlagern, dass der lipophile Alkylrest den hoch geordneten Bereich dieser Lipiddoppelschichten unterbricht (Yoneto et al., 1994 und 1997). Eine solche Art der Interkalation von chemischen Permeationsverstärkern, welche in ihrer chemischen Struktur neben einer polaren Kopfgruppe einen lipophilen Alkylrest aufweisen, wie neben den Alkylpyrrolidonen beispielsweise auch die homologe Reihe der Alkanole, stellt einen effizienten Mechanismus dar, die Permeabilität der Haut zu erhöhen. Ein weiterer so erzielter Effekt ist eine gesteigerte Umverteilung des Arzneistoffs aus dem Vehikel in das Stratum corneum, welcher insbesondere auch für kleine polare Moleküle wie N-Methylpyrrolidon, aber auch für niedermolekulare Alkohole wie Ethanol oder Propylenglykol auf Grund von Änderungen von Löslichkeitsparametern des Hautgewebes angenommen wird (Barry, 1991; Hadgraft, 1999b).

Sasaki et al. (1990a) untersuchten die Permeation von suspendiertem Phenolrot in Isopropylmyristat durch exzidierte Rattenhaut in vitro unter Coapplikation mit N-Alkylpyrrolidonen. Sie fanden, dass Phenolrot, wenn ohne N-Alkylpyrrolidon appliziert, keine Permeation aufwies und insbesondere die lipophilen Pyrrolidonderivate N-Hexylpyrrolidon und N-Dodecylpyrrolidon starke, konzentrationsabhängige Effekte auf die Phenolrotpermeation ausübten. Eine starke Permeationssteigerung von Indomethacin und Sulfaguanidin durch N-Dodecylpyrrolidon konnte ebenfalls gezeigt werden (Sasaki et al., 1990d und 1990e). Eine weitere Studie von Sasaki et al. (1991) zur Untersuchung der Leistungsfähigkeit von N-Alkylpyrrolidonen unter Berücksichtigung von vier Arzneistoffen unterschiedlicher Polarität zeigte, dass der permeationsverstärkende Effekt abhängig vom

Arzneistoff war. So konnte in dieser Studie N-Methylpyrrolidon den transdermalen Fluss des hoch-lipophilen nicht-steroidalen Antiphlogistikums Flurbiprofen stärker erhöhen als N-Dodecylpyrrolidon, während es im Falle von 5-Fluorouracil, Triamcinolonacetonid und Indomethacin umgekehrt war.

Bezüglich der hier dargestellten Daten kann geschlussfolgert werden, dass unter den N-Alkylpyrrolidonen eine C₁₂-Seitenkette deutlich effektiver den transdermalen Fluss von Protergurid steigerte als eine kürzere. Dies zeigt, dass der Länge der Seitenkette eine essentielle Rolle zukommt. In den folgenden Schritten wurde nun untersucht, ob die N-Alkylpyrrolidone eine ausreichende dermale Verträglichkeit aufweisen und in wieweit sich chemische Permeationsverstärker mit einer gesättigten zwölfgliedrigen Kohlenstoffkette, aber unterschiedlicher polarer Kopfgruppe zur Steigerung des transdermalen Durchsatzes an Protergurid eignen.

2.5.3 Hautirritation der N-Alkylpyrrolidone

Zur Evaluierung der Hautirritation von Substanzen eignen sich neben einem in vivo Verfahren an Kaninchen (Draize-Test; Wilhelmus, 2001) auch kommerziell erhältliche in vitro Modelle, welche auf Basis humaner Keratinozyten hergestellt wurden (Faller et al., 2002a). Die vorliegenden Daten wurden anhand des von der Firma MatTek (Ashland, USA) vertriebenen EpiDerm[®]-Modells erhoben. Dieses in vitro Modell besteht aus normalen, humanen, epidermalen Keratinozyten, welche zu einer hoch-differenzierten, mehrschichtigen Epidermismembran kultiviert wurden. Erfasst wird der Zeitpunkt, an welchem die Vitalität des Gewebes durch Einfluss der Testsubstanz nach Exposition auf 50% des Ausgangswertes zurückgegangen ist (ET-50). Dieser Endpunkt wird kolorimetrisch ermittelt und beruht auf der Reduktion des Tetrazoliumderivates MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid) zu einem blau gefärbten Formazan durch die Mitochondrien lebender Zellen (EpiDerm[®] White Paper, 2003) und zeigte bereits eine gute Reproduzierbarkeit (Faller und Bracher, 2002b). Der Assay wurde nach dem Protokoll der Firma MatTek durchgeführt. Jede Substanz wurde rein und als 10%ige Lösung an zwei unterschiedlichen Chargen EpiDerm[®] untersucht. Zur Einschätzung der ermittelten ET-50-Werte wurden Referenzsubstanzen, welche unterschiedliche Hautirritation erwarten

ließen, an einer Charge EpiDerm[®] getestet. Um eine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten, wurde zusätzlich an jeder Charge EpiDerm[®] eine 1%ige Lösung des Tensids Triton[®] X-100 untersucht und der bestimmte ET-50-Wert, welcher in allen Fällen im geforderten Intervall von 3,7 bis 7 Stunden lag, mit dem von der Firma MatTek an derselben Charge EpiDerm[®] ermittelten Wert verglichen. Tabelle 11 zeigt die ermittelten ET-50-Werte der Referenzsubstanzen. Aufgrund dieser Daten wurde zur Charakterisierung der dermalen Irritation in vitro das in Tabelle 12 dargestellte Bewertungsregime aufgestellt.

Tabelle 11: Ermittelte ET-50-Werte von Referenzsubstanzen zur Evaluierung der Hautirritation anhand des EpiDerm[®]-Modells.

Testsubstanz	ET-50 h
Phosphorsäure 85%	< 0,50
Natriumdodecylsulfat 1%	0,63
Triton [®] X-100 1%	4,75
Penaten [®] Babyshampoo	8,67
Tween [®] 20 1%	> 24,00

Tabelle 12: Regime zur Bewertung der dermalen Irritation anhand des EpiDerm[®]-Modells.

ET-50 h	Irritationspotential
< 0,50	stark
0,50 - 4,00	moderat
4,00 - 12,00	moderat-mild
12,00 - 24,00	sehr mild
> 24,00	nicht-irritierend

Die Ergebnisse zeigen, dass die reinen N-Alkylpyrrolidone in dem verwendeten in vitro Modell starke bis moderate Hautirritation aufwiesen (Tabelle 13 und Abbildung 28). Durch Verdünnung von N-Methylpyrrolidon mit Wasser konnte die dermale Verträglichkeit deutlich verbessert werden. N-Octylpyrrolidon wies auch nach Verdünnung mit Propylenglykol, welches nach dem EpiDerm[®]-Modell als nicht irritierend eingestuft werden kann, stark bis

moderat irritierende Eigenschaften auf. Interessant ist jedoch, dass die verdünnte Lösung von N-Dodecylpyrrolidon einen stärkeren Einfluss auf die epidermale Membran zeigte. Da aufgrund der Siedepunkte der Verbindungen eine Verdunstung während des Experimentes ausgeschlossen werden konnte, war dieses Phänomen höchstwahrscheinlich auf eine gesteigerte Penetration des Pyrrolidonderivates in Anwesenheit von Propylenglykol zurückzuführen (Kubilus, 2005). Dies führte zu einer erhöhten Konzentration der Testsubstanz in dem Gewebe. Mit Hilfe des Draize-Tests am rasierten Kaninchen konnten Ansell und Fowler (1988) zeigen, dass N-Octylpyrrolidon extrem und N-Dodecylpyrrolidon stark irritierend wirken, wenn pur appliziert. Dies korreliert gut mit den Ergebnissen, welche am EpiDerm[®]-Modell gewonnen wurden. Einen Widerspruch barg jedoch die dermale Verträglichkeit von N-Methylpyrrolidon, welche nach Ansell und Fowler (1988) und auch nach Sasaki et al. (1990c) als minimal irritierend eingestuft wurde, was im EpiDerm[®]-Modell lediglich für die 10%ige Lösung zutrif. Dies deutet daraufhin, dass der hier verwendete Assay deutlich sensitiver auf N-Methylpyrrolidon reagierte.

Tabelle 13: Ermittelte ET-50-Werte der N-Alkylpyrrolidone anhand des EpiDerm[®]-Modells (Mittelwerte aus den Bestimmungen an zwei Chargen EpiDerm[®]).

Testsubstanz	ET-50 h	Irritationspotential
N-Methylpyrrolidon	2,15	moderat
N-Methylpyrrolidon 10% in bidest. Wasser	> 18,00	sehr mild bis nicht irritierend
N-Octylpyrrolidon	< 2,00	(stark bis) moderat
N-Octylpyrrolidon 10% in Propylenglykol	< 2,00	(stark bis) moderat
N-Dodecylpyrrolidon	3,97	moderat
N-Dodecylpyrrolidon 10% in Propylenglykol	< 2,00	(stark bis) moderat

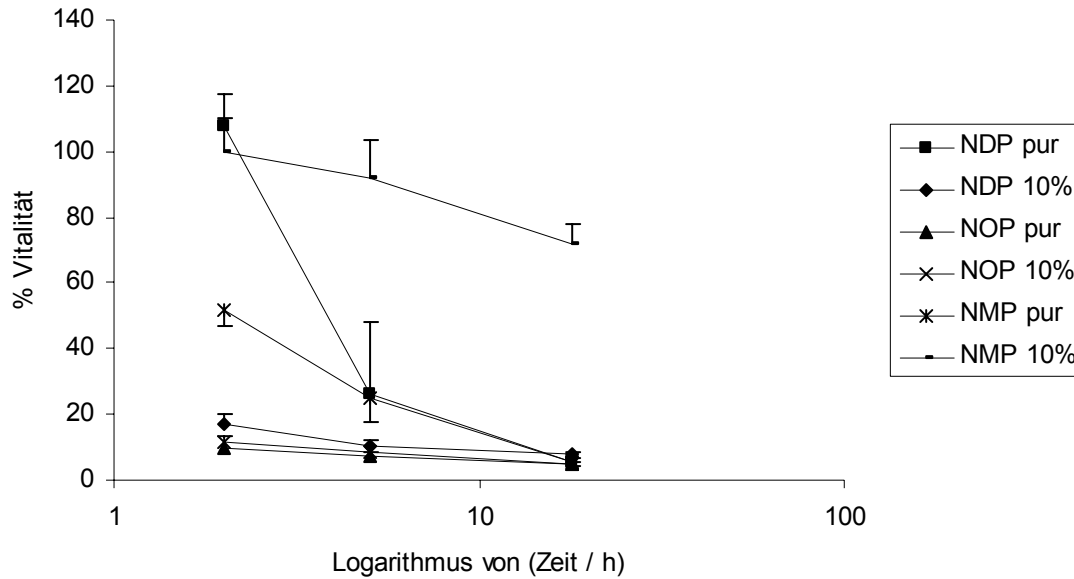


Abbildung 28: Abhängigkeit der Gewebevitalität von EpiDerm[®] von der Dauer der Exposition zu den einzelnen Testsubstanzen. NDP: N-Dodecylpyrrolidon, NOP: N-Octylpyrrolidon, NMP: N-Methylpyrrolidon. Lösungsmittel: Propylenglykol für NDP und NOP, bidest. Wasser für NMP. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von je n = 4 Versuchen von 2 Chargen EpiDerm[®].

2.5.4 Permeationsverstärker mit einer C₁₂-Seitenkette

Wie in Kapitel 2.5.2 gezeigt, eignete sich das N-Alkylpyrrolidonderivat mit einem Dodecylrest am besten, um den transdermalen Fluss von Protergurid zu erhöhen. In einer weiteren Versuchsreihe wurden deshalb weitere chemische Permeationsverstärker mit einem zwölf-gliedrigen Alkylrest auf ihre Leistungsfähigkeit untersucht. Dodecanol, Laurinsäure, Tween[®] 20 (Polyoxyethylensorbitanmonolaurat), Span[®] 20 (Sorbitanmonolaurat) und Azone[®] (N-Dodecylazacycloheptan-2-on, Laurocapram), welches strukturell dem N-Dodecylpyrrolidon sehr nahe steht (Abbildung 29), wurden ausgewählt und in einer Konzentration von 5% (m/m) in Gelva[®]-Transdermalsysteme mit einer Arzneistoffbeladung von 4% (m/m) und einem Matrixgewicht von etwa 50 mg/10,2 cm² eingearbeitet (Tabelle 14).

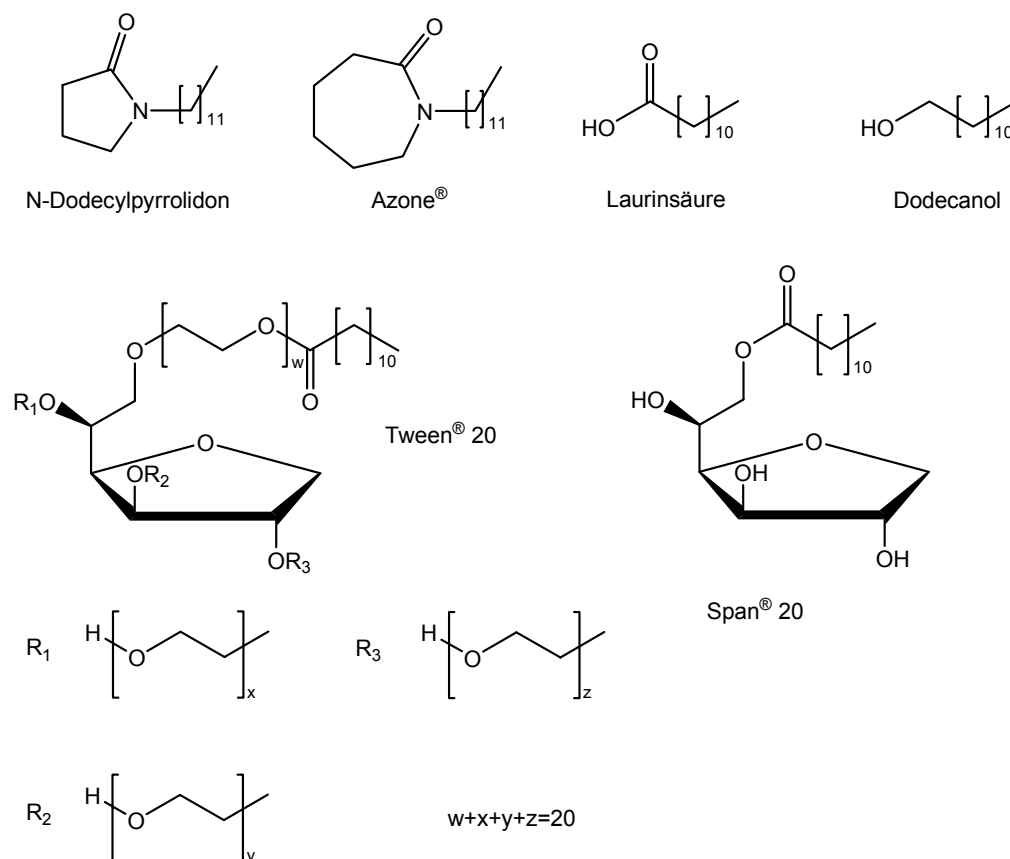


Abbildung 29: Strukturformeln der verwendeten chemischen Permeationsverstärker mit einem zwölf-gliedrigen Kohlenstoffrest.

Tabelle 14: Experimentell bestimmte Matrixgewichte und Gehalte an Protergurid der Pflasterformulierungen mit ~5% (m/m) Permeationsverstärker. Angaben als Mittelwert (Standardabweichung) von mindestens $n = 5$ Bestimmungen.

Formulierung	Permeationsverstärker	Matrixgewicht mg/10,2 cm ²	Gehalt Protergurid % (m/m)
8	---	49,1 (3,6)	3,84 (0,08)
17	Dodecanol	51,0 (1,5)	3,48 (0,12)
18	Azone®	59,8 (1,1)	3,94 (0,18)
19	Laurinsäure	52,0 (3,3)	3,56 (0,03)
20	Span® 20	52,8 (1,8)	3,54 (0,07)
21	Tween® 20	47,9 (1,6)	3,44 (0,13)

Den in Abbildung 30 und Abbildung 31 dargestellten Permeationsprofilen sowie den korrespondierenden Flussparametern (Tabelle 15) kann entnommen werden, dass insbesondere Dodecanol und Span[®] 20 gute permeationsfördernde Wirkungen für Protergurid, bezogen auf die permeationsverstärkerfreie Kontrollformulierung, aufwiesen. Die erzielten steady state Flüsse von Protergurid in vitro lagen für beide Formulierungen knapp unter dem, welcher mit der N-Dodecylpyrrolidon-haltigen Formulierung erhalten wurde (0,89 (0,15) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$) und betragen 0,84 (0,30) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ im Falle von Dodecanol und 0,81 (0,11) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ im Falle von Span[®] 20. Die Zeit bis zum Einsetzen des steady state Flusses war bei den Dodecanol-haltigen Pflastern mit 5,26 (0,48) h signifikant länger als bei den Pflastern, welche mit N-Dodecylpyrrolidon formuliert wurden (3,85 (0,38) h). Die Span[®] 20-haltigen Transdermalsysteme zeigten mit 1,84 (0,81) h eine äußerst geringe Latenzzeit, welche für eine rasche Umverteilung des Sorbitanlaurylsäureesters von der Formulierung in das Hautgewebe sprach.

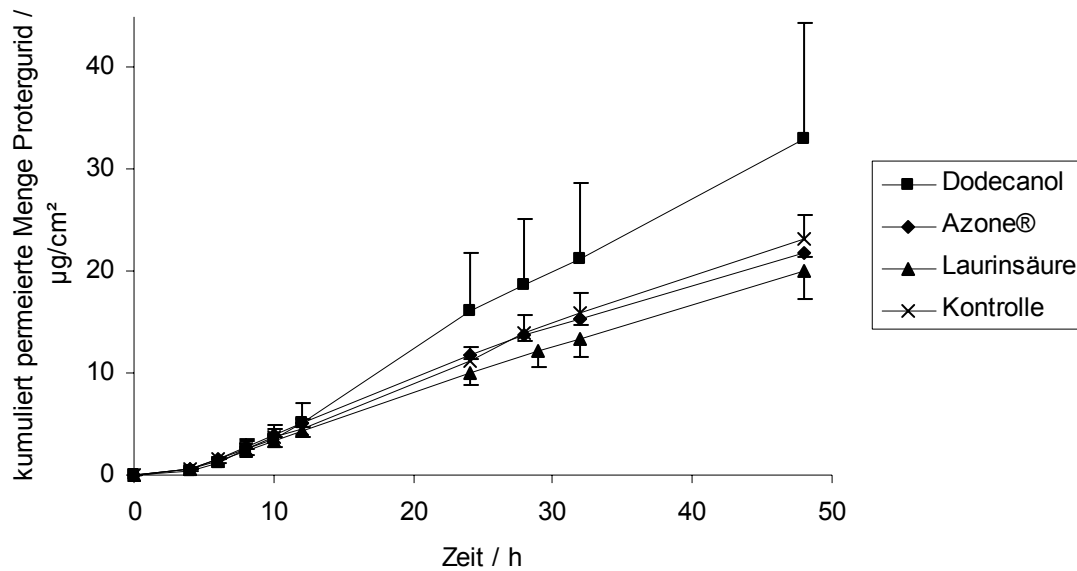


Abbildung 30: Permeationsprofile von Protergurid basierend auf Gelva®-Pflastern mit ~4% (m/m) Protergurid und ~5% (m/m) Permeationsverstärker. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von mindestens n = 3 Versuchen.

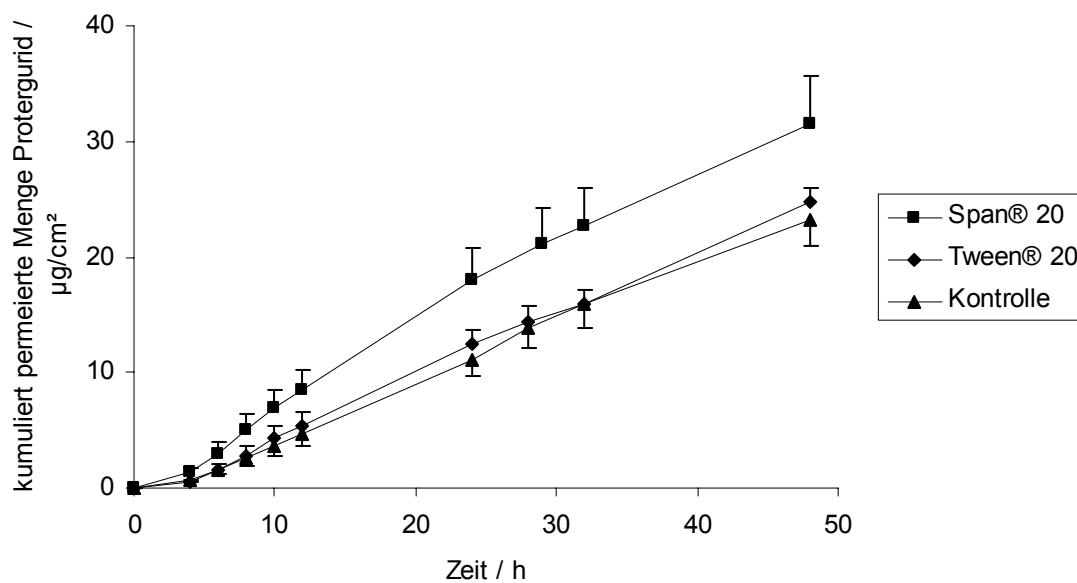


Abbildung 31: Permeationsprofile von Protergurid basierend auf Gelva®-Pflastern mit ~4% (m/m) Protergurid und ~5% (m/m) Permeationsverstärker. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von mindestens n = 3 Versuchen.

Tabelle 15: Permeationsdaten von Protergurid, ermittelt aus den Permeationsprofilen basierend auf Gelva®-Pflastern mit ~4% (m/m) Protergurid und ~5% Permeationsverstärker. NDP: N-Dodecylpyrrolidon. Angaben als Mittelwert (Standardabweichung).

Formulierung	Permeationsverstärker	n	Steady state Fluss μg/(cm ² · h)	48 h-Durchschnittsfluss μg/(cm ² · h)	Lag-time h
8	---	5	0,53 (0,06)	0,48 (0,05)	3,22 (0,93)
16	NDP	3	0,89 (0,15)	0,75 (0,10)	3,85 (0,38)
17	Dodecanol	3	0,84 (0,30)	0,69 (0,24)	5,26 (0,48)
18	Azone®	3	0,56 (0,01)	0,45 (0,01)	3,01 (0,38)
19	Laurinsäure	6	0,49 (0,06)	0,41 (0,06)	3,10 (0,54)
20	Span® 20	6	0,81 (0,11)	0,66 (0,09)	1,84 (0,81)
21	Tween® 20	3	0,60 (0,03)	0,51 (0,03)	3,01 (0,89)

Die chemischen Permeationsverstärker Azone®, Laurinsäure und Tween® 20 zeigten keinen signifikanten Einfluss auf den steady state Fluss von Protergurid. Die Latenzzeiten lagen für diese Formulierungen bei etwa drei Stunden und waren somit vergleichbar mit der Kontrollformulierung. Die Einarbeitung von Laurinsäure bewirkte eine pH-Absenkung der Gelva®-Matrix auf pH 5,7 (Kontrollformulierung ohne chemischen Permeationsverstärker: pH 6,6). Diese pH-Erniedrigung hatte zur Folge, dass der Anteil der dissoziierten und somit nicht zur Permeation befähigten Form des basischen Protergurids zunahm, so dass keine Steigerung des transdermalen Arzneistoffflusses erzielt werden konnte. Der steady state Fluss von Protergurid war aus den mit Laurinsäure formulierten Matrix-Transdermalsystemen mit 0,49 (0,06) μg/(cm² · h) tendenziell sogar etwas niedriger als bei der permeationsverstärkerfreien Kontrollformulierung.

N-Dodecylpyrrolidon konnte von den untersuchten chemischen Permeationsverstärkern als am geeignetsten eingestuft werden. Es ermöglichte den höchsten steady state Fluss von Protergurid aus den Gelva®-Transdermalsystemen. Überraschend war der fehlende permeationssteigernde Effekt von Azone®, welches strukturell dem N-Dodecylpyrrolidon sehr ähnlich ist und sich lediglich durch die Erweiterung des Lactam-Ringes um zwei Methylengruppen von dem Pyrrolidonderivat unterscheidet. Ferner wurde durch mehrere Studien bereits eine teils starke, transdermale Permeationssteigerung für eine Vielzahl von Arzneistoffen durch Azone® belegt (Degim et al., 1999; Ghosh und Bagherian, 1996; Gregorios et al., 2004; Harrison et al., 1996; Hirvonen et al., 1991; Singh et al., 2005).

Lopez et al. (2000) untersuchten in einer Studie die Permeationssteigerung von 5-Fluorouracil, Antipyrin (Phenazon), 2-Phenylethanol und 4-Phenylbutanol nach Vorbehandlung der exzidierten Haut männlicher Wistarratten mit verschiedenen Permeationsverstärkern in vitro. Als Donorvehikel wurden gesättigte Lösungen der Verbindungen in einem wässrigen Medium (pH 6,2) verwendet. Sie fanden für alle Verbindungen, welche sich durch unterschiedliche logP-Werte voneinander abgrenzten, dass Tween[®] 20 nur im Falle des hydrophilen 5-Fluorouracils eine geringe, jedoch signifikante Flussteigerung ermöglichte, wenn die Haut mit einer 5%igen Lösung vorbehandelt wurde. Span[®] 20 war in dieser Studie von Lopez et al. (2000) für alle untersuchten Modellverbindungen unter gleichen Bedingungen deutlich effektiver, ebenso wie Azone[®], welches jedoch die höchste Permeationssteigerung auch für 5-Fluorouracil ermöglichte.

Tween[®] 20 hebt sich von den in der vorliegenden Studie untersuchten Permeationsverstärkern durch seine räumlich große polare Kopfgruppe hervor, welche die Polyethylenglykol-Funktionen einschließt. Dies könnte bewirken, dass der transdermale Fluss des relativ lipophilen Protergurids nicht gesteigert werden konnte, so dass Tween[®] 20 seine permeationssteigernde Funktion eher für hydrophilere Moleküle, wie beispielsweise 5-Fluorouracil (logP-Wert: 0,95) entfalten kann. Lopez et al. (2000) postulierten eine verbesserte Verteilung für hydrophile Moleküle aufgrund eines erhöhten Wassergehaltes der Hornschicht.

Funke et al. (2002) untersuchten die Möglichkeiten einer Permeationssteigerung von hoch lipophilen, basischen Antiöstrogenen in vitro durch eine Kombination von Laurinsäure und Propylenglykol. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass eine Vorbehandlung bzw. eine Coapplikation dieses Gemisches von Permeationsverstärkern zu einer synergistischen Steigerung des transdermalen Wirkstoffflusses führte. Propylenglykol fördert als kleines, polares Molekül die Diffusion des Arzneistoffs und gegebenenfalls auch die weiterer Hilfsstoffe wie z. B. von weiteren in die Formulierung inkorporierten Permeationsverstärkern. Laurinsäure entfaltet seine permeationsfördernde Wirkung durch Einlagerung in die interzelluläre Lipiddomäne des Stratum corneums. Diese Aspekte führten zu folgenden Überlegungen, um den transdermalen Fluss von Protergurid zu optimieren:

- Ist es möglich, den transdermalen Fluss von Protergurid weiter zu steigern, indem eine Kombination von Permeationsverstärkern gewählt wird, in welcher die einzelnen Komponenten unterschiedliche Wirkmechanismen aufweisen (siehe Kapitel 2.5.5)?
- Ist es möglich, den transdermalen Fluss von Protergurid weiter zu steigern oder gar zu kontrollieren, indem die Konzentration des wirksamsten Permeationsverstärkers (N-Dodecylpyrrolidon) im Vehikel variiert wird (siehe Kapitel 2.6.6)?
- Ist es möglich, dass Azone[®] zur Steigerung des transdermalen Flusses von Protergurid in einer höheren Konzentration im Vehikel vorliegen muss, um seine Wirkung zu entfalten (siehe Kapitel 2.7.7)?

In den folgenden Kapiteln sind die Ergebnisse der Studien dargestellt und diskutiert, welche zur Klärung dieser Fragestellungen durchgeführt wurden.

2.5.5 Kombination von chemischen Permeationsverstärkern

Ziel dieser Untersuchung war es, zu überprüfen, ob durch eine Kombination von einem strukturell kleinen Permeationsverstärker, welcher die Verteilung des Arzneistoffs aus dem Vehikel in das Stratum corneum begünstigt, mit einem amphiphilen Permeationsverstärker, welcher durch Einlagerung in die Lipiddoppelschichten der Hornschicht der Haut zu einer Ruptur dieser interzellulären Lipiddomäne führt, der transdermale Fluss von Protergurid erhöht werden kann. Als Kombination wurde N-Methylpyrrolidon mit N-Dodecylpyrrolidon (1 + 1) gewählt, da sich insbesondere N-Dodecylpyrrolidon bereits als sehr effektiv zeigte, um den transdermalen Fluss von Protergurid zu steigern. Die effektive Konzentration an Protergurid und chemischen Permeationsverstärkern in dem Transdermalsystem sowie das mittlere Matrixgewicht sind in Tabelle 16 aufgeführt.

Tabelle 16: Experimentell bestimmte Matrixgewichte und Gehalte an Protergurid und Permeationsverstärker der Pflasterformulierungen (NMP: N-Methylpyrrolidon; NDP: N-Dodecylpyrrolidon). Angaben als Mittelwert (Standardabweichung) von n = 6 Bestimmungen.

Formulierung	Permeationsverstärker Gehalt % (m/m)		Matrixgewicht mg/10,2 cm ²	Gehalt Protergurid % (m/m)
8	---	---	49,1 (3,6)	3,84 (0,08)
16	---	NDP 4,79 (0,17)	55,9 (2,9)	3,74 (0,05)
22	NMP 3,77 (0,63)	NDP 4,97 (0,02)	57,0 (3,0)	3,69 (0,07)

Die Permeationsprofile von Protergurid (Abbildung 32) und die aus diesen ermittelten Permeationsdaten (Tabelle 17) zeigen, dass ein Zusatz von N-Methylpyrrolidon von 4% (m/m) zu einer Formulierung, welche mit 5% (m/m) N-Dodecylpyrrolidon beladen war, keine signifikanten Änderungen der Permeationsparameter steady state Fluss, 48-Stunden-Durchschnittsfluss und lag time von Protergurid in vitro ermöglichte. Dies schloss eine synergistische Wirkung dieser zwei Permeationsverstärker in den gewählten Konzentrationen für diesen Modellarzneistoff bei Verwendung der Gelva[®]-Matrix aus.

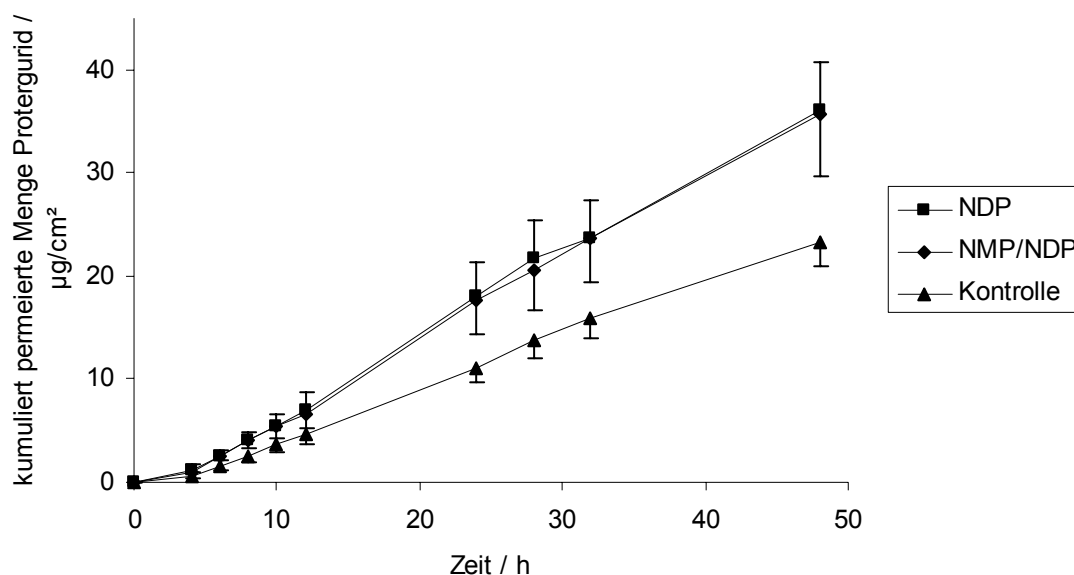


Abbildung 32: Permeationsprofile von Protergurid basierend auf Gelva[®]-Pflastern mit ~4% (m/m) Protergurid. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von mindestens n = 3 Versuchen.

Tabelle 17: Permeationsdaten von Protergurid, ermittelt aus den Permeationsprofilen basierend auf Gelva®-Pflastern mit ~4% (m/m) Protergurid (NMP: N-Methylpyrrolidon; NDP: N-Dodecylpyrrolidon). Angaben als Mittelwert (Standardabweichung).

Formulierung	Permeationsverstärker	n	Steady state Fluss μg/(cm ² · h)	48 h-Durchschnittsfluss μg/(cm ² · h)	Lag-time h
8	---	5	0,53 (0,06)	0,48 (0,05)	3,22 (0,93)
16	NDP	3	0,89 (0,15)	0,75 (0,10)	3,85 (0,38)
22	NMP/NDP	3	0,85 (0,17)	0,73 (0,12)	3,47 (0,53)

Sasaki et al. (1990b) konnten in einer Studie hingegen zeigen, dass der transdermale Fluss von Phenolrot durch die exzidierte Haut von männlichen Wistarratten *in vitro* drastisch erhöht wurde, wenn eine Kombination von N-Methylpyrrolidon und N-Dodecylpyrrolidon im Verhältnis 1 : 1 in Isopropylmyristat inkorporiert wurde, welche den Arzneistoff suspendiert enthielt. Dies war höchstwahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass N-Methylpyrrolidon, welches selbst lediglich einen verhältnismäßig schwachen permeationssteigernden Effekt aufwies, die Verteilung von N-Dodecylpyrrolidon in die Haut beschleunigte, so dass der Fluss von Phenolrot deutlich höher war, als wenn nur ein Pyrrolidonderivat in der Formulierung enthalten war. Eine Steigerung des transdermalen Flusses von Protergurid aus den auf dem Gelva®-Hauthaftkleber basierenden „drug in adhesive“-Matrixformulierungen war in der vorliegenden Studie durch die Permeationsverstärkerkombination N-Methylpyrrolidon / N-Dodecylpyrrolidon (1 + 1) jedoch nicht möglich.

Ergänzend wurde eine Kombination von Laurinsäure und N-Methylpyrrolidon auf eine synergistische Wirksamkeit auf den transdermalen Fluss von Protergurid untersucht. Laurinsäure, welche als alleiniger Permeationsverstärker keine Vorteile gegenüber der permeationsverstärkerfreien Kontrolle zeigte (siehe Kapitel 2.5.4), führte auch in Verbindung mit N-Methylpyrrolidon keine Flussteigerung herbei (Daten nicht dargestellt).

2.5.6 Variation der Konzentration von N-Dodecylpyrrolidon im Vehikel

2.5.6.1 Einfluss auf den transdermalen Fluss von Protergurid

Ein weiterer Aspekt, den es zu untersuchen galt, war, ob durch eine Erhöhung der Konzentration von N-Dodecylpyrrolidon im Transdermalsystem die Permeation von Protergurid verbessert werden konnte. Diesbezüglich wurde Protergurid in einer Konzentration von ~4% (m/m) zusammen mit unterschiedlichen Konzentrationen an N-Dodecylpyrrolidon im Bereich von 0 bis 20% (m/m) in einer Gelva[®]-Matrix formuliert und die Pflaster anschließend bezüglich ihrer Matrixgewichte und der effektiven Gehalte an Protergurid und N-Dodecylpyrrolidon charakterisiert (Tabelle 18). Die erhaltenen Permeationsprofile und die aus diesen ermittelten Permeationsdaten können Abbildung 33 und Tabelle 19 entnommen werden.

Tabelle 18: Experimentell bestimmte Matrixgewichte und Gehalte an Protergurid und N-Dodecylpyrrolidon (NDP). Angaben als Mittelwert (Standardabweichung) von n = 6 Bestimmungen.

Formulierung	Matrixgewicht mg/10,2 cm ²	Gehalt Protergurid % (m/m)	Gehalt NDP % (m/m)
8	49,1 (3,6)	3,84 (0,08)	---
23	57,4 (0,8)	3,65 (0,11)	1,16 (0,02)
24	51,5 (0,7)	3,89 (0,03)	2,66 (0,04)
16	55,9 (2,9)	3,74 (0,05)	4,79 (0,17)
25	56,5 (1,5)	3,79 (0,07)	6,88 (0,13)
26	53,8 (0,8)	3,47 (0,22)	9,73 (0,16)
27	60,2 (0,5)	3,63 (0,04)	13,64 (0,47)
28	68,0 (0,9)	3,70 (0,06)	18,61 (0,22)

Die Ergebnisse zeigen, dass der steady state Fluss von Protergurid durch Erhöhung der Konzentration von N-Dodecylpyrrolidon in der Formulierung tendenziell gesteigert werden konnte. Bei der höchsten gewählten Konzentration des Permeationsverstärkers von ~20% (m/m) betrug der steady state Fluss von Protergurid 1,43 (0,27) µg/(cm² · h) und war

demzufolge nahezu dreimal höher als im Falle der Kontrollformulierung und in etwa halbmaximal bezogen auf den steady state Fluss des Arzneistoffs aus der Kontrollformulierung durch vom Stratum corneum befreite Haut der haarlosen Maus. Bereits ab einer Beladung der Transdermalsysteme mit 5% N-Dodecylpyrrolidon war der steady state Fluss signifikant erhöht. Die kumulativ ins Rezeptorkompartiment übergetretene Menge an Protergurid wurde zu 17% bezogen auf die Ausgangsmenge (permeationsverstärkerfreie Kontrollformulierung: 11%) bestimmt. Die Latenzzeit betrug bei den mit N-Dodecylpyrrolidon formulierten Transdermalsystemen im Mittel etwa 3,2 Stunden und war somit vergleichbar mit der der permeationsverstärkerfreien Kontrolle.

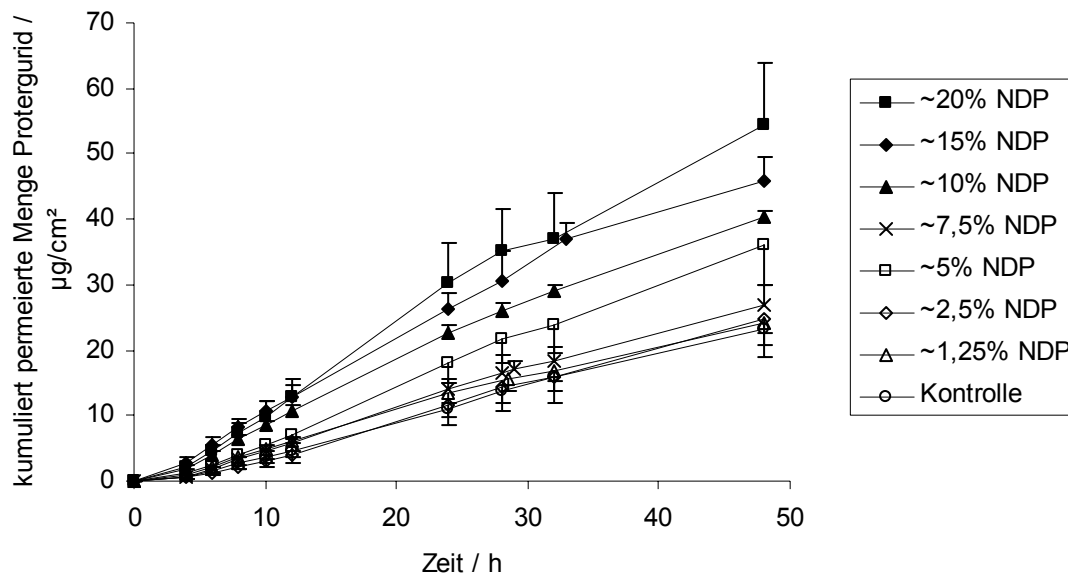


Abbildung 33: Permeationsprofile von Protergurid basierend auf Gelva[®]-Pflastern mit ~4% (m/m) Protergurid und unterschiedlichem Gehalt an N-Dodecylpyrrolidon (NDP). Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von mindestens n = 3 Versuchen.

Tabelle 19: Permeationsdaten von Protergurid, ermittelt aus den Permeationsprofilen basierend auf Gelva®-Pflastern mit ~4% (m/m) Protergurid und unterschiedlichem Gehalt an N-Dodecylpyrrolidon (NDP). Angaben als Mittelwert (Standardabweichung).

Formulierung	NDP % (m/m)	n	Steady state Fluss μg/(cm ² · h)	48 h-Durchschnittsfluss μg/(cm ² · h)	Lag-time h
8	---	5	0,53 (0,06)	0,48 (0,05)	3,22 (0,93)
23	1,16 (0,02)	4	0,62 (0,04)	0,51 (0,04)	2,56 (1,90)
24	2,66 (0,04)	3	0,63 (0,16)	0,52 (0,12)	5,57 (0,19)
16	4,79 (0,17)	3	0,89 (0,15)	0,75 (0,10)	3,85 (0,38)
25	6,88 (0,13)	5	0,68 (0,08)	0,56 (0,06)	3,01 (0,64)
26	9,73 (0,16)	3	1,02 (0,04)	0,84 (0,02)	3,31 (0,68)
27	13,64 (0,47)	3	1,15 (0,06)	0,95 (0,08)	0,99 (1,07)
28	18,61 (0,22)	3	1,43 (0,27)	1,13 (0,20)	2,94 (0,28)

Abbildung 34 enthält eine Darstellung der erzielten steady state Flüsse von Protergurid in Abhängigkeit von der Konzentration an N-Dodecylpyrrolidon in der Formulierung. Diese zeigt, dass mit steigender Konzentration des Permeationsverstärkers der steady state Fluss des Arzneistoffs linear zunahm. Die Regressionsgerade wies eine Korrelation von $R = 0,961$ auf und wurde durch folgende Gleichung beschrieben:

$$J_{ss}([NDP]) = 0,047 \frac{\mu\text{g}}{(\text{cm}^2 \cdot \text{h} \cdot \%)} \cdot [NDP] + 0,53 \frac{\mu\text{g}}{(\text{cm}^2 \cdot \text{h})} \quad , \text{ für } 0 < [NDP] < 20 \quad (8)$$

mit:

J_{ss} Steady state Fluss von Protergurid in $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$

$[NDP]$ Konzentration an N-Dodecylpyrrolidon in % (m/m).

Dies impliziert, dass eine Konzentration von ungefähr 10% (m/m) an N-Dodecylpyrrolidon den steady state Fluss von Protergurid gegenüber der permeationsverstärkerfreien Kontrolle nahezu verdoppelte. Aufgrund des linearen Zusammenhangs zwischen den Parametern steady state Fluss von Protergurid und Konzentration von N-Dodecylpyrrolidon war eine Steuerung des transdermalen Wirkstoffflusses durch Variierung der Konzentration des Permeationsverstärkers gegeben.

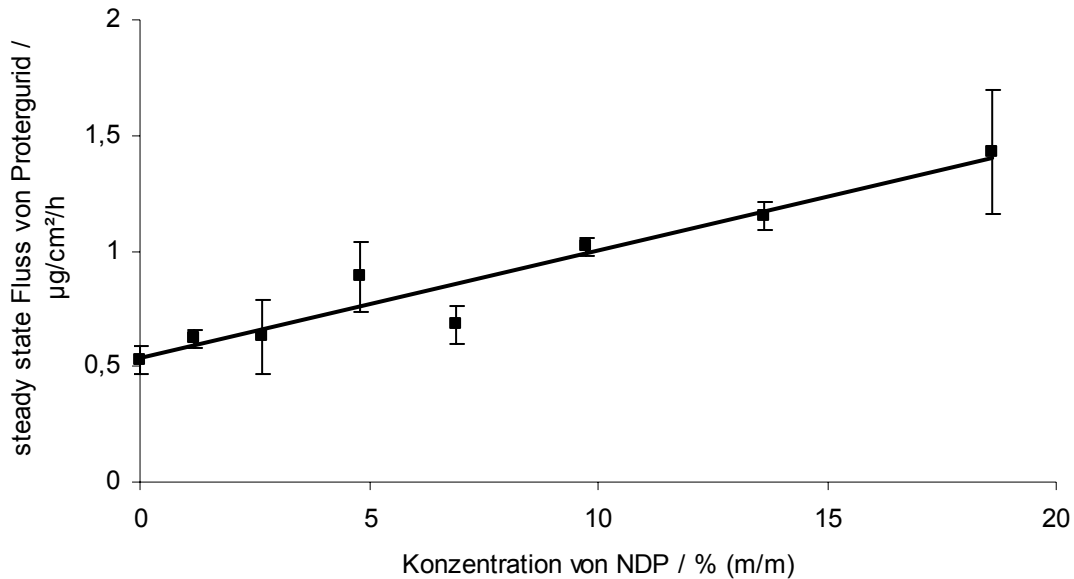


Abbildung 34: Darstellung der Abhängigkeit des steady state Flusses von Protergurid von der Konzentration an N-Dodecylpyrrolidon (NDP) in den Transdermalsystemen basierend auf dem Gelva[®]-Hauthaftkleber mit einer Beladung von ~4% Protergurid. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von mindestens n = 3 Versuchen und die lineare Regressionsgerade.

Zur Überprüfung der physikalischen Stabilität der Pflaster wurden stellvertretend die Formulierungen mit 5% (m/m), 10% (m/m) und 20% (m/m) N-Dodecylpyrrolidon nach einer sechsmonatigen Lagerung bei Raumtemperatur in verschlossenen Siegelrandbeuteln einer polarisationsmikroskopischen Kontrolle unterworfen. Sämtliche Transdermalsysteme (10,2 cm²; n = 3 pro Formulierung) waren frei von Kristallen und konnten demnach für dieses Zeitintervall als physikalisch stabil bewertet werden.

Park et al. (2001) untersuchten die transdermale Absorption des ACE-Hemmers Captopril auf Basis von Acrylatpflastern durch die exzidierte Rattenhaut in vitro mit Hilfe der langkettigen Alkohole Dodecanol und Oleylalkohol als Permeationsverstärker. Sie fanden durch eine Darstellung des transdermalen Flusses von Captopril gegen die Konzentration des Alkohols in dem Pflaster, dass nach anfänglich linearer Flusststeigerung ein Maximalfluss von Captopril bei etwa 10% Permeationsverstärker erreicht wurde, welcher sich durch eine weitere Erhöhung auf 20% nicht weiter erhöhen ließ. Dodecanol war in dieser Studie effektiver als Oleylalkohol. Die hier dargestellten Daten hingegen zeigen, dass über den Konzentrationsbereich von 0 bis 20% (m/m) bezogen auf N-Dodecylpyrrolidon der transdermale Fluss des 8 α -Aminoergolinderivates Protergurid linear gesteigert werden

konnte, ohne dass ein Maximalfluss erzielt wurde. N-Dodecylpyrrolidon erwies sich folglich als ein vielversprechender, chemischer Permeationsverstärker für Protergurid.

2.5.6.2 Permeation von N-Dodecylpyrrolidon in vitro

Bei der Applikation einer transdermalen Formulierung können neben dem Arzneistoff auch Hilfsstoffe resorbiert werden. Um zu überprüfen, ob mit einer systemischen Belastung mit N-Dodecylpyrrolidon gerechnet werden muss, wurde Formulierung 16 (~4% (m/m) Protergurid und ~5% (m/m) N-Dodecylpyrrolidon) auf den transdermalen Fluss des Permeationsverstärkers untersucht. Diese Formulierung wurde ausgewählt, da sie bereits bei geringer Konzentration des Permeationsverstärkers eine signifikante Flusssteigerung von Protergurid gegenüber der Kontrollformulierung ermöglichte. Das in vitro Permeationsprofil von N-Dodecylpyrrolidon aus dieser Formulierung ist in Abbildung 35 dargestellt.

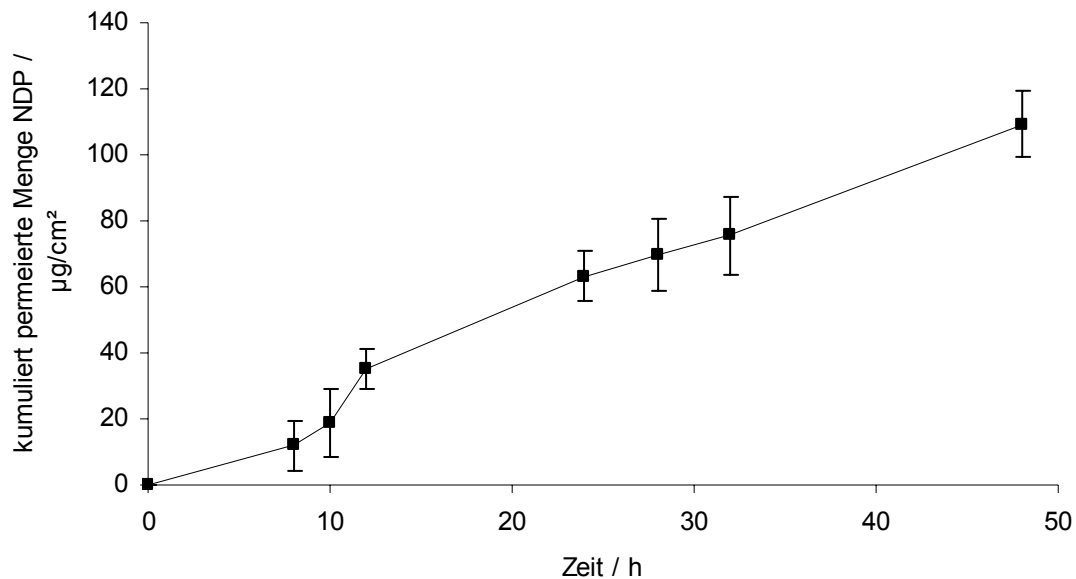


Abbildung 35: Permeationsprofil von N-Dodecylpyrrolidon aus Formulierung 11 (~4% (m/m) Protergurid, ~5% (m/m) N-Dodecylpyrrolidon) durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von n = 3 Versuchen.

Der steady state Fluss von N-Dodecylpyrrolidon betrug 2,62 (0,24) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ und setzte bereits nach einer kurzen Latenzzeit von ungefähr eineinhalb Stunden ein. Die gesamte, binnen 48 Stunden permeierte Menge des Permeationsverstärkers konnte zu etwa 11,5% bezogen auf den effektiven Gehalt der Pflaster berechnet werden. Diese Ergebnisse deuteten daraufhin, dass N-Dodecylpyrrolidon eine systemische Bioverfügbarkeit in vivo erwarten ließe. Aufgrund der geringeren Permeabilität von Humanhaut im Verhältnis zu der exzidierten Haut der haarlosen Maus können jedoch geringere Flüsse angenommen werden.

Der LD₅₀-Wert (oral) in Ratten kann als $> 5 \text{ g/kg}$ Körpergewicht angegeben werden (Surfadone[®] LP300 Toxicity Information; ISP, 2004). In einer Studie zur Bewertung der oralen Toxizität über vier Wochen wurden Ratten täglich unterschiedliche Dosen von N-Dodecylpyrrolidon in Maiskeimöl verabreicht, wobei spezifische Veränderungen z. B. im Lebergewicht oder in Pyruvat-Glutamat-Transaminase-Konzentrationen erst in der hohen Dosierung von 1 g/kg Körpergewicht nachgewiesen wurden (Surfadone[®] LP300 Toxicity Information; ISP, 2004). Bei Applikation eines ausreichend dimensionierten Transdermalsystems, um Protergurid in therapeutischen Dosen zu verabreichen, können jedoch derart hohe systemische Belastungen mit N-Dodecylpyrrolidon aufgrund der geringen transdermalen Bioverfügbarkeit des Permeationsverstärkers ausgeschlossen werden. Wird der Humanhaut eine im Vergleich zu der exzidierten Haut der haarlosen Maus um einen Faktor von 10 geringere Permeabilität zugrunde gelegt (Lipp, 2000), so läge bei einem mit 5% N-Dodecylpyrrolidon beladenem Transdermalsystem einer Größe von 15 cm² die täglich bioverfügbare Dosis bei unter 100 μg . N-Dodecylpyrrolidon ist, ebenso wie N-Octylpyrrolidon, weder komedogen, phototoxisch, mutagen oder sensibilisierend (Surfadone[®] LP100 / 300 Toxicity Information; ISP, 2004), und ist zugelassen, um beispielsweise in Haarwaschmitteln in Konzentrationen von etwa 1,5% Stabilisatoren, Verdickungsmittel und Konditioniermittel zu ersetzen (Fiedler, 2002). Die vorliegenden Daten bezüglich der Toxizität und das am EpiDerm[®]-Modell ermittelte Irritationspotential verbieten nicht eine Anwendung von N-Dodecylpyrrolidon als chemischen Permeationsverstärker, jedoch ist vor dem Einsatz als pharmazeutischer Hilfsstoff in einem transdermalen Arzneimittel u. a. eine sorgfältige in vivo-Evaluierung der Hautverträglichkeit zwingend erforderlich.

2.5.7 Variation der Konzentration von Azone[®] im Vehikel

2.5.7.1 Einfluss auf das Freisetungsverhalten in vitro

Zunächst wurde untersucht, ob die Einarbeitung eines chemischen Permeationsverstärkers in die auf dem Gelva[®]-Hauthaftkleber basierenden Transdermalsysteme einen Einfluss auf das Freisetungsverhalten in vitro nimmt. Dazu wurden Matrix-Transdermalsysteme auf Basis des Gelva[®]-Hauthaftklebers mit jeweils 4% (m/m) Protergurid und variierendem Gehalt an Azone[®] hergestellt (Tabelle 20) und in einem Dissolutionstester nach der „disk assembly“-Methode (Medium: Phosphatpuffer pH 5,5) auf die Freisetzung von Protergurid untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 36 und Abbildung 37 grafisch dargestellt und lassen deutlich erkennen, dass mit zunehmendem Gehalt an Azone[®] die Freisetzung von Protergurid beschleunigt wurde. Protergurid wurde in allen Fällen gemäß einer Quadratwurzel-Zeit-Kinetik freigesetzt ($R > 0,9995$), sofern der in der Formulierung verbliebene Anteil an Wirkstoff noch etwa 30 bis 50% betrug, und stand somit im Einklang mit den Bedingungen von Higuchi (siehe Kapitel 1.3.3). Basierend auf Gleichung 4 (siehe Kapitel 1.3.3), welche die Wirkstofffreisetzung aus Matrixsystemen charakterisiert, konnte die beschleunigte Freisetzung von Protergurid mit zunehmendem Gehalt an Azone[®] zurückgeführt werden auf eine verbesserte Diffusion des Arzneistoffs in der Matrixformulierung. Diffusionsfläche und Konzentration an Arzneistoff waren in den einzelnen Formulierungen als konstant zu bewerten, so dass eine Erhöhung des Diffusionskoeffizienten in Abhängigkeit von der Konzentration des Permeationsverstärkers resultierte.

Tabelle 20: Experimentell bestimmte Matrixgewichte und Gehalte an Protergurid und Azone[®]. Angaben als Mittelwert (Standardabweichung) von n = 6 Bestimmungen.

Formulierung	Matrixgewicht mg/10,2 cm ²	Gehalt Protergurid % (m/m)	Gehalt Azone [®] % (m/m)
8	49,1 (3,6)	3,84 (0,08)	---
18	59,8 (1,1)	3,94 (0,18)	5,29 (0,03)
30	62,5 (1,1)	3,93 (0,14)	9,89 (0,43)
31	59,3 (1,0)	4,17 (0,28)	14,91 (0,23)
32	59,5 (2,1)	4,09 (0,31)	20,01 (0,59)

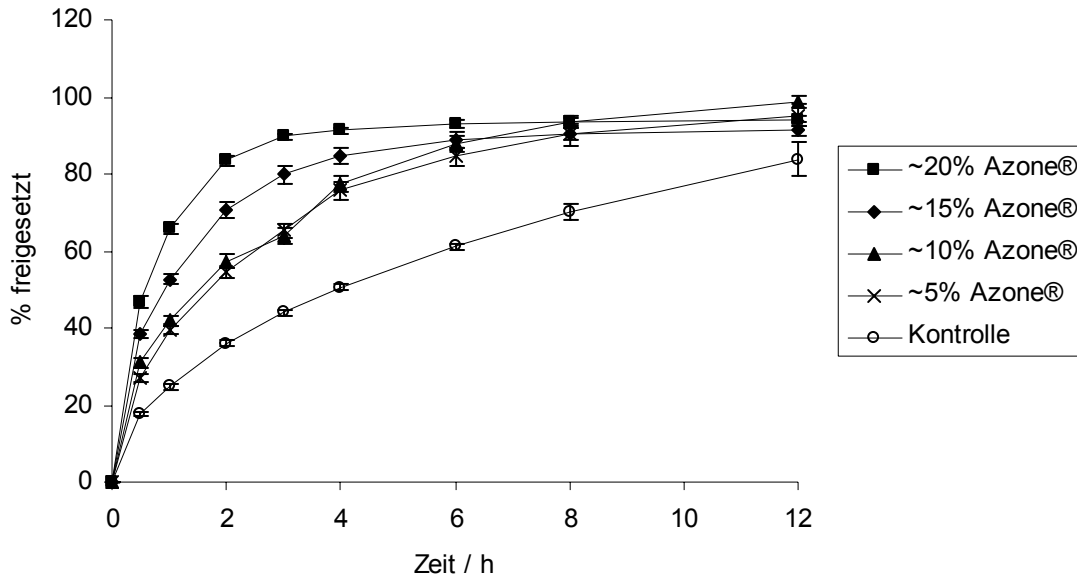


Abbildung 36: In vitro Freisetzung von Protergurid aus Gelva®-basierten Pflastern mit einem Wirkstoffgehalt von ~4% (m/m) und variierendem Gehalt an Azone®, bezogen auf den effektiven Gehalt an Protergurid. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von n = 6 Bestimmungen.

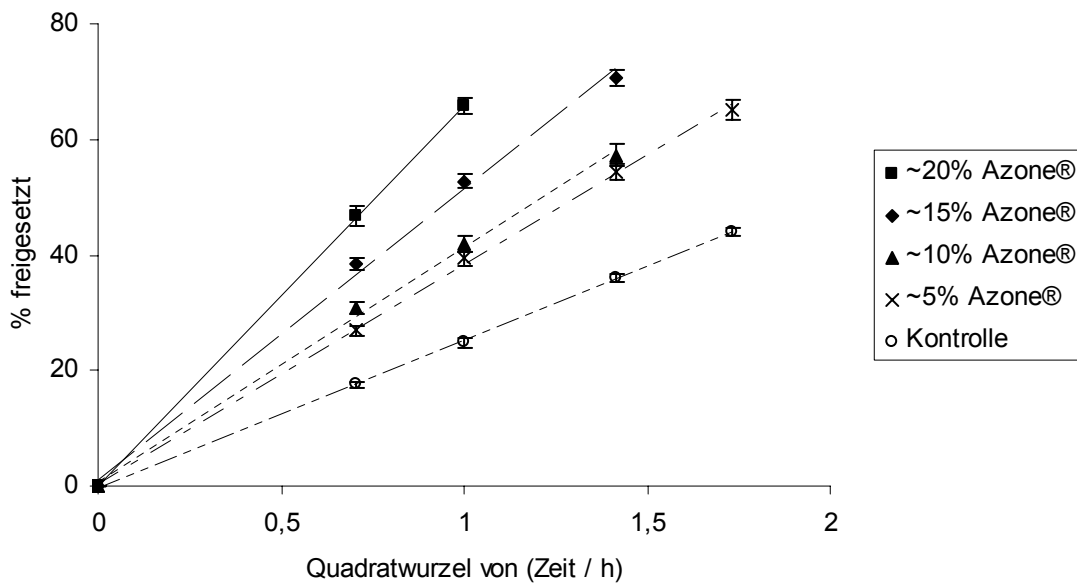


Abbildung 37: In vitro Freisetzung von Protergurid aus Gelva®-basierten Pflastern mit einem Wirkstoffgehalt von ~4% (m/m) und variierendem Gehalt an Azone®, bezogen auf den effektiven Gehalt an Protergurid. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von n = 6 Bestimmungen. Darstellung gegenüber der Quadratwurzel der Zeit.

2.5.7.2 Einfluss auf den transdermalen Fluss von Protergurid

In Kapitel 2.5.4 wurde festgestellt, dass Azone[®] nahezu keinen Einfluss auf den transdermalen Fluss von Protergurid zeigte, wenn dieser Permeationsverstärker in einer Konzentration von 5% (m/m) in dem Transdermalsystem verwendet wurde. Viele Studien belegten jedoch gute permeationssteigernde Eigenschaften von Azone[®], auch bereits bei Anwendung in geringer Konzentration, für eine Reihe von Arzneistoffen mit unterschiedlichen physiko-chemischen Eigenschaften (Degim et al., 1999; Ghosh und Bagherian, 1996; Gregorios et al., 2004; Harrison et al., 1996; Hirvonen et al., 1991; Singh et al., 2005), wobei der Beschaffenheit des Vehikels eine hohe Bedeutung beizumessen ist (Sinha und Kaur, 2000).

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, herauszufinden, ob die mangelnde Permeationssteigerung von Protergurid durch Azone[®] 5% (m/m) zurückzuführen war auf einen prinzipiellen Nicht-Effekt, oder ob eine Schwellendosis überschritten werden musste, um signifikante Änderungen des steady state Flusses von Protergurid zu erzielen. So wurden die Formulierungen mit unterschiedlichem Gehalt an Azone[®] aber konstantem Gehalt an Protergurid (~4% (m/m) einer Untersuchung auf das transdermale Permeationsverhalten des Arzneistoffs unterworfen. Die Permeationsprofile (Abbildung 38) und die aus diesen abgeleiteten Werte für die transdermalen Flüsse von Protergurid und lag times (Tabelle 21) zeigen, dass Azone[®] die Latenzzeiten bis zum Einsetzen des steady state Flusses von Protergurid nicht signifikant beeinflusste. Der steady state Fluss von Protergurid konnte nur bei den Formulierungen 31 und 32 (15% (m/m) Azone[®] und 20% (m/m) Azone[®]) als signifikant höher gewertet werden. Dies impliziert, dass Azone[®] zwar den transdermalen Fluss des Modellarzneistoffs zu erhöhen vermochte, dies jedoch erst in höheren Konzentrationen und deutlich weniger effektiv als das strukturell ähnliche N-Dodecylpyrrolidon (siehe Kapitel 2.5.6). 20% (m/m) Azone[®] erhöhten die Permeation von Protergurid durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus um einen Faktor von etwa 1,6 im Vergleich zu der permeationsverstärkerfreien Kontrollformulierung. Im Falle von N-Dodecylpyrrolidon 20% (m/m) lag der Faktor bei etwa 2,7, was die Effektivität des Pyrrolidonderivates unterstreicht. Nach Lagerung bei Raumtemperatur in versiegelten Beuteln aus Aluminiumverbundfolie wurden die einzelnen Formulierungen polarisationsmikroskopisch auf Kristalle untersucht. Alle Formulierungen waren über mindestens sechs Monate frei von Kristallen und somit als stabil zu bewerten.

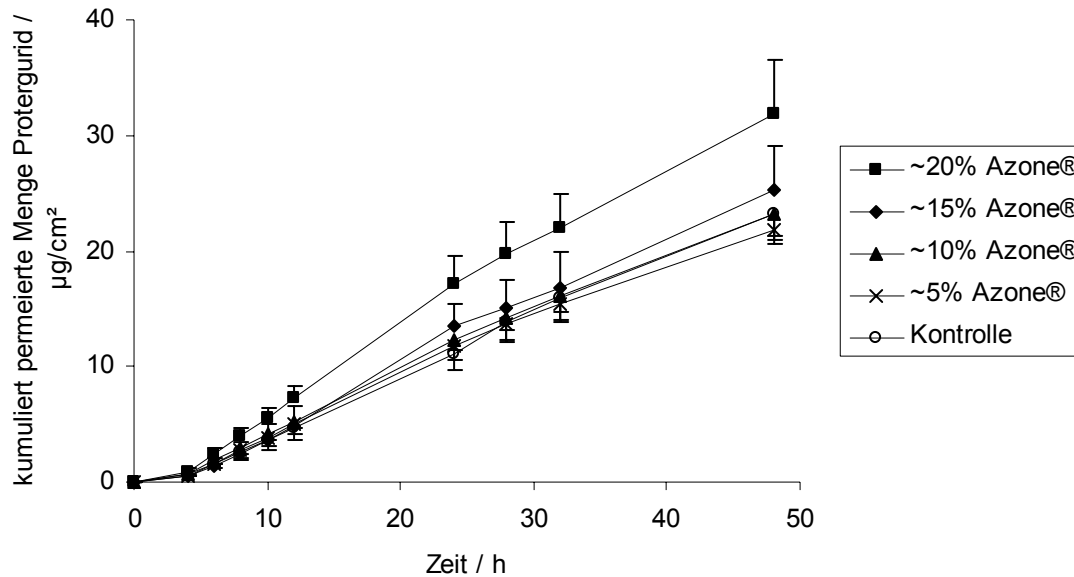


Abbildung 38: Permeationsprofile von Protergurid basierend auf Gelva[®]-Pflastern mit ~4% (m/m) Protergurid und unterschiedlichem Gehalt an Azone[®]. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von mindestens n = 3 Versuchen.

Tabelle 21: Permeationsdaten von Protergurid, ermittelt aus den Permeationsprofilen basierend auf Gelva[®]-Pflastern mit ~4% (m/m) Protergurid und unterschiedlichem Gehalt an Azone[®]. Angaben als Mittelwert (Standardabweichung).

Formulierung	Azone [®] % (m/m)	n	Steady state Fluss µg/(cm ² · h)	48 h-Durchschnittsfluss µg/(cm ² · h)	Lag-time h
8	---	5	0,53 (0,06)	0,48 (0,05)	3,22 (0,93)
18	5,29 (0,03)	3	0,56 (0,01)	0,45 (0,01)	3,01 (0,38)
30	9,89 (0,43)	3	0,58 (0,08)	0,48 (0,06)	2,98 (0,64)
31	14,91 (0,23)	3	0,68 (0,09)	0,52 (0,08)	4,39 (1,62)
32	20,01 (0,59)	3	0,83 (0,11)	0,66 (0,10)	3,22 (0,68)

2.5.7.3 Permeation von Azone[®] in vitro

Neben den Flüssen von Protergurid wurde aus den Formulierungen 18, 30, 31 und 32 auch die transdermale Absorption des Permeationsverstärkers Azone[®] in vitro untersucht. Ziel war es, auszuschließen, dass der Permeationsverstärker sich nicht oder nur unzureichend in die Haut, den Wirkort, verteilt und aus diesem Grund seinen permeationsfördernden Effekt nicht voll entfalten konnte.

Die Permeationsprofile von Azone[®], dargestellt in Abbildung 39, zeigen, dass diese Substanz die Hautbarriere *in vitro* überwinden konnte. Der steady state Fluss von Azone[®] setzte erst nach einer verhältnismäßig langen Latenzphase von ungefähr sieben Stunden ein (Tabelle 22) und erzielte Werte von bis zu 3,51 (0,42) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$. Prinzipiell war die Permeation von Azone[®] bei gleicher Beladung jedoch signifikant geringer als die des N-Dodecylpyrrolidons (1,00 (0,14) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ und 2,62 (0,24) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ bei 5% (m/m) Permeationsverstärker). Die binnen der Versuchsdauer von 48 Stunden permeierten Mengen an Azone[®] lagen jeweils im Bereich von 10,5 bis 12,5% der eingesetzten Dosen. Ebenso wie N-Dodecylpyrrolidon zeigt Azone[®], welches primär renal ausgeschieden wird (Wiechers et al., 1990), mit einem LD₅₀-Wert von 8 g/kg nach oraler Verabreichung an Ratten eine ausgesprochen geringe Toxizität (Stoughton, 1982).

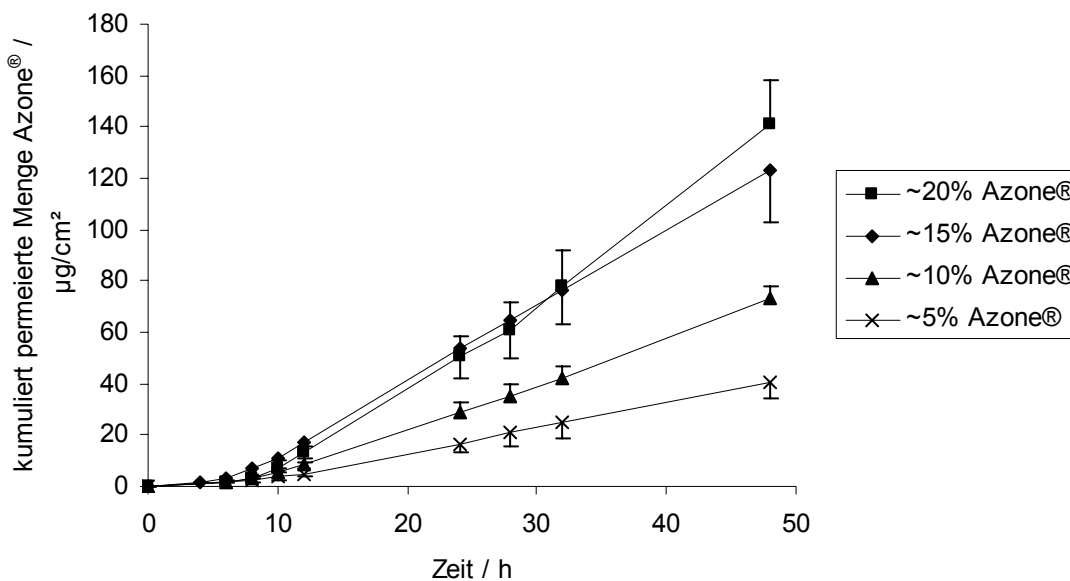


Abbildung 39: Permeationsprofile von Azone[®] basierend auf Gelva[®]-Pflastern mit ~4% (m/m) Protergurid und unterschiedlichem Gehalt an Azone[®]. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von n = 3 Versuchen.

Tabelle 22: Permeationsdaten von Azone[®], ermittelt aus den Permeationsprofilen basierend auf Gelva[®]-Pflastern mit ~4% (m/m) Protergurid und unterschiedlichem Gehalt an Azone[®]. Angaben als Mittelwert (Standardabweichung).

Formulierung	Azone [®] % (m/m)	n	Steady state Fluss $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$	48 h-Durchschnittsfluss $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$	Lag-time h
18	5,29 (0,03)	3	1,00 (0,14)	0,84 (0,12)	7,26 (1,47)
30	9,89 (0,43)	3	1,75 (0,15)	1,51 (0,12)	7,36 (0,96)
31	14,91 (0,23)	3	2,96 (0,40)	2,56 (0,43)	6,37 (1,58)
32	20,01 (0,59)	3	3,51 (0,42)	2,94 (0,36)	8,81 (0,67)

Werden die erhaltenen steady state Flüsse von Azone[®] in Abhängigkeit von der Konzentration im Vehikel grafisch dargestellt (Abbildung 40), so zeigt sich, dass der transdermale Fluss des Permeationsverstärkers mit steigender Konzentration linear zunimmt. Die berechnete Regressionsgerade wies eine Korrelation von $R = 0,995$ auf. Dies wird begründet durch das 1. Fick'sche Diffusionsgesetz (Gleichung 1, Kapitel 1.2.5), wonach der Substanzfluss linear abhängig von der Konzentration im Vehikel ist. Azone[®] ist bei Raumtemperatur eine Flüssigkeit und lag in den Transdermalsystemen ausschließlich gelöst vor.

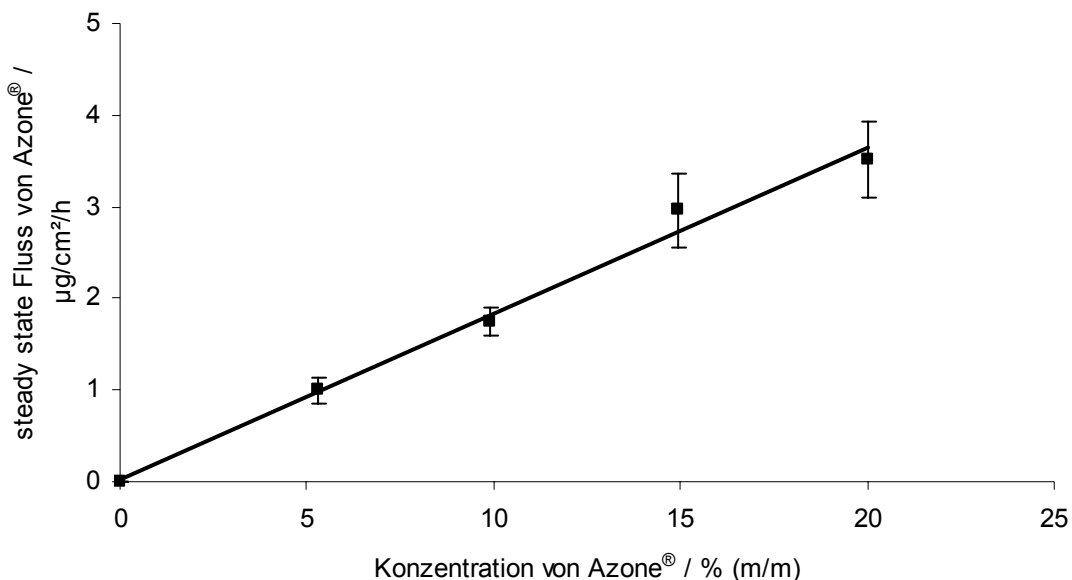


Abbildung 40: Darstellung der Abhängigkeit des steady state Flusses von Azone[®] von der Konzentration in den Transdermalsystemen basierend auf dem Gelva[®]-Hauthaftkleber mit einer Beladung von ~4% Protergurid. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von $n = 3$ Versuchen und die lineare Regressionsgerade.

2.5.7.4 Hautirritation von Azone®

Das Hautirritationspotential von Azone® wurde, wie bereits bei der Gruppe der N-Alkylpyrrolidone, am EpiDerm®-Modell der Firma MatTek bestimmt. Aus den in Abbildung 41 dargestellten Ergebnissen ist ersichtlich, dass Azone®, sofern pur appliziert, als sehr mild bis nicht-irritierend eingestuft werden konnte (ET-50 > 18 h). Durch Verdünnung mit Propylenglykol auf 10% erschien die Substanz drastisch irritierender (ET-50 = 2,49 h). Diese Zunahme des Irritationspotentials durch Verdünnung mit Propylenglykol wurde bereits, jedoch in geringerem Maße, auch für N-Dodecylpyrrolidon nachgewiesen. Dodecanol, ein weiterer in dieser Arbeit verwendeter Permeationsverstärker mit einem zwölf-gliedrigen Kohlenstoffrest, zeigte an dem EpiDerm®-Modell einen ET-50-Wert von 13,46 h und konnte somit als mild irritierend bewertet werden (Daten nicht grafisch dargestellt). Verdünnt mit Propylenglykol auf 10% verstärkte sich auch bei dieser Substanz das Irritationspotential deutlich (ET-50 = 3,82 h).

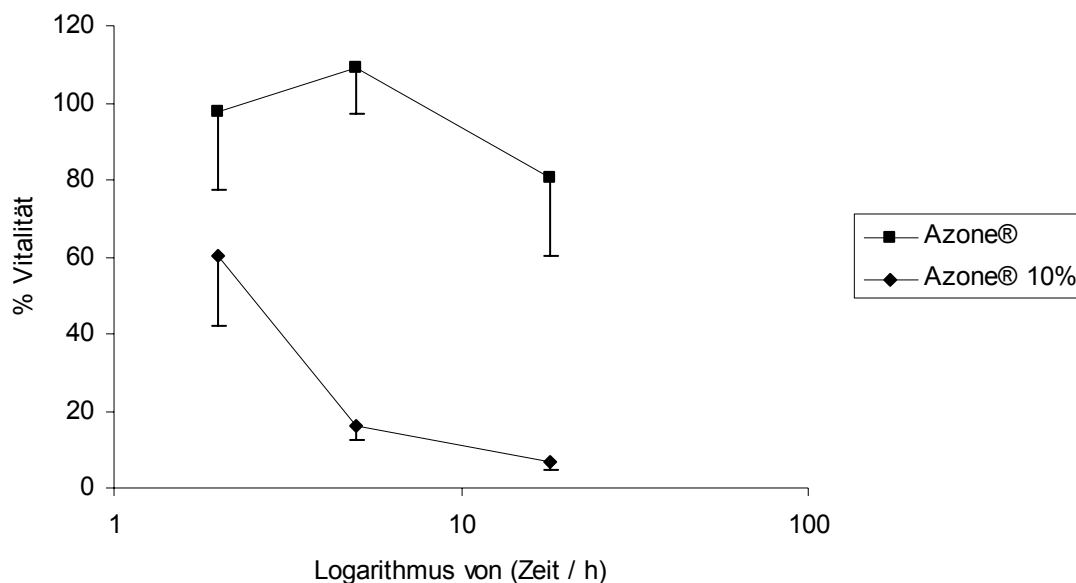


Abbildung 41: Abhängigkeit der Gewebewitalität von EpiDerm® von der Dauer der Exposition zu Azone®. Lösungsmittel: Propylenglykol. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von je n = 4 Versuchen von 2 Chargen EpiDerm®.

2.5.7.5 Diskussion

Azone[®] entfaltet seine permeationsfördernde Wirkung, ähnlich wie die N-Alkylpyrrolidone oder Alkohole mit einem längeren Alkylrest, durch Interkalation in die Lipiddoppelschichten und einer daraus resultierenden begünstigten Verteilung des Arzneistoffs sowie einer erhöhten Permeabilität der Haut (He et al., 2002; Hirvonen et al., 1994; Zhou et al., 2005). Eine Extraktion von Lipiden aus dem Stratum corneum konnte ausgeschlossen werden (Sugibayashi et al., 1990), jedoch geben Ergebnisse von Experimenten mittels Differential Scanning Calorimetry Hinweise, dass Proteinstrukturen beeinflusst werden könnten (Lambert et al., 1989). Zhou et al. (2005) zeigten, dass Azone[®] in einem ethanolischen Vehikel die transzelluläre Permeation von Ferulsäure ermöglichte, während im Falle der Azone[®]-freien Kontrolle die Permeation ausschließlich interzellulär erfolgte. Dies gibt weiteren Grund zu der Annahme, dass Azone[®] neben der interzellulären Lipidmatrix auch Einfluss auf die intrazellulären Proteine nimmt, wobei Zhou et al. (2005) eine Konformationsänderung des Keratins postulieren. Durch Leitfähigkeitsexperimente konnte ferner gezeigt werden, dass Azone[®] den Wassergehalt der Hornschicht erhöhen kann, was zu seiner die Permeation von Arzneistoffen beeinflussenden Wirkung beiträgt (Sugibayashi et al., 1992). Dieser komplexe Mechanismus scheint gegenwärtig dafür verantwortlich zu sein, dass Azone[®] die transdermalen Flüsse einer Vielzahl von Modellsubstanzen beeinflusst, wobei zu beachten ist, dass eine Hydratation des Stratum corneums die Permeation von eher hydrophilen Substanzen erleichtert, jedoch die von lipophileren erschwert, so dass diese Wirkkomponente dem durch die Interkalation hervorgerufenen Effekt der Störung der Lipidanordnung in diesem Fall entgegenwirkte.

Die transdermale Permeation des hochlipophilen Virustatikums Arildone konnte durch Zusatz von 5% Azone[®] zu einer Lösung auf Basis von Propylenglykol in vitro nicht gesteigert werden (Baker und Hadgraft, 1995). Dies wurde von den Autoren dadurch erklärt und experimentell belegt, dass für diesen hochlipophilen Arzneistoff die hydrophileren Bereiche der Epidermis und oberen Dermis die Hauptbarriere darstellten, so dass Arildone in dem Stratum corneum akkumuliert. Fang et al. (2003) zeigten in ihrer Studie, dass verschiedene Fettsäuren den transdermalen Fluss des nicht-steroidalen Antiphlogistikums Flurbiprofen erhöhten, nicht jedoch 5% Azone[®], was auf den hydratisierenden Effekt des Permeationsverstärkers zurückzuführen war, welcher sich bei lipophileren Modellarzneistoffen negativ auf die Permeation ausübt. Dieser hydratisierende Effekt scheint

auch in der vorliegenden Studie die Permeation von Protergurid zu limitieren. Die Permeationsverstärker Dodecanol und N-Dodecylpyrrolidon, welche zu einer reversiblen Ruptur der interzellulären Lipiddoppelschichten führen, ermöglichten eine deutliche Steigerung des transdermalen Wirkstoffflusses. Die geringere Effektivität von Azone[®] in dieser Versuchsreihe war somit höchstwahrscheinlich auf dessen zusätzliche Fähigkeit, Wasser im Stratum corneum zu halten, zurückzuführen und auf eine geringere Penetration in diese Hautschicht.

Azone[®] wurde als nicht irritierend beschrieben, wenn es als Reinsubstanz dermal appliziert wurde (Stoughton, 1982). In einer Phase I/II-Pilotstudie mit einer topischen Gelformulierung mit Methotrexat-Laurocapram gegen Mycosis fungoides, einer Form des cutanen T-Zell-Lymphoms, über 24 Wochen mit einer einmal täglichen Applikation (12,5 oder 25 g Methotrexat-Laurocapram pro m² Haut) konnte gezeigt werden, dass die Formulierung gut vertragen wurde und lediglich eine milde hautirritierende Wirkung aufwies (Demierre et al., 2003). Diese Resultate stehen im Kontrast zu den Ergebnissen von Fang et al. (2003), welche für Azone[®]-haltige Hydrogele ein moderates Irritationspotential an der rasierten Rattenhaut in vivo fanden.

Die erzielten Ergebnisse an dem EpiDerm[®]-Modell der Firma MatTek ließen für Azone[®] auf eine sehr milde bis nicht vorhandene Irritation schließen, sofern die Verbindung rein appliziert wurde. Dies steht im Einklang mit den Aussagen von Stoughton (1982). Wurde Azone[®] hingegen als 10%ige Lösung in Propylenglykol verwendet, sank der ET-50-Wert auf 2,49 Stunden, was auf eine moderate Irritation hindeutete. Ein ähnliches Verhalten konnte für den chemischen Permeationsverstärker Dodecanol nachgewiesen werden. Dieser Anstieg des irritierenden Potentials durch Verdünnung der Testsubstanzen mit Propylenglykol, welcher in geringerem Maße auch im Falle von N-Dodecylpyrrolidon beobachtet wurde, konnte auch hier höchstwahrscheinlich auf eine penetrationsfördernde Wirkung des Lösungsmittels Propylenglykol zurückgeführt werden, welches höhere lokale Konzentrationen der Testsubstanzen im Gewebe ermöglichte (Kubilus, 2005). Das Hautirritationspotential dieser chemischen Permeationsverstärker im EpiDerm[®]-Modell schien neben der applizierten Dosis abhängig von dem gewählten Vehikel zu sein.

2.6 Reservoirsysteme auf Basis unterschiedlicher Kontrollmembranen

2.6.1 Membrandiffusion

In einem weiteren Ansatz sollte überprüft werden, ob der Einsatz der Reservoirtechnologie Vorteile gegenüber der „drug in adhesive“-Matrix-Formulierungen mit sich bringt. Als zu optimierende Zielgröße wurde erneut der transdermale steady state Fluss des Arzneistoffs Protergurid definiert.

Die bei der Fertigung von Reservoir-Transdermalsystemen Verwendung findenden Membranen lassen sich, wie bereits unter 1.3.4 ausgeführt, in poröse und nicht-poröse Kontrollelemente unterscheiden. Aus der Gruppe der porösen Membranen wurde Solupor[®] 10P05A (DSM Solutech, Heerlen, Niederlande; im folgenden Solupor[®]) ausgewählt. Solupor[®] besteht aus einem Polyethylenfilm mit einer Porösität von 83% und einer mittleren Porengröße von 0,5 µm (Solupor[®] 10P05A Product Data Sheet, Version 2). Als permeable, aber nicht-poröse Kontrollmembranen wurden zwei Ethylenvinylacetat-Membranen gleicher Dicke mit unterschiedlichem Anteil an Vinylacetat verwendet. Zum einen CoTran[®] 9705 (3M, St. Paul, USA) mit einem Anteil an Vinylacetat von 9% und CoTran[®] 9715 (3M, St. Paul, USA), bei welchem der Vinylacetatanteil 19% betrug (CoTran[®] 9705 und CoTran[®] 9715 Produktinformationen, 1999).

Da der Kontrollmembran als Steuerungseinheit der Arzneistofffreisetzung eine essentielle Funktion zukommt, wurde zunächst die Durchlässigkeit der einzelnen Membranen mittels Diffusionsexperimenten in Franz-Diffusionszellen untersucht. Als Formulierung diente eine 1%ige (m/V) Lösung von Protergurid in 2-Propanol, welches sowohl eine gute Kurzzeitstabilität als auch eine ausreichende Löslichkeit des Arzneistoffs gewährleistete. Diese Lösung wurde durch einen Zusatz von 2% Klucel[®] LF (Hydroxypropylmethylcellulose) verdickt. Um eine Verdunstung des Lösungsmittels weitestgehend zu vermeiden, wurde zum einen das Donorkompartiment der Franzzelle weitestgehend gefüllt (1,5 mL) und zum anderen mit einer Folie (Parafilm[®] M, Pechiney Plastic Packaging, Neenah, USA) verschlossen. Als Akzeptormedium diente wie bei den Permeationsversuchen durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus eine phosphatgepufferte Lösung pH 7,4 mit Zusätzen von

20% (m/V) PEG 400 und 2% (m/V) HPCD. Die Permeationsprofile von Protergurid durch die Kontrollmembranen sind in Abbildung 42 dargestellt.

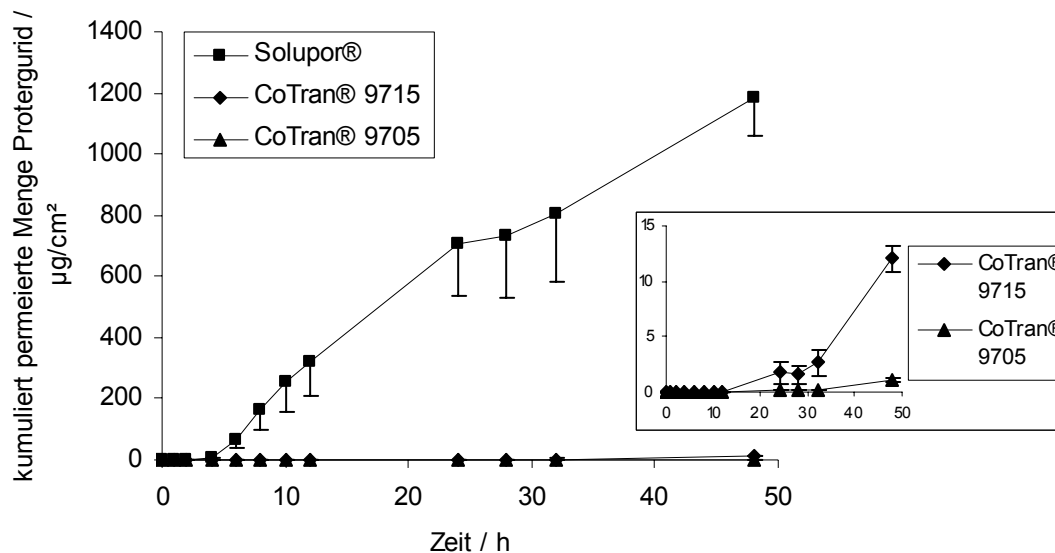


Abbildung 42: Diffusionsprofile von Protergurid durch unterschiedliche Kontrollmembranen. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von jeweils $n = 6$ Versuchen. Sättigung des Akzeptormediums bei $\sim 2600 \mu\text{g}$.

Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass die mikroporöse Membran Solupor® die höchste Diffusion von Protergurid ermöglichte. Im steady state diffundierten über $35 \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ durch die Membran. Nach der Versuchsdauer von 48 Stunden betrug die insgesamt permeierte Dosis an Protergurid $1,18 (0,12) \text{ mg}$. Die Ethylvinylacetat-Membranen hingegen stellten eine deutlich ausgeprägtere Diffusionsbarriere dar, wobei der Anteil an Vinylacetat das Ausmaß der Barriere kontrollierte. Protergurid diffundierte durch CoTran® 9715 mit einem Anteil von 19% an Vinylacetat um einen Faktor von etwa 10 besser als durch CoTran® 9705 (9% Ethylvinylacetat). Die permeierten Mengen nach 48 Stunden betragen $12,1 (1,2) \mu\text{g}$ (CoTran® 9715) und $1,0 (0,2) \mu\text{g}$ (CoTran® 9705). Auch die Wasserdampfpermeabilität von CoTran® 9715 wird als höher gegenüber CoTran® 9705 beschrieben (CoTran® 9705 und CoTran® 9715 Produktinformationen, 1999). Die Latenzzeiten waren durch diese Membranen mit über 10 Stunden sehr hoch. Dies impliziert auch, dass bei einem mit Ethylvinylacetatmembranen formulierten Reservoirsystem erst nach einer gewissen Lagerfrist der Gleichgewichtszustand, in welchem Protergurid in den

einzelnen Kompartimenten des Transdermalsystems entsprechend der Löslichkeiten vorliegt, erreicht wird.

Krishnaiah et al. (2004) untersuchten die Diffusion des Calciumantagonisten Nimodipin aus Gelformulierungen durch Ethylvinylacetatmembranen, welche sich im Vinylacetatanteil unterschieden und kamen zu dem Ergebnis, dass sich die Diffusion des Modellarzneistoffs durch eine Erhöhung des Vinylacetatanteils erhöhte. Auch konnte bereits gezeigt werden, dass der Membranfluss von Nicardipinhydrochlorid durch Ethylvinylacetatmembranen mit zunehmendem Anteil an Vinylacetat in der Membran stieg (Krishnaiah et al., 2003a und 2003b). Die Ergebnisse einer Studie von Suwanpidokkul et al. (2004) belegten, dass Zidovudin (AZT) eine vielfach höhere Diffusion durch eine mikroporöse Polyethylenmembran (Porengröße 0,2 µm) aufwies als durch eine nicht-poröse Ethylvinylacetatmembran. Diese Ergebnisse korrelieren qualitativ mit den hier präsentierten Daten für Protergurid, bei welchen eine steigende Membrandiffusion des Arzneistoffs in der Reihenfolge CoTran[®] 9705 < CoTran[®] 9715 << Solupor[®] nachgewiesen werden konnte.

In dem folgenden Schritt wurde die Arzneistofflösung in Reservoirsysteme inkorporiert und die erhaltenen Pflaster anhand der erzielbaren Flüsse von Protergurid durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus charakterisiert.

2.6.2 Permeation durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus

Um Reservoirsysteme in einem kleinen Maßstab zu formulieren, wurde auf die Methode von Jain et al. (2003) zurückgegriffen, welche leicht modifiziert wurde und im Methodenkapitel ausführlich beschrieben ist. Die grundlegenden Schritte der Herstellung dieser Systeme beinhalteten das Laminieren der Kontrollmembran mit einer Adhesivschicht, welche mit einem Release liner kaschiert wurde und das Zusammenfügen dieses Laminats mit einer Backingmembran mittels Oppanol[®]-Polymer. 50 µL der Arzneistofflösungen wurden mit einer Mikroliterspritze durch die Backingmembran in das Reservoir mit einer kreisrunden Grundfläche (1 cm²) eingebracht. Als Adhesivschicht diente bei allen Reservoirformulierungen eine Schicht des Silikonhauthaftklebers Bio-PSA[®] mit einem

Beschichtungsgewicht von etwa 4 mg/cm^2 . Die Überlegung, den Silikonkleber zu verwenden, basierte auf den Ergebnissen, welche mit entsprechenden „drug in adhesive“-Matrixformulierungen erzielt wurden. Der Silikonkleber ermöglichte dort den zweithöchsten Fluss von Protergurid und zeigte zusätzlich eine sehr gute Hautadhäsion. Da der Arzneistoff bei Reservoirsystemen nicht primär in der Adhesivschicht vorliegt, sondern vielmehr in dem Reservoir, wurden die Stabilitätsergebnisse der Matrixformulierungen bei der Auswahl nicht berücksichtigt. Die Reservoirsysteme wurden mit $50 \text{ } \mu\text{L}$ der Flüssigformulierung (1% (m/V), 2% Klucel[®] LF in 2-Propanol) hergestellt und unterschieden sich lediglich durch die verwendete Kontrollmembran. Neben den Reservoirsystemen wurde zusätzlich die Arzneistofflösung in einem in vitro Permeationsexperiment auf die exzidierte Haut der haarlosen Maus appliziert, um die aus den Reservoirsystemen erzielten transdermalen Flüsse von Protergurid zu evaluieren. Die Ergebnisse aus diesen Permeationsversuchen sind in Abbildung 43 und Tabelle 23 dargestellt.

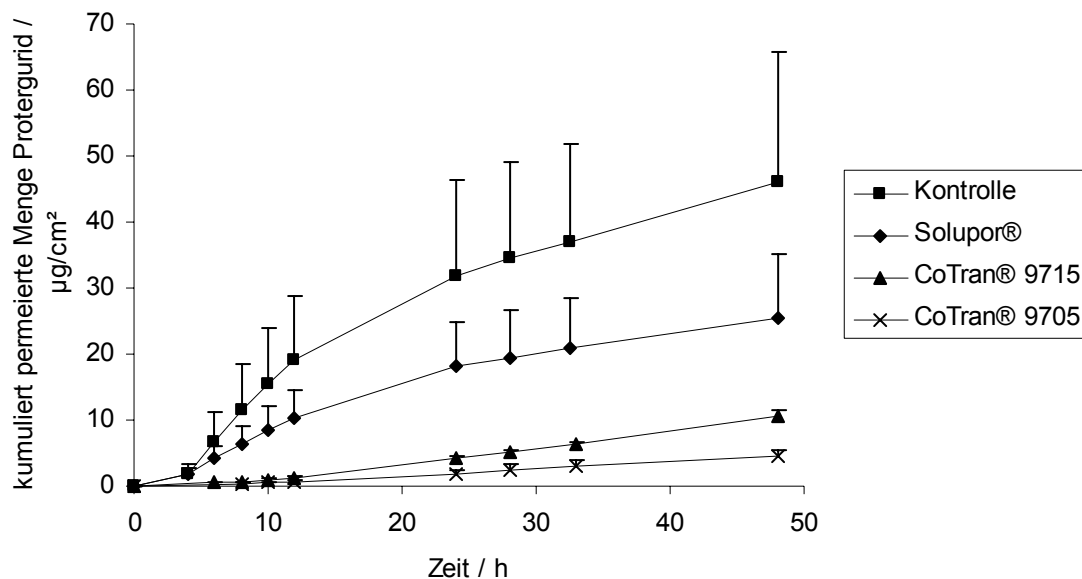


Abbildung 43: Permeationsprofile von Protergurid basierend auf Reservoirpflastern mit unterschiedlichen Kontrollmembranen. Arzneistofflösung: 1% (m/V) Protergurid, 2% (m/V) Klucel[®] LF in 2-Propanol. Kontrolle: Applikation der Arzneistofflösung ($50 \text{ } \mu\text{L}$). Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von mindestens $n = 3$ Versuchen.

Tabelle 23: Permeationsdaten von Protergurid, ermittelt aus den Permeationsprofilen basierend auf Reservoirpflastern mit unterschiedlichen Kontrollmembranen. Arzneistofflösung: 1% (m/V) Protergurid, 2% (m/V) Klucel[®] LF in 2-Propanol. Kontrolle: Applikation der Arzneistofflösung (50 µL). Angaben als Mittelwert (Standardabweichung). ResSys: Reservoirsystem.

Formulierung	Kontrollmembran	n	Steady state Fluss µg/(cm ² · h)	48 h-Durchschnittsfluss µg/(cm ² · h)	Lag-time h
I (ResSys)	CoTran [®] 9705	3	0,11 (0,03)	0,09 (0,02)	5,42 (2,75)
II (ResSys)	CoTran [®] 9715	3	0,25 (0,02)	0,22 (0,02)	6,85 (0,40)
III (ResSys)	Solupor [®]	7	1,23 (0,22)	0,58 (0,17)	2,27 (0,55)
Kontrolle	---	7	2,16 (1,02)	0,96 (0,41)	3,24 (0,66)

Wie aus den Diffusionsexperimenten durch die Kontrollmembranen zu erwarten war, zeigte das Reservoirpflaster mit der mikroporösen Membran den höchsten transdermalen Fluss von Protergurid. Der erzielte steady state Fluss dieser Formulierung betrug mit 1,23 (0,22) µg/(cm² · h) in etwa die Hälfte des Flusses der applizierten Flüssigformulierung (2,16 (1,02) µg/(cm² · h)). Der erhöhte Fluss von Protergurid im Falle der Flüssigformulierung war zum einen darauf zurückzuführen, dass der Arzneistoff vor Erreichen des Hautkompartimentes keine Kontrollmembran und keine Adhesivschicht passieren musste und zum anderen auf die permeationsverstärkende Wirkung des Lösungsmittels 2-Propanol, welches durch unmittelbaren Kontakt mit dem Stratum corneum seine volle Wirkung entfalten konnte.

Bei den Reservoirpflastern, welche mit Ethylvinylacetatmembranen formuliert wurden, war der steady state Fluss von Protergurid aus dem Transdermalsystem mit CoTran[®] 9715, welches einen höheren Ethylvinylacetatanteil aufwies, mit 0,25 (0,02) µg/(cm² · h) signifikant höher als bei den Pflastern mit CoTran[®] 9705 (0,11 (0,03) µg/(cm² · h)). Dies war aus den Diffusionsexperimenten (Kapitel 2.6.1) ebenfalls zu erwarten. Die transdermalen Flüsse von Protergurid lagen bei Verwendung der Ethylvinylacetatmembranen um einen Faktor von etwa 5 bis 10 unter dem, welcher mit der mikroporösen Membran erreicht werden konnte. Auffallend an diesen Ergebnissen sind insbesondere die äußerst geringen mittleren Wirkstoffflüsse aus den CoTran[®]-Formulierungen und die korrespondierenden, sehr geringen Streuungen. Dies deutet darauf hin, dass bei diesen Reservoirpflastern die Kontrollmembran einen stark limitierenden Einfluss auf die Wirkstofffreisetzung und -permeation ausübte, so dass die Streuung der Ergebnisse nicht durch die aufgrund des biologischen Ursprunges hohe

Variabilität der Haut sondern vielmehr durch die homogene synthetische Membran bestimmt wurde. Diese Transdermalsysteme zeigten auch deutlich höhere Latenzzeiten bis zum Einsetzen des steady state Flusses als das Solupor[®]-Pflaster.

Zur Erzielung möglichst hoher transdermalen Flüsse von Protergurid eignete sich die mikroporöse Solupor[®]-Membran am besten. Sie ermöglichte die höchsten Flüsse von Protergurid durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus. Folglich wurden Reservoirsysteme im folgenden ausschließlich mit dieser Kontrollmembran formuliert, mit dem Ziel, den transdermalen Arzneistofffluss im steady state zu optimieren.

2.7 Optimierung von Solupor[®]-Reservoirsystemen

2.7.1 Membrandiffusion

In einem ersten Optimierungsschritt wurde untersucht, in wieweit die Diffusion des Arzneistoffs Protergurid durch die Solupor[®]-Membran durch das Lösungsmittel beeinflusst wird. Diesbezüglich wurde Protergurid mit Lösungsmitteln unterschiedlicher physiko-chemischer Eigenschaften, welche jedoch alle eine ausreichende Löslichkeit des Arzneistoffs zeigten, als eine 1%ige Lösung formuliert. PEG 400 und Diethylenglykolmonoethylether (Transcutol[®]) wurden zusätzlich zu dem mit 2% Klucel[®] LF angedickten 2-Propanol als Vehikel verwendet. Propylenglykol zeigte mit 0,4 g/100 mL eine zu geringe Löslichkeit für Protergurid und wurde demnach nicht in die Studie mit eingeschlossen. Die näherungsweise bestimmten Löslichkeiten von Protergurid in den einzelnen Lösungsmitteln konnten wie folgt angegeben werden:

Transcutol[®]: 28 g/100 mL,

2% Klucel[®] LF in 2-Propanol: 23 g/100 mL,

PEG 400: 12 g/100 mL.

Die aus den Diffusionsexperimenten in statischen Franz-Zellen gewonnenen Profile für Protergurid sind in Abbildung 44 grafisch dargestellt. Das Donorvolumen betrug wie bei den Diffusionsexperimenten zuvor 1,5 mL und die Franzzellen wurden nach oben hin mit Parafilm[®] M verschlossen.

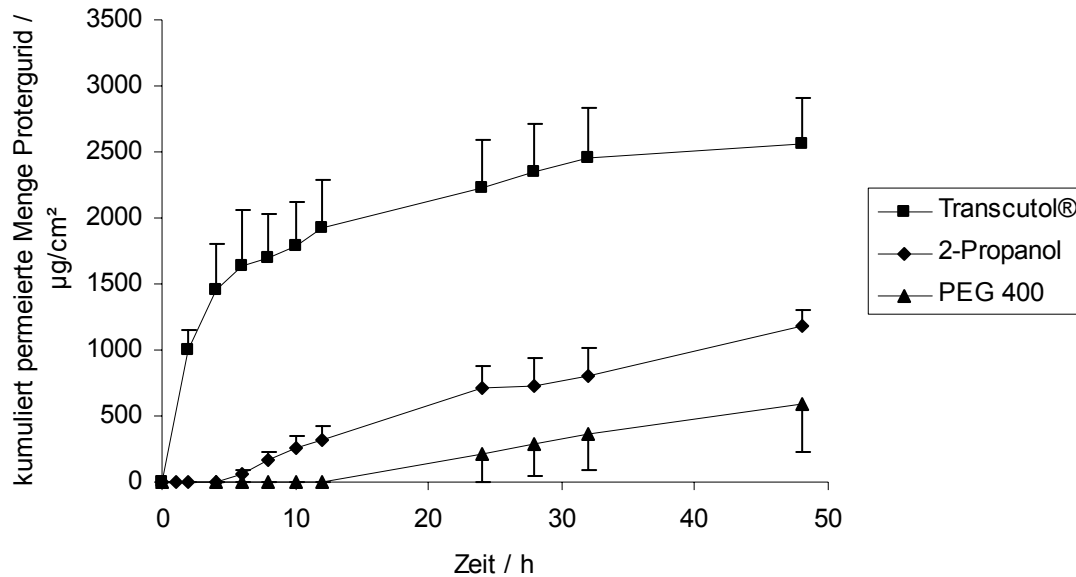


Abbildung 44: Diffusionsprofile von Protergurid durch Solupor® aus unterschiedlichen Flüssigformulierungen. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von jeweils n = 6 Versuchen. Sättigung des Akzeptortmediums war bei ~2600 µg erreicht.

Das Lösungsmittel mit der höchsten Molekülmasse (PEG 400) ermöglichte die geringste Wirkstoffdiffusion. Auch setzte der Diffusionsprozess erst nach einer extrem langen Latenzzeit von etwa 10 Stunden ein. Im steady state diffundierten jedoch in etwa gleiche Mengen Protergurid durch die Membran wie im Falle von 2% Klucel® LF in 2-Propanol als Vehikel. Bei der Formulierung mit 2-Propanol als Lösungsmittel begann die Diffusion nach etwa 5 Stunden jedoch deutlich eher. Eine sehr ausgeprägte Diffusion von Protergurid konnte aus der Lösung mit Transcutol® erzielt werden. Neben einem sehr schnellen Beginn der Diffusion war diese auch sehr hoch. So war im Vergleich zu der Lösung in 2-Propanol nach 12 Stunden bereits etwa die achtfache Menge des Wirkstoffs im Rezeptorkompartiment nachweisbar. Somit konnte die Diffusion von Protergurid durch die Wahl des Lösungsmittels beeinflusst werden.

2.7.2 Hautpermeation von Protergurid aus Flüssigformulierungen und Reservoirsystemen auf Basis unterschiedlicher Lösungsmittel

Die in Kapitel 2.7.1 auf Membrandiffusion von Protergurid untersuchten Lösungen wurden nun in Reservoirpflaster mit Solupor[®] als Kontrollmembran inkorporiert ($50 \mu\text{L}/1 \text{ cm}^2$) und die transdermalen Flüsse des Arzneistoffs und die lag times bestimmt. Parallel wurden die Flüssigformulierungen auf die exzidierte Haut der haarlosen Maus appliziert, um das Ausmaß des Einflusses der Barriere des Laminats aus Kontrollmembran und Adhesivschicht auf den transdermalen Fluss von Protergurid beurteilen zu können. Die Permeationsprofile von Protergurid sind in Abbildung 45 und Abbildung 46 dargestellt. Tabelle 24 fasst die aus den Permeationsprofilen bestimmten Flussparameter zusammen.

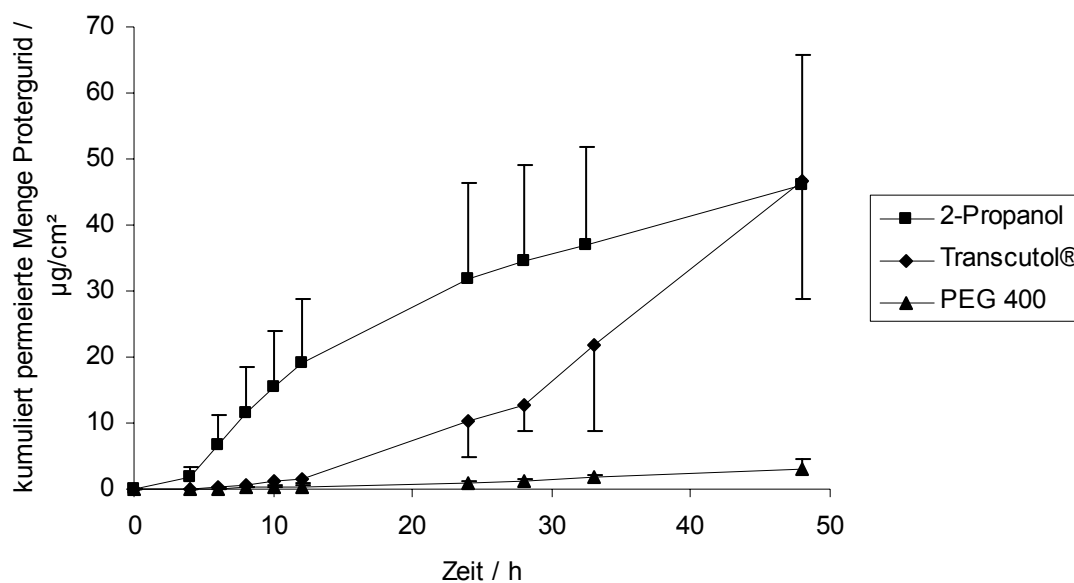


Abbildung 45: Permeationsprofile von Protergurid basierend auf Flüssigformulierungen mit 1% (m/V) Protergurid. Dosis $50 \mu\text{L}$. Die Lösungsmittel sind in der Legende angegeben. 2-Propanol enthielt zusätzlich 2% (m/V) Klucel[®] LF. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von mindestens $n = 3$ Versuchen.

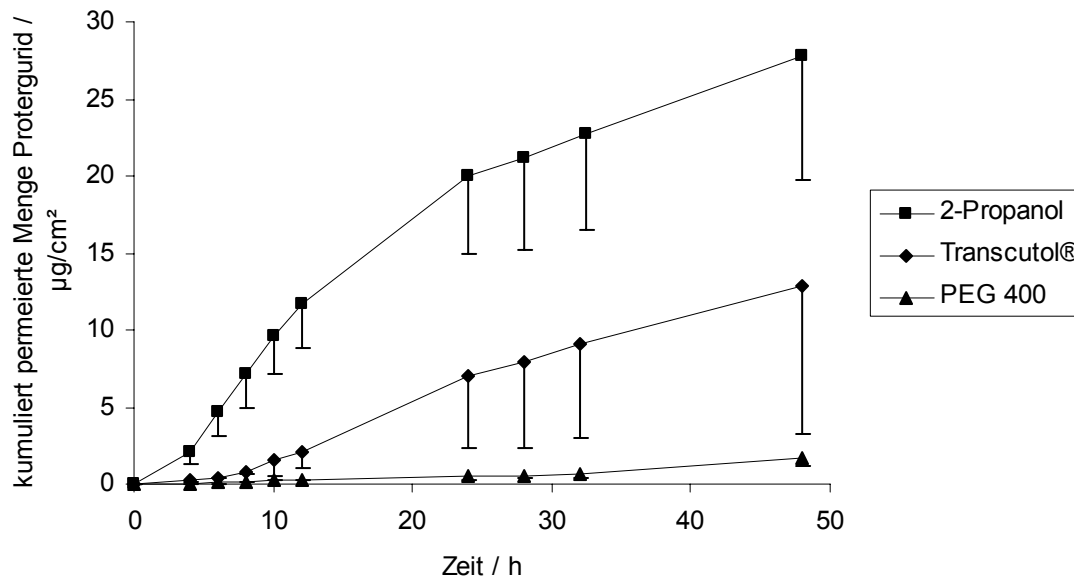


Abbildung 46: Permeationsprofile von Protergurid basierend auf Reservoirpflastern mit Solupor[®] und unterschiedlichen Lösungen mit jeweils 1% (m/V) Protergurid (50 µL). Die Lösungsmittel sind in der Legende angegeben. 2-Propanol enthielt zusätzlich 2% (m/V) Klucel[®] LF. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von mindestens n = 4 Versuchen.

Tabelle 24: Permeationsdaten von Protergurid, ermittelt aus den Permeationsprofilen basierend auf den Flüssigformulierungen und den korrespondierenden Reservoirpflastern mit Solupor[®]. Arzneistofflösung: 1% (m/V) Protergurid, 2% (m/V) Klucel[®] LF in 2-Propanol. Dosis jeweils 50 µL/1 cm². Angaben als Mittelwert (Standardabweichung). ResSys: Reservoirsystem.

Formulierung	Lösungsmittel	n	Steady state Fluss µg/(cm ² · h)	48 h-Durchschnittsfluss µg/(cm ² · h)	Lag-time h
Flüssig	2-Propanol + 2% Klucel [®] LF	7	2,16 (1,02)	0,96 (0,41)	3,24 (0,66)
Flüssig	Transcutol [®]	3	1,27 (0,51)	0,97 (0,37)	14,52 (0,50)
Flüssig	PEG 400	3	0,08 (0,04)	0,07 (0,03)	9,34 (3,61)
III (ResSys)	2-Propanol + 2% Klucel [®] LF	6	1,23 (0,22)	0,58 (0,17)	2,27 (0,55)
IV (ResSys)	Transcutol [®]	5	0,37 (0,28)	0,27 (0,20)	4,19 (4,75)
V (ResSys)	PEG 400	4	0,05 (0,01)	0,04 (0,01)	12,96 (5,31)

Bei den 1%igen Flüssigformulierungen konnten die höchsten transdermalen Flüsse erzielt werden, wenn 2-Propanol mit einem Zusatz von 2% Klucel[®] LF als Vehikel verwendet wurde. Der steady state Fluss dieser Formulierung betrug 2,16 (1,02) µg/(cm² · h) und war somit annähernd doppelt so hoch wie bei der Transcutol[®]-Formulierung

(1,27 (0,51) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$) und annähernd 30 mal höher als bei der PEG 400-Lösung, welche mit 0,08 (0,04) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ lediglich einen äußerst geringen Fluss ermöglichte. Auch wies die Lösung basierend auf 2-Propanol mit 3,24 (0,66) h die signifikant geringste Latenzzeit auf.

Unter idealen Bedingungen zeigen alle Lösungen, welche mit einem Modellarzneistoff gesättigt sind, den gleichen transmembranären oder transdermalen Fluss (Hadgraft, 1999b; Naik et al., 2000), sofern die Lösungsmittel die Eigenschaften der Membran oder eben der Haut nicht verändern. Dies ist darin begründet, dass in gesättigten Lösungen die thermodynamische Aktivität, welche eng mit dem chemischen Potential verknüpft ist und die treibende Kraft für den transmembranären oder auch transdermalen Fluss darstellt, gleich ist. Aufgrund der Festlegung der Arzneistoffkonzentration auf 1% (m/V) in der vorliegenden Studie waren die thermodynamischen Aktivitäten, begründet in unterschiedlichen Sättigungsgraden der einzelnen Lösungen, voneinander verschieden. Jedoch muss darauf hingewiesen werden, dass die PEG 400-Formulierung die geringste Löslichkeit für Protergurid zeigte und somit die höchste thermodynamische Aktivität besaß, so dass auch der höchste transdermale Fluss des Arzneistoffs resultieren sollte. Die höheren steady state Flüsse von Protergurid aus den Vehikeln mit 2-Propanol und Transcutol[®] als Lösungsmittel lagen darin begründet, dass diese ausgeprägte permeationsverstärkende Wirkungen besitzen und somit die Barriereigenschaften der Membran Haut im Sinne einer Permeabilisierung veränderten. Der höhere Fluss von Protergurid aus der 2-Propanollösung war darauf zurückzuführen, dass diese aufgrund der geringeren Löslichkeit eine höhere thermodynamische Aktivität besaß, und gegebenenfalls auch auf eine ausgeprägtere permeationssteigernde Wirkung des 2-Propanols gegenüber Transcutol[®].

Vergleicht man diese Werte mit den transdermalen Flüssen von Protergurid, welche auf Basis der Reservoirsysteme erzielt wurden, so waren diese erwartungsgemäß tendenziell niedriger, zeigten jedoch das gleiche Ranking der steady state Flüsse von Protergurid. Die geringeren Wirkstoffflüsse waren zurückzuführen zum einen auf den Einfluss des Laminats aus Solupor[®] und Adhesivschicht, welches von dem Arzneistoff überwunden werden musste, bevor er das Stratum corneum der Haut erreichte und zum anderen darauf, dass geringere Mengen der permeationsverstärkenden Lösungsmittel an der Grenzfläche zwischen Vehikel und Stratum corneum vorlagen. Verglichen mit den permeierten Mengen in den Diffusionsstudien (vgl. Kapitel 2.7.2) waren sowohl die aus den Reservoirpflastern als auch die aus den Flüssigformulierungen transdermal permeierten Mengen um 1 bis 2 Zehnerpotenzen geringer.

2.7.3 Einfluss der Arzneistoffkonzentration

Da die Konzentration des Arzneistoffs im Vehikel den transdermalen Fluss beeinflusst, und diesem Parameter somit eine große Bedeutung zuzuschreiben ist, wurde im folgenden untersucht, inwiefern die Permeation von Protergurid durch Erhöhung der Konzentration gesteigert werden kann. Als Donorlösung wurde 2% Klucel[®] LF in 2-Propanol gewählt, da sich dieses Vehikel in den vorangegangenen Experimenten am besten bewährt hatte und insbesondere mit einer 1%igen Beladung und Einarbeitung in ein Solupor[®]-Reservoirsystem den höchsten transdermalen Fluss ermöglichte. Pflaster mit Solupor[®]-Kontrollmembran und 50 μ L einer Arzneistofflösung in 2-Propanol mit zusätzlichen 2% Klucel[®] LF, aber unterschiedlichem Gehalt an Protergurid, wurden formuliert und ebenso wie die Flüssigformulierungen auf die exzidierte Haut der haarlosen Maus appliziert. Die kumuliert absorbierten Mengen Protergurid gegenüber der Zeit sind in Abbildung 47 und Abbildung 48 dargestellt. Die erzielten steady state Flüsse, Durchschnittsflüsse und lag times fasst Tabelle 25 zusammen.

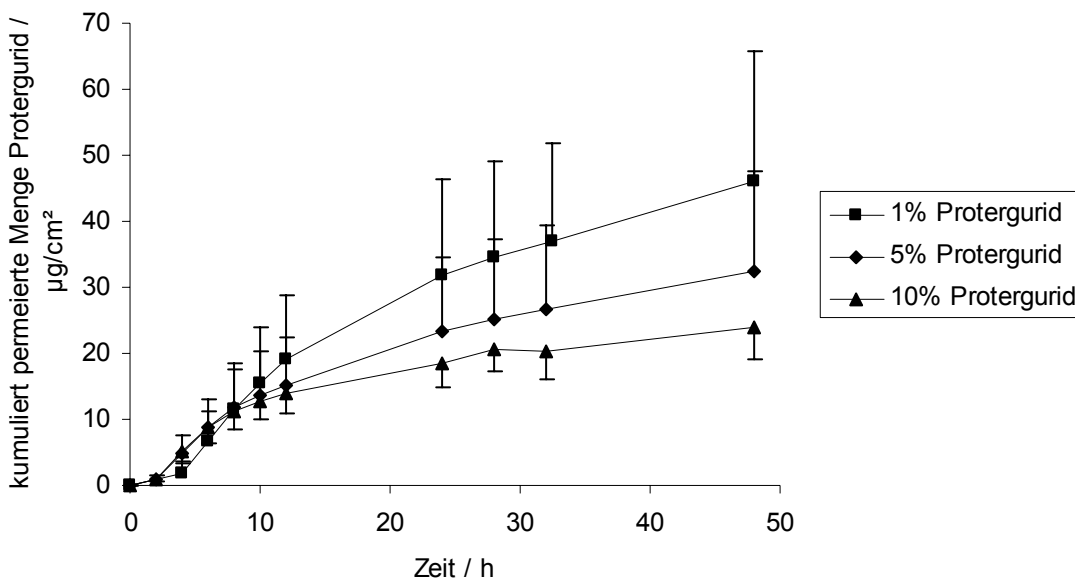


Abbildung 47: Permeationsprofile von Protergurid basierend auf Flüssigformulierungen mit unterschiedlichen Gehalten an Protergurid (% m/V). Als Lösungsmittel diente 2-Propanol mit einem Zusatz von 2% (m/V) Klucel[®] LF. Dosis 50 μ L. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von mindestens n = 6 Versuchen.

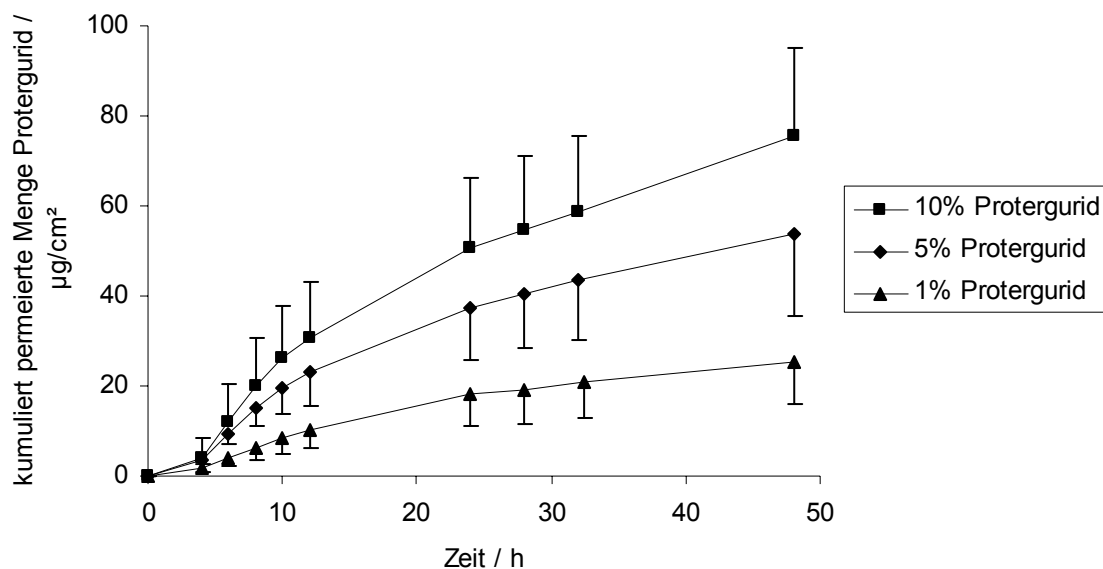


Abbildung 48: Permeationsprofile von Protergurid basierend auf Reservoirpflastern mit Solupor[®] und unterschiedlichen Gehalten an Protergurid. Als Lösungsmittel diente 2-Propanol mit einem Zusatz von 2% (m/V) Klucel[®] LF. Dosis 50µL. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von n = 6 Versuchen.

Tabelle 25: Permeationsdaten von Protergurid, ermittelt aus den Permeationsprofilen basierend auf den Flüssigformulierungen und den korrespondierenden Reservoirpflastern mit Solupor[®] und unterschiedlichen Gehalten an Protergurid mit 2% (m/V) Klucel[®] LF in 2-Propanol als Lösungsmittel. Dosis jeweils 50 µL/1 cm². Angaben als Mittelwert (Standardabweichung). ResSys: Reservoirsystem.

Formulierung	Gehalt Protergurid % (m/V)	n	Steady state Fluss µg/(cm ² · h)	48 h-Durchschnittsfluss µg/(cm ² · h)	Lag-time h
Flüssig	1	7	2,16 (1,02)	0,96 (0,41)	3,24 (0,66)
Flüssig	5	6	1,79 (0,87)	0,68 (0,32)	1,37 (0,14)
Flüssig	10	6	1,83 (0,56)	0,50 (0,10)	1,36 (0,25)
I (ResSys)	1	6	1,23 (0,22)	0,58 (0,17)	2,27 (0,55)
VI (ResSys)	5	6	2,69 (1,03)	1,12 (0,38)	2,36 (0,66)
VII (ResSys)	10	6	3,73 (1,37)	1,57 (0,41)	2,94 (0,82)

Werden zunächst die steady state Flüsse der Flüssigformulierungen mit unterschiedlichem Gehalt an Protergurid betrachtet, so ergibt sich keine signifikante Änderung des Flusses in Abhängigkeit von der Wirkstoffkonzentration der Lösung. Der Durchschnittsfluss, ermittelt aus dem 48-Stundenintervall, zeigte mit steigender Konzentration paradoxerweise eine abfallende Tendenz. Diese Ergebnisse widersprachen prinzipiell der Theorie der Diffusion, nach welcher eine Erhöhung des Konzentrationsgradienten, und somit eine Erhöhung der

thermodynamischen Aktivität, zu einem gesteigerten Fluss pro Flächeneinheit führt. Am Ende der Permeationsexperimente mit Flüssigformulierungen konnten auf allen Hautfeldern, welche mit der 5%igen oder der 10%igen Lösung beschickt wurden, Wirkstoffkristallite beobachtet werden, welche die Hautoberfläche überdeckten. Dies gab Grund für die Annahme, dass die Penetration von gelöstem Wirkstoff in das Stratum corneum behindert wurde, so dass die Voraussetzungen für eine konzentrationsabhängige Steigerung des transdermalen Flusses nicht gegeben war. Die Wirkstoffkristallisation war offensichtlich zurückzuführen auf eine Verdunstung und / oder Penetration des Lösungsmittels in das Hautgewebe mit einer einhergehenden Überschreitung der Sättigungskonzentration der applizierten Lösung.

Die Permeationsrate von Protergurid hingegen konnte mit steigender Wirkstoffkonzentration im Reservoirsystem gesteigert werden, was in Abbildung 49 grafisch verdeutlicht dargestellt ist. Bereits bei einer Konzentration von 5% Protergurid war der steady state Fluss von Protergurid signifikant erhöht gegenüber der 1%igen Formulierung. Dies beruhte darauf, dass mit steigender Konzentration an Protergurid in der Formulierung die thermodynamische Aktivität als Motor des Permeationsprozesses anstieg und ferner kein rekristallisierter Wirkstoff aufgrund einer durch die Backingmembran verhinderten Lösungsmittelverdunstung die Permeationsfläche blockierte. Die auf Basis der Reservoirpflaster erzielten transdermalen Wirkstoffflüsse waren mitunter höher als die korrespondierenden steady state Flüsse aus den Flüssigformulierungen (5% und 10% (m/V) Protergurid). Dies war wiederum zurückzuführen auf die beobachtete Wirkstoffkristallisation auf der Hautoberfläche bei den Flüssigformulierungen, welches dort eine erhöhte transdermale Permeation limitierte und sich, wie bereits erwähnt, nicht in einer erwarteten konzentrationsabhängigen Flusststeigerung äußerte. Die Latenzzeiten bis zum Einsetzen des steady state Flusses von Protergurid waren durch eine Konzentrationserhöhung des Wirkstoffs im Reservoir der Pflaster nicht signifikant beeinflusst und lagen alle im Bereich von etwa 2,5 Stunden. Hervorzuheben ist jedoch der transdermale steady state Fluss von Protergurid aus der Formulierung mit der 10%igen Arzneistofflösung, welcher mit $3,73 (1,37) \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ nahezu achtmal höher war als der aus einem permeationsverstärkerfreien Gelva[®]-Matrixpflaster mit einer optimalen Wirkstoffbeladung von 4% (m/m) und 10% (m/m) PVP. Außerdem konnte bei den untersuchten Reservoirsystemen beobachtet werden, dass das Abklingen des steady state Flusses mit steigender Arzneistoffkonzentration aufgrund einer weniger ausgeprägten Verarmung des Systems an Protergurid langsamer erfolgte.

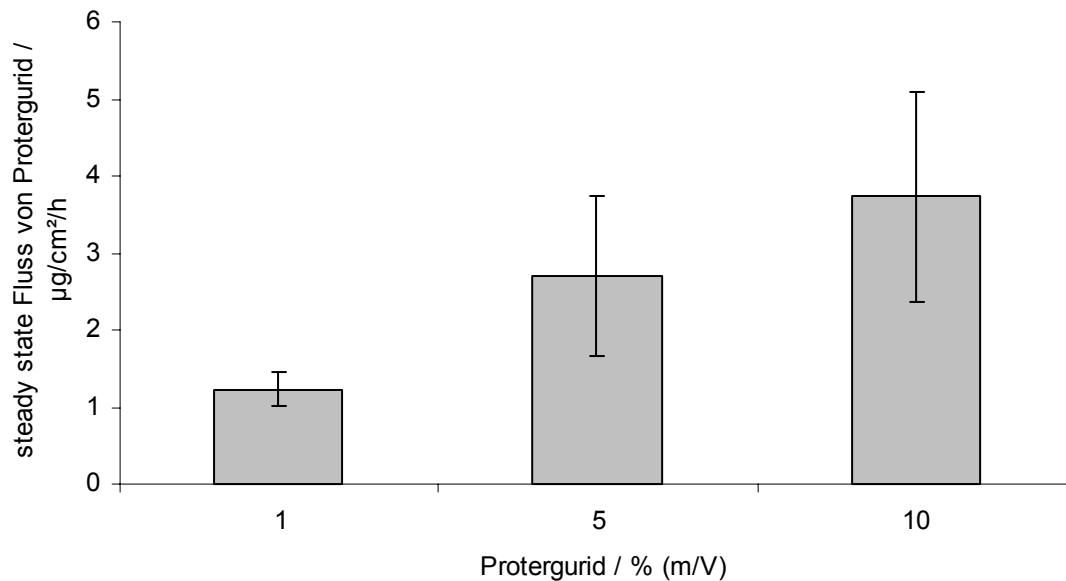


Abbildung 49: Steady state Flüsse von Protergurid in Abhängigkeit von der Konzentration im Reservoirsystem mit Solupor[®]. Dosis 50 µL. Als Lösungsmittel diente 2% (m/V) Klucel[®] LF in 2-Propanol. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von n = 6 Versuchen.

2.7.4 Einfluss von N-Dodecylpyrrolidon

Unter Verwendung der „drug in adhesive“-Matrixtechnologie auf Basis des Gelva[®]-Hauthaftklebers konnte bereits gezeigt werden, dass der Permeationsverstärker N-Dodecylpyrrolidon den transdermalen Fluss von Protergurid effizient zu erhöhen vermochte. In diesem Zusammenhang sollte überprüft werden, ob die Einarbeitung dieses Pyrrolidonderivates in ein transdermales Reservoirsystem ebenfalls zu einer beachtlichen Flussteigerung des Arzneistoffs führt. N-Dodecylpyrrolidon wurde mit einer Konzentration von 10% (m/V) in die Arzneistofflösung (10% (m/V) Protergurid, 2% (m/V) Klucel[®] LF in 2-Propanol) inkorporiert und diese in das Solupor[®]-Reservoirsystem mit einer Bio-PSA[®]-Adhesivschicht integriert. Die Konzentration von N-Dodecylpyrrolidon von 10% (m/V) wurde gewählt, da diese eine sehr ausgeprägte, signifikante Permeationssteigerung bei den Gelva[®]-basierten Matrix-Transdermalsystemen mit einem nahezu verdoppelten steady state Fluss von Protergurid im Vergleich zu der permeationsverstärkerfreien Kontrollformulierung ermöglichte. Die Arzneistoffkonzentration wurde aufgrund der Ergebnisse der Konzentrationsabhängigkeit des transdermalen Wirkstoffflusses bei Solupor[®]-Reservoirsystemen ebenfalls mit 10% (m/V) definiert.

In Abbildung 50 sind die Permeationsprofile von Protergurid durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus grafisch aufgearbeitet, während Tabelle 26 die Parameter steady state Fluss, 48-Stundendurchschnittsfluss und lag time von Protergurid, bezogen auf die einzelnen Formulierungen, wiedergibt.

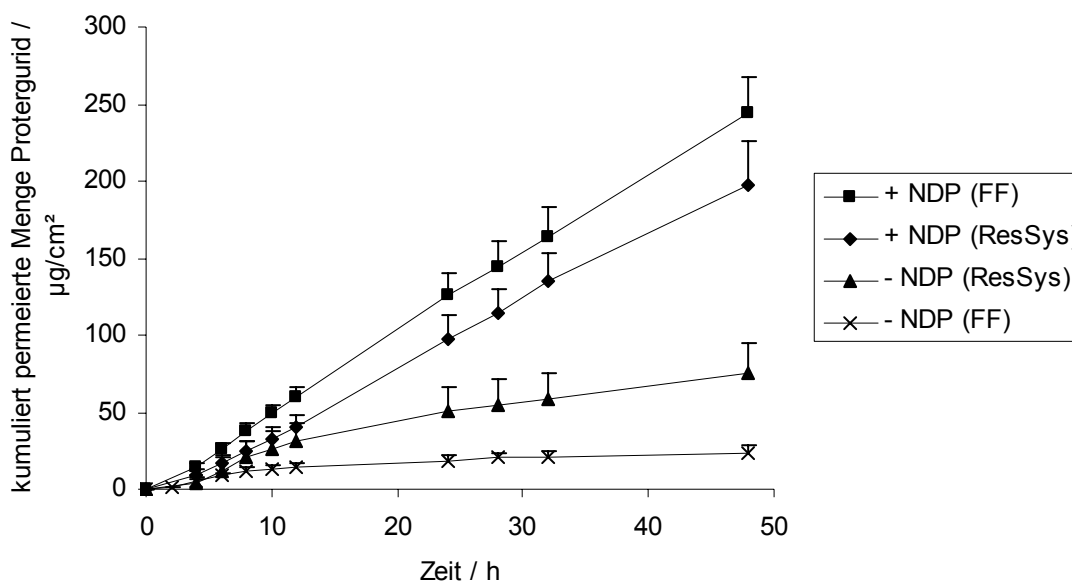


Abbildung 50: Permeationsprofile von Protergurid basierend auf Flüssigformulierungen (FF) und Reservoirsystemen (ResSys) mit Solupor[®]. Als Lösungsmittel diente 2-Propanol mit einem Zusatz von 2% (m/V) Klucel[®] LF. Gehalt an Protergurid: 10% (m/V). + NDP: 10% (m/V) N-Dodecylpyrrolidon; - NDP: Formulierung ohne N-Dodecylpyrrolidon. Dosis 50µL. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von n = 6 Versuchen.

Tabelle 26: Permeationsdaten von Protergurid, ermittelt aus den Permeationsprofilen basierend auf den Flüssigformulierungen und den korrespondierenden Reservoirpflastern mit Solupor[®] mit und ohne N-Dodecylpyrrolidon (NDP). Als Lösungsmittel mit jeweils 10% (m/V) Protergurid diente 2-Propanol mit einem Zusatz von 2% (m/V) Klucel[®] LF. Dosis jeweils 50 µL/1 cm². Angaben als Mittelwert (Standardabweichung). ResSys: Reservoirsystem.

Formulierung	Gehalt NDP % (m/V)	n	Steady state Fluss µg/(cm ² · h)	48 h-Durchschnittsfluss µg/(cm ² · h)	Lag-time h
Flüssig	---	6	1,83 (0,56)	0,50 (0,10)	1,36 (0,25)
Flüssig	10	6	5,61 (0,71)	5,08 (0,51)	1,35 (0,36)
VII (ResSys)	---	6	3,73 (1,37)	1,57 (0,41)	2,94 (0,82)
VIII (ResSys)	10	6	4,55 (0,60)	4,11 (0,58)	2,87 (1,09)

Sowohl bei den Flüssigformulierungen als auch bei den Reservoirsystemen mit Solupor[®] als Kontrollmembran konnte durch einen Zusatz von 10% (m/V) des Permeationsverstärkers N-Dodecylpyrrolidon der transdermale Arzneistofffluss im steady state deutlich gesteigert werden. Der erzielte steady state Fluss des Reservoirsystems mit N-Dodecylpyrrolidon konnte mit 4,55 (0,60) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ angegeben werden und war somit zwar signifikant geringer als bei der korrespondierenden Flüssigformulierung (5,61 (0,71) $\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$), aber dennoch der höchste auf Basis der „drug in adhesive“- und der Reservoirtechnologie erzielte Transdermalfluss von Protergurid. Die Latenzzeiten waren durch N-Dodecylpyrrolidon bei beiden Applikationsformen des Arzneistoffs nicht signifikant beeinflusst und lagen bei den Flüssigformulierungen bei etwa 1,5 Stunden und im Falle der Reservoirsysteme bei knapp 3 Stunden. Interessant war insbesondere jedoch, dass das Abklingen des steady state Flusses von Protergurid durch Einarbeitung von N-Dodecylpyrrolidon in die Formulierungen verzögert wurde, was sich in den dramatisch gesteigerten Durchschnittsflüssen, bezogen auf das 48-Stundenintervall, widerspiegelte. Dies konnte auf eine anhaltende Wirkung des Permeationsverstärkers N-Dodecylpyrrolidon zurückgeführt werden, welche über die gesamte Versuchsdauer von 48 Stunden nicht abklang.

Sowohl aus der Flüssigformulierung als auch aus dem Reservoirpflaster permeierte N-Dodecylpyrrolidon die exzidierte Haut der haarlosen Maus *in vitro* (Abbildung 51). Die Permeationsparameter steady state Fluss, 48-Stunden-Durchschnittsfluss und Latenzzeit (Tabelle 27) wiesen jedoch keine signifikanten Unterschiede auf. Daraus resultierte, dass das Laminat aus Adhesivschicht und Solupor[®] die Permeation von N-Dodecylpyrrolidon nicht limitierte. Die nach 48 Stunden im Rezeptormedium nachweisbaren Mengen an N-Dodecylpyrrolidon betragen in etwa 24% der initial applizierten Dosen. Trotz der mitunter erhöhten transdermalen Flüsse von N-Dodecylpyrrolidon im Vergleich zu den auf Basis des Gelva[®]-Hauthaftklebers hergestellten Matrix-Transdermalsystemen, wäre bei Applikation eines ausreichend dimensionierten Reservoirpflasters untersuchter Zusammensetzung *in vivo* beim Menschen mit einer unkritischen, täglichen systemischen Belastung von unter 200 μg zu rechnen (siehe auch Kapitel 2.8).

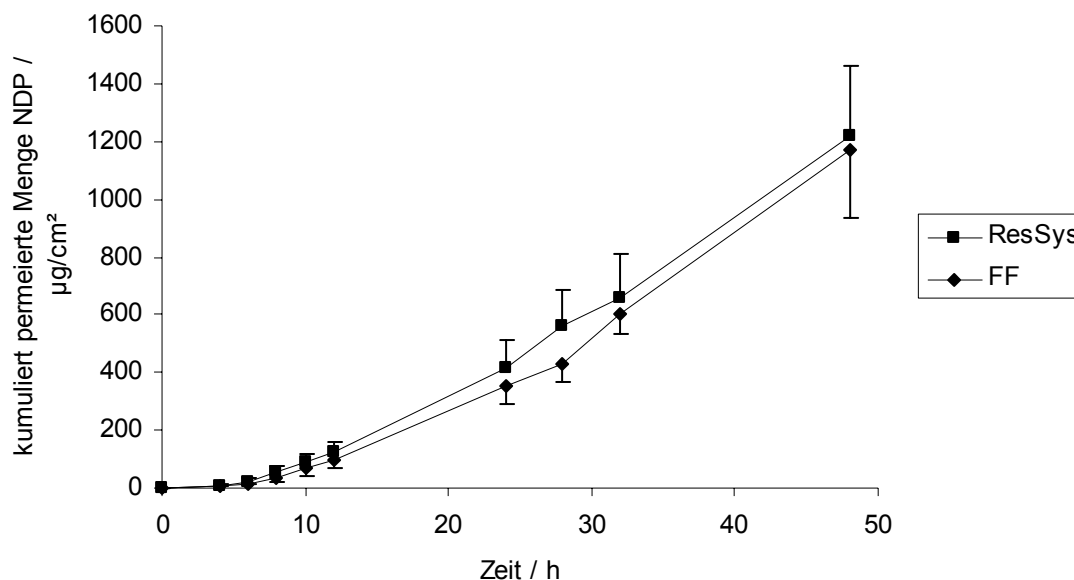


Abbildung 51: Permeationsprofile von N-Dodecylpyrrolidon (NDP) basierend auf dem Reservoirpflaster (ResSys) mit Solupor[®] und der Flüssigformulierung (FF). Als Lösungsmittel diente 2-Propanol mit einem Zusatz von 2% (m/V) Klucel[®] LF. Gehalt an NDP: 10% (m/V) + 10% (m/V) Protergurid. Dosis jeweils 50 µL. Dargestellt sind die Mittelwerte (Standardabweichung) von n = 6 Versuchen.

Tabelle 27: Permeationsdaten von N-Dodecylpyrrolidon (NDP), ermittelt aus den Permeationsprofilen basierend auf der Flüssigformulierung und dem korrespondierenden Reservoirpflaster mit Solupor[®]. Als Lösungsmittel diente 2-Propanol mit einem Zusatz von 2% (m/V) Klucel[®] LF. Gehalt an NDP: 10% (m/V) + 10% (m/V) Protergurid. Dosis jeweils 50 µL/1 cm². Angaben als Mittelwert (Standardabweichung). ResSys: Reservoirsystem.

Formulierung	Gehalt NDP % (m/V)	n	Steady state Fluss µg/(cm ² · h)	48 h-Durchschnittsfluss µg/(cm ² · h)	Lag-time h
Flüssig	10	6	30,1 (6,4)	24,3 (4,9)	10,9 (2,1)
VIII (ResSys)	10	6	30,6 (7,1)	25,4 (3,1)	9,2 (1,8)

Es konnte somit gezeigt werden, dass die Reservoirtechnologie unter Verwendung einer Bio-PSA[®]-Adhesivschicht und einer Solupor[®]-Kontrollmembran geeignet war, um nennenswerte Mengen an Protergurid – auch bereits ohne Einbeziehung eines chemischen Permeationsverstärkers – durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus *in vitro* freizusetzen. Die erzielten transdermalen Arzneistoffflüsse waren deutlich höher als bei Anwendung des „drug in adhesive“-Matrixdesigns.

2.8 Bewertung des Permeationsverhaltens und Ausblick

Ausgehend von den transdermalen Proterguridflüssen im steady state aus den auf unterschiedlichen Technologien basierenden Formulierungen durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus soll abschließend eine Abschätzung der möglichen Pflastergröße erfolgen, welche eine therapeutische Arzneistoffzufuhr beim Menschen in vivo ermöglichen würde. Insbesondere muss berücksichtigt werden, dass die Haut der haarlosen Maus für die meisten Arzneistoffe eine höhere Permeabilität aufweist als Humanhaut. Lipp (2000) zeigte, dass unter Verwendung von Flüssigformulierungen mit dem Modellarzneistoff Lisurid, welches dem Protergurid (6-n-Propyl-Transdihydrolisurid) strukturell sehr ähnlich ist, der Maximalfluss durch Humanhaut in vivo um etwa eine Zehnerpotenz geringere Werte aufwies als durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus in vitro. Da 10 µg Protergurid beim Menschen in vivo, wenn intravenös appliziert, eine über Dopaminrezeptoren vermittelte Senkung der Prolaktinkonzentration im Plasma über durchschnittlich zehn Stunden induzierte (Hertzsch, 1984), kann eine tägliche systemische Arzneistoffdosis von etwa 25 µg angestrebt werden. Unter Berücksichtigung der geringeren Permeabilität von Humanhaut und der abgeschätzten dopaminergen transdermalen Dosis wurden durch eine Modellrechnung für ausgewählte, im Rahmen dieser Dissertation untersuchte Formulierungen aktive Pflastergrößen bestimmt, welche therapeutische Wirkstoffkonzentrationen beim Menschen in vivo erwarten ließen (Tabelle 28).

Tabelle 28: Abgeschätzte aktive Pflastergrößen, um 25 µg Protergurid am Menschen in vivo transdermal bioverfügbar zu machen.

Formulierung	Protergurid %	NDP ^{a)} %	Typ	Postulierte aktive TDS-Größe f ür 25 µg/d cm ²
Gelva [®] , 10% PVP	4	---	Matrix	20
Gelva [®] , 10% PVP	4	10	Matrix	10
2-Propanol, 2% Klucel [®] LF, Solupor [®] , Bio-PSA [®]	10	---	Reservoir	3
2-Propanol, 2% Klucel [®] LF, Solupor [®] , Bio-PSA [®]	10	10	Reservoir	2

^a NDP: N-Dodecylpyrrolidon

Der Dopaminagonist Protergurid könnte demnach mittels eines permeationsverstärkerfreien Matrix-Transdermalsystems mit einer Größe von 20 cm² in therapeutischen Dosen am Menschen appliziert werden. Der für diese Formulierung verwendete Gelva[®]-Hauthaftkleber zeigte sowohl eine sehr gute Hautadhäsion in vivo als auch eine sehr gute Hautverträglichkeit. Unter der Annahme, dass der Wirkstoff selbst nicht zu einer spezifischen oder unspezifischen Reizung des dermalen Zellgewebes führt, kann von einem gut verträglichen, stabilen Transdermalsystem akzeptabler Größe ausgegangen werden. Die Pflastergröße könnte unter Einarbeitung von 10% N-Dodecylpyrrolidon auf 10 cm² halbiert werden, jedoch ist dann eine verminderte Hautverträglichkeit wahrscheinlich.

Mit Hilfe der Reservoirtechnologie waren die transdermalen Flüsse durch die exzidierte Haut der haarlosen Maus um ein Vielfaches höher. Daraus resultiert, dass die entsprechend abgeschätzten Größen der Transdermalsysteme für die Verabreichung der postulierten Tagesdosis am Menschen deutlich geringer angegeben werden können. Demnach könnten 25 µg Protergurid durch ein permeationsverstärkerfreies, 3 cm² großes Reservoirpflaster auf Basis der mikroporösen Solupor[®]-Membran und einer Bio-PSA[®]-Adhesivschicht transdermal verabreicht werden. Die Einbettung von N-Dodecylpyrrolidon (10%) ließe die aktive Pflastergröße nach diesen Überlegungen um 25% auf etwa 2 cm² reduzieren.

Anhand der präsentierten Daten konnte gezeigt werden, dass Protergurid in nennenswerten Mengen in vitro permeiert. Durch eine konsequente Optimierung der Pflastergrundlagen, der Wirkstoffbeladung und der Art und Menge potentieller Permeationsverstärker konnten Transdermalsysteme entwickelt werden, welche eine transdermale Applikation mit einem attraktiv-kleinen und leistungsfähigen System vermuten lassen. Die weitere Entwicklung eines transdermalen, dopaminergen, therapeutischen Systems, um die gerade bei der Therapie des Morbus Parkinson klinisch bedeutsame, kontinuierliche dopaminerge Stimulation zu erzielen und so die Gefahr von Dyskinesien und anderen motorischen Langzeitkomplikationen unter der Medikation zu minimieren, erscheint aufgrund der hier dargestellten Daten vielversprechend.