

6 Lokalanästhetikahaltige Systeme

6.1 Theoretische Grundlagen der perkutanen Lokalanästhesie

Nachdem KOLLER 1884 erstmals die betäubende Wirkung von Cocain bei lokaler Anwendung am Auge beschrieben hatte [101], gewann die Lokalanästhesie bei operativen Eingriffen schnell an Bedeutung. 1905 wurde als erstes synthetisch hergestelltes Lokalanästhetikum Procain in die Therapie eingeführt, das eine deutlich geringere systemische Toxizität als Cocain aufweist. Mit der Synthese von Lidocain 1943 gelang LÖFGREN die Etablierung einer neuen Substanzgruppe, der Amid-Lokalanästhetika. Lidocain besitzt auch heute noch weltweit große Bedeutung, obwohl inzwischen zahlreiche strukturell verwandte Substanzen entwickelt wurden [139].

Für die Aufnahme von Lokalanästhetika durch intakte Haut stellt das Stratum corneum eine effektive Diffusionsbarriere dar, so dass deren lokale Applikation zunächst auf Schleimhäute und verletzte Hautstellen beschränkt war. MONASH beschrieb 1957 erfolgreiche Versuche, eine Lokalanästhesie nach dermalen Applikation an intakter Haut zu erzielen. Er verwendete anstatt der bisher üblichen wasserlöslichen Salzform Lokalanästhetika als freie Base in alkoholischer Lösung und in Salbengrundlagen [129]. Dieser Entdeckung wurde zunächst jedoch wenig Bedeutung beigemessen, da die Kombination von Lokalanästhetika mit Penetrationsenhancern wie DMSO, die die Barriereintegrität des Stratum corneum herabsetzen, sowie die Anwendung hoher Arzneistoffkonzentrationen auch den gewünschten Effekt hervorrufen. Die Entwicklungsarbeit einer schwedischen Forschungsgruppe in den siebziger Jahren führte zur Einführung des ersten kommerziell erhältlichen Produkts, das Lokalanästhetika in Basenform zur perkutanen Anwendung enthält [229].

Das Interesse an transdermalen Lokalanästhesie ist in den letzten Jahren stark angestiegen. Das ist nicht nur der wachsenden Anzahl an minimal invasiven chirurgischen Eingriffen zu verdanken. Auch verschiedene andere schmerzhafte Behandlungen lassen sich nach transdermalen Gabe lokalanästhetisch wirksamer Präparate für den Patienten angenehmer gestalten. Gute Erfolge sind z. B. bei Venenpunktionen [140], der Kürettage von Mollusken [167], der Wundversorgung von Ulcus-cruris-Patienten [81], bei schmerzhaften Lasertherapien [121], der Entnahme von Hautbiopsien [214], retrobulbären Injektionen vor Kataraktoperationen [30], der Allergietestung mittels Prick-Test [2], bei Neuralgieschmerzen nach Herpes-Zoster-Infektionen [169] sowie zahlreichen weiteren Anwendungen beschrieben worden. Von besonderem Interesse ist eine schmerzlose Lokalanästhesie ohne vorherige Injektion in der Pädiatrie.

6.1.1 Kutanes Schmerzempfinden

Die Wahrnehmung äußerer Reize über die Haut geschieht mit Hilfe des engen Geflechts an Nervenfasern, das die gesamte Dermis durchzieht. An den freien Nervenendigungen finden

sich neben Mechano- und Thermorezeptoren auch Nozizeptoren, die eintreffende Schmerzreize registrieren. Die Stimulation dieser Rezeptoren bewirkt eine Depolarisation der bis dahin im Ruhepotential befindlichen Membranen der ableitenden, erregbaren Nervenfasern. Bei Überschreiten eines Schwellenwertes bildet sich ein Aktionspotential aus. Dabei kommt es durch Konformationsänderung des Natriumkanalproteins zur Öffnung dieses im Ruhezustand geschlossenen Ionenkanals. Die Folge ist ein plötzlicher schneller Einstrom von Natriumionen aus dem Extrazellularraum in die Zelle aufgrund des vorhandenen Konzentrationsgefälles. Mit einer gewissen zeitlichen Verzögerung öffnen sich auch die Kaliumkanäle. In dieser Repolarisationsphase kommt es infolge der herrschenden elektrochemischen Gradienten zum Ausstrom von Kaliumionen. Gleichzeitig mit der Öffnung der Kaliumkanäle schließen sich die Natriumkanäle bereits wieder. Erst allmählich folgen die Kaliumkanäle und die Natriumkanäle werden wieder aktivierbar. Ionenpumpen sorgen nach Ablauf des Aktionspotentials für die Rückführung der Ionen, d. h. sie transportieren aktiv Natriumionen aus der Zelle heraus und Kaliumionen in diese hinein.

Die Weiterleitung der Erregungen vom Rezeptor durch die Nervenfasern bis zum Gehirn erfolgt dadurch, dass nach Ausbildung eines Aktionspotentials an der jeweils benachbarten Stelle der Nervenfasern eine Depolarisation der Membran induziert wird. Auf diese Weise breitet sich das Aktionspotential auf der Oberfläche der Nervenfasern aus. Die Geschwindigkeit dieser Ausbreitung und damit der Erregungsleitung differiert in Abhängigkeit vom Bau der Nervenfasern. Dicke, von einer Myelinschicht umhüllte Fasern (A-Fasern) leiten Erregungen schneller als dünne, marklose Fasern (C-Fasern). Afferente, von Schmerzrezeptoren ausgehende Nervenfasern gehören überwiegend zum letzten Typ, während die Erregungen von Hautrezeptoren für Druck und Berührung durch A β -Fasern weitergeleitet werden [201] [220].

6.1.2 Lokalanästhetika

6.1.2.1 Struktur-Wirkungs-Beziehungen

Lokalanästhetika sind Stoffe, die reversibel und örtlich begrenzt die Leitfähigkeit sensibler Nervenfasern herabsetzen. Durch Interaktion mit einer Bindungsstelle an der Membrannenseite des Natriumkanals wird dieser Ionenkanal blockiert, was den Einstrom von Natriumionen und damit die zur Erregungsleitung nötige Ausbildung von Aktionspotentialen verhindert.

Nach Untersuchungen von LÖFGREN zeigen Substanzen mit lokalanästhetischer Wirksamkeit strukturelle Gemeinsamkeiten (Abb. 27). Zur Bindung am Ionenkanal der Nervenmembran sind Substanzen befähigt, die ein lipophiles Ende, meistens aromatischer oder heterozyklischer Natur, und ein hydrophiles Ende, normalerweise in Form einer sekundären oder tertiären Aminogruppe, besitzen. Eine „Zwischenkette“ verbindet die beiden Molekülteile in einem bestimmten Abstand. In Abhängigkeit von deren Struktur

erfolgt die Einteilung der Lokalanästhetika in Ester- und Amidtyp. Beide unterscheiden sich vor allem in der chemischen Stabilität. Während Ester-Lokalanästhetika (z. B. Benzocain, Tetracain) im Plasma rasch durch Pseudocholinesterase gespalten werden, sind Amid-Lokalanästhetika (z. B. Lidocain, Bupivacain) hydrolysestabil. Ihre Metabolisierung erfolgt mit Ausnahme von Prilocain fast ausschließlich in der Leber. Als Derivate der p-Aminobenzoesäure besitzen Ester-Lokalanästhetika ein allergenes Potential.

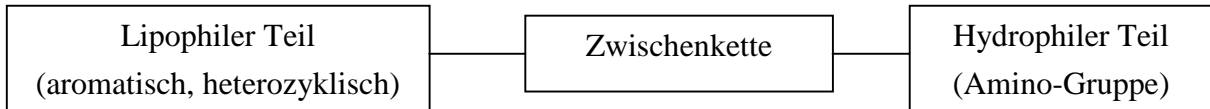


Abb. 27: Grundstruktur der Lokalanästhetika nach LÖFGREN [117]

Eine Bindung derartiger Strukturen an entsprechende Stellen der Nervenmembran kann durch Wasserstoff-Brückenbindungen, Dipol-Dipol-Wechselwirkungen, van der Waalsche Bindungen und Elektrostatische Wechselwirkungen erfolgen.

Die meisten Lokalanästhetika lassen sich in das LÖFGRENSche Schema einordnen. Jedoch existieren auch lokalanästhetisch wirksame Verbindungen anderer Struktur (z. B. der Dodecylalkohol Polidocanol, Thesit[®]) [180] [220].

Viele Lokalanästhetika sind außerdem in der Lage, aufgrund ihrer Struktur Wechselwirkungen mit Biomembranen einzugehen, wodurch deren Permeabilität beeinflusst wird. An der Nervenmembran kann eine derartige unspezifische Membranexpansion mit zur lokalanästhetischen Wirkung beitragen.

An isoliertem humanem Stratum corneum konnte von RÖMMEN et al. mit Hilfe von DSC-Untersuchungen eine Abnahme der Packungsdichte der Lipidbilayer unter Einfluss verschiedener Lokalanästhetika nachgewiesen werden [161]. Das könnte eine Ursache dafür sein, dass Lokalanästhetika die Aufnahme von Corticoiden durch die Haut verbessern. Sowohl an isolierter Rindereuterhaut *in vitro* [163] als auch im Blanching-Test an Probanden [162] konnten für verschiedene Lokalanästhetika unterschiedlich stark ausgeprägte Enhancereigenschaften nachgewiesen werden. Lidocain zeigte dabei die stärksten Effekte [164].

6.1.2.2 Physikochemische Eigenschaften

Die dem LÖFGRENSchen Schema entsprechenden Lokalanästhetika sind chemisch betrachtet schwache Basen. Sie bilden stabile, kristalline Salze, während die Basenform oft ölig oder amorph ist. Für Injektionen werden wegen ihrer guten Wasserlöslichkeit meistens die entsprechenden Hydrochloride verwendet. Dafür sind die Basen besser zur perkutanen Anwendung geeignet, da sie aufgrund ihrer Lipophilie das Stratum corneum besser durchdringen können.

In Abhängigkeit vom **pK_a-Wert** der Substanz stellt sich im physiologischen Milieu ein Gleichgewicht zwischen ionisierter Form und lipophiler Base ein. Während die Bindung am Natriumkanal nur durch die dissoziierte Form dieser Arzneistoffe erfolgen kann, wird

für die Penetration der Substanzen zum Bindungsort die lipophile Base gebraucht. Diese kann sich auch in Membranen einlagern und so eine Blockade von Ionenkanälen durch unspezifische Membranexpansion hervorrufen. Die Wirkungsweise der Lokalanästhetika basiert auf einem Wechselspiel zwischen ungeladener und ionisierter Form. Dabei wird die Geschwindigkeit des Wirkungseintritts vom pK_a -Wert der Arzneistoffe beeinflusst. Dieser liegt bei den meisten Lokalanästhetika zwischen 7,6 und 8,9, so dass im physiologischen Milieu zwischen 65 und 90 % der Substanz in ionisierter Form vorliegen. Je höher der pK_a -Wert, desto geringer ist der Anteil der für eine rasche Penetration nötigen lipophilen Basenform und desto langsamer erfolgt der Wirkungseintritt.

Die lokalanästhetische Wirksamkeit (Potenz) der Arzneistoffe hängt vor allem von der **Lipophilie** des jeweiligen Moleküls ab. Diese lässt sich anhand des Verteilungskoeffizienten beurteilen. Lipophilere Substanzen können nicht nur biologische Membranen schneller durchdringen. Sie weisen auch eine größere Affinität zum Nervengewebe auf und können sich dort verstärkt anreichern. Somit besteht ein direkter Zusammenhang zwischen Lipophilie und lokalanästhetischer Potenz der Arzneistoffe. Daraus leitet sich die Einteilung in gering, mittel und stark wirksame Lokalanästhetika ab.

Die **Proteinbindung** besitzt vor allem hinsichtlich der Wirkdauer Bedeutung. Ein hoher an Plasma- und Membranproteine gebundener Anteil an Arzneistoff hat eine langsamere Elimination und somit eine längere Wirksamkeit zur Folge. Für die Bindung von Lokalanästhetika besitzen vor allem die beiden Plasmaproteine Albumin und saures α -1-Glycoprotein Bedeutung. Letzteres weist eine hohe Affinität bei begrenzter Kapazität auf, während die weniger spezifische Bindung an Albumin mit größerer Bindungskapazität erst bei höheren Lokalanästhetikakonzentrationen erfolgt. Biologische Aktivität besitzt nur der nichtproteingebundene Anteil des Lokalanästhetikums, so dass die Systemtoxizität nicht von der Gesamtkonzentration, sondern nur vom freien Anteil an Arzneistoff im Plasma abhängt [45] [210] [229].

6.1.2.3 *Pharmakologische Wirkungen*

Da Lokalanästhetika an verschiedenen erregbaren Membranen prinzipiell gleichartig wirken, können besonders bei Gabe höherer Dosen neben dem bereits beschriebenen Einfluss auf die Erregungsleitung in nozizeptiven Nervenfasern auch andere Effekte auftreten. Nach Applikation eines Lokalanästhetikums erfolgt zunächst eine Blockade dünner, unmyelinisierter C-Fasern, dann die der schwach myelinisierten A δ -Fasern, die beide der Schmerzleitung dienen. Dieser Vorgang wird als Analgesie bezeichnet. Je dicker die Myelinschicht um die Nervenfasern ist, desto größere Mengen des Lokalanästhetikums werden zu ihrer Blockade benötigt. So tritt bei weiterem Konzentrationsanstieg zunächst eine Anästhesie, d. h. eine Hemmung der für die Weiterleitung von Berührungs- und Druckreizen verantwortlichen A β -Fasern, und später eine Blockade der motorischen Erregungen in den dick myelinisierten A α -Fasern auf. Auch die Anwendung von

Lokalanästhetika höherer Lipophilie kann zu schnellerer motorischer Blockade führen [210].

Die meisten Lokalanästhetika bewirken bei Anwendung in üblichen Konzentrationen eine Vasodilatation, die zu einem schnelleren Abtransport aus dem entsprechenden Gewebe führt. Um das zu minimieren, werden bei Infiltrationsanästhesien häufig Vasokonstriktoren wie Adrenalin zugesetzt, die die Durchblutung im entsprechenden Gewebe herabsetzen.

Die gute Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke für die meisten Lokalanästhetika ermöglicht ein rasches Anfluten im ZNS. Dies steht in direktem Zusammenhang mit der Lipophilie und damit der lokalanästhetischen Potenz der Substanz. Bei zunehmender Überdosierung treten in der Reihenfolge exzitatorische Symptome wie Taubheit von Mund und Zunge, Benommenheit, akustische, visuelle und Sprachstörungen, später Muskelzuckungen bis hin zum Krampfanfall mit Atemlähmung als möglichem Endstadium auf [185].

In höheren Konzentrationen beeinflussen Lokalanästhetika auch das kardiovaskuläre System. Am Herzen wirken sie negativ inotrop. Bedingt durch die auftretende Vasodilatation kann es zum Blutdruckabfall kommen. Häufig treten Störungen der Reizleitung auf, die Arrhythmien bis hin zum AV-Block zur Folge haben können [158].

Mit den genannten zerebralen und kardiovaskulären Nebenwirkungen ist normalerweise bei transdermaler Applikation von Lokalanästhetika und Oberflächenanästhesie auf Schleimhäuten nicht zu rechnen. Die beschriebenen Effekte sind im Rahmen intensivmedizinischer Betreuung bei Leitungsanästhesien oder intravenösen Lokalanästhesien beobachtet worden.

6.1.2.4 *Ausgewählte Lokalanästhetika*

Für die Einarbeitung in Mikroemulsionen wurden im Rahmen dieser Arbeit Substanzen ausgewählt, die eine gute Wirksamkeit im Hinblick auf schnelle und ausreichend tiefe Lokalanästhesie der Haut vermuten lassen. Zusätzlich spielten Aspekte der galenischen Verarbeitung und der Verfügbarkeit bei der Auswahl eine Rolle.

Im Folgenden sollen deswegen nur die Substanzen näher charakterisiert werden, die bei den weiteren experimentellen Arbeiten zum Einsatz kamen..

Lidocain

Lidocain (2-Diethylamino-2',6'-dimethylacetanilid) war nicht nur die erste therapeutisch verwendete Substanz aus der Gruppe der Amid-Lokalanästhetika, sondern ist auch heute noch eines der am häufigsten zur Oberflächen-, Infiltrations- und Leitungsanästhesie eingesetzten Lokalanästhetika. Wegen seiner Wirksamkeit am Herzmuskel findet es auch als Antiarrhythmikum Verwendung.

Lidocain besitzt einen pK_a -Wert von 7,9 und liegt zu ca. 64 % an Proteine gebunden vor. Seine Wirkung setzt schnell ein und ist von mittellanger Dauer (1,5 – 3 h). Mit einem

Verteilungskoeffizienten von 2,9 weist es eine mäßige Lipophilie auf und gehört zu den Stoffen mit mittlerer lokalanästhetischer Potenz.

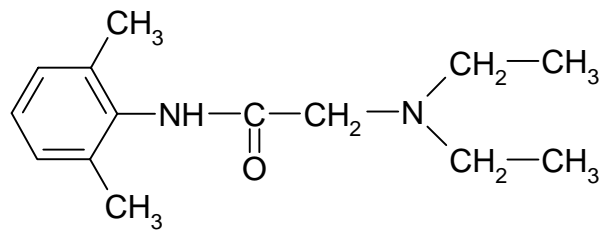


Abb. 28: Strukturformel von Lidocain

Lidocain wird zu über 90 % in der Leber metabolisiert, nur 5-10 % werden unverändert renal ausgeschieden. Aufgrund der vasodilatatorischen Wirkung erfolgt die Injektion ins Gewebe oft unter Zusatz von Adrenalin. Zur Oberflächenanästhesie von Häuten und Schleimhäuten wird Lidocain bzw. Lidocainhydrochlorid meist in Konzentrationen von 2 bis 5 % als wässrige Lösung, Gel oder Salbe verwendet [49] [211].

Prilocain

Prilocain (2'-Methyl-2-propylaminopropionanilid) gehört mit einem pK_a -Wert von 7,9 und einer Proteinbindungsrate von 55 % ebenfalls zu den schnell und mittellang wirksamen Amid-Lokalanästhetika. Obwohl sein Verteilungskoeffizient von 0,9 auf eine weitaus geringere Lipophilie als bei Lidocain hindeutet, weisen beide Substanzen eine vergleichbare lokalanästhetische Potenz auf. Der Grund dafür ist die deutlich geringere vasodilatatorische Aktivität von Prilocain. Diese sorgt für eine vergleichsweise höhere Konzentration im Gewebe, da die Diffusion von der Injektionsstelle ins Blut langsamer erfolgt [220]. Gleichzeitig ist die Plasmakonzentration geringer als nach Gabe vergleichbarer Lidocaindosen. Da Prilocain außerdem die höchste Clearance aller Amid-Lokalanästhetika aufweist, d. h. am schnellsten wieder aus dem Plasma eliminiert wird, ist seine Kardiotoxizität am geringsten [211].

Auch Prilocain unterliegt in hohem Maße dem First-pass-Effekt in der Leber. Der durch Hydrolyse entstehende Metabolit o-Toluidin kann zur Methämoglobinbildung führen, wobei toxische Bereiche erst nach Gabe sehr hoher Prilocaindosen in der Leitungsanästhesie erreicht werden [202]. Wie in mehreren Studien mit Neugeborenen nachgewiesen wurde, besteht bei sachgemäßer Applikation von prilocainhaltigen Zubereitungen auf der Haut in dieser Hinsicht keine Gefahr [26] [55].

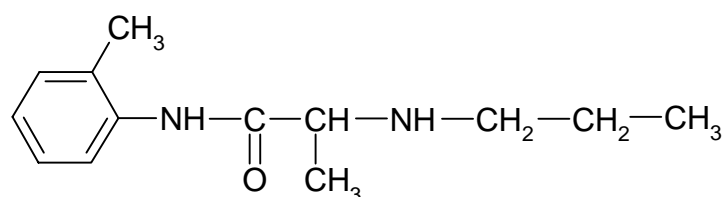


Abb. 29: Strukturformel von Prilocain

Prilocain wird bisher als Hydrochlorid zur Infiltrations- und Leitungsanästhesie in Konzentrationen von 0,5-2 % angewendet. Zur Applikation auf der Haut steht es in Basenform in Kombination mit Lidocain zur Verfügung [49].

Bupivacain

Das ebenfalls zu den Amid-Lokalanästhetika gehörende Bupivacain (D,L-1-Butyl-2',6'-dimethyl-2-piperidincarboxanilid) besitzt eine deutlich größere Lipophilie als Lidocain und gehört mit einem Verteilungskoeffizienten von 27,5 und mit einem proteingebundenen Anteil von 96 % zu den langwirksamen Substanzen. Seine lokalanästhetische Potenz ist vierfach im Vergleich zu Lidocain, die Anschlagzeit dafür länger. Bupivacain besitzt einen pK_a -Wert von 8,1 und liegt damit im physiologischen Milieu zu einem größeren Anteil protoniert vor. Die Blockade motorischer Nerven ist bei Bupivacain vergleichsweise gering ausgeprägt. Diese niedrigere Affinität zu den stärker myelinisierten Fasern ist vor allem durch das Verhältnis von pK_a -Wert zu Lipophilie bedingt [45] [211].

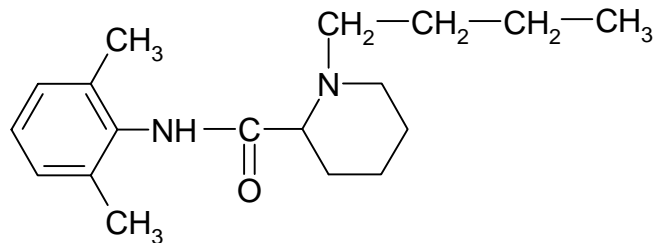


Abb. 30: Strukturformel von Bupivacain

Trotz starker Wirksamkeit in der Oberflächenanästhesie wird Bupivacain bisher nur in der Leitungsanästhesie eingesetzt. Dabei werden 0,25-0,75 %ige Lösungen des Hydrochlorids verwendet [49].

EMLA

Bei Kombination der Basenformen von Lidocain und Prilocain im Masseverhältnis 1:1 entsteht die Eutektische Mischung von Lokal-Anästhetika – **EMLA**. Ein Charakteristikum eutektischer Mischungen ist, dass der Schmelzpunkt einen minimalen Wert erreicht. Dieser beträgt bei EMLA 18 °C und ist damit deutlich niedriger als der von reinem Lidocain (67 °C) und reinem Prilocain (37 °C). Bei Raumtemperatur liegt die Lokalanästhetikamischung folglich als lipophile Flüssigkeit vor. Sie kann ohne weiteren Ölzusatz in einer wässrigen Phase emulgiert werden und besitzt dann eine höhere thermodynamische Aktivität als in einer Ölphase gelöste reine Lokalanästhetika. Nach NYQVIST-MAYER et al. existiert EMLA in einer derartigen O/W-Emulsion in drei Formen: frei gelöst, tensidsolubilisiert und emulgiert. Bei einer EMLA-Konzentration von 5 % liegen 80 % der Mischung in der emulgierten Form vor. Bei einer Lidocainemulsion gleicher Konzentration sind es dagegen nur 20 % [28] [142].

6.1.3 Anwendung von Lokalanästhetika auf der Haut

Gemessen an der Vielzahl in der Literatur beschriebener Versuche und patentierter Methoden, Lokalanästhetika auf der Haut anzuwenden, ist die Anzahl kommerziell erhältlicher Präparate bisher gering. Die derzeit in Deutschland zugelassenen Produkte enthalten meist Lidocainhydrochlorid in verschiedenen Zubereitungen und sind zur Anwendung auf Schleimhäuten vorgesehen. So werden 2 %ige Gele für Endoskopien und urologische Untersuchungen verwendet. 4 %ige wässrige Lösungen stehen für operative und diagnostische Eingriffe im HNO-Bereich zur Verfügung. Lidocain als Base ist in ethanolischer Lösung als Pumpspray sowie als 5 %ige Salbe erhältlich. Beide sind auf Haut und Schleimhaut anwendbar. Das Esterlokanästhetikum Benzocain ist in Mono- und Kombinationspräparaten in Konzentrationen zwischen 5 und 20 % in Form von Creme, Salbe oder Gel für die antipruriginöse Therapie zugelassen. Für diese Indikation existiert auch eine polidocanolhaltige Lotion [168].

Das zur Lokalanästhesie der Haut am besten geeignete und am häufigsten verwendete Präparat ist die EMLA[®] Creme. Sie enthält als wirksame Bestandteile die eutektische Mischung aus Lidocain und Prilocain in 5 %iger Konzentration. Diese beiden lipophilen Komponenten bilden mit Hilfe von Arlatone 289 (hydriertes Macrogolricinoleat) in Wasser eine O/W-Emulsion. Außerdem enthält EMLA[®] Creme zur Viskositätserhöhung 1 % Carbomer 2984 (Carboxypolymethylen). Mit NaOH wird ein pH-Wert von 9 eingestellt und somit die Dissoziation der Lokalanästhetikabasen minimiert [215]. Zusätzlich neutralisiert NaOH die freien Säuregruppen von Carbomer 2984 und verhindert damit mögliche Wechselwirkungen mit den Lokalanästhetikabasen [143]. Um nach Auftragen von EMLA[®] Creme eine ausreichende Lokalanästhesie auf intakter Haut zu erzielen, ist das Abdecken mit einem Okklusivverband und eine etwa einstündige Applikationsdauer erforderlich. Alternativ kann das EMLA[®] Pflaster verwendet werden. Es enthält 1 g der Creme und bewirkt selbst eine Okklusion der Haut, so dass sich ein zusätzlicher Verband erübrigt [5].

In der Literatur sind zahlreiche Untersuchungen mit EMLA[®] Creme beschrieben worden, von denen hier nur einige ausgewählte zitiert werden sollen. Das Produkt basiert auf der von BROBERG und EVERS patentierten eutektischen Mischung von Lidocain und Prilocain [27], die bereits in Kap. 6.1.2.4 charakterisiert wurde. Die von NYQVIST-MAYER et al. durchgeführten Untersuchungen zeigen eine kontinuierliche *In-vitro*-Freisetzung der beiden Lokalanästhetika aus einer einfachen O/W-Emulsion über einen weiten Konzentrationsbereich. Ein Grund dafür ist, dass zwischen frei gelöstem, solubilisiertem und emulgiertem Arzneistoff ein Gleichgewicht besteht. Dieses stellt sich schnell wieder ein, sobald gelöster Arzneistoff in den Akzeptor diffundiert ist, so dass stets eine gesättigte Lösung mit hoher thermodynamischer Aktivität vorliegt. Bei Zusatz des Viskositätserhöhers Carbomer 2984 wird die Freisetzung vehikelkontrolliert und gehorcht

dem Gesetz von HIGUCHI für Suspensionssalben, d. h. die freigesetzte Arzneistoffrate ist proportional zur Quadratwurzel der Zeit [143].

In klinischen Studien am Probanden zeigte sich, dass für eine hinreichende Lokalanästhesie der intakten Haut EMLA-Konzentrationen von 2,5 % nötig sind. Eine Erhöhung auf 5 % verbesserte die Wirksamkeit nicht weiter, während eine 1 %ige Creme signifikant schlechter abschnitt. Eine Okklusionsdauer von 30 min erwies sich als nicht ausreichend, nach 60 min war die Wirkung zufriedenstellend [57]. Eine längere Anwendung führte zu Anästhesie tieferer Hautschichten, wie am Beispiel von Hautbiopsien unterschiedlicher Tiefe gezeigt werden konnte [216].

Trotz der langen Mindestapplikationsdauer besitzt EMLA[®] Creme heute einen großen Stellenwert als nichtinvasives Lokalanästhetikum und wird für zahlreiche schmerzhafteste Behandlungen und Untersuchungen in der Pädiatrie, Dermatologie, Venerologie, Urologie und Gynäkologie eingesetzt [31].

In der neueren Literatur wird von SCHERLUND et al. die Entwicklung EMLA-haltiger Systeme auf der Basis von POE-POP-Blockpolymeren zur Anwendung in der Mundhöhle beschrieben. Das als Grundlage dienende Lutrol[®] F127 bildet in bestimmten Konzentrationen mit Wasser Systeme, die bei Raumtemperatur flüssig sind und bei Körpertemperatur in einen gelartigen Zustand übergehen. Da nach Einarbeitung von 2,5 % EMLA jedoch Instabilitäten bis hin zur Phasentrennung auftraten, war der Zusatz eines weiteren Tensids erforderlich. In einigen der getesteten Zusammensetzungen bildeten sich bei höheren pH-Werten O/W-Mikroemulsionen. Niedrige pH-Werte führten zum Vorliegen der Lokalanästhetika als wasserlösliche Kationen, was begünstigend auf die Ausbildung von Mischmizellen wirkt. Letztere zeigten bessere *In-vitro*-Freisetzungsergebnisse als die Mikroemulsionen, alle getesteten Vehikel waren jedoch überlegen gegenüber EMLA[®] Creme [176] [177]. Die Systeme wurden für die Anwendung in der Mundhöhle patentiert [29].

In der Patentliteratur lassen sich weitere EMLA-haltige Vehikelsysteme zur Anwendung auf der Haut finden. RAJADHYASHA et al. entwickelten eine O/W-Creme mit je 2,5 % Lidocain und Prilocain, die einen pH-Wert von 6,8 aufweist. Unter Okklusion konnte eine rasche und langanhaltende lokalanästhetische Wirkung nachgewiesen werden [157].

CASTILLO beschreibt ein Vehikelsystem auf Paraffinbasis mit einem Wasseranteil unter 1 %, das ohne Okklusion nach 45-60 min eine ca. 180 min anhaltende gute Lokalanästhesie der Haut bewirken soll. Darin sind Lidocain und Prilocain im Verhältnis 3:1 kombiniert. Als besonders vorteilhaft wird die gute Lagerstabilität hervorgehoben [34].

Ein etwas anderes Wirkprinzip liegt dem von WOOLFSON und MCCAFFERTY entwickelten Produkt zugrunde, für das ebenfalls eine gute und schnelle lokalanästhetische Wirksamkeit nachgewiesen wurde [229]. Es enthält Tetracain in 4 %iger Konzentration und ist in Großbritannien unter dem Namen Ametop[®] Gel zugelassen [231].

Tetracain (Amethocain) gehört in die Gruppe der Ester-Lokalanästhetika und besitzt aufgrund seiner starken Lipophilie eine hohe, dem Bupivacain vergleichbare lokalanästhetische Potenz bei langer Wirkdauer. Mit einem pK_a -Wert von 8,5 liegt es im Gewebe überwiegend dissoziiert vor und weist einen eher langsamen Wirkungseintritt auf. Nach Untersuchungen von MCCAFFERTY et al. zeigt Tetracain neben Lidocain *in vitro* die höchsten Fluxraten der untersuchten Substanzen [125]. Seine Besonderheit gegenüber anderen Lokalanästhetika liegt darin, dass Tetracain bei Hydratisierung eine ausgeprägte Schmelzpunktdepression von ca. 42 °C auf 29-32 °C erfährt. Das bedeutet, dass der Arzneistoff in einem wasserhaltigen System wie Ametop[®] Gel bei Raumtemperatur als suspendierter Feststoff vorliegt, der sich beim Auftragen auf die Haut infolge der damit verbundenen Temperaturerhöhung in die ölige Base umwandelt und dann eine hohe thermodynamische Aktivität besitzt [230].

Bei Untersuchungen an Human- und Schweinehaut konnte gezeigt werden, dass dieses Gel mit 4 % Tetracain zu höheren Penetrationsraten führt als bei Verwendung von 2 % Wirkstoff, während eine Steigerung auf 6 % keine weitere Verbesserung bewirkt [228]. Dies steht in Übereinstimmung mit klinischen Daten aus Prick-Testungen, bei denen das kutane Schmerzempfinden nach einem Nadelstich beurteilt wird. Dabei wurde eine Verkürzung der Anschlagzeit bei Zunahme der Arzneistoffkonzentration bis 4 % beobachtet. Eine zum Vergleich getestete O/W-Creme wies erst bei einem Tetracaingehalt von 12 % eine vergleichbare Wirkung auf [226].

Tetracain kann aufgrund seiner Esterstruktur durch in der Haut befindliche Esterasen gespalten werden. Jedoch ist die kutane Metabolisierungsrate relativ niedrig, da Tetracain eine geringe Affinität zu den unspezifisch wirkenden Enzymen aufweist [227].

Vergleichende Untersuchungen mit EMLA[®] Creme sind von verschiedenen Autoren durchgeführt worden. Die lokalanästhetische Wirksamkeit wird dabei überwiegend als gleichwertig beurteilt [21] [38]. Während für EMLA[®] Creme jedoch eine Applikationsdauer von 60 min nötig ist, sind nach MCCAFFERTY et al. bei Ametop[®] Gel bereits nach 30 min lokalanästhetische Effekte nachweisbar [124]. Das später entwickelte tetracainhaltige Pflaster steht dem Gel dabei in seiner Wirksamkeit nicht nach [123].

Neben den klassischen Salbengrundlagen wie in EMLA[®] Creme und Ametop[®] Gel werden in der jüngeren Literatur in zunehmendem Maße Untersuchungen mit kolloidalen Arzneistoffträgersystemen beschrieben. Zu den besonders eingehend untersuchten Formulierungen gehören dabei Liposomenpräparate. So gibt es bereits einige Versuche, Lokalanästhetika liposomal auf der Haut zu applizieren. Ein von FOLDVARI entwickeltes derartiges System mit 2 % Tetracain wies eine höhere *In-vitro*-Freisetzungsrates als die zum Vergleich getesteten herkömmlichen Salbengrundlagen auf. Im Prick-Test an Probanden zeigte sich jedoch unter Okklusion keine deutlich bessere lokalanästhetische Wirksamkeit [61]. Mit elektronenmikroskopischen Untersuchungen an Meerschweinchenhaut konnten die Liposomen in der Dermis als intakte Partikel nachgewiesen werden [62]. Ein von

MEZEI und GESZTES entwickeltes Liposomenpräparat wies bereits mit 0,5 % Tetracain bzw. mit 2 % Lidocain lokalanästhetische Effekte auf, wobei die Okklusionsdauer mit der Intensität und Dauer der Wirksamkeit korrelierte [127]. Leider wurde weder bei FOLDVARI noch bei MEZEI und GESZTES EMLA[®] Creme als Vergleich getestet.

PETERS und MOLL konnten für Liposomen mit 2 % Tetracain im Prick-Test an Probanden eine mit EMLA[®] Creme vergleichbare lokalanästhetische Wirksamkeit nachweisen, während 2 % Tetracain in Basiscreme DAC signifikant schlechter abschnitt [150]. 5 % liposomales Tetracain erwies sich bei Untersuchungen von FISHER et al. bei oberflächlicher Anästhesie als etwas wirksamer im Vergleich zu EMLA[®] Creme, in tieferen Epidermisschichten waren die Unterschiede jedoch nicht signifikant [60]. Nach HUNG et al. wurde der Schmerz beim Legen einer Venenkanüle als geringer empfunden, wenn vorher unter 60-minütiger Okklusion statt EMLA[®] Creme ein Liposomenpräparat mit 5 % Tetracain aufgetragen wurde. Dieses erzeugte jedoch bei signifikant mehr Patienten Erytheme und Juckreiz [84].

Von SHARMA et al. sowie SINGH und VYAS wurden liposomale Systeme mit Lidocain [188] und Benzocain [191] beschrieben, die über einen längeren Zeitraum kontinuierliche Mengen des Lokalanästhetikums nach Kinetik 0. Ordnung freisetzen.

Auch der Einsatz einfacher Penetrationenhancer kann die Wirksamkeit dermalen Lokalanästhetika erhöhen. MALLORY et al. berichteten über gute lokalanästhetische Effekte mit 25 % Lidocain in einer Grundlage aus 70 % DMSO und Ethanol [121]. Von MILLER et al. wird ein System mit Tetracain in Propylenglycol-Lösung empfohlen, wobei der Arzneistoff zu 60 % als freie Base und 40 % als Hydrochlorid vorliegt [128].

VALENTA et al. untersuchten den Einfluß von Ionenpaarbildungen auf die Lidocainfreisetzung, wobei sich Unterschiede in Abhängigkeit von der Lipophilie ergaben [212].

Einen ganz anderen interessanten Ansatzpunkt stellt die Anwendung iontophoretischer Verfahren in der dermalen Lokalanästhesie dar, die bereits von verschiedenen Autoren beschrieben wurde. SINGH und ROBERTS untersuchten die Lidocainkonzentrationen in Gewebe und Plasma *in vitro* an Humanhaut und *in vivo* bei der Ratte. Dabei ließen sich nach Durchführung von Iontophorese höhere Konzentrationen im Gewebe und geringere im Plasma detektieren als nach einfacher passiver Diffusion [190]. IRSFELD et al. konnten nach 10-minütiger Iontophorese einer 5 %igen Lidocainlösung mit Adrenalinzusatz eine tiefere Lokalanästhesie nachweisen als nach 60 min Applikation von EMLA[®] Creme unter Okklusion [85]. Dafür ist die Anästhesiedauer nach Entfernung der Elektroden nur relativ kurz. Nach Untersuchungen von MOSS et al. mit Tetracain hält sie nur ca. 10-15 min an [130].

TACHIBANA und TACHIBANA untersuchten den Einfluß von Ultraschall auf die Penetration von Lidocain an Maushaut. Dabei konnte die lokalanästhetische Wirksamkeit einer 2 %igen Lösung in Kombination mit Ultraschall signifikant gesteigert werden, bei einem Lidocain-Gel war kein Unterschied festzustellen [198].

6.2 Entwicklung von lokalanästhetikahaltigen Mikroemulsionen

Trotz einer Vielzahl von Publikationen zur dermalen Lokalanästhesie gibt es nur sehr wenige Untersuchungen, die sich mit der Anwendung von Mikroemulsionen auf diesem Gebiet beschäftigen. Dabei bieten diese kolloidalen Vehikelsysteme aufgrund ihrer vielfach nachgewiesenen hervorragenden Enhancereffekte an der Haut (siehe Kap. 3.4.4) sehr gute Voraussetzungen für das schnelle Eindringen von Wirkstoffen auch in tiefere Hautschichten.

Zu den wenigen Autoren, die sich bisher an die Entwicklung lokalanästhetikahaltiger Mikroemulsionen wagten, gehören ZABKA und BENKOVA. Von ihnen wurde ein W/O-System mit Pentacainhydrochlorid vorgestellt, das sich an Ratten als lokalanästhetisch wirksam erwies [233].

CHANGEZ and VARSHNEY entwickelten eine tetracainhydrochloridhaltige W/O-Mikroemulsion aus den Komponenten AOT, IPM und Wasser. An der Ratte ließ sich für diese Systeme eine analgetische Wirksamkeit nachweisen, die mit zunehmendem Wassergehalt im Vehikel anstieg. Hautirritationen wurden nicht festgestellt [36].

Für die im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Systeme konnte mit dem Modellarzneistoff Hydrocortison eine sehr gute Penetration nachgewiesen werden. Im folgenden Teil soll deshalb untersucht werden, ob sich die entwickelten Mikroemulsionen auch als geeignet für die Applikation von Lokalanästhetika auf intakter Haut erweisen. Dabei wird eine mindestens mit EMLA[®] Creme vergleichbare Wirksamkeit möglichst ohne Anwendung von Okklusionsverbänden angestrebt.

6.2.1 Untersuchungen mit Lidocainhydrochlorid

Den Ausgangspunkt für die hier beschriebenen Arbeiten stellte die von PISTORIUS entwickelte W/O-Mikroemulsion dar, die Span[®] 20 und Pluronic[®] L101 als Tensidkomponenten sowie IPP als lipophile Phase enthält [153]. Der zur Bildung eines stabilen Systems nötige Tensidanteil ist mit 30 % jedoch relativ hoch. In die 5 %ige Wasserphase wurden 4 % Lidocainhydrochlorid eingearbeitet. Liberationsuntersuchungen am MSMM ergaben eine Freisetzungsrate von über 80 % innerhalb von 30 min nach Applikation. Bei Penetrationsstudien an exzidiierter humaner Mammahaut wurden bereits nach 5 min ca. 15 % und nach 30 min 23 % Arzneistoff in der Haut nachgewiesen, wobei eine relativ gleichmäßige Verteilung über die Hautschichten Stratum corneum, Epidermis und Dermis festgestellt wurde. Dass sich kein Depot im Stratum corneum mit nachfolgendem Konzentrationsgradienten ausbildet, wie es für Hydrocortison beobachtet wurde (siehe Kap. 5.3.2), ist wahrscheinlich der stärkeren Hydrophilie von Lidocainhydrochlorid zuzuschreiben. Vergleichbare Konzentrationsprofile wurden auch von SCHMALFUß für die Penetration von Diphenhydraminhydrochlorid aus W/O-Mikroemulsionen gefunden [179]. Eine als Referenz getestete W/O-Emulsion (Eucerin cum Aqua) mit 4 % Lidocainhydrochlorid zeigte zu allen untersuchten Zeiten signifikant schlechtere Penetrationsergebnisse als die Mikroemulsion [153].

Im Rahmen der Weiterentwicklung der W/O-Mikroemulsion von PISTORIUS versuchte WIEFEL höhere Arzneistoffkonzentrationen einzuarbeiten. Dies gelang bis zu einer Menge von 7 % Lidocainhydrochlorid. Außerdem ließ sich ein Teil der Wasserphase durch DMSO ersetzen [219]. Als nächstes sollte ein Vergleich dieser Systeme mit O/W-Mikroemulsionen erfolgen. Die Einarbeitung des Arzneistoffs in das in Kap. 4.1.2 beschriebene Grundsystem erwies sich jedoch als schwierig. Der Zusatz von Lidocainhydrochlorid führte zu einer so starken Verschiebung des Mikroemulsionsgebietes, dass sich im untersuchten Bereich keine einphasigen Systeme mehr bildeten. Dieses Problem konnte durch eine Modifikation in der Zusammensetzung der wässrigen Phase gelöst werden. Wird ein Teil des Propylenglycols durch DMSO ersetzt, bilden sich auch mit 10 % Lidocainhydrochlorid isotrope Systeme. Dabei fungierte IPP als lipophile Phase. Als zweiter Arzneistoff wurde Bupivacain ausgewählt, das eine höhere lokalanästhetische Potenz als Lidocain besitzt, jedoch bisher nicht dermal angewendet wird. Von dessen Hydrochlorid lassen sich 4 % in das O/W-System einarbeiten. Aus diesen Entwicklungsversuchen resultieren vier Mikroemulsionen folgender Zusammensetzung, die als Basis für die weiteren Untersuchungen dienen:

W/O	Lidocain-HCl	7 %
	Span [®] 20/Pluronic [®] L101 (2:3)	30 %
	Wasser	5 %
	IPP	58 %
W/O - DMSO	Lidocain-HCl	5 %
	Span [®] 20/Pluronic [®] L101 (2:3)	30 %
	Wasser/DMSO (4:1)	5 %
	IPP	60 %
O/W	Lidocain-HCl	10 %
	Tween [®] 80/Pluronic [®] L101 (2:3)	20 %
	IPP	5 %
	Wasser/PG/DMSO (2:1:1)	65 %
O/W-B	Bupivacain-HCl	4 %
	Tween [®] 80/Pluronic [®] L101 (2:3)	20 %
	IPP	5 %
	Wasser/PG/DMSO (2:1:1)	71 %

Die **Testung der Liberation** erfolgte am MSMM, das bereits in Kap. 5.2.1 ausführlich beschrieben wurde. Aufgrund der sehr guten Löslichkeit der Lokalanästhetika-Hydrochloride in hydrophilen Medien dienten glycerolhaltige Membranen als Akzeptor (siehe Kap. 8.5). Durch Verwendung einer Nephrophanmembran als obere Abgrenzung sollte eine mögliche Penetration wässriger Vehikelbestandteile minimiert werden. Das Vorliegen von *Sink*-Bedingungen war für alle untersuchten Systeme gewährleistet. Da bei den lokalanästhetikahaltigen Mikroemulsionen vor allem die Geschwindigkeit des Wirkungseintritts von Bedeutung ist, erfolgten die Messungen nach sehr kurzen Applikationszeiten von 5, 10 und 30 min.

In Abb. 31 sind die prozentualen Ergebnisse der Liberationsuntersuchungen dargestellt. Dabei zeigen sich im untersuchten Zeitraum von 5-30 min nach Auftragen der Mikroemulsion relativ hohe Freisetzungsraten zwischen 55 und 80 %. Beim System W/O werden bereits innerhalb der ersten 5 min 66 % des Arzneistoffs freigesetzt, eine Menge, die auch bei längerer Applikationszeit bis 30 min nicht weiter ansteigt. Die Mikroemulsion W/O-DMSO zeigt dagegen eine initial etwas verzögerte Liberation. Bis 10 min ist ein Anstieg der freigesetzten Arzneistoffmenge zu verzeichnen, danach bleibt sie konstant. Die höchste initiale Freisetzungsrates weist die O/W-Mikroemulsion mit Lidocain auf, die gleichzeitig den höchsten Wirkstoffgehalt der untersuchten Systeme besitzt. Nach 5 min scheint die Liberation bereits ihren maximalen Wert erreicht zu haben und steigt bis 30 min nicht weiter an. Beim bupivacainhaltigen O/W-System ist bis 10 min ein Anstieg der freigesetzten Menge zu beobachten, danach bleibt sie konstant.

Ein Vergleich der vier Systeme untereinander zeigt nur geringfügige Unterschiede zu einzelnen Zeitpunkten. So weist die Mikroemulsion W/O-DMSO nach 5 min einen signifikant geringeren Wert auf, als die anderen drei. Nach 10 und 30 min zeigt W/O die niedrigsten Freisetzungsraten. Dabei muss jedoch berücksichtigt werden, dass alle Mikroemulsionen eine andere Arzneistoffkonzentration besitzen und somit ein direkter Vergleich absoluter Mengen erschwert wird. Die Berechnung prozentualer Liberationsraten soll vor allem gewährleisten, dass ausreichend große Mengen Arzneistoff aus der Formulierung freigesetzt werden und dieser Vorgang nicht den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt für den Wirkeintritt darstellt. Mit den vier untersuchten Systemen können gemessen an den sehr kurzen Applikationszeiten hohe Freisetzungsraten erzielt werden.

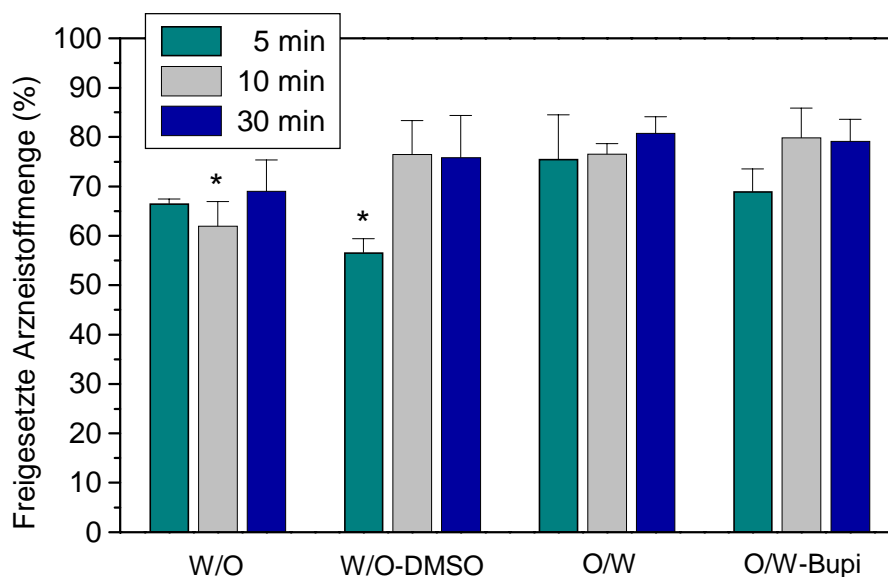


Abb. 31: Liberation von Lidocainhydrochlorid bzw. Bupivacainhydrochlorid aus vier Mikroemulsionen ($\bar{x} \pm SD$, n=5)

* signifikant gegenüber den anderen drei Mikroemulsionen, $p < 0,05$

Eine erste **Testung der lokalanästhetischen Wirksamkeit** dieser Mikroemulsionen im Selbstversuch erbrachte keine zufriedenstellenden Ergebnisse. Bei allen vier Formulierungen wurde ein Prick-Test bis zu drei Stunden nach Applikation noch als schmerzhaft empfunden, während die zum Vergleich getestete EMLA[®] Creme bereits nach 60 min eine komplette Anästhesie erzeugte. Es war kein Unterschied zwischen W/O- und O/W-Mikroemulsionen feststellbar. Auch der Zusatz von DMSO zum W/O-System führte nicht zu einer spürbaren Verbesserung der Anästhesiequalität, wobei die DMSO-Konzentration von 1 % als gering zu bewerten ist. Eine größere Menge ließ sich jedoch bei einem Gesamtanteil an hydrophiler Phase von 5 % nicht einarbeiten. Bei den beiden getesteten O/W-Mikroemulsionen war kein Unterschied zwischen der mit 10 % Lidocainhydrochlorid und jener mit 4 % Bupivacainhydrochlorid feststellbar [221].

Das führt zu dem Schluss, dass die untersuchten Lokalanästhetika-Hydrochloride trotz guter Freisetzung aus der Mikroemulsion nicht in ausreichendem Maße in der Lage sind, die Penetrationsbarriere Stratum corneum zu überwinden.

6.2.2 Untersuchungen mit Lidocain in Basenform

Ziel der folgenden Versuche war es, Lidocain als Base in Mikroemulsionen einzuarbeiten. Dabei sollte wieder ein Vergleich zwischen W/O- und O/W-Mikroemulsionen erfolgen. Als Ausgangspunkt für die Entwicklung dienten die in Kap. 6.2.1 bereits verwendeten Grundsysteme. In die O/W-Mikroemulsion ließen sich ohne Schwierigkeiten 5 % Lidocain inkorporieren. Der Zusatz dieses Arzneistoffs zu dem W/O-System von PISTORIUS hatte eine Phasentrennung zur Folge. Bei verschiedenen Versuchen zur Entwicklung einer geeigneten W/O-Mikroemulsion wurde festgestellt, dass die bereits für O/W-Systeme verwendete Tensidmischung Tween[®] 80/Pluronic[®] L101 (2:3) in Gegenwart von 5 % Lidocain mit IPP und Wasser ebenfalls ein isotropes W/O-System bildet. Diese Mischung wurde für die weiteren Untersuchungen als W/O-Mikroemulsion verwendet.

Wird die gut wirksame EMLA[®] Creme hinsichtlich ihrer Zusammensetzung genauer betrachtet, so fällt auf, dass außer der Verwendung der Lokalanästhetika in Basen- statt in Salzform noch ein anderer Unterschied zu den bisher getesteten Mikroemulsionen besteht: Bedingt durch das zur Herstellung verwendete Natriumhydroxid besitzt EMLA[®] Creme einen pH-Wert von ca. 9. Einerseits dient NaOH zur Neutralisierung des Carbomers, andererseits bewirkt das Vorhandensein des alkalischen Milieus, dass ein größerer Anteil des Lokalanästhetikums in der unprotonierten Basenform vorliegt, die aufgrund ihrer Lipophilie das Stratum corneum besser durchdringen kann. Die o. g. O/W-Mikroemulsion erweist sich auch als stabil, wenn statt Wasser Sörensen-Clark-Puffer pH=11 zur Herstellung verwendet wird. Das Gesamtsystem besitzt dann einen pH-Wert zwischen 8 und 9 und diente mit einem Lidocaingehalt von 5 % als dritte Testmikroemulsion. Bei dem W/O-System gelang es aufgrund des geringen Wasseranteils von 5 % nicht, mit Hilfe eines Puffers einen alkalischen pH-Wert der Gesamtmikroemulsion zu erreichen. Um den Einfluss des pH-Werts getrennt von der penetrationsfördernden Wirkung der

Mikroemulsion zu untersuchen, wurde außerdem eine Basiscreme DAC mit diesem Puffer statt Wasser hergestellt und als Vergleichsvehikel mit getestet. Die Creme wies einen pH-Wert von ca. 9 auf.

Insgesamt resultieren aus diesen Entwicklungsversuchen mit Lidocain in Basenform folgende vier Vehikel, mit denen die nachfolgend beschriebenen Testungen durchgeführt wurden:

W/O	Lidocain	5 %
	Tween [®] 80/Pluronic [®] L101 (2:3)	20 %
	Wasser	5 %
	IPP	70 %
O/W	Lidocain	5 %
	Tween [®] 80/Pluronic [®] L101 (2:3)	20 %
	IPP	5 %
	Wasser/PG/DMSO (2:1:1)	70 %
O/W pH 9	Lidocain	5 %
	Tween [®] 80/Pluronic [®] L101 (2:3)	20 %
	IPP	5 %
	Puffer/PG/DMSO (2:1:1)	70 %
BC pH 9	Lidocain	10 %
	Basiscreme DAC (hergestellt mit Puffer)	90 %

Für die **Freisetzungsuntersuchungen** am MSMM wurden dodecanolhaltige Membranen verwendet. Aufgrund der ausgezeichneten Löslichkeit von Lidocain in Dodecanol (493 mg/ml) liegt der Anteil der Akzeptorsättigung bei Testung 10 %iger Formulierungen selbst bei maximal möglicher Freisetzung deutlich unter 10 %, so dass *Sink*-Bedingungen garantiert werden konnten.

Abb. 32 zeigt die Ergebnisse der Liberationsuntersuchungen. Bei den Systemen W/O und O/W sowie bei der Basiscreme pH 9 zeigt sich eine Zunahme der freigesetzten Lidocainmenge über den Untersuchungszeitraum, während die Mikroemulsion O/W pH 9 offensichtlich bereits nach 5 min ihre höchstmögliche Liberationsrate erreicht hat, denn bis 30 min ist kein weiterer Anstieg zu verzeichnen. Die drei Mikroemulsionen weisen mit über 50 % Freisetzung innerhalb von 5 min nach Applikation alle sehr gute Ergebnisse auf und unterscheiden sich bis 10 min nicht signifikant voneinander. Nach 30 min zeigt W/O das beste Liberationsergebnis. In diesem Zusammenhang muss jedoch auf die eingeschränkte Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Vehikel hingewiesen werden. Aufgrund des hohen IPP-Anteils im System W/O kann ein Eindringen von Vehikelbestandteilen in den Akzeptor nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Um für die vier zu vergleichenden Systeme eine einheitliche Versuchsanordnung zu gewährleisten, wurde auch beim System W/O auf die von Schmalfuß für W/O-Mikroemulsionen vorgeschlagene Nephrophanmembran zur Abgrenzung des Vehikels vom Akzeptor

verzichtet. Die Basiscreme pH 9 zeigt von den vier untersuchten Formulierungen zu allen drei Zeiten die prozentual niedrigsten Freisetzungsraten. In Anbetracht der Tatsache, dass sie mit 10 % Lidocain die doppelte Arzneistoffkonzentration der Mikroemulsionen besitzt, ist die freigesetzte absolute Menge an Arzneistoff jedoch deutlich höher.

Insgesamt betrachtet ist die Freisetzung von Lidocain aus allen Vehikeln gemessen an den kurzen Versuchszeiten als gut bis sehr gut einzuschätzen und folglich nicht der limitierende Faktor für die nachfolgende Penetration in die Haut.

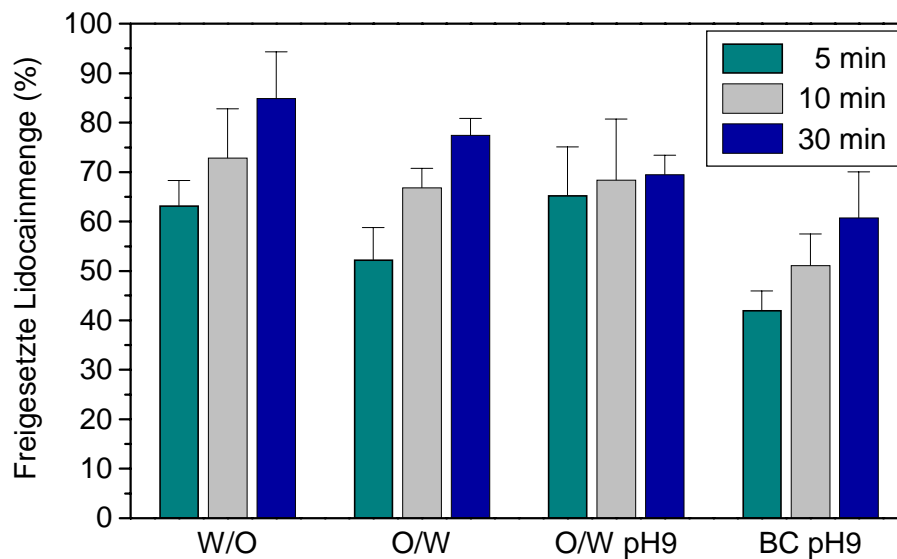


Abb. 32: Liberation von Lidocain aus drei Mikroemulsionen und Basiscreme pH 9 ($\bar{x} \pm SD$, n=5)

Die **lokanästhetische Wirksamkeit** dieser vier Systeme wurde zunächst ebenfalls im Selbstversuch mit Hilfe eines Prick-Tests bewertet, wobei sich Unterschiede zwischen den Präparaten abzeichneten. Als am schnellsten und besten wirksam erwies sich die Mikroemulsion O/W pH 9. Mit einem Wirkeintritt nach 60 min und einer Wirkdauer bis über das Versuchsende (3 h) hinaus ist sie mit EMLA[®] Creme vergleichbar. Lokalanästhetische Wirksamkeit zeigt auch die Basiscreme pH 9 mit Lidocain. Jedoch setzt die Wirkung trotz doppelt so hoher Konzentration im Vehikel etwas später ein und ist weniger stark ausgeprägt als bei O/W pH 9. Überraschend schlecht schneidet die Mikroemulsion O/W ohne pH-erhöhenden Puffer ab. Sie wirkt deutlich schwächer lokalanästhetisch als BC pH 9. Am geringsten ausgeprägt ist die Anästhesie nach Applikation des Systems W/O. Erst nach 3 h wurde eine leichte Schmerzreduktion spürbar [221].

Der Vergleich dieser Systeme zeigt, dass die beste lokalanästhetische Wirksamkeit mit den Präparaten erzielt wird, die nicht nur Lidocain in Basenform enthalten, sondern gleichzeitig einen alkalischen pH-Wert aufweisen. Im neutralen pH-Bereich wird der überwiegende Anteil des Lidocains bedingt durch den pK_a -Wert von 7,9 protoniert und

kann in dieser Form nicht in ausreichendem Maße durch das Stratum corneum diffundieren. Das wird besonders beim Vergleich der beiden O/W-Mikroemulsionen deutlich, die nicht in der Zusammensetzung sondern lediglich im pH-Wert differieren, aber deutliche Unterschiede in der Wirksamkeit aufweisen. Ein Vergleich zwischen Mikroemulsion und der Basiscreme als Vertreter einer klassischen Salbengrundlage bei gleichem pH-Wert deutet auf Vorteile des kolloidalen Systems hin. Bei geringerer Lidocainkonzentration wird mit der Mikroemulsion eine schnellere und stärkere Lokalanästhesie erzielt als mit der Creme. Dagegen wird die Effektivität kaum davon beeinflusst, ob eine Mikroemulsion vom Typ O/W oder W/O verwendet wird.

Insgesamt betrachtet scheinen die Vehikeleffekte offensichtlich eine geringere Rolle für die Wirksamkeit zu spielen, als die Form, in der das Lokalanästhetikum vorliegt. Zusammenfassend können folgende zwei wesentliche Voraussetzungen für ein rasch und gut lokalanästhetisch wirksames Präparat abgeleitet werden: Der Arzneistoff sollte in seiner lipophilen Basenform verwendet und in einem Vehikel eingebettet werden, das einen alkalischen pH-Wert besitzt.

Penetrationsuntersuchungen an exzidiierter Humanhaut konnten aufgrund deren stark limitierter Verfügbarkeit nur mit zwei Systemen durchgeführt werden. Dazu wurden die beiden im Prick-Test am besten wirksamen Formulierungen, die Mikroemulsion O/W pH 9 und die Basiscreme mit Lidocain BC pH 9, ausgewählt. Die Durchführung erfolgte mit der in Kap. 5.3.1 bereits beschriebenen Diffusionszelle nach FRANZ und der in Kap. 8.6 erläuterten Methode.

In den folgenden beiden Abbildungen sind die aus der Mikroemulsion (Abb. 33) und der Basiscreme (Abb. 34) in die einzelnen Hautschichten penetrierten Mengen an Lidocain graphisch dargestellt. Bei beiden Systemen wurde der prozentual größte Anteil in der Dermis nachgewiesen, die auch die dickste Hautschicht ist. Die höchste Arzneistoffkonzentration weist das Stratum corneum auf. Der Gradient zur lebenden Epidermis ist dabei deutlich geringer ausgeprägt, als bei den hydrocortisonhaltigen Systemen, bei denen Unterschiede von 2-3 Zehnerpotenzen zwischen den beiden Hautschichten nachgewiesen wurden (siehe Kap. 5.3.2). Das bedeutet, weder nach Applikation der Mikroemulsion noch der Basiscreme mit Lidocain bildet sich ein Arzneistoffreservoir im Stratum corneum aus. Sicherlich bietet die Fähigkeit der Lokalanästhetika, sich in Abhängigkeit vom pH-Wert des umgebenden Gewebes von der lipophilen Base in die protonierte Form umwandeln zu können, günstige Voraussetzungen für die Diffusion im hydrophilen Milieu von Epidermis und Dermis. Der Konzentrationsgradient zwischen diesen beiden Hautschichten ist noch geringer ausgeprägt als der zwischen Stratum corneum und Epidermis. Leider konnte bei den Penetrationsstudien keine weitere Differenzierung innerhalb der Hautschichten vorgenommen werden, denn die analytische Auswertung mittels HPLC erforderte das Poolen der Schnitte zu jeweils einer Probe pro Hautschicht.

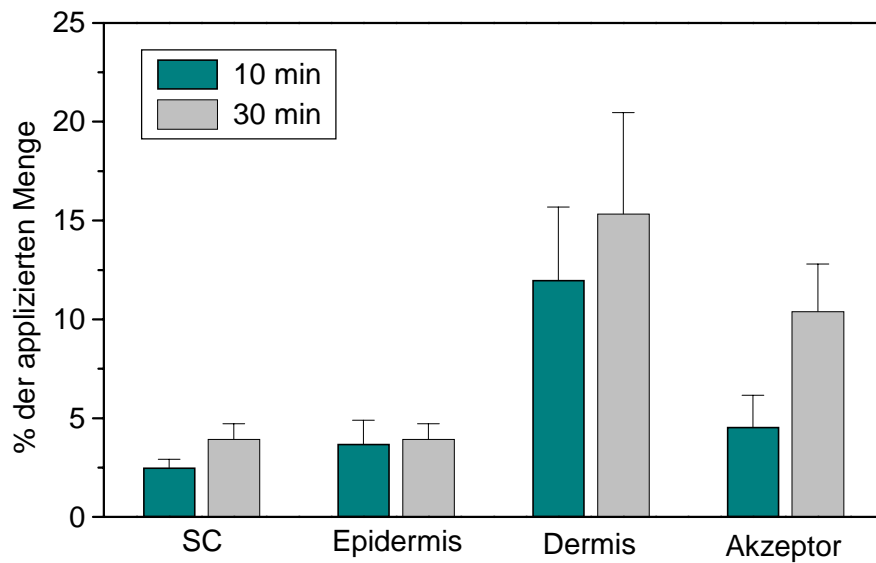


Abb. 33: Penetration von Lidocain aus der Mikroemulsion O/W pH 9 in exzidierte Humanhaut ($\bar{x} \pm SD$, n=3)

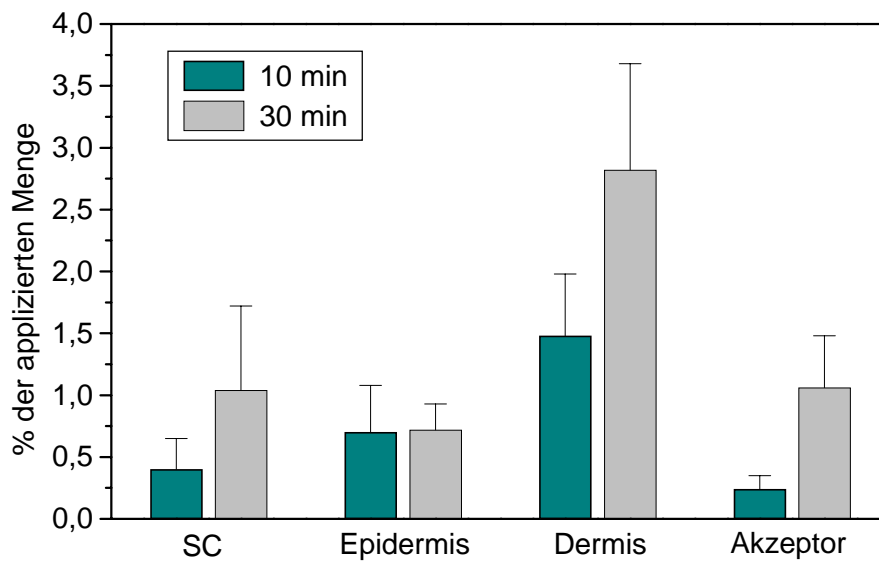


Abb. 34: Penetration von Lidocain aus der Basiscreme BC pH 9 in exzidierte Humanhaut ($\bar{x} \pm SD$, n=3)

Die im Akzeptor gefundenen prozentualen Mengen liegen bei beiden Vehikeln in der gleichen Größenordnung wie die in der Haut detektierten Anteile. Auch in dieser Hinsicht unterscheidet sich die lidocainhaltige Mikroemulsion von der in Kap. 5.3.2 untersuchten mit Hydrocortison, bei der im Akzeptor eine 20-100 mal größere prozentuale Menge Arzneistoff im Vergleich zu den beiden lebenden Hautschichten gefunden wurde. Einschränkend muss dazu angemerkt werden, dass diese Versuche über einen längeren Zeitraum durchgeführt wurden, was ebenfalls zu einer höheren Akzeptorkonzentration beitragen kann.

Im Verhältnis zu den sehr kurzen Versuchszeiten sind die in die Haut penetrierten Lidocainmengen als relativ hoch zu beurteilen. Zwischen den Ergebnissen der Versuche mit 10 und 30 min Applikationsdauer ist bei beiden Formulierungen im Stratum corneum und im Akzeptor, bei der Basiscreme auch in der Dermis ein Anstieg der Konzentration zu erkennen.

Ein Vergleich der beiden untersuchten Formulierungen zeigt eine ähnliche Verteilung des Arzneistoffs zwischen den Hautschichten und dem Akzeptor. Insgesamt wurden nach Applikation der Mikroemulsion jedoch in allen untersuchten Kompartimenten höhere Lidocainkonzentrationen erreicht, obwohl deren Wirkstoffgehalt mit 5 % nur halb so hoch wie der der Basiscreme ist. Die Ergebnisse sind in Abb. 35 graphisch dargestellt.

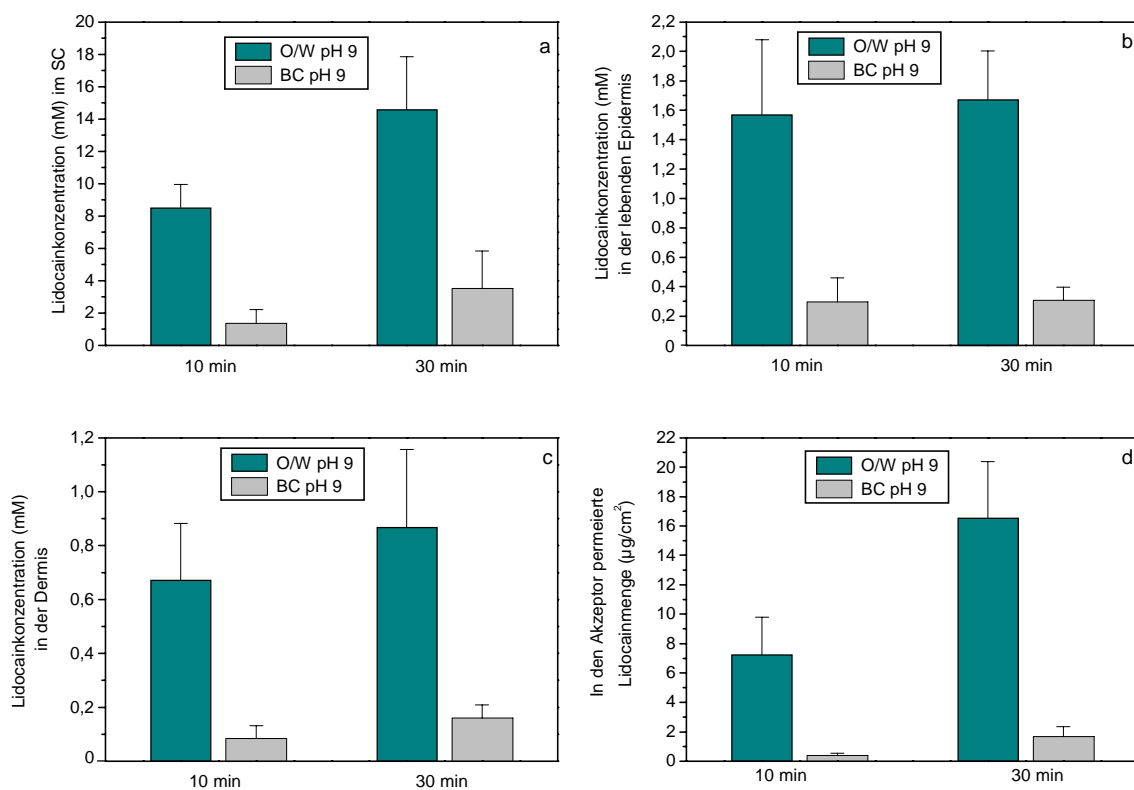


Abb. 35: Vergleich der Lidocainkonzentrationen in Stratum corneum (a), lebender Epidermis (b) und Dermis (c) sowie der in den Akzeptor permeierten Lidocainmengen (d) nach Applikation der Mikroemulsion (O/W pH 9) und der Basiscreme (BC pH 9) ($\bar{x} \pm SD$, n=3)

Diese Penetrationsuntersuchungen belegen die bereits nach den Voruntersuchungen postulierte Überlegenheit der Mikroemulsion mit 5 % Lidocain gegenüber der Basiscreme DAC mit doppelter Arzneistoffkonzentration.

6.2.3 Vergleich verschiedener Lokalanästhetika

In den bisherigen Untersuchungen stand die Frage der Entwicklung einer geeigneten Mikroemulsion als Grundlage für die Inkorporation von Lokalanästhetika im Vordergrund. Dabei kristallisierte sich das System O/W-L pH 9 in Prick-Testungen und Penetrationsstudien als das am besten wirksame heraus. Diese Mikroemulsionsgrundlage sollte deshalb als Basis für weitere Untersuchungen dienen mit dem Ziel, verschiedene lokalanästhetische Wirkstoffe zu vergleichen.

Dabei ergab sich zunächst folgendes Problem. Der bisher verwendete Emulgator Pluronic® L101 stand nicht mehr in ausreichender Menge zur Verfügung und war von der Firma nicht mehr erhältlich. Als Alternative wurde das Produkt Synperonic® PE L101 einer anderen Firma getestet, das laut Herstellerinformation eine mit Pluronic® L101 identische Zusammensetzung aufweist. Leider bildete sich nach Austausch dieses Emulgators mit der in Kap. 6.2.2 beschriebenen Zusammensetzung für das System O/W pH 9 keine Mikroemulsion. Der Grund liegt vermutlich in Differenzen im Polymerisierungsgrad, die bei polymeren Tensiden häufig auftreten. Als Folge davon kann sich ein Mikroemulsionsgebiet im Phasendiagramm so weit verschieben, dass in der bisherigen Zusammensetzung kein isotropes System mehr entsteht. Dieses Problem ist auch von anderen Autoren bei Verwendung verschiedener Chargen des gleichen Emulgators beschrieben worden [98] [232]. Folglich war eine erneute Modifizierung in der Zusammensetzung der Mikroemulsion notwendig. Dabei wurden verschiedene Mischungen mit den Komponenten Propylenglycol, DMSO und Sörensen-Clark-Puffer als wässrige Phase getestet, während die lipophile Phase mit 5 % IPP und die Emulgatoren in Menge und Verhältnis zueinander unverändert blieben. Einige dieser Systeme erwiesen sich als thermodynamisch stabil. Aus diesen wurde als Basismikroemulsion für die weiteren Untersuchungen das bereits in Kap. 4.1.2 vorgestellte System mit einer hydrophilen Phase aus Puffer und Propylenglycol 1:2 ausgewählt.

Basierend auf dieser Grundlage versuchte GRAFE, verschiedene Lokalanästhetika in vergleichbaren Konzentrationen in die Mikroemulsion einzuarbeiten [76]. Das gelang problemlos mit Lidocain in 5 und 10 %iger Konzentration. Auch ein Zusatz von 10 % Ethanol, dessen penetrationsbeeinflussender Effekt in Mikroemulsionen in diesem Zusammenhang mit untersucht werden sollte, führte zu keinerlei Stabilitätsverlust. Enthielt die hydrophile Phase zusätzlich zu Puffer und Propylenglycol noch DMSO, war zur Bildung eines thermodynamisch stabilen Systems ein gewisser Ethanolanteil erforderlich.

Auf der Suche nach anderen lokalanästhetischen Arzneistoffen, die sich für die dermale Anwendung eignen, fiel die Wahl zunächst auf die in EMLA® Creme verwendete eutektische Mischung aus Lidocain und Prilocain. Als Problem ergab sich dabei, dass Prilocain nur in Hydrochloridform kommerziell erhältlich ist. So stellte sich zunächst die Aufgabe, die freie Basenform aus dem Hydrochlorid herzustellen. Die in Kap. 8.7 beschriebene Methode durch Extraktion mit Ether im alkalischen Milieu erwies sich dabei

als gut geeignet. Die auf diesem Wege erhaltene ölige Base von Prilocain wurde im Masseverhältnis 1:1 mit Lidocain versetzt. Die entstandene eutektische Mischung weist bei Raumtemperatur eine ölartige, dickflüssige Konsistenz auf. Bei Inkorporation in die Basismikroemulsion entstanden mit 5 und 10 % Arzneistoff mit und ohne Ethanolzusatz stabile optisch isotrope Systeme.

Als weniger erfolgreich erwiesen sich diese Versuche mit Bupivacain. Dieser Arzneistoff wurde aufgrund seiner stärkeren Wirksamkeit als drittes Lokalanästhetikum ausgewählt. Er musste ebenfalls erst durch Extraktion aus der Hydrochloridform hergestellt werden. Die Einarbeitung in die Basismikroemulsion hatte jedoch eine Phasentrennung zur Folge. Auch zahlreiche Modifikationen der hydrophilen Phase mit Puffer, Propylenglycol, DMSO und Ethanol in verschiedenen Mischungen führten nicht zum gewünschten Erfolg. Deshalb wurde im nächsten Schritt versucht, IPP gegen andere lipophile Komponenten auszutauschen. Von den getesteten Substanzen erwies sich Ölsäure als die einzig geeignete. Trotzdem war für die Bildung thermodynamisch stabiler Systeme die gleichzeitige Anwesenheit von Ethanol essentiell. Zur Inkorporation von 10 % Bupivacain war z. B. ein Mindestanteil von 20 % dieses Alkohols erforderlich. Zusätzlich musste das bisher verwendete Puffersystem gegen 1 M NaOH ausgetauscht werden. Trotz deren höherer Basizität resultierte für die bupivacainhaltige Mikroemulsion ein Gesamt-pH-Wert von nur 7,8, während bei den Systemen mit Lidocain und Prilocain Werte zwischen 8,5 und 9,1 gemessen wurden.

Aus diesen Entwicklungsversuchen wurden folgende fünf Mikroemulsionen für die nachfolgenden Untersuchungen ausgewählt:

ME-L	Lidocain	10 %
	Tween [®] 80/Synperonic [®] PE L101 (2:3)	20 %
	IPP	5 %
	Puffer/PG (1:2)	65 %
ME-L EtOH	Lidocain	10 %
	Tween [®] 80/Synperonic [®] PE L101 (2:3)	20 %
	IPP	5 %
	Puffer/PG (1:2)	55 %
	Ethanol	10 %
ME-L DMSO	Lidocain	10 %
	Tween [®] 80/Synperonic [®] PE L101 (2:3)	20 %
	IPP	5 %
	Puffer/PG/DMSO (2:2:1)	55 %
	Ethanol	10 %
ME-L/P	Lidocain	5 %
	Prilocain	5 %
	Tween [®] 80/Synperonic [®] PE L101 (2:3)	20 %
	IPP	5 %
	Puffer/PG (1:2)	55 %
	Ethanol	10 %

ME-B	Bupivacain	10 %
	Tween [®] 80/Synperonic [®] PE L101 (2:3)	20 %
	Ölsäure	10 %
	1 M NaOH/PG (1:2)	40 %
	Ethanol	20 %

Untersuchungen zur Liberation der Arzneistoffe aus diesen Mikroemulsionen nach 5, 10 und 30 min wurden am MSMM mit Dodecanolmembranen durchgeführt [76]. Dabei konnten für Lidocain und Prilocain bei Verwendung von drei Membranen *Sink*-Bedingungen gewährleistet werden. Bupivacain, das eine im Vergleich zu Lidocain fünffach geringere Löslichkeit in Dodecanol aufweist, erreicht im Falle einer maximalen Freisetzung aus der Mikroemulsion eine Akzeptorauslastung von 40 %. Obwohl dies nicht mehr *Sink*-Bedingungen entspricht, wurden die Liberationsversuche für dieses System aus Gründen der Vergleichbarkeit unter den selben Bedingungen durchgeführt. Die resultierenden Ergebnisse sind in Abb. 36 veranschaulicht.

Dabei wird deutlich, dass sich die lidocainhaltigen Systeme mit und ohne Ethanol nicht signifikant unterscheiden. Bei beiden nimmt die Freisetzung zwischen 5 und 10 min zu, steigt bis 30 min jedoch nicht weiter an. Zusatz von DMSO erhöht nicht nur die initial freigesetzte Lidocainmenge, sondern zeigt vor allem beim 30-min-Wert einen signifikanten Anstieg gegenüber den kürzeren Zeiten und auch im Vergleich zu den Mikroemulsionen ohne DMSO. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass der Zusatz von DMSO zu einer verbesserten Freisetzung von Lidocain aus der O/W-Basismikroemulsion führt. Dieser Unterschied im Vergleich zu den Ergebnissen aus Kap. 6.2.1, bei denen die Freisetzung von Lidocainhydrochlorid aus W/O-Mikroemulsionen durch DMSO-Zusatz nicht beeinflusst wurde, basiert wahrscheinlich auf der zehnfach höheren DMSO-Konzentration im O/W-System. Die Anwesenheit von Ethanol scheint dagegen keinen nennenswerten Einfluss auf die Lidocainfreisetzung auszuüben.

Beim Vergleich der drei untersuchten Arzneistoffe zeigt die Lidocain-Prilocain-Mischung die besten Liberationsergebnisse. Bereits nach 5 min wurde eine im Vergleich zu den anderen beiden Wirkstoffen signifikant größere Menge freigesetzt. Bis 30 min ist ein weiterer Anstieg zu verzeichnen, wobei die Unterschiede dann nicht mehr als signifikant zu bewerten sind. Die Freisetzung der beiden Arzneistoffe Lidocain und Prilocain aus dem System ME-L/P erfolgte in etwa gleichen Mengen. Deshalb wurde bei der graphischen Darstellung in Abb. 36 der Mittelwert der prozentualen Freisetzungsraten beider Wirkstoffe zugrunde gelegt. Bupivacain zeigt eine geringe initiale Freisetzung. Zwischen dem 5- und 10-min-Wert zeichnet sich jedoch ein deutlicher Anstieg ab.

Insgesamt betrachtet sind die Liberationsergebnisse aller Systeme als gut einzuschätzen. Bereits 10 min nach Applikation ist aus allen untersuchten Mikroemulsionen über die Hälfte des Arzneistoffs freigesetzt worden.

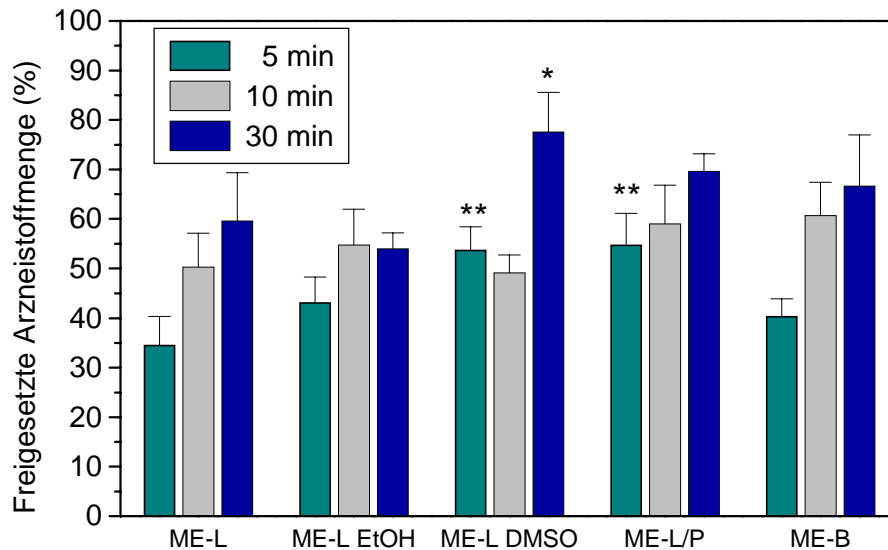


Abb. 36: Liberation von Lidocain (L), Prilocain (P) und Bupivacain (B) aus O/W-Mikroemulsionen ($\bar{x} \pm SD$, $n=5$) nach [76]

* signifikant gegenüber ME-L und ME-L-EtOH, $p < 0,05$

** signifikant gegenüber ME-L, ME-L-EtOH und ME-B, $p < 0,05$

Die **lokanästhetische Wirksamkeit** der Mikroemulsionen wurde im Rahmen einer klinischen Studie im Prick-Test an Probanden untersucht. Der Ablauf der Testung ist in Kap. 8.8 näher beschrieben. Alle Systeme wurden nicht nur untereinander verglichen, sondern auch gegen den entsprechenden Blindwert (Mikroemulsionsgrundlage ohne Wirkstoff) getestet. Aus mathematisch-statistischen Gründen wurden keine Standardabweichungen ermittelt (siehe Kap. 8.10). Abb. 37 zeigt die Ergebnisse der Mikroemulsionen mit 10 % Lidocain. Darin wird deutlich, dass sich das Basissystem ME-L erst nach 120 min signifikant vom Blindwert unterscheidet und folglich erst nach dieser Zeitspanne eine lokalanästhetische Wirkung nachweisbar ist. Der Zusatz von 10 % Ethanol führt zu keiner deutlichen Verbesserung der Wirksamkeit, denn die ethanolhaltige Mikroemulsion unterscheidet sich zu keinem Zeitpunkt signifikant vom Grundsystem. Dieses Ergebnis ist nicht überraschend, nachdem beide Formulierungen bereits vergleichbare Liberationsergebnisse erbracht hatten. Allerdings ist bei ME-L EtOH im Vergleich zur arzneistofffreien Grundlage bereits nach 60 min eine lokalanästhetische Wirksamkeit nachweisbar. Die dritte lidocainhaltige Mikroemulsion enthielt zusätzlich DMSO. Trotz der guten Liberationsergebnisse ließ sich eine stärkere lokalanästhetische Wirksamkeit nur beim 30-min-Wert nachweisen, nach 60 und 120 min waren keine signifikanten Unterschiede zu den beiden anderen Mikroemulsionen feststellbar. Offensichtlich wird der Lidocaintransport in die Haut nur in der Anfangsphase durch DMSO erhöht.

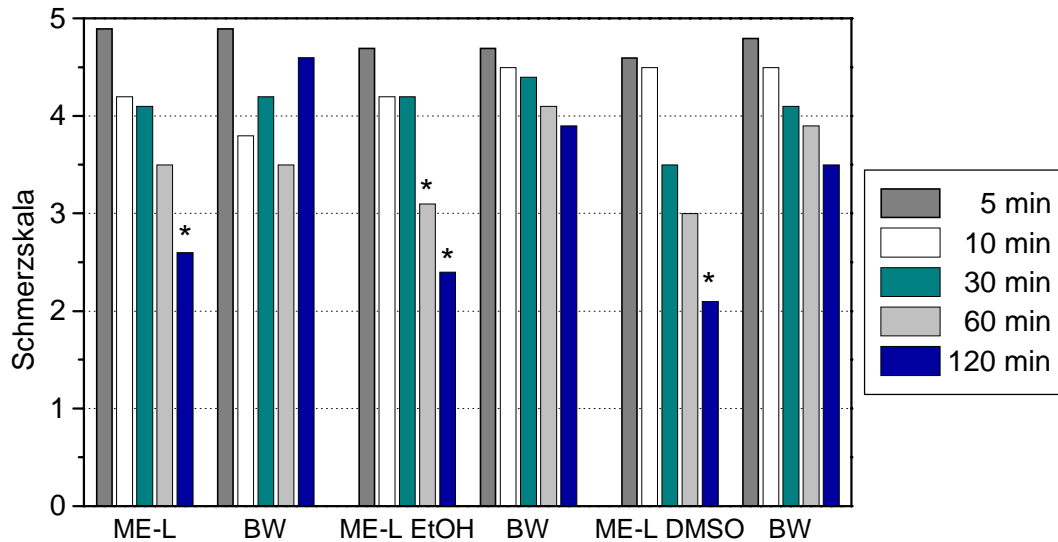


Abb. 37: Im Prick-Test ermittelte lokalanästhetische Wirksamkeit verschiedener Mikroemulsionen mit 10 % Lidocain im Vergleich zum jeweils zugehörigen Blindwert (BW) (\bar{x} , n=10) (Schmerzskaala: 5 = maximaler Schmerz, 0 = kein Schmerz)
* signifikant gegenüber zugehörigem Blindwert mit $p < 0,05$

Ein Vergleich der lokalanästhetischen Wirksamkeit verschiedener Arzneistoffe in Mikroemulsionen ist in Abb. 38 dargestellt. Als Referenz wurde EMLA[®] Creme in die Testung einbezogen, das unter den in Deutschland für diese Indikation zugelassenen Fertigarzneimitteln am besten wirksame Präparat.

Da sich stabile Systeme mit Bupivacain nur in Anwesenheit von Ethanol bilden, erfolgte eine Gegenüberstellung der ethanolhaltigen Mikroemulsionen der drei Arzneistoffe. Dabei fällt auf, dass das System mit der eutektischen Mischung aus Lidocain und Prilocain bereits nach 30 min eine lokalanästhetische Wirkung zeigt. Dies ist bei alleiniger Anwesenheit von Lidocain erst nach 60 min der Fall. Hier zeichnet sich eine Korrelation zu den Liberationsergebnissen ab. Im direkten Vergleich dieser beiden Mikroemulsionen zeigt ME-L/P ab einem Zeitpunkt von 30 min eine signifikant bessere lokalanästhetische Wirksamkeit als ME-L EtOH. Stellt man die Ergebnisse denen der EMLA[®] Creme gegenüber, so erweisen sich die beiden Vehikel mit der Lidocain-Prilocain-Mischung bis zu 60 min nach Applikation als gleichwertig, danach ist die Mikroemulsion signifikant stärker wirksam. Beim Vergleich von ME-L EtOH mit EMLA[®] Creme ist die Wirksamkeit der Mikroemulsion nach 30 min geringer, danach vergleichbar mit dem kommerziellen Präparat. Das bedeutet, ME-L EtOH weist bei gleicher Wirksamkeit einen langsameren Wirkeintritt als EMLA[®] Creme auf.

Im Vergleich der drei Lokalanästhetika schneidet Bupivacain eindeutig am schlechtesten ab. Zu keiner Zeit war ein signifikanter Unterschied zwischen dem arzneistoffhaltigen und dem arzneistofffreien System nachweisbar. Dafür sind ME-L/P und EMLA[®] Creme ab 30 min Applikationsdauer eindeutig besser wirksam. Die Unterschiede zu ME-L EtOH sind

dagegen nicht als signifikant zu bewerten. Zusätzlich traten bei ME-B nach einer Lagerzeit von einigen Tagen Stabilitätsprobleme auf. Die Mikroemulsion färbte sich orange, was auf eine Zersetzung von Bupivacain hindeutet. Wahrscheinlich wird im alkalischen Milieu die Amidbindung des Arzneistoffs gespalten und die entstehende Aminogruppe durch Luftsauerstoff oxidiert.

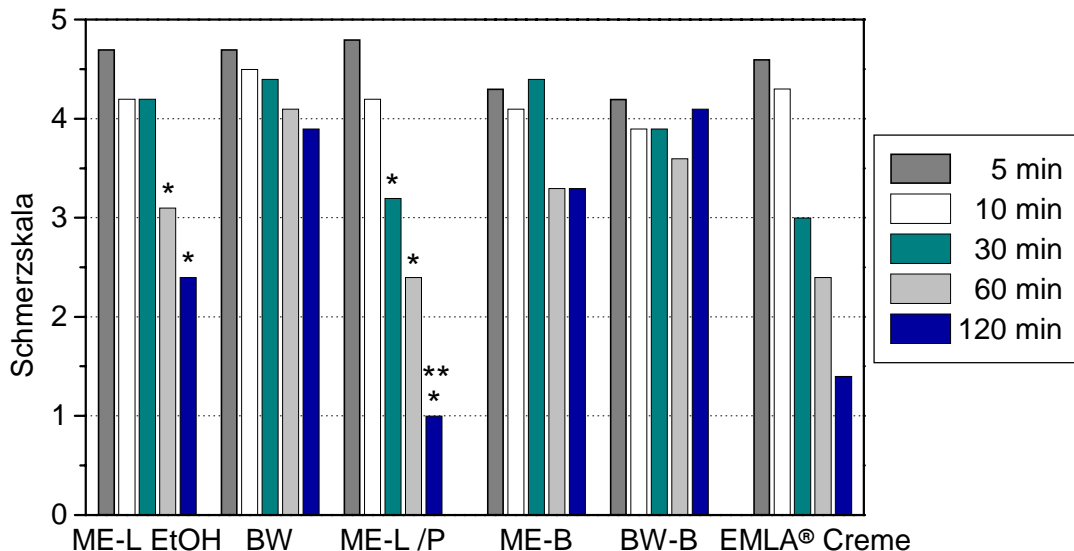


Abb. 38: Im Prick-Test ermittelte lokalanästhetische Wirksamkeit von Mikroemulsionen mit je 10 % Lidocain (L), Lidocain-Prilocain-Mischung (L/P) oder Bupivacain (B) im Vergleich zum jeweils zugehörigen Blindwert (BW für L und L/P, BW-B für B) und zu EMLA® Creme (\bar{x} , n=10) (Schmerzskala: 5 = maximaler Schmerz, 0 = kein Schmerz)

* signifikant gegenüber zugehörigem Blindwert mit $p < 0,05$

** signifikant besser wirksam als EMLA® Creme, $p < 0,05$

Die parallel zur Schmerzwahrnehmung getestete Berührungsempfindlichkeit nahm im untersuchten Zeitraum bei keiner der Formulierungen signifikant ab. Das zeigt, dass die untersuchten Mikroemulsionen die für die Weiterleitung des Schmerzempfindens zuständigen C-Fasern des Nervengeflechts blockieren, jedoch kaum an den dickeren A β -Fasern, die die Berührungsreize weiterleiten, angreifen (siehe Kap. 6.1.1).

Zusammenfassend lassen sich die Ergebnisse der Untersuchungen dieses Kapitels folgendermaßen bewerten: Ein Vergleich der drei Mikroemulsionen mit 10 % Lidocain zeigt nur geringe Unterschiede im Liberationsverhalten und in der lokalanästhetischen Wirksamkeit am Probanden. Das bedeutet, dass der Zusatz von Ethanol und DMSO in den verwendeten Konzentrationen die Penetration von Lidocain aus der Mikroemulsion in die Haut nicht signifikant steigert. Dagegen lassen sich die drei untersuchten Arzneistoffe nach ihrer Wirksamkeit in einer eindeutigen Rangfolge einordnen: Die eutektische Mischung von Lidocain und Prilocain führt auch bei Applikation in einer Mikroemulsion zu einer stärkeren und schnelleren dermalen Anästhesie als Lidocain. Dieses Ergebnis war etwas überraschend, da für das in der Mikroemulsion vollständig gelöste Lidocain eine ähnlich

hohe thermodynamische Aktivität wie für die bei Hauttemperatur flüssige eutektische Mischung vermutet worden war. Als etwas enttäuschend erwies sich die Tatsache, dass ME-L/P erst nach 120 min besser und ME-L EtOH nach 30 min sogar schlechter wirksam war als EMLA[®] Creme, die nur eine halb so hohe Arzneistoffkonzentration aufweist. ME-B zeigte trotz des Wirkstoffs mit der höchsten lokalanästhetischen Potenz die schlechteste Wirksamkeit. Diese Erkenntnis korreliert jedoch mit Ergebnissen von MCCAFFERTY et al., die bei Untersuchungen mit verschiedenen Lokalanästhetika *in vitro* keine Penetration von Bupivacain aus einer Creme nachweisen konnten [125].

6.2.4 Optimierung der Mikroemulsion mit Lidocain/Prilocain

In den vorangegangenen Untersuchungen mit verschiedenen Lokalanästhetika in Mikroemulsionen hatte sich die eutektische Mischung aus Lidocain und Prilocain als am besten wirksam erwiesen. Aufbauend auf diesen Ergebnissen sollte im Folgenden eine weitere Optimierung dieses Systems zur dermalen Anwendung erfolgen und die Wirksamkeit verschiedener Arzneistoffkonzentrationen untersucht werden.

Zunächst wurde der Frage nachgegangen, ob die **Anwesenheit von IPP** als lipophile Phase für eine Mikroemulsion mit Lidocain/Prilocain überhaupt notwendig ist, da diese Mischung bei Raumtemperatur bereits in flüssiger Form vorliegt und nicht erst gelöst werden muss. Untersuchungen dazu zeigten, dass sich in Abwesenheit von IPP mit der Lidocain/Prilocain-Mischung als lipophile und Puffer/PG als hydrophile Phase ebenfalls thermodynamisch stabile Systeme bildeten. Die beiden Phasen weisen in den verwendeten Konzentrationen ohne Tensid nur eine begrenzte Mischbarkeit auf, folglich entsprechen sie der Definition von Mikroemulsionen nach Kap. 3.1. Es ließen sich sogar größere Lokalanästhetikamengen einarbeiten, als in die IPP-haltigen Systeme. In Anwesenheit von Ethanol erwiesen sie sich im Vergleich zu den bisherigen Mikroemulsionen als stabiler. Aufgrund dieser Ergebnisse wurden für alle weiteren Versuche IPP-freie Systeme verwendet.

Um später verschiedene Arzneistoffkonzentrationen vergleichen zu können, sollte weiterhin untersucht werden, welcher **maximal mögliche Lidocain/Prilocain-Gehalt** in der Mikroemulsion erzielt werden kann. Dabei ergab sich für das Grundsystem eine Höchstkonzentration von 25 % der eutektischen Mischung. Überschreitung dieses Gehalts hatte eine Phasenseparation zur Folge. Bei Zusatz von Ethanol ließen sich sogar noch größere Mengen einarbeiten. Problematischer war die Herstellung DMSO-haltiger Mikroemulsionen mit Lidocain/Prilocain. Wie bei den in Kap. 6.2.3 beschriebenen lidocainhaltigen Systemen war ein entsprechender Mindestgehalt an Ethanol erforderlich, der mit der Höhe der Arzneistoffkonzentration zunahm.

Im Hinblick auf eine spätere praktische Anwendung am Patienten ist der bisher zur pH-Erhöhung verwendete **Sörensen-Clark-Puffer** aufgrund seines Gehalts an Borsäure nicht als optimal zu betrachten. Als nächstes stellte sich deshalb die Aufgabe, diesen Puffer zu substituieren, wobei der pH-Wert der Mikroemulsion erhalten bleiben sollte. Dazu

schien 0,1 M NaOH am besten geeignet zu sein, da sie der Hauptbestandteil des Puffers ist. Bei Untersuchungen zur Stabilität dieser Mikroemulsion mit verschiedenen Lidocain/Prilocain-Konzentrationen zeigten sich jedoch deutliche Unterschiede zum pufferhaltigen System. Mit 25 % Arzneistoff bildete sich keine Mikroemulsion, während die Systeme mit 20 und 15 % Lidocain/Prilocain zunächst optisch isotrop erschienen, jedoch nach 24 h ebenfalls eine Phasentrennung aufwiesen. Lediglich mit 10 und 5 % Wirkstoff entstanden stabile Mikroemulsionen. Dieses Ergebnis ist nicht zufriedenstellend, da der Austausch des Puffers gegen 0,1 M NaOH offensichtlich mit einem deutlichen Stabilitätsverlust der Systeme einhergeht. Weitere Untersuchungen wurden mit Formulierungen gleicher Arzneistoffkonzentration durchgeführt, die statt 0,1 M NaOH Wasser enthielten. Diese waren in ihrer Stabilität mit den pufferhaltigen Systemen vergleichbar. Das zeigt, dass die im Puffer enthaltene Borsäure offensichtlich nicht entscheidend für die Stabilisierung der Systeme ist. Wahrscheinlich wirkt sich eher der höhere pH-Wert der 0,1 M NaOH negativ aus. Die Herstellung vergleichbarer Vehikel mit 0,01 M NaOH sollte Klarheit darüber verschaffen. Dabei entstanden bis zu einem Lidocain/Prilocain-Gehalt von 25 % stabile Mikroemulsionen.

Um diese Stabilitätsunterschiede weiter aufklären zu können, erfolgte eine Messung der Teilchengrößen der inneren Phase der Mikroemulsionen mit Dynamischer Lichtstreuung sowie der pH-Werte der Gesamtsysteme. Es wurden jeweils Mikroemulsionen mit 5 % Arzneistoff verwendet. Die Ergebnisse sind in Tab. 5 dargestellt. Dort wird sichtbar, dass sich die Teilchengrößen der Mikroemulsionen mit Wasser, Puffer und 0,01 M NaOH kaum unterscheiden. Bei Herstellung mit der zehnfach konzentrierteren 0,1 M NaOH bilden sich dagegen mehr als drei mal so große Tröpfchen. Diese Erkenntnis stimmt genau mit den optisch beobachteten Stabilitätsunterschieden überein. Der pH-Wert der Systeme steigt in der Reihenfolge zunehmender Basizität der hydrophilen Phase an. Überraschend ist dabei der relativ hohe Wert der Mikroemulsion mit Wasser. Er lässt sich damit erklären, dass ein Teil der als Base vorliegenden Lokalanästhetikamoleküle protoniert wird und somit weniger freie Wasserstoffionen zur Verfügung stehen. Je höher der pH-Wert des umgebenden Mediums ist, desto geringer ist der protonierte Anteil an Arzneistoff. Für Lidocain und Prilocain, die beide einen pK_a -Wert von 7,9 besitzen, liegt dieser Anteil in einem System mit pH 9,5 bei 2,5 %, beträgt der pH-Wert 10,4 sind nur noch 0,3 % des Arzneistoffs protoniert. Dass die Tröpfchen der wasserhaltigen Mikroemulsion trotz des geringeren pH-Werts nicht kleiner als die des Systems mit 0,01 M NaOH sind, könnte an einer möglichen Sättigung der äußeren Phase mit Arzneistoff liegen. So ist nicht auszuschließen, dass sich protonierte Wirkstoffmoleküle verstärkt in den Tensidbereichen der Phasengrenzschicht anreichern und bei Lichtstremessungen der inneren Phase mit erfasst werden. Die Mikroemulsion mit 0,1 M NaOH besitzt den höchsten pH-Wert der untersuchten Systeme und folglich den größten Anteil an unprotoniertem Arzneistoff. Dies erklärt den größeren Teilchenradius der lipophilen Phase.

Tab. 5: Mit Dynamischer Lichtstreuung ermittelte Partikelradien und pH-Werte von Mikroemulsionen mit Lidocain/Prilocain in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der hydrophilen Phase

Hydrophile Phase	Partikelradius (nm)	pH-Wert der Mikroemulsion
Wasser/PG (1:2)	9,40	9,5
Puffer/PG (1:2)	9,37	9,8
0,01 M NaOH/PG (1:2)	8,71	9,9
0,1 M NaOH/PG (1:2)	32,44	10,4

Da sich nach den Ergebnissen in Kap. 6.2.2 mit Wasser hergestellte Mikroemulsionen als gering wirksam erwiesen haben, das pufferhaltige System aufgrund des Borsäuregehalts ausgeschlossen wurde und 0,1 M NaOH Systeme geringerer Stabilität bildet, soll für die weiteren Untersuchungen die Mikroemulsion mit 0,01 M NaOH als Grundlage dienen.

In dieses System wurden verschiedene Arzneistoffkonzentrationen inkorporiert, wobei der Tensidanteil von 20 % stets konstant blieb. Außerdem erfolgte die Herstellung von Vehikeln auf gleicher Basis mit Zusatz von 20 % Ethanol bzw. einem DMSO-Anteil. Alle Systeme weisen einen pH-Wert zwischen 9,5 und 10 auf. Die konkrete Zusammensetzung der Formulierungen wird in Tab. 6 ersichtlich.

Tab. 6: Zusammensetzung lidocain/prilocainhaltiger Mikroemulsionen mit 0,01N NaOH (Angaben in %)

	ME-L/P				ME-L/P EtOH				ME-L/P DMSO
	5	10	15	20	5	10	20	40	
Lidocain/Prilocain	5	10	15	20	5	10	20	40	20
0,01N NaOH/PG 1:2	75	70	65	60	55	50	40	20	–
Tween® 80/Synperonic® PE L101	20				20				20
0,01N NaOH/PG/DMSO2:1:1	–				–				40
Ethanol	–				20				20

Zunächst erfolgte die **Testung der Arzneistoffliberation** am MSMM. Dazu wurden aus Gründen der Vergleichbarkeit die Systeme mit jeweils 5 % Lidocain/Prilocain ausgewählt und den Ergebnissen der EMLA® Creme gegenübergestellt sowie die Mikroemulsionen mit jeweils 20 % Wirkstoff untereinander verglichen. Die Resultate sind in Abb. 39 und Abb. 40 graphisch dargestellt, wobei die nur gering differierenden Ergebnisse von Lidocain und Prilocain wieder zu einem Zahlenwert zusammengefasst wurden. Alle Vehikel zeigen im Untersuchungszeitraum zwischen 5 und 30 min eine Zunahme der freigesetzten Arzneistoffmenge, wobei bereits nach 5 min fast alle Systeme eine Liberation von über 50 % aufweisen. Als signifikant besser erwies sich die Freisetzung aus EMLA® Creme im Vergleich zur Mikroemulsion, wobei kein Unterschied zwischen den Systemen mit und ohne Ethanol festgestellt wurde. Bei einem Lidocain/Prilocain-Gehalt von 20 % trägt der Zusatz von Ethanol und DMSO jedoch zu einem Anstieg der Liberation bei.

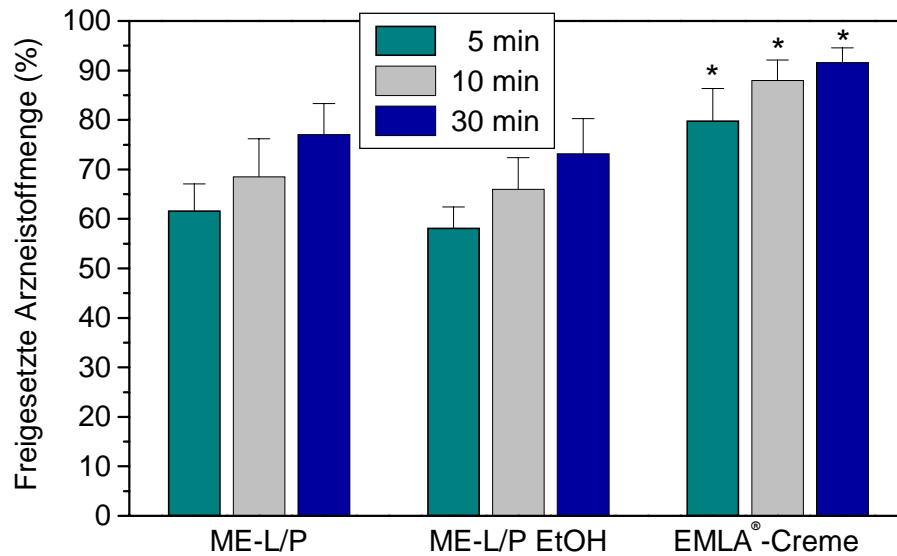


Abb. 39: Liberation von Lidocain/Prilocain aus zwei Mikroemulsionen mit 5 % Arzneistoffgehalt und EMLA® Creme ($\bar{x} \pm SD$, n=5)

* signifikant gegenüber ME-L/P und ME-L/P EtOH, $p < 0,05$

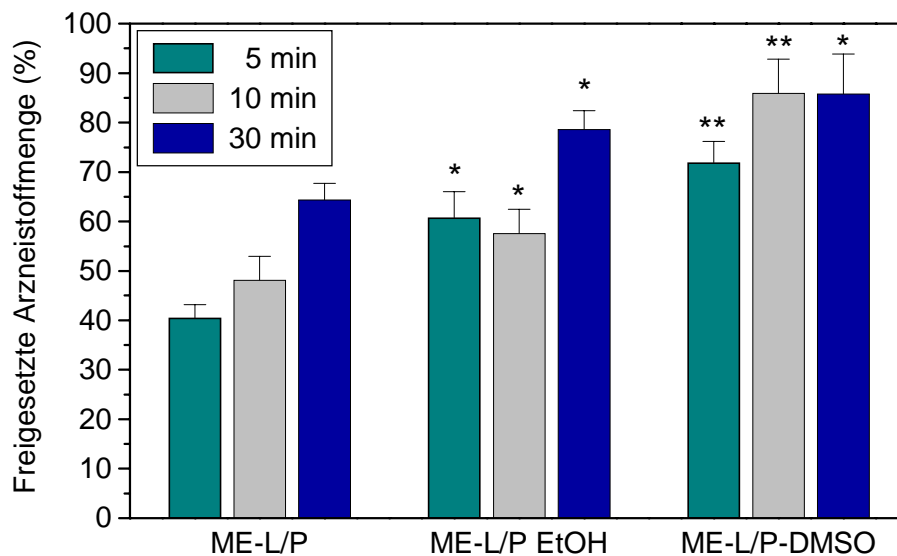


Abb. 40: Liberation von Lidocain/Prilocain aus drei Mikroemulsionen mit 20 % Arzneistoffgehalt ($\bar{x} \pm SD$, n=5)

* signifikant gegenüber ME-L/P, $p < 0,05$

** signifikant gegenüber ME-L/P und ME-L/P EtOH, $p < 0,05$

Die im MSMM untersuchten Mikroemulsionen wurden außerdem einem **Langzeitstabilitätstest** über mindestens ein Jahr unterzogen. Dabei erfolgte neben einer optischen Begutachtung auf Isotropie aller 1-2 Monate eine Bestimmung des Arzneistoffgehalts im Vehikel. Alle untersuchten Systeme erwiesen sich dabei im genannten Zeitraum bzw.

soweit untersucht auch darüber hinaus als stabil. Der Arzneistoffgehalt nahm nicht signifikant ab, wie die graphische Darstellung der Ergebnisse in Abb. 41 zeigt.

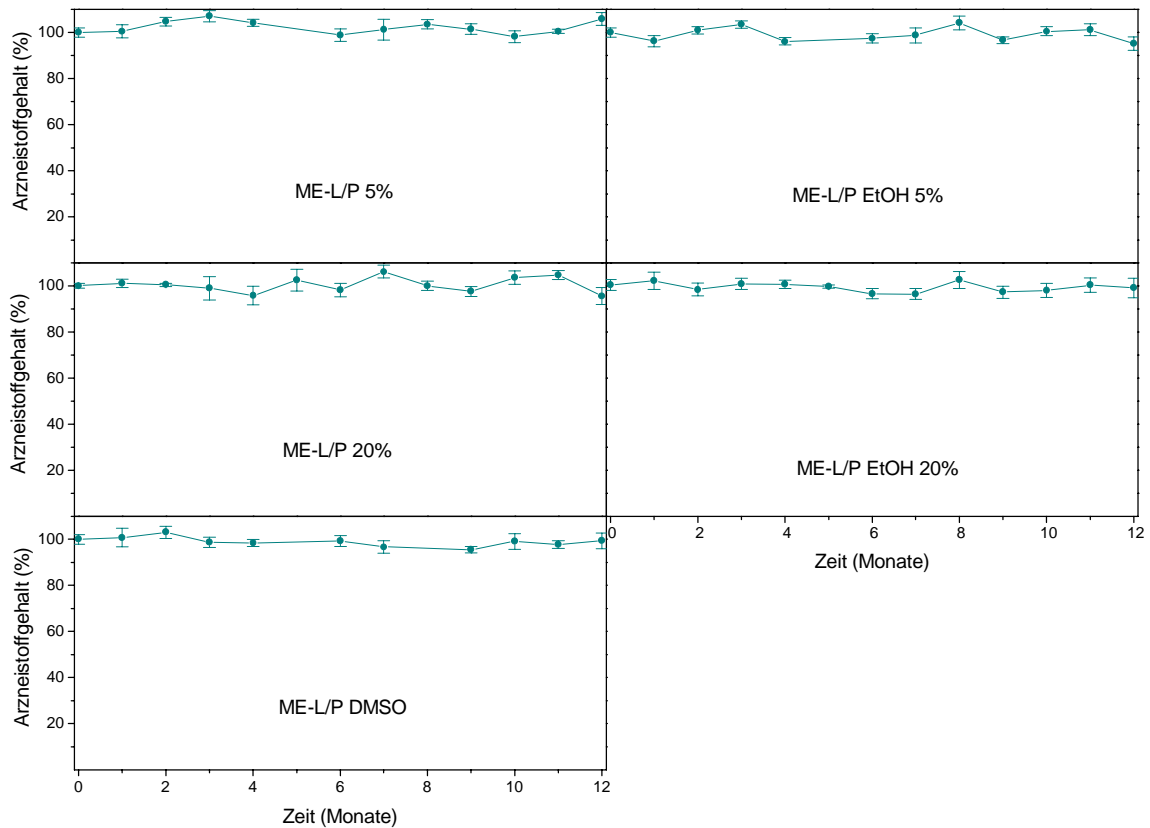


Abb. 41: Langzeitstabilität der Mikroemulsionen mit Lidocain/Prilocain ($\bar{x} \pm SD$, n=5)

Im Rahmen einer zweiten **klinischen Testung am Probanden** wurde die lokal-anästhetische Wirksamkeit der Mikroemulsion mit und ohne Ethanol in verschiedenen Konzentrationen bzw. mit DMSO (Zusammensetzung siehe Tab. 6) untersucht. Wie Abb. 42 zeigt, steigt die Wirksamkeit des ethanolfreien Grundsystems mit zunehmendem Arzneistoffgehalt an. Während sich die Mikroemulsion mit 5 % Lidocain/Prilocain erst nach 120 min signifikant vom Blindwert unterscheidet, ist bei doppelt so hohem Wirkstoffgehalt bereits nach 60 min und beim System mit 20 % Arzneistoff nach 30 min eine Wirkung nachweisbar. Im Vergleich zu EMLA[®] Creme wirkt die Mikroemulsion mit 5 % Lidocain/Prilocain 30 und 60 min nach Applikation sogar schlechter, bei höheren Konzentrationen ist kein signifikanter Unterschied zur Creme feststellbar.

Bei den ethanolhaltigen Systemen, deren lokal-anästhetische Wirksamkeit in Abb. 43 graphisch dargestellt ist, zeigt sich keine einheitliche Tendenz mit zunehmendem Arzneistoffgehalt. Statt dessen scheint bei 10 % Lidocain/Prilocain ein Optimum bezüglich der Wirksamkeit zu existieren, denn bei höheren Konzentrationen nimmt das Schmerzempfinden der Probanden wieder zu. So unterscheidet sich die Mikroemulsion mit 10 % Wirkstoff bereits nach 30 min vom Blindwert und weist nach 60 und 120 min signifikant bessere Ergebnisse auf als die Systeme mit 20 und 40 %. Dieses Phänomen

lässt sich damit erklären, dass durch den Ethanolgehalt von 20 % der Anteil an hydrophiler Phase entsprechend verringert ist. Mit steigender Arzneistoffkonzentration nimmt dieser Anteil weiter ab, bis er offenbar nicht mehr ausreicht, die Umwandlung der Lokalanästhetika in die schlechter wirksame protonierte Form zu verhindern, was eine Wirkungsabschwächung des Gesamtsystems zur Folge hat.

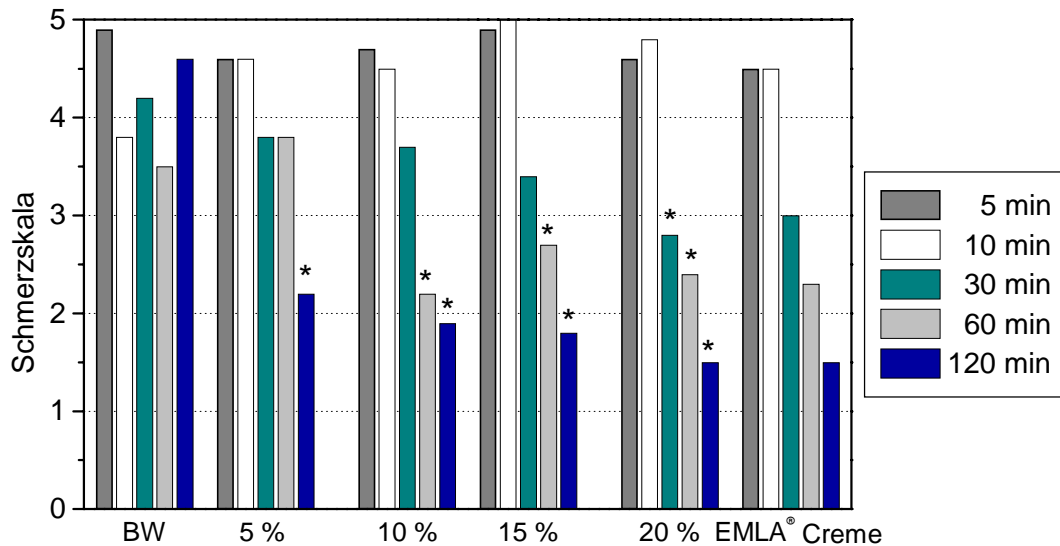


Abb. 42: Im Prick-Test ermittelte lokalanästhetische Wirksamkeit der Mikroemulsion mit verschiedenen Konzentrationen Lidocain/Prilocain im Vergleich zum Blindwert (BW) und zu EMLA® Creme (\bar{x} , n=10), (Schmerzskala: 5 = maximaler Schmerz, 0 = kein Schmerz)
* signifikant gegenüber Blindwert mit $p < 0,05$

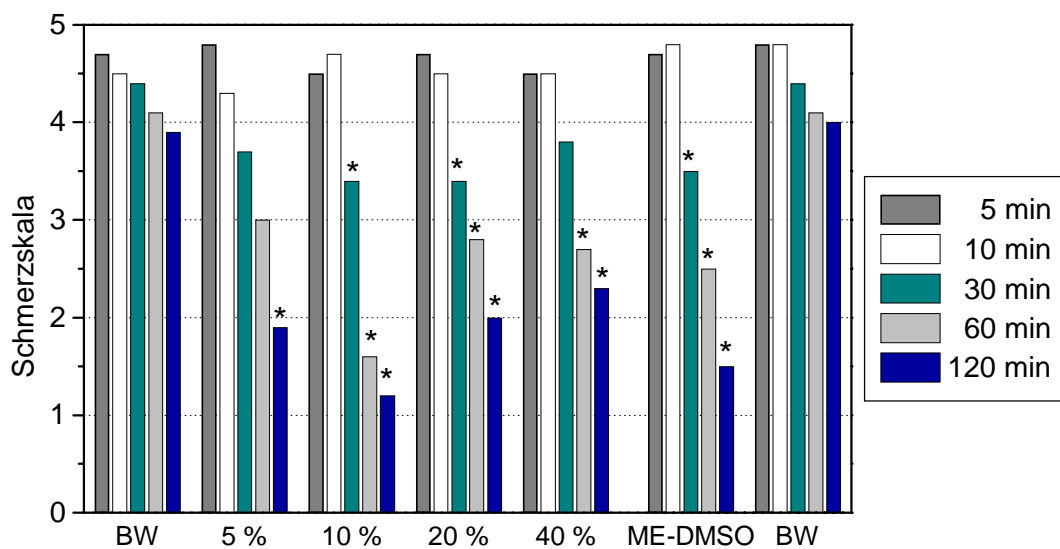


Abb. 43: Im Prick-Test ermittelte lokalanästhetische Wirksamkeit der ethanolhaltigen Mikroemulsion mit verschiedenen Konzentrationen Lidocain/Prilocain sowie der Mikroemulsion mit DMSO im Vergleich zum jeweiligen Blindwert (BW) (\bar{x} , n=10)
(Schmerzskala: 5 = maximaler Schmerz, 0 = kein Schmerz)
* signifikant gegenüber zugehörigem Blindwert mit $p < 0,05$

Stellt man die Systeme gleicher Arzneistoffkonzentration ohne und mit Ethanol gegenüber, lässt sich bei 5 und 20 % Lidocain/Prilocain kein Unterschied feststellen. Auch der Zusatz von DMSO führt nicht zu einer verbesserten Wirksamkeit. Dafür treten bei Anwendung dieses Systems vermehrt Hautirritationen, besonders Rötungen auf, so dass der Zusatz von DMSO zu den verwendeten Mikroemulsionen nicht zu empfehlen ist.

Unterschiede wurden jedoch beim Vergleich der beiden Mikroemulsionen mit 10 % Lidocain/Prilocain festgestellt. Dabei führt das ethanolhaltige System besonders nach 120 min zu signifikant besseren Ergebnissen. Insgesamt betrachtet weist diese Mikroemulsion von allen untersuchten Systemen die beste lokalanästhetische Wirksamkeit auf. Sie bewirkt nach 60 min sogar eine signifikant stärkere dermale Anästhesie als EMLA[®] Creme.

Abschließend stellt sich die Frage, warum die entwickelten Mikroemulsionen trotz nachgewiesener sehr guter und schneller Hautpenetration keine deutliche Überlegenheit in der Wirksamkeit bzw. im Wirkeintritt gegenüber EMLA[®] Creme aufweisen. Als eine mögliche Ursache sollte die Neigung von Lokalanästhetika zur Mischmizellbildung mit Polysorbaten in Betracht gezogen werden, die von THOMA und KASPER nachgewiesen wurde. Lidocain weist von den untersuchten Lokalanästhetika in wässriger Lösung zwar die geringste Tendenz zur Mizellbildung auf (Prilocain wurde nicht untersucht), jedoch nimmt diese mit steigendem pH-Wert und wachsender Ionenstärke deutlich zu [203]. Am Kaninchenaugen wurde nachgewiesen, dass eine verstärkte Mischmizellbildung von Lokalanästhetika mit Polysorbaten zu einer Abnahme der Wirksamkeit führt [204].

Auch bei den entwickelten Mikroemulsionen kann davon ausgegangen werden, dass ein bestimmter Teil der Lokalanästhetikamoleküle mizellar gebunden vorliegt und seine Wirksamkeit somit nicht optimal entfalten kann.

6.2.5 Zusammenfassung der Ergebnisse

Basierend auf dem in Kap. 4.1.2 vorgestellten Grundsystem und Voruntersuchungen von PISTORIUS [153] wurden verschiedene lokalanästhetikahaltige O/W- und W/O-Mikroemulsionen entwickelt und miteinander verglichen. Obwohl alle getesteten Formulierungen gute bis sehr gute Freisetzungsergebnisse aufweisen, zeigten sich im Prick-Test am Probanden z. T. erhebliche Unterschiede hinsichtlich der lokalanästhetischen Wirksamkeit. Aus diesen Ergebnissen leiten sich zwei essentielle Faktoren für die Herstellung gut wirksamer Systeme ab: Das Lokalanästhetikum muss in seiner lipophilen Basenform vorliegen und in ein Vehikel mit alkalischem pH-Wert inkorporiert werden. Die beste lokalanästhetische Wirksamkeit wurde bei Einsatz der eutektischen Mischung aus Lidocain und Prilocain erzielt. Während nach Einarbeitung in die Basismikroemulsion ein Anstieg der Wirksamkeit mit zunehmender Konzentration zu verzeichnen war, wies das ethanolhaltige System ein Wirkungsoptimum bei 10 % Arzneistoffgehalt auf. Diese Mikroemulsion wirkte signifikant besser als EMLA[®] Creme.