



**Entwicklung und Charakterisierung transdermaler Arzneiformen mit
Mikronadel-Technologie**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Lukas Christian Lammerding

aus Bottrop

Düsseldorf, Oktober 2024

Aus dem Institut für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gedruckt mit Genehmigung der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gutachter:

1. Prof. Dr. Jörg Breitzkreutz
2. Jun.-Prof. Dr. Michael Hacker

Tag der mündlichen Prüfung: 14.04.2025

Für meine Familie

„Der einzige Weg, großartige Arbeit zu leisten, ist zu lieben, was du tust.“

Steve Jobs

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	VIII
Publikationen	X
Veröffentlichte Manuskripte	X
Konferenzbeiträge	XI
Vorträge	XI
Poster-Präsentationen	XI
1. Einleitung	1
1.1. Transdermale Arzneiformen.....	1
1.1.1. Aufbau der menschlichen Haut.....	1
1.1.2. Transdermale Therapeutische Systeme	4
1.1.3. Verwendung von Permeationsvermittlern	8
1.1.4. Verwendung von Iontophorese und Sonophorese.....	9
1.2. Mikronadelsysteme	11
1.2.1. Solide Mikronadelsysteme.....	13
1.2.2. Beschichtete Mikronadelsysteme	14
1.2.3. Lösliche und bioabbaubare Mikronadelsysteme.....	15
1.2.4. Quellende Mikronadelsysteme	16
1.2.5. Separierbare Mikronadelsysteme	17
1.2.6. Hohle Mikronadelsysteme	18
1.3. Charakterisierung von Mikronadelsystemen.....	18
1.3.1. Visualisierung von Mikronadelsystemen.....	18
1.3.2. Mechanische Eigenschaften.....	19
1.3.3. Insertionsverhalten	20
1.3.4. Wirkstofffreisetzung	21
1.3.5. Wirkstoffpermeation.....	22

1.3.6.	In-vivo Untersuchungen.....	23
1.4.	Tintenstrahldruck.....	24
1.4.1.	Prinzip.....	24
1.4.2.	Tintenstrahldruck in der Pharmazie	25
1.4.3.	Charakterisierung von Tintenformulierungen	26
1.5.	Modellarzneistoffe	28
1.5.1.	Lisinopril-Dihydrat.....	28
1.5.2.	Ibuprofen	29
2.	Zielsetzung der Arbeit	30
3.	Ergebnisse und Diskussion	32
3.1.	Einfluss der Weichmacher-Konzentration auf die mechanischen Eigenschaften von löslichen Mikronadelsystemen.....	32
3.1.1.	Hintergrund.....	32
3.1.2.	Formulierungsentwicklung	33
3.1.2.1.	Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften	33
3.1.2.2.	Penetration in ein künstliches Hautmodell.....	39
3.1.3.	Insertion in Humanhaut.....	42
3.1.4.	Arzneistofffreisetzung	44
3.1.5.	Zusammenfassende Beurteilung	47
3.2.	Entwicklung und Charakterisierung von löslichen Mikronadelsystemen mittels Tintenstrahldruck für die personalisierte Medizin	50
3.2.1.	Hintergrund.....	50
3.2.2.	Arzneistofffreie Tintenformulierungen	51
3.2.2.1.	Auswahl der Hilfsstoffe	51
3.2.2.2.	Formulierungsentwicklung.....	51
3.2.3.	Lisinopril-haltige Tinte	53
3.2.3.1.	Ermittlung geeigneter Tintenstrahldruck-Parameter	53
3.2.3.2.	Überprüfung des Druckerfolges	56

3.2.4.	Untersuchung geeigneter Trocknungsparameter.....	57
3.2.5.	Charakterisierung von löslichen Mikronadelsystemen.....	59
3.2.5.1.	Optische Charakterisierung.....	59
3.2.5.2.	Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften.....	60
3.2.5.3.	Penetration in ein künstliches Hautmodell.....	62
3.2.5.4.	Lisinopril-Gehalt.....	63
3.2.6.	Vergleich mit konventionell hergestellten Mikronadelsystemen.....	63
3.2.7.	Zusammenfassende Beurteilung.....	65
3.3.	Herstellung und Charakterisierung von mehrschichtigen Mikronadelsystemen mittels Tintenstrahldrucks und Zentrifugation.....	67
3.3.1.	Hintergrund.....	67
3.3.2.	Charakterisierung von mehrschichtigen Mikronadelsystemen.....	68
3.3.2.1.	Optische Charakterisierung.....	68
3.3.2.2.	Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften.....	71
3.3.2.3.	Penetration in ein künstliches Hautmodell.....	72
3.3.2.4.	Lisinopril-Gehalt.....	74
3.3.3.	Variation der Deckschicht.....	75
3.3.3.1.	Povidon in Wasser.....	75
3.3.3.2.	Ethylcellulose in Ethanol.....	79
3.3.3.3.	Ethylcellulose in Ethylacetat.....	81
3.3.4.	Zusammenfassende Beurteilung.....	86
3.4.	Herstellung und Charakterisierung von Mikronadelsystemen mit der räumlichen Aufteilung von zwei Arzneistoffen.....	89
3.4.1.	Hintergrund.....	89
3.4.2.	Formulierungsentwicklung für verlängerte Arzneistofffreisetzung aus Mikronadelsystemen.....	90
3.4.2.1.	Optische Charakterisierung.....	90
3.4.2.2.	Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften von Mikronadelsystemen für eine verlängerte Arzneistofffreisetzung.....	92

3.4.2.3.	Penetration von Mikronadelsystemen aus Retard-Polymeren in ein künstliches Hautmodell	95
3.4.2.4.	Arzneistofffreisetzung aus Mikronadelsystemen aus Retard-Polymeren	96
3.4.3.	Charakterisierung von Mikronadelsystemen mit räumlich getrennten Arzneistoffen und Polymeren.....	98
3.4.3.1.	Optische Charakterisierung	98
3.4.3.2.	Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften	101
3.4.3.3.	Penetration in ein künstliches Hautmodell.....	102
3.4.3.4.	Arzneistofffreisetzung	103
3.4.3.5.	Insertion in Humanhaut	106
3.4.3.6.	Permeation durch Humanhaut	107
3.4.4.	Zusammenfassende Beurteilung	110
3.5.	Herstellung und Charakterisierung von bioabbaubaren Mikronadelsystemen mittels Tintenstrahldruck	112
3.5.1.	Hintergrund.....	112
3.5.2.	Arzneistofffreie Tintenformulierungen	113
3.5.2.1.	Auswahl an Hilfsstoffen	113
3.5.2.2.	Formulierungsentwicklung.....	115
3.5.3.	Ibuprofen-haltige Tintenformulierung	117
3.5.3.1.	Ermittlung geeigneter Tintenstrahldruck-Parameter	117
3.5.4.	Charakterisierung bioabbaubarer Mikronadelsysteme	121
3.5.4.1.	Optische Charakterisierung	121
3.5.4.2.	Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften	122
3.5.4.3.	Penetration in ein künstliches Hautmodell.....	123
3.5.4.4.	Insertion in Humanhaut	125
3.5.4.5.	Permeation durch Humanhaut	126
3.5.4.6.	Restlösemittel.....	128
3.5.5.	Zusammenfassende Beurteilung	129

4.	Zusammenfassung und Ausblick	131
5.	Experimenteller Teil	136
5.1.	Verwendete Materialien	136
5.2.	Herstellungsmethoden	138
5.2.1.	Tintenformulierungen	138
5.2.1.1.	Arzneistofffreie Tintenformulierungen	138
5.2.1.2.	Arzneistoffhaltige Tintenformulierungen	140
5.2.2.	Polymerlösungen	140
5.2.2.1.	Formulierungen für die Herstellung von Mikronadelsystemen mittels Zentrifugation	140
5.2.2.2.	Formulierungen für die Herstellung der Deckschicht.....	142
5.2.3.	Herstellung von Mikronadelsystemen	142
5.2.3.1.	Herstellung von Mikronadelsystemen mittels Zentrifugation	142
5.2.3.2.	Herstellung von Mikronadelsystemen mittels Tintenstrahldruck	143
5.2.3.3.	Herstellung von Mikronadelsystemen mittels Kombination aus Tintenstrahldruck und Zentrifugation	144
5.2.3.3.1.	Herstellung von mehrschichtigen Mikronadelsystemen	144
5.2.3.3.2.	Herstellung von Mikronadelsystemen mit zwei räumlich getrennten Polymeren / Arzneistoffen.....	145
5.2.3.3.3.	Herstellung von bioabbaubaren Mikronadelsystemen mit Nadelspitzen aus Poly(lactid-co-glycolid)	146
5.2.4.	Herstellung von Filmformulierungen	147
5.3.	Tintenstrahldruck.....	147
5.3.1.	Bestimmung des Versatzes zwischen Kamera und Düse des Druckkopfes.....	148
5.3.2.	Druckmuster	150
5.3.3.	Berechnung des Soll-Gehaltes	150
5.3.4.	Tropfenanalyse	151
5.4.	Analytische Methoden.....	152

5.4.1. Rheologische Untersuchungen.....	152
5.4.2. Oberflächenspannung	153
5.4.3. Dichte	153
5.4.3.1. Tintenformulierungen für lösliche Mikronadelsysteme.....	153
5.4.3.2. Tintenformulierungen für bioabbaubare Mikronadelsysteme.....	153
5.4.4. Mikroskopische Methoden	153
5.4.4.1. Lichtmikroskopische Aufnahmen	153
5.4.4.2. Konfokale Raman Mikroskopie und Raman-Oberflächenmessungen 154	
5.4.4.2.1. Kalibrierung.....	155
5.4.4.3. Visualisierung des Druckerfolges	155
5.4.5. Trocknung von Mikronadelsystemen	155
5.4.5.1. Anzahl gut ausgebildeter Nadeln als Qualitätsmerkmal	155
5.4.5.2. Variation des Wassergehaltes in der Deckschicht.....	157
5.4.5.3. Variation der Trocknungszeit der Mikronadeln.....	157
5.4.6. Quantifizierung von Arzneistoffen	157
5.4.6.1. Lisinopril	157
5.4.6.2. Ibuprofen.....	159
5.4.6.3. Lisinopril und Ibuprofen	160
5.4.7. Löslichkeitsuntersuchungen	162
5.4.8. Mechanische Stabilität von Mikronadelsystemen	162
5.4.9. Penetration von Mikronadelsystemen in ein künstliches Hautmodell ..	163
5.4.10. Präparation von Humanhaut.....	164
5.4.11. Insertion von Mikronadelsystemen in Humanhaut	164
5.4.12. Arzneistofffreisetzung aus Mikronadelsystemen.....	165
5.4.13. Berechnung der mittleren Auflösungszeit	165
5.4.14. Auflösen von mehrschichtigen Mikronadelsystemen mittels Agarose-Gel 165	

5.4.15. Permeation durch Humanhaut mittels Franz-Diffusionszellen	166
5.4.16. Restlösemittel ($^1\text{H-NMR}$)	167
6. Anhang	168
7. Literaturverzeichnis	181
8. Danksagung	199
9. Eidesstattliche Erklärung	202

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
ACN	Acetonitril
ABC	Fläche zwischen den Kurven
ADA	Advanced Drop Analysis
AMM	Ammoniummethacrylat-Copolymer
AS	Arzneistoff
CMC	Carboxymethylcellulose, Carmellose
CRS	Chemische Referenzsubstanz
DCM	Dichlormethan
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DOD	Drop-on-demand
DS	Deckschicht
EC	Ethylcellulose
EtAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
Gly	Glycerol
HPC	Hydroxypropylcellulose
HPMC	Hydroxypropylmethylcellulose, Hypromellose
HR	Höhenreduktion
IBU	Ibuprofen
KRM	Konfokale Raman-Mikroskopie
LIS	Lisinopril-Dihydrat
LM	Lösungsmittel
MDT	Mittlere Auflösungszeit
MNS	Mikronadelsystem
PAP	Poke and Patch (Durchstoßen und Aufkleben)
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PEG	Polyethylenglykol, Macrogol
PLA	Polymilchsäure
PLGA	Poly(lactid-co-glycolid)
PS	Polysorbat
PUL	Pullulan
PMVE/MA	Methylvinylether-Maleinsäureanhydrid Copolymer
PVP	Polyvinylpyrrolidon, Povidon
SC	Stratum corneum

Abkürzung	Bedeutung
Sor	Sorbitol
TSD	Tintenstrahldruck
TZ	Tintenzubereitung
WM	Weichmacher
η	Dynamische Viskosität
ρ	Dichte
σ	Oberflächenspannung

Publikationen

Veröffentlichte Manuskripte

Lammerding, L.C., Breitzkreutz, J., Technical evaluation of precisely manufacturing customized microneedle array patches via inkjet drug printing, *International Journal of Pharmaceutics*, 2023, 642, 123173

doi: 10.1016/j.ijpharm.2023.123173

- Eigenanteil: 75 %
- Erklärung: LL und JB haben gemeinsam die Idee und das Konzept der Studie erarbeitet. LL hat die praktischen Arbeiten durchgeführt, die Daten ausgewertet und den Erstentwurf des Manuskriptes ausgearbeitet. JB war an der Ausarbeitung des Manuskriptes beteiligt.

Lammerding, L.C., Braun, S., Breitzkreutz, J., Multilayer microneedles array patches by combining inkjet printing and micromolding – A technical evaluation, *Transactions on Additive Manufacturing Meets Medicine*, 2023, 5(1), 798

doi: 10.18416/AMMM.2023.2309798

- Eigenanteil: 65 %
- Erklärung: LL entwarf das Studiendesign, hat die praktische Arbeit der Versuche durchgeführt und die Daten ausgewertet. LL hat das Manuskript verfasst. SB und JB waren an der Konzeption der Studie beteiligt und haben das Manuskript mitverfasst.

Lammerding, L.C., Arora, A., Braun, S., Breitzkreutz, J., Spatial separation of different drug substances in one microneedle array patch by combining inkjet printing and micromolding technology, *International Journal of Pharmaceutics*, 2025, 670, 125102

- Eigenanteil: 65 %
- Erklärung: LL entwarf das Studiendesign, hat die praktische Arbeit der Versuche durchgeführt und die Daten ausgewertet, LL hat das Manuskript verfasst. AA hat Teile der praktischen Versuche durchgeführt und die Daten ausgewertet. SB und JB waren an der Konzeption der Studie beteiligt und haben das Manuskript mitverfasst.

Konferenzbeiträge

Vorträge

Lammerding, L.C., Breitzkreutz, J., Dissolvable microneedles via inkjet printing, *16th Pharmaceutical Solid State Research Cluster Annual Meeting, Helsinki 2022.*

Lammerding, L.C., Breitzkreutz, J., Dissolvable bilayer microneedles produced by combining inkjet printing and micromolding, *4th European Conference on Pharmaceutics, Marseille 2023.*

Lammerding, L.C., Fischer, B., Braun, S., Breitzkreutz, J., Investigations on the stability of multilayer microneedle array patches using confocal Raman microscopy, *17th Pharmaceutical Solid State Research Cluster Annual Meeting, Cambridge 2023*

Lammerding, L.C., Braun, S., Breitzkreutz, J., Influence of plasticizer concentration on the insertion behavior of dissolvable microneedle array patches, *10th Polish German Symposium, Düsseldorf 2023*

Poster-Präsentationen

Lammerding, L.C., Breitzkreutz, J., Development of a suitable ink for the manufacturing of microneedles by inkjet printing, *13th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Rotterdam 2022*

Lammerding, L.C., Breitzkreutz, J., Dissolvable microneedles: Impact of drying conditions, *4th European Meeting on Pharmaceutics, Marseille 2023*

Lammerding, L.C., Braun, S., Breitzkreutz, J., Multilayer microneedle array patches by combining inkjet printing and micromolding – A technical evaluation, *Additive Manufacturing Meets Medicine, Lübeck 2023*

1. Einleitung

Abschnitte dieses Kapitels wurden bereits in Fachzeitschriften mit Peer-Review-Verfahren veröffentlicht. Der Inhalt wurde sprachlich angepasst und Ergänzungen wurden hinzugefügt.

- Lammerding, L.C.; Breitzkreutz, J., 2023. *Technical evaluation of precisely manufacturing customized microneedle array patches via inkjet drug printing*. Int J Pharm 642, 123173.
- Lammerding, L.C.; Braun, S.; Breitzkreutz, J., 2023. *Multilayer microneedle array patches by combining inkjet printing and micromolding – A technical evaluation*. Trans. AMMM 5 (1).

1.1. Transdermale Arzneiformen

1.1.1. Aufbau der menschlichen Haut

Die Haut bildet das größte Organ des menschlichen Körpers und stellt dessen äußere Begrenzung dar. Dabei übernimmt die Haut wichtige und vielseitige Aufgaben. Die Regulation des Wasserhaushaltes [1] und der Temperatur des menschlichen Körpers [2, 3] erfolgen über die Abgabe von Schweiß über die Haut. Außerdem dient die menschliche Haut als Exkretionsorgan zur Ausscheidung unerwünschter oder toxischer Stoffe [4, 5]. Die Haut besitzt somit eine Barrierefunktion, welche den Körper vor äußeren Einflüssen, zu starker Wasserabgabe oder Überhitzung schützt. Intakte menschliche Haut verhindert das Eindringen von Fremdstoffen, zum Beispiel von Bakterien und Noxen. Durch Einlagerung von Vitamin A, Vitamin E und Carotinoiden in den Hautschichten kann UV-Strahlung absorbiert werden. Dadurch verhindert die Haut die Bildung von Erbgut-Schäden durch UV-Strahlung des Tageslichtes [6]. Außerdem konnten zahlreiche Studien zeigen, dass die menschliche Haut einen wichtigen Beitrag in der Immunologie erfüllt [7-9]. Besondere Bedeutung in der Initialisierung der Immunabwehr wird Toll-like-4-Rezeptoren zugeschrieben. Diese sind in den äußeren Hautschichten lokalisiert und induzieren verschiedene Signalwege nach Aktivierung durch in die Haut eingedrungene Noxen [7]. Auf diesem Wege kommt es zu einer verstärkten Ausschüttung von Zytokinen wie NF- κ B (nukleärer Faktor κ B) und zur Aktivierung der Mitogen-aktivierten Proteinkinase. Diese beiden Signalwege induzieren in der Folge die Abtötung von eingedrungenen Keimen sowie die Förderung der Wundheilung der Haut. Des Weiteren sind T-Zellen in der menschlichen Haut lokalisiert. Diese induzieren eine Immunantwort durch die verstärkte Ausschüttung von Zytokinen wie Interleukin-8 und diverser proinflammatorischer Mediatoren wie Monozyten-chemotaktische Proteine und Macrophagen-entzündliche Proteine [9]. Weitere Studien konnten zudem zeigen, dass keine B-Lymphozyten in der menschlichen Haut lokalisiert sind [8]. Die zellulären Bestandteile des Immunsystems der Haut beschränken

sich folglich auf T-Zellen. Es konnte sowohl die Anwesenheit von zytotoxischen T-Zellen sowie von T-Helferzellen gezeigt werden.

Diese vielseitigen Aufgabenbereiche kann die menschliche Haut durch ihren mehrschichtigen und komplexen Aufbau erfüllen. Der Aufbau der menschlichen Haut ist Abbildung 1 skizziert.

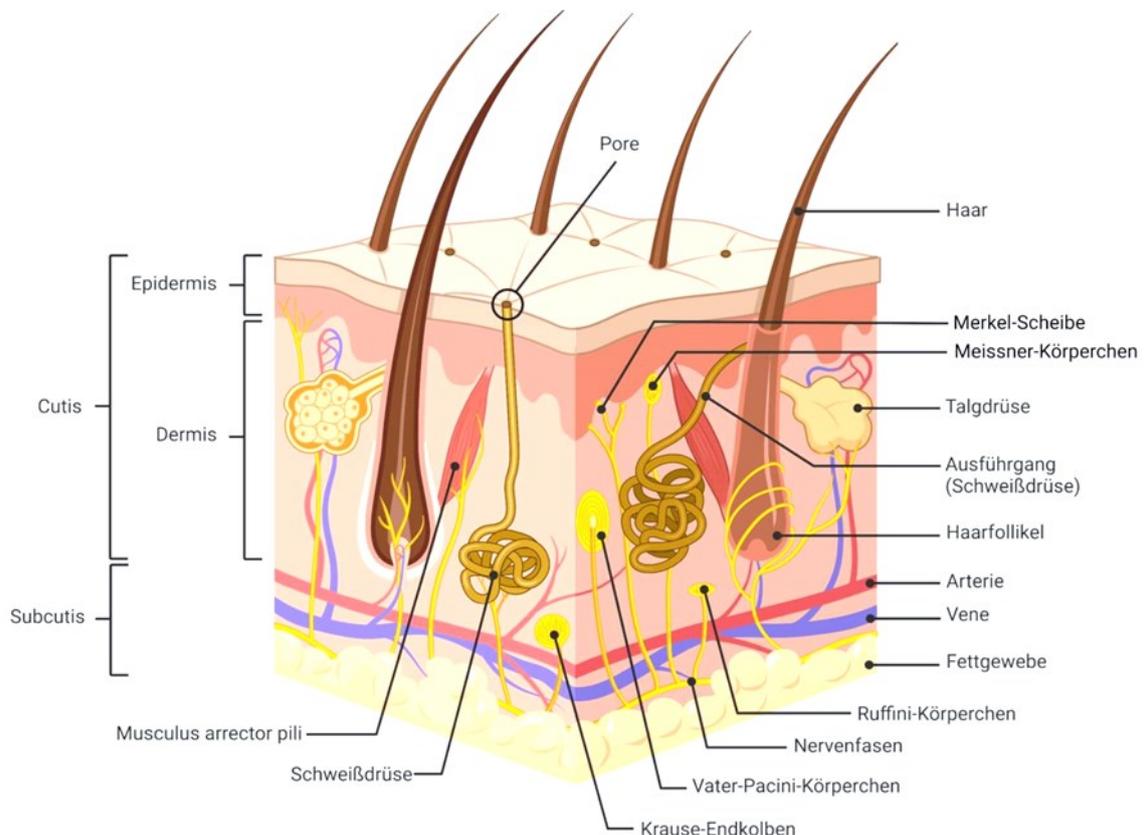


Abbildung 1: Aufbau der menschlichen Haut nach [10]

Die menschliche Haut besteht im Wesentlichen aus drei Schichten: Der Epidermis, der Dermis und der Subcutis. Dabei ist die Epidermis (Oberhaut) die äußerste Schicht der Haut (in Abbildung 1 nach oben gerichtet). Der äußerste Teil der Epidermis ist das Stratum corneum (SC), welches die äußerste Barriere des Körpers bildet. Die Epidermis und die darunterliegende Dermis (Lederhaut) bilden gemeinsam die Cutis. Unterhalb der Cutis schließt sich die Subcutis (Unterhaut) an. Jede der drei Schichten hat einen spezifischen Aufbau, welcher sich aus den zugrundeliegenden Aufgaben der jeweiligen Hautschicht ergibt.

Das SC bildet die äußerste Schicht der Haut und stellt eine wichtige Barriere gegenüber der Umwelt dar [11, 12]. Dabei besteht das SC aus abgestorbenen Plattenepithelzellen, den Korneozyten [13], und dem wasserabweisenden Protein Keratin. Zell-Zell-Kontakte zwischen den Korneozyten werden von modifizierten Desmosomen, den Korneodesmosomen, ermöglicht. Das SC reguliert den Wasserhaushalt des menschlichen Körpers. Es verhindert, dass der Wasserverlust über die Haut zu groß wird, allerdings ist es nicht vollständig

impermeabel für Wasser. Durch die Absonderung von Schweiß, der in den Schweißdrüsen gebildet wird und über Poren, die das SC durchdringen, auf die Körperoberfläche abgegeben wird, kann durch die Kälteentwicklung bei Verdunstung die Körpertemperatur reguliert werden. Diese Funktionen werden durch die charakteristische Anordnung der Keratinozyten und die spezielle Zusammensetzung der Lipide des SC erreicht. Es konnte gezeigt werden, dass sich die Lipide aus einer Mischung von Ceramiden (45 – 50 %), Cholesterin (25 %) und freien Fettsäuren (10 – 15 %) zusammensetzen [14]. Die restlichen 5 % der Lipidzusammensetzung entfallen auf andere Lipide, wovon Cholesterolsulfat den Hauptbestandteil ausmacht [15]. Durch diese lipophile Zusammensetzung wird die Verdunstung von Wasser maßgeblich eingeschränkt und der menschliche Körper vor zu schnellem Austrocknen geschützt. Ebenfalls ist die Anordnung der Lipide im SC an dieser Körperfunktion beteiligt. Die Lipide ordnen sich lamellar an und verhindern somit das Austreten von Wasser sowie das Eindringen von Fremdstoffen [16].

Die Epidermis lässt sich, neben dem SC, in das Stratum germinativum (Keimschicht), das Stratum granulosum (Körnerschicht) und das Stratum lucidum (Glanzsicht) unterteilen [17]. Unterhalb des SC beginnt das Stratum granulosum. Dies enthält vor allem basophile Granulozyten und lebende Zellen, die Keratinozyten. Die basophilen Granulozyten fördern die Umwandlung der Keratinozyten in abgestorbene Korneozyten. Nach Umwandlung in Korneozyten gelangen diese in das SC und bilden dort die verhornte Barriere aus [18]. Durch diesen Prozess kann das SC stetig erneuert werden und Zellverluste werden ausgeglichen. Somit ist gewährleistet, dass die Barrierefunktion der Haut intakt bleibt und die Haut nicht durchlässig für Fremdstoffe wird.

Das Stratum germinativum besteht aus dem Stratum basale (Basalschicht) und dem Stratum spinosum (Stachelzellschicht). Das Stratum spinosum grenzt unmittelbar an das Stratum granulosum an. In diesem Abschnitt der Epidermis beginnt die allmähliche Umwandlung der Keratinozyten, welche anschließend im Stratum granulosum abgeschlossen wird (s. oben). Außerdem sind in dem Stratum spinosum Langerhans-Zellen lokalisiert [19]. Diese bilden einen Teil des menschlichen Immunsystems und sind bei der Abwehrreaktion gegen Fremdstoffe und Bakterien beteiligt. Langerhans-Zellen, eine Subkategorie von dendritischen Zellen, erkennen anhand spezifischer Rezeptoren Bestandteile von Bakterien und induzieren in der Folge die Aktivierung diverser immunologischer Signalwege. Vor allem wird die Aktivierung von MHC-II (major histocompatibility complex) gefördert. MHC-II präsentiert in der Folge Antigene der Bakterien den T-Zellen, sodass die T-Zell-vermittelte Immunreaktion gefördert wird.

Die tiefste Schicht der Epidermis bildet das Stratum basale. Diese Zellen sind mitotisch aktiv und trennen die Epidermis von der Dermis (Abbildung 1). Durch die hohe Mitoserate werden

im Stratum basale kontinuierlich neue Keratinozyten gebildet und nach Differenzierung in die äußeren Hautschichten, das Stratum germinativum und das Stratum granulosum, geleitet. Auf diese Weise ist das Stratum basale maßgeblich für den Ausgleich des Zellverlustes an der Oberfläche des SC beteiligt. Dies bedeutet, dass das Stratum basale für die Regeneration der Haut zuständig ist [20].

Der Aufbau der sich anschließenden Dermis ist Abbildung 1 detailliert zu entnehmen. In der Dermis sind Schweißdrüsen lokalisiert, welche nach Durchqueren der Epidermis den Schweiß zur Wärmeregulation des Körpers an die Umgebung abgeben können [2]. Außerdem sind Nervenfasern, Blutgefäße und Talgdrüsen in der Dermis lokalisiert. Auch finden sich überwiegend Zellen des Tast- und Empfindungssinnes in der Dermis (Vater-Pacini-Körperchen, Ruffini-Körperchen, Meissner-Körperchen und Merkel-Scheiben).

1.1.2. Transdermale Therapeutische Systeme

Die perorale Applikation von Arzneistoffen (AS) ist am weitesten verbreitet. Jedoch ist die perorale Applikation für viele AS limitiert aufgrund von schlechter Löslichkeit der AS, Degradation durch die sauren Bedingungen des Magens, einen ausgeprägten intestinalen und hepatischen First-Pass-Effekt, Degradation durch enzymatische Reaktionen oder schlechte Permeation durch die intestinalen Zellwände [21]. Vor allem die Applikation von Peptiden und Proteinen ist peroral limitiert. Einige Limitationen wie Degradation durch die sauren Bedingungen des Magens, Degradation durch enzymatische Reaktionen oder die schlechte Permeation durch die intestinalen Zellwände können mit Hilfe von parenteralen Arzneiformen, durch intravenöse oder subkutane Injektionen, umgangen werden. Dabei können allerdings Schmerzempfinden oder Nadelphobie den Therapieerfolg negativ beeinflussen [22]. Zum Beispiel müssen Nadeln mit einer Länge von 16 – 38 mm verwendet werden, um weniger als 1 ml Impfstoff zu verabreichen [23]. Selbst für kleinere Arzneistoffmengen müssen Nadeln mit einer Länge von 6 – 13 mm verwendet werden [24].

Diese Nachteile können mit Hilfe von transdormaler Applikation überwunden werden [25]. Durch die transdermale Permeation von AS kann der Magen-Darm-Trakt umgangen werden ebenso wie der intestinale und hepatische First-Pass-Effekt [26, 27]. Auf diese Weise können konstantere Plasmaspiegel erreicht werden, was potentiell in einer Reduktion von unerwünschten Effekten resultieren kann. Bei der Applikation AS-haltiger Zubereitungen auf der Haut kommen verschiedene Mechanismen zum Tragen, welche das pharmakokinetische Verhalten der AS maßgeblich bestimmen [28]. Dabei beschreibt die Liberation die Freisetzung des AS aus der Arzneiform, die Permeation das Durchdringen der Epidermis und die Absorption die AS-Aufnahme in den Blutgefäßen, die in der Dermis lokalisiert sind. Für eine systemische Wirkung der AS ist eine ausreichend tiefe Permeation essentiell. Die AS-Moleküle müssen sowohl das lipophile SC überwinden können als auch die hydrophileren Schichten der

Epidermis (Stratum granulosum, Stratum spinosum, Stratum basale). Nur dann erreichen die AS-Moleküle die tiefergelegene Dermis und können erfolgreich in die Blutbahn gelangen. Allerdings müssen die AS geeignete physikochemische Eigenschaften aufweisen, damit diese die Epidermis überwinden können und anschließend in der Dermis in den Blutkreislauf gelangen können [29]. Die Verwendung halbfester Systeme wie Salben, Cremes oder Gele erfolgt in der Regel durch das Auftragen mit Hilfe des Fingers oder eines Applikators. Dabei erfolgt die Dosierung oftmals mit Hilfe der sogenannten Finger-Tip-Unit [30]. Diese Dosisangabe ermöglicht jedoch keine genaue Dosierung. Diese Dosierungenauigkeiten können durch die Verwendung von Pflastern umgangen werden.

Das Europäische Arzneibuch unterscheidet Pflaster in wirkstoffhaltige Pflaster, kutane Pflaster und Transdermalpflaster. Wirkstoffhaltige Pflaster sind Zubereitungen, welche in der Regel eingesetzt werden, um eine lokale Wirkung über einen bestimmten Anwendungszeitraum zu erzielen. Durch ein adhäsives Trägermaterial werden AS in engen Kontakt mit der menschlichen Haut gebracht und die AS entfalten eine schützende, keratolytische oder antimikrobielle Wirkung [31]. Kutane Pflaster erzielen ebenfalls eine lokale Wirkung an beziehungsweise in der Haut. Der AS penetriert in die oberen Schichten der menschlichen Haut, gelangt jedoch nicht in die in der Dermis lokalisierten Blutgefäße und erzielt folglich keine systemische Wirkung [32]. Transdermalpflaster hingegen sind dazu bestimmt, eine systemische Wirkung des AS zu erzielen [32]. Durch Penetration des AS durch die äußeren Hautschichten und die anschließende Aufnahme über die Blutgefäße in der Dermis gelangt der AS in den Blutkreislauf und kann eine systemische Wirkung entfalten (s. oben).

Transdermalpflaster lassen sich hinsichtlich ihres Aufbaus in Membran-kontrollierte und Matrix-Systeme unterscheiden [33]. Diese sind schematisch in Abbildung 2 dargestellt.

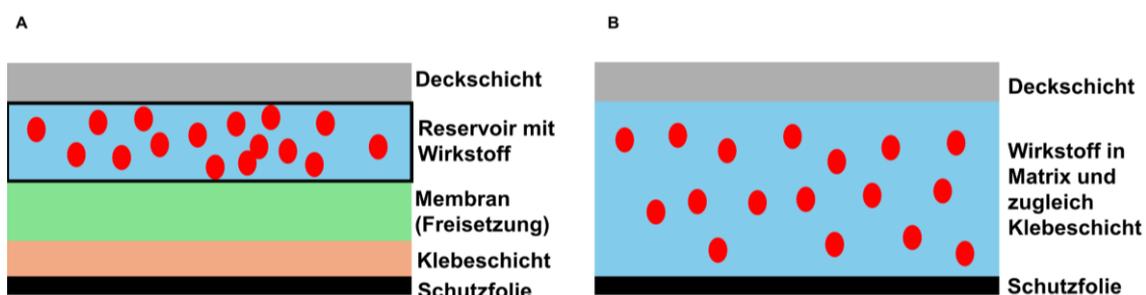


Abbildung 2: Typen von Transdermalpflastern; A: Membran-kontrolliertes System; B: Matrix-System; modifiziert nach [34]

Membran- oder auch Reservoirsysteme enthalten ein separiertes AS-haltiges Reservoir. In diesem liegt der AS gelöst oder dispergiert vor und ist durch eine Membran von den restlichen Schichten des Transdermalpflasters abgetrennt. Die Membran kontrolliert die AS-Freisetzung durch Diffusion. Auf der Membran ist zusätzlich eine Klebeschicht aufgebracht, welche nach Entfernen der Schutzfolie auf die Haut aufgeklebt wird. Einen großen Nachteil dieser Systeme

stellt die Gefahr des Dose-Dumpings dar [35]. Falls die Membran nicht intakt ist, wird der AS unkontrolliert abgegeben und es kann zu folgeschweren Überdosierungen mit hochpotenten AS wie Fentanyl kommen [36]. Daher sollten Membransysteme nicht zerschnitten werden, um die Dosis einzustellen [34].

Matrixsysteme unterscheiden sich maßgeblich im Aufbau von Membransystemen. Bei Matrixsystemen liegt der AS in einer Matrix gleichmäßig dispergiert vor. Diese Matrix bildet gleichzeitig die Klebeschicht des Transdermalpflasters. Der AS wird also direkt in Kontakt mit der Haut gebracht. In diesem Fall ist die Diffusion des in der Matrix gleichmäßig verteilten AS durch die Matrix bestimmend für das Freisetzungsprofil. Diese Transdermalpflaster bieten den Vorteil, dass eine Dosisanpassung durch Zerschneiden grundsätzlich möglich ist, obwohl an den Schnittstellen Diffusionswege verändert werden.

Mittlerweile stehen dem deutschen Arzneimittelmarkt einige Transdermalpflaster zur Verfügung. Der Tabelle 1 ist beispielhaft zu entnehmen, welche AS als Transdermalpflaster auf dem deutschen Arzneimittelmarkt zugelassen sind.

Tabelle 1: Exemplarische Auswahl von auf dem deutschen Arzneimittelmarkt zugelassenen Transdermalpflastern (Stand: 12.09.2024)

AS	Name	Indikation	Abgaberate	Art
Estradiol	Estramon®	Hormonersatz	50 – 100 µg / 24 h	Matrix
Estradiol + Norethisteronacetat	Estramon® conti	Hormonersatz	30 + 95 µg / 24 h	Matrix
Ethinylestradiol + Norelgestromin	Evra®	Kontrazeption	203 + 33,9 µg / 24 h	Matrix
Fentanyl	Durogesic®	Starke Schmerzen	12 – 100 µg / h	Matrix
Fentanyl	Fentanyl – 1A Pharma®	Starke Schmerzen	12 – 100 µg / h	Matrix
Nicotin	Nicorette® TX Pflaster	Raucherent- wöhnung	10 – 25 mg / 16 h	Matrix
Nicotin	NiQuitin® Clear	Raucherent- wöhnung	7 – 21 mg / 24 h	Membran
Glyceroltrinitrat	Nitroderm® TTS	Koronare Herzkrankheit	5 – 10 mg / 24 h	Membran
Oxybutynin	Kentera®	Harninkontinenz	3,9 mg / 24 h	Matrix
Buprenorphin	Norspan®	Starke Schmerzen	10 – 30 µg / h	Matrix
Scopolamin	Scopoderm® TTS	Übelkeit und Erbrechen	1 mg / 72 h	Membran
Rotigotin	Neupro®	Parkinson	1 – 8 mg / 24 h	Matrix
Buprenorphin	TransTec PRO®	Starke Schmerzen	35 µg / h	Matrix

Transdermalpflaster werden verwendet, um eine systemische Wirkung des AS zu erreichen. Wie Tabelle 1 entnommen werden kann, werden zur Pharmakotherapie mittels Transdermalpflaster vor allem niedrigdosierte AS verwendet, welche eine enge therapeutische Breite aufweisen. Dabei sind vor allem die Substanzklassen der Opioiden und der Sexualhormone hervorzuheben [37-39]. Bei diesen AS können Plasmaspiegelschwankungen zum vermehrten Auftreten von unerwünschten Effekten führen. Daher ist ein konstanter AS-Spiegel im Plasma von entscheidender Bedeutung, um unerwünschte Effekte zu minimieren. Aus diesem Grund eignen sich Transdermalpflaster zur Applikation besonders gut.

Allerdings muss hervorgehoben werden, dass es nur wenige AS gibt, welche für eine transdermale AS-Abgabe verwendet werden können. Aufgrund der Barrierefunktion des SC (Kapitel 1.1.1.) können die meisten AS die Haut nicht überwinden und sind daher für eine

transdermale Applikation ungeeignet. Vor allem die physikochemischen Eigenschaften und die Molekülgröße der AS limitieren deren Anwendbarkeit als Transdermalpflaster. In einer Übersichtsarbeit konnten die Eigenschaften, welche AS für eine erfolgreiche transdermale Applikation aufweisen, zusammengefasst werden [29]. Es stellte sich heraus, dass das Molekulargewicht 335 Da nicht überschreiten sollte. Des Weiteren weisen transdermal applizierbare AS maximal zwei Wasserstoffbrückendonatoren und neun -akzeptoren auf. Die Lipophilie der AS, ausgedrückt durch den Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten, sollte zwischen 0 – 5 liegen. Demnach eignen sich lediglich kleine AS-Moleküle, welche eine ausreichend hohe Lipophilie haben, für eine erfolgreiche transdermale Applikation. Makromoleküle und hydrophile AS können nur unzureichend über die Haut appliziert werden und stellen eine Herausforderung dar.

1.1.3. Verwendung von Permeationsvermittlern

Die Auswahl an AS, welche für eine transdermale AS-Abgabe verwendet werden können, ist aufgrund der erforderlichen Moleküleigenschaften der AS stark limitiert (Kapitel 1.1.2.). Aus diesem Grund wurden unterschiedliche Strategien entwickelt, um das Spektrum der anwendbaren AS zu erweitern. Eine Möglichkeit stellt dabei die Verwendung von Permeations- und Penetrationsvermittlern (auch Permeations- und Penetrationsverstärker) dar. Dabei wurden diverse Substanzen und Möglichkeiten untersucht, wie die Permeation von AS über die menschliche Haut verbessert werden kann.

Zum Beispiel kann die Struktur des SC verändert werden. Dies ist möglich durch die Verwendung von Wasser oder Feuchthaltemitteln. AS können in diesen gelöst oder dispergiert werden und die Applikation dieser Stoffe beziehungsweise Stoffgemische sorgt für eine Quellung der Haut. Dadurch wird die Struktur der Lipide im SC durchlässiger für AS und eine größere Anzahl an AS-Molekülen kann für die transdermale Therapie verwendet werden [40].

Des Weiteren kann eine Vielzahl von Substanzen als Penetrationsvermittler eingesetzt werden [41]. Diese können die hochgradig organisierte Struktur des SC stören und dabei die Interaktion des AS mit interzellulären Proteinen verändern [42]. Ein sehr potenter chemischer Penetrationsvermittler ist Dimethylsulfoxid (DMSO). Durch die amphiphile Struktur kann DMSO die transdermale Penetration vieler AS mit unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften verbessern [43, 44]. Weitere Permeations- und Penetrationsvermittler, welche untersucht wurden, sind Oxazolidone [45], Harnstoff [46, 47], Pyrrolidone [48], Alkohole [49-51], Lipide sowie Fettsäuren [52] und Tenside [53]. Die permeations- und penetrationsvermittelnde Wirkung beruht in der Regel auf ähnlichen Mechanismen. Flüssige Zubereitungen können für eine Quellung der Haut sorgen. In der Folge dessen wird das SC durchlässiger für AS-Moleküle und eine größere Vielzahl an AS kann transdermal appliziert

werden. Des Weiteren kann die zuvor beschriebene, hochorganisierte Struktur der Hautschichten gestört werden, sodass AS leichter die Hautbarriere überqueren können.

Allerdings wurden weitere Strategien beschrieben, um die Permeation von AS durch die menschliche Haut zu ermöglichen und zu verstärken. So können funktionelle Gruppen in AS eingeführt werden, welche die physikochemischen Eigenschaften der AS (v.a. Lipophilie) verändern und die Penetration und Permeation der Haut ermöglichen [54]. Diese funktionellen Gruppen werden nach Durchdringen der Hautbarriere vom AS-Molekül abgespalten und der AS kann seine pharmakologische Wirkung entfalten. Bei diesem Ansatz handelt es sich um ein klassisches Prodrug-Konzept. Auch wurde die Verwendung von Ionenpaaren beschrieben [55], zum Beispiel durch Bildung eines lipophilen Ionenpaares, bei dem sich die Ionen eine gemeinsame Hydrathülle teilen, können AS das SC besser überqueren. Im Anschluss findet im wässrigen Milieu des Körpers eine Dissoziation in die einzelnen Ionen statt, sodass der AS in geladener Form im Blut zirkulieren und anschließend im Zielgewebe wirken kann. Des Weiteren wurde die Verwendung übersättigter Lösungen [56], eutektischer Systeme [57], von Liposomen [58] und von Nanopartikeln [59] beschrieben, um die AS-Permeation zu verstärken. Dabei muss allerdings beachtet werden, dass sich oftmals mehrere Mechanismen der Permeationsvermittlung überlagern und teilweise auch Auslösen können. In der Regel geht die Verwendung von übersättigten Lösungen und Liposomen mit einer Quellung der Haut einher [60]. Die Quellung der Hautbarriere kann verhindert werden durch Verwendung von Eutektika oder Nanopartikeln.

Insgesamt wurden zahlreiche Methoden beschrieben und entwickelt, mit deren Hilfe die Permeation von AS durch die Haut ermöglicht oder verstärkt werden kann. Dabei wurde am intensivsten die Verwendung von Permeations- und Penetrationsvermittlern untersucht. Allerdings eignen sich die Substanzen zumeist nicht für eine Dauertherapie, da die verwendeten Stoffe Hautirritationen und Reizungen hervorrufen können [61]. Die Verwendung von Ionenpaaren, Nanopartikeln, Liposomen oder eutektischen Systemen erfordert aufwendigere Herstellungsprozesse und die hergestellten Arzneiformen können Instabilitäten aufweisen.

1.1.4. Verwendung von Iontophorese und Sonophorese

Auch wenn durch die Verwendung von Permeations- und Penetrationsvermittlern die Anzahl an AS, welche die Hautbarriere erfolgreich überwinden können, deutlich gesteigert werden konnte, finden diese bis heute kaum Anwendung auf dem pharmazeutischen Markt. Ein weiterer Ansatz, um die Hautbarriere zu umgehen und eine transdermale AS-Abgabe zu ermöglichen ist die Verwendung der Iontophorese [62].

Bei der Iontophorese werden geladene AS-Moleküle (Ionen) an einer geladenen Elektrode in einem Reservoir angebracht. So werden AS-Kationen an einer positiv geladenen Anode angebracht und an einer negativ geladenen Kathode befinden sich Gegenionen in Form eines leitfähigen Gels. Anionische AS-Moleküle werden hingegen an einer negativ geladenen Kathode angebracht und die Gegenionen befinden sich an der Anode. Die beiden Elektroden werden an der Haut angebracht und mittels Anlegen elektrischen Stroms erfolgt die Applikation der AS. Dies beruht auf dem Prinzip, dass negativ geladene Ionen zur Anode und positiv geladene Ionen zur Kathode wandern. Die AS-Ionen folgen dem elektrischen Strom und durchqueren dabei die Haut. Der AS kann im Anschluss in der Dermis von Blutgefäßen aufgenommen werden und im Blutkreislauf zirkulieren. Dies ist möglich, da die hydratisierte Haut eine Leitfähigkeit aufweist. Eine Übersichtsskizze, wie Iontophorese funktioniert, ist Abbildung 3 zu entnehmen. Dort ist schematisch skizziert, wie das Prinzip der Iontophorese für AS-Kationen zu erklären ist.

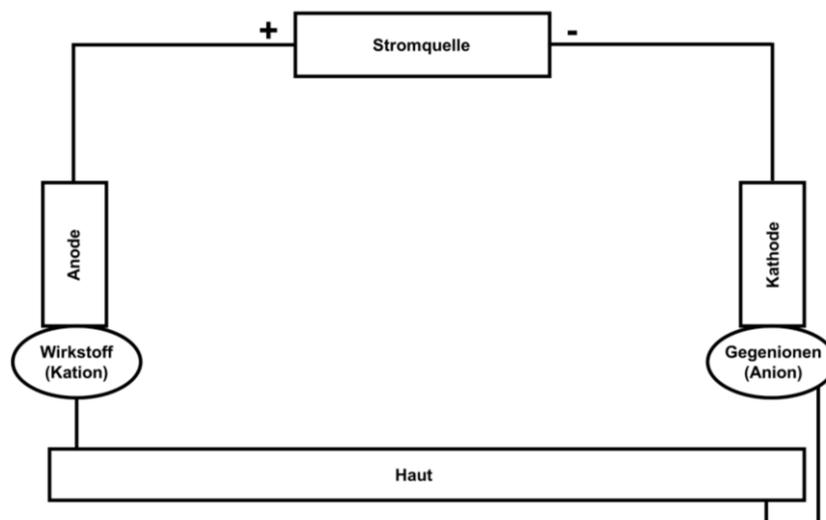


Abbildung 3: Schema Iontophorese; modifiziert nach [63]

So konnten bereits verschiedene AS mittels Iontophorese die menschliche Hautbarriere überqueren. In-vivo konnten bereits Dexamethason-Phosphat, Diclofenac-Natrium, Fentanyl-Hydrochlorid und Epinephrin-Hydrochlorid erfolgreich mittels Iontophorese appliziert werden [64-67].

Ein entscheidender Nachteil der Iontophorese stellt jedoch deren Limitation auf geladene AS-Moleküle dar. Nicht alle AS können ionisch vorliegen und sind somit nicht mittels Iontophorese applizierbar. Nichtsdestotrotz stellt die Anwendung der Iontophorese eine sinnvolle Erweiterung der Transdermalpflaster dar. Das Fentanyl-Hydrochlorid-haltige Präparat Ionsys® der Firma Janssen-Cilag konnte bereits auf dem Arzneimittelmarkt zugelassen werden, ist jedoch außer Handel genommen worden [68]. Aufgrund technischer Defekte konnte nicht ausgeschlossen werden, dass zu Überdosierungen während der Schmerztherapie kommt.

Daher befindet sich aktuell kein Transdermalpflaster, welches das Prinzip der Iontophorese verwendet, auf dem deutschen Arzneimittelmarkt.

Einen weiteren Ansatz, die transdermale Applikation für AS zu ermöglichen, stellt die Sonophorese dar [27]. Bei der Anwendung von Sonophorese werden AS-Moleküle unter Zuhilfenahme von Ultraschallwellen transdermal appliziert. Bei der Sonophorese kommen verschiedene Mechanismen zum Tragen, welche die Permeabilität der Haut für AS erhöhen können. Durch den Energieeintrag der Ultraschallwellen wird die hochorganisierte Lipidstruktur des SC gestört und auf diese Weise durchlässiger für AS-Moleküle [69]. Zudem erwärmt sich die bestrahlte Hautstelle und die Beweglichkeit der AS-Moleküle wird erhöht. Auf diese Weise kann die transdermale Applikation von AS ebenfalls erhöht werden. Ein weiterer Mechanismus, welcher auftreten kann und die Penetration und Permeation von AS erhöhen kann, ist die Kavitation [27]. Durch Ultraschallwellen kann eine wässrige AS-Zubereitung (zum Beispiel ein Hydrogel) zur Kavitation angeregt werden. Es entstehen Blasen im Hydrogel, welche an der Hautoberfläche implodieren [70]. Bei der Implosion der Blasen wird Energie frei, welche ebenfalls die transdermale Applikation von AS erhöhen kann. Durch Verwendung von niedrig-frequenten Ultraschallwellen konnte die transdermale Applikation niedrigmolekularer AS wie Lidocain erhöht [71] und die Applikation hochmolekularer Proteine wie Insulin ermöglicht werden [70, 72].

Allerdings ist die Verbesserung der transdermalen AS-Permeation durch Sonophorese für gewöhnlich nur gering ausgeprägt [27]. Die Verwendung von hoch-frequenten Ultraschallwellen kann die Penetration und Permeation von AS durch die Haut erhöhen, jedoch geht dies mit einer Schädigung tiefergelegener Hautschichten einher. Aus diesem Grund ist die Verwendung von Sonophorese nicht geeignet für eine langfristige Anwendung.

1.2. Mikronadelsysteme

Die transdermale Applikation von AS kann zahlreiche Vorteile hinsichtlich einer erfolgreichen Pharmakotherapie, verglichen mit anderen Applikationswegen, bieten [25]. Möglichkeiten und Limitationen der transdermalen AS-Abgabe wurden in den Kapiteln zuvor beschrieben. Jedoch ist eine erfolgreiche transdermale Applikation von AS stark von den Eigenschaften der AS-Moleküle abhängig: Vor allem die transdermale Applikation von Makromolekülen stellt eine große Herausforderung dar, sodass die Verwendung von Transdermalpflastern auf AS mit einem Molekulargewicht von < 335 Da beschränkt ist [29]. Des Weiteren sind lediglich AS, welche ausreichend lipophil sind (Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient von 0 – 5), über maximal zwei Wasserstoffbrückendonatoren und neun Wasserstoffbrückenakzeptoren verfügen, für eine erfolgreiche transdermale AS-Applikation geeignet [29]. Daher ist die Anwendung bisweilen auf einige wenige AS beschränkt. Mikronadelsysteme (MNS) sollen

diese Limitationen überwinden und eine transdermale Applikation eines breiten Spektrums an AS ermöglichen.

MNS bestehen aus einzelnen Mikronadeln, welche in der Regel an einer zusammenhängenden Deckschicht (DS) befestigt sind. Die Nadeln sind dabei lediglich wenige Mikrometer groß und haben eine scharf umrissene Spitze [26]. Normalerweise weisen die Mikronadeln eine Länge von 100 – 1200 µm auf [73, 74]. Die Mikronadeln können bei der Applikation das SC der menschlichen Haut durchstechen und auf diese Weise die Barrierefunktion der Haut umgehen. Dadurch ist es möglich, dass AS direkt in die Epidermis oder Dermis eingebracht werden können. Die transdermale und intradermale Applikation wurde auf diese Weise für eine große Zahl an AS-Klassen ermöglicht, unter anderem für hydrophile AS, Proteine, DNA, RNA und Impfstoffe [75-79].

Auf diese Weise können MNS die Vorteile einer parenteralen und einer transdermalen AS-Applikation kombinieren. Makromoleküle können unter Umgehung des Magen-Darm-Traktes appliziert werden. Da außerdem die Hautbarriere bei der Verwendung von MNS durchstochen wird, können MNS definitionsgemäß auch den parenteralen Arzneiformen zugeordnet werden. Ein weiterer großer Vorteil von MNS ist, dass die Applikation im Gegenteil zu Injektionen / Infusionen schmerzfrei erfolgen kann [22]. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, dass die Nadelgeometrie den Schmerzgrad, die Penetration der Haut und die mechanische Robustheit der MNS bestimmt [80].

Die hergestellten MNS lassen sich hinsichtlich des Mechanismus, wie AS appliziert werden, in verschiedene Arten unterteilen. Grundsätzlich wird dabei zwischen festen, beschichteten, löslichen, quellenden / Hydrogel-bildenden, separierbaren, hohlen und bioabbaubaren MNS unterschieden [81]. Die Arten von MNS sind in Abbildung 4 schematisch dargestellt.

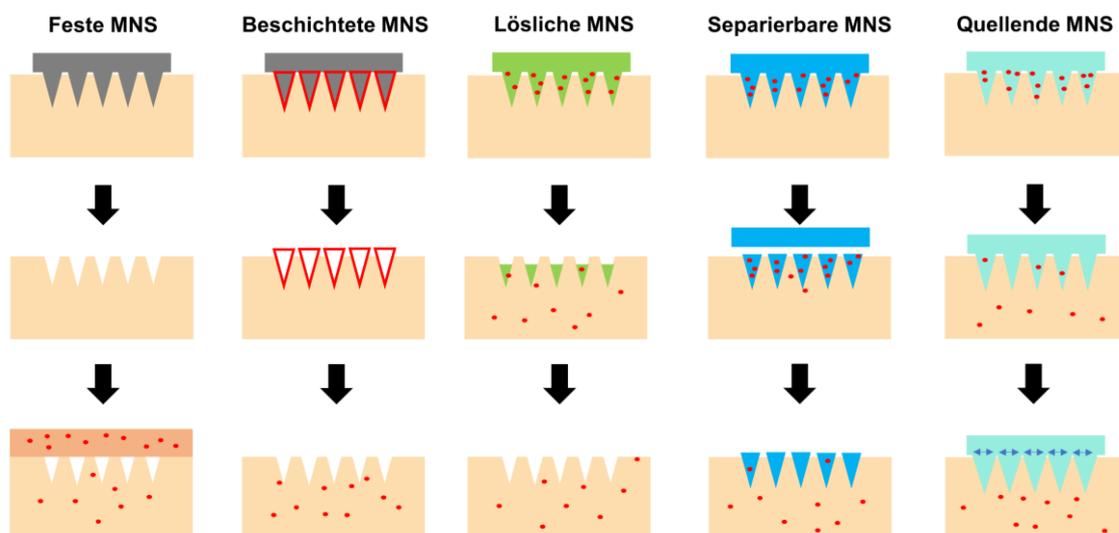


Abbildung 4: Schematischer Überblick über verschiedene Typen von MNS; modifiziert nach [81]

Die verschiedenen Arten von MNS, welche bislang hergestellt und charakterisiert wurden, werden in den folgenden Kapiteln ausführlicher beschrieben.

1.2.1. Solide Mikronadelsysteme

Als solide MNS werden MNS bezeichnet, welche sich nach Durchstechen der Haut nicht auflösen. Diese werden nach dem sogenannten „Poke and Patch“-Verfahren (PAP) angewendet (frei übersetzt „Durchstoßen und Aufkleben“) [82]. Die Mikronadeln enthalten selbst keinen AS und dienen lediglich zur Perforation des SC. Nach Durchstechen der Haut wird das MNS entfernt und eine AS-haltige Zubereitung oder ein klassisches Transdermalpflaster wird auf die perforierte Hautstelle aufgebracht [83]. Durch die vorherige Behandlung mit dem MNS entstehen mikrometer-große Poren in der Haut, welche die Durchlässigkeit des SC erhöhen.

Solide MNS können mittels verschiedener Techniken hergestellt werden. Die MNS können aus Edelstahl direkt geschnitten werden, wobei für die hochpräzisen Schnitte Lasertechniken verwendet werden [84]. MNS aus Silikon konnten mittels einer Kombination aus Lithographie und Ätzverfahren hergestellt werden [73]. Eine weitere Technik, welche in den letzten Jahren immer mehr an Bedeutung gewonnen hat, ist die Herstellung von MNS mittels 3-dimensionaler Druckverfahren. Dabei steht vor allem die Herstellung mittels Stereolithographie im Vordergrund, da diese Herstellungstechnik eine ausreichende Präzision für den Druck der einzelnen Nadeln bietet [85].

Auf diese Weise konnte bereits eine Vielzahl von AS und Modell-AS in-vitro die Hautbarriere überwinden. So konnten Proteine wie Albumin oder Insulin genauso wie Latex-Nanopartikel nach Behandlung mit soliden MNS transdermal appliziert werden [86]. Die verwendeten MNS bestanden dabei aus Silikon, welches sich durch eine gute Biokompatibilität auszeichnete. Weitere Studien zeigten, dass auch die transdermale Applikation von Oligonukleotiden mit Hilfe von soliden MNS möglich ist [87]. Dabei wurden die MNS aus Edelstahl hergestellt und die transdermale AS-Abgabe wurde deutlich erhöht im Vergleich zu klassischen Transdermalpflastern. In dieser Studie wurden die Oligonukleotide in einem Hydrogel aus Hydroxyethylcellulose inkorporiert. Des Weiteren wurde die Anwendung dieser MNS mit der Anwendung von Iontophorese kombiniert. Das zusätzliche Perforieren des SC konnte die transdermale AS-Abgabe um den Faktor 100 erhöhen im Vergleich zur alleinigen Anwendung von Iontophorese.

Insgesamt werden solide MNS bevorzugt aus Edelstahl oder Silikon hergestellt. Diese Substanzen zeichnen sich durch eine gute Verträglichkeit und Biokompatibilität aus [84]. Ein Vorteil der Anwendung dieser Art von MNS liegt darin begründet, dass hohe AS-Mengen appliziert werden können. Durch eine höhere AS-Beladung des Transdermalpflasters oder der

halbfesten Formulierung kann die Dosis leicht erhöht werden. Dies kann allerdings auch dazu führen, dass die applizierte AS-Menge nur schwierig einstellbar ist.

Des Weiteren wurden solide MNS auch aus Polymeren hergestellt, welche sich nach Durchstechen des SC nicht auflösen [88]. Dabei war der AS Granisetron in den Mikronadeln aus Acryl lokalisiert und die Applikation eines Transdermalpflasters oder einer AS-haltigen Zubereitung war nicht notwendig.

1.2.2. Beschichtete Mikronadelsysteme

Beschichtete MNS können aus den gleichen Materialien hergestellt werden wie solide MNS [81]. Dies bedeutet, dass das MNS aus einem unlöslichen Material besteht, welches in einem nachfolgenden Herstellungsschritt mit einem AS-haltigen Film überzogen wird. Die MNS werden vorwiegend aus Metall, Silikon oder unlöslichen Polymeren wie Acryl hergestellt [89-91]. Die Herstellungsmethoden der soliden MNS sind in Kapitel 1.2.1. beschrieben.

Anschließend erfolgt das Überziehen bzw. Beschichten der soliden MNS. Am häufigsten erfolgt die Herstellung von beschichteten MNS mittels Dip-Coating (Beschichten durch Eintauchen der Nadeln). Dabei werden die MNS in eine AS-haltige Beschichtungslösung getaucht und anschließend wieder aus dieser entfernt [92]. Dip-Coating stellt ein schnelles und kostengünstiges Herstellungsverfahren dar. Allerdings kann die Homogenität des Films auf den Mikronadeln nicht immer erreicht werden, sodass heutzutage bevorzugt andere Beschichtungsmethoden verwendet werden. Dazu zählen Gasstrahl-Trocknung, Sprühbeschichtung, oder elektrohydrodynamische Atomisierung [93, 94]. Eine weitere Möglichkeit, die soliden MNS mit einem AS-haltigen Film zu überziehen, ist die Verwendung von Tintenstrahldruck (TSD) [95]. Bei dieser Herstellungstechnik werden Picoliter-große Tropfen generiert und können präzise auf die einzelnen Mikronadeln aufgebracht werden. Dadurch ist eine schichtweise Befilmung der MNS möglich.

Als Überzugsmaterial können verschiedene, biokompatible Polymere wie Carmellose (CMC), Methylcellulose, Hyaluronsäure, Polyvinylalkohol (PVA) oder Povidon (PVP) verwendet werden [96-99]. Auf diese Weise kann zum Beispiel das Zytostatikum Bleomycin erfolgreich transdermal appliziert werden [91].

Der Vorteil einer Anwendung von beschichteten MNS im Vergleich zu soliden MNS liegt darin, dass die Dosierung besser steuerbar ist. Außerdem kann auf das Aufbringen eines klassischen Transdermalpflasters nach Applikation des MNS verzichtet werden. Durch Auswahl eines geeigneten Filmbildners für den Überzug kann das Dosierintervall und die Freisetzungsrate des AS variiert werden. Jedoch ist die AS-Beladung von beschichteten MNS stark limitiert. Die Dosis, welche mit einem einzelnen beschichteten MNS appliziert werden kann liegt

normalerweise im Bereich von lediglich 0,1 – 10 µg [100]. Damit ist die Anwendung auf die Applikation niedrigdosierter, das heißt hochpotenter, AS beschränkt.

1.2.3. Lösliche und bioabbaubare Mikronadelsysteme

Lösliche MNS bestehen aus Substanzen, welche sich nach Anwendung auflösen. Dabei handelt es sich oftmals um Polymere und Zucker, welche die Mikronadeln bilden. In diesen Matrices sind die AS gelöst oder dispergiert, sodass nach dem Auflösen die transdermale Applikation der AS erreicht wird.

Lösliche MNS werden aus Polymeren hergestellt, welche auch zur Herstellung von beschichteten MNS verwendet werden. Dazu gehören unter anderem Hyaluronsäure, PVP, PVA, CMC, Hypromellose (HPMC) und Methylvinylether-Maleinsäureanhydrid-Copolymere (PVME/MA) [101-104]. Um ein schnelles Auflösen der löslichen MNS in der Haut zu gewährleisten, werden hydrophile Polymere verwendet, welche zudem biokompatibel sind und eine geringe Toxizität aufweisen.

Die Herstellung von löslichen MNS erfolgt in den meisten Fällen durch das sogenannte Micromolding (Herstellung mittels Spritzguss). Dazu wird zunächst ein solides MNS aus Edelstahl hergestellt. Dieses dient als Leitstruktur für die Herstellung von Mikronadelnegativen aus Silikon [81]. Diese Silikonformen enthalten demnach mikrometer-große Kavitäten, welche im Anschluss mit einer polymerhaltigen Lösung befüllt werden. Die Kavitäten werden dabei durch das Anlegen von Überdruck oder durch Zentrifugation befüllt [105]. Anschließend werden die löslichen MNS getrocknet und können danach von dem Mikronadelnegativ separiert werden. Eine andere Möglichkeit zur Herstellung von löslichen MNS besteht darin, das Polymer zwischen zwei Platten zu schmelzen oder als Lösung tropfenförmig aufzutragen und anschließend die obere Platte nach oben zu ziehen [106]. Diese Herstellungsmethode ist aufgrund der zweifelhaften Reproduzierbarkeit kaum verbreitet. Des Weiteren können lösliche MNS durch Schmelzen des Polymers auf dem Mikronadelnegativ und Anlegen von Vakuum hergestellt werden oder die einzelnen Kavitäten werden durch Sprühabscheidung gefüllt [86, 107].

Die Dosierung kann durch Verwendung von löslichen MNS im Vergleich zu beschichteten MNS erhöht werden. Die gesamte Nadel besteht aus der AS-haltigen Polymerformulierung. Bei beschichteten MNS hingegen enthält lediglich der aufgebrauchte Film den AS. Ein weiterer Vorteil der Verwendung von löslichen MNS besteht darin, dass durch Variation des Polymers oder dessen Molekulargewichtes die Auflösungszeit variiert werden kann [108]. Dadurch kann die Applikationsfrequenz der MNS den patientenindividuellen Anforderungen angepasst werden. Des Weiteren können mit Hilfe der zuvor genannten Herstellungsmethoden mehrschichtige MNS hergestellt werden, bei denen der AS lediglich in der Nadelspitze

lokalisiert ist [109]. Mittels löslicher MNS konnte bereits eine Vielzahl von AS transdermal appliziert werden. Dazu zählen kleine AS-Moleküle wie Diclofenac [104] oder Makromoleküle wie Impfstoffe [100].

Eine Unterkategorie der löslichen MNS stellen bioabbaubare MNS dar. Die Herstellung erfolgt analog zu der Herstellung von löslichen MNS, allerdings werden in diesem Fall bioabbaubare Polymere wie Poly(lactid-co-glycolid) (PLGA) oder Polymilchsäure (PLA) verwendet [110, 111]. Durch die Verwendung dieser Polymere konnten therapeutische Dosen von AS über einen langen Zeitraum von bis zu 14 Tagen erfolgreich appliziert werden.

Die Verwendung von löslichen MNS eignet sich vor allem dafür, das Freisetzungsverhalten der AS aus den Mikronadeln zu verändern. Außerdem kann die AS-Beladung erhöht werden im Vergleich zu beschichteten MNS. Allerdings stellt die konventionelle Herstellung mittels Spritzguss-Verfahren auch Nachteile dar. Zwar ist diese Methode einfach handhabbar und zeitsparend, allerdings werden die Polymerlösungen in einem Überschuss auf die Mikronadelnegative aufgetragen. Dies dient der Sicherstellung, dass sämtliche Kavitäten gefüllt werden. Der Überschuss an Polymerlösung (und AS) wird dabei im Anschluss mit Hilfe eines Skalpell oder Kartenblattes abgekratzt, wobei ein Rest an AS in der DS des MNS verbleibt [81]. Dies resultiert zumeist in der unwirtschaftlichen Nutzung des AS. Außerdem kann mit diesen Methoden nicht kontrolliert werden, welche Kavitäten exakt mit der AS-haltigen Polymerlösung befüllt werden. Die Kombination von inkompatiblen AS innerhalb eines MNS ist mit diesen Herstellungsmethoden daher nicht möglich und auch die Dosiergenauigkeit zeigt gewisse Schwankungen.

1.2.4. Quellende Mikronadelsysteme

Durch die Verwendung von löslichen und bioabbaubaren MNS konnte die AS-Beladung, welche mit einem einzelnen MNS appliziert werden kann, vergrößert werden im Vergleich zu beschichteten MNS. Dennoch ist die AS-Menge pro MNS normalerweise auf weniger als 1 mg beschränkt [81]. Eine Möglichkeit, die AS-Beladung zu erhöhen stellen quellende MNS dar [112].

Quellende MNS werden aus Polymeren hergestellt, welche nach Insertion in die Haut Wasser aufnehmen und Hydrogele bilden. In der Folge schwellen die Nadeln an und bilden dadurch eine freisetzungskontrollierende Matrix für den AS. Aus diesem Grund ist die Porosität der hergestellten MNS von entscheidender Bedeutung, um eine gut kontrollierte transdermale Applikation zu gewährleisten [113]. Zur Herstellung von quellenden MNS werden normalerweise PMVE/MA oder PVA verwendet [114, 115]. Die Herstellung erfolgt dabei analog zur Herstellung von löslichen oder bioabbaubaren MNS mittels Spritzguss-Verfahrens. Im

Anschluss werden die Polymere jedoch mittels UV-Strahlung oder erhöhten Temperaturen von über 80 °C behandelt, um eine erfolgreiche Quervernetzung zu erreichen [112].

Die hergestellten Mikronadeln zeigen in der Regel ein Anschwellen um ca. 1000 % und es konnten bereits bis zu 1,8 mg Atorvastatin transdermal appliziert werden [116]. Wichtig ist dabei, dass der AS nicht in den Nadeln selbst lokalisiert ist. Normalerweise sind die Mikronadeln frei von AS und auf der DS der MNS ist ein AS-haltiges Reservoir aufgebracht. Die Mikronadeln selbst dienen also dem Durchstechen des SC und der Verbesserung der transdermalen Permeation.

1.2.5. Separierbare Mikronadelsysteme

In Abhängigkeit des verwendeten Polymers können die Auflösungszeiten des Überzuges von beschichteten MNS oder des Nadelkörpers von löslichen MNS mehrere Stunden oder sogar Tage betragen. Dies resultiert in langen Tragezeiten der MNS und kann von dem Patienten oder der Patientin als störend empfunden werden. Um diese Limitationen zu umgehen, können separierbare MNS eingesetzt werden [81].

Separierbare MNS bestehen in der Regel aus einer AS-haltigen Nadelspitze und einem stabilen Rückgrat, welches die mechanischen Eigenschaften der separierbaren MNS verbessert. Separierbare MNS sind so konzipiert, dass die Nadelspitze nach Durchstechen des SC schnell vom restlichen MNS separiert wird. Dadurch kann die Tragezeit im Vergleich zu löslichen und beschichteten MNS verkürzt werden und die transdermale AS-Abgabe dennoch sichergestellt werden.

Zur Herstellung der AS-haltigen Nadelspitze werden normalerweise dieselben Polymere verwendet, die auch für lösliche und bioabbaubare MNS verwendet werden. So wurden unter anderem separierbare MNS mit Nadelspitzen aus PLGA [117] oder einer Kombination aus PVP, PVA und Sucrose [118] hergestellt und erfolgreich transdermal appliziert. Durch die Auswahl des Polymers zur Herstellung der Nadelspitze kann die Applikationsdauer entsprechend angepasst werden.

Separierbare MNS werden mit Hilfe derselben Herstellungstechniken wie lösliche MNS und bioabbaubare MNS hergestellt. Vor allem die Herstellung mittels Spritzguss-Verfahrens, wie das Verwenden von Zentrifugationsmethoden, steht dabei im Mittelpunkt [118, 119]. Zunächst wird die Polymerlösung, welche den AS enthält und die Nadelspitze nach der Trocknung bilden soll, auf ein Mikronadelnegativ pipettiert. Das Mikronadelnegativ wird mittels der Zentrifugationsmethode gefüllt. Anschließend wird die Nadelspitze getrocknet, ehe die zweite Schicht aufgebracht wird.

Insgesamt stellen separierbare MNS also einen interessanten Ansatz dar, um die Therapietreue der Patienten zu gewährleisten. Der größte Vorteil dieser MNS liegt darin

begründet, dass die Applikationsfrequenz stark verringert werden kann. Es wurden bereits separierbare MNS hergestellt, welche mit Hilfe von PLGA-Nadelspitzen Levonorgestrel über einen Zeitraum von 60 Tagen erfolgreich in-vivo transdermal applizierten [119].

1.2.6. Hohle Mikronadelsysteme

Eine weitere Art von MNS stellen hohle MNS dar. Diese werden normalerweise aus den gleichen Materialien wie solide MNS hergestellt, wobei vor allem die Herstellung aus Edelstahl, Silikon und anderen Metallen im Vordergrund steht [120]. Anders als solide MNS sind hohle MNS von innen hohl. Nach Durchstechen des SC ermöglichen diese MNS eine transdermale Applikation von AS, indem eine AS-haltige Formulierung durch die hohlen MNS strömt [121]. Dies kann mit Hilfe des Anbringens von Druckes auf die AS-haltige Formulierung erreicht und verbessert werden [122].

Die Herstellung von hohlen MNS erfolgt mit Hilfe derselben Techniken wie die Herstellung von soliden MNS. Vor allem die Herstellung mittels Lithographie, Ätzverfahren und 3-dimensionalem Druck ist verbreitet und etabliert [120]. Der AS ist nicht in den hohlen MNS lokalisiert. Dadurch kann die applizierte AS-Menge deutlich erhöht werden im Vergleich zu beschichteten, löslichen, bioabbaubaren und separierbaren MNS.

Durch die Verwendung von hohlen MNS konnte bereits eine Vielzahl von AS in-vivo transdermal appliziert werden. Dazu zählen unter anderem Proteine wie Insulin [123] oder auch Impfstoffe [124].

1.3. Charakterisierung von Mikronadelsystemen

MNS stellen eine neuartige Arzneiform dar, welche bisweilen nicht auf dem Arzneimittelmarkt zugelassen wurde. Daher gibt es bisher keine offiziellen Monographien, die Charakterisierungsmöglichkeiten und Qualitätsattribute für MNS definieren. Aus diesem Grund wurden verschiedene Möglichkeiten in der Literatur beschrieben, welche die hergestellten MNS hinreichend charakterisieren sollen.

1.3.1. Visualisierung von Mikronadelsystemen

Zur Überprüfung der hergestellten MNS wird standardmäßig Lichtmikroskopie verwendet [113]. Dies stellt eine einfache Möglichkeit dar, die MNS visuell darzustellen und lässt sich zeitsparend durchführen. Durch Anwinkeln des Mikroskoptisches lassen sich MNS gut von der Seite mit Blick auf die Nadeln abbilden. Digitale Mikroskopie kann dabei jedoch nicht zur Visualisierung von sehr kurzen Mikronadeln verwendet werden. Das hinreichend präzise Vermessen einzelner Nadeln kann durch die Auflösung des verwendeten Mikroskops limitiert sein. In diesen Fällen stellt die Rasterelektronenmikroskopie einen geeigneten Ansatz dar, um diese Mikronadeln hochauflösend abzubilden [73]. Unter Verwendung von

Rasterelektronenmikroskopie konnten bereits einzelnen Mikronadeln mit einer Länge von lediglich 75 µm erfolgreich abgebildet und vermessen werden [73]. Außerdem können MNS auch mittels Optischer Kohärenztomographie vermessen werden [125]. Bei dieser Methode steht jedoch vor allem die Charakterisierung des Eindringverhaltens der Mikronadeln im Vordergrund (Kapitel 1.3.3.).

Die Visualisierung von MNS dient dem Zweck, die hergestellten MNS hinsichtlich ihrer Integrität zu charakterisieren. Durch die Bildgebung kann leicht überprüft werden, ob der Herstellungsprozess der MNS erfolgreich war. Außerdem können die einzelnen Mikronadeln optisch dargestellt werden. Dadurch lassen sich Aussagen zur Form der Mikronadeln treffen. Auf diese Weise können Materialien, welche zur Herstellung von MNS ungeeignet sind vor einer weiteren Charakterisierung bereits ausgeschlossen werden. Außerdem können die Mikronadeln mittels integrierter Software hinsichtlich der Länge beurteilt werden [101] und bei mehrschichtigen MNS ist es möglich, die erfolgreiche Trennung der verschiedenen Schichten zu visualisieren [109]. Allerdings lassen sich durch Verwendung von mikroskopischen Verfahren in der Regel keine Informationen über die Lokalisation der AS generieren.

Außerdem wurde bereits konfokale Raman Mikroskopie (KRM) als Möglichkeit beschrieben, MNS erfolgreich zu visualisieren [126]. Ein Vorteil, welcher durch KRM ermöglicht wird, ist die Visualisierung des AS innerhalb der Mikronadeln. Dadurch können Informationen gewonnen werden, ob der AS gleichmäßig in der Nadel dispergiert vorliegt.

Insgesamt ist die Visualisierung der hergestellten MNS die erste Charakterisierungsmöglichkeit, die durchgeführt werden sollte. Dadurch können bereits wichtige Informationen über die MNS gewonnen werden. Anhand der Ausbildung der Nadelgeometrie und insbesondere der Nadelspitze können bereits Hypothesen aufgestellt werden, ob die MNS den Anforderungen entsprechen.

1.3.2. Mechanische Eigenschaften

Ein wichtiges Qualitätsmerkmal von MNS stellen die mechanischen Eigenschaften dar. Die MNS müssen mechanisch ausreichend robust sein, um das SC erfolgreich zu durchstechen. Um ein Brechen der Mikronadeln während der Insertion zu verhindern, dürfen diese nicht zu spröde sein. Außerdem müssen die hergestellten MNS ausreichend stabil sein, um während des Verpackungs- und Transportprozesses intakt zu bleiben [127]. Allerdings dürfen die hergestellten MNS auch nicht zu weich sein, da sie sich ansonsten während der Applikation verbiegen. Beide Eigenschaften würden zu einer unzureichenden AS-Abgabe führen [81].

Es wurden bereits verschiedene Methoden etabliert, um die mechanische Stabilität von MNS zu evaluieren. Am häufigsten wird die relative Höhenreduktion (HR, in %) als Maß für die

mechanische Stabilität von MNS bestimmt [105, 128]. Dabei werden die MNS mit den Mikronadeln nach unten zeigend an einem beweglichen Stempel des Texture Analysers befestigt. Anschließend werden die Mikronadeln für 30 s mit einer Kraft von 32 N gegen die Metallplatte des Texture Analysers gepresst. Die Höhe der Mikronadeln wird vor und nach der Kompression bestimmt und die relative HR wird berechnet. Es konnte dabei für unterschiedliche Polymere gezeigt werden, dass eine prozentuale HR von $< 10\%$ ein Indiz für eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe sein kann [105, 129]. Bei diesem Test dürfen die Mikronadeln nicht brechen. Eine relative HR von $> 20\%$ kann indizieren, dass die Mikronadeln zu weich sind. Allerdings wurden bereits MNS mit einer HR von $> 20\%$ charakterisiert, welche dennoch eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe ermöglichten [102]. Die HR stellt demnach lediglich eine erste grobe Einschätzung der mechanischen Eigenschaften der MNS dar. Weitere Faktoren wie die Nadelgeometrie, die Nadellänge und die Applikationskraft spielen ebenfalls eine entscheidende Rolle während der Applikation [130].

Weitere Möglichkeiten, die mechanischen Eigenschaften von MNS zu charakterisieren, bestehen in der Messung der Bruchkraft der Mikronadeln [131] oder der Berechnung des Elastizitätsmoduls [132]. So wird beispielsweise ein Elastizitätsmodul von $< 3\text{ GPa}$ für Polymer-Mikronadeln als geeignet beschrieben, um zufriedenstellende mechanische Eigenschaften zu erreichen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die relative HR der MNS bestimmt. Die Durchführung ist Abbildung 77 zu entnehmen.

1.3.3. Insertionsverhalten

Eine weitere Möglichkeit, MNS zu charakterisieren, stellen verschiedene Methoden zur Untersuchung des Eindringverhaltens dar. Diese sollen dazu dienen, Informationen hinsichtlich eines erfolgreichen Durchstechens der Haut und einer hinreichenden Applikation zu generieren. Dabei wird die Insertion in verschiedene Membranen charakterisiert.

Meistens wird die Insertion in künstliche Hautmodelle untersucht, bevor das Eindringverhalten in tierische oder menschliche Haut charakterisiert wird. Dabei ist dabei die Verwendung von 8 Schichten Parafilm® M als künstliches Hautmodell weit verbreitet [133]. Es konnte in dieser Studie gezeigt werden, dass sich Parafilm® M nicht signifikant hinsichtlich der mechanischen Eigenschaften von Schweinehaut unterscheidet. Jede einzelne Schicht dieses Membranmodells weist eine Dicke von $127\ \mu\text{m}$ auf und es konnte gezeigt werden, dass mindestens zwei Schichten Parafilm® M durchstoßen werden müssen, um eine erfolgreiche Eindringtiefe in Haut zu gewährleisten [105, 128, 134]. Ein weiteres künstliches Hautmodell, welches hinsichtlich des Eindringverhaltens von MNS verwendet wird, ist Strat-M® [135]. Die Auswertung der Insertion kann mittels digitaler Mikroskopie erfolgen, indem die Löcher in jeder

Schicht der Hautmodelle gezählt werden. Eine weitere Möglichkeit besteht in der Verwendung von optischer Kohärenztomographie [125]. Das MNS penetriert in das Hautmodell oder die Haut und wird anschließend entfernt. Danach wird der behandelte Bereich mit einem Laser abgetastet und der reflektierte und gebrochene Lichtstrahl wird detektiert. Anhand der Brechungsindices wird in der Folge ein dreidimensionales Bild der Probe erstellt und ausgewertet. Mit dieser Methode kann die genaue Eindringtiefe der Mikronadeln bestimmt werden.

Auch wenn die Verwendung von künstlichen Hautmodellen geeignet ist, um erste Informationen hinsichtlich der Insertion von Mikronadeln zu gewinnen, sollte dennoch native Haut als Vergleich dienen. Nur auf diese Weise kann verifiziert werden, dass das SC der Haut erfolgreich durchstoßen wird. Zumeist wird zu diesem Zweck Schweine- oder Rattenhaut verwendet. Die erfolgreiche Insertion kann dabei mit Hilfe von wasserlöslichen Farbstoffen wie Methylblau nachgewiesen werden [136]. Das SC stellt eine lipophile Membran dar. Beim Durchstechen dieser Barriere bilden sich hydrophile Mikroporen, in welchen sich der Farbstoff anlagert. Nach Anfärben der Haut wird Methylblau von der unverletzten Haut leichter abgewaschen als aus den Poren. Die erfolgreiche Insertion in Haut wird durch die dunkler gefärbten Poren ersichtlich. Diese Methode gibt jedoch keinen Aufschluss über die Eindringtiefe der Mikronadeln in die Haut. Die Eindringtiefe von Mikronadeln in Haut kann durch Verwendung von optischer Kohärenztomographie bestimmt werden (s. oben) [125].

Im Rahmen dieser Arbeit wurde das Eindringverhalten der MNS sowohl in 8 Schichten Parafilm® M, als auch in Humanhaut untersucht. Dadurch sollten möglichst viele Informationen bzgl. einer potentiellen transdermalen Anwendung der MNS gewonnen werden.

1.3.4. Wirkstofffreisetzung

Wie bei anderen Arzneiformen auch, stellt die AS-Freisetzung aus der Arzneiform ein wichtiges Qualitätsmerkmal dar. Die AS-Freisetzung ist dabei maßgeblich mitverantwortlich für das pharmakokinetische Verhalten des AS und spielt eine entscheidende Rolle hinsichtlich der Applikationsdauer und -frequenz. Biopharmazeutisch lässt sich die Freisetzung des AS aus der Arzneiform durch das LADME-Modell beschreiben. Die Freisetzung bildet dabei den ersten Schritt, die Liberation (L), ab und ist essentiell für die Entfaltung einer pharmakologischen Wirkung. Anschließend wird der AS absorbiert (A) und im Körper über das Blutssystem verteilt (D). In der Folge kann der AS im Körper metabolisiert (M) und ausgeschieden (Exkretion, E) werden.

Es wurden verschiedene Methoden beschrieben, um die AS-Freisetzung aus MNS zu charakterisieren. Eng verbunden ist die Auflösung der Mikronadeln mit der Freisetzung bei löslichen MNS. Deshalb wird oftmals initial die Auflösungszeit der Mikronadeln in flüssigen

Medien oder direkt in Haut bestimmt [102, 108]. Dazu werden die Mikronadeln in Haut gestochen. Anschließend werden die Nadeln mittels Mikroskopie analysiert. Allerdings ermöglicht diese Methode keine Quantifizierung des freigesetzten AS, sondern beurteilt lediglich das Auflösungsverhalten der Arzneiform in der Haut.

Aus diesem Grund wurden andere Methoden entwickelt, um die AS-Freisetzung aus MNS zu untersuchen. So kann die AS-Freisetzung aus MNS analog zu anderen Arzneiformen bestimmt werden. Dazu werden die MNS in phosphatgepufferte Salzlösung (PBS) mit einem pH-Wert von 7,4 eingebracht und zu bestimmten Zeitpunkten werden Proben gezogen [137]. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, dass diese Methode keine physiologischen Bedingungen abbildet. Das Volumen, welches für Freisetzungsuntersuchungen verwendet wird, ist zumeist deutlich größer, als das Flüssigkeitsvolumen in der menschlichen Haut. Daher geben solche Freisetzungsuntersuchungen keinen Aufschluss über die erwartete pharmakologische Wirkung. Jedoch stellt die Charakterisierung der AS-Freisetzung einen wichtigen Bestandteil im Rahmen der Qualitätskontrolle dar.

Eine weitere Methode ist die ex-vivo Hautdeposition von AS. Dabei werden die MNS in Human- oder Schweinehaut appliziert und zu bestimmten Zeitpunkten wird die Hautprobe gewaschen und der AS-Gehalt in der Haut quantifiziert [138]. Durch diese Methode kann auch bestimmt werden, zu welchem Zeitpunkt wieviel AS in welcher Schicht der Haut lokalisiert ist. Allerdings gibt auch diese Methode keinerlei Auskunft darüber, ob der AS erfolgreich transdermal appliziert werden kann. Damit der AS erfolgreich transdermal appliziert werden kann, muss dieser in den Blutgefäßen in der Dermis absorbiert werden (s. oben).

1.3.5. Wirkstoffpermeation

Die Untersuchung der AS-Freisetzung stellt eine geeignete Methode dar, um Informationen über die Anwendbarkeit von MNS zu erlangen. Dabei können erste Vermutungen bzgl. der Pharmakokinetik gewonnen werden. Jedoch können mit Hilfe der Charakterisierung der AS-Freisetzung keinerlei Informationen generiert werden, ob der AS die Hautbarriere erfolgreich mittels MNS überwinden kann. Auch reicht nicht der alleinige Beweis, ob MNS das SC durchstechen können, aus, um eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe zu verifizieren. Der AS muss darüber hinaus die weiteren Schichten der Epidermis überwinden können, damit eine erfolgreiche Absorption in der Dermis stattfinden kann. Dabei spielen vor allem die physikochemischen Eigenschaften des AS eine wichtige Rolle [139]. Aus diesem Grund werden standardmäßig Permeationsuntersuchungen durchgeführt. Anhand der AS-Permeation können valide Informationen gewonnen werden, ob AS die gesamte Epidermis erfolgreich überwinden können.

In der Literatur wird die AS-Permeation mit Hilfe von Franz-Diffusionszellen charakterisiert [114, 140]. Auch können Kerski-Zellen als waagerechte Variation von Franz-Diffusionszellen verwendet werden, um das Potential von AS, Hautschichten überwinden zu können, zu charakterisieren [141]. Franz-Diffusionszellen bestehen dabei aus einem Donor- und einem Akzeptorkompartiment. Diese beiden Kompartimente sind räumlich voneinander getrennt durch eine Membran, welche von der Donorseite aus mit dem MNS angestochen wird. Wichtig dabei ist, dass die Membran nicht vollständig von den Nadeln durchstoßen wird, weshalb Membranen verwendet werden sollten, welche mindestens so dick sind, wie die Länge der Mikronadeln. Im Akzeptorkompartiment ist das Akzeptormedium lokalisiert. Bei diesem Medium handelt es sich in der Regel um PBS mit einem pH-Wert von 7,4. Als Membran können künstliche Hautmodelle verwendet werden [135], jedoch ist die Verwendung von Schweinehaut weiter verbreitet [112, 142]. Zum Teil wird auch Humanhaut verwendet, da diese für eine in-vitro Charakterisierung der transdermalen AS-Abgabe am realistischsten ist [143].

Insgesamt stellt die Untersuchung der AS-Permeation mit Hilfe von Franz-Diffusionszellen den realistischsten Ansatz dar, um die transdermale AS-Abgabe in-vitro zu charakterisieren. Allerdings muss beachtet werden, dass die Epidermis der verwendeten Haut intakt bleibt und die darunterliegende Dermis ebenfalls verwendet wird. Auf diese Weise kann davon ausgegangen werden, dass AS, welche die Epidermis und Dermis überwinden, in den Blutgefäßen absorbiert werden können und im Folgenden einen pharmakologischen Effekt ausüben können. Des Weiteren muss bedacht werden, dass die eingesetzten Volumina von 5 – 12 ml im Akzeptorkompartiment der Franz-Diffusionszellen nicht vergleichbar sind mit den Volumina der subkutanen Flüssigkeit im menschlichen Körper [144, 145]. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die AS-Permeation der hergestellten MNS mittels Franz-Diffusionszellen untersucht, wobei Humanhaut als Permeationsmembran verwendet wurde.

1.3.6. In-vivo Untersuchungen

Auch wenn die Verwendung von Franz-Diffusionszellen eine wichtige Möglichkeit darstellt, um die transdermale AS-Abgabe von MNS zu charakterisieren, kann dadurch nicht die Pharmakokinetik des AS vollständig beschrieben werden. Diese Methode stellt lediglich einen in-vitro Test dar, welche zum Beispiel für die spätere Qualitätskontrolle der MNS verwendet werden könnte.

Die wirkliche transdermale AS-Abgabe, sowie die schmerzfreie Applikation und die Applikationsdauer der MNS kann nur mit Hilfe von in-vivo Untersuchungen bestimmt werden. Dazu werden in präklinischen Studien Tierversuche durchgeführt. Als Tiermodell hat sich in diesem Fall vor allem die Verwendung von in-vivo Rattenmodellen etabliert [123, 146]. Auf diese Weise konnte erfolgreich demonstriert werden, dass eine AS-Applikation mit Hilfe von MNS möglich ist. Dies wurde für verschiedene Substanzklassen wie Proteine [123], kleinere

AS-Moleküle [146] und auch DNA [140] gezeigt. Es konnten MNS hergestellt werden, welche ein ähnliches Plasmaprofil von Rilpivirin aufwiesen verglichen mit einer intramuskulären Injektion [144]. Dies bedeutet, dass MNS eine realistische Alternative zu herkömmlichen parenteralen Arzneiformen darstellen könnten.

Allerdings muss ebenfalls erwähnt werden, dass es bislang kein zugelassenes Arzneimittel gibt, welches den AS mit Hilfe von MNS appliziert. Es wurden jedoch bereits erste Humanstudien begonnen und erfolgreich abgeschlossen. Eine Übersicht über gestartete und aktuelle klinische Humanstudien wurde von Kang et al. [81] in einem Review-Artikel zusammengefasst. Zum Beispiel wird Abaloparatid in einer Phase-II-Studie hinsichtlich der Therapiemöglichkeit postmenopausaler Osteoporose mittels beschichteter MNS untersucht. Besonders verheißungsvoll ist außerdem die laufende klinische Studie der australischen Firma Vaxxas. Dabei soll die erfolgreiche Immunisierung gegen Influenza-Viren mit einem beschichteten MNS erreicht werden.

In-vivo Untersuchungen sind demnach essentiell für die vollständige Bewertung der MNS. In der jüngeren Vergangenheit wurden zunehmend klinische Studien begonnen. Allerdings ist weiterhin weltweit kein Marktprodukt verfügbar und zugelassen.

1.4. Tintenstrahldruck

1.4.1. Prinzip

Beim Tintenstrahldruck (TSD) handelt es sich um ein Verfahren, welches zum Verdrucken von flüssigen Tintenzubereitungen (TZ) geeignet ist [147]. Beim TSD werden Tropfen generiert, welche typischerweise wenige μm im Durchmesser groß sind – dies entspricht einem Volumen von wenigen Picolitern [148]. TSD stellt heutzutage eine wichtige Technik in der Textil- und Leiterbahntechnik dar. Durch das geringe Tropfenvolumen können hochpräzise Leiterbahnen auf verschiedene Materialien gedruckt werden [149], sodass diese Herstellungstechnik unter anderem in der Solarpanel-Industrie und auch in der Personalisierung von Arzneiformen eine zunehmend bedeutende Rolle spielt [150-152].

Der TSD lässt sich hinsichtlich der Generierung der Tropfen in zwei Unterkategorien unterteilen. So wird zwischen kontinuierlichem TSD und drop-on-demand TSD (DOD, deutsch etwa „Tropfen auf Anforderung“) unterschieden [147]. Der kontinuierliche TSD generiert dabei einen kontinuierlichen Strom der Flüssigkeit, welcher durch die Rayleigh-Instabilität, hervorgerufen durch das Anlegen von Luftdruck, nach Verlassen der Düse in die einzelnen Tropfen zerrissen wird [153]. Die generierten Tropfen werden mit Hilfe von elektrischen Felder abgelenkt, damit die Flugbahn der Tropfen kontrolliert werden kann. Allerdings werden beim kontinuierlichen TSD durchgehend Tropfen gedruckt. Dies kann zu einer unwirtschaftlichen Nutzung der TZ führen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde mit einem piezoelektrischen DOD Drucker gearbeitet. Durch Anlegen einer Spannung am Piezokristall in dem Druckkopf wurde die Tropfenbildung initiiert. Dabei musste bedacht werden, dass sowohl die angelegte Spannung, als auch die Wellenform der Aktivierungsspannung einen Einfluss auf das gedruckte Tropfenvolumen und die Geschwindigkeit der Tropfen hatten [154].

Das Prinzip der Tropfenerzeugung beim DOD unterscheidet sich entscheidend von der Tropfengenerierung beim kontinuierlichen TSD. Beim DOD wird ein statischer Gegendruck an ein Reservoir angelegt, in welchem die TZ eingefüllt ist. In dem Tintenreservoir wird ein Druckimpuls generiert, welcher die Tropfenformation ermöglicht. Überschreitet dabei der Druck einen bestimmten Schwellenwert, wird ein Tropfen gedruckt [147]. Durch die Oberflächenspannung (σ) der TZ wird die TZ in der Düse verbleiben, sollte kein Druckimpuls ausgelöst werden. Dadurch wird immer genau ein Tropfen nach dem anderen generiert und die Tropfen werden durch horizontale und vertikale Bewegung des Druckkopfes an der benötigten Stelle deponiert. Die Erzeugung des Druckimpulses kann dabei durch Erwärmen der TZ (thermisches DOD) oder durch Anlegen einer Spannung an einem piezoelektrischen Kristall (piezoelektrisches DOD) erfolgen [155, 156].

1.4.2. Tintenstrahldruck in der Pharmazie

TSD wurde bereits zur Herstellung verschiedener Arzneiformen verwendet. Dazu gehören unter anderem orodispersible Filme, Filme zur bukkalen Anwendung, Tabletten, Kapseln und Pflaster [150, 151, 157, 158]. Die Herstellung und Charakterisierung der genannten Arzneiformen ist bisweilen auf die Forschung und Entwicklung beschränkt und dem Arzneimittelmarkt steht keine Arzneiform zur Verfügung, welche mittels TSD hergestellt wurde.

Vor allem in der personalisierten Arzneimitteltherapie kann die Herstellung der Arzneiformen mit Hilfe von TSD eine große Bereicherung darstellen. Durch das geringe Tropfenvolumen ist eine sehr präzise Dosiseinstellung möglich, sodass individuelle Dosierungen durch Anpassung der gedruckten Tropfenanzahl generiert werden können. So wurde beispielsweise die Herstellung von AS-haltigen Pflastern mit dem AS Prednisolon mittels TSD beschrieben [150]. Diese Herstellungstechnik könnte in Zukunft die Therapie der Psoriasis verbessern und eine personalisierte Arzneimitteltherapie betroffener Hautareale ermöglichen. Zumeist wird der AS in der TZ gelöst und anschließend auf eine Trägersubstanz gedruckt, welche in der Folge die Arzneiform bildet. Vor allem für orodispersible Filme wurde die Herstellung mittels Drucktechnologie in der Vergangenheit charakterisiert und etabliert [151, 152].

Als TZ werden in der Regel Lösungen verwendet, da Suspensionen den Druckkopf leicht verstopfen können. Der Düsendurchmesser beim TSD beträgt normalerweise wenige μm [147], sodass Schwebstoffe, welche größer als der Düsendurchmesser sind, die Düsen

verstopfen und den Herstellungsprozess verhindern oder erschweren. Als Lösungsmittel (LM) können organische LM oder auch wässrige Flüssigkeiten verwendet werden. Bei Verwendung von organischen LM kann jedoch eine Rückstandprüfung erforderlich sein.

Es wurde jedoch auch bereits erfolgreich gezeigt, dass Nanopartikel zur pharmazeutischen Nutzung mittels TSD verdruckt werden können [159]. Dadurch kann beispielsweise das Freisetzungsverhalten der Arzneiform den gewünschten Anforderungen entsprechend angepasst werden.

Eine einzelne Studie beschrieb außerdem die Herstellung von löslichen MNS mittels TSD [160]. Dabei wurden lediglich einzelne Mikronadeln hergestellt. Im Hinblick auf Mikronadeln ist die Herstellung von beschichteten MNS weiterverbreitet. Dabei wird der AS-haltige Überzug mittels TSD auf solide MNS aufgebracht [161].

1.4.3. Charakterisierung von Tintenformulierungen

TZ, welche erfolgreich mittels TSD verdruckt werden können, müssen einige kritische Qualitätsattribute erfüllen. Nicht jede flüssige TZ ist automatisch für den Druckprozess geeignet. Vor allem die physikochemischen Eigenschaften der TZ spielen eine wichtige Rolle und beeinflussen das Druckverhalten maßgeblich. Dabei sind vor allem die dynamische Viskosität (η), die σ und die Dichte (ρ) der TZ zu nennen [162]. Da diese drei Eigenschaften der TZ maßgeblich von der Temperatur des Druckkopfes beeinflusst werden, sollte diese zudem stetig kontrolliert werden, damit ein reproduzierbarer Druckprozess ermöglicht wird. Des Weiteren haben die Viskoelastizität und der verwendete Düsendurchmesser des Druckkopfes einen erheblichen Einfluss auf die Verdruckbarkeit einer TZ.

Falls die σ der TZ zu hoch ist, kann es zu einer schlechten Benetzbarkeit des Druckkopfes kommen. Als Folge dessen können sich Luftblasen im Druckkopf bilden, welche zu einem inkonstanten Druckprozess führen können. Das Volumen der gedruckten Tropfen kann stark variieren. Dies würde vor allem für den pharmazeutisch verwendeten TSD gravierende Folgen haben, da eine adäquate Dosiergenauigkeit nicht mehr gegeben ist.

Falls die verwendete TZ eine zu hohe η aufweist, kann die TZ nicht mehr gedruckt werden [163]. Die Kraft, welche durch den piezoelektrischen Kristall zur Tropfenbildung aufgebracht werden muss, reicht in diesem Fall nicht aus, um Tropfen zu drucken. In der Folge verstopfen die Düsen des Druckkopfes.

Es wurden verschiedene Berechnungen etabliert, welche die Verdruckbarkeit von TZ im Voraus anhand der physikochemischen Eigenschaften einordnen sollen. Des Weiteren soll eine Vergleichbarkeit der TZ beim Verdrucken mit unterschiedlichen Druckköpfen mit unterschiedlichen Düsendurchmessern und Druckern ermöglicht werden. Dazu zählen unter anderem dimensionslose Kennzahlen wie die Reynolds-Zahl (Re , Gleichung 1), die Weber-

Zahl (We , Gleichung 2) und die Ohnesorge-Zahl (Oh , Gleichung 3) [164]. Die Berechnung dieser ist den jeweiligen Gleichungen zu entnehmen.

Gleichung 1:
$$Re = \frac{v * \rho * d}{\eta}$$

Gleichung 2:
$$We = \frac{v^2 * \rho * d}{\sigma}$$

Gleichung 3:
$$Oh = \frac{\sqrt{We}}{Re} = \frac{\eta}{(\sigma * \rho * d)^{\frac{1}{2}}}$$

Dabei ist v die Geschwindigkeit der Tropfen und d der Durchmesser der verwendeten Düse für den TSD. Dementsprechend kann anhand dieser dimensionslosen Kennzahlen erklärt werden, dass die zuvor genannten physikochemischen Eigenschaften einen großen Einfluss auf das Verhalten der TZ während des TSD haben. Die dimensionslosen Kennzahlen lassen sich ineinander umrechnen. Während Re sich auf die Viskosität der verdruckten TZ fokussiert, bezieht We die Oberflächenspannung der TZ mit ein. Diese beiden Kennzahlen werden zusammengefasst ausgedrückt durch Oh . Oh bezieht sich demnach sowohl auf die Viskosität, als auch auf die Oberflächenspannung der TZ.

In der Literatur werden diese drei Kennzahlen heute weniger verwendet. Hauptsächlich wird die dimensionslose Z -Zahl zur Charakterisierung von TZ für den TSD herangezogen [165]. Diese berechnet sich aus dem Kehrwert der Ohnesorge-Zahl und berücksichtigt demnach die Viskosität, die Oberflächenspannung und die Dichte der TZ. Die Berechnung der Z -Zahl ist der Gleichung 4 zu entnehmen.

Gleichung 4:
$$Z = \frac{1}{OH} = \frac{Re}{\sqrt{We}} = \frac{\sqrt{\sigma * \rho * d}}{\eta}$$

Im Laufe der Zeit wurden verschiedene Zahlenwerte für Z als geeignet für den TSD charakterisiert, jedoch hat sich im Allgemeinen ein Bereich von $1 < Z < 10$ etabliert [166]. Z -Zahlen kleiner als 1 indizieren dabei TZ, welche zu viskos sind, um verdruckt zu werden. Dies wird in der Gleichung ausgedrückt, wenn der Term $\sqrt{\sigma * \rho * d}$ kleiner als die Viskosität η ist. Z -Zahlen größer als 10 hingegen beschreiben TZ, welche während des Druckprozesses in kleinere Satellitotropfen separiert werden. Satellitotropfen sind Tropfen, welche sich vom größeren Haupttropfen abtrennen. Die Bildung von Satellitotropfen resultiert zumeist in einer verschlechterten Auflösung des Druckbildes, da die genaue Positionierung der Tropfen erschwert wird.

Damit TZ mittels TSD verdruckbar sind, werden diesen verschiedene Hilfsstoffe hinzugegeben. Eine wichtige Rolle spielen Tenside, welche die σ herabsetzen [167]. Dadurch wird eine bessere Benetzung der Düsen des Druckkopfes ermöglicht und der Druckprozess kann stabilisiert werden. Außerdem werden häufig viskositätserhöhende Substanzen

verwendet, um die Z-Zahl anzupassen und damit einen konstanten und präzisen Druckprozess zu ermöglichen.

Insgesamt kann die Bestimmung der physikochemischen Eigenschaften der TZ und die nachfolgende Berechnung der Z-Zahlen zeit- und kostensparend für den weiteren Charakterisierungsprozess von TZ sein. Aus diesem Grund wurden TZ, welche in dieser Arbeit verwendet wurden, immer zunächst hinsichtlich der Z-Zahl charakterisiert. Anhand dieser dimensionslosen Kennzahl wurden anschließend die am besten geeigneten TZ ausgewählt und hinsichtlich der Herstellung von MNS mittels TSD charakterisiert.

Die in dieser Arbeit verwendeten TZ zur Herstellung von löslichen und bioabbaubaren MNS mussten dabei weitere kritische Qualitätsattribute erfüllen. Vor allem sollte der verwendete Polymergehalt in den TZ ausreichend hoch sein, damit die Mikronadeln im Anschluss an die Trocknung eine gering ausgeprägte Volumenkontraktion aufwiesen. Außerdem sollten Polymere verwendet werden, welche bereits aus anderen Arzneiformen bekannt sind und dementsprechend biokompatibel mit dem menschlichen Körper sind.

1.5. Modellarzneistoffe

Im Rahmen der Herstellung und Charakterisierung der MNS wurden in dieser Arbeit Lisinopril, hier als Dihydrat (LIS), und Ibuprofen als freie Säure (IBU) als Modellarzneistoffe verwendet.

1.5.1. Lisinopril-Dihydrat

LIS wird zur Behandlung von Bluthochdruck, koronarer Herzkrankheit und Herzinsuffizienz angewendet [168]. Die Wirkung von LIS wird erzielt, indem das Angiotensin-konvertierende Enzym gehemmt wird. Dadurch wird die Umwandlung von Angiotensin-I in Angiotensin-II gehemmt. Angiotensin-II vermittelt vasokonstriktive Effekte und führt unter anderem zu einem Blutdruckanstieg. Durch Hemmung der Bildung von Angiotensin-II wird ein vasodilatatorischer Effekt erzielt und in Folge sinken die Vor- und Nachlast des Herzens. Des Weiteren wird der Abbau des vasokonstriktorischen Mediators Bradykinin gehemmt.

LIS wird in der Pharmakotherapie der genannten Erkrankungen in einer Dosierung von 20 – 80 mg peroral appliziert. Im Rahmen dieser Arbeit diente LIS als Modell-AS, der in keiner pharmakologisch relevanter Dosis oder Therapieabsicht verwendet wurde. LIS sollte als wasserlöslicher peptidomimetischer Modell-AS verwendet werden, da er strukturell ein Tripeptid aus den Aminosäuren (S)-Prolin, (S)-Lysin und (S)-Phenylalanin ist. Die Struktur von LIS ist der Abbildung 5 A zu entnehmen. Peptide stellen eine relevante Stoffgruppe für die transdermale AS-Applikation mittels MNS dar. Die Wasserlöslichkeit von LIS beträgt 97 mg/ml bei Raumtemperatur. Strukturell lässt sich die gute Wasserlöslichkeit von LIS aufgrund vorhandener Carboxyl- und Aminogruppen erklären (Abbildung 5 A). In Abhängigkeit des pH-Wertes kann LIS geladen vorliegen und weist daher eine gute Wasserlöslichkeit auf. Der

Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient von LIS beträgt -1,1, welches seine hydrophilen Eigenschaften unterstreicht.

Des Weiteren beträgt das Molekulargewicht von LIS 405,5 Da. Wie bereits in den vorherigen Kapiteln dieser Arbeit erläutert, sind diese Moleküleigenschaften ungeeignet, um LIS erfolgreich mittels Transdermalpflastern zu applizieren. Daher wurde LIS als Modell-AS verwendet, um zu zeigen, dass lösliche MNS dennoch eine transdermale Applikation ungeeigneter AS ermöglichen können.

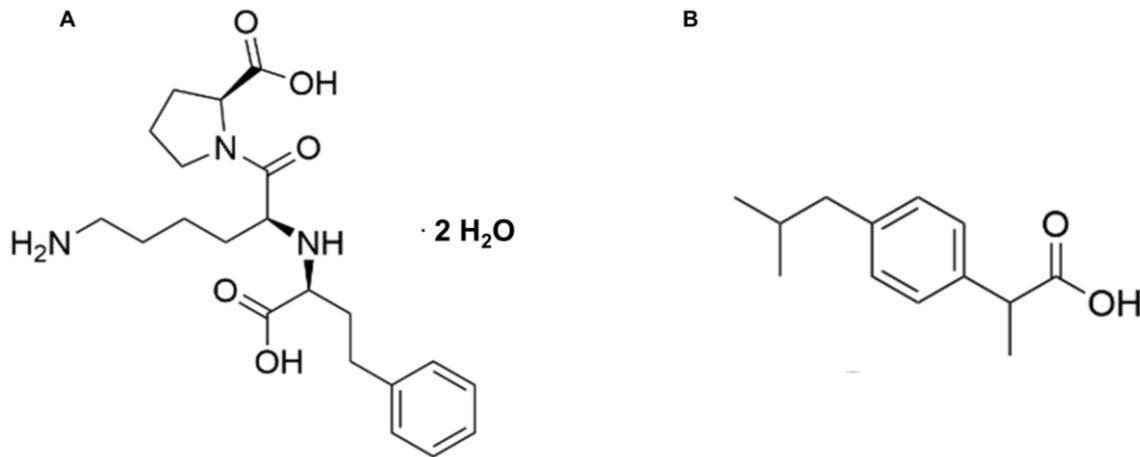


Abbildung 5: Strukturformeln der Modell-AS LIS (A) und IBU (B)

1.5.2. Ibuprofen

Als weiterer Modell-AS wurde im Rahmen dieser Arbeit IBU als schwerlösliche Säure verwendet. IBU wird zur Behandlung von Schmerzen, Fieber und entzündlichen Erkrankungen in Dosierungen von 200 – 800 mg eingesetzt [169]. Dabei erfolgt die Applikation normalerweise peroral.

Die Wirkung von IBU wird durch die Hemmung des Enzyms Cyclooxygenase erzielt. Dadurch wird die Bildung von entzündungsfördernden Mediatoren (Prostaglandinen) gehemmt und eine analgetische, antipyretische und antientzündliche Wirkung bewirkt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde IBU ohne Therapieabsicht in Dosierungen verwendet, welche keinen relevanten pharmakologischen Effekt auslösen. IBU diente lediglich als Modell-AS für hochpotente AS, für welche die transdermale Applikation mittels MNS sinnvoll ist. IBU wurde in MNS mit verlängerter AS-Freisetzung als Modell-AS verwendet. IBU wurde dabei als Modell-AS mit einer deutlich geringeren Wasserlöslichkeit als LIS verwendet. Die Löslichkeit von IBU beträgt bei Raumtemperatur 21 µg/ml in Wasser mit einem pH-Wert von 7,0. Die Löslichkeit von IBU ist aufgrund der Säurefunktion vom pH-Wert des verwendeten Mediums abhängig. Dies ist durch das lipophile Grundgerüst, bestehend aus dem Isobutylphenyl- und Propionsäurerest, zu erklären. Die Struktur von IBU ist der Abbildung 5 B zu entnehmen.

2. Zielsetzung der Arbeit

Die transdermale Applikation von AS bietet verschiedene Vorteile verglichen mit der peroralen und parenteralen AS-Gabe. Die Limitationen klassischer Transdermalpflaster aufgrund der Moleküleigenschaften der AS wie Molekülgröße und Hydrophilie können durch Verwendung von MNS überwunden werden. Des Weiteren kann die Verwendung von MNS die Therapietreue erhöhen verglichen mit der parenteralen AS-Gabe. Mikronadeln sind zu kurz, um Nervenfasern zu erreichen und eignen sich daher für eine schmerzfreie Applikation. Trotzdem sind Mikronadeln lang genug, um eine intradermale Applikation zu ermöglichen unter Umgehung der Barrierefunktion der Epidermis der Haut. Somit können AS direkt das Blutgefäßsystem erreichen und stehen in der Folge für eine systemische Wirkung zur Verfügung.

Lösliche MNS werden hauptsächlich mittels sogenannter Spritzguss-Verfahren hergestellt. Dabei wird eine AS-haltige Polymerlösung auf ein Mikronadelnegativ aufgetragen und die Polymerlösung wird mittels Anlegen von Zentrifugation oder Überdruck in die mikrometergroßen Kavitäten gefüllt. Durch diese Herstellungsmethode kann jedoch nicht genau bestimmt werden, welche Kavitäten gefüllt oder ausgelassen werden. Außerdem kann die Füllhöhe der Kavitäten nicht individuell variiert werden. Dementsprechend eignen sich diese Herstellungsmethoden nicht für die Kombination mehrerer, inkompatibler AS in einem MNS.

Ziel dieser Arbeit ist die Herstellung und Charakterisierung von löslichen, bioabbaubaren und soliden MNS. Dabei steht vor allem die Herstellung von MNS mittels Tintenstrahldruckes (TSD) im Vordergrund. Die Herstellung von MNS mittels TSD soll hinsichtlich der Eignung in der personalisierten Arzneimitteltherapie charakterisiert werden und als mögliche Alternative zur konventionellen Herstellung mittels Spritzguss-Verfahrens.

Zu diesem Zweck wird die Arbeit in fünf Arbeitspakete eingeteilt. Zunächst sollen verschiedene Polymere zwecks einer Herstellung von löslichen MNS charakterisiert werden. Dabei soll insbesondere ein Fokus auf den Einfluss der Art und Konzentration des verwendeten Weichmachers auf die mechanischen Eigenschaften gelegt werden. Bisweilen fehlt in der Fachliteratur eine Übersichtsarbeit, welche wasserlöslichen Polymere für die Herstellung von MNS geeignet sind und welche Eigenschaften diese Polymere hinsichtlich der mechanischen Eigenschaften aufweisen. Es ist bekannt, dass einigen Polymeren Weichmacher in verschiedenen Konzentrationen hinzugesetzt werden müssen, um geeignete mechanische Eigenschaften für das Eindringen in die Haut zu erreichen. Allerdings wird in der Regel kein systematischer Ansatz verfolgt, welche Weichmacher sich für welches Polymer eignen. Dieses Kapitel kann demnach als Leitfaden verstanden werden, um die Formulierungsentwicklung von löslichen MNS zu erleichtern.

Die anderen vier Arbeitspakete sollen sich hingegen mit der Herstellung von MNS mittels TSD beschäftigen. In einem ersten Teil soll eine Tintenzubereitung für die Herstellung von löslichen MNS entwickelt werden. Die mittels TSD hergestellten MNS sollen im Anschluss charakterisiert und mit konventionell hergestellten MNS verglichen werden. Anschließend soll noch die neu etablierte Herstellungsmethode des TSD mit einer konventionell genutzten Zentrifugationsmethode kombiniert werden. Dies soll hinsichtlich einer Eignung zur Herstellung von mehrschichtigen MNS dienen. Ebenso sollen auf diese Weise lösliche und unlösliche Mikronadeln aus unterschiedlichen Polymeren mit verschiedenen AS räumlich separiert in einem MNS kombiniert werden. Dies soll die Inkorporation von inkompatiblen AS in einem MNS ermöglichen. Zuletzt soll das Prinzip der Herstellung von MNS mittels TSD auf bioabbaubare MNS übertragen werden.

Insgesamt sollten die hergestellten MNS unter Zuhilfenahme diverser Methoden charakterisiert und beurteilt werden. Dazu gehören die optische Beschaffenheit, mechanische Stabilität, das Insertionsverhalten, die AS-Freisetzung und -Permeation der MNS. Außerdem soll KRM hinsichtlich einer Eignung von in-line Gehaltsbestimmungen von mehrschichtigen Mikronadeln im Rahmen der Qualitätskontrolle evaluiert werden.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1. Einfluss der Weichmacher-Konzentration auf die mechanischen Eigenschaften von löslichen Mikronadelsystemen

3.1.1. Hintergrund

Es wurden bereits verschiedene Polymere zur Herstellung von löslichen MNS charakterisiert. Unter anderem war die Herstellung von MNS aus PVP [170], Hyprolose (HPC) [171], Hypromellose (HPMC) [172], Pullulan (PUL) [79] und Hyaluronsäure [173] möglich. Auch die Herstellung von MNS aus Co-Polymeren [112] und physikalischen Mischungen der genannten Polymere [174] wurde erfolgreich beschrieben und etabliert. Für eine erfolgreiche transdermale AS-abgabe sind dabei v.a. die mechanischen Eigenschaften der MNS von entscheidender Bedeutung. Die Mikronadeln müssen ausreichend stabil sein, damit sie das SC perforieren können. Weiche Polymernadeln verbiegen während des Applikationsprozesses, ohne das SC zu durchstechen und eignen sich somit nicht für eine transdermale AS-Abgabe mittels MNS. Auf der anderen Seite wurden auch MNS aus spröden Polymeren wie PVP hergestellt. Diese MNS bergen oft das Risiko, dass die Mikronadeln während des Applikationsprozesses brechen ohne das SC erfolgreich zu perforieren. Auf diese Weise ist ebenfalls eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe ausgeschlossen. Diesen Polymeren wird normalerweise ein Weichmacher (WM) in entsprechender Konzentration zugesetzt. Damit können die mechanischen Eigenschaften der MNS den Anforderungen angepasst werden. Allerdings variieren die Angaben, welcher WM in welcher Konzentration der Formulierung hinzugesetzt werden sollte, stark.

Ziel dieses Teils der Arbeit war die systematische Untersuchung des Einflusses der WM-Konzentration auf die mechanischen Eigenschaften von löslichen MNS. Es wurden 6 verschiedene, wasserlösliche Polymere (PVP K30, Copovidon VA64, HPC, Soluplus®, Kollicoat® IR, PUL) untersucht. Diesen wurden jeweils 3 verschiedene WM (Glycerol 85 % (Gly), Sorbitol (Sor), Polyethylenglykol (PEG) 300) in 4 unterschiedlichen Konzentrationen (0, 4, 8, 12 %, bezogen auf das Trockengewicht des Polymers) zugesetzt (Tabelle 21). Es wurden die jeweils am besten geeigneten Kombinationen aus Polymer und WM charakterisiert. Dies erfolgte anhand der Berechnung der relativen HR als Maß für die mechanische Stabilität (Kapitel 1.3.2. und Kapitel 5.4.8.) und anhand des Insertionsverhaltes in Parafilm® M (Kapitel 1.3.3. und Kapitel 5.4.9.). Im Anschluss wurden diese auf ihr Verhalten hinsichtlich der Insertion in Humanhaut untersucht. Außerdem wurden die am besten geeigneten Kombinationen aus Polymer und WM mit LIS als Modell-AS versetzt und das Freisetzungsverhalten der MNS bestimmt.

Es sollte darauf geachtet werden, dass Polymere mit unterschiedlichen mechanischen Eigenschaften verwendet werden. PVP K30 und Copovidon werden in dieser Studie als

sprödebrüchige Materialien eingesetzt. Bei diesen wird erwartet, dass ein WM in ausreichend hoher Konzentration zugesetzt werden muss, um die Sprödigkeit herabzusetzen, sodass die Mikronadeln während der Untersuchungen nicht brechen. Kollicoat® IR und Soluplus® werden als Polymere verwendet, welche PEG in unterschiedlicher Konzentration in ihrer Seitenkette enthalten [175, 176]. Kollicoat® IR ist ein Co-Polymer aus 75 % PVA und 25 % PEG. Soluplus® ist ein Co-Polymer aus 57 % Vinylcaprolactam, 30 % Vinylacetat und 13 % PEG. Diese Seitenketten könnten dementsprechend als WM dienen. Die beweglichen PEG-Seitenketten können die starre Struktur der Polymere auflockern und auf diese Weise eine weichmachende Wirkung erreichen. Diese Eigenschaft von Kollicoat® IR ist bereits aus anderen pharmazeutischen Anwendungsgebieten wie dem Befilmen von Tabletten bekannt [177]. Daher wird für diese Polymere erwartet, dass die resultierenden MNS durch die integrierten PEG-Seitenketten eine höhere Flexibilität zeigen und weich sind. Daraus wird gefolgert, dass ein WM in geringerer Konzentration zugesetzt werden muss. Außerdem sollten noch PUL und HPC getestet werden. Diese Polymere sind weicher und weniger spröde als PVP und Copovidon, jedoch wird erwartet, dass diese nicht so flexibel sind wie Kollicoat® IR und Soluplus®.

Sämtliche MNS wurden mittels der Zentrifugationsmethode (Kapitel 5.2.3.1.) hergestellt. Es wurde die Silikonmatrize mit 37 Mikronadeln (Abbildung 14) verwendet, um die mechanischen Eigenschaften und das Eindringverhalten in eine künstliche Membran zu untersuchen. Für die Freisetzungsuntersuchungen wurden Matrizen verwendet, welche 300 Kavitäten enthielten (Abbildung 39). Jede Kavität hatte eine pyramidale Form (300 x 300 µm Grundfläche, 650 µm Höhe, 0,5 mm Abstand voneinander). Zur Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften wurden MNS aus Polymerlösungen hergestellt, welche 20 % Polymer enthielten (Tabelle 21). Die MNS zur Charakterisierung der AS-Freisetzung wurden mit 40 % Polymer hergestellt. Der Anteil des WM auf das Trockengewicht des Polymers wurde jedoch beibehalten.

3.1.2. Formulierungsentwicklung

3.1.2.1. Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften

Die relative HR von MNS wurde bestimmt als Maß für die mechanische Stabilität (Kapitel 1.3.2. und 5.4.8.). Es wurde beschrieben, dass eine prozentuale HR von < 10 – 15 % eine ausreichend hohe mechanische Stabilität indizieren kann, um eine transdermale AS-Abgabe mittels MNS zu ermöglichen [144]. Es wurden allerdings auch relative HR von MNS von ca. 20 - 25 % beschrieben, mit welchen eine transdermale AS-Abgabe möglich war [102]. Daher wurde in dieser Studie die Grenze auf eine maximale relative HR von 25 % festgelegt. Alle MNS, welche eine prozentuale HR von > 25 % aufwiesen wurden von der weiteren Charakterisierung ausgeschlossen. Als weiteres Ausschlusskriterium wurde das Brechen von

Mikronadeln während des Tests definiert. Nadeln, die während des Tests brechen, würden auch der Applikation in menschliche Haut nicht standhalten.

Die Ergebnisse der Testung der mechanischen Stabilität der löslichen MNS sind der Abbildung 6 zu entnehmen.

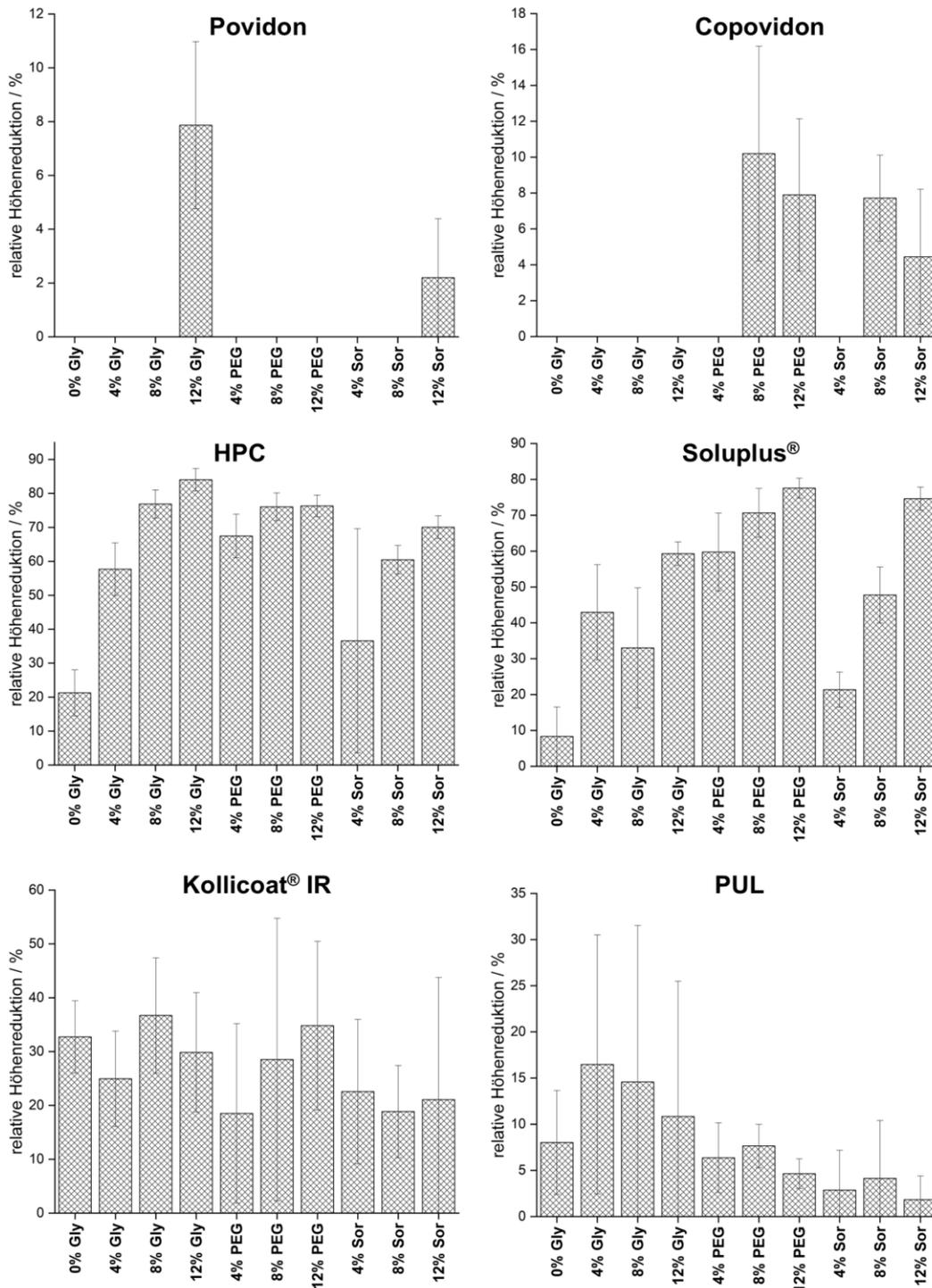


Abbildung 6: Mechanische Stabilität von löslichen MNS in Abhängigkeit von Art und Konzentration des WM; Bestimmung mittels Texture Analyser bei einer Kraft von 32 N, gehalten für 30 s und Vermessung der Nadelhöhe vor und nach Kompression; $\bar{x} \pm sd$, n=6; Ausgelassene Balken: Mikronadeln brachen während des Testes oder waren nicht der Matrize zu entnehmen

MNS, welche aus PVP K30 hergestellt wurden, zeigten ein typisches Verhalten für MNS aus sprödebrüchigen Polymeren. MNS, welche mit einer WM-Konzentration von $< 12\%$ Gly, $< 4\%$ PEG 300 und $< 12\%$ Sor hergestellt wurden, waren so spröde, dass sie nicht der Silikonmatrize entnommen werden konnten. MNS, welche $4 - 12\%$ PEG 300 enthielten brachen während der Kompression und wurden daher ausgeschlossen (Abbildung 7 A). MNS, welche 12% Sor bzw. Gly enthielten waren mechanisch robust genug für die Durchführung des Kompressionstests. Die relative HR war gering mit $7,9 \pm 3,1\%$ (Gly) und $2,2 \pm 2,1\%$ (Sor) (Abbildung 6). Die Nadelspitzen waren spitz und intakt nach Kompression und brachen nicht ab während des Tests (Abbildung 7 B). Es konnte festgestellt werden, dass ein WM in hoher Konzentration von 12% eingesetzt werden musste, wenn MNS aus PVP hergestellt wurden. Die MNS konnten nicht dem Negativ entnommen werden, wenn die Konzentration des WM zu gering war. MNS, welche 12% Gly bzw. Sor enthielten zeigten ein gutes mechanisches Verhalten. Die HR waren jeweils $< 10\%$. Dies könnte indizieren, dass diese MNS für eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe genutzt werden könnten. Andere lösliche MNS aus PVP enthielten zum Teil bis zu 25% Gly als WM [178]. Die Vermutung, dass hohe Konzentrationen an WM für sprödebrüchige Materialien benötigt werden, konnte bestätigt werden.

MNS, welche aus Copovidon hergestellt wurden zeigten ähnliche mechanische Eigenschaften. MNS ohne zugesetzten WM konnten nicht dem Negativ entnommen werden. Gleiches galt für MNS, welche $< 8\%$ WM enthielten (Abbildung 6). MNS, welche Gly als WM enthielten brachen während der Kompression und wurden von weiterer Charakterisierung ausgeschlossen (Abbildung 7 C). MNS mit $8 - 12\%$ PEG 300 bzw. Sor als WM zeigten eine gute mechanische Stabilität. Die Nadelspitzen waren spitz und intakt nach der Kompression (Abbildung 7 D). Die relative HR betrug $10,2 \pm 6,0\%$ (8%) bzw. $7,9 \pm 4,3\%$ (12%), wenn PEG 300 verwendet wurde. Diese Ergebnisse unterschieden sich kaum voneinander. Ähnliche Ergebnisse wurden gemessen, wenn 8% Sor als WM verwendet wurden. Die HR betrug $7,7 \pm 2,4\%$. Die geringste relative HR wurde bestimmt, wenn 12% Sor als WM verwendet wurden ($4,5 \pm 3,8\%$). Die prozentuale HR war demnach $< 15\%$, wenn $8 - 12\%$ Sor bzw. PEG 300 als WM verwendet wurde. Demnach ist eine transdermale AS-Abgabe denkbar bei Verwendung dieser MNS. Bisher wurde Copovidon nicht zur Herstellung von MNS verwendet. Stattdessen wird eine Mischung der Einzelpolymere Vinylacetat und PVP verwendet [128]. Die HR war in dieser Studie mit ca. 10% vergleichbar, allerdings musste beim Mischen der Einzelpolymere kein WM eingesetzt werden.

MNS, welche aus HPC hergestellt wurden, zeigten ein deutlich abweichendes mechanisches Verhalten als MNS aus PVP und Copovidon. Die relative HR als Maß für die mechanische Stabilität ist der Abbildung 6 zu entnehmen. Bereits MNS, welchen kein WM zugesetzt wurde, waren sehr weich. Diese MNS wiesen eine prozentuale HR von $21,2 \pm 6,8\%$ auf. Sobald ein

WM der Formulierung zugegeben wurde, stieg die relative HR dramatisch an auf bis zu $84,0 \pm 3,3$ % (12 % Gly). MNS, welche ohne WM hergestellt wurden, waren nach Kompression spitz und intakt (Abbildung 7 E). Die Mikronadeln der übrigen WM-Polymer-Kombinationen waren zu weich und konnten der mechanischen Beanspruchung nicht standhalten (Abbildung 7 F). Die Herstellung von MNS aus HPC wurde bereits beschrieben [171]. Allerdings wurde die mechanische Stabilität nicht bestimmt. Insgesamt konnte beobachtet werden, dass MNS aus HPC zu weich waren, sobald ein WM eingesetzt wurde. Allerdings könnten MNS ohne den Einsatz von WM für eine transdermale Applikation geeignet sein. Daher wurden diese MNS bei der nachfolgenden Charakterisierung weiter untersucht.

MNS, welche aus Soluplus[®] ohne die Verwendung von WM hergestellt wurden, zeigten ein zufriedenstellendes mechanisches Verhalten (Abbildung 6). Die relative HR betrug in diesem Fall $8,3 \pm 8,1$ % und war damit < 10 %. Diese Mikronadeln verblieben spitz und intakt nach der Kompression (Abbildung 7 G). Soluplus[®] enthält 13 % PEG 6000 in der Seitenkette. Dieser Gehalt reichte aus, dass die MNS flexibel genug waren und nicht brachen während des Tests. Die Hinzugabe eines weiteren WM resultierte in sehr weichen Mikronadeln. Bereits die Zugabe von 4 % WM erhöhte die relative HR auf bis zu $59,7 \pm 10,9$ % (Abbildung 6). Eine höhere Zugabe von WM führte so einer weiteren Reduktion der mechanischen Stabilität. Diese Mikronadeln waren zu weich und verbogen während des Tests. Somit konnten sämtliche MNS, welche Soluplus[®] in Kombination mit einem zugesetzten WM enthielten von einer weiteren Charakterisierung ausgeschlossen werden. Ein typisches Anwendungsgebiet für Soluplus[®] ist die Löslichkeitsverbesserung von AS [161], allerdings wurde es auch vereinzelt zur Herstellung von löslichen MNS verwendet [179]. Die Ergebnisse dieser Studie deckten sich mit den hier beschriebenen Ergebnissen. MNS aus Soluplus[®] zeigten ohne die Zugabe eines WM eine prozentuale HR von 5 – 10 %. Dementsprechend könnten MNS aus Soluplus[®] ein vielversprechender Kandidat für die Herstellung von löslichen MNS sein.

Aus Kollicoat[®] IR konnten keine MNS mit ausreichender mechanischer Stabilität hergestellt werden (Abbildung 6). Diese Mikronadeln zeigten allesamt ausgeprägtes Schrumpfen und waren anstelle der Zielhöhe von 900 μm 750 – 800 μm hoch. Der WM-Anteil in der Seitenkette war mit 25 % PEG zu hoch. Auch MNS, welche ohne den Zusatz von WM hergestellt wurden zeigten eine unzureichende mechanische Stabilität und waren weich. Die HR betrug $32,7 \pm 6,7$ % und lag damit deutlich über 25 %. Insgesamt konnte Kollicoat[®] IR somit von sämtlichen weiteren Charakterisierungen ausgeschlossen werden.

MNS konnten erfolgreich aus PUL hergestellt werden. Die MNS hatten eine relative HR von $8,0 \pm 5,6$ %, wenn kein WM zugesetzt wurde (Abbildung 6). Wenn Gly als WM zur Herstellung der MNS eingesetzt wurde, wurden die resultierenden MNS weicher. Jedoch war die relative HR der MNS < 20 % mit $16,5 \pm 14,0$ % (4 % Gly), $14,6 \pm 16,9$ % (8 % Gly) und $10,8 \pm 14,7$ %

(12 % Gly). Kein eindeutiger Zusammenhang zwischen mechanischer Stabilität und Konzentration an eingesetztem WM konnte beobachtet werden. Sämtliche Mikronadeln, welche aus PUL hergestellt wurden, blieben spitz und intakt nach der Kompression mit einer Kraft von 32 N (Abbildung 7 H). Ähnliche Zusammenhänge konnten beobachtet werden, wenn Sor und PEG 300 als WM eingesetzt wurden. Allerdings waren diese MNS mechanisch stabiler als MNS aus PUL, welchen kein WM zugesetzt wurde. Die relative HR betrug zwischen $4,6 \pm 1,6$ % und $7,6 \pm 2,4$ %, wenn PEG 300 hinzugefügt wurde und zwischen $1,8 \pm 2,6$ % und $4,1 \pm 6,3$ %, wenn Sor eingesetzt wurde. Insgesamt konnte festgestellt werden, dass die mechanische Stabilität von MNS aus PUL unabhängig von der Art und Konzentration des WM war. Die geringste prozentuale HR wiesen MNS auf, welchen 12 % Sor als WM zugesetzt wurden. In der Literatur wurden ebenfalls MNS aus PUL beschrieben, welche eine vergleichbare prozentuale HR von < 10 % aufwiesen [180].

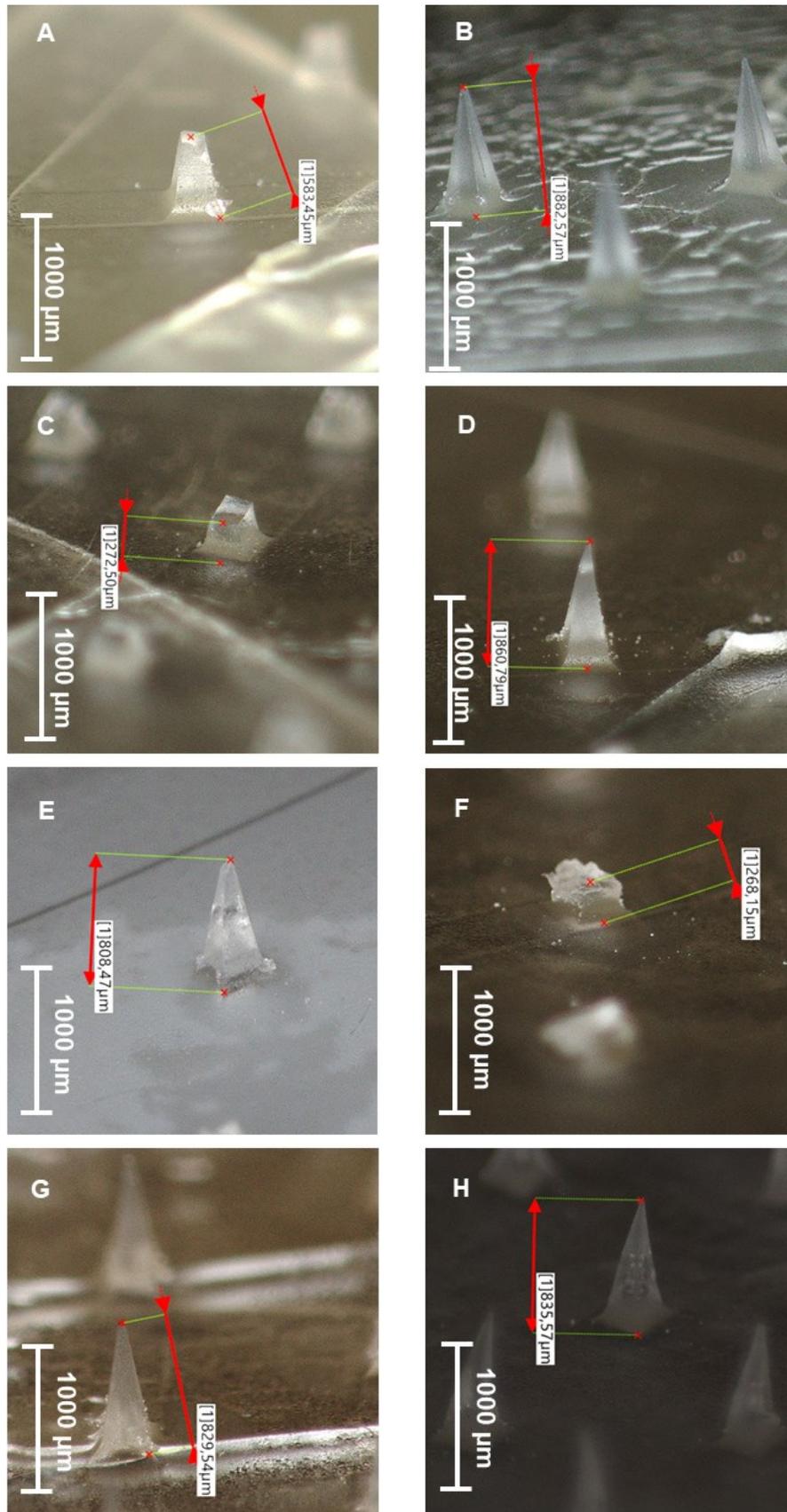


Abbildung 7: MNS nach Kompression mit einer Kraft von 32 N (mittels Texture Analyser, die Kraft wurde für 30 s gehalten, Höhe der Nadeln vor und nach Kompression wurde bestimmt); A: PVP K30 und 4 % PEG 300; B: PVP K30 und 12 % Sor; C: Copovidon + 12 % Gly; D: Copovidon + 12 % Sor; E: HPC (ohne WM); F: HPC + 4 % PEG 300; G: Soluplus® (ohne WM); H: PUL (ohne WM)

3.1.2.2. Penetration in ein künstliches Hautmodell

Anschließend wurden die MNS hinsichtlich ihres Penetrationsverhaltens in ein künstliches Hautmodell charakterisiert. Dabei wurden acht Schichten Parafilm® M als Hautmodell verwendet. Die Durchführung dieser Testmethode ist in Kapitel 5.4.9. beschrieben. Jede Schicht Parafilm® M hatte eine konstante Dicke von 127 µm. Es wurde in der Literatur bereits untersucht und beschrieben, dass lösliche MNS mindestens zwei dieser Schichten durchstechen müssen, um eine transdermale AS-Abgabe ermöglichen zu können [105]. Allerdings stellt diese Testmethode lediglich eine grobe Abschätzung dar. Der Erfolg der transdermale AS-Abgabe hängt unter anderem auch von der Nadelgeometrie, Länge und Eindringdauer ab [130].

Es wurden lediglich Polymer-WM-Kombinationen untersucht, welche eine zufriedenstellende mechanische Stabilität bzw. relative HR aufwiesen (Kapitel 3.1.2.1.). Mikronadeln, welche eine relative HR > 25 % aufwiesen oder während des Kompressionstests brachen, wurden für die Charakterisierung des Penetrationsverhaltens in acht Schichten Parafilm® M ausgeschlossen. Die Ergebnisse des Penetrationstestes sind der Abbildung 8 zu entnehmen.

MNS, welche aus PVP K30 hergestellt wurden zeigten ein gutes Eindringverhalten in Parafilm® M (Abbildung 8 A). MNS, welche 12 % Sor bzw. Gly enthielten durchstachen mindestens zwei Schichten (254 µm) des künstlichen Hautmodells. Außerdem konnten ca. 50 % der Nadeln noch die sechste Schicht durchstechen (762 µm). Das beste Penetrationsverhalten zeigten Mikronadeln aus PVP K30, welchen 12 % Gly als WM zugesetzt wurden. 90 ± 2 % bzw. 82 ± 7 % konnten die dritte (381 µm) bzw. die vierte Schicht (508 µm) durchdringen. Die Mikronadeln aus Povidon, welchen 12 % Sor zugesetzt wurde, zeigten ein ähnliches Insertionsverhalten. 76 ± 23 % bzw. 61 ± 20 % durchstachen die dritte bzw. vierte Schicht Parafilm® M. Diese Ergebnisse zeigten, dass es möglich ist aus Povidon lösliche MNS herzustellen, welche mechanisch robust sind. PVP K30 ist ein typisches sprödebrüchiges Polymer. Hohe Anteile an WM mussten hinzugegeben werden, dass die Mikronadeln nicht brachen. Allerdings zeigten die MNS ein zufriedenstellendes Eindringverhalten und es konnte davon ausgegangen werden, dass diese MNS geeignet waren für eine transdermale Applikation.

Ein ähnliches Insertionsverhalten konnte für MNS, welche aus Copovidon hergestellt wurden, beobachtet werden. Allerdings waren für Copovidon bereits 8 % Weichmacheranteil (PEG 300 oder Sor) ausreichend (Abbildung 8 B). Die MNS konnten problemlos zwei Schichten des künstlichen Hautmodells durchstechen. Es konnte beobachtet werden, dass MNS mit Gly als WM während des Testes brachen (Kapitel 3.1.2.1.). Wurde PEG 300 als WM eingesetzt konnten 19 ± 3 % bzw. 40 ± 2 % der Mikronadeln noch die sechste Schicht Parafilm® M durchstechen. Beim Einsatz von Sor als WM war das Eindringverhalten noch ausgeprägter

und $38 \pm 11 \%$ bzw. $56 \pm 6 \%$ der Nadeln durchstachen diese Schicht. Es war demnach auffällig, dass die MNS, welche einen höheren Anteil WM enthielten, ein besseres Insertionsverhalten zeigten. Dies widersprach den Erwartungen. Eine mögliche Erklärung könnte sein, dass MNS mit 8 % WM flexibel genug waren, um dem Mikronadelnegativ entnommen zu werden, jedoch während des Insertionsprozesses trotzdem brachen. Insgesamt war die Penetration in Parafilm® M vergleichbar mit Povidon. Die Mikronadeln drangen ausreichend tief in das künstliche Hautmodell ein, um eine transdermale AS-Abgabe zu ermöglichen. Allerdings waren weitere Untersuchungen notwendig, um dies zu verifizieren.

Durch die Untersuchung der mechanischen Stabilität konnten sämtliche MNS aus HPC, denen ein WM zugesetzt war, bereits im Vorfeld ausgeschlossen werden (Kapitel 3.1.2.1.). $95 \pm 6 \%$ der Mikronadeln aus HPC ohne WM durchstachen die zweite Schicht Parafilm® M (Abbildung 8 C) und $89 \pm 10 \%$ die dritte. Schicht. Jedoch konnten im Gegensatz zu MNS aus Povidon und Copovidon keine Nadeln mehr die sechste Schicht ($762 \mu\text{m}$) durchstechen. $38 \pm 9 \%$ der Mikronadeln durchstachen die fünfte Schicht ($635 \mu\text{m}$). Insgesamt konnte somit gezeigt werden, dass HPC auch ohne den Zusatz von WM in weicheren Mikronadeln resultiert als MNS aus Povidon und Copovidon. Allerdings durchstachen MNS aus HPC mindestens zwei Schichten des künstlichen Hautmodells. Dies implizierte, dass Mikronadeln aus HPC ausreichend fest sind, um AS transdermal applizieren zu können.

Soluplus® zeigte ähnliche Eigenschaften wie HPC (Abbildung 8 D). Fast alle ($89 \pm 11 \%$) der Mikronadeln konnten die zweite Schicht des künstlichen Hautmodells durchstechen. Wie bei HPC konnte maximal die fünfte Schicht Parafilm® M durchstochen werden ($43 \pm 10 \%$). Insgesamt ließ sich demnach feststellen, dass die Herstellung von MNS aus Soluplus® möglich war. Weitere Untersuchungen mussten klären, ob die MNS aus Soluplus® ohne WM mechanisch robust genug waren, um eine transdermale Applikation zu ermöglichen. MNS aus diesem Polymer könnten durch die löslichkeitsverbessernden Eigenschaften von Soluplus® einen interessanten Ansatz darstellen, um schlecht lösliche AS zu applizieren.

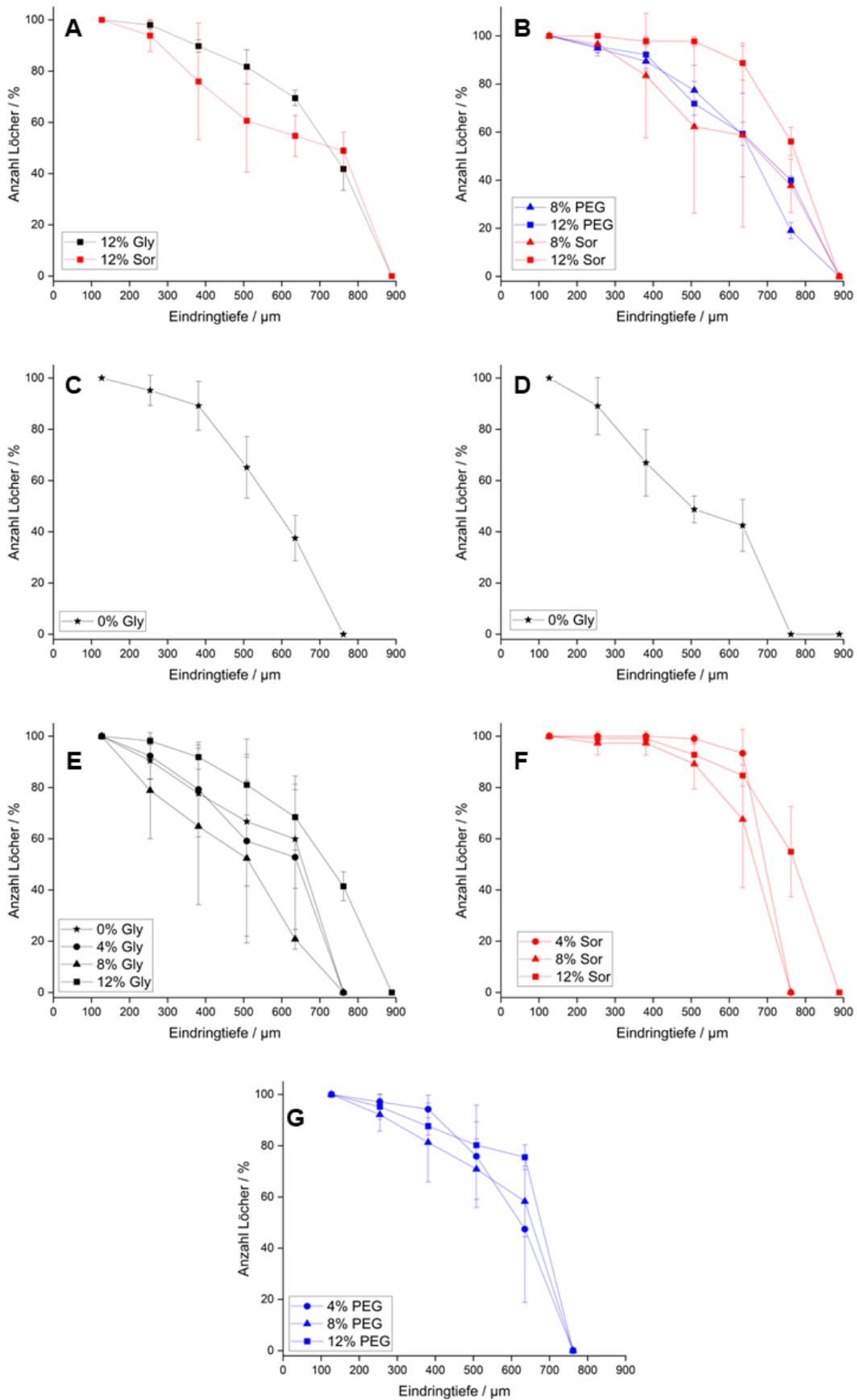


Abbildung 8: Insertion in 8 Schichten Parafilm® M von löslichen MNS mittels Texture Analyser (Kraft von 32 N, für 30 s gehalten); A: Povidon; B: Copovidon; C: HPC; D: Soluplus®; E: PUL + Gly; F: PUL + Sor; G: PUL + PEG 300; Farbcodierung: Schwarz für Glycerol, blau für PEG und Rot für Sorbitol als WM; $\bar{x} \pm \text{sd}$, n=3

PUL zeigte ein Insertionsverhalten, welches unabhängig von der Art und der Konzentration an eingesetztem WM war (Abbildung 8 E-G). Dabei waren MNS aus PUL, welche Gly als WM enthielten am weichsten (Abbildung 8 E). Nichtsdestotrotz konnte der Großteil der Mikronadeln die zweite Schicht durchstechen. MNS ohne den Zusatz eines WM konnten mit 60 ± 19 % der Mikronadeln maximal die fünfte Schicht durchstechen. Das Eindringverhalten von MNS mit 12 % Gly war ausgeprägter und 41 ± 6 % der Nadeln durchstachen die sechste Schicht. Der Zusatz von Sor bzw. PEG 300 zeigte einen ähnlichen Effekt auf das Eindringverhalten der MNS aus PUL. Bei beiden Polymer-WM-Kombinationen zeigten Mikronadeln mit 12 % zugesetztem WM die tiefste Insertion in Parafilm® M (Abbildung 8 F-G). Sämtliche Mikronadeln durchstachen die zweite Schicht des künstlichen Hautmodells. Außerdem konnte der Großteil der Nadeln die fünfte Schicht durchstechen (76 ± 5 % für 12 % PEG 300 und 85 ± 4 % für 12 % Sor). Insgesamt zeigte PUL gute Eigenschaften, um als Polymer zur Herstellung von MNS eingesetzt zu werden. Die mechanischen Eigenschaften der MNS waren unabhängig von der Art und Konzentration des verwendeten WM. Diese Eigenschaften stellen einen interessanten Ansatz für die Formulierungsentwicklung von MNS dar, welche AS mit weichmachenden Eigenschaften enthalten.

3.1.3. Insertion in Humanhaut

Die am besten geeigneten MNS wurden anhand der mechanischen Eigenschaften (Kapitel 3.1.2.1.) und des Eindringverhaltens in ein künstliches Hautmodell (Kapitel 3.1.2.2.) ausgewählt. Diese sind zusammenfassend in Tabelle 22 aufgeführt. Diese MNS wurden für die Untersuchung des Eindringverhaltens in Humanhaut verwendet.

Die Präparation der Humanhaut ist dem Kapitel 5.4.10. zu entnehmen und die Durchführung der Insertion in Humanhaut dem Kapitel 5.4.11. Dabei ist die verwendete Methode bereits in der Literatur etabliert, um das Eindringverhalten von MNS in Humanhaut zu charakterisieren [181]. Die Haut wird mit wässriger Methylenblau-Lösung angefärbt. Die Poren, welche von Mikronadeln hervorgerufen werden, sind hydrophiler als die unperforierte Haut und lassen sich daher intensiver blau anfärben. Die Ergebnisse der Insertion in Humanhaut sind der Abbildung 9 zu entnehmen.

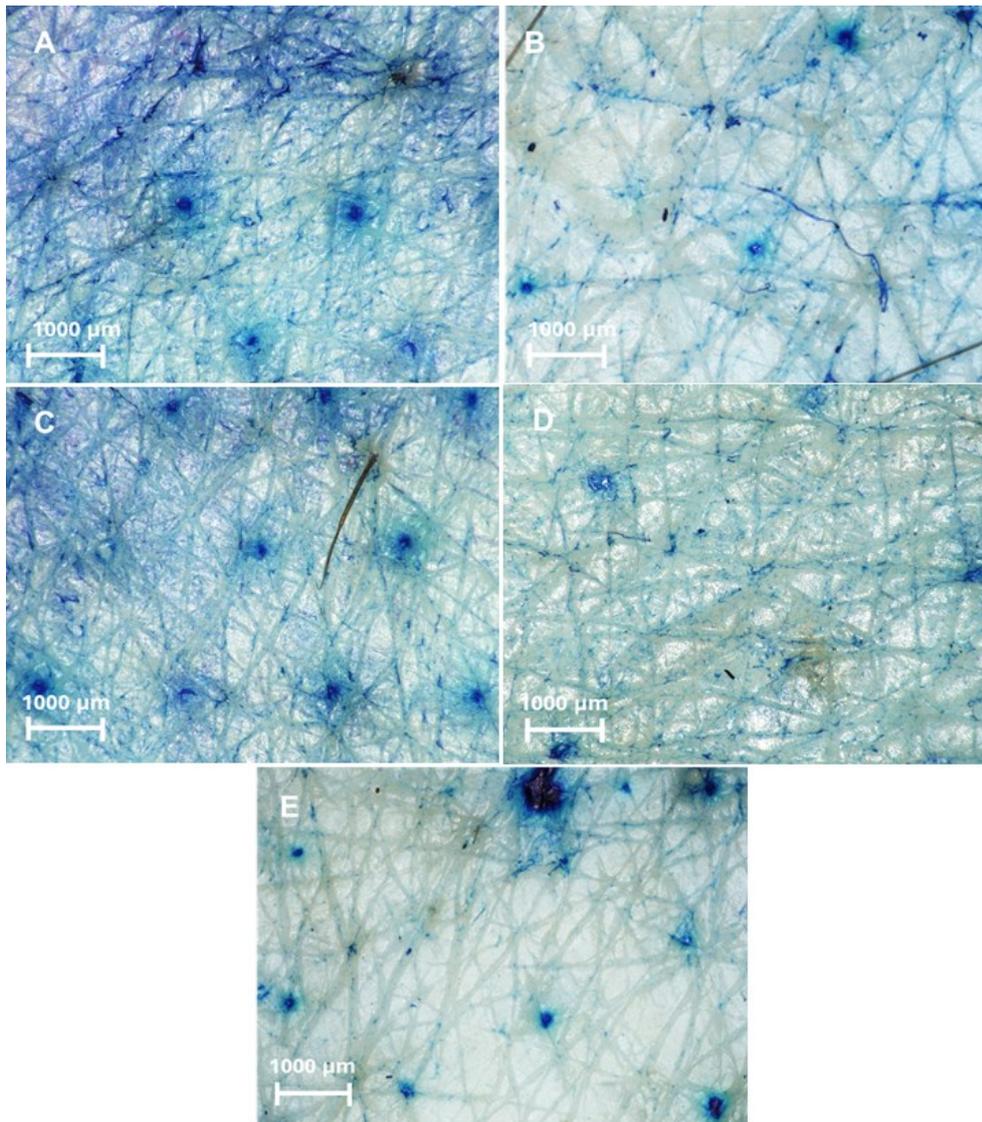


Abbildung 9: Insertion von MNS in Humanhaut; A: Povidon; B: Soluplus®; C: HPC; D: Copovidon; E: PUL

Die zuvor am besten geeigneten Polymer-WM-Kombinationen waren in der Lage, die verwendete ex-vivo Humanhaut zu punktieren. Die Poren, welche von den MNS kreiert wurden, waren deutlich zu erkennen, nachdem die Haut mit Ethanol (EtOH) gespült wurde. Keinerlei Mikronadeln brachen während des Tests. Dieser Test ist eine etablierte Möglichkeit, um die Insertion von MNS in die Haut zu charakterisieren. Allerdings wurde meistens keine menschliche Haut, sondern Rattenhaut [181] verwendet, welche andere Eigenschaften aufweist. Zum Beispiel kann Rattenhaut leichter punktiert werden als Humanhaut, da die Epidermis dünner ausgebildet ist. Außerdem konnten aus HPC hergestellte MNS erfolgreich Schweinehaut punktieren [182]. Es konnte im Rahmen dieser Arbeit erstmalig gezeigt werden, dass MNS aus HPC erfolgreich Humanhaut durchstechen konnten. Den MNS musste kein WM zugesetzt werden. Damit könnte in Zukunft das Portfolio an Polymeren, welche für eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe mittels MNS verwendet werden können, erweitert werden. Allerdings müssen die aus HPC hergestellten MNS weiteren Charakterisierungen

unterzogen werden, um eine intradermale AS-Deposition zu beweisen. Nur in diesem Falle könnten diese MNS verwendet werden, um AS dem Körper für eine systemische Wirkung verfügbar zu machen. Besonders interessant könnte die Verwendung von HPC als nadelbildendes Polymer sein, wenn die eingesetzten AS inkompatibel mit WM sind.

Es wurden zuvor erfolgreich MNS aus Soluplus® hergestellt [179], welche neonatale Schweinehaut durchstechen konnten. Allerdings wurden bisher keine Ergebnisse von MNS aus Soluplus® veröffentlicht, bei denen gezeigt wurde, dass auch menschliche Haut perforiert wird. Soluplus® ist vor allem in Hinblick auf seine Löslichkeitsverbessernden Eigenschaften ein Polymer mit vielversprechendem Potential für die Applikation von schwerlöslichen AS. Die hergestellten MNS müssen weiteren Charakterisierungen unterzogen werden, um die Möglichkeit der intradermalen AS-Deposition zu bestimmen und damit das Potential der transdermalen AS-Applikation. Außerdem wurden durch Kombination mit einem sprödebrüchigen Polymer (PVP) erfolgreich MNS hergestellt [183]. Dadurch konnten die mechanischen Eigenschaften der MNS optimiert werden gegenüber der alleinigen Verwendung von Soluplus®.

MNS aus PVP sind bereits intensiv untersucht worden. MNS aus PVP, denen PEG 300 als WM zugesetzt wurde, konnten Humanhaut erfolgreich durchstechen [184]. Es konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass hohe Konzentrationen von WM benötigt werden, damit MNS aus PVP K30 nicht brechen während der Insertion. Allerdings wird davon ausgegangen, dass die Konzentration an zugesetztem WM auch von dem Molekulargewicht des verwendeten PVPs abhängt. Copovidon zeigte ähnliche Ergebnisse wie PVP. Es wurden in der Literatur keine MNS beschrieben, welche aus Copovidon hergestellt wurden. Eine physikalische Mischung aus den Einzelpolymeren (PVP und PVA) zur Herstellung von MNS lieferte jedoch andere Ergebnisse als die Verwendung von Copovidon. Es wurde beschrieben, dass MNS aus Povidon und PVA AS transdermal über Schweinehaut applizieren konnten [128].

3.1.4. Arzneistofffreisetzung

Abschließend wurde die AS-Freisetzung der hergestellten MNS untersucht. Dazu wurden die Polymer-WM-Kombinationen verwendet, die bei der vorherigen Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften die vielversprechendsten Ergebnisse zeigten. Diese sind der Tabelle 22 zu entnehmen. Die Polymerkonzentration wurde auf 40 % erhöht und der Anteil an WM wurde beibehalten. LIS wurde als peptidomimetischer Modell-AS verwendet und in jeder Polymerlösung mit einer Konzentration von 30,0 mg/g gelöst. Es wurden MNS mit 300 Mikronadeln hergestellt, um die AS-Menge zu erhöhen und eine geeignete Quantifizierung zu ermöglichen. Jede Mikronadel war von pyramidalen Form. Die Grundfläche war 300 x 300 µm groß und die Nadeln waren 650 µm hoch.

Des Weiteren wurde die mittlere Auflösungszeit (*mean dissolution time*, MDT) von LIS in den entsprechenden MNS berechnet. Die Berechnung der MDT erfolgte wie in Kapitel 5.4.13. (Gleichung 8) beschrieben. Dies diente der Vergleichbarkeit der einzelnen MNS untereinander. Die MDT stellte einen geeigneten Parameter dar, um die Auflösungszeit der Mikronadeln und die damit verbundene Freisetzung von LIS anschaulich in einem Zahlenwert auszudrücken.

Die Freisetzungprofile der MNS sind der Abbildung 10 zu entnehmen und die berechneten MDT der Tabelle 2.

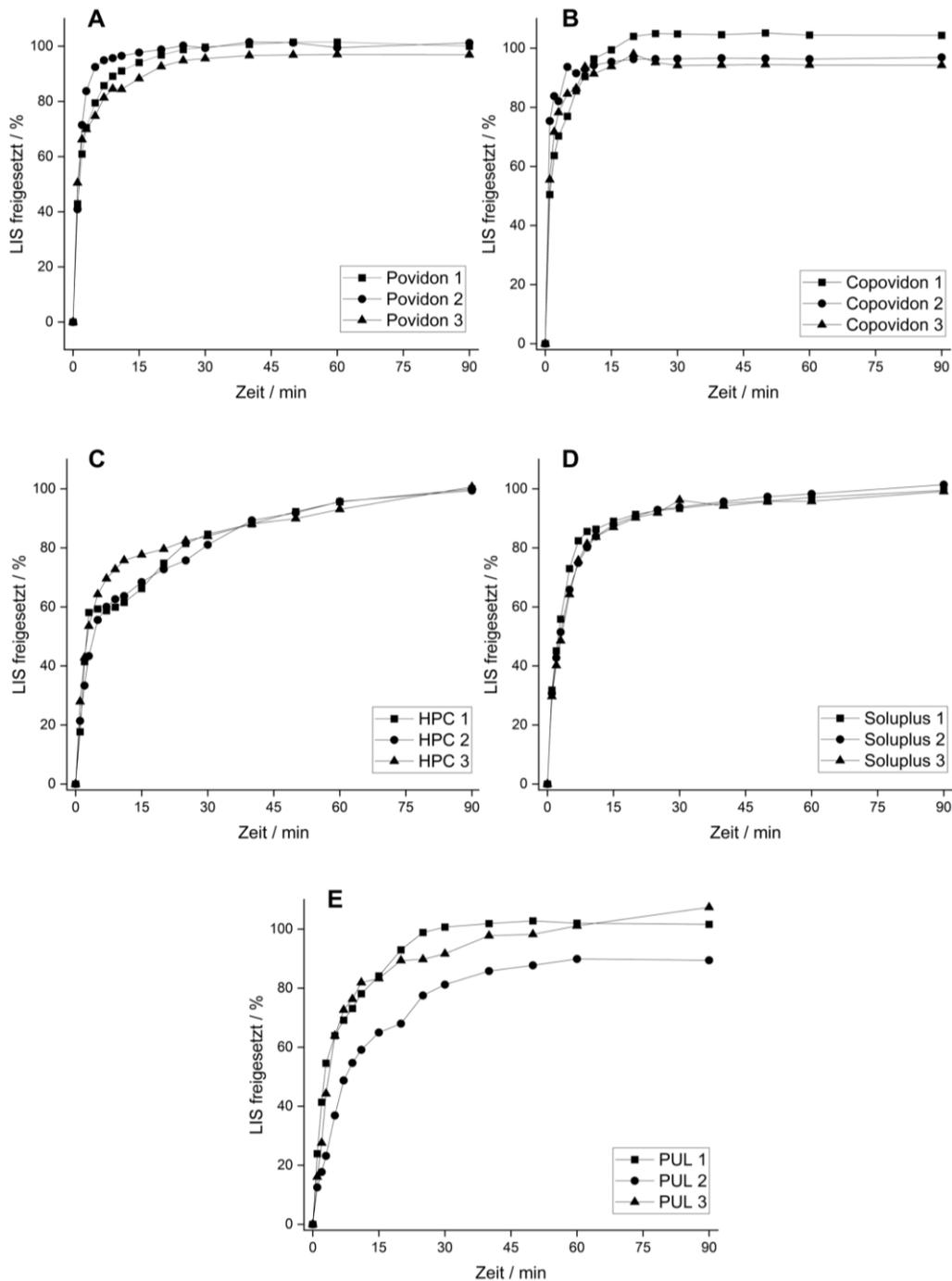


Abbildung 10: Freisetzungprofile der löslichen MNS; A: PVP K30; B: Copovidon; C: HPC; D: Soluplus®; E: PUL; Einzelkurven, n=3; Testmedium 10,0 ml PBS pH=7,4, T=30 °C, 200 UpM Rührgeschwindigkeit

Tabelle 2: Berechnete MDT der MNS; $\bar{x} \pm \text{sd}$, n=3

Polymer MNS	MDT [min]
PVP K30	3,73 ± 0,65
Copovidon	2,67 ± 0,98
HPC	13,70 ± 0,44
Soluplus®	7,65 ± 0,73
PUL	13,95 ± 3,25

Es konnte gezeigt werden, dass Povidon und Copovidon ein sehr ähnliches Freisetzungverhalten zeigten. Die MDT betrug $3,73 \pm 0,65$ (PVP K30) bzw. $2,67 \pm 0,98$ min (Copovidon). Nach 11 min waren bereits $90,64 \pm 6,06$ % LIS aus MNS aus PVP K30 freigesetzt (Abbildung 10 A). Vollständig abgeschlossen war die Freisetzung nach 30 min. Der Gehalt an LIS betrug $184,23 \pm 4,80$ µg. MNS aus Copovidon zeigten eine noch schnellere Freisetzung (Abbildung 10 B). Der LIS-Gehalt betrug $183,86 \pm 28,83$ µg pro MNS. Nach 5 min waren bereits $85,05 \pm 8,37$ % freigesetzt. Die Freisetzung war nach 20 min abgeschlossen. Allerdings konnte allgemein festgestellt werden, dass der AS-Gehalt zwischen den hergestellten MNS schwankte. Dies konnte durch die Herstellungsmethode mittels der Zentrifugationsmethode erklärt werden (Kapitel 5.2.3.1.). Für ein erfolgreiches Füllen sämtlicher Kavitäten mussten die Polymerlösungen im Überschuss auf die Silikonmatrize aufgegeben werden. Im Anschluss an die Zentrifugation wurde der verbleibende Überschuss abgeschabt. Dies erfolgte manuell mit Hilfe eines Kartenblattes. Jedoch konnte je nach Beschaffenheit (Klebrigkeit und η) der Polymerlösungen das Abschaben unterschiedlich gut funktionieren. Dadurch sind diese Schwankungen zu erklären.

Die Freisetzung von LIS aus MNS, welche aus PUL hergestellt wurden, zeigten die längste MDT mit $13,95 \pm 3,25$ min. Pro MNS war der LIS-Gehalt mit $197,88 \pm 17,93$ µg höher als bei MNS aus PVP K30 und Copovidon. Dies lag daran, dass die 40 %ige Polymer-Lösung von PUL sehr viskos war und der Überschuss somit nur schwierig mittels Kartenblatt entfernt werden konnte. Die Freisetzung war nach ca. 50 min abgeschlossen. Nach 5 min waren $54,89 \pm 15,61$ % LIS freigesetzt und nach 20 min $83,43 \pm 13,50$ %. Auch der Abbildung 10 E kann dies entnommen werden. Zu Beginn zeigten die MNS aus PUL eine sehr schnelle Freisetzung, welche jedoch nach und nach abflachte („Burst-Release“). Die große Streuung der MDT resultierte daher, dass ein MNS (PUL 2, Abbildung 10 E) deutlich weniger AS enthielt als beide anderen.

Eine MDT ähnlicher Größenordnung wiesen die MNS aus HPC auf (Tabelle 2). Die MDT betrug $13,70 \pm 0,44$ min. Die MNS enthielten $205,73 \pm 1,26$ µg LIS. Nach 5 min waren bereits $51,67 \pm 7,56$ % LIS freigesetzt (Abbildung 10 C). Danach nahm die Freisetzungsgeschwindigkeit jedoch ab, sodass die Freisetzung erst nach 60 – 90 min vollständig beendet war.

Die Freisetzung von LIS aus MNS, welche aus Soluplus® hergestellt wurden, zeigten eine vergleichsweise mittelgroße MDT von $7,65 \pm 0,73$ min (Tabelle 2). Die Freisetzung war nach 40 min abgeschlossen. Nach 11 min waren bereits $84,64 \pm 1,47$ % LIS freigesetzt (Abbildung 10 D).

Insgesamt ließ sich feststellen, dass sämtliche Polymere geeignet waren für die Herstellung von MNS. Die Freisetzung erfolgte relativ schnell, allerdings ließen sich Unterschiede in Abhängigkeit des verwendeten Polymers feststellen. PVP K30 und Copovidon als verwendete Polymere für die MNS-Herstellung zeigten dabei die schnellste Freisetzung und somit die geringste MDT. MNS aus HPC und PUL zeigten größere MDT und eine langsamere AS-Freisetzung. LIS eingebettet in Mikronadeln aus Soluplus® zeigte eine MDT, die genau zwischen den anderen beiden Polymeren lag. Sämtliche MNS waren löslich im wässrigen Medium. Allerdings könnte die unterschiedliche Auflösungsgeschwindigkeit Einfluss auf die Applikationsdauer und das pharmakokinetische Profil in der klinischen Praxis haben und muss daher mit berücksichtigt werden. Des Weiteren konnte anhand der schwankenden LIS-Gehalte in den MNS gezeigt werden, welche Limitation bei der Herstellung von MNS mittels der Zentrifugationsmethode vorliegt. Das Abkratzen der Polymerlösung von dem Mikronadelnegativ ist nicht vollständig reproduzierbar und verschiedene Mengen an LIS verblieben in der DS der MNS.

3.1.5. Zusammenfassende Beurteilung

Im Rahmen dieses Teils der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass Polymere, welche standardmäßig zur Herstellung von löslichen MNS eingesetzt werden, stark voneinander variierende mechanische Eigenschaften aufweisen. Spröde Polymeren wie PVP und Copovidon mussten hohe Konzentrationen an WM zugesetzt werden. Andernfalls brachen die hergestellten Mikronadeln während der Kompression.

In anderen Arbeiten mussten ebenfalls hohe Konzentrationen an WM zugesetzt werden, wenn MNS aus PVP hergestellt wurden, es wurde bereits von bis zu 25 % Gly berichtet [178]. Es wurden jedoch auch MNS aus PVP erfolgreich hergestellt, welche nur 5 % Gly oder PEG 400 als WM enthielten [115]. Diese MNS konnten erfolgreich Haut der Maus durchstechen. Andere Arbeiten berichteten davon, dass als WM PEG eingesetzt wurde [184]. Diese MNS aus PVP wurden hinsichtlich des Durchstechens des menschlichen SC erfolgreich getestet. In diesem Arbeitspaket konnte gezeigt werden, dass die Art und Konzentration des WM eine entscheidende Rolle bei der Herstellung von löslichen MNS aus sprödebrüchigen Materialien spielt. PEG eignete sich nicht für die Herstellung von mechanisch robusten MNS aus PVP K30. Für diese mussten 12 % Gly oder Sor eingesetzt werden. Interessanterweise verhielt sich Copovidon anders. Für dieses Polymer mussten 8 – 12 % PEG 300 oder Sor eingesetzt werden. Gly war in den untersuchten Konzentrationen bis zu 12 % nicht geeignet für die

Herstellung von mechanisch robusten MNS. Außerdem konnte festgestellt werden, dass Povidon und Copovidon gut für die Herstellung von MNS geeignet sind, wenn ausreichend WM zugesetzt wurde. Diese Polymere zeigten ein ausgeprägt gutes Insertionsverhalten in die Humanhaut sowie in acht Schichten Parafilm® M als ein künstliches Hautmodell. Außerdem waren diese Polymere dazu geeignet, den LIS sehr schnell freizusetzen.

Kollicoat® IR war insgesamt ungeeignet zur Herstellung von löslichen MNS. Die Nadeln zeigten ausgeprägtes Schrumpfen nach der Trocknung und waren von weicher Konsistenz. Bereits ohne die Zugabe eines WM wiesen die Mikronadeln eine unzureichende mechanische Stabilität auf. Dies liegt vermutlich an dem hohen Anteil von 25 % an PEG in der Seitenkette des Co-Polymers [175]. PEG kann die Struktur der Polymerketten von Kollicoat® IR auflockern und auf diese Weise eine weichmachende Wirkung vermitteln.

MNS aus HPC zeigten geeignete mechanische Eigenschaften für eine transdermale Applikation. Die Mikronadeln konnten Humanhaut durchstechen, wenn kein WM zugesetzt wurde. Dies deckte sich mit bereits beschriebenen Ergebnissen aus der Literatur. MNS aus HPC wurden bereits erfolgreich verwendet um Schweinehaut zu durchstechen [182]. Des Weiteren wurden MNS aus anderen Cellulosederivaten wie CMC hergestellt [104], welche Humanhaut durchstachen. HPC ist folglich ein weiches Polymer, welchem kein externer WM zugesetzt werden muss.

Vergleichbare Ergebnisse zu HPC lieferte die Herstellung mittels Soluplus®. MNS, welchen kein WM zugesetzt wurde, konnten erfolgreich Humanhaut durchstechen und zeigten geeignete mechanische Eigenschaften. Andere Arbeiten beschäftigen sich bereits damit, die mechanische Stabilität von MNS aus Soluplus® zu erhöhen, indem das Polymer mit sprödebrüchigen Polymeren wie PVP gemischt wird [183]. Da Soluplus® vor allem zur Verbesserung der Löslichkeit von AS verwendet wird, könnte dessen Verwendung auch einen interessanten Ansatz zur transdermalen Applikation von schwerlöslichen AS darstellen.

PUL zeigte mechanische Eigenschaften, welche unabhängig von der Art und Konzentration des verwendeten WM waren. Es wurde bereits die erfolgreiche transdermale AS-Abgabe mit MNS aus PUL beschrieben [180]. Dabei wurde dem Polymer kein WM zugesetzt. Diese Arbeit konnte zeigen, dass PUL robust gegenüber der Verwendung von WM zu sein scheint.

Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass durch Wahl und Variation des Polymer die Auflösungsgeschwindigkeiten von LIS und dessen Freisetzungverhalten verändert werden konnte. Dies kann einen guten Ansatz in der Formulierungsentwicklung darstellen, um die Applikationsfrequenz und die Wirkdauer sowie im Allgemeinen die Steuerung des Blutspiegels an AS anzupassen. Es wurde des Weiteren beschrieben, dass auch das Molekulargewicht der Polymere einen großen Einfluss auf das Freisetzungverhalten hat [108]. Dies stellt eine

weitere Möglichkeit dar, um die MNS auf die persönlichen Bedürfnisse von Patienten und Patientinnen anzupassen.

Weitere Charakterisierungen müssen durchgeführt werden, um zu zeigen, dass die MNS, welche in diesem Teil der Arbeit charakterisiert wurden, tatsächlich für die transdermale AS-Abgabe geeignet sind. Vor allem muss die intradermale AS-Deposition charakterisiert werden. Ausschließlich AS, welcher die gesamte Epidermis der menschlichen Haut überwindet, kann in der Dermis von Blutgefäßen aufgenommen werden und steht für eine systemische Wirkung zur Verfügung. In diesem Versuchsteil wurde lediglich das erfolgreiche Durchstechen des SC von Humanhaut gezeigt, allerdings konnte nicht gezeigt werden, ob die Mikronadeln erfolgreich die gesamte Epidermis durchstechen können. Insgesamt konnte jedoch festgestellt werden, dass die Art und Konzentration von WM für die Herstellung von löslichen MNS eine entscheidende Rolle spielt.

3.2. Entwicklung und Charakterisierung von löslichen Mikronadelsystemen mittels Tintenstrahldruck für die personalisierte Medizin

Teile dieses Kapitels wurden bereits in der Zeitschrift *International Journal of Pharmaceutics* mit Peer-Review-Verfahren veröffentlicht. Der Inhalt wurde ins Deutsche übersetzt und graphisch angepasst. Des Weiteren wurden einige Daten hinzugefügt.

- Lammerding, L.C., Breitzkreutz, J., 2023. *Technical evaluation of precisely manufacturing customized microneedle array patches via inkjet drug printing*. Int J Pharm 642, 123173.

3.2.1. Hintergrund

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung und Charakterisierung einer TZ, welche geeignet zur Herstellung von löslichen MNS mittels TSD ist. TSD wurde bereits als geeignete Herstellungsmethode anderer Arzneiformen wie orodispersibler Filme [151] beschrieben. Vor allem die Verwendung zur Herstellung personalisierter Arzneiformen ist hervorzuheben [152]. Es sollen zunächst mehrere wasserbasierte Polymerformulierungen charakterisiert werden, die als Kandidaten für das Verdrucken mittels TSD infrage kommen. Die Charakterisierung erfolgt anhand verschiedener physikochemischer Eigenschaften der TZ und der Berechnung der dimensionslosen Z-Zahl (Kapitel 1.4.3.). Im Anschluss sollen geeignete Druckparameter für die am besten geeignete TZ gefunden werden. Die Druckeigenschaften sind für den präzisen Druckerfolg von entscheidender Bedeutung. In einem zweiten Schritt wird LIS als Modell-AS der TZ hinzugesetzt. Diese arzneistoffhaltige Formulierung wird verwendet, um Mikrometer-große Kavitäten einer Silikonmatrize zu füllen. Die Silikonmatrize dient als Negativ für die Mikronadeln. Verschiedene Trocknungsparameter sollen untersucht werden, um den Herstellungsprozess der MNS zu optimieren und eine geeignete Polymerlösung zu finden, welche als DS aufgebracht werden kann. Im Anschluss werden die MNS hinsichtlich der folgenden Eigenschaften charakterisiert: Integrität, mechanische Stabilität, Eindringverhalten in ein künstliches Hautmodell und AS-Gehalt. Es sollen verschiedene Druckmuster angefertigt werden. Diese unterscheiden sich in Anordnung und Anzahl der Mikronadeln. Die Herstellungsmethode von MNS mittels TSD soll hinsichtlich der Eignung für die Anwendung in der personalisierten Therapie charakterisiert werden. Des Weiteren werden MNS mittels einer konventionell verwendeten Zentrifugationsmethode hergestellt. Bei der Herstellung von MNS mittels der Zentrifugationsmethode werden arzneistoffhaltige Polymerlösungen im Überschuss hinzugegeben [112, 125]. Dabei verbleibt meistens ein Rest des AS in der DS und steht anschließend nicht mehr für eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe zur Verfügung [140]. Daher soll ebenfalls untersucht werden, ob die Herstellung von MNS mittels TSD zu einer Reduktion des Verbrauchs an nicht an der Wirkung beteiligtem AS beitragen kann.

3.2.2. Arzneistofffreie Tintenformulierungen

3.2.2.1. Auswahl der Hilfsstoffe

Die TZ, welche zur Herstellung von löslichen MNS mittels TSD verwendet wurde, musste verschiedene kritische Qualitätsanforderungen erfüllen. Zunächst sollte ein wasserlösliches Polymer verwendet werden. Diese Polymere lösen sich nach Durchstechen des SC schnell in der subkutanen Flüssigkeit auf [102]. Des Weiteren war eine wasserbasierte TZ von Vorteil, da im Anschluss an die Trocknung keine reizenden LM in den MNS zurückblieben. MNS enthalten oftmals einen WM, da die mechanischen Eigenschaften der Mikronadeln auf diese Weise geschickt angepasst werden können [185]. Die Mikronadeln müssen nach dem Trocknen mechanisch robust genug sein, um das SC durchstechen zu können. Sind die Nadeln zu spröde, resultiert dies im Brechen der Nadeln und diese durchstechen das SC nicht erfolgreich.

Außerdem musste die Tinte strenge Anforderungen erfüllen um einen erfolgreichen Druckprozess zu garantieren. Wichtig ist die Benetzbarkeit der Düse des Druckkopfes mit der Tinte [163]. Ist die Benetzbarkeit nicht ausreichend, resultiert dies in der Bildung von Luftblasen in der Düse. Der Druckprozess ist in der Folge unpräzise und die Dosierung des Arzneistoffes ist nicht gewährleistet.

Es wurde sich bei der Auswahl der Hilfsstoffe an wasserlöslichen Polymeren orientiert, welche bereits zur Herstellung von MNS verwendet wurden. Als WM für spröde Polymere wurde Gly verwendet. Den TZ wurde 1 % Polysorbat (PS) 20 hinzugesetzt, um die Benetzbarkeit der Düse zu erhöhen. Die Auswahl der Hilfsstoffe anhand einer Literaturrecherche sind Tabelle 3 zu entnehmen.

Tabelle 3: Überblick über Hilfsstoffe; verwendet für die Herstellung von MNS und TSD; Stand Oktober 2024

Hilfsstoff	Funktion	Referenz
PVP	Nadelbildendes Polymer	[128, 184]
PUL	Nadelbildendes Polymer	[180]
HPMC	Nadelbildendes Polymer	[108, 172]
PEG	Nadelbildendes Polymer	[186]
Gly	WM	[185]
PS 20	Tensid; Stabilisator TSD	[150]

3.2.2.2. Formulierungsentwicklung

Es wurden die TZ F1 – 11 (Tabelle 19) hergestellt und charakterisiert. Der Polymeranteil in der Formulierung musste ausreichend hoch sein, dass nach Trocknung der MNS Nadeln gebildet werden, welche ausreichend stabil sind und kein Schrumpfen aufweisen. Des Weiteren mussten die TZ verdruckbar sein. Die Eigenschaften, die das Verhalten von Tinten während des Druckprozesses maßgeblich beeinflussen, sind die η , σ und ρ [162]. Ist die η einer TZ zu hoch, kann diese nicht verdruckt werden und die Düse verstopft. Allerdings führt eine zu

geringe η zu einer unzureichenden Adjustierung der Tropfenform. Es können sich sogenannte Satellitentropfen bilden. Dabei handelt es sich um kleinere Tropfen, welche sich von dem Haupttropfen separieren. Die Bildung von Satellitentropfen führt zu einer nicht steuerbaren Flugbahn der Tropfen und einem unzureichend präzisen Füllen der Kavitäten.

Diese Anforderungen an die TZ werden durch die dimensionslose Z-Zahl beschrieben (Gleichung 4). Diese fasst die physikochemischen Eigenschaften η , ρ und σ bei einer bestimmten verwendeten Düsendgröße einer TZ zusammen. Generell wird empfohlen, eine TZ mit $1 < Z < 10$ zu verwenden [166]. Z-Zahlen < 1 bedeuten, dass die Tinte zu viskos ist, um verdruckt zu werden. Eine Z-Zahl > 10 hingegen indiziert die bevorzugte Bildung von Satellitentropfen. Die Ergebnisse der Charakterisierung der TZ F1 – 11 sind der Tabelle 4 zu entnehmen.

Tabelle 4: Ergebnisse der Tintencharakterisierung; Gezeigt sind Werte für η , σ und ρ ($\bar{x} \pm sd$; n=90 für η , n=30 für σ , n=3 für ρ)

Name	TZ Polymer	η [mPa*s]	σ [mN/m]	ρ [kg/m ³]	Z-Zahl
F1	PVP K12	26,26 $\pm 0,44$	31,92 $\pm 0,30$	1085,21 $\pm 4,27$	1,58
F2	PVP K17	15,18 $\pm 0,27$	32,55 $\pm 0,26$	1066,27 $\pm 1,10$	2,74
F3	PVP K17	8,96 $\pm 0,12$	32,84 $\pm 0,22$	1052,12 $\pm 5,41$	4,70
F4	HPMC	9,23 $\pm 0,13$	36,71 $\pm 0,33$	1014,22 $\pm 9,01$	4,68
F5	HPMC	54,31 $\pm 0,80$	35,03 $\pm 0,65$	1020,91 $\pm 3,38$	0,78
F6	PUL	11,50 $\pm 0,15$	35,23 $\pm 0,32$	1018,12 $\pm 1,73$	3,68
F7	PUL	75,36 $\pm 1,10$	34,40 $\pm 0,75$	1033,83 $\pm 3,57$	0,56
F8	PEG 1500	11,24 $\pm 0,17$	31,52 $\pm 0,16$	1061,35 $\pm 1,18$	3,64
F9	PEG 1500	22,93 $\pm 0,29$	31,32 $\pm 0,20$	1073,54 $\pm 4,95$	1,79
F10	PEG 3000	15,44 $\pm 0,19$	31,07 $\pm 0,13$	1053,06 $\pm 1,68$	2,62
F11	PEG 3000	22,95 $\pm 0,27$	31,13 $\pm 0,14$	1060,03 $\pm 1,54$	1,77

F5 und F7 enthielten 10 % Hypromellose bzw. PUL. Diese Formulierungen wiesen Z-Zahlen < 1 auf. Damit waren diese Formulierungen zu viskos, um mittels TSD verdruckt zu werden. Aus diesem Grund wurden F5 und F7 von weiteren Charakterisierungen ausgeschlossen. Die Z-Zahlen aller anderen verbleibenden TZ waren im angestrebten Bereich zwischen 1 und 10. Das Verdrucken mittels TSD war mit allen TZ möglich. Um im Anschluss an den Trocknungsprozess intakte Mikronadeln zu erhalten, wurde ein ausreichend hoher

Polymergehalt in der TZ benötigt. Die TZ F4 und F6 enthielten den geringsten Anteil an Polymer (5 % Hypromellose bzw. 5 % PUL). Die Bildung von ausreichend stabilen und gut ausgebildeten Mikronadeln war nicht möglich bei der Verwendung dieser Formulierungen. Als Hypromellose-Typ wurde Pharmacoat® 603 verwendet, welches ein geringes Molekulargewicht aufweist. Die Verwendung anderer Hypromellose-Typen mit höherem Molekulargewicht würde zu einer starken Erhöhung der η führen. Aus diesem Grund wurde HPMC als wasserlösliches Polymer zur Herstellung von MNS mittels TSD ausgeschlossen. PUL wurde ebenfalls ausgeschlossen, da eine Erhöhung des Polymeranteils ebenfalls in einer zu hohen η resultierte.

Es wurden jeder Formulierung 4,0 % Gly als WM hinzugesetzt. Dennoch waren sämtliche TZ, welche PEG als nadelbildendes Polymer enthielten (F8 – 11) nach dem Trocknen zu spröde, um stabile Mikronadeln zu bilden. Diese Mikronadeln konnten nicht aus der Matrize entnommen werden, ohne die Nadeln zu brechen. Deshalb wurden auch diese Formulierungen von einer weiteren Charakterisierung ausgeschlossen.

Die TZ F1 – 3 enthielten Povidon als nadelbildendes Polymer. F1 enthielt PVP K12. Dabei handelt es sich um ein Polymer mit sehr kurzer Kettenlänge. Allerdings weist Povidon mit sinkendem Molekulargewicht eine steigende Hygroskopizität auf. Nach ersten Vorversuchen mit F1 wurde festgestellt, dass die hergestellten Mikronadeln sehr hygroskopisch waren. Die Nadeln veränderten ihre Gestalt und wurden nach wenigen Minuten stumpf. Die erforderlichen präventiven Maßnahmen, um dieser Veränderung während der Herstellung entgegenzuwirken, wurden als zu aufwendig bewertet (z.B. Herstellung bei verringerter relativer Luftfeuchte). Auch wenn die Z-Zahl der TZ F2 2,74 betrug, konnte kein stabiler Druckprozess generiert werden. F3 hingegen ließ sich verdrucken. Es bildeten sich keine Satellitentropfen und der Feststoffanteil war hoch genug, dass Mikronadeln nach der Trocknung gebildet wurden. Aus diesen Gründen wurde F3 als die am besten geeignete TZ für den Herstellungsprozess von MNS mittels TSD ausgewählt.

3.2.3. Lisinopril-haltige Tinte

Es wurden 1750,0 mg LIS in 50,0 ml der TZ F3 gelöst. Die resultierende AS-Konzentration betrug somit 35,0 mg/ml.

3.2.3.1. Ermittlung geeigneter Tintenstrahldruck-Parameter

F3 wurde als die am besten geeignete TZ charakterisiert (Kapitel 3.2.2.2.). Die allgemeine Verdruckbarkeit der Tinte ist jedoch nicht das einzige Entscheidungskriterium. Die gedruckten Tropfen sollten zusätzlich ein möglichst großes Volumen aufweisen. Die Tropfen wiesen ein Volumen weniger Picoliter auf und jede einzelne Kavität fasste 27 nl. Die Tropfen sollten möglichst groß sein, sodass die Druckzeit minimiert werden konnte. Es handelte sich bei dem

PixDro LP 50 um einen DOD-Tintenstrahldrucker. Dies bedeutet, dass immer ein Tropfen nach dem anderen generiert wird. Somit konnte die Prozessdauer minimiert werden, indem bei einer konstanten Frequenz möglichst große Tropfen verdruckt wurden. Des Weiteren sollten die Tropfen eine möglichst hohe Geschwindigkeit aufweisen. Damit konnte ein präzises Füllen der Kavitäten sichergestellt werden. Bei dem Verdrucken mit einer höheren Tropfengeschwindigkeit ist die Abweichung des Tropfens in x- und y-Richtung geringer. Dadurch ist das Befüllen der mikrometergroßen Kavitäten möglich.

Der Tropfen-Impuls (englisch *droplet momentum*, DM,) ist das Produkt aus Tropfenmasse und -geschwindigkeit und kombiniert somit beide Anforderungen.

Gleichung 5:
$$DM = m_T * v_T$$

Des Weiteren haben die Haltezeit der angelegten Spannung und die Aktivierungs-Wellenform der Spannung am Druckkopf einen Einfluss auf das Volumen und die Geschwindigkeit der gedruckten Tropfen [187]. Die verwendete Wellenform ist schematisch der Abbildung 11 zu entnehmen.

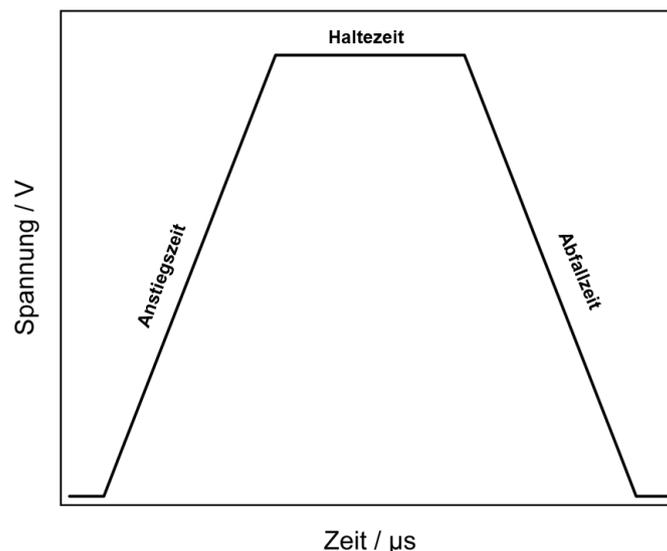


Abbildung 11: Schematische Darstellung der zur Aktivierung einer Tropfenabgabe verwendeten Wellenform am piezoelektrischen Druckkopf

Zunächst steigt die Spannung an (Anstiegszeit), bis sie den maximalen eingestellten Wert (hier 100,0 V) erreicht. Anschließend wird die maximale Spannung für eine definierte Zeit gehalten (Haltezeit), ehe sie wieder auf den Ausgangswert abfällt (Abfallzeit). Die Haltezeit wurde zwischen 0 – 25 µs in 0,5 µs-Schritten variiert. Die gedruckten Tropfen wurden hinsichtlich Volumen und Geschwindigkeit analysiert. Die Druckfrequenz wurde mit 500 Hz konstant gehalten. Die Ergebnisse des Einflusses der Haltezeit auf das DM sind in Abbildung 12 dargestellt.

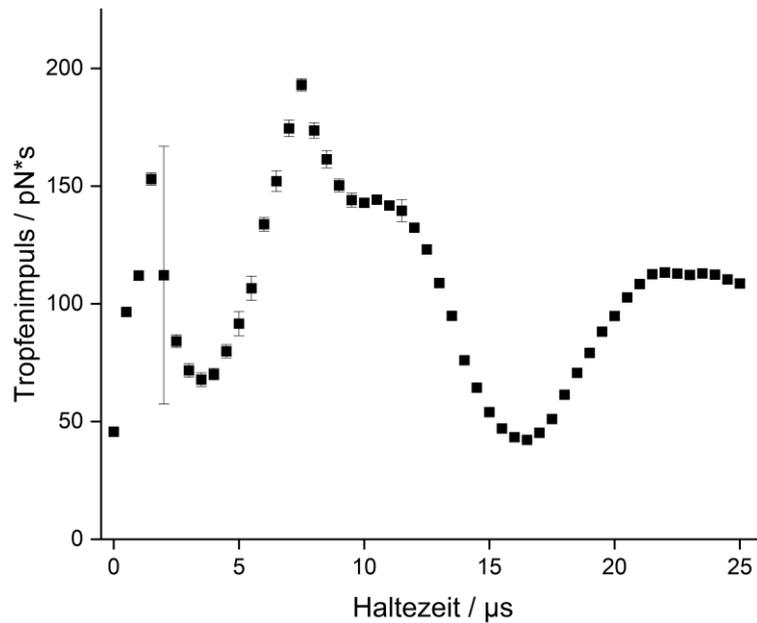


Abbildung 12: Einfluss der Haltezeit auf den Tropfenimpuls; $f = 500 \text{ Hz}$, $\bar{x} \pm \text{sd}$, $n=9$

Das DM war am höchsten, wenn eine Haltezeit von $7,5 \mu\text{s}$ am Druckkopf angelegt wurde. Die gedruckten Tropfen hatten ein Volumen von $68,8 \pm 0,54 \text{ pl}$ und wiesen eine Geschwindigkeit von $9,79 \pm 0,20 \text{ m/s}$ auf. Beispielhafte Tropfen sind in der Abbildung 13 dargestellt. Bei einer Haltezeit von $14,5 \mu\text{s}$ wiesen die Tropfen ebenfalls ein großes Volumen von $69,2 \pm 0,68 \text{ pl}$ auf. Allerdings waren die Tropfen mit einer Geschwindigkeit von $4,35 \pm 0,08 \text{ m/s}$ vergleichsweise langsam. Andere Tropfen waren deutlich kleiner und langsamer ($53,8 \pm 0,6 \text{ pl}$ und $1,58 \pm 0,01 \text{ m/s}$) wie zum Beispiel bei einer Haltezeit von $20 \mu\text{s}$. Aufgrund des höchsten DM, wurde die Einstellung der Haltezeit von $7,5 \mu\text{s}$ für die Herstellung von löslichen MNS mittels TSD verwendet. Außerdem konnte festgestellt werden, dass die Tropfen bei einer Haltezeit von $7,5 \mu\text{s}$ keine Bildung von Satellitentropfen aufwiesen. Dies ermöglichte einen stabilen und präzisen Druckprozess. Die verwendeten Einstellungen zur Herstellung von MNS mittels TSD sind in Tabelle 25 zusammenfassend dargestellt.

Eine Übersicht über die Tropfenmorphologie bei sämtlichen untersuchten Haltezeiten ist dem Anhang zu entnehmen (Abbildung 79 und Abbildung 80). Ebenso sind die Ergebnisse der Berechnung des DM dem Anhang zu entnehmen (Tabelle 29).

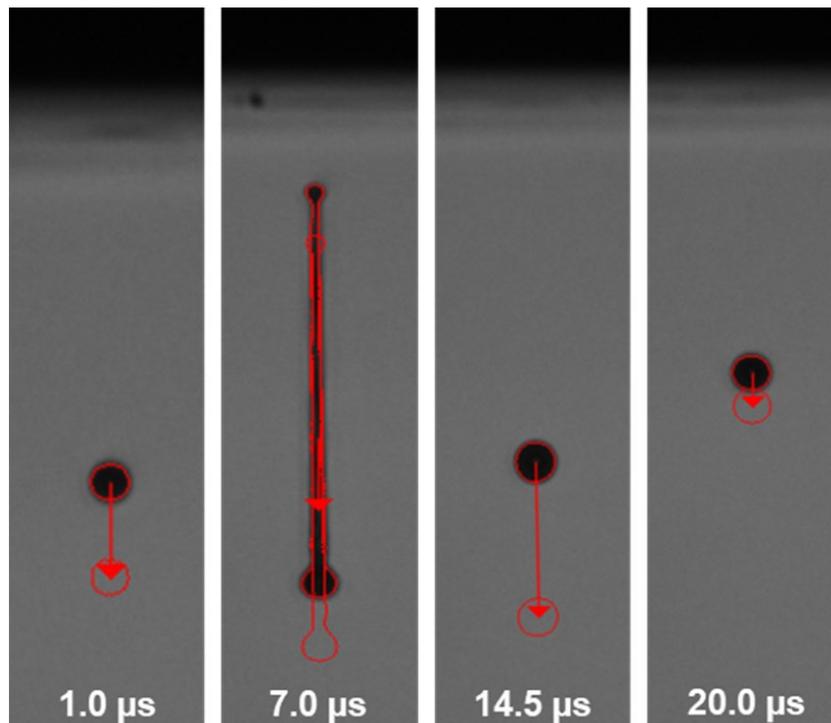


Abbildung 13: Exemplarische Darstellung von Tropfen gedruckt mit unterschiedlichen Haltezeiten; TZ F3; $f = 500 \text{ Hz}$

3.2.3.2. Überprüfung des Druckerfolges

Zur Herstellung von MNS mittels TSD wurden Silikonmatrizen als Negativ für die Mikronadeln verwendet. Es wurden Matrizen verwendet, welche sich zur Herstellung von MNS mit 37 Mikronadeln eigneten. Jede Kavität wies eine Grundfläche von $300 \times 300 \mu\text{m}$ auf. Die Höhe der Nadeln betrug $900 \mu\text{m}$. Eine solche Matrize ist in Abbildung 14 A und B dargestellt. Während des Herstellungsprozesses wurden Aufnahmen mit der Kamera des Pixdro LP50 gemacht (Abbildung 14 C). Zunächst wurden leere Kavitäten aufgenommen. Anschließend wurden die Kavitäten über manuelle Ansteuerung befüllt (Kapitel 5.2.3.2. und 5.3.1.). Der Druckerfolg wurde ebenfalls mit der Kamera des Druckers überprüft (Abbildung 14 D).

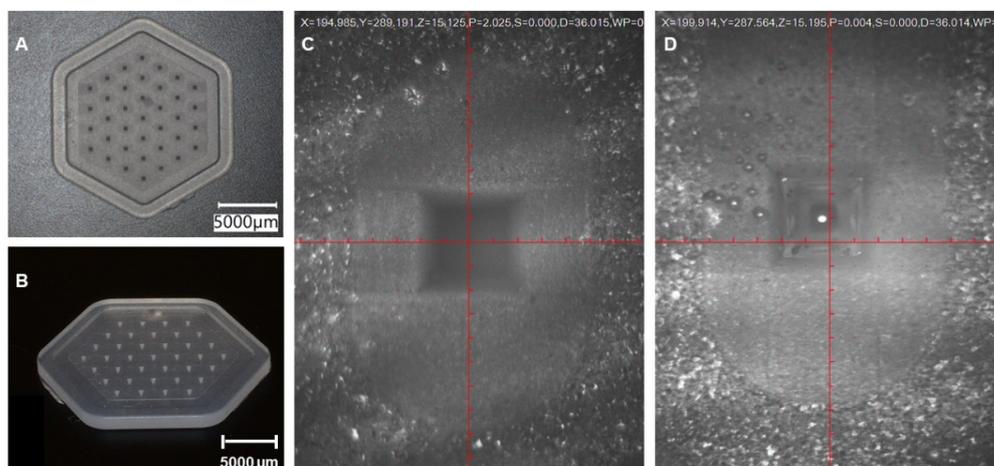


Abbildung 14: Digitalmikroskopische Aufnahmen der Silikonmatrize (A: Aufsicht, B: Seitenansicht; eingestellte Vergrößerung am Mikroskop 10 x); Aufnahmen einer einzelnen Kavität (C: vor dem Befüllen, D: nach dem Befüllen)

Es war eindeutig zu erkennen, dass die einzelnen Kavitäten erfolgreich mit der TZ F3 gefüllt werden konnten. Das Befüllen erfolgte präzise mit Hilfe des Tintenstrahldruckers. Es konnte also davon ausgegangen werden, dass sich diese Methode dazu eignet, MNS mittels TSD herzustellen. Es wurden verschieden personalisierte Druckmuster angefertigt (Kapitel 5.3.2.). Die Charakterisierung dieser MNS ist in den nachfolgenden Sektionen beschrieben.

3.2.4. Untersuchung geeigneter Trocknungsparameter

Bevor die mittels TSD hergestellten MNS charakterisiert werden konnten, mussten zunächst eine geeignete Formulierung für die DS sowie geeignete Trocknungsparameter gefunden werden. Dazu wurden in einem ersten Schritt die Polymerlösungen DS 1 – 6 untersucht. Die Kavitäten wurden mit Hilfe der Zentrifugationsmethode (Kapitel 5.2.3.1.) mit der TZ F3 gefüllt. Die Trocknungszeit der Kavitäten wurde mit 60 min konstant gehalten und die Trocknung wurde unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt (Kapitel 5.4.5.). Anschließend wurden die Lösungen DS 1 – 6 aufgebracht. Als Zielgröße diente die Anzahl gut ausgebildeter Mikronadeln. Die Definition, welche Mikronadeln als gut ausgebildet angesehen wurden, ist dem Kapitel 5.4.5.1. zu entnehmen. Die Ergebnisse der Variation der DS sind der Tabelle 5 zu entnehmen.

Tabelle 5: Anzahl gut ausgebildeter Mikronadeln für die jeweilige Formulierung der DS; $\bar{x} \pm sd$, n=6

DS	Anzahl gut ausgebildeter Mikronadeln
DS 1	33 ± 2
DS 2	6 ± 5
DS 3	19 ± 8
DS 4	11 ± 11
DS 5	14 ± 9
DS 6	-

DS 1 wurde als die am besten geeignete Polymerlösung für die DS identifiziert. Es waren 33 ± 2 Mikronadeln gut und spitz ausgebildet (Abbildung 15 A). DS 1 enthielt den höchsten Wasseranteil (75,5 %) und kein EtOH. Die Verwendung von EtOH sorgte dafür, dass die DS spröde wurde. Dadurch waren die hergestellten MNS nur schwierig zu handhaben und die DS brach. DS 6 enthielt mit 30,0 % den geringsten Wasseranteil und einen hohen EtOH-Gehalt. Die gebildete DS war zu spröde und es konnten keine zusammenhängenden Nadeln der Matrizie entnommen werden (Abbildung 15 B).

Im zweiten Schritt wurde die Trocknungszeit der gefüllten Kavitäten variiert. Diese Untersuchungen wurden mit DS 1 durchgeführt. Die Trocknungszeit der DS wurde dabei konstant gehalten. Die Ergebnisse sind der Tabelle 6 zu entnehmen.

Tabelle 6: Variation der Trocknungszeit der Mikronadeln; DS 1 für die DS; $\bar{x} \pm sd$, n=6

Trocknungszeit der Mikronadeln [min]	Anzahl gut ausgebildeter Mikronadeln
15	17 ± 2
30	31 ± 5
60	33 ± 2
120	10 ± 3

Eine Trocknungszeit von 15 min der gefüllten Kavitäten war zu kurz. Die Mikronadeln waren noch feucht und die entnommenen Mikronadeln waren verformt (Abbildung 15 C). Die Trocknungsdauer von 120 min war zu lang für die gefüllten Kavitäten. Die Nadeln wurden zu trocken und brachen während des HerauslöSENS aus der Matrize zum Großteil ab. Die Trocknungszeit der Kavitäten von 60 min wurde als optimaler Trocknungsparameter ermittelt, da die Anzahl gut ausgebildeter Mikronadeln am größten und die Streuung zwischen den einzelnen MNS am kleinsten war.

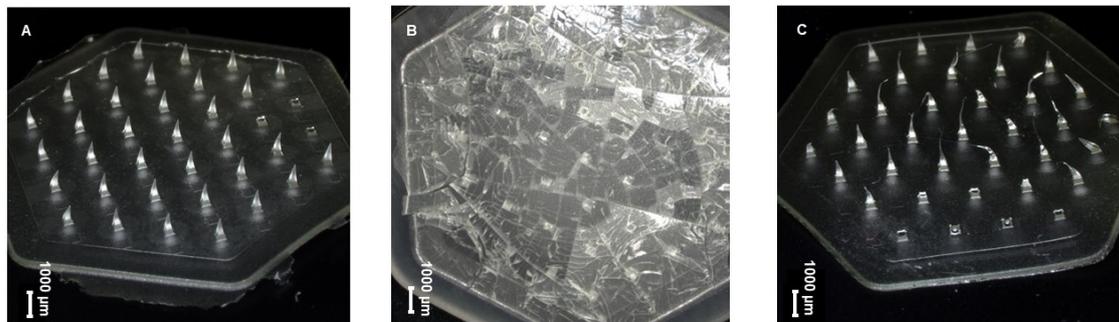


Abbildung 15: MNS mit unterschiedlichen Trocknungsparametern; A: Trocknung der Kavitäten für 1 h mit DS 1; B: Trocknung der Kavitäten für 1 h mit DS 6; C: Trocknung der Kavitäten für 15 min mit DS 1

Die löslichen MNS wurden folglich mit DS 1 als Polymerlösung für die DS hergestellt. Die Kavitäten wurden in einem ersten Schritt 1 h getrocknet und im Anschluss wurde DS 1 aufgetragen. Die DS wurde im Anschluss für 30 h getrocknet. Sämtliche Trocknungsschritte fanden bei 27 °C im Exsikkator über frisch aktiviertem Silicagel statt.

Diese Trocknungsparameter sind vergleichbar mit in der Literatur beschriebenen Herstellungsmethoden von MNS aus PVP. So wurden MNS aus PVP hergestellt durch Trocknung für 48 h bei Raumtemperatur [140] oder durch Trocknung für 24 h bei 37 °C [188]. Es konnte gezeigt werden, dass die Trocknung der MNS eine entscheidende Rolle spielt, um eine optimale mechanische Eigenschaft für die Applikation der MNS zu gewährleisten. Bei einer zu langen Trocknungszeit waren die MNS zu spröde, sodass sie bei der Applikation brechen würden. Ist die Trocknungszeit der gefüllten Kavitäten zu kurz, entstehen unförmige Nadeln, welche ebenfalls nicht den geforderten Qualitätsmerkmalen entsprechen.

3.2.5. Charakterisierung von löslichen Mikronadelsystemen

3.2.5.1. Optische Charakterisierung

Es wurden drei verschiedene personalisierte Druckmuster von löslichen MNS mittels TSD hergestellt (Kapitel 5.3.2.). Dabei wurden zunächst sämtliche 37 Kavitäten der Matrize gefüllt (TSD komplett). Anschließend wurde ausschließlich die obere Hälfte der Kavitäten gefüllt (TSD obere Hälfte). Als letztes Druckmuster wurden abwechselnd Kavitäten gefüllt und ausgelassen (TSD abwechselnd). Die hergestellten MNS wurden zunächst digitalmikroskopisch analysiert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 16 dargestellt. F3 wurde vor dem Drucken mit Amaranth angefärbt, damit der Druckprozess besser nachverfolgt werden konnte.

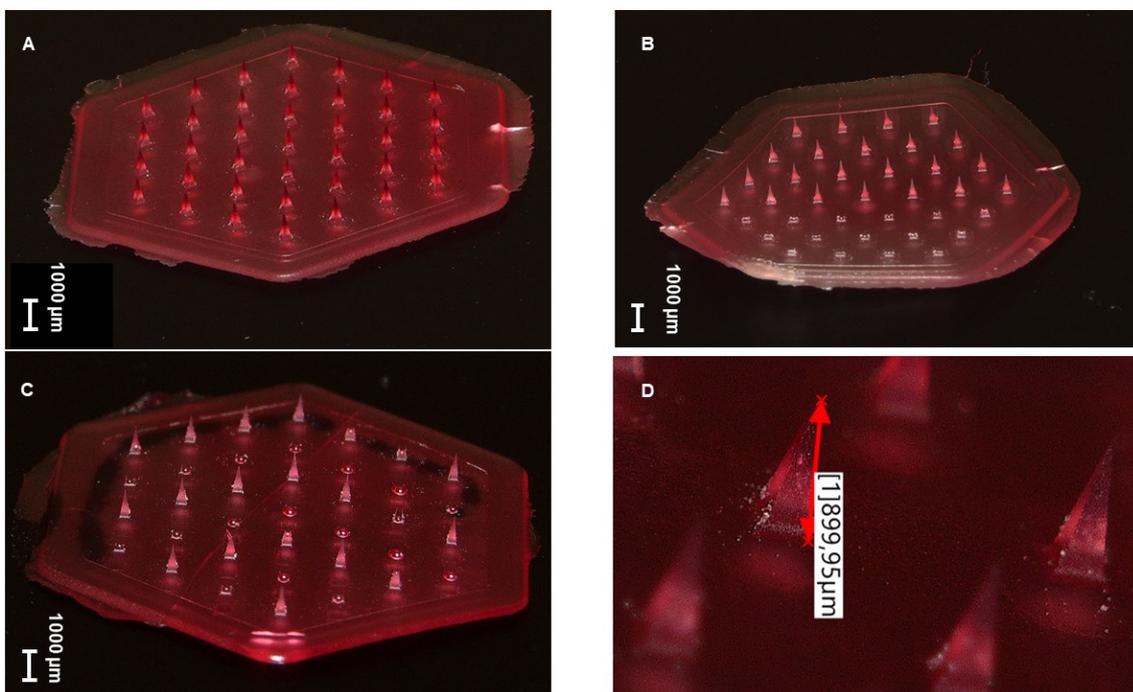


Abbildung 16: MNS hergestellt mittels TSD; A: Füllen aller 37 Kavitäten der Matrize; B: Füllen der oberen Hälfte der Kavitäten der Matrize; C: Abwechselnd gefüllte und ausgelassene Kavitäten der Matrize; D: Exemplarische Messung einer einzelnen Mikronebel

Jede Kavität wurde vollständig befüllt. Die Anzahl an gedruckten Tropfen konnte über das zuvor bestimmte Volumen eines einzelnen Tropfens berechnet werden. Ein Tropfen hatte ein Volumen von 68,8 pl. Jede Kavität wies ein Volumen von 27 nl auf. Somit wurden pro Kavität 400 Tropfen gedruckt. Abbildung 16 ist zu entnehmen, dass es möglich war, MNS mittels TSD herzustellen. Sämtliche Druckmuster konnten erfolgreich und präzise hergestellt werden. Es konnten erfolgreich 22 Mikronadeln hergestellt werden, welche ausschließlich auf der oberen Hälfte des MNS lokalisiert werden (Abbildung 16 B). Als weiteres Muster wurde erfolgreich die abwechselnde Anordnung von Mikronadeln und Leerstellen hergestellt (Abbildung 16 C). Des Weiteren wurde die Form und Größe der gedruckten Mikronadeln analysiert. Die getrockneten Mikronadeln waren spitz und pyramidal. Außerdem zeigten die Mikronadeln kein Schrumpfen

(Abbildung 16 D). Die Mikronadeln zeigten auch nach der Trocknung eine mit der Zielhöhe von 900 µm übereinstimmende Nadellänge.

In dieser Versuchsreihe konnte gezeigt werden, dass sich TSD als Herstellungsmethode für MNS eignet. Das Verfahren wurde bereits als Herstellungsmethode beschrieben [160]. Allerdings wurden in dieser Studie ausschließlich einzelne Nadeln hergestellt. Das präzise Füllen von zuvor definierten Kavitäten zur Herstellung personalisierter Druckmuster wurde nicht gezeigt. Die in diesem Kapitel beschriebenen Ergebnisse zeigten, dass die Anzahl an Mikronadeln in einem MNS mittels TSD präzise variiert werden kann. Dadurch ist es denkbar, dass auch die Dosis an AS pro MNS für die personalisierte Therapie unter Verwendung der gleichen TZ möglich ist. Die präzise Füllung einzelner Kavitäten und das bewusste Auslassen anderer Kavitäten stellt außerdem einen interessanten Ansatz dar, um inkompatible AS in einem MNS zu kombinieren.

3.2.5.2. Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften

Die relative HR nach Kompression der löslichen Mikronadeln wurde als Maß für die mechanische Stabilität verwendet. Eine große relative HR indizierte weiche Nadeln, welche sich während des Tests bogen. Diese Mikronadeln wären tendenziell zu weich für eine erfolgreiche transdermale Applikation und würden das SC nicht durchstechen. Ein Brechen der Mikronadeln während der Kompression wurde als nicht Bestehen des Tests definiert. Diese Mikronadeln würden auch während der Applikation brechen und könnten den AS nicht transdermal verabreichen. Die Durchführung des Testes ist dem Kapitel 5.4.8. zu entnehmen.

Es wurde bereits beschrieben, dass eine prozentuale HR der Mikronadeln < 10 – 15 % indiziert, dass sich diese MNS für eine erfolgreiche und ausreichende transdermale AS-Abgabe eignen [134, 178]. Daher wurde dieser Größenbereich der relativen HR auch für die mittels TSD hergestellten MNS angestrebt. Die Ergebnisse der Bestimmung der relativen HR sind der Abbildung 17 zu entnehmen.

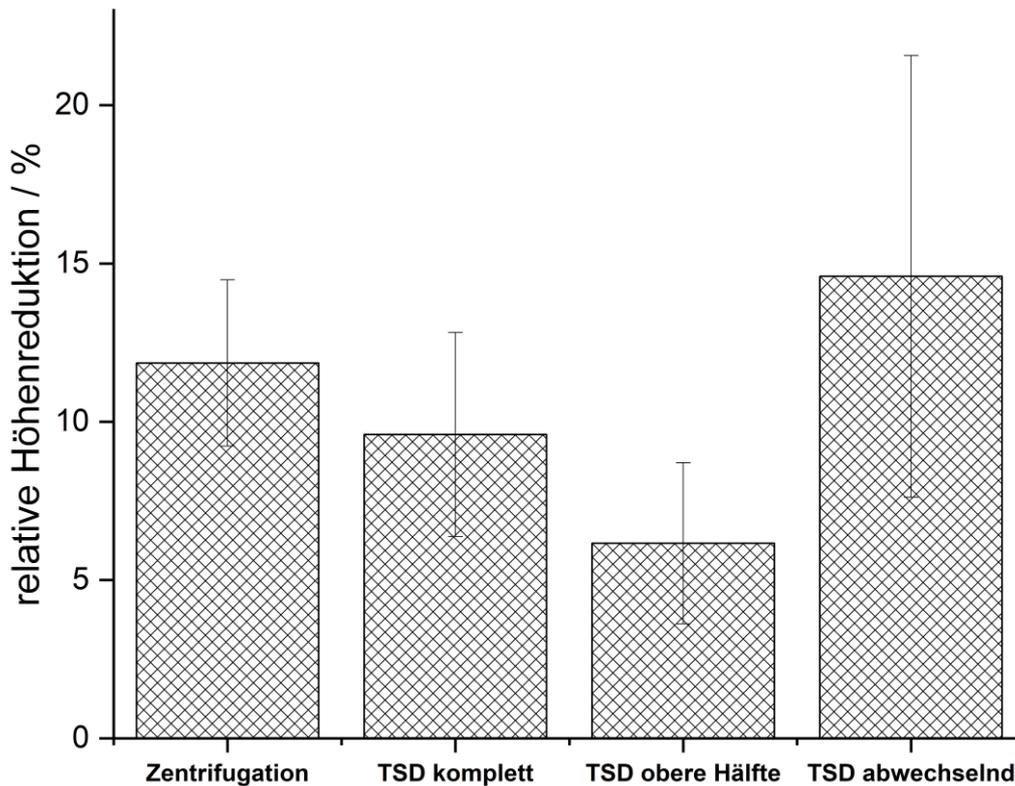


Abbildung 17: Mechanische Stabilität der MNS; Bestimmung mittels Texture Analysers bei einer Kraft von 32 N, gehalten für 30 s und Vermessung der Nadelhöhe vor und nach Kompression; gezeigt sind die relativen HR von MNS hergestellt mittels Zentrifugationsmethode und TSD der unterschiedlichen Druckmuster; $\bar{x} \pm sd$, n=6

Die relative HR der Mikronadeln, welche mittels TSD hergestellt wurden betrug $9,6 \pm 3,2$ % (TSD komplett), $14,6 \pm 7,0$ % (TSD abwechselnd) und $6,2 \pm 2,5$ % (TSD obere Hälfte). Insgesamt ließ sich also feststellen, dass sämtliche mittels TSD hergestellte MNS eine relative HR von < 15 % aufwiesen. Das personalisierte Muster, welches abwechselnd Mikronadeln und Leerstellen aufwies, zeigte die größte HR. Dies lässt sich damit erklären, dass der Abstand zwischen den Nadeln bei diesem Muster am größten war. Damit waren die MNS insgesamt instabiler als die anderen beiden Muster. Diese Druckmuster (TSD komplett und TSD obere Hälfte) wiesen eine HR < 10 % auf.

Insgesamt war die mechanische Stabilität der MNS ausreichend gut. Die Mikronadeln waren auch nach Kompression spitz und intakt. Es wurde keinerlei Brechen beobachtet. Es wurden bereits MNS aus PVP hergestellt, welche vergleichbare HR aufwiesen [189]. Diese MNS eigneten sich für die transdermale Applikation von IBU-Natrium. TSD stellte eine vergleichbare Herstellungsmethode dar. Die resultierenden MNS entsprachen den beschriebenen mechanischen Anforderungen. Weitere Charakterisierungen waren nötig, um die MNS hinsichtlich ihres Potentials zur transdermalen AS-Abgabe zu charakterisieren.

3.2.5.3. Penetration in ein künstliches Hautmodell

Als künstliches Hautmodell wurden 8 Schichten Parafilm® M verwendet. Es wurde beschrieben und validiert, dass sich Parafilm® M mechanisch ähnlich zu Schweinehaut verhält [133]. Die Durchführung ist dem Kapitel 5.4.9. zu entnehmen. Für lösliche MNS wurde beschrieben, dass mindestens 2 Schichten Parafilm® M (entsprechen einer Dicke von jeweils 127 µm) durchstochen werden müssen, um eine ausreichende transdermale AS-Abgabe zu erreichen [105]. Bei dieser Eindringtiefe kann der AS die gesamte Epidermis überwinden und anschließend in den Blutgefäßen, welche in der Dermis lokalisiert sind, aufgenommen werden. Die Ergebnisse der Insertion in das künstliche Hautmodell sind der Abbildung 18 zu entnehmen.

99 ± 2 % (TSD komplett), 100 ± 0 % (TSD abwechselnd) und 98 ± 3 % (TSD obere Hälfte) der MNS, welche mittels TSD hergestellt wurden, konnten die 2. Schicht Parafilm® M durchstechen. 64 ± 14 % (TSD komplett), 39 ± 10 % (TSD abwechselnd) bzw. 70 ± 13 % (TSD obere Hälfte) der Mikronadeln waren mechanisch robust genug, um die 5. Schicht Parafilm® M (entsprechen 635 µm) zu durchstechen. MNS mit abwechselnden Nadeln und Leerstellen waren mechanisch weniger robust und durchstachen weniger Schichten des künstlichen Hautmodells.

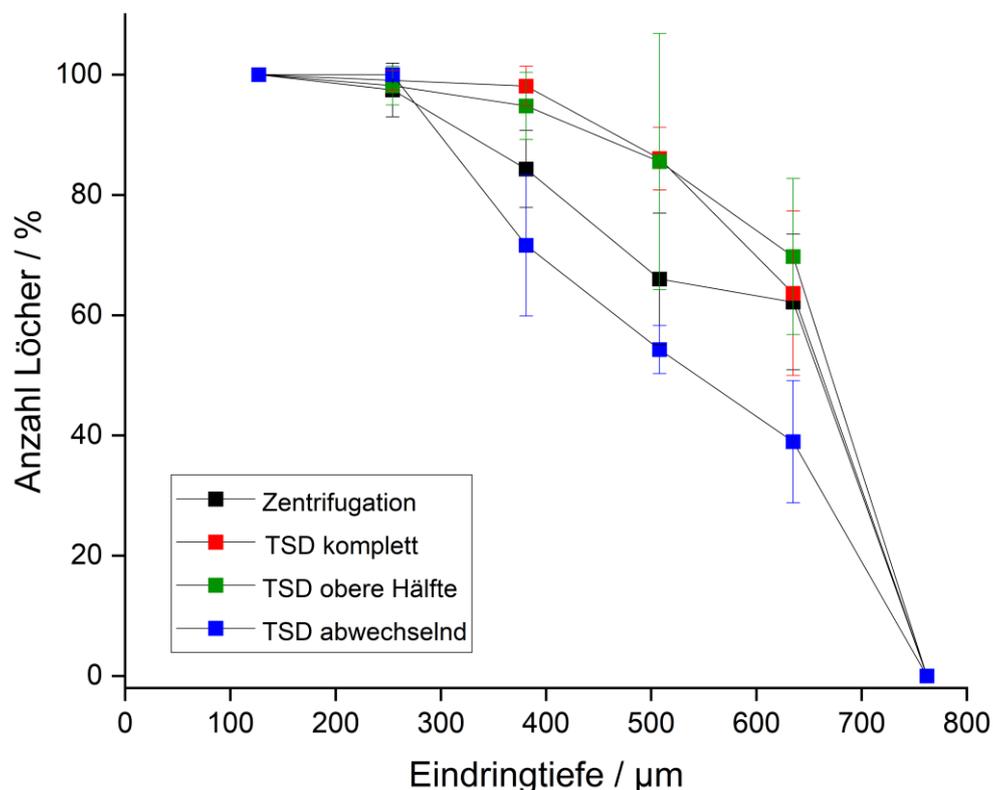


Abbildung 18: Insertion in 8 Schichten Parafilm® M mittels Texture Analysers (Kraft von 32 N, für 30 s gehalten); gezeigt ist die prozentuale Anzahl an Mikronadeln, die die jeweilige Schicht durchstachen; für MNS hergestellt mittels Zentrifugationsmethode und TSD; $\bar{x} \pm sd$, n=3

Es konnte festgestellt werden, dass sämtliche Muster der personalisierten MNS, welche mittels TSD hergestellt wurden, in der Lage waren, mindestens 2 Schichten Parafilm® M zu durchstechen. Es wurde bereits beschrieben, dass dies die Mindesteindringtiefe von Mikronadeln ist, um eine erfolgreiche transdermale Applikation von AS zu ermöglichen [105]. Allerdings kann diese Annahme nicht pauschalisiert werden. Auch die Nadelgeometrie, die Nadellänge und die erforderliche Auflösungszeit der Mikronadeln spielen eine entscheidende Rolle [130].

3.2.5.4. Lisinopril-Gehalt

Der LIS-Gehalt der mittels TSD hergestellten personalisierten MNS wurde mittels Flüssigchromatographie (Kapitel 5.4.6.1.) bestimmt. Der Sollgehalt wurde anhand von Gleichung 6 berechnet (Kapitel 5.3.3.). Die Ergebnisse der Gehaltsbestimmungen sind in Tabelle 7 aufgeführt.

Tabelle 7: Gehaltsbestimmung von MNS mittels Flüssigchromatographie; gezeigt sind die absoluten und relativen Gehalte von LIS; MNS hergestellt mittels Zentrifugationsmethode und TSD; $\bar{x} \pm sd$, n=6

Name MNS	Zieldosis LIS [μg]	Ist-Gehalt LIS [μg]	Ist-Gehalt [%]
Zentrifugation	34,97	80,27 \pm 45,20	229,54 \pm 129,25
TSD komplett	34,97	33,45 \pm 0,98	95,65 \pm 2,86
TSD obere Hälfte	20,77	20,75 \pm 2,08	99,90 \pm 10,01
TSD abwechselnd	18,88	18,44 \pm 1,39	97,67 \pm 7,36

Die MNS, welche mittels TSD hergestellt wurden, enthielten zwischen 95,65 – 99,90 % der angestrebten Zieldosis. Dies zeigte, dass eine Dosierung mittels TSD fein justierbar war. Die kleinen Standardabweichungen indizieren, dass der Herstellungsprozess von MNS mittels TSD präzise war. Es konnte gezeigt werden, dass einzelne Kavitäten der Silikonmatrize zielgenau gefüllt und nach Belieben Kavitäten ausgelassen werden konnten. Dadurch konnte die AS-Dosierung in den getrockneten MNS variiert werden.

Es ließ sich eindeutig demonstrieren, dass TSD geeignet ist für die Herstellung von personalisierten MNS. Die Dosis kann je nach den persönlichen Bedürfnissen des Patienten angepasst werden. Somit konnten unter Verwendung einer einzelnen Tinte durch Füllen exakt definierter Kavitäten verschiedene Dosierungen hergestellt werden.

3.2.6. Vergleich mit konventionell hergestellten Mikronadelsystemen

Des Weiteren sollten die mittels TSD hergestellten MNS mit einer etablierten Methode verglichen werden, die bereits in der Literatur beschrieben ist [101, 104]. Daher wurden ebenfalls MNS mittels einer Zentrifugationsmethode hergestellt. Die Herstellung dieser MNS ist in Kapitel 5.2.3.1. zusammenfassend beschrieben. Zur Herstellung von MNS mit Hilfe der Zentrifugationsmethode wurde ebenfalls TZ F3 verwendet. Als Modellarzneistoff diente LIS, welches in einer Konzentration von 35,0 mg/ml in F3 gelöst wurde.

Die hergestellten MNS wurden mit den gleichen Methoden charakterisiert wie die MNS, welche mittels TSD hergestellt wurden. Die visuelle Charakterisierung ergab ähnliche Ergebnisse wie die mittels TSD hergestellten MNS. Es bildeten sich nach Trocknung spitze, pyramidale und intakte Mikronadeln aus, welche kein Schrumpfen zeigten (Abbildung 19). Die Zielhöhe dieser Mikronadeln von 900 μm wurde konstant erreicht. Die Nadeln wiesen eine Höhe von $899,94 \pm 2,36 \mu\text{m}$ auf.

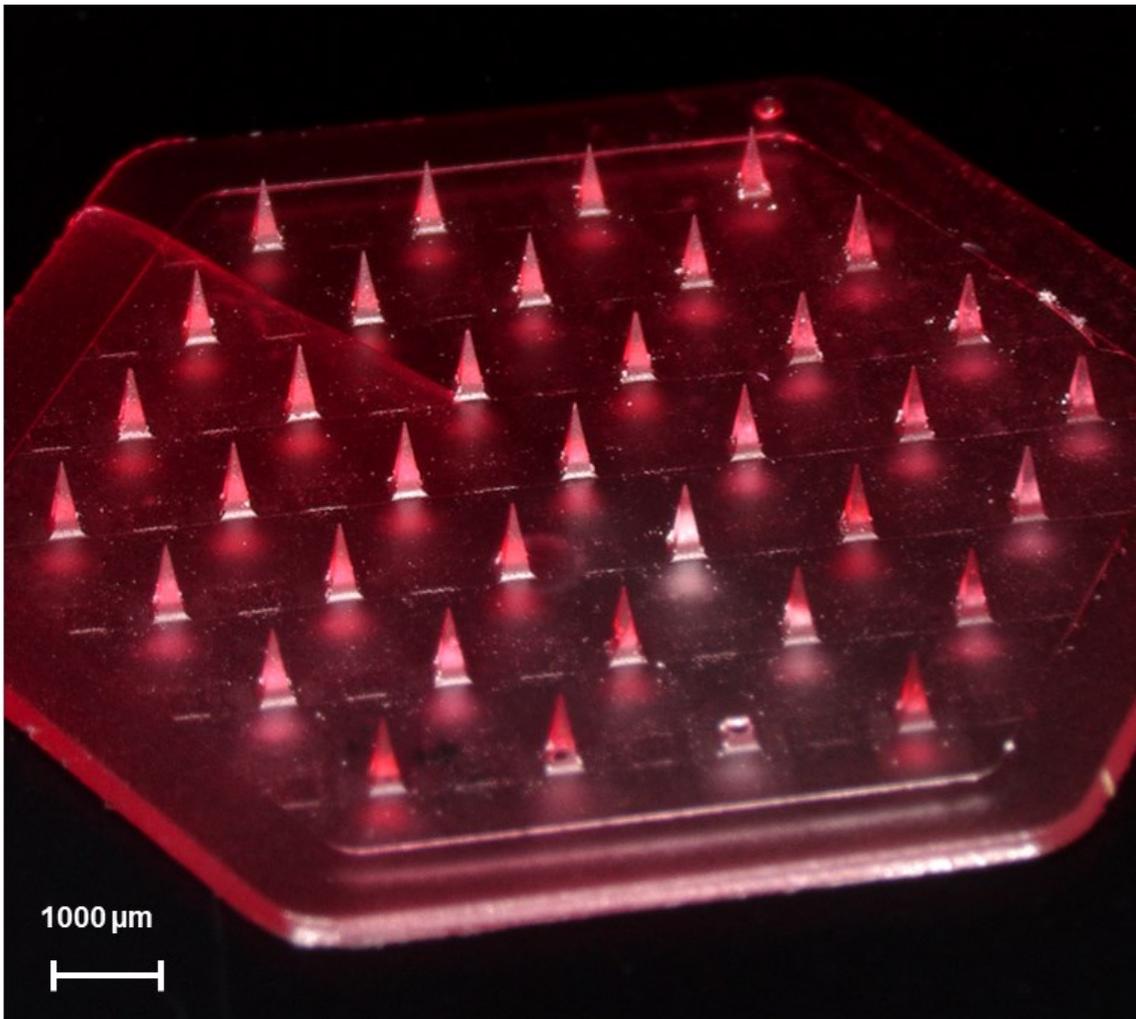


Abbildung 19: Exemplarisches MNS mittels Zentrifugationsmethode hergestellt; Digitalmikroskopische Aufnahme, am Mikroskop eingestellte Vergrößerung: 20 x

Die mechanische Stabilität der MNS war vergleichbar mit derer der MNS, welche mittels TSD hergestellt wurden. Die HR betrug $11,9 \pm 2,6 \%$ (Abbildung 17). Damit war die HR $> 10 \%$, jedoch $< 15 \%$. Die Insertion in 8 Schichten Parafilm[®] M als künstliches Hautmodell war ebenfalls vergleichbar (Abbildung 18). Fast alle Mikronadeln ($97 \pm 4 \%$) durchstachen mindestens zwei Schichten Parafilm[®] M (entsprechend $254 \mu\text{m}$). $62 \pm 11 \%$ der Mikronadeln konnten sogar die fünfte Schicht des künstlichen Hautmodells punktieren. Damit waren auch diese MNS ein vielversprechender Kandidat, um AS transdermal zu applizieren.

Mit der Zentrifugationsmethode ist es nicht möglich, dass einzelne Kavitäten ausgelassen oder zielgenau gefüllt werden. Bei der Zentrifugationsmethode wurde ein Überschuss der Polymerlösung auf die Silikonmatrize aufgegeben [112]. Daher betrug der LIS-Gehalt $80,27 \pm 45,20 \mu\text{g}$. Bezogen auf die AS-Menge, die maximal in den Nadeln vorhanden sein konnte und dementsprechend zur transdermalen Applikation zur Verfügung stehen würde, waren dies $229,54 \pm 129,25 \%$. Dies war damit zu erklären, dass die vollständigen MNS inklusive DS zur Gehaltsbestimmung aufgelöst wurden. Der Großteil des AS verblieb in der DS und wäre somit nicht verfügbar für eine transdermale AS-Abgabe. Im Vergleich zu MNS hergestellt mittels TSD wird bei mittels Zentrifugationsmethode hergestellten MSN ein Großteil der AS-Menge entsorgt.

3.2.7. Zusammenfassende Beurteilung

Eine druckbare TZ wurde entwickelt und charakterisiert. Dabei stellte sich PVP als gut geeignetes wasserlösliches Polymer zur Herstellung von MNS mittels TSD heraus. Nach dem Trocknungsprozess konnten mechanisch robuste Mikronadeln charakterisiert werden, welche spitz, pyramidal sowie intakt waren und kein Schrumpfen aufwiesen. Auch nach Kompression mit einer etablierten Testmethode [133] blieben die Mikronadeln intakt und brachen nicht.

Es war möglich, individuell zu bestimmen, welche Kavitäten mittels TSD befüllt werden sollten und welche Kavitäten ausgelassen wurden. Dadurch war es möglich, die Dosis der MNS präzise anzupassen. Diese Dosisvariation konnte durch Gehaltsbestimmungen gezeigt werden. Dabei betrug der LIS-Gehalt der MNS zwischen $95,65 - 99,90 \%$. Die Dosierung mittels TSD war möglich und präzise einstellbar. Des Weiteren wurden die hergestellten MNS hinsichtlich ihres Insertionsverhaltens in ein künstliches Hautmodell (8 Schichten Parafilm® M) charakterisiert. Es wurde bereits eindeutig gezeigt, dass das Durchstechen von zwei Schichten Parafilm® M zu einer erfolgreichen Deposition des AS in der Dermis und somit einer transdermalen AS-Abgabe führen kann [190]. Die mittels TSD hergestellten MNS erfüllten diese Anforderung. Ungefähr die Hälfte der Mikronadeln durchstach sogar fünf Schichten Parafilm® M. Dies bedeutet, dass mit diesen MNS eine transdermale AS-Abgabe in tiefere Hautschichten möglich sein könnte.

Die mittels TSD hergestellten MNS wurden mit konventionell hergestellten MNS verglichen. Diese wurden aus der gleichen Polymerlösung hergestellt, welche auch als Tinte beim TSD verwendet wurde. Daher wiesen die MNS, welche mittels der Zentrifugationsmethode hergestellt wurden, vergleichbare mechanische Eigenschaften auf zu den mittels TSD hergestellten MNS. Allerdings wiesen die MNS, welche mit der Zentrifugationsmethode hergestellt wurden einen erhöhten LIS-Gehalt auf. $229,54 \pm 129,25 \%$ der LIS-Menge, die maximal in den Mikronadeln enthalten sein kann, wurde wiedergefunden. Dies lag daran, dass

die Polymerlösung im Überschuss aufgetragen werden musste, um sicher zu gehen, dass sämtliche Kavitäten gefüllt wurden.

Es konnte gezeigt werden, dass TSD eine gut geeignete Herstellungsmethode für lösliche MNS darstellt. Eine individuelle Anpassung des Druckmusters und damit des AS-Gehalts konnte mittels TSD erzielt werden. Damit stellt TSD einen interessanten neuen Herstellungsansatz für MNS in der personalisierten Therapie dar. Außerdem kann dies ein möglicher Ansatz sein, dass inkompatible AS in einem MNS miteinander kombiniert werden können. Im Vergleich dazu war es nicht möglich mit der Zentrifugationsmethode zu bestimmen, welche Kavitäten exakt gefüllt werden. Es musste mit einem Überschuss an Polymerlösung gearbeitet werden, damit alle Kavitäten gleichmäßig befüllt wurden. Dabei verblieb ein Großteil des AS in der DS und würde der transdermalen Applikation nicht zur Verfügung stehen. Dies ist eine Verschwendung von Ressourcen, welche vor allem bei kostenintensiven AS vermieden sowie im Hinblick auf umweltbewusste Herstellungsmethoden einkalkuliert werden sollte. Auch die Kombination von inkompatiblen AS mittels der Zentrifugationsmethode ist nicht möglich.

Allerdings nahm die Herstellung von MNS mittels TSD mehr Zeit in Anspruch (3 min pro MNS, entspricht 36 min für 12 MNS; Zentrifugation 20 min für 12 MNS). Dies könnte in Zukunft optimiert werden, indem der Prozess (semi-)kontinuierlich abläuft. Außerdem stellen MNS vor allem hinsichtlich transdermaler Applikation von Peptiden einen neuartigen Ansatz dar. Es müsste überprüft werden, ob die Peptide in Bezug auf ihre Sekundär- und Tertiär-Struktur nach dem Verdrucken intakt bleiben.

3.3. Herstellung und Charakterisierung von mehrschichtigen Mikronadelsystemen mittels Tintenstrahldrucks und Zentrifugation

Teile dieses Kapitels wurden bereits in einem Proceedings mit Peer-Review-Verfahren veröffentlicht. Der Inhalt wurde ins Deutsche übersetzt und graphisch angepasst. Des Weiteren wurden einige Daten hinzugefügt.

- Lammerding, L.C., Braun, S., Breitzkreutz, J., 2023. *Multilayer microneedle array patches by combining inkjet printing and micromolding – A technical evaluation*. Trans. AMMM 5 (1)

3.3.1. Hintergrund

Ziel dieses Kapitels war die Erweiterung der Anwendbarkeit des TSD für die Herstellung von MNS. In der Literatur wurden bereits mehrschichtige MNS beschrieben. Dabei wurden Systeme beschrieben, bei denen die vollständigen Nadeln den AS enthielten und die DS AS-frei war [109]. Außerdem wurde von dreischichtigen MNS berichtet, die eine AS-haltige Nadelspitze, einen AS-freien Nadelkörper aus demselben Polymer und eine AS-freie DS enthielten [129]. Außerdem wurden auch MNS beschrieben, bei denen Nadelspitze und Nadelkörper aus unterschiedlichen Polymeren bestanden und nur die Nadelspitze den AS enthielt [191]. Jedoch hatten sämtliche dieser hergestellten MNS gemein, dass sie mittels einer Zentrifugationsmethode oder dem Anlegen von Überdruck hergestellt wurden. Die Polymere zeigten Volumenkontraktion während der Trocknung und durch Aufbringen der zweiten Schicht konnte eine Trennung verschiedener Schichten erreicht werden.

Die Herstellung der mehrschichtigen MNS mittels einer Zentrifugationsmethode zeigte wesentliche Nachteile (Kapitel 3.2.) verglichen mit der Herstellung mittels TSD. Die Herstellung erfolgt mit einem Überschuss an Polymerlösung und AS. Dies resultiert gewöhnlich in einer unwirtschaftlichen Nutzung des AS. Außerdem eignete sich TSD im Gegensatz zu der Zentrifugationsmethode für eine präzise und individuelle Füllung einzelner Kavitäten der Silikonmatrize.

Konkret sollte in diesem Versuchsteil zunächst untersucht werden, ob sich TSD eignet, mehrschichtige MNS herzustellen. Dazu wurden MNS mit einer AS-haltigen Spitze mittels TSD hergestellt und eine AS-freie Schicht wurde mit der Zentrifugationsmethode aufgetragen (Kapitel 5.2.3.3.1.). Die Füllhöhe der AS-haltigen Spitze wurde variiert. Diese MNS wurden im Anschluss hinsichtlich ihrer optischen und mechanischen Eigenschaften charakterisiert. Außerdem wurde das Insertionsverhalten in ein künstliches Hautmodell untersucht und der AS-Gehalt in den MNS bestimmt.

Im darauffolgenden Schritt wurde die DS der mehrschichtigen MNS variiert. Für andere Arzneiformen wie orodispersible Filme konnte bereits gezeigt werden, dass, in Abhängigkeit

der verwendeten Polymere, Diffusion des AS stattfinden kann [152, 192]. Es sollte überprüft werden, ob eine solche Diffusion des Modell-AS LIS bei mehrschichtigen MNS ebenfalls stattfindet. AS, welcher in die DS diffundiert, steht nicht mehr für eine transdermale AS-Abgabe zur Verfügung. Dadurch wäre die applikable AS-Menge nicht mehr der Zieldosis entsprechend und im Rahmen einer Therapie würde es zu einer Unterdosierung kommen.

Die MNS wurden mittels konfokaler Raman-Mikroskopie (KRM) untersucht. Es wurden verschiedene Polymere für die DS charakterisiert und ebenso verschiedene LM, in welchen das Polymer für die DS gelöst wurde. Anschließend konnten Aussagen über die Stabilität der hergestellten MNS getroffen werden. In diesem Zusammenhang wurde die Stabilität als hoch definiert, wenn wenig bis keine Diffusion des AS in die DS stattfand.

Des Weiteren sollte untersucht werden, ob sich KRM eignet, im Rahmen von In-Prozess-Kontrollen bei der Herstellung von MNS eingesetzt zu werden. Bislang wurden Stabilitätsproben von MNS mit Hilfe klassischer Analytik wie HPLC durchgeführt. Dabei wurden im Falle von mehrschichtigen MNS die Nadelspitzen manuell abgeschnitten, aufgelöst und der AS quantifiziert. Dies stellt jedoch eine destruktive Prüfung dar. KRM wurde als vielversprechende Methode hinsichtlich einer alternativen, nicht-destruktiven Prüfung charakterisiert.

3.3.2. Charakterisierung von mehrschichtigen Mikronadelsystemen

Die Herstellung der mehrschichtigen MNS ist in Kapitel 5.2.3.3.1. beschrieben. Die erste Schicht (Nadelspitze) wurde aus der AS-haltigen TZ F3 hergestellt und LIS wurde als Modell-AS in einer Konzentration von 35,0 mg/ml verwendet. Des Weiteren wurde F3 mit Amaranth angefärbt, um eine bessere Visualisierung bei der Charakterisierung zu ermöglichen. Als Matrize wurde die Mikronadelform mit 37 Kavitäten verwendet (Abbildung 14).

3.3.2.1. *Optische Charakterisierung*

Zunächst wurden die 37 Kavitäten mittels TSD gefüllt. Dazu wurden die in Kapitel 5.2.3.2. beschriebenen Einstellungen verwendet (Tabelle 25). Die Füllhöhe der Kavitäten wurde variiert, sodass jeweils 150, 250 und 450 Tropfen pro Kavitäten gedruckt wurden. Vor der Herstellung wurde das Volumen der Tropfen bestimmt. Dieses betrug 60 pl. Anschließend wurde die zweite Schicht aufgetragen. Die zweite Schicht der MNS bestand aus DS 8 (Ethylcellulose (EC) in EtOH gelöst) und wurde mit Hilfe der Zentrifugationsmethode hergestellt. DS 8 wurden 4,0 % Triethylcitrat als WM hinzugegeben.

Nach der Trocknung der MNS wurden diese zunächst visuell charakterisiert. Ein mehrschichtiges MNS ist in Abbildung 20 dargestellt.

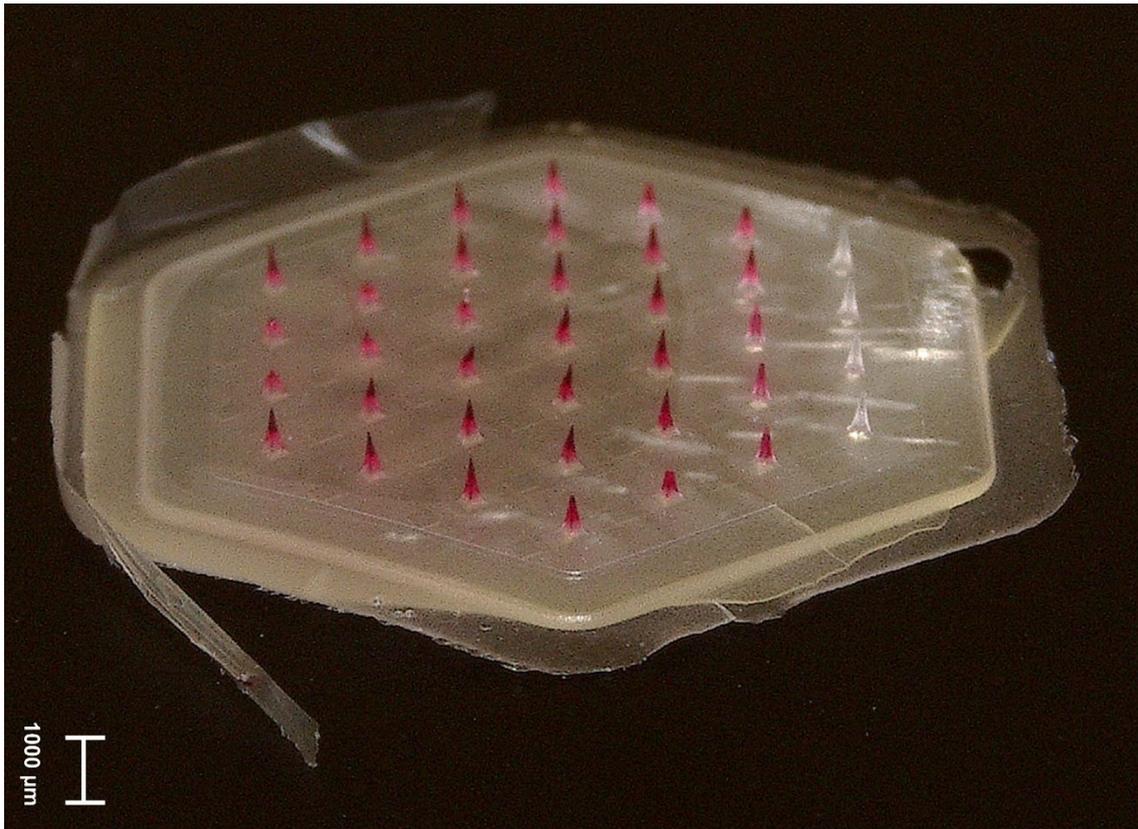


Abbildung 20: Mehrschichtiges MNS; exemplarisch gezeigt mit 250 gedruckten Tropfen pro Kavität; Am Mikroskop eingestellte Vergrößerung: 10 x

Es konnte gezeigt werden, dass die Herstellung von mehrschichtigen MNS mittels Kombination aus TSD und Zentrifugationsmethode möglich war. Die MNS wiesen pyramidale, spitze und intakte Nadeln nach der Trocknung auf. Eine deutliche Separierung zwischen den Schichten war erkennbar.

Zur besseren Unterscheidung der erfolgreichen Herstellung der mehrschichtigen MNS wurden Bilder von einzelnen Mikronadeln aufgenommen. In diesem Zusammenhang wurde die Höhe der gesamten Nadel, sowie der AS-haltigen Spitze bestimmt. Die einzelnen Mikronadeln, welche durch Variation der Füllhöhe hergestellt wurden (MNS 150, MNS 250 und MNS 450) sind der Abbildung 21 zu entnehmen. Sämtliche MNS wiesen spitze, intakte und pyramidale Mikronadeln auf. Die MNS, welche durch Füllen der Kavitäten mit 150 Tropfen (Abbildung 21 A, MNS 150) bzw. 250 Tropfen (Abbildung 21 B, MNS 250) hergestellt wurden, zeigten eine klare Trennung zwischen der rot gefärbten Nadelspitze und der farblosen zweiten Schicht (Nadelkörper bzw. DS). Es ist eindeutig zu erkennen, dass mehrschichtige MNS vorlagen. Wurden die Kavitäten jedoch mit jeweils 450 Tropfen gefüllt, konnte keine klare Separierung zwischen Nadelspitze und der DS erkannt werden. Die DS war ebenfalls rot angefärbt. Dies war damit zu erklären, dass die Kavitäten leicht überfüllt waren, sodass es erleichtert zu einer Diffusion des Farbstoffes in die DS kommen konnte (Abbildung 21 C).

Zur weiteren Charakterisierung wurden zudem die Höhen der einzelnen Schichten der Mikronadeln bestimmt. Die Ergebnisse dieser Bestimmung sind in Tabelle 8 zusammenfassend dargestellt.

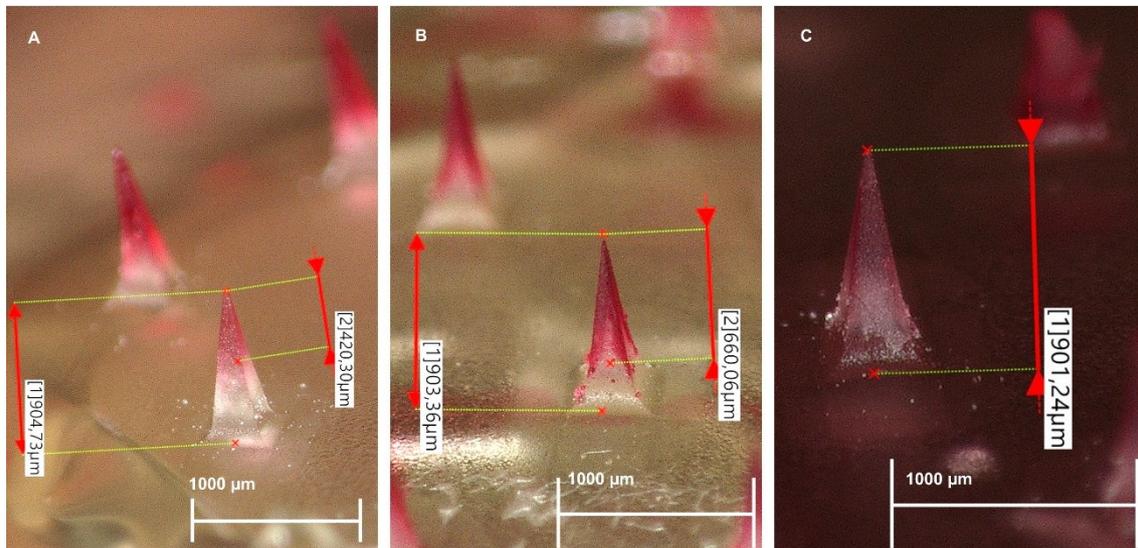


Abbildung 21: Mehrschichtige MNS hergestellt mittels TSD und der Zentrifugationsmethode; A: MNS 150; B: MNS 250; C: MNS 450; Am Mikroskop eingestellte Vergrößerung: 50 x

Tabelle 8: Bestimmung der Schichthöhe von mehrschichtigen MNS; $\bar{x} \pm sd$; n=3

Name	Höhe AS-haltige Schicht [μm]	Höhe gesamte Mikronadel [μm]
MNS 150	425,04 \pm 9,39	901,31 \pm 6,61
MNS 250	653,38 \pm 6,11	902,71 \pm 1,20
MNS 450	901,83 \pm 3,26	901,83 \pm 3,26

Sämtliche hergestellte mehrschichtige MNS zeigten eine Nadelhöhe von ca. 900 μm . Dies zeigte, dass eine Trocknung der Nadeln ohne Schrumpfen möglich war. Des Weiteren konnte demonstriert werden, dass die Füllhöhe zur Herstellung der Nadelspitze erfolgreich variiert werden konnte. Je mehr Tropfen pro Kavität gedruckt wurden, desto größer war die AS-haltige, angefärbte Schicht (Abbildung 21).

Es konnte gezeigt werden, dass die Variation der AS-haltigen Schicht mittels TSD möglich ist. Dabei konnte die Anzahl an Tropfen frei variiert werden. Dies kann zu einer feinen Anpassung der AS-Menge in der Arzneiform führen. Durch die Anpassung der Konzentration an AS in der Tinte, die Anzahl an gefüllten Kavitäten pro MNS (Kapitel 3.2.) und die Anzahl an gedruckten Tropfen stellt TSD eine gut geeignete Alternative zu bisher beschriebenen Herstellungsmethoden dar. TSD eignet sich demnach hervorragend für die flexible Herstellung von personalisierten MNS. Durch die beschriebenen Prinzipien kann die AS-Menge den persönlichen Bedürfnissen der Patienten und Patientinnen entsprechend angepasst werden. Es wurde bisweilen die Herstellung von mehrschichtigen MNS ausschließlich mittels Zentrifugations- und Überdruck-Methoden beschrieben [193, 194]. In diesen Studien wurden

die Schichten der MNS nacheinander durch das Anbringen von Überdruck bzw. Zentrifugation in die Kavitäten des Mikronadelnegativs gefüllt. Im Anschluss erfolgte ein erster Trocknungsprozess, ehe die zweite Schicht aufgebracht wurde. Allerdings wurden die Kavitäten im ersten Schritt bereits vollständig gefüllt und die zweite Schicht der Mikronadeln konnte nur aufgebracht werden, weil die Nadelspitze Volumenkontraktion im Rahmen der Trocknung aufwies. Durch die Verwendung von TSD zur Herstellung der Nadelspitze konnte diese Voraussetzung jedoch erfolgreich umgangen werden. Die Kavitäten konnten präzise und zielgenau mit dem benötigten Volumen der TZ gefüllt werden.

3.3.2.2. Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften

Um erste Informationen über die mechanische Stabilität der mehrschichtigen MNS zu erhalten, wurde die relative HR als Maß für diese bestimmt (Kapitel 5.4.8.). Dabei wurden Mikronadeln, welche während der Kompression mit einer Kraft von 32 N brachen, von dem Test ausgeschlossen. Die Ergebnisse der Bestimmung der relativen HR sind in Abbildung 22 zusammenfassend dargestellt.

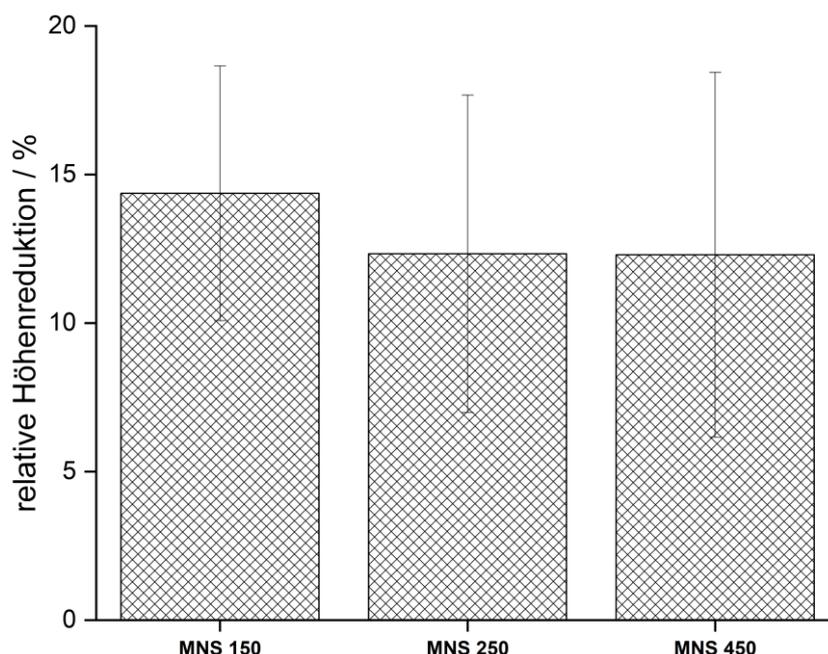


Abbildung 22: Mechanische Stabilität von mehrschichtigen MNS; Nadelspitze hergestellt aus 150, 250 bzw. 450 Tropfen AS-haltiger TZ; Bestimmung mittels Texture Analyser bei einer Kraft von 32 N, gehalten für 30 s und Vermessung der Nadelhöhe vor und nach Kompression; $\bar{x} \pm sd$, n=6

Sämtliche mehrschichtige MNS zeigten eine relative HR von < 15 %. Am größten war die relative HR mit $14,4 \pm 4,3$ % bei mehrschichtigen MNS, deren Spitze aus 150 Tropfen der AS-haltigen TZ hergestellt wurde. Allerdings waren die Unterschiede in der prozentualen HR nur sehr gering ausgeprägt im Vergleich zu den MNS, deren erste Schicht durch das Verdrucken von 250 bzw. 450 Tropfen mittels TSD hergestellt wurden ($12,3 \pm 5,3$ % für 250 Tropfen und $12,3 \pm 6,1$ % für 450 Tropfen). Des Weiteren konnte erfolgreich gezeigt werden, dass die Mikronadeln während des Testes nicht brachen (Abbildung 23). Die Nadeln blieben während

der Kompression spitz und intakt. Dies ist eine wesentliche Voraussetzung für eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe mit Hilfe von MNS. Ebenso wurde bereits beschrieben, dass eine relative HR von $< 10 - 15 \%$ eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe ermöglichen konnte [178]. Insgesamt konnte davon ausgegangen werden, dass die mittels TSD und der Zentrifugationsmethode hergestellten mehrschichtigen MNS ausreichend robust waren für eine transdermale Applikation. Die mechanischen Eigenschaften wiesen darauf hin, dass die MNS stabil genug waren, um während der Applikation nicht am SC abzureißen, sondern dieses erfolgreich perforieren konnten. Es wurden bereits mehrschichtige MNS mit PVP-haltigen Nadelspitzen hergestellt [146, 195]. Diese zeigten ebenfalls ein ausreichend stabiles Verhalten, um der mechanischen Belastung während der Applikation standzuhalten. Weitere Untersuchungen mussten durchgeführt werden, um die Anwendbarkeit der mehrschichtigen MNS zu charakterisieren.

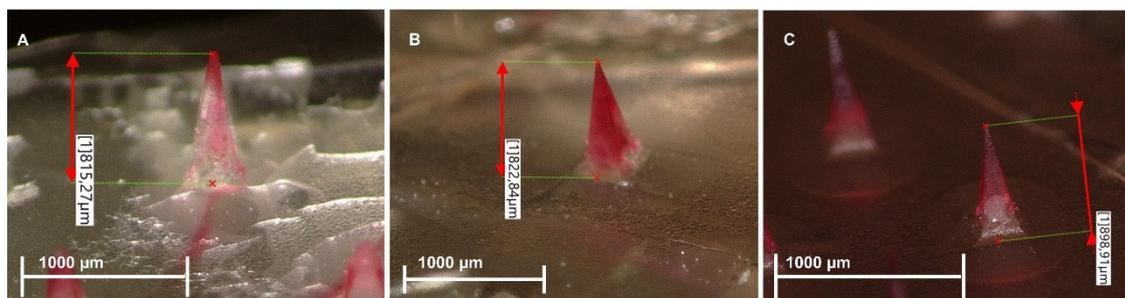


Abbildung 23: Mehrschichtige MNS nach Kompression mittels Texture Analysers (32 N für 30 s); A: 150 MNS; B: 250 MN; C: 450 MNS; Am Mikroskop eingestellte Vergrößerung: 50 x

3.3.2.3. Penetration in ein künstliches Hautmodell

Zur Charakterisierung der mehrschichtigen MNS wurden 8 Schichten Parafilm® M als künstliches Hautmodell verwendet. Die Durchführung ist detailliert dem Kapitel 5.4.9. zu entnehmen. Die Ergebnisse der Untersuchung des Eindringverhaltens in dieses künstliche Hautmodell sind der Abbildung 24 zu entnehmen.

Sämtliche MNS zeigten ein vergleichbares Insertionsverhalten bezogen auf die Fähigkeit, die ersten drei Schichten Parafilm® M zu durchstechen. Fast alle Mikronadeln konnten mindestens zwei Schichten des künstlichen Hautmodells durchstechen. $91 \pm 8 \%$ (150 MNS), $99 \pm 2 \%$ (250 MNS) bzw. $92 \pm 12 \%$ (MNS 450) der Mikronadeln durchstachen diese Schicht ohne zu brechen. Dies entsprach einer Eindringtiefe von 254 µm. $81 \pm 7 \%$ der Mikronadeln von MNS 250 durchstachen die dritte Schicht (entspricht 381 µm). Damit war eine tiefere Insertion mit diesen MNS möglich verglichen mit den anderen beiden charakterisierten Füllhöhen. $77 \pm 9 \%$ (MNS 150) bzw. $66 \pm 3 \%$ (MNS 450) konnten diese Parafilm® M-Schicht durchstechen. Allerdings war das Eindringverhalten sämtlicher Mikronadeln für diese Schicht noch vergleichbar. Größere Unterschiede in dem Durchstechen des künstlichen Hautmodells waren erst beim Betrachten weiterer Schichten ersichtlich. So konnten lediglich $19 \pm 3 \%$ der

Mikronadeln mit der höchsten Füllhöhe für die AS-haltige Schicht (MNS 450) die vierte Schicht des künstlichen Hautmodells durchstechen. Dies entsprach einer Eindringtiefe von 508 μm . Die anderen MNS zeigten nicht vergleichbare Ergebnisse. $48 \pm 4 \%$ (MNS 150) bzw. $51 \pm 7 \%$ (MNS 250) konnten diese Schicht noch durchstechen. Damit zeigten die MNS, bei welchen die Kavitäten mit 150 bzw. 250 Tropfen gefüllt wurden, ein tieferes Eindringverhalten. Dies konnte damit erklärt werden, dass die Nadelspitze aus dem sprödebrüchigen Material Povidon hergestellt wurde, während für die DS EC und damit ein weniger sprödebrüchiges Material verwendet wurde. Im Falle von MNS 450 bestanden die Mikronadeln zu einem größeren Anteil aus PVP K17 (Abbildung 21). Das resultierte in spröderen Mikronadeln, welche vermutlich während des Insertionsprozesses brachen. Dies resultierte in einer geringeren Eindringtiefe in das künstliche Hautmodell.

Abschließend konnte festgestellt werden, dass keinerlei Nadeln die fünfte Schicht Parafilm® M durchstechen konnten, wenn die Kavitäten mit 150 bzw. 450 Tropfen gefüllt wurden. Lediglich einige wenige Nadeln von MNS 250 konnten die fünfte Schicht durchstechen ($20 \pm 8 \%$), was einer Eindringtiefe von 635 μm entspricht. Die sechste Schicht (entspricht 762 μm) konnte von keiner der hergestellten MNS durchstoßen werden.

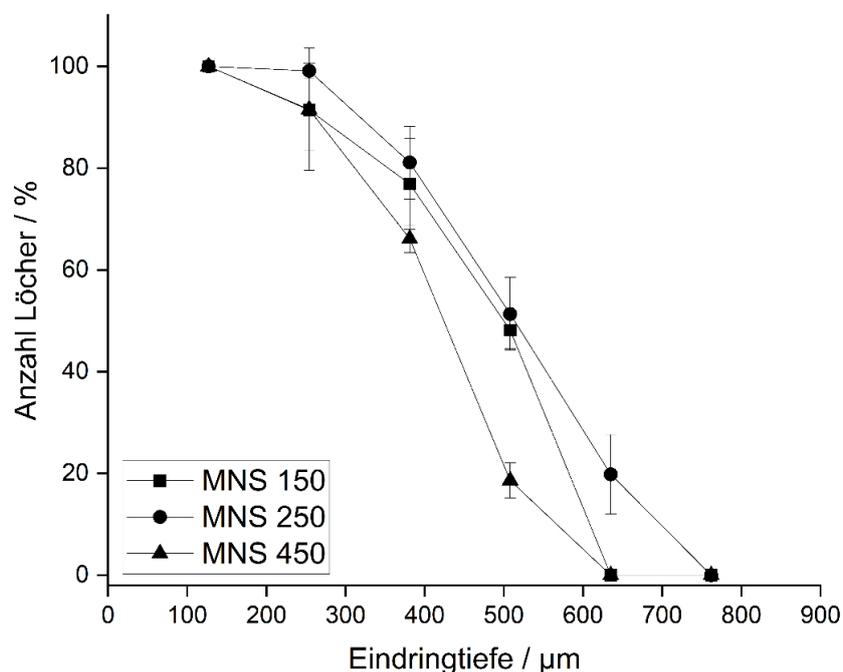


Abbildung 24: Insertion mehrschichtiger MNS in 8 Schichten Parafilm® M mittels Texture Analyser (Kraft von 32 N, für 30 s gehalten); $\bar{x} \pm \text{sd}$, n=3

Insgesamt sollten lösliche MNS mindestens 2 Schichten Parafilm® M durchstechen, um eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe zu ermöglichen [105]. Allerdings hängt die erforderliche Eindringtiefe auch sehr stark von der Länge und der Form der einzelnen Mikronadeln ab. In diesem Versuch konnte davon ausgegangen werden, dass die MNS, welche eine längere wasserlösliche Spitze aufwiesen, tiefer in die Haut eindringen müssen für eine erfolgreiche

AS-Abgabe. Somit sollten MNS 450 eine möglichst große Eindringtiefe aufweisen. Da sämtliche MNS mindestens 3 Schichten Parafilm® M (entsprechend 381 µm) erfolgreich durchstachen, konnte dies als positives Indiz für eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe gewertet werden.

In der Literatur wurden mehrschichtige MNS beschrieben, welche ebenfalls mit Povidon-Spitzen hergestellt wurden [146]. Diese konnten erfolgreich Maushaut durchstechen und ermöglichten eine transdermale AS-Abgabe. Diese MNS wurden außerdem in-vivo mit Mäusen getestet. Insgesamt konnten Plasmaspiegel erreicht werden, welche vergleichbar waren mit einer intramuskulären Gabe. Außerdem wurden sehr ähnliche mechanische Eigenschaften für mehrschichtige MNS beschrieben, welche Rifampicin als AS enthielten [145]. Bei diesen MNS bestand die Mikronadelspitze aus einem Gemisch aus PVA und PVP. Die Nadeln waren ebenfalls in der Lage zu 75 % die 3. Schicht Parafilm® M zu durchstechen. Außerdem konnte in-vitro eine transdermale AS-Abgabe über Schweinehaut beobachtet werden.

In diesem Abschnitt konnte eindrucksvoll gezeigt werden, dass die hergestellten MNS unabhängig von der Höhe der ersten Schicht einen interessanten Kandidaten für die transdermale AS-Abgabe darstellten. Allerdings müssen in Zukunft weitere Charakterisierungen durchgeführt werden, um die Anwendbarkeit dieser mehrschichtigen MNS besser beurteilen zu können.

3.3.2.4. Lisinopril-Gehalt

Der Gehalt an LIS, welcher in den mehrschichtigen MNS vorhanden war, wurde mittels Flüssigchromatographie (Kapitel 5.4.6.1.) bestimmt. Der Sollgehalt wurde mit Hilfe von Gleichung 6 berechnet. Die Ergebnisse der Gehaltsbestimmung sind in Tabelle 9 zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 9: Gehaltsbestimmung von LIS in mehrschichtigen MNS mittels Flüssigchromatographie ; gezeigt sind die absoluten und relativen Gehalte von LIS; $\bar{x} \pm sd$, n=3

Name	Sollgehalt [µg]	Ist-Gehalt [µg]	Ist-Gehalt [%]
MNS 150	11,66	11,58 ± 0,59	99,33 ± 5,09
MNS 250	19,43	20,17 ± 2,24	103,83 ± 11,55
MNS 450	34,97	33,99 ± 0,17	97,20 ± 0,48

Es wurde festgestellt, dass die Dosisanpassung sehr präzise und erfolgreich mittels TSD erfolgen konnte. Es war eine Dosisvariationen von ca. 8 µg pro MNS (MNS 150 im Vergleich zu MNS 250) bzw. 14 µg (MNS 250 im Vergleich zu MNS 450) möglich. Die Anzahl an Tropfen, welche pro Kavität gedruckt wurden, ließ sich am Drucker sehr leicht einstellen. Durch diese Ergebnisse konnte belegt werden, dass TSD eine präzise, additive Herstellungsmethode für MNS darstellen kann. Durch die Variation an Tropfen, welche pro Kavität gedruckt wurden,

konnten verschiedene Dosierungen aus einer einzigen TZ hergestellt werden. Die Konzentration an LIS in der TZ musste nicht angepasst werden, um personalisierte Dosierungen zu ermöglichen. Dies stellt einen großen Vorteil im Vergleich zu konventionell hergestellten MNS mittels einer Zentrifugationsmethode dar. In diesem Fall kann die Dosis der MNS lediglich durch Variation der Konzentration an AS in der Polymerlösung oder durch die Verwendung verschiedener Matrizen mit einer unterschiedlichen Anzahl an Kavitäten realisiert werden. Allerdings ist die Herstellung und Anschaffung der Matrizen sehr kostenintensiv und das Ansetzen verschiedener Konzentrationen an AS könnte zu einer unwirtschaftlichen Nutzung des AS führen. Daher konnte die Verwendung von TSD zur Herstellung der Nadelspitze als geeignete Herstellungsmethode, welche diese Nachteile nicht aufweist, identifiziert werden.

Allerdings wurden im Rahmen dieser Gehaltsbestimmungen die vollständigen MNS aufgelöst und analysiert. Daher konnte keine Aussage darüber getroffen werden, ob der AS in der Nadelspitze lokalisiert ist oder durch Diffusionsprozesse in der gesamten Nadel verteilt wurde. Es ist dabei zu bedenken gewesen, dass der AS ausschließlich zur transdermalen AS-Abgabe zur Verfügung steht, wenn dieser auch ausreichend tief in die Haut eindringt. Der AS muss die Epidermis der menschlichen Haut vollständig überwinden, um in den Blutgefäßen der Dermis aufgenommen werden zu können. Somit ist davon auszugehen, dass in der DS enthaltener AS nicht für die transdermale AS-Abgabe verfügbar ist.

3.3.3. Variation der Deckschicht

Die DS der mehrschichtigen MNS wurde im Anschluss variiert. Es wurden verschiedene Methoden verwendet, um mehr Informationen über die Lokalisation von LIS als Modell-AS zu erhalten. Dabei sollten Möglichkeiten gefunden werden, dass der AS in der Nadelspitze verbleibt und für eine transdermale AS-Abgabe zur Verfügung steht.

3.3.3.1. Povidon in Wasser

Zunächst wurden MNS wie zuvor beschrieben hergestellt. Dabei wurden sämtliche 37 Kavitäten des Mikronadelnegativs mittels TSD gefüllt. Die Füllhöhe wurde dabei so gewählt, dass ca. die Hälfte der Kavität gefüllt wurde. Anschließend wurde DS 1 aufgetragen als zweite Schicht der Mikronadeln. DS 1 bildete gleichzeitig auch die DS. Nach erfolgreicher Trocknung wurden die MNS mittels KRM charakterisiert.

Zunächst wurde kristallines LIS in Pulverform vermessen. Dies erfolgte mit den gleichen Messeinstellungen der KRM wie in Kapitel 5.4.4.2. beschrieben. Die Vermessung von LIS in Pulverform diente dazu, geeignete Signale für eine spätere Identifizierung und Quantifizierung des AS zu ermöglichen. Beispielspektren des AS-Pulvers sind in Abbildung 25 dargestellt.

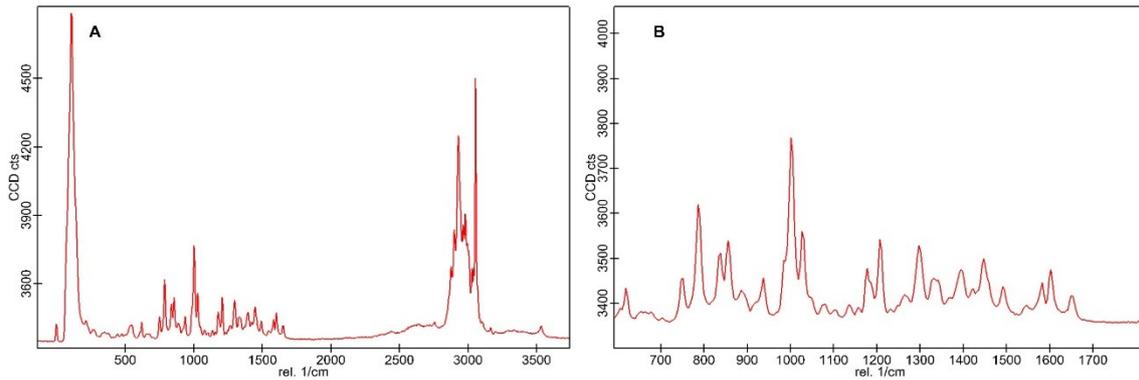


Abbildung 25: Raman-Spektrum von kristallinem LIS in Pulverform; A: Spektrum dargestellt für Wellenzahlen von 300 – 3600 cm^{-1} ; B: vergrößertes Raman-Spektrum von kristallinem LIS in Pulverform für Wellenzahlen von 600 – 1800 cm^{-1}

Interessant für eine spätere Identifizierung von LIS in der TZ sowie in den getrockneten Mikronadeln waren vor allem einzeln separierte Signale. Bei Wellenzahlen von $< 400 \text{ cm}^{-1}$ traten viele verschiedene Signale auf, welche sich später überlagern würden. Das Gleiche galt für Wellenzahlen $> 3000 \text{ cm}^{-1}$. Allerdings wurden auch Signale im Wellenzahlenbereich von $1200 - 1700 \text{ cm}^{-1}$ detektiert (Abbildung 25 B).

Im Anschluss wurden Ramanspektren der flüssigen TZ F3 aufgenommen, in welcher LIS mit einer Konzentration von $35,0 \text{ mg/ml}$ gelöst wurde. Diese Spektren wurden im Anschluss mit dem Spektrum von LIS in Pulverform verglichen. Wichtig war es hierbei, dass ein geeignetes Signal gefunden wurde, welches charakteristisch für LIS war und nicht von Signalen der TZ (PVP K17, Gly, PS 20, Wasser) überlagert wurde. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in Abbildung 26 zusammenfassend dargestellt.

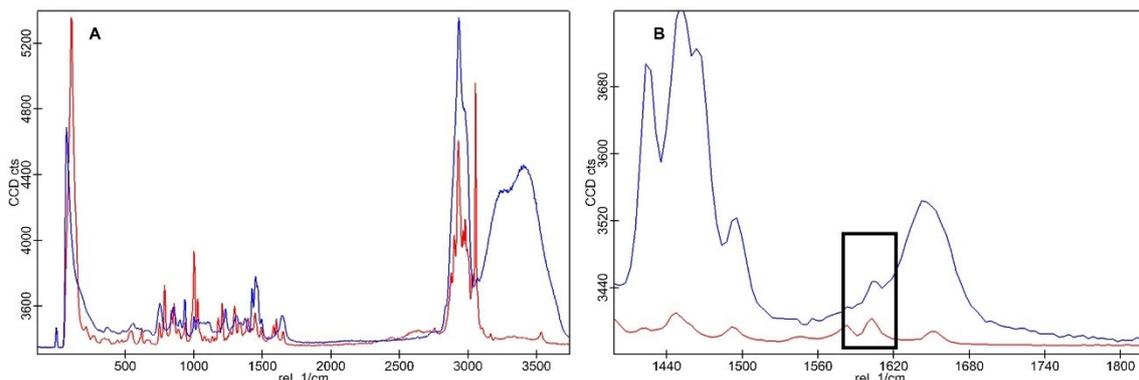


Abbildung 26: Raman-Spektren von LIS in Pulverform (rot) und TZ F3 mit LIS (blau); A: Spektrum bei Wellenzahlen von 300 – 3600 cm^{-1} ; B: Vergrößertes Spektrum bei Wellenzahlen von 1400 – 1850 cm^{-1} mit markiertem Signal bei 1603 cm^{-1}

Das Ramanspektrum der TZ (blau) ist eindeutig an dem breiten Signal bei einer Wellenzahl von ca. $3100 - 3500 \text{ cm}^{-1}$ zu erkennen. Dieses konnte auf das Wasser in der TZ zurückgeführt werden. Besondere Bedeutung hatte das Signal bei einer Wellenzahl von 1603 cm^{-1} (markierter Bereich, Abbildung 26 B). Es war eindeutig zu erkennen, dass dieses Signal sowohl in LIS in kristalliner Pulverform als auch in der TZ zu erkennen war. Dies bedeutete,

dass das Signal von keinen Polymerbanden der TZ überdeckt wurde und für eine Identifizierung und möglicherweise auch Quantifizierung von LIS verwendet werden konnte.

Im Anschluss wurden MNS hergestellt wie zuvor beschrieben. Die Nadeln wurden durch TSD mit TZ F3 mit LIS als Modell-AS hergestellt. Als DS wurde Povidon gelöst in Wasser verwendet (DS 1). Danach wurden die Mikronadeln mittels KRM vermessen. Eine Quantifizierung von LIS sollte dabei mit Hilfe einer Kalibriergerade bestimmt werden (Kapitel 5.4.4.2.1., Abbildung 72). Die Ergebnisse der KRM-Untersuchungen sind in Abbildung 27 dargestellt.

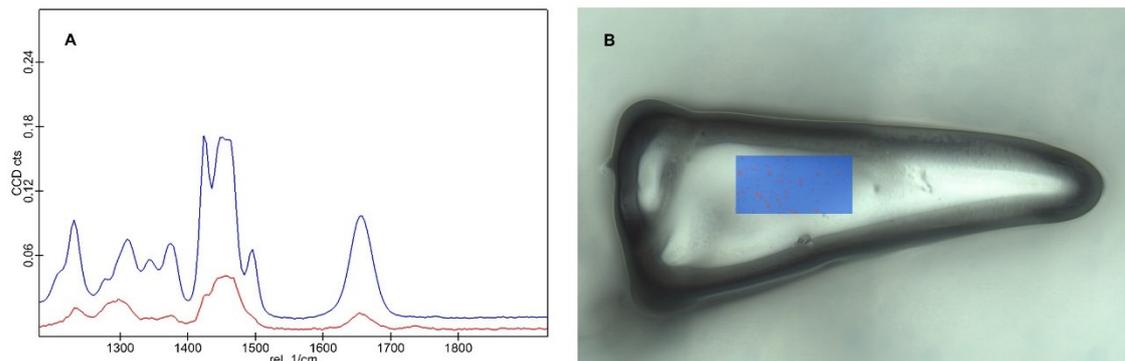


Abbildung 27: KRM von einzelner Mikronadel mit DS 1 als DS; A: vergrößertes Spektrum für Wellenzahlen von 1150 – 1950 cm^{-1} ; B: Raman-Oberfläche im ausgewählten Bereich einer einzelnen Mikronadel

Zunächst konnte festgestellt werden, dass in der Messung der Mikronadeln keine Signale detektiert werden konnten, welche charakteristisch für LIS waren (Abbildung 27 A). Diese Messung ist in blau dargestellt. Es konnte allerdings im Rahmen von Raman-Oberflächen-Messungen (Abbildung 27 B) herausgefunden werden, dass in dem Polymer der Mikronadel (blau eingefärbt) einzeln kleine Domänen vorhanden sind. Diese sind in der Abbildung in rot dargestellt worden. Diese Domänen sind tropfenförmig in der Polymermatrix verteilt und die Einzelspektren dieser Tropfen unterschieden sich leicht von den Spektren des umgebenden Polymers (Abbildung 27 A, roter Graph). Das Signal von LIS bei einer Wellenzahl von 1603 cm^{-1} konnte erahnt werden, war allerdings zu schwach ausgeprägt für eine Quantifizierung. Dies bedeutete im Umkehrschluss, dass die Konzentration definitiv unter dem kalibrierten Bereich ($< 10,0 \text{ mg/ml}$) lag.

Es wurden im Anschluss noch weitere Messungen durchgeführt. Dabei wurden Kavitäten der Mikronadelmatrize mittels TSD mit der AS-haltigen TZ F3 gefüllt. Allerdings wurde im Anschluss keine DS aufgetragen. Durch diese Messungen sollte überprüft werden, ob wirklich LIS in den Kavitäten landete und im trockenen Zustand identifiziert und quantifiziert werden konnte. Des Weiteren wurde das umliegende Silikon der Matrize mittels KRM vermessen. Dadurch sollte untersucht werden, ob LIS in die Matrize diffundierte und deshalb nicht in den getrockneten Nadeln detektiert werden konnte. Die Ergebnisse dieser Messungen sind der Abbildung 28 zu entnehmen.

Es konnte gezeigt werden, dass kein oder nur sehr wenig LIS in die Silikonmatrize diffundiert (Abbildung 28 A). Es wurde kein Signal bei einer Wellenzahl von 1603 cm^{-1} detektiert. Im Gegensatz dazu wurde ein klares Signal bei dieser Wellenzahl bei Vermessen der getrockneten TZ F3 in der Kavität detektiert. Das Signal war so ausgeprägt, dass eine Quantifizierung des AS erfolgen konnte (Abbildung 29). Dabei wurde eine Konzentration von LIS in der getrockneten TZ F3 von $34,04 \pm 3,96\text{ mg/ml}$ ($n=3$) berechnet. Die Konzentration war somit geringer als die eingewogene Konzentration der TZ. Diese betrug $35,0\text{ mg/ml}$. Dieser Verlust an LIS kann dadurch erklärt werden, dass es sich bei PVP K17 um ein hygroskopisches Polymer handelte. Die KRM-Messungen nahmen Zeit in Anspruch. Währenddessen war das Povidon der Umgebungsluft ausgesetzt, sodass dieses Wasser aufnehmen konnte und die Konzentration niedriger als erwartet bestimmt wurde.

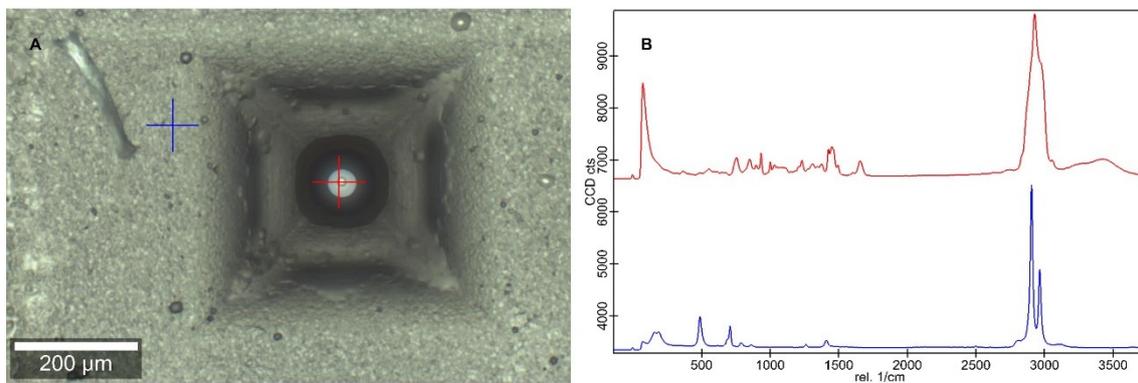


Abbildung 28: KRM von gefüllter Kavität ohne DS; A: markierte Messpunkte auf der Matrize; B: zugehörige Spektren der gefüllten Kavität (rot) und des Silikons (blau)

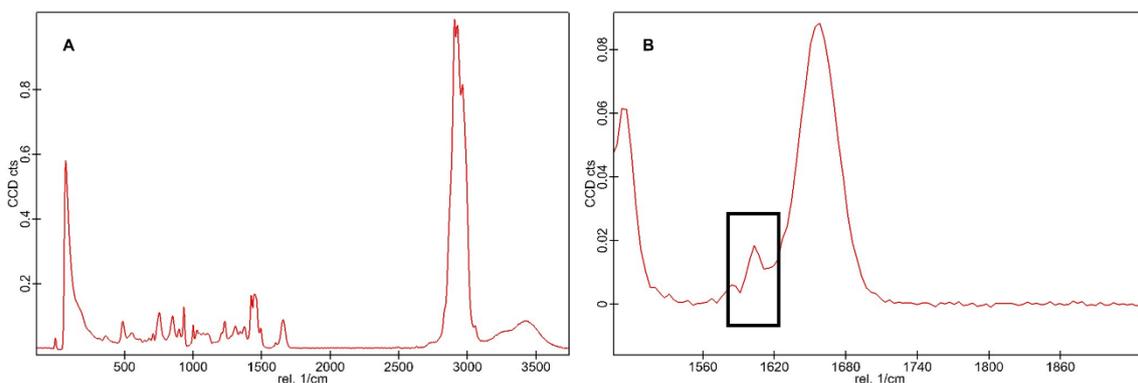


Abbildung 29: Normalisierte und Basislinien-korrigierte Spektren der KRM-Messungen der gefüllten Kavität ohne DS; A: gesamtes Spektrum; B: vergrößertes Spektrum der Wellenzahlen $1530 - 1900\text{ cm}^{-1}$ mit markiertem Signal bei 1603 cm^{-1}

Somit konnte demonstriert werden, dass LIS erfolgreich in die Kavitäten gedruckt wurde und auch in diesen mittels KRM vermessen werden konnte. Selbst eine Quantifizierung von LIS war möglich. Des Weiteren wurde gezeigt, dass der AS nicht in die Silikonmatrize diffundiert und im Anschluss nicht mehr in der Nadel lokalisiert war. Allerdings konnte in den hergestellten MNS keinerlei LIS mehr nachgewiesen bzw. quantifiziert werden. Dies konnte durch ein

anderes Prinzip erklärt werden. Dieses ist schematisch als Hypothese in Abbildung 30 zusammengefasst.

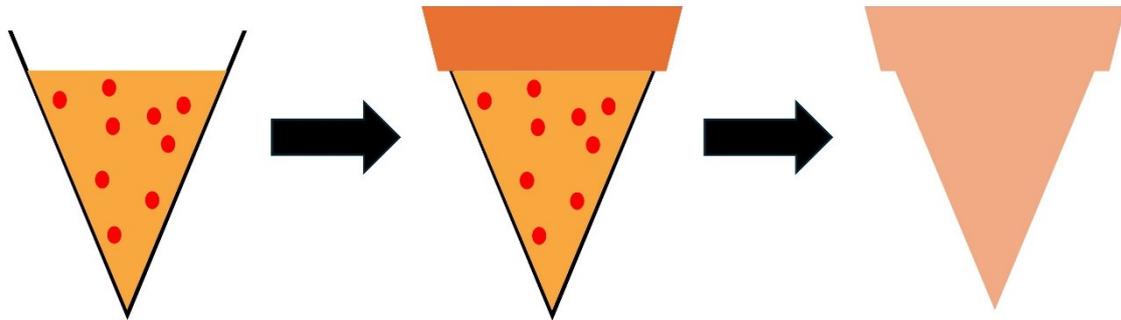


Abbildung 30: Hypothese des Herstellungsprozesses für mehrschichtige MNS, Mikronadel aus PVP K17 und DS aus PVP K30 in wässriger Lösung

Die LIS-haltige TZ wurde erfolgreich während der Herstellung mittels TSD in die Kavitäten gefüllt. Danach wurde durch Pipettieren die zweite, AS-freie Schicht aufgetragen und zentrifugiert. Während des Zentrifugierens löste die zweite Schicht die erste Schicht auf und die beiden Polymerlösungen vermischten sich. Dadurch wurde LIS stark verdünnt, sodass kein AS mehr mittels KRM detektiert werden konnte. Es wurde vermutet, dass die Domänen, in welchen ein LIS-Signal erahnt werden konnte, das Gly der TZ waren. LIS löste sich besser in Gly verglichen mit dem Polymer und ordnete sich daher so an.

Anschließend konnte festgestellt werden, dass es auf diese Art und Weise nicht möglich war, MNS herzustellen, bei denen die AS-haltige Spitze und die AS-freie DS erfolgreich voneinander getrennt vorlagen. Der AS vermischte sich im Rahmen der Herstellung mit beiden Polymeren und war in der gesamten Nadel inklusive der DS verteilt. Dies würde in der Therapie zu einer unzureichenden transdermalen AS-Abgabe mit diesen MNS führen und damit zu einer Unterdosierung. Die klarere Trennung der rot gefärbten Nadelspitze und der farblosen DS des vorherigen Versuchsteils (Kapitel 3.3.2.) konnte damit erklärt werden, dass Amaranth sich deutlich schlechter in dem dort verwendeten EtOH löste. Diese Anfärbung gab jedoch keinen Aufschluss über die Lokalisation von LIS.

3.3.3.2. Ethylcellulose in Ethanol

Wie bereits zuvor untersucht und beschrieben wurde, konnten keine mehrschichtigen MNS hergestellt werden, bei denen die Nadelspitze und die DS aus dem gleichen Polymer (Povidon) bestanden, der AS aber ausschließlich in der Spitze vorlag. Daher sollte untersucht werden, ob eine besser geeignete Herstellung möglich war, wenn die DS aus einem anderen Polymer bestand. Es wurde sich für ein wasserunlösliches Polymer entschieden, da dieses andere physikochemische Eigenschaften aufwies als das wasserlösliche Povidon. Als wasserunlösliches Polymer wurde EC ausgewählt. Diese wurde in EtOH gelöst und als DS 8 verwendet (Tabelle 24).

Zunächst wurden Vorversuche mit Hilfe von Agarosegel durchgeführt (Kapitel 5.4.14.). Die MNS wurden digitalmikroskopisch aufgenommen und auf die Unversehrtheit der Mikronadeln überprüft. Im Anschluss wurden die Mikronadeln in das Agarosegel eingestochen und in definierten Zeitabständen aus diesem entfernt. Anschließend wurden erneut Bilder der MNS aufgenommen. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind der Abbildung 31 zu entnehmen.

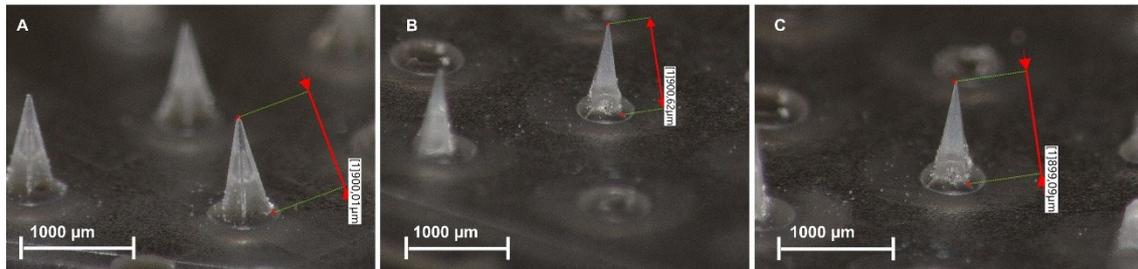


Abbildung 31: MNS hergestellt aus PVP K17 (Nadelspitze) und EC (gelöst in EtOH, DS 8); A: Vor Insertion in Agarosegel; B: 10 min nach Insertion; C: 20 min nach Insertion; Eingestellte Vergrößerung am Mikroskop: 50 x

Zunächst wurde festgestellt, dass sämtliche Nadeln spitz und intakt waren. Die Mikronadeln zeigten kein Schrumpfen und wiesen eine Höhe von ca. 900 µm auf. Es wurde erwartet, dass die Nadelspitze aus wasserlöslichem PVP besteht und die DS aus wasserunlöslicher EC. In diesem Fall hätten sich die Nadeln nach Insertion in das wässrige Agarosegel auflösen sollen. Allerdings wurde beobachtet, dass die Nadeln auch 20 min nach Insertion in das Agarosegel unverändert blieben. Dies indizierte bereits im Vorversuch, dass vermutlich eine Vermischung der Polymere im Rahmen der Herstellung stattfand.

Dennoch wurden diese MNS zusätzlich mittels KRM charakterisiert. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in Abbildung 32 dargestellt. Es wurden Spektren an fünf verschiedenen, zufällig ausgewählten Messpunkten einer Mikronadel durchgeführt (kolorierte Kreuze, Abbildung 32 A).

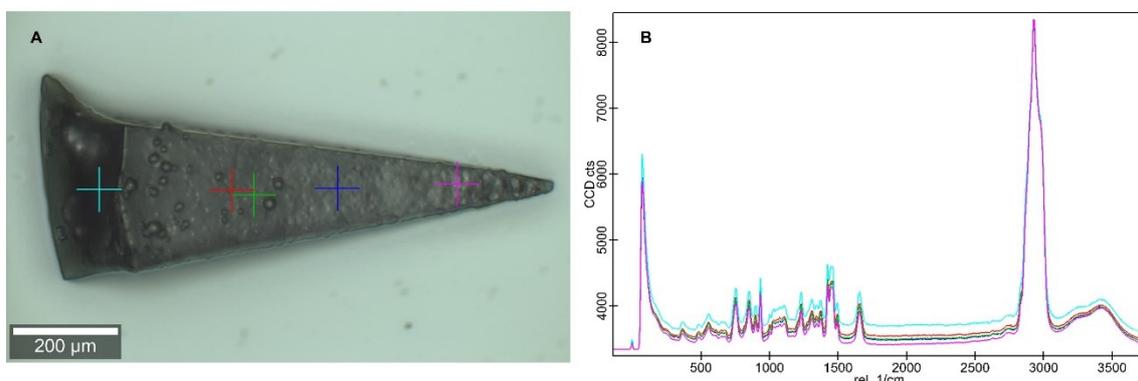


Abbildung 32: KRM von einzelner Mikronadel mit DS 8 als DS; A: Mikroskopische Aufnahme einer einzelnen Mikronadel mit markierten Punkten der Einzelmessungen; B: Raman-Spektren der Einzelmessungen

Die aufgenommenen Raman-Spektren unterschieden sich nicht voneinander und waren deckungsgleich. Es konnte festgestellt werden, dass keine Signale bei der zuvor für LIS

identifizierten Wellenzahl von 1603 cm^{-1} detektiert wurden. Auch die Verwendung von EC als Polymer für die DS führte nicht zu den gewünschten Ergebnissen. Die DS vermischte sich auch in diesem Fall mit der Nadelspitze. Dies konnte mit Hilfe der gleichen Hypothese wie zuvor beschrieben werden (Abbildung 30). Als LM wurde EtOH verwendet. Da für die DS verglichen mit der Nadelspitze ein deutlich größeres Volumen aufgegeben wurde, löste sich die Nadelspitze während der Zentrifugation auf. Dabei kam es zur Durchmischung der Polymere und LIS wurde soweit verdünnt, dass die Konzentration unter der Nachweis- und Bestimmungsgrenze lag.

Es konnte also festgehalten werden, dass auch das LM, welches für die DS verwendet wurde, einen erheblichen Einfluss auf die erfolgreiche Separierung der Polymere bei der Herstellung von mehrschichtigen MNS hatte. Auf diese Weise konnten keine mehrschichtigen MNS hergestellt werden, bei denen der AS ausschließlich in der Nadel(spitze) lokalisiert war. Daher wäre mit diesen MNS keine Therapie möglich, da die in den MNS beladene AS-Menge nicht vollständig und sicher appliziert werden könnte.

3.3.3.3. *Ethylcellulose in Ethylacetat*

Aus den vorherigen Ergebnissen konnte gefolgert werden, dass die Herstellung von mehrschichtigen MNS einige kritische Prozessschritte aufweist. Wenn der AS ausschließlich in der Nadel(spitze) und nicht in der DS lokalisiert sein sollte, durfte das LM der DS nicht das Polymer des Nadelkörpers auflösen. Genauso konnte davon ausgegangen werden, dass sich die Polymere von Nadel und DS hinsichtlich ihrer physikochemischen Eigenschaften unterscheiden mussten, damit eine Diffusion von AS in die DS weitgehend verhindert werden konnte.

Aus diesem Grund wurde in diesem Versuchsteil die DS der MNS erneut variiert. DS 9 wurde verwendet. Diese bestand aus EC, welche in Ethylacetat (EtAc) gelöst wurde. EtAc ist ein LM, in welchem Povidon unlöslich ist. Daher wurde davon ausgegangen, dass das Aufbringen von DS 9 nicht dazu führt, dass die Mikronadeln aufgelöst werden.

Als Vorversuch wurde erneut das Auflösungsverhalten der Mikronadeln in einem wässrigen Medium durchgeführt. Dazu wurden die MNS in Agarosegel gestochen. Die Nadeln wurden visuell charakterisiert. Dies erfolgte vor dem Einstechen in Agarosegel sowie zehn und 20 min nach dem Einstechen. Die Ergebnisse dieses Vorversuches sind in Abbildung 33 dargestellt.

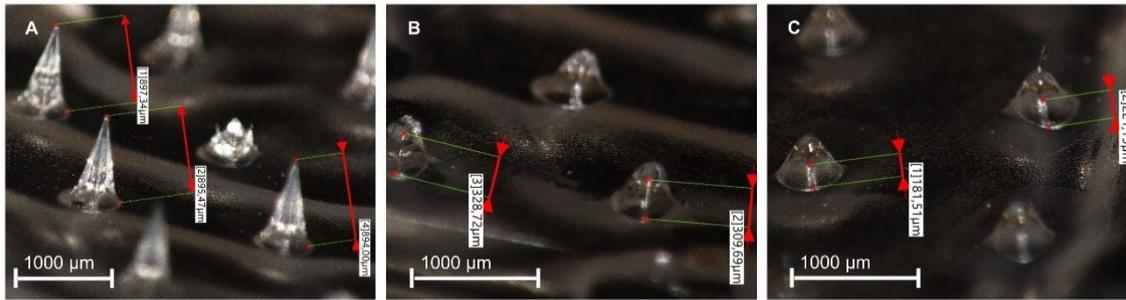


Abbildung 33: MNS hergestellt aus PVP K17 (Nadelspitze) und EC (gelöst in EtAc, DS); A: Vor Insertion in Agarose; B: 10 min nach Insertion in Agarose; C: 20 min nach Insertion

Die hergestellten MNS waren von pyramidalen Form und spitz. Die Nadeln zeigten eine Höhe von ca. 900 µm. Dies bedeutete, dass die Nadeln kein Schrumpfen zeigten und während der Trocknung intakt blieben. Bereits nach zehn min in dem wässrigen Agarosegel hatten sich die Spitzen der Mikronadeln aufgelöst (Abbildung 33 B). Die Nadelstümpfe wiesen nur noch eine Höhe von ca. 300 µm auf. Nach 20 min Insertion in das Agarosegel waren diese Stümpfe noch ca. 200 µm hoch. Das bedeutete, dass eine erfolgreiche Trennung der beiden Polymere möglich war. Die Spitze bestand dabei aus dem wasserlöslichen Polymer PVP K17 und die DS aus dem wasserunlöslichen Polymer EC.

Allerdings stellte eine erfolgreiche Trennung der beiden Polymere noch keinen Beweis für die Lokalisation des AS in den MNS dar. Daher wurden mittels KRM im Anschluss Messungen durchgeführt, um Auskunft über die Verteilung von LIS in dem MNS zu erhalten.

Die Ergebnisse der ersten KRM-Messungen sind der Abbildung 34 zu entnehmen. Bereits in der mikroskopischen Aufnahmen können Unterschiede in der Beschaffenheit der Mikronadel erkannt werden (Abbildung 34 A). Es wurden insgesamt neun Messpunkte ausgewählt auf der Mikronadel. Dabei wurde der erste Messpunkt an der Spitze gesetzt und anschließend im Abstand von 50 µm Einzelpunktmessungen zur DS hin durchgeführt. Die daraus resultierenden Spektren sind der Abbildung 34 B zu entnehmen. Dabei handelt es sich um Mittelwertsspektren von jeweils fünf bzw. vier Einzelspektren.

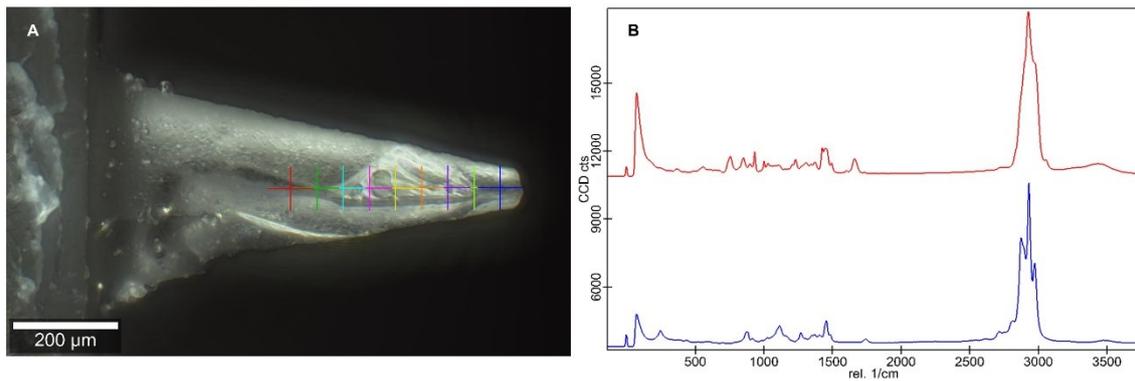


Abbildung 34: KRM von einzelner Mikronadel mit DS 9 als DS; A: Mikroskopische Aufnahme einzelner Mikronadel mit markierten Punkten der Einzelpunktmessungen (kolorierte Kreuze); B: gemittelte Spektren der 5 Messpunkte an der Spitze (rot) und der übrigen 4 Messpunkte (blau)

Es konnte gezeigt werden, dass bei diesen MNS nur die Spitze aus Povidon bestand. Die Spektren der Spitze und der DS unterschieden sich klar voneinander. Dabei konnte der AS LIS ausschließlich in der povidonhaltigen Nadelspitze detektiert werden. Es konnte in der povidonhaltigen Schicht eindeutig das charakteristische LIS-Signal bei einer Wellenzahl von 1603 cm^{-1} detektiert werden. Ein vergrößertes Spektrum ist in Abbildung 35 A dargestellt und das entsprechende LIS-Signal durch eine schwarze Umrandung markiert.

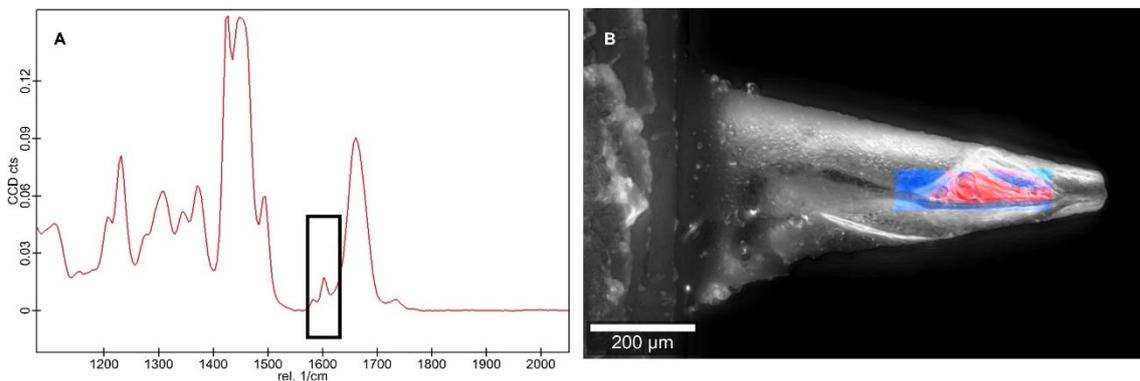


Abbildung 35: KRM von einzelner Mikronadel mit DS 9 als DS; A: vergrößertes Spektrum der PVP-haltigen Schicht (normalisiert auf Polymerbande), LIS-Signal markiert bei 1603 cm^{-1} ; B: Raman-Mapping der Mikronadel (rot: PVP, blau: EC)

Des Weiteren wurde von dieser Mikronadel auch Raman-Oberflächenmessungen durchgeführt. Dabei wurde gezeigt, dass die Abgrenzung von Povidon und EC scharf ist. Es gibt keine Übergänge zwischen den beiden Polymeren, sondern diese sind durch scharfe Grenzen voneinander abgetrennt. Während der Einzelpunktmessungen wurde LIS ausschließlich in der povidonhaltigen Schicht nachgewiesen. Die Konzentration an LIS konnte mit Hilfe der angefertigten Kalibriergeraden quantifiziert werden (Kapitel 5.4.4.2.1.). Die Konzentration an LIS betrug $29,44 \pm 1,02\text{ mg/ml}$. Damit war die Konzentration geringer als die ursprünglich eingesetzten $35,0\text{ mg/ml}$. Eine mögliche Erklärung könnte sein, dass es trotzdem zu einer (schwachen) Diffusion des AS in die EC-haltige Schicht kam. Dabei könnte LIS allerdings soweit verdünnt worden sein, dass die Konzentration unter der Nachweisgrenze

war. Eine andere Erklärung könnte darin liegen, dass die Nadelspitze aus PVP K17 hergestellt wurde. Dabei handelt es sich um ein sehr kurzkettiges Polymer, welches stark hygroskopisch ist. Während der Messung kamen die Nadeln zwangsläufig für 15 – 20 min mit der Umgebungsluft in Kontakt. Dadurch wurde Wasser aus der Umgebungsluft adsorbiert und die Konzentration an LIS in der Mikronadeln nahm als Konsequenz dadurch ab.

Es wurden im Anschluss weitere Messungen durchgeführt, um ein klareres Bild von der Verteilung der Polymere und von LIS in den MNS zu erhalten. Dazu wurden 20 zufällig ausgewählte Messpunkte auf der Mikronadel ausgewählt und mittels KRM vermessen. Diese Messpunkte sind in Abbildung 36 A dargestellt. Sämtliche Spektren der Einzelpunktmessung in der PVP-haltigen Nadelspitze zeigten ein deutliches LIS-Signal bei einer Wellenzahl von 1603 cm^{-1} (Abbildung 36 B). Auch in diesem Fall war das Signal ausreichend, um die Konzentration an LIS zu bestimmen. Diese betrug $29,70 \pm 2,59\text{ mg/ml}$. Somit deckten sich die Ergebnisse mit der zuvor berechneten Konzentration.

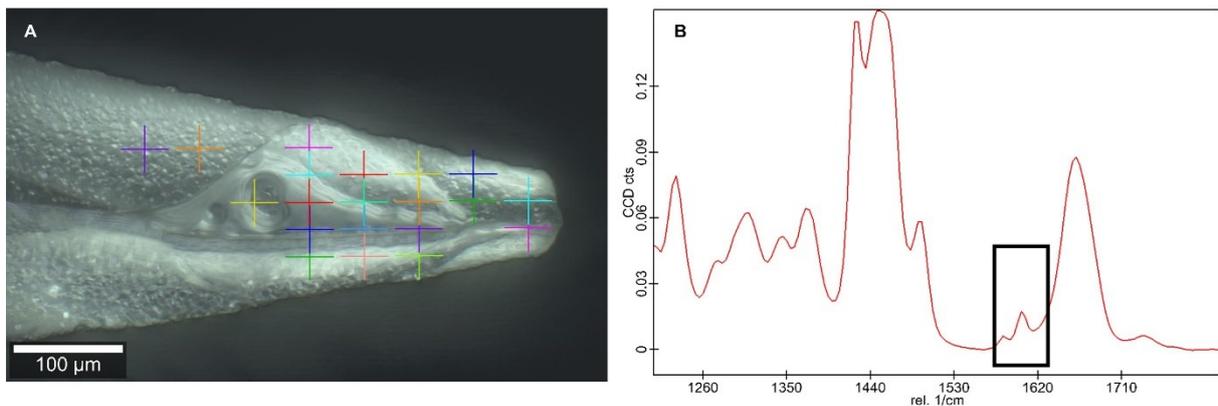


Abbildung 36: KRM von einzelner Mikronadel mit DS 9 als DS; A: Markierte Messpunkte der Einzelpunktmessungen (kolorierte Kreuze); B: vergrößertes Spektrum der PVP-haltigen Schicht (normalisiert auf Polymerbande), LIS-Signal markiert bei 1603 cm^{-1}

Allerdings konnte bereits durch mikroskopische Aufnahmen erahnt werden, dass Vorder- und Rückseite der Mikronadel nicht identisch waren. Bisher wurden ausschließlich Ergebnisse für die Vorderseite der Nadel gezeigt. Die Optik der Rückseite der gleichen Mikronadel kann der Abbildung 37 A entnommen werden. Es konnte kein LIS in der Rückseite der Nadel gefunden werden. Es wurde kein Signal bei einer Wellenzahl von 1603 cm^{-1} detektiert. Außerdem entsprach das Spektrum der Einzelpunktmessungen dem Spektrum von EC. Das bedeutete, dass die Nadelspitze nicht einheitlich aus Povidon mit LIS bestand.

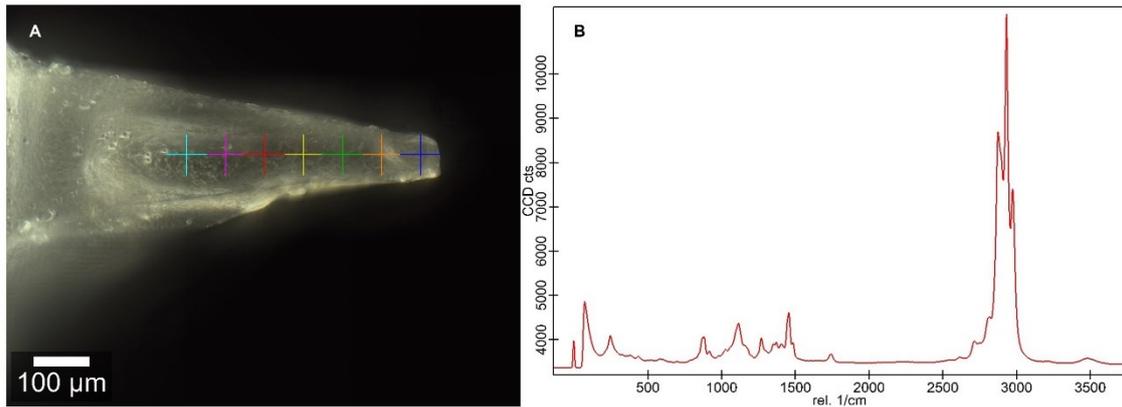


Abbildung 37: KRM von einzelner Mikronadel mit DS 9 als DS; A: Rückseite einer einzelnen Mikronadel (mit markierten Messpunkten); B: Gemittelte Spektren aus 7 Einzelmessungen

Die beobachteten Phänomene konnten erklärt werden, indem angenommen wurde, dass die Kavität nicht genau mittig mittels TSD gefüllt wurde. Vermutlich wurde die Kavität leicht schräg mit TZ F3 gefüllt und diese trocknete auch in dieser Form. Außerdem konnte davon ausgegangen werden, dass die TZ im Rahmen der Trocknung Volumenkontraktion zeigte. Die Nadelspitze war wesentlich kürzer als 450 μm, auch wenn die Kavität zur Hälfte mittels TSD gefüllt wurde. Diese Volumenkontraktion war im Vorfeld nicht aufgefallen, da sich die einzelnen Schichten der MNS miteinander vermischten und genügend Volumen Polymerlösung zum „Nachfließen“ vorhanden war.

Diese Erkenntnisse bzw. Schlussfolgerungen sind in Abbildung 38 schematisch als aufgestellte Hypothese zusammengefasst.

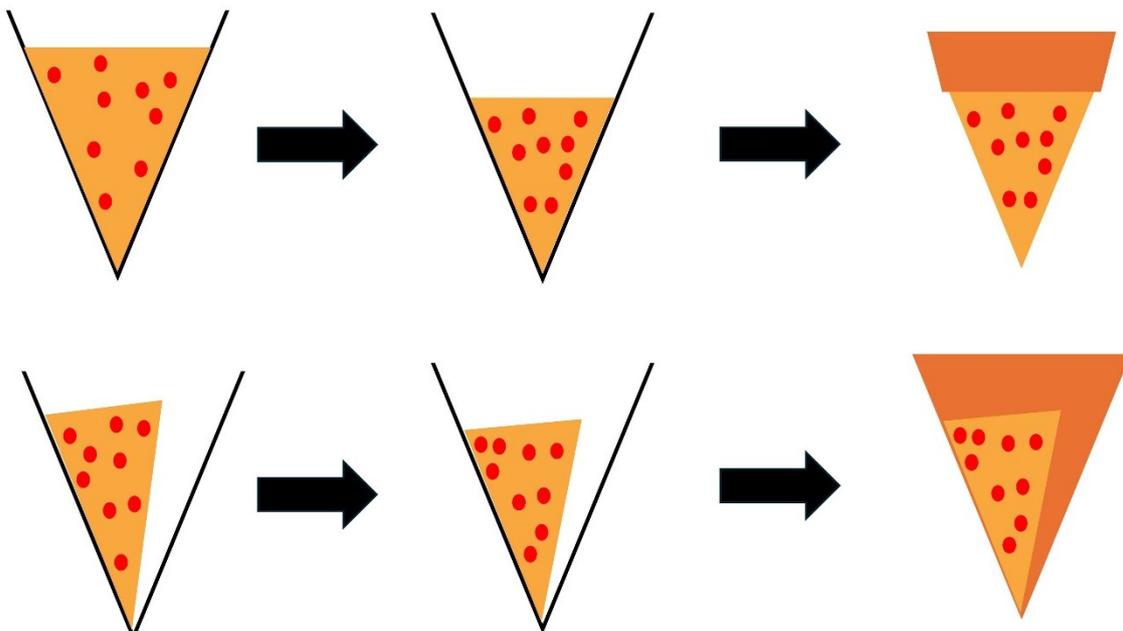


Abbildung 38: Hypothese des Herstellungsprozesses für mehrschichtige MNS, Mikronadel aus PVP K17 und DS aus EC gelöst in EtAc; oben: optimal mittiges Füllen der Kavität; unten: leicht schräges Füllen der Kavität

Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass ein schräges Befüllen der Kavitäten nicht zu Qualitätseinschränkungen der mehrschichtigen MNS führt. Wie zuvor gezeigt, konnte die Zieldosis sehr genau eingestellt werden (Tabelle 9). Außerdem lösten sich die Nadelspitzen im wässrigen Medium auf, weshalb davon ausgegangen werden konnte, dass es sich wirklich um lösliche MNS handelte.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass die Herstellung von mehrschichtigen MNS einige Herausforderungen bot. Eine klare Separierung der Polymere und des Modell-AS war möglich, wenn Polymere mit unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften für die Herstellung der Nadelspitze und der DS verwendet wurden. Außerdem war es von entscheidender Bedeutung, dass das Polymer für die DS in einem LM gelöst wurde, welches nicht die Nadelspitze erneut auflöst. Nur wenn diese Anforderungen erfüllt wurden, war die erfolgreiche Herstellung von mehrschichtigen MNS möglich. KRM wurde bereits beschrieben als Methode, um AS in löslichen MNS sichtbar zu machen [126]. Dabei wurde rein optisch beschrieben, wie AS in den Mikronadeln verteilt sind. Allerdings handelte es sich dabei um einschichtige MNS und es wurde keine Quantifizierung der AS durchgeführt.

3.3.4. Zusammenfassende Beurteilung

Das Konzept der Herstellung von MNS mittels TSD konnte erfolgreich erweitert werden. Zuvor wurde diese Technologie bereits zur Herstellung von personalisierten löslichen MNS evaluiert. Nun wurde diese Herstellungstechnik zur Herstellung von mehrschichtigen MNS mit der konventionell verbreiteten Zentrifugationsmethode kombiniert. Es war möglich mit der bereits zuvor charakterisierten TZ mehrschichtige MNS herzustellen. Dabei konnte durch Variation der Füllhöhe der Kavitäten der Silikonmatrize die AS-Beladung der mehrschichtigen MNS fein justiert werden. Abstufungen in μg -Schritten waren durch Variation der Tropfenanzahl möglich, welche pro Kavität gedruckt wurden. Es war jedoch denkbar, dass sogar kleinere Variationen der Dosis pro MNS möglich sind, da die Tropfenanzahl am Drucker auf eine Zahl genau eingestellt werden kann. Diese Herstellungstechnik erweiterte die möglichen Herstellungsmethoden für mehrschichtige MNS zur Anwendung in der personalisierten Medizin. Auf diese Weise können unter Verwendung einer einzigen TZ Arzneiformen mit individualisierter Dosis hergestellt werden. Insgesamt sind somit verschiedene Konzepte zur Individualisierung der MNS möglich: Die Dosis kann variiert werden durch Anpassung der Füllhöhe der Kavitäten mit der AS-haltigen TZ, durch Auslassen einzelner Kavitäten oder sogar durch eine Kombination dieser beiden Konzepte.

Die hergestellten mehrschichtigen MNS wurden hinsichtlich ihrer mechanischen Stabilität beurteilt. Die relative HR wurde dabei als Maß verwendet. Die MNS zeigten, unabhängig von der Höhe der AS-haltigen Schicht, eine ausreichend hohe mechanische Stabilität. Die relative HR war geringer als 15 %. Es wurden bereits zweischichtige MNS beschrieben, bei denen die

AS-haltige Spitze aus einem PVP-PVA-Gemisch gefertigt wurde [196]. Diese Mikronadeln zeigten eine ähnliche prozentuale HR und waren geeignet den AS Bictegravir bei Ratten in-vivo transdermal zu verabreichen.

Allerdings war nicht nur die mechanische Stabilität der mehrschichtigen MNS entscheidend, um den AS über die Haut zu applizieren. Daher wurde das Insertionsverhalten der Mikronadeln in 8 Schichten Parafilm® M zusätzlich untersucht. Dabei durchstachen die MNS zuverlässig mindestens 3 Schichten dieses künstlichen Hautmodells. Es wurde für mehrschichtige MNS mit löslichen Nadelspitzen beschrieben, dass das Durchstechen von mindestens 2 Schichten Parafilm® M ausreichen konnte, um eine transdermale AS-Abgabe zu ermöglichen [145]. Die in dieser Literaturstelle beschriebenen MNS zeigten ein vergleichbares Insertionsverhalten wie die in dieser Arbeit hergestellten mehrschichtigen MNS in das künstliche Hautmodell. Die in der Literatur beschriebenen MNS konnten Rifampicin über Schweinehaut in-vitro applizieren.

Insgesamt konnten mehrschichtige MNS mittels TSD und der Zentrifugationsmethode hergestellt werden, welche mechanisch die geforderten Kriterien erfüllten. Es müssen jedoch weitere Charakterisierungen erfolgen, um die transdermale AS-Abgabe zu untersuchen.

Im Fokus dieses Kapitels stand vor allem die Etablierung von KRM zur Untersuchung der mehrschichtigen MNS. KRM wurde bereits zuvor beschrieben und als nützliches Werkzeug zur Charakterisierung von MNS vorgestellt. KRM wurde verwendet, um die AS-Verteilung in löslichen MNS sichtbar zu machen [126]. Dabei wurden allerdings einschichtige MNS, bei denen der AS auch in der DS lokalisiert war, vermessen. Des Weiteren wurde Raman-Spektroskopie bereits beschrieben, um die Integrität von Insulin im Überzug von überzogenen MNS zu zeigen [197]. In diesem Kapitel wurde eindeutig gezeigt, dass sich KRM auch dazu eignete, die AS-Konzentration von LIS in beiden Polymerschichten der MNS zu bestimmen. Dabei konnte bewiesen werden, dass der Herstellungsprozess und die ausgewählten Polymere und LM kritisch sein können. Es ist gewünscht, dass der AS ausschließlich in der Mikronadel lokalisiert ist. AS in der DS würde während der Anwendung nicht appliziert werden und in einer Verschwendung von AS resultieren. Das Polymer der Mikronadelspitze darf nicht durch das LM der DS aufgelöst werden. Dies führte zu einer starken Verdünnung des AS. Dadurch würde die applizierte AS-Menge drastisch reduziert werden und es käme zu einer Unterdosierung. Wenn allerdings die DS und die Nadelspitze aus Polymeren mit unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften hergestellt wurden und das LM der DS nicht die Nadel auflöste, konnten MNS hergestellt werden, bei denen der AS ausschließlich in der Nadel lokalisiert war. Die DS war AS-frei. KRM konnte erfolgreich etabliert werden, um die Konzentration von LIS in den Nadeln zu bestimmen.

Insgesamt stellte KRM einen interessanten neuen Ansatz dar, um die AS-Konzentration in den MNS zu quantifizieren. Dabei war hervorzuheben, dass diese Bestimmung nicht-destruktiv

erfolgen konnte. Bisweilen wurden Gehaltsbestimmungen von MNS konservativ durchgeführt. Dabei wurden die kompletten MNS [198] oder die Nadelspitzen [138] in einem geeigneten LM gelöst und anschließend mittels HPLC-Analytik vermessen. Diese Art von Gehaltsbestimmung stellt allerdings destruktive Prüfmethode dar. KRM könnte demnach in der Zukunft eine geeignete Alternative darstellen, um mehrschichtige MNS im Rahmen der Qualitätskontrolle und In-Prozess-Kontrollen zu charakterisieren. Allerdings muss das Messprinzip der KRM erst auf andere AS übertragen werden und die Methoden müssen validiert werden.

3.4. Herstellung und Charakterisierung von Mikronadelsystemen mit der räumlichen Aufteilung von zwei Arzneistoffen

Teile dieses Kapitels wurden bereits in der Zeitschrift *International Journal of Pharmaceutics* mit Peer-Review-Verfahren veröffentlicht. Der Inhalt wurde ins Deutsche übersetzt und graphisch angepasst. Des Weiteren wurden einige Daten hinzugefügt.

- Lammerding, L.C., Arora, A., Braun, S., Breitzkreutz, J., 2025. *Spatial separation of different drug substances in one microneedle array patch by combining inkjet printing and micromolding technology*. Int J Pharm 670, 125102.

3.4.1. Hintergrund

Ziel dieses Versuches war es, verschiedene AS in einem MNS zu kombinieren. Es konnte in vorherigen Arbeiten gezeigt werden, dass die Kombination verschiedener AS in einem MNS möglich ist [190]. In dieser Studie wurden Acetylsalicylsäure, LIS und Atorvastatin als AS verwendet. Die AS wurden in Mikronadeln aus Povidon und PVME/VA eingebettet und waren in der Lage, alle drei AS in-vitro transdermal zu verabreichen. Auch wurde die Herstellung von MNS aus Povidon beschrieben, welche eine Kombination aus Ascorbinsäure und Koffein enthielten [199]. Auch diese MNS waren mechanisch robust und konnten beide AS erfolgreich verabreichen. Allerdings hatten beide Studien gemeinsam, dass die MNS mittels einer Zentrifugationsmethode hergestellt wurden. Die AS wurden jeweils in der polymerhaltigen Formulierung gelöst und anschließend durch Zentrifugation in die Kavitäten gefüllt. Dadurch konnte nicht bestimmt werden, welche Kavitäten genau gefüllt wurden. Sämtliche Kavitäten wurden mit der gleichen Zusammensetzung befüllt. Diese Herstellungsmethode ist daher nicht geeignet für AS oder Hilfsstoffe, welche inkompatibel sind. Diese können nicht in der gleichen Polymerlösung gelöst werden. Außerdem kann nicht kontrolliert werden, welche Kavitäten befüllt oder ausgelassen werden, sodass auch eine Herstellung mit verschiedenen Polymerlösungen nicht möglich ist.

Zuvor wurde bereits beschrieben, dass sich TSD eignet, um einzelne Kavitäten des Mikronadelnegativs präzise und individuell zu befüllen (Kapitel 3.2.). Es konnte gezeigt werden, dass die resultierenden Mikronadeln mechanisch robust genug waren und sich für eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe eignen könnten. Die verwendete TZ F3 enthielt PVP K17 als schnelllösliches Polymer. Es sollte untersucht werden, ob die Anwendbarkeit der TZ erweitert werden konnte. Es sollte eine Hälfte der Kavitäten des Mikronadelnegativs mit der TZ F3 mittels TSD gefüllt werden. In einem zweiten Schritt sollte eine andere Polymerlösung verwendet werden, um die andere Hälfte der Kavitäten zu füllen. Dabei sollte eine Formulierung verwendet werden, welche eine verlängerte AS-Freisetzung ermöglichte.

Dadurch sollten insgesamt MNS hergestellt werden, welche Mikronadeln aus zwei unterschiedlichen Polymeren mit LIS (in Povidon) und IBU als Modell-AS enthielten.

Zunächst musste eine geeignete Formulierung gefunden werden, welche zur Herstellung von MNS mit einer verlängerten AS-Freisetzung geeignet war. Als verlängert freisetzende Polymere wurden Ammoniummethacrylat-Copolymere des Typs A und B (AMM A und B), sowie EC untersucht. Dazu wurden zunächst MNS hergestellt, welche ausschließlich aus diesen Polymeren bestanden. Diese MNS wurden mit der Zentrifugationsmethode hergestellt und hinsichtlich ihrer mechanischen Stabilität, der Insertion in ein künstliches Hautmodell, der optischen Beschaffenheit und des Freisetzungsverhaltens charakterisiert.

Im Anschluss wurden MNS mit räumlich getrennten Mikronadeln hergestellt. Auch diese MNS wurden zunächst optisch charakterisiert. Anschließend wurden diese MNS hinsichtlich ihrer mechanischen Stabilität, der Insertion in ein künstliches Hautmodell, ihrer AS-Freisetzung und der Insertion in Humanhaut untersucht. Abschließend wurden die MNS zusätzlich in Hinblick auf die in-vitro Permeation durch Humanhaut charakterisiert.

3.4.2. Formulierungsentwicklung für verlängerte Arzneistofffreisetzung aus Mikronadelsystemen

3.4.2.1. Optische Charakterisierung

Es wurden MNS aus Polymeren hergestellt, welche eine verlängerte AS-Freisetzung ermöglichten. Zur Herstellung wurden die Polymerlösungen R1, R2 und R3 verwendet (Tabelle 23). Als Polymere wurden AMM A, AMM B und EC verwendet. Diese werden vor allem zum Überziehen fester Arzneiformen verwendet, um eine verlängerte AS-Freisetzung zu ermöglichen [200-202]. EC wurde in R3 in Kombination mit PEG 400 verwendet. Dies ist bei anderen Arzneiformen üblich, da EC einen Porenbildner benötigt, damit AS freigesetzt werden kann [203].

Zur Herstellung der MNS wurde den Formulierungen R1 - 3 IBU als Modell-AS zugesetzt. IBU wurde in einer Konzentration von 20,0 mg/g eingesetzt. Die MNS wurden mit Hilfe von Mikronadelmatrizen hergestellt, welche 300 Kavitäten enthielten. Jede Kavität war von pyramidalen Form mit einer quadratischen Grundfläche. Diese hatten eine Seitenlänge von 300 µm. Die Tiefe der Kavitäten betrug 650 µm und die Kavitäten hatten jeweils einen Abstand von 0,5 mm in horizontaler und vertikaler Richtung. Solch eine verwendete Mikronadelmatrize ist in Abbildung 39 dargestellt.

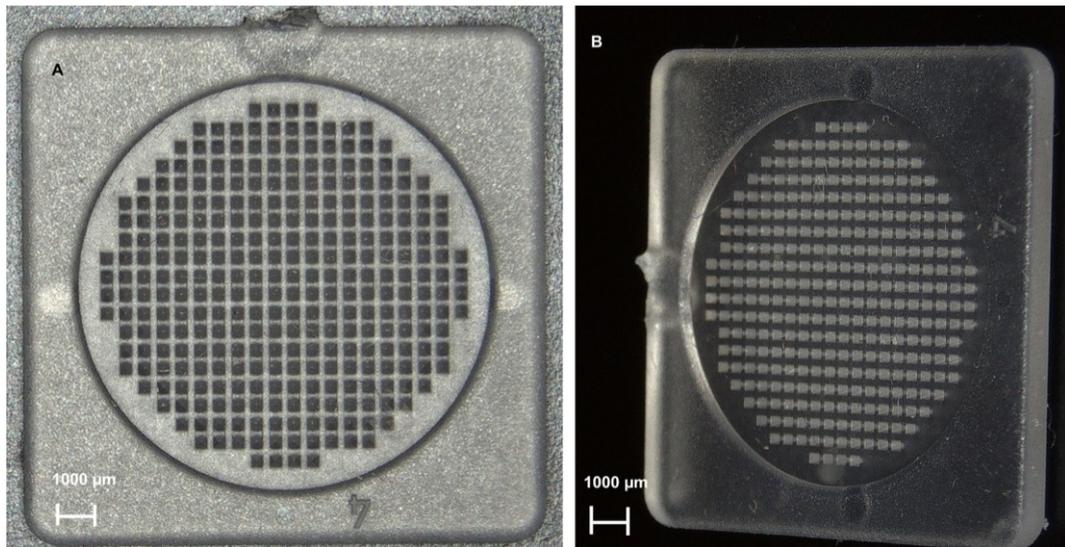


Abbildung 39: Mikronadelmatrize mit 300 Kavitäten; A: Aufsicht; B: Seitliche Ansicht; Am Mikroskop eingestellte Vergrößerung: 20x

Nach der Trocknung wurden die hergestellten MNS zunächst visuell charakterisiert. Die Ergebnisse der digitalmikroskopischen Auswertung sind der Abbildung 40 zu entnehmen.

MNS, welche aus AMM B hergestellt wurden, waren spitz und intakt nach der Trocknung und konnten problemlos aus dem Mikronadelnegativ entnommen werden (Abbildung 40 A). Außerdem zeigten die Mikronadeln kein Schrumpfen. Die Zielhöhe von 650 µm wurde erreicht und die Nadeln waren $651,24 \pm 6,51$ µm hoch (Abbildung 40 B). Ähnliche Beobachtungen konnten für die MNS gemacht werden, welche aus AMM A hergestellt wurden (Abbildung 40 C und D). Diese Nadeln waren ebenfalls spitz und intakt und wiesen eine Höhe von $648,64 \pm 3,34$ µm auf. Somit waren beide Polymere geeignet zur Herstellung von formstabilen und intakten Mikronadeln. Davon abweichende Ergebnisse wurden erzielt bei der Herstellung von MNS aus EC. Diese Mikronadeln waren nicht spitz ausgeprägt (Abbildung 40 F). Die Nadelspitzen waren abgerundet und stumpf. Außerdem wurde mit einer Höhe von $558,00 \pm 37,34$ µm die Zielhöhe nicht erreicht. Eine mögliche Erklärung könnte sein, dass die Polymerlösung aus 20 % EC in EtAc zu viskos war und die Zentripetalkraft nicht ausreichte, um die Kavitäten vollständig zu füllen.

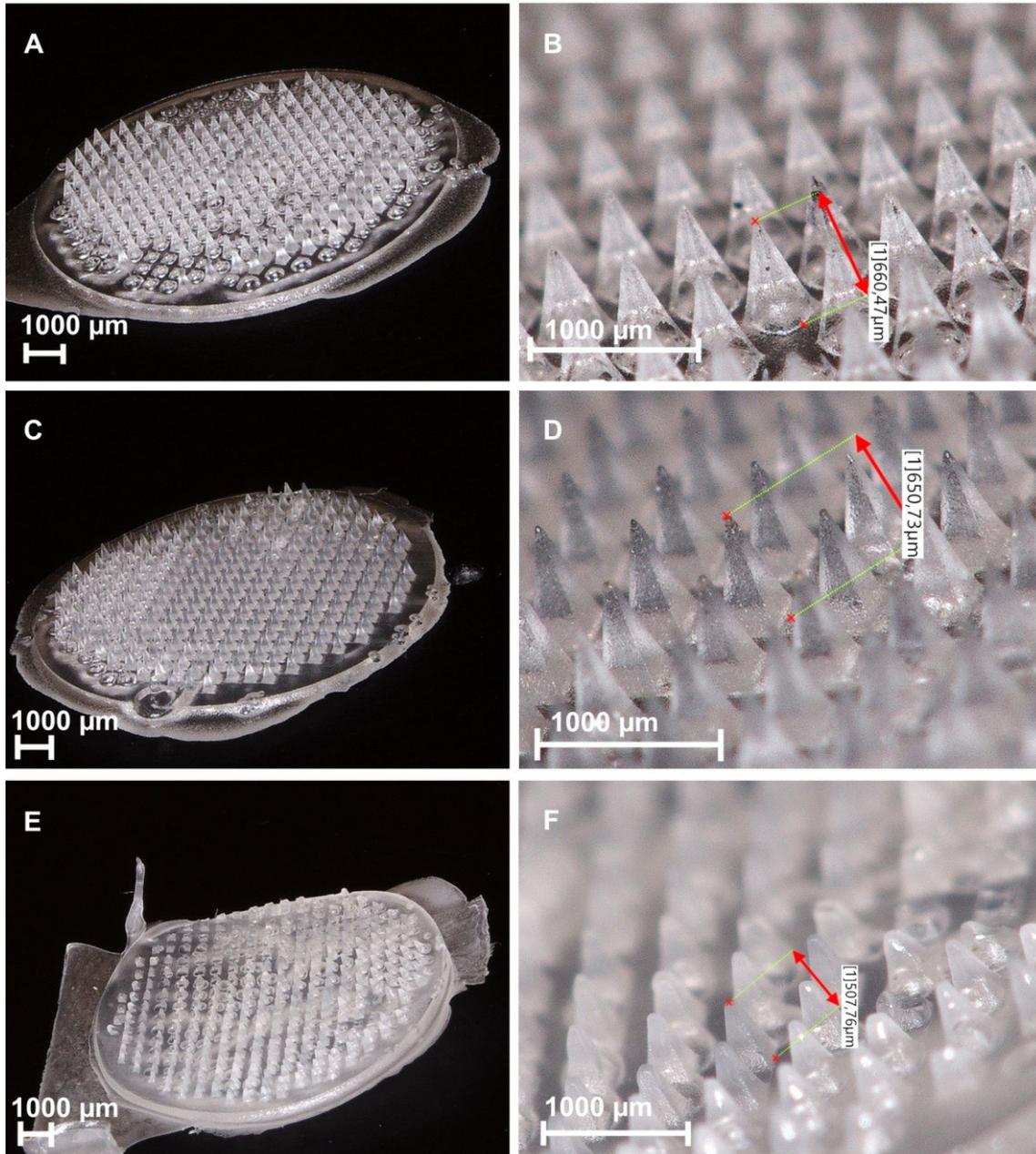


Abbildung 40: MNS aus verlängert freisetzenden Polymeren hergestellt mit der Zentrifugationsmethode; A+B: MNS AMM B, C+D: MNS aus AMM A, E+F: MNS aus EC; Am Mikroskop eingestellte Vergrößerung: A, C, E 10x / B, D, F 50x

3.4.2.2. Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften von Mikronadelsystemen für eine verlängerte Arzneistofffreisetzung

Die zuvor optisch beurteilten MNS wurden hinsichtlich ihrer mechanischen Stabilität untersucht. Dazu wurde die relative HR nach Kompression mit einer Kraft von 32 N als Maß verwendet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 41 zusammenfassend dargestellt.

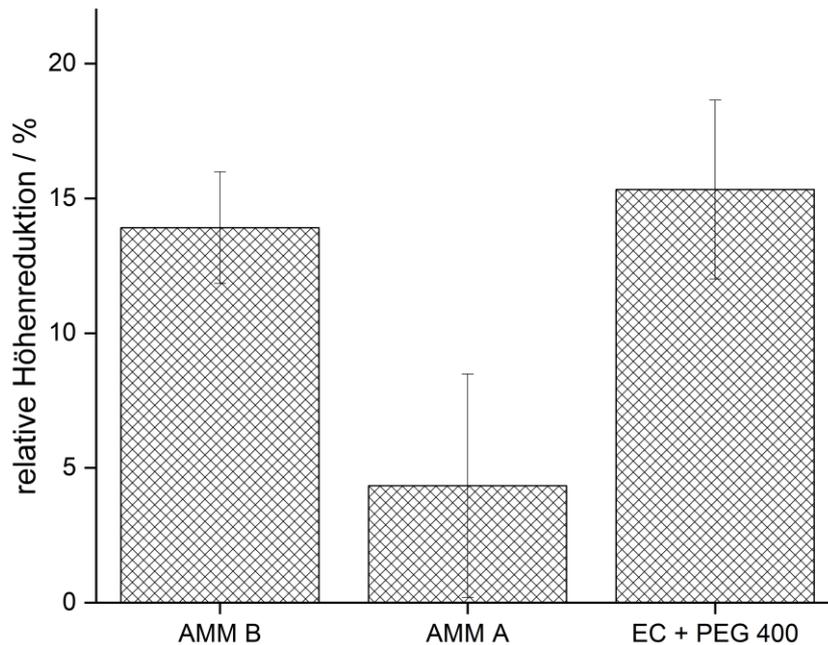


Abbildung 41: Ergebnisse der mechanischen Stabilität nach Kompression der verlängert freisetzenden Polymere; Bestimmung mittels Texture Analyser bei einer Kraft von 32 N, gehalten für 30 s und Vermessung der Nadelhöhe vor und nach Kompression; $\bar{x} \pm sd$, n=6

Die MNS, welche aus AMM B und EC hergestellt wurden zeigten vergleichbare relative HR. Diese betrug $13,9 \pm 2,0$ % (AMM B) bzw. $15,3 \pm 3,3$ % (EC). Beide Werte waren somit über dem idealen Bereich der prozentualen HR von < 10 %. Allerdings wurden bereits MNS hergestellt, welche eine relative HR von $15 - 20$ % aufwiesen und dennoch für eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe geeignet waren [102]. Daher schien der reine Zahlenwert der relativen HR ein mögliches Indiz zu sein, dass diese MNS erfolgreich Humanhaut in späteren Untersuchungen durchstechen könnten.

Allerdings spielt nicht nur die prozentuale HR eine entscheidende Rolle hinsichtlich der mechanischen Stabilität von Mikronadeln und der Möglichkeit, mit diesen MNS AS transdermal zu applizieren. Die Mikronadeln dürfen während der Kompression nicht abbrechen und sollten sich nicht in einem zu hohen Ausmaß verbiegen. MNS, welche aus AMM B hergestellt wurden, blieben nach der Kompression spitz und intakt, jedoch konnte ein leichtes Biegen der einzelnen Mikronadeln beobachtet werden (Abbildung 42 A). Aus EC hergestellte Mikronadeln waren ebenfalls nach der Kompression verbogen (Abbildung 42 C). Die Mikronadeln waren bereits vor der Kompression stumpf, weshalb nicht genau erkannt werden konnte, ob diese zusätzlich an der Spitze abbrachen.

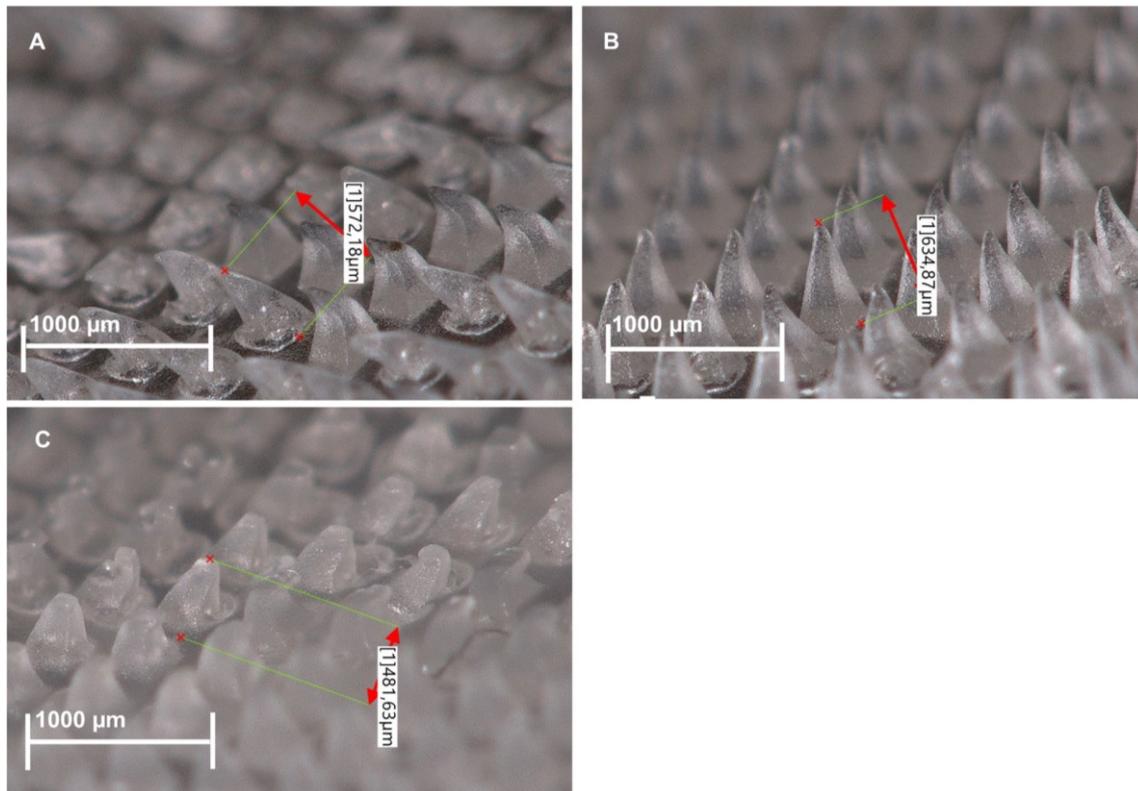


Abbildung 42: MNS aus Polymeren für verlängerte Freisetzung, nach Kompression; A: AMM B; B: AMM A; C: EC + PEG 400; Am Mikroskop eingestellte Vergrößerung: 50x

Aus AMM A hergestellte MNS waren auch nach der Kompression spitz und intakt. Diese Mikronadeln zeigten kein Anzeichen von Verbiegen (Abbildung 42 B). Die relative HR war mit $4,33 \pm 4,14 \%$ am geringsten (Abbildung 41) und demnach deutlich unter dem empfohlenen Bereich von $< 10 \%$ [133].

Abschließend konnte gezeigt werden, dass alle aus verlängert freisetzenden Polymeren hergestellten MNS unterschiedliche mechanische Stabilität aufwiesen. Am vielversprechendsten zeigten sich Mikronadeln aus AMM A. Diese wiesen die kleinste prozentuale HR auf, blieben nach dem Test spitz und verbogen sich nicht. Am wenigsten geeignet schienen MNS aus EC (+ PEG 400) zu sein. Diese Nadeln ließen sich kaum aus dem Mikronadelnegativ entfernen und waren von Anfang an stumpf. Es wurde bereits zuvor die Herstellung von MNS aus AMM strukturverwandten Polymeren (Eudragit® NM) beschrieben [204]. Von diesen MNS wurde zwar nicht die mechanische Stabilität bestimmt, allerdings waren sowohl MNS aus Eudragit® NM als auch aus einer Kombination von Eudragit® NM und PVA mechanisch stabil genug und konnten Schweinehaut durchstechen. Ansonsten wurde noch die Herstellung von MNS aus AMM B beschrieben [205]. Allerdings wurden diese MNS nicht ausschließlich aus AMM B hergestellt, sondern in Kombination mit Povidon K90, damit die mechanische Stabilität optimiert werden konnte. Diese MNS zeigten zufriedenstellende relative HR von 10 – 15 %. Über die Herstellung von MNS aus EC wurde bisher nicht berichtet. Es wurden lediglich lösliche MNS mit EC überzogen, um die AS-Freisetzung zu verlängern

[206]. Weitere Untersuchungen waren nötig, um eine geeignete Polymerformulierung für die Herstellung von MNS mit verlängerter AS-Freisetzung zu charakterisieren.

3.4.2.3. Penetration von Mikronadelsystemen aus Retard-Polymeren in ein künstliches Hautmodell

In der Folge wurde das Eindringverhalten der hergestellten MNS in 8 Schichten Parafilm® M als künstliches Hautmodell untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 43 dargestellt.

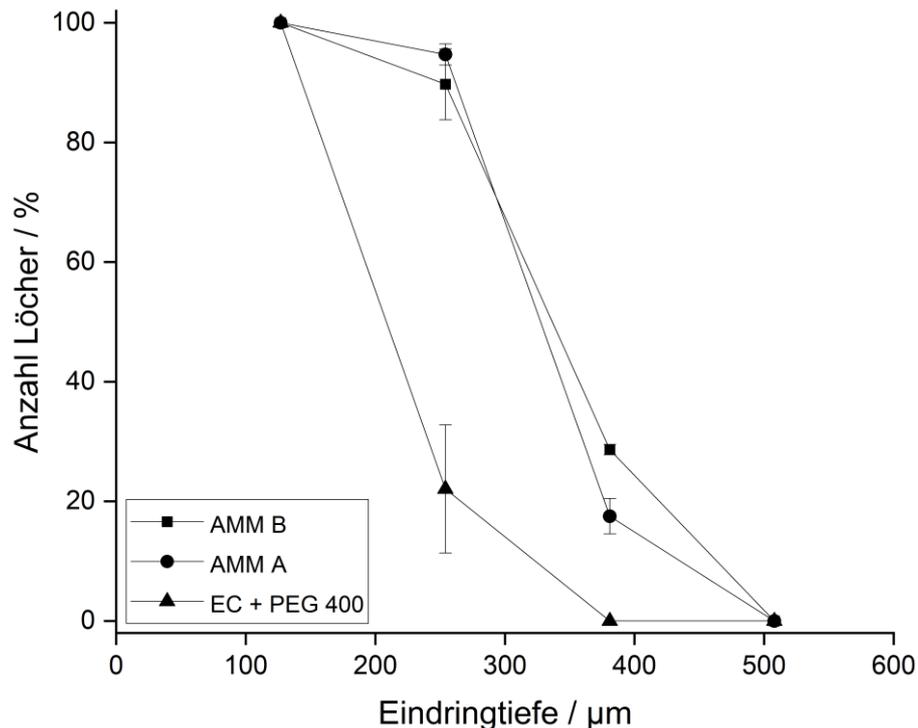


Abbildung 43: Insertion von MNS aus verlängert freisetzenden Polymeren in 8 Schichten Parafilm® M mittels Texture Analyser (Kraft von 32 N, für 30 s gehalten); $\bar{x} \pm sd$, n=3

Die Ergebnisse deckten sich zu großen Teilen mit den ersten Aussagen, welche im Rahmen der Bestimmung der mechanischen Stabilität der MNS getroffen wurden. MNS, welche aus EC hergestellt wurden, durchdrangen überwiegend lediglich eine Schicht (entsprechend 127 µm) Parafilm® M. Nur 22 ± 11 % der Mikronadeln durchstachen die zweite Schicht des künstlichen Membranmodells (entsprechend 254 µm). Dieses Insertionsverhalten ist vermutlich unzureichend, um im Rahmen einer späteren Anwendung das SC der menschlichen Haut zu durchstechen. Der Grund dafür war, dass die Mikronadeln keine klar ausgebildeten Spitzen aufwiesen (Abbildung 40 C). Außerdem konnte PEG 400 in den hergestellten MNS nicht nur als Porenbildner, sondern auch als WM dienen [184]. Dies könnte dazu geführt haben, dass die hergestellten Mikronadeln aus EC zu weich wurden und Parafilm® M nicht erfolgreich durchstechen konnten.

Die MNS, welche aus AMM A und B hergestellt wurden, zeigten ein tieferes Eindringen in das künstliche Hautmodell. In beiden Fällen war ein Großteil der Mikronadeln in der Lage die zweite Schicht Parafilm® M zu durchstechen. Des Weiteren durchstachen noch 29 ± 1 % der Mikronadeln aus AMM B und 18 ± 3 % aus AMM A die dritte Schicht (entsprechend $381 \mu\text{m}$). Insgesamt gilt, dass eine transdermale AS-Abgabe möglich ist, wenn mindestens zwei Schichten Parafilm® M von den Mikronadeln durchstochen werden [207]. Jedoch gilt dieser Richtwert in erster Linie für lösliche MNS. Diese lösen sich innerhalb weniger Minuten in der Haut auf, sodass die Eindringtiefe tendenziell nicht so groß sein muss, um eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe zu ermöglichen. Bei AMM A und B handelt es sich um unlösliche Polymere. In diesem Fall könnte es sein, dass eine transdermale AS-Abgabe ein tieferes Eindringen der Mikronadeln erfordert. Weitere Untersuchungen waren daher notwendig.

3.4.2.4. Arzneistofffreisetzung aus Mikronadelsystemen aus Retard-Polymeren

Die AS-Freisetzung von IBU wurde bestimmt, um eine erste Einschätzung zu einer möglichen Anwendungsdauer der eingesetzten Polymere zu erhalten. Die Freisetzungsuntersuchungen wurden für MNS aus AMM B, AMM A und EC (+ PEG 400) durchgeführt. Als Freisetzungsmedium wurde PBS verwendet. Der pH-Wert des Freisetzungsmediums wurde auf 7,4 eingestellt, um den physiologischen pH-Wert abzubilden. Die Untersuchungen wurden in 10,0 ml des Freisetzungsmediums eingestellt und die Rührgeschwindigkeit auf 200 Umdrehungen pro Minute. Die Ergebnisse der Freisetzungsuntersuchungen sind der Abbildung 44 zu entnehmen.

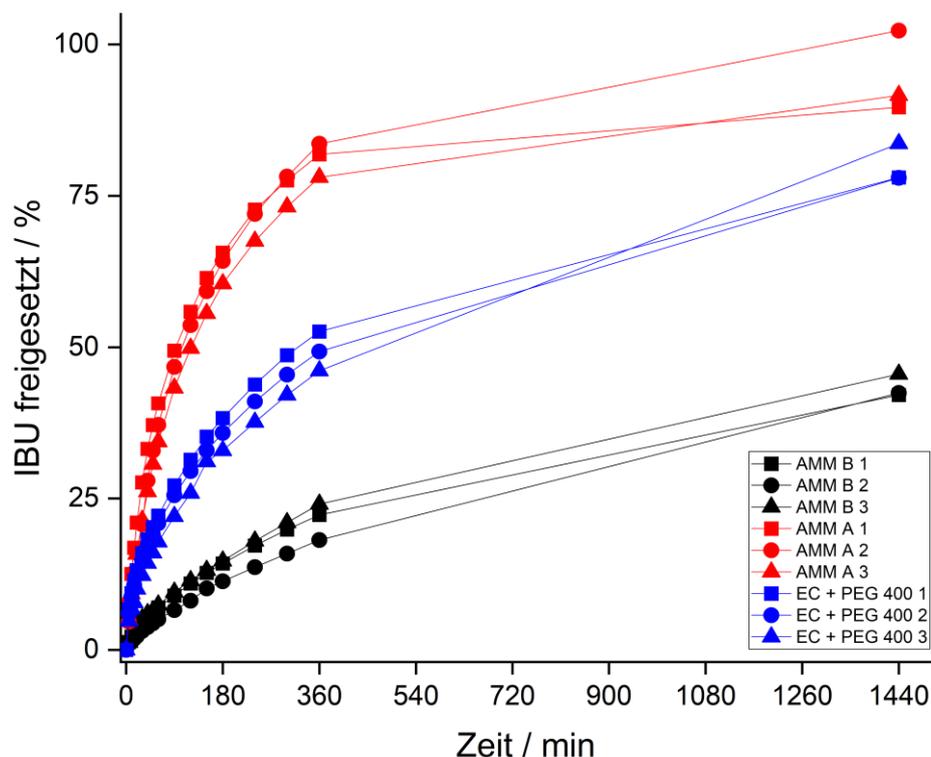


Abbildung 44: Freisetzung von MNS aus Polymeren mit verlängerter AS-Freisetzung; Testmedium 10,0 ml PBS pH=7,4, T=30 °C, 200 UpM Rührgeschwindigkeit; Einzelkurven, n=3

IBU zeigte ein deutlich unterschiedliches Freisetzungverhalten in Abhängigkeit des verwendeten Polymers zur MNS-Herstellung. Wurde AMM B zur Herstellung verwendet, so konnte eine ausgeprägt langsame Freisetzung beobachtet werden. Selbst nach 24 h waren erst $43,38 \pm 1,90$ % IBU freigesetzt. Nach 6 h waren es $21,50 \pm 3,05$ %. Des Weiteren konnte für die Verwendung von AMM B kein Burst-Release zu Beginn der Freisetzung festgestellt werden. Dies könnte dafür sprechen, dass IBU gleichmäßig in den nicht-erodierenden Mikronadeln aus AMM B eingebettet war. Zur besseren Vergleichbarkeit der einzelnen Polymere untereinander wurde die MDT berechnet (Gleichung 8). Die MDT für IBU, eingebettet in den unlöslichen Polymeren, sind in Tabelle 10 zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 10: Berechnete MDT für unlösliche MNS; $\bar{x} \pm sd$, n=3

Polymer MNS	MDT [min]
AMM B	$454,60 \pm 52,83$
AMM A	$125,28 \pm 43,57$
EC	$342,74 \pm 56,09$

Auch die berechnete MDT untermauert die Aussage, dass die Freisetzung aus Mikronadeln, welche aus AMM B hergestellt wurden, am langsamsten ablief. Die MDT betrug in diesem Fall knapp 8 h.

MNS, welche aus AMM A hergestellt wurden, wiesen eine deutlich schnellere Freisetzung von IBU auf. Bereits nach 90 min war mehr IBU freigesetzt als aus den MNS aus AMM B nach 24 h. Nach 90 min waren $46,48 \pm 3,09$ % des AS freigesetzt. Nach 24 h war die Freisetzung von IBU aus MNS aus AMM A beinahe abgeschlossen. Es waren $94,50 \pm 6,80$ % IBU freigesetzt (Abbildung 44). Auch die MDT war deutlich geringer verglichen mit der MDT, welche für MNS aus AMM B berechnet wurde. Die MDT betrug gut 2 h. Dieser Unterschied bzgl. der Freisetzung bei Verwendung von AMM A und B ist von anderen Arzneiformen bekannt und beabsichtigt [208]. Bei AMM A handelt es sich um eine leichter durchlässige Matrix im Vergleich zu AMM B.

MNS, welche aus EC hergestellt wurden zeigten ein Freisetzungverhalten, welches zwischen denen von AMM B und A einzuordnen war (Abbildung 44). So wurde aus diesen MNS nach 24 h $79,87 \pm 3,25$ % IBU freigesetzt. Nach 90 min waren es $24,90 \pm 2,61$ % und damit vergleichbar mit der freigesetzten Menge von IBU aus MNS aus AMM B nach 6 h. Die MDT der MNS aus EC lag mit ungefähr 5,5 h ebenfalls genau zwischen den MDT von AMM B und A.

Es konnte gezeigt werden, dass AMM B und A einen vielversprechenden Ansatz zur Herstellung von verlängert freisetzenden MNS darstellen. Die Polymere eigneten sich zur Herstellung von mechanisch robusten Mikronadeln, welche in ersten Charakterisierungen ausreichend tief in ein künstliches Hautmodell eindringen konnten. Die Polymere eigneten sich

für eine Freisetzung von bis zu 24 h (AMM A) oder sogar für deutliche längere Freisetzungzeiten (AMM B). Interessant könnte in diesem Zusammenhang auch der Ansatz sein, dass die beiden Polymere miteinander gemischt werden können. So könnte das Freisetzungsprofil und somit die spätere Applikationsfrequenz individuell auf den persönlichen Bedarf des Patienten oder der Patientin angepasst werden.

EC war nicht geeignet zur Herstellung von MNS. EC ist undurchlässig für Wasser und AS, sodass den Zubereitungen ein Porenbildner hinzugegeben werden musste. Ein Beispiel dafür ist PEG. Allerdings weist PEG ebenfalls Eigenschaften als WM auf (Kapitel 3.1.). Die resultierenden MNS waren mechanisch nicht ausreichend robust und verbogen während der Kompression. Des Weiteren waren die Mikronadeln nicht spitz, sodass ein Durchstechen des künstlichen Hautmodells drastisch eingeschränkt war. Daher wurde EC für eine weitere Charakterisierung zur Herstellung von Mikronadeln, welche zwei Polymere räumlich getrennt enthielten, ausgeschlossen. Weitere Versuche müssten durchgeführt werden, ob sich die Verwendung anderer löslicher Porenbildner besser eignet (z.B. Hypromellose).

3.4.3. Charakterisierung von Mikronadelsystemen mit räumlich getrennten Arzneistoffen und Polymeren

Im Folgenden wurden MNS hergestellt, welche 2 verschiedene Polymere räumlich getrennt enthielten. Die erste Hälfte des Mikronadelnegativs wurde mittels TSD hergestellt und enthielt schnelllösliche Mikronadeln aus PVP K17 mit LIS als Modell-AS. Die andere Hälfte wurde mittels der Zentrifugationsmethode aus den unlöslichen Polymeren AMM A bzw. B hergestellt. Als Modell-AS wurde diesen Mikronadeln IBU zugesetzt. Die Herstellung dieser MNS ist dem Kapitel 5.2.3.3.2. zu entnehmen.

3.4.3.1. *Optische Charakterisierung*

Die hergestellten MNS wurden zunächst mit Hilfe des digitalen Lichtmikroskopes charakterisiert. Dabei wurden sowohl Aufnahmen der gesamten MNS, als auch von einzelnen Mikronadeln gemacht.

Die Ergebnisse der optischen Charakterisierung sind der Abbildung 45 zu entnehmen.

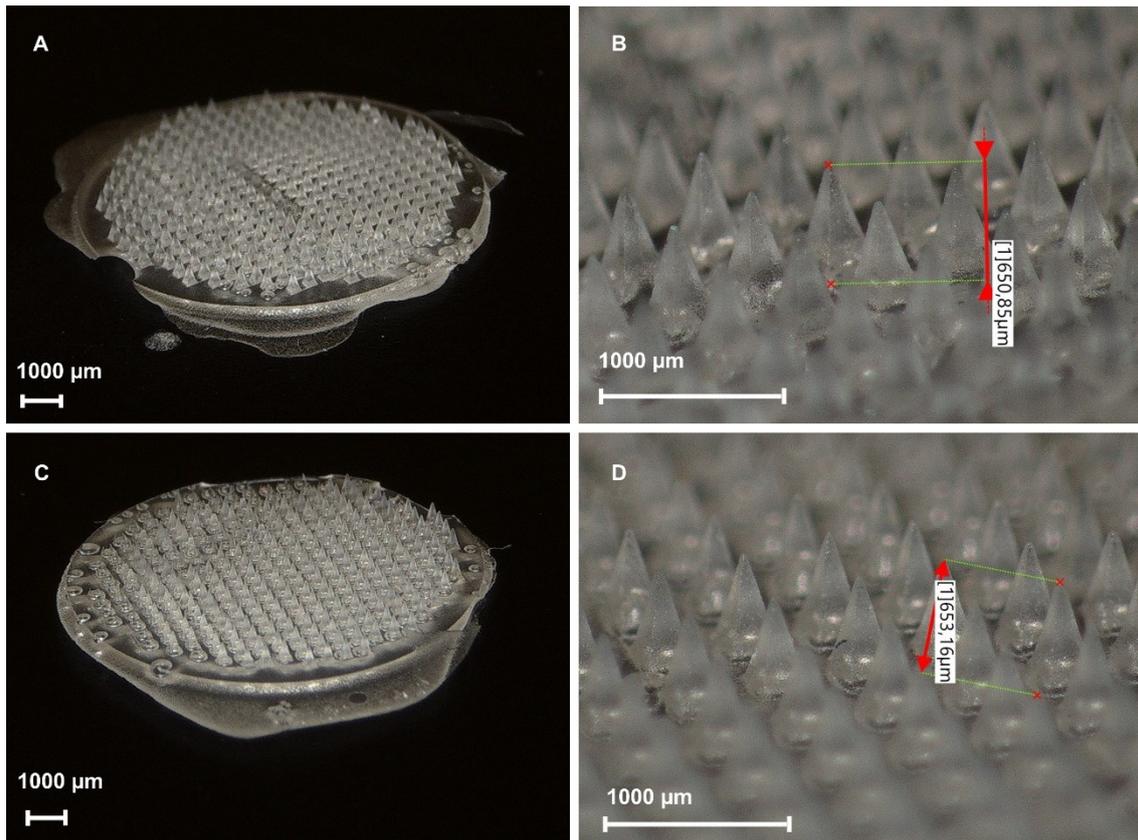


Abbildung 45: Optische Charakterisierung von MNS mit räumlich getrennten Mikronadeln aus unterschiedlichen Polymeren; A+B: MNS aus PVP K17 und AMM B; C+D: MNS aus PVP K17 und AMM A; Am Mikroskop eingestellte Vergrößerung: A, C 10x / B, D 50x

Die hergestellten MNS enthielten 300 intakte Mikronadeln. Nach der Trocknung ließen sich die MNS ohne Probleme dem Mikronadelnegativ entnehmen. Die resultierenden Nadeln waren von pyramidalen Form und wiesen eine intakte Spitze auf (Abbildung 45 B und D). Außerdem zeigten die Nadeln kein Anzeichen von Schrumpfen während der Trocknung. Die Zielhöhe von 650 µm wurde für beide Formulierungen erreicht.

Anhand dieser Aufnahmen konnte jedoch noch keine Aussage über die erfolgreiche räumliche Trennung der Mikronadeln innerhalb des MNS getroffen werden. Daher wurden die MNS für 10 min mit Wasser bedeckt und anschließend erneut mittels des digitalen Lichtmikroskopes analysiert. Die Ergebnisse dieser Charakterisierung sind der Abbildung 46 zu entnehmen.

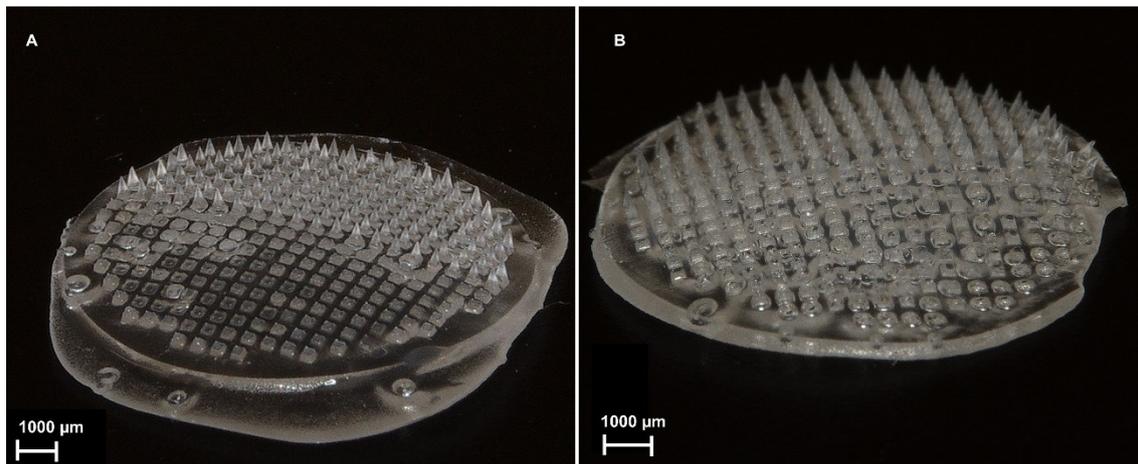


Abbildung 46: MNS mit räumlich getrennten Polymeren nach Auflösen in Wasser; A: PVP K17 und AMM B; B: PVP K17 und AMM A

Es konnte festgestellt werden, dass die Trennung der Nadeln, welche aus unterschiedlichen Polymeren hergestellt wurden, erfolgreich war. Nach dem Bedecken der MNS mit Wasser war eine Hälfte der Mikronadeln aufgelöst. Dabei handelte es sich um die Mikronadeln, welche mittels TSD aus Povidon als wasserlösliches Polymer hergestellt wurden. Im Gegensatz dazu waren die Mikronadeln aus den wasserunlöslichen Polymeren AMM B (Abbildung 46 A) und AMM A (Abbildung 46 B) auch nach Eintauchen in Wasser intakt. Die erfolgreiche Separierung der verschiedenen Polymere und der Modell-AS LIS und IBU lieferte interessante neue Möglichkeiten für die Therapie mittels MNS. Es wurden bereits MNS hergestellt, welche verschiedene Polymere kombinierten [172]. Im Rahmen dieser Studie wurden MNS aus einer Kombination von PMVE/MA, HPMC und PVP hergestellt. Allerdings war die Zusammensetzung sämtlicher Mikronadeln innerhalb dieser MNS identisch. Die MNS wurden ausschließlich mittels einer Zentrifugationsmethode hergestellt. Ebenso wurden MNS aus PVA und Maltose [209] bzw. PVA und Povidon [128] hergestellt. In diesen Fällen konnte durch das Mischen verschiedener Polymere eine erfolgreiche Anpassung der mechanischen Eigenschaften der MNS erzielt werden. Auch konnte dadurch das Freisetzungs- bzw. Auflösungsverhalten der MNS justiert werden.

Die räumliche Separierung von Mikronadeln aus unterschiedlichen Polymeren innerhalb eines MNS wurde hingegen noch nicht beschrieben. Diese Aufteilung war möglich, indem die erste Hälfte der Mikronadeln mittels TSD hergestellt wurde. Wie zuvor beschrieben, durfte das LM der anderen Polymerformulierung die bereits gefüllten Kavitäten des Mikronadelnegativs nicht erneut auflösen (Kapitel 3.3.3.). Dies konnte erreicht werden, indem EtAc als LM für AMM A und B verwendet wurde.

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass eine räumliche Aufteilung von Polymeren und AS innerhalb eines MNS eine sinnvolle Erweiterung des Anwendungsbereiches von MNS darstellen kann. Auf diese Weise können inkompatible AS innerhalb eines MNS kombiniert

werden, wie es bereits in Kapitel 3.2. postuliert wurde. Durch die Kombination mehrerer AS in einer Arzneiform kann die Therapietreue der zu behandelnden Personen gesteigert werden. Des Weiteren ermöglicht die Kombination von Polymeren mit unterschiedlichen Auflösungseigenschaften die Anpassung des Freisetzungsverhaltens an die vom AS und Patienten benötigten Eigenschaften. Die hergestellten MNS mussten jedoch weiteren Untersuchungen hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit unterzogen werden.

3.4.3.2. Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften

Die mechanische Stabilität der MNS wurde bestimmt. Dabei diente die prozentuale HR der einzelnen Nadeln wie zuvor beschrieben als Maß für deren mechanisches Verhalten. Die Ergebnisse der Bestimmung der relativen HR nach Kompression mit einer Kraft von 32 N für eine Dauer von 30 s sind der Abbildung 47 zu entnehmen.

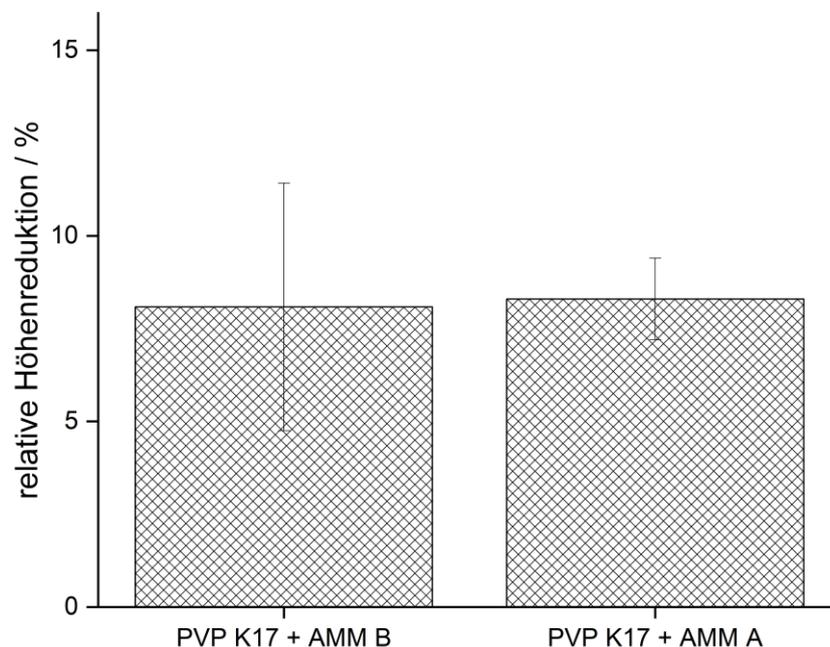


Abbildung 47: Ergebnisse der mechanischen Stabilität der MNS mit räumlich getrennten Polymeren; Bestimmung mittels Texture Analyser bei einer Kraft von 32 N, gehalten für 30 s und Vermessung der Nadelhöhe vor und nach Kompression; $\bar{x} \pm sd$, n=6

Die relative HR der beiden MNS war vergleichbar. Die MNS, welche aus Povidon und AMM B hergestellt wurden, wiesen eine prozentuale HR von $8,1 \pm 3,3$ % auf. Die relative HR der MNS, bei denen Povidon und AMM A räumlich separiert voneinander vorlagen, betrug $8,3 \pm 1,1$ %. Es wurde bereits berichtet, dass eine prozentuale HR von < 10 einen guten Indikator darstellt, dass die Nadeln mechanisch robust genug sind, das SC erfolgreich zu durchstechen [210]. Wichtig war es, dass die Mikronadeln während des Testes nicht brachen. Dies könnte ansonsten auch während der Applikation erfolgen und eine transdermale AS-Abgabe wäre in der Folge nicht möglich.

Es konnte festgestellt werden, dass keine Mikronadeln während der Kompression brachen. Die Nadeln waren auch nach der Kompression spitz und intakt und wiesen eine pyramidale

Form auf. Die Morphologie der Mikronadeln nach der Kompression ist der Abbildung 48 zu entnehmen.

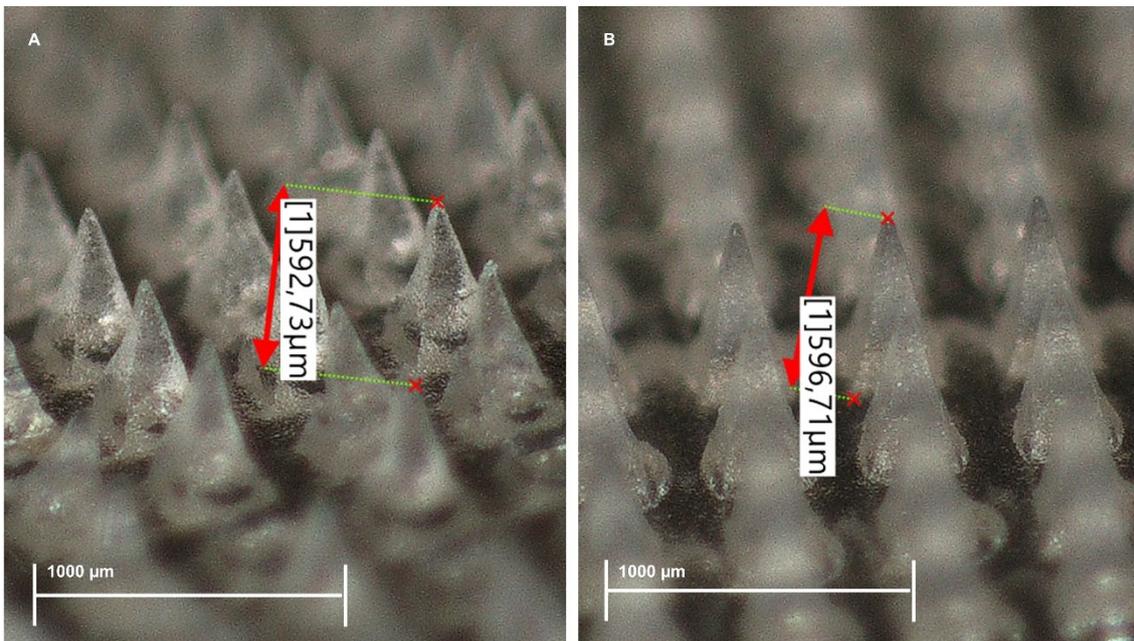


Abbildung 48: Mikronadeln nach Kompression; A: MNS aus PVP K17 und AMM B; B: MNS aus PVP K17 und AMM A

Es konnte jedoch festgestellt werden, dass die Mikronadeln aus AMM B nach dem Test leicht gebogen waren (Abbildung 48 A). Diese Beobachtung deckte sich mit den zuvor getesteten Mikronadeln bei alleiniger Verwendung von AMM B (Abbildung 42 A). Die MNS, welche aus Povidon und AMM A hergestellt wurden, zeigten dieses leichte Biegen nicht (Abbildung 48 B).

Weitere Versuche mussten durchgeführt werden, um die Folgen dieses Verbiegens der Mikronadeln aus AMM B einschätzen zu können. Theoretisch könnte ein Biegen der Mikronadeln zu einer unzureichenden transdermalen AS-Abgabe führen. Im Hinblick auf die relative HR handelte es sich jedoch bei beiden MNS um vielversprechende Kandidaten für eine ausreichende transdermale AS-Abgabe.

3.4.3.3. Penetration in ein künstliches Hautmodell

Das Eindringverhalten der hergestellten MNS, welche Povidon und AMM A bzw. AMM B enthielten, wurde zunächst mit Hilfe eines künstlichen Hautmodells (acht Schichten Parafilm® M) charakterisiert. Die Ergebnisse der Insertion in dieses Hautmodell sind der Abbildung 49 zu entnehmen.

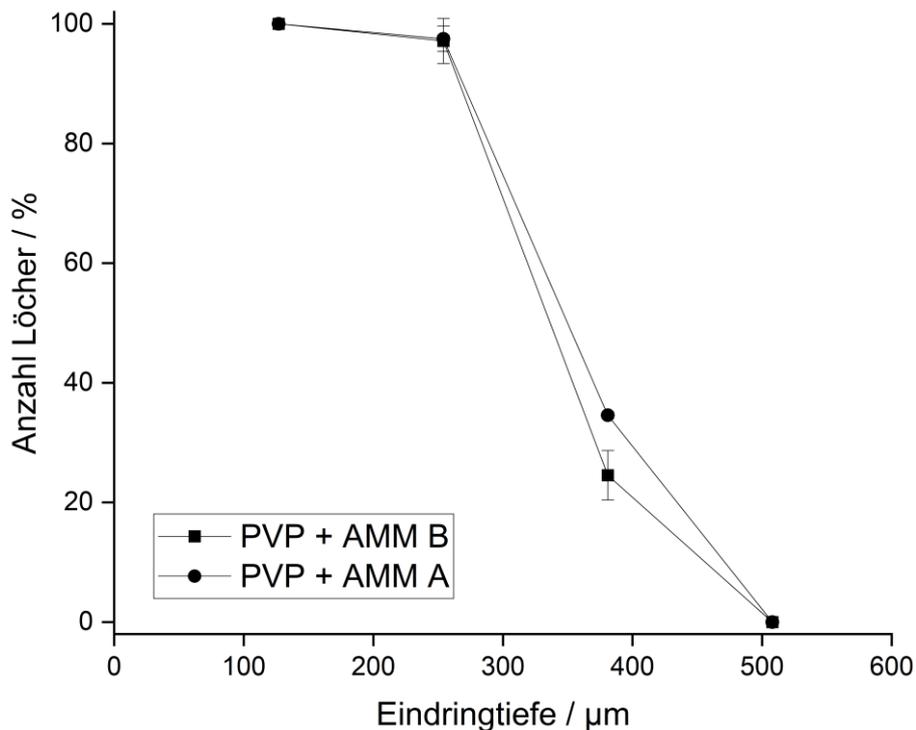


Abbildung 49: Insertion von MNS mit räumlich getrennten Polymeren in 8 Schichten Parafilm® M mittels Texture Analyser (Kraft von 32 N, für 30 s gehalten); $\bar{x} \pm sd$, n=3

Sämtliche Mikronadeln durchstachen die erste Schicht Parafilm® M. Die zweite Schicht konnte ebenfalls von fast allen Mikronadeln durchstochen werden. 97 ± 4 % der räumlich separierten Mikronadeln aus Povidon und AMM B und 98 ± 2 % der räumlich separierten Mikronadeln aus Povidon und AMM A durchstachen diese Schicht. Dies entsprach einer Eindringtiefe von 254 µm. Die beiden untersuchten Formulierungen unterschieden sich hinsichtlich ihres Eindringverhaltens in das künstliche Hautmodell kaum voneinander. Diese Insertionstiefe wurde bereits als ausreichend tief beschrieben, um eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe zu ermöglichen [207]. Dies indizierte, dass sämtliche Polymere ausreichend stabil waren, um die erforderliche Eindringtiefe in das künstliche Hautmodell zu erreichen. Allerdings stellt diese Methode nur eine erste Einschätzung dar. Weitere Faktoren wie die Nadelgeometrie [130], die Nadellänge oder der Abstand zwischen den Mikronadeln [211] beeinflussen die mechanischen Eigenschaften und somit das Eindringverhalten von MNS.

3.4.3.4. Arzneistofffreisetzung

Um erste Informationen über die AS-Abgabe der MNS zu erhalten, wurden Freisetzungsforschungen durchgeführt. Als Freisetzungsmittel dienten hierbei 10,0 ml PBS. Das Freisetzungsmittel wurde auf einen physiologischen pH-Wert von 7,4 eingestellt. Die Ergebnisse der AS-Freisetzung sind in Abbildung 50 zusammenfassend dargestellt.

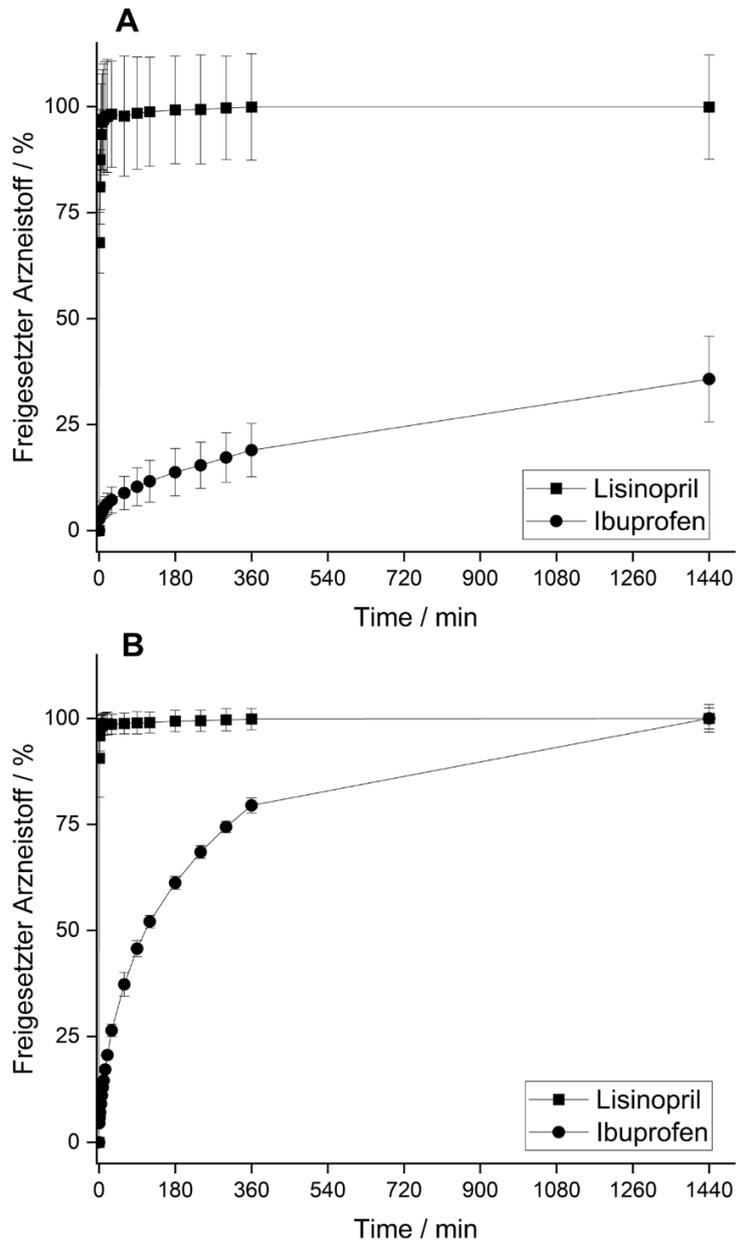


Abbildung 50: Freisetzung von MNS mit räumlich getrennten Polymeren; A: MNS aus AMM B (IBU) und PVP K17 (LIS); B: MNS aus AMM A (IBU) und PVP K17 (LIS); Testmedium 10,0 ml PBS pH=7,4, T=30 °C, 200 UpM Rührgeschwindigkeit; $\bar{x} \pm sd$, n=3

Die Freisetzung von LIS aus den povidonhaltigen Mikronadeln ist für beide hergestellten MNS vergleichbar. So war die Freisetzung von LIS bereits nach wenigen Minuten weitestgehend abgeschlossen. Nach 7 min waren $96,31 \pm 11,34$ % LIS aus den MNS freigesetzt, welche PVP K17 und AMM B räumlich separiert enthielten. Nach der gleichen Zeit waren $98,42 \pm 2,34$ % LIS aus den povidonhaltigen Mikronadeln freigesetzt, welche räumlich getrennt von AMM A vorlagen (Abbildung 50 B). Dieses Freisetzungsverhalten entsprach den Erwartungen. Es handelt sich bei PVP K17 um ein kurzkettiges, gut wasserlösliches Polymer. Die Mikronadeln lösten sich schnell im wässrigen Milieu auf und LIS wurde freigesetzt. Die Zieldosis betrug $132 \mu\text{g}$ (Tabelle 27). Nach vollständiger Freisetzung waren $128,09 \pm 15,75 \mu\text{g}$ LIS (Povidon räumlich getrennt von AMM B) bzw. $135,21 \pm 4,70 \mu\text{g}$ LIS (Povidon räumlich

getrennt von AMM A) freigesetzt. Dies zeigte erneut, dass eine gute Dosiergenauigkeit zur Herstellung von Mikronadeln mittels TSD möglich war. Die zuvor berechnete Soll-Dosis konnte über die berechnete Anzahl an Tropfen, welche pro Kavität gedruckt wurden, präzise eingestellt werden.

Das Freisetungsverhalten von IBU aus den unlöslichen Mikronadeln konnte durch die Variation des verwendeten Polymers variiert werden. Wie zuvor charakterisiert (Abbildung 44) erfolgte dabei die Freisetzung von IBU aus Mikronadeln, welche aus AMM B bestanden, langsamer als aus Mikronadeln aus AMM A. Nach 60 min waren lediglich $8,85 \pm 3,92$ % IBU freigesetzt (AMM B). Aus den Mikronadeln, welche aus AMM A bestanden, betrug die freigesetzte Menge IBU bereits $37,23 \pm 2,81$ % (Abbildung 50 B). Des Weiteren wurden nach 6 h $79,48 \pm 1,78$ % IBU freigesetzt (AMM A), wohingegen die Freisetzung aus AMM B deutlich geringer ausfiel (Abbildung 50 A). In diesem Fall waren nach 6 h $18,93 \pm 6,29$ % freigesetzt. Die Freisetzung von IBU aus Mikronadeln aus AMM B konnte im ausgewählten Beobachtungszeitraum von 24 h nicht vollständig abgeschlossen werden. So waren bei Beendigung der Freisetzung lediglich $35,71 \pm 10,12$ % IBU freigesetzt, während $100,40 \pm 3,28$ % IBU aus AMM A-haltigen Mikronadeln freigesetzt werden konnte.

Insgesamt konnte festgestellt werden, dass sich AMM A als Polymer für MNS eignet, bei denen die AS-Freisetzung innerhalb von 24 h abgeschlossen werden sollte. Bei einer angestrebten Applikationsdauer von mehr als 24 h stellte hingegen AMM B ein vielversprechendes Polymer zur Mikronadel-Herstellung dar. Es wurde bereits die Herstellung und Charakterisierung von MNS aus einer Kombination von PVP und AMM B beschrieben [205]. Dabei wurden jedoch die beiden Polymere in einer gemeinsamen Lösung zur Herstellung der MNS verwendet und jede Mikronadel war von identischer Zusammensetzung. Diese MNS eigneten sich für eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe über einen Zeitraum von 24 h. Des Weiteren wurden auch MNS aus einer Mischung von AMM A und PVP hergestellt [210]. In diesem Fall war die Permeation durch die Haut neugeborener Schweine höher verglichen mit der Permeation bei Verwendung von AMM B und PVP. In beiden Studien wurde zudem der gleiche Modell-AS (Resveratrol) verwendet, weshalb sich diese beiden Studien gut miteinander vergleichen ließen.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass sich das Freisetungsverhalten der hergestellten MNS mit räumlich separierten Polymeren mit dem beschriebenen Freisetzungsbzw. Permeationsverhalten von AMM A und B deckte. Durch eine geeignete Mischung dieser beiden Polymere ist zudem ein genau anpassbares Freisetungsverhalten für andere Arzneiformen beschrieben worden [212]. Dies könnte auch einen interessanten Ansatz in der Herstellung von MNS darstellen. Durch genaue Anpassung der AS-Freisetzung an die

persönlichen Bedürfnisse der Patienten und an die pharmakokinetischen Eigenschaften der AS könnte langfristig die Therapie mittels MNS verbessert werden.

Allerdings stellten die hier untersuchten Freisetzungsforschungen keine realistische Simulation der physiologischen Eigenschaften dar. In den Hautschichten unter dem SC liegen deutlich geringere Mengen von Körperflüssigkeit vor als die in diesem Versuchsabschnitt verwendeten 10,0 ml. Weitere Untersuchungen waren nötig, damit die Aussagekraft gesteigert werden konnte.

3.4.3.5. Insertion in Humanhaut

Für die hergestellten MNS, welche Mikronadeln aus Povidon und AMM A bzw. B räumlich separiert voneinander enthielten, wurde ein erfolgreiches Durchstechen eines künstlichen Hautmodells gezeigt (Kapitel 3.4.3.3.). Allerdings wurde dieses Hautmodell lediglich mit Schweinehaut verglichen und zeigte ähnliche mechanische Eigenschaften wie diese [133]. Menschliche Haut weist allerdings andere Eigenschaften als Schweinehaut auf, weshalb eine Übertragbarkeit dieses Modells auf Humanhaut nicht per se möglich ist.

Aus diesem Grund wurde das Eindringverhalten in Humanhaut zusätzlich untersucht. Dafür wurde die Humanhaut nach der Applikation der MNS mit dem wasserlöslichen Farbstoff Methyleneblau angefärbt (Kapitel 5.4.11.). Das SC stellt die lipophile Barriere der Haut dar. Nach dem Abwaschen des Farbstoffes wird das SC wieder entfärbt. Sollten jedoch Mikroporen in der Haut durch die Applikation der MNS entstanden sein, sind diese hydrophil. Der Farbstoff lässt sich dann nicht mehr ohne Weiteres aus diesen Poren auswaschen und die Poren sind von einer intensiveren blauen Farbe [102, 115].

Die Ergebnisse der Insertion der MNS in Humanhaut sind der Abbildung 51 zu entnehmen.

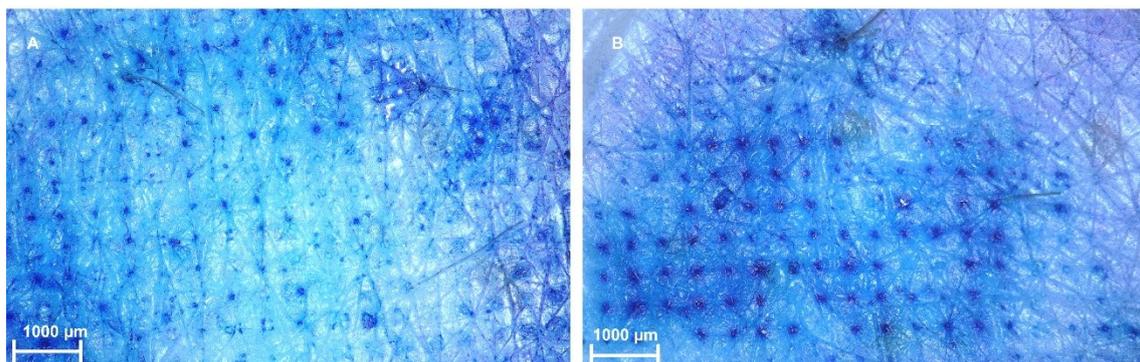


Abbildung 51: Insertion von MNS mit zwei räumlich getrennten Polymeren in Humanhaut; A: MNS aus AMM B und PVP K17; B: MNS aus AMM A und PVP K17

Beide hergestellten MNS zeigten ein erfolgreiches Durchstechen des SC. Nach dem Abwaschen der überschüssigen Methyleneblau-Lösung waren eindeutig die einzelnen Mikroporen, welche durch die Mikronadeln verursacht wurden, erkennbar. Dies galt für beide Formulierungen.

Bei Povidon handelt es sich um ein sehr intensiv untersuchtes Polymer zur Herstellung von löslichen MNS. Es konnten bereits verschiedene AS mit Hilfe von Povidon-Mikronadeln transdermal appliziert werden [213-215]. Sämtliche dieser MNS konnten demnach erfolgreich Haut durchstechen. Allerdings wurden diese Untersuchungen mit Schweine- oder Maushaut durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass die in dieser Arbeit hergestellten Mikronadeln vergleichbare Ergebnisse lieferten und Humanhaut erfolgreich durchstachen.

Die Herstellung von Mikronadeln aus AMM A und B ist weniger verbreitet. AMM B wurde in Kombination mit Povidon zur erfolgreichen transdermalen AS-Abgabe von Resveratrol eingesetzt [205]. Diese Mikronadeln durchstachen erfolgreich Schweinehaut. AMM A wurde charakterisiert hinsichtlich der transdermalen AS-Abgabe von Granisetron [88]. Die dort untersuchten MNS konnten ebenfalls erfolgreich Schweinehaut durchstechen.

Die in dieser Arbeit hergestellten und charakterisierten MNS wiesen ähnliche Eigenschaften wie in der Literatur beschriebene MNS aus den gleichen Polymeren auf. Die Mikronadeln waren auch nach räumlicher Separierung mechanisch ausreichend robust, um Humanhaut zu durchstechen. Dies implizierte eine mögliche Verwendung dieser MNS für die transdermale AS-Abgabe von zwei AS mittels eines einzelnen MNS.

3.4.3.6. Permeation durch Humanhaut

Die hergestellten MNS konnten bisweilen sämtliche Anforderungen erfüllen, welche für eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe sprechen. Allerdings reicht der alleinige Beweis, dass die Mikronadeln mechanisch robust genug für das Durchstechen von Humanhaut sind, nicht aus. Ebenso spielen die physikochemischen Eigenschaften der AS eine entscheidende Rolle, ob die transdermale AS-Abgabe tatsächlich erfolgreich ist [139].

Eine geeignete Möglichkeit, die transdermale AS-Abgabe in-vitro zu bestimmen, stellt die Verwendung von Franz-Diffusionszellen dar. Dabei können verschiedene Membranen zwischen dem Donor- und Akzeptormedium eingespannt werden: Die Verwendung von Schweinehaut [189], Maushaut [216] oder Humanhaut [143] wurde bereits für diesen Zweck beschrieben.

In diesem Versuchsteil wurde die transdermale AS-Abgabe mit Hilfe von Franz-Diffusionszellen untersucht (Kapitel 5.4.15., Abbildung 78). Als Membran wurde Humanhaut verwendet. Die MNS mit räumlich separierten Mikronadeln aus Povidon und AMM A bzw. B wurden in die Haut appliziert und diese anschließend zwischen Donor- und Akzeptorkammer platziert. Als Akzeptormedium diente 11,5 ml PBS. Das Akzeptormedium wurde auf einen physiologischen pH-Wert von 7,4 eingestellt.

Die Ergebnisse der Untersuchung der Permeation durch Humanhaut sind zusammenfassend in Abbildung 52 dargestellt.

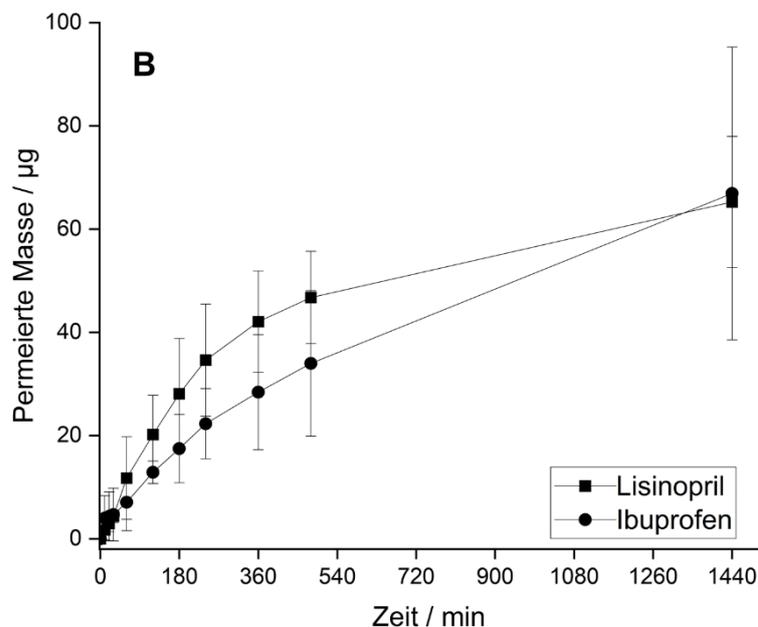
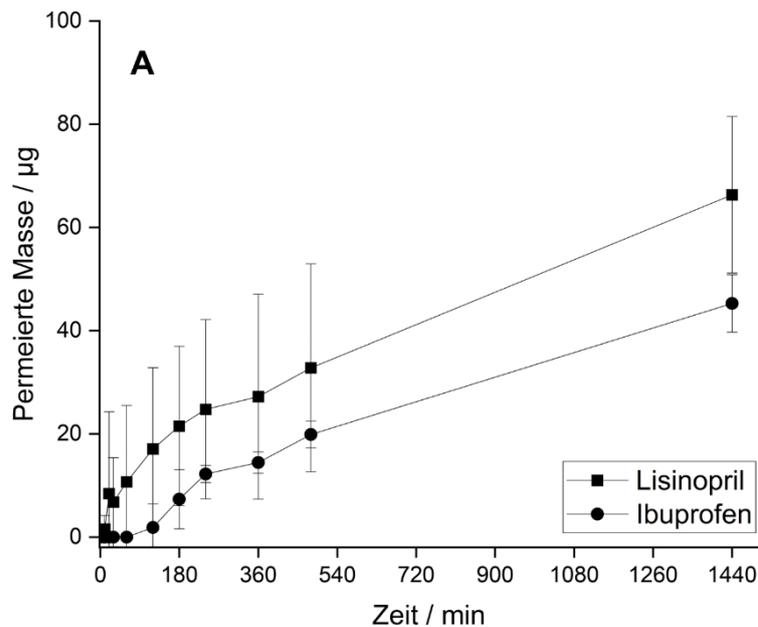


Abbildung 52: Permeation durch Humanhaut von LIS und IBU mittels MNS mit räumlich getrennten Polymeren; A: MNS aus AMM B (IBU) und PVP K17 (LIS); B: MNS aus AMM A (IBU) und PVP K17 (LIS); Testmedium 11,5 ml PBS pH=7,4 im Akzeptorkompartiment, T=30 °C, 200 UpM Rührgeschwindigkeit; $\bar{x} \pm sd$, n=6

Die permeierte Masse an LIS durch die Humanhaut ist für die beiden hergestellten MNS vergleichbar. Wurden die povidonhaltigen Mikronadeln räumlich von Mikronadeln aus AMM B separiert, hatten nach 24 h $66,33 \pm 15,17 \mu\text{g}$ LIS die Humanhaut überwunden (Abbildung 52 A). Wurden Povidon und AMM A räumlich getrennt zur Herstellung von Mikronadeln verwendet, betrug die permeierte Masse LIS $65,25 \pm 12,69 \mu\text{g}$ (Abbildung 52 B). Allerdings konnte festgestellt werden, dass die Permeation von LIS sich im Vergleich zum vorherigen Verlauf unterschied. So permeierte stetig mehr LIS durch die Humanhaut, wenn AMM A und Povidon räumlich separiert vorlagen. Zwar wurde die Humanhaut auf eine einheitliche Dicke

von 800 – 850 µm dermatomisiert, jedoch reichte die Menge an gespendeter Haut eines Spenders nicht aus. Aus diesem Grund mussten für diese Untersuchungen Hautproben von zwei verschiedenen Spendern verwendet werden. Auch wenn die Haut eine einheitliche Dicke aufwies, unterscheidet sich die Struktur der Haut in Abhängigkeit des Geschlechtes, des Alters und der ausgesetzten Umwelteinflüsse [217, 218]. Dadurch konnten diese Unterschiede in der Permeation von LIS erklärt werden.

Des Weiteren wurde festgestellt, dass lediglich knapp die Hälfte der Sollmenge an LIS durch die Humanhaut permeierte. Diese Beobachtungen deckten sich mit beschriebenen Werten aus der Literatur. Es wurde berichtet, dass 34,18 % der AS-Menge durch Schweinehaut permeierten, wenn MNS aus Povidon mit LIS als AS hergestellt wurden [190]. Es konnte geschlussfolgert werden, dass die Permeation nach 24 h noch nicht vollständig abgeschlossen war. Des Weiteren verbleibt im Rahmen von Permeationsuntersuchungen in der Regel AS in der Membran. Dieser AS diffundiert demnach nicht in das Akzeptormedium und wird nicht analytisch erfasst.

Die Menge an IBU, welche durch die Humanhaut permeierte unterschied sich in Abhängigkeit von dem verwendeten Polymer zur Mikronadel-Herstellung. Wurde AMM A verwendet, verlief die transdermale AS-Abgabe von IBU schneller als bei Verwendung von AMM B. Nach 24 h waren $66,90 \pm 28,37 \mu\text{g}$ IBU permeiert (AMM A, Abbildung 52 B), verglichen mit $45,28 \pm 5,58 \mu\text{g}$ bei Verwendung von AMM B (Abbildung 52 A). Auch die initiale Permeation zu den vorherigen Zeitpunkten verlief wesentlich schneller bei Verwendung von AMM A. So konnte bereits nach 10 min IBU im Akzeptormedium nachgewiesen werden. Bei Mikronadeln, welche aus AMM B bestanden, wurde erst nach 2 h IBU nachgewiesen. Diese Beobachtungen deckten sich mit dem zuvor untersuchten Freisetzungverhalten von IBU aus den beiden Polymer-Matrices (Abbildung 50). Es wurde bereits zuvor festgestellt, dass AMM B im Vergleich zu AMM A schwerer durchlässig für AS-Moleküle ist [212].

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass sich die hergestellten MNS eignen, beide Modellarzneistoffe in-vitro transdermal zu applizieren. Zudem konnte die Permeationsrate von IBU durch Humanhaut variiert werden, indem das Polymer zur Mikronadelherstellung variiert wurde. Dadurch lassen sich verschiedene Formulierungskonzepte entwickeln. Das Applikationsintervall dieser MNS könnte durch Anpassung des nadelbildenden Polymers an die individuellen Bedürfnisse des Patienten angepasst werden. Des Weiteren könnten verschiedene Arzneistoffe in Abhängigkeit vom angestrebten pharmakokinetischen Profil zielgerichtet appliziert werden. Durch die Möglichkeit, die Polymere AMM A und B in beliebigen Verhältnissen miteinander zu mischen, könnte dieser Anwendungsbereich ausgeweitet werden.

3.4.4. Zusammenfassende Beurteilung

Das Konzept des TSD für die Herstellung von MNS konnte erfolgreich ausgeweitet werden. Zuvor wurde gezeigt, dass sich TSD für die Herstellung von individuell angefertigten MNS eignet und Vorteile gegenüber klassischer Herstellungsmethoden bieten kann. Auch die Herstellung von mehrschichtigen MNS mittels einer Kombination aus TSD und einer Zentrifugationsmethode konnte etabliert werden. In diesem Versuchsteil konnte die Kombination von Mikronadeln aus unterschiedlichen Polymeren in einem MNS realisiert werden.

Normalerweise werden MNS aus verschiedenen Polymeren hergestellt, um die mechanischen Eigenschaften [178] oder das Freisetzungsverhalten [219] der Mikronadeln anzupassen. Dabei werden allerdings die Polymere zusammen in einem LM gelöst und anschließend mittels einer Zentrifugationsmethode oder mittels Anlegen von Überdruck in die Kavitäten gefüllt. Dabei ist die Zusammensetzung der einzelnen Mikronadeln im Anschluss an die Trocknung einheitlich. Außerdem wurden mit den gleichen Herstellungsmethoden bisweilen MNS hergestellt, welche mehr als einen AS enthalten [138]. Die AS wurden dabei ebenfalls gemeinsam in der polymerhaltigen Formulierung gelöst und jede Mikronadel enthielt jeden AS gleichermaßen nach der Trocknung.

Diese Herstellungsmethoden sind jedoch ungeeignet, wenn die verwendeten Arzneistoffe, Polymere oder AS-Polymerkombinationen inkompatibel sind. Als Folge können Verringerungen der Wirksamkeit oder Veränderungen der Beschaffenheit der Mikronadeln auftreten.

Daher stellt die hier demonstrierte Kombination von Arzneistoffen und Polymeren, welche in einem MNS vereint, aber räumlich getrennt vorliegen, eine Bereicherung für die Vielfalt an MNS dar. Durch TSD konnten ausgewählte Kavitäten des Mikronadelnegatives präzise gefüllt werden. Im Anschluss wurden die ausgelassenen Kavitäten mit Hilfe der Zentrifugationsmethode befüllt. Die Ergebnisse aus vorherigen Studien (Kapitel 3.3.) zeigten, dass die im zweiten Herstellungsschritt verwendeten LM die zuvor in die Kavitäten gefüllten Polymere nicht auflösen durften. Andernfalls kommt es zu einer Vermischung der Polymere und die applizierte Zieldosis wird nicht erreicht.

In diesem Versuchsteil wurden verschiedene wasserunlösliche Polymere für die Herstellung von Mikronadeln untersucht. EC konnte dabei nicht die gewünschten mechanischen Eigenschaften erfüllen. Die getrockneten Mikronadeln waren zu weich und stumpf und wurden daher von einer weiteren Charakterisierung ausgeschlossen. AMM A und B hingegen bildeten nach erfolgreicher Trocknung mechanisch robuste Mikronadeln und wurden für die weitere Herstellung von räumlich getrennten Mikronadeln in einem MNS ausgewählt. Die übrigen

Mikronadeln wurden mittels TSD hergestellt. Dazu wurde die zuvor charakterisierte TZ F3 verwendet (Kapitel 3.2.).

Die Herstellung von MNS mit räumlich voneinander getrennten Mikronadeln aus Povidon und AMM A / B konnte realisiert werden. Bei Kontakt mit Wasser lösten sich lediglich die mittels TSD hergestellten Mikronadeln aus Povidon auf. Die wasserunlöslichen Mikronadeln aus AMM A und B blieben intakt. Dies indizierte eine erfolgreiche räumliche Trennung der Polymere und somit auch der Modellarzneistoffe LIS und IBU. Die hergestellten MNS waren mechanisch robust und konnten ausreichend tief in ein künstliches Hautmodell eindringen. Auch das Durchstechen von Humanhaut war möglich. Durch Variation des wasserunlöslichen Polymers konnte das Freisetzungverhalten von IBU variiert werden. Die aus Povidon hergestellten Mikronadeln zeigten eine sehr schnelle Freisetzung und lösten sich innerhalb weniger Minuten auf. Zuletzt wurden die hergestellten MNS auf die Möglichkeit einer transdermalen AS-Abgabe getestet. Diese Prüfung zeigte ebenfalls positive Ergebnisse. Mit Hilfe der hergestellten MNS konnte für beide Modell-AS eine Permeation durch Humanhaut erreicht werden.

Insgesamt stellt die Herstellung von MNS mit unterschiedlichen Mikronadeln, welche räumlich voneinander separiert sind, eine sinnvolle Erweiterung des bisherigen Anwendungsgebietes von Mikronadeln dar. Auf die in diesem Versuchsteil beschriebene Weise lassen sich inkompatible AS-Polymer- oder AS-AS-Kombinationen in einem MNS verabreichen. Durch geschickte Auswahl der Polymere kann zudem das pharmakokinetische Profil der Arzneistoffe angepasst werden. Es können schnelllösliche Mikronadeln, z.B. aus Povidon, verwendet werden, um eine schnell anflutende Initialdosis zu applizieren. Die Verwendung eines zweiten, verlängert freisetzenden Polymers, kann verwendet werden, um eine Applikation eines AS über einen längeren Zeitraum zu ermöglichen.

Allerdings sind weitere Untersuchungen notwendig, um das volle Potential dieser MNS zu untersuchen. Die in-vitro bestimmte transdermale AS-Abgabe müsste in-vivo verifiziert werden. Außerdem ist der TSD zur Herstellung von MNS weiterhin auf Povidon limitiert. Eine größere Bandbreite an Polymeren, welche zur Herstellung von MNS mittels TSD geeignet ist, wäre erstrebenswert. Des Weiteren sollte untersucht werden, ob durch das Mischen der Polymere AMM A und B die präzise Anpassung der AS-Abgabe aus den MNS möglich ist. Die Überprüfung, ob die Herstellung mit inkompatiblen Arzneistoffen so funktioniert wie zuvor postuliert, bedarf ebenfalls einer Überprüfung. Nichtsdestotrotz stellen die gewonnenen Erkenntnisse eine Bereicherung für die Herstellung und den Anwendungsbereich von MNS dar.

3.5. Herstellung und Charakterisierung von bioabbaubaren Mikronadelsystemen mittels Tintenstrahldruck

3.5.1. Hintergrund

In den vorherigen Versuchsteilen wurde gezeigt, dass eine Herstellung von MNS mittels TSD prinzipiell möglich ist (Kapitel 3.2.). In der Literatur wurde TSD als eine mögliche Herstellungsmethode für einzelne Mikronadeln bereits beschrieben [160]. Dieses Prinzip wurde im Rahmen dieser Arbeit weiterentwickelt. Es konnte gezeigt werden, dass sich TSD für die individuelle Herstellung von MNS mit personalisierter Dosierung eignet. Es wurden verschiedene Strategien evaluiert, die Dosis zielgerichtet anzupassen. Das individuelle Füllen und Auslassen einzelner Kavitäten (Kapitel 3.2.) war ebenso möglich wie die Herstellung mehrschichtiger MNS mit variabler Füllhöhe der AS-haltigen Schicht (Kapitel 3.3.). Außerdem konnte gezeigt werden, dass TSD einen geeigneten Ansatz zur Kombination inkompatibler AS in einem MNS darstellen kann (Kapitel 3.4.).

Allerdings beschränkte sich die Anwendung von TSD zur Herstellung von MNS bisweilen auf Povidon als wasserlösliches Polymer. Die physikochemischen Eigenschaften der TZ, vor allem η , σ und ρ , haben einen großen Einfluss auf die Verdruckbarkeit mittels TSD [220]. Vor allem η limitierte die Auswahl einer TZ für die erfolgreiche Herstellung von MNS drastisch (Kapitel 3.2.). In der TZ muss ein Polymer in ausreichend hoher Konzentration enthalten sein, damit nach dem Trocknen mechanisch robuste und intakte Mikronadeln zurückbleiben. Allerdings steigt die η exponentiell mit Erhöhung der Polymerkonzentration in der Lösung.

Ziel dieses Versuches war die Entwicklung einer TZ, welche ein anderes nadelbildendes Polymer als Povidon enthielt. Dieses Polymer sollte eine verlängerte Freisetzung / AS-Abgabe des Modell-AS IBU ermöglichen. Die Entwicklung von langwirksamen MNS ist in der aktuellen Forschung ein interessanter Themenbereich. MNS eignen sich vor allem für die Applikation niedrigdosierter, hochpotenter AS. Dabei stehen vor allem Sexualhormone wie Levonorgestrel [119] oder Zytostatika wie Doxorubicin [221] im Mittelpunkt. Bei diesen Arzneistoffen sollten Schwankungen des Plasmaspiegels möglichst gering ausfallen, um unerwünschte Nebenwirkungen zu reduzieren.

Es wurden verschiedene PLGA-basierte Tintenzubereitungen untersucht. Dabei musste ein organisches LM verwendet werden, da PLGA wasserunlöslich ist. Zunächst wurden die physikochemischen Eigenschaften der TZ untersucht und anhand dieser Tintenzubereitungen ausgewählt, welche verdruckbar waren. Der Einfluss der Haltezeit auf das DM wurde untersucht, um die am besten geeigneten Druckparameter zu finden. Des Weiteren wurden verschiedene Druckfrequenzen getestet. Unter Verwendung dieser Einstellungen wurden im Anschluss mikrometergroße Kavitäten eines Mikronadelnegativs (Abbildung 39) gefüllt. Die

hergestellten MNS wurden hinsichtlich ihrer mechanischen Stabilität und ihres Eindringverhaltens in ein künstliches Hautmodell sowie Humanhaut untersucht. Des Weiteren wurden Permeationsuntersuchungen der hergestellten PLGA-MNS durchgeführt, um die transdermale AS-Abgabe in-vitro zu charakterisieren.

3.5.2. Arzneistofffreie Tintenformulierungen

3.5.2.1. Auswahl an Hilfsstoffen

Zunächst musste eine geeignete TZ gefunden werden, welche verschiedene kritische Qualitätsattribute erfüllen musste. Dabei sollten die Mikronadeln aus einem Polymer bestehen, welches sich für eine verlängerte AS-Abgabe des Modell-AS IBU eignete. Dabei wurde sich an Polymeren orientiert, welche bereits in der Literatur erfolgreich für eine verlängerte AS-Abgabe aus MNS eingesetzt wurden. Die Auswahl der Hilfsstoffe anhand einer Literaturrecherche ist der Tabelle 11 zu entnehmen.

Tabelle 11: Überblick über Hilfsstoffe; verwendet für die Herstellung von langwirksamen MNS; Stand Oktober 2024

Polymer	Zeitraum AS-Abgabe [d]	Bioabbaubar	Referenz
Chitosan	7	Ja	[222]
Chitosan	1,5	Ja	[223]
Sucrose + Poly(ethylenglycol)diacrylat	6	Nein	[221]
CMC	1	Nein	[224]
PLGA	11	Ja	[137]
PLGA	60	Ja	[119]
Gelatine-Methacrylat	1	Ja	[75]
AMM A	4	Nein	[88]
PVA (+ AS-Nanosuspension)	1	Nein	[174]
PMVE/MA	1	Nein	[112]
PMVE/MA + AS-PEG-Reservoir	1	Nein	[116]
PVA + PVP	1	Nein	[115]
PMVE/MA + PLGA-Mikropartikel	25	Nein	[225]

Es wurden verschiedene Möglichkeiten beschrieben, um den Zeitraum der transdermalen AS-Abgabe zu verlängern. Die Verwendung von bioabbaubaren Polymeren wie Chitosan ermöglichte dabei eine AS-Abgabe von bis zu 7 Tagen [222], wenn diese MNS mittels einer Schmelzmethode hergestellt wurden. Dabei wurde das Polymer aufgeschmolzen und mittels Anlegen von Druck in die Kavitäten eines Mikronadelnegativs gefüllt. Eine kürzere transdermale AS-Abgabe wurde erreicht, wenn feste Mikronadeln mit einem nm-dünnen Film

aus Chitosan überzogen wurden [223]. Weitere bioabbaubare Polymere, welche für die Herstellung von MNS verwendet wurden, sind PLGA und Gelatine-Methacrylat. Vor allem PLGA eignete sich dabei für die transdermale AS-Abgabe über einen ausgeprägt langen Zeitraum von bis zu 2 Monaten [119].

Die Verwendung von löslichen MNS stellte ebenfalls eine geeignete Methode für eine verlängerte AS-Freisetzung dar. In diesem Fall konnte über Auswahl des Molekulargewichtes und der Auflösungsgeschwindigkeit des Polymers der Zeitraum für die transdermale AS-Abgabe verändert werden [108]. Vor allem langkettige Celluloseether wie HPMC stellten in dieser Studie einen geeigneten Ansatz für Auflösungszeiten von mehr als 24 h dar.

Des Weiteren können lipophile AS als eine Nanosuspension in eine schnelllösliche Polymermatrix eingearbeitet werden [174]. Dabei löste sich der Mikronadelkörper schnell auf und die AS-Nanokristalle wurden transdermal appliziert. Durch die Auflösungszeit des AS bedingt bildete sich ein Depoteffekt aus und eine AS-Abgabe über einen Zeitraum von 24 h war möglich.

Eine weitere Strategie, den Zeitraum der transdermalen AS-Abgabe mittels MNS zu verlängern, stellt die Verwendung von quellenden MNS dar [112]. Diese MNS nehmen Wasser nach Durchstechen des SC auf und quellen unter der Haut. In der Folge diffundiert der AS langsamer aus der Mikronadel und die AS-Abgabe wird verlängert. Dabei konnte der AS entweder in dem Nadelpolymer gelöst werden oder alternativ als AS-haltiger Film die DS der MNS bilden [116]. Dabei ermöglichten die Mikronadeln das Durchstechen des SC. Aus dem AS-haltigen Depot wurde anschließend der AS durch Diffusion durch die perforierte Haut transdermal appliziert.

Eine weitere Lösung zur Verlängerung der AS-Freisetzung bestand in der Verwendung von bioabbaubaren PLGA-Mikropartikeln, mit welchen der Nadelkörper überzogen wurde [225].

Außerdem konnten erfolgreich unlösliche MNS für eine verlängerte transdermale AS-Abgabe hergestellt werden. Als Polymere konnten dabei AMM A und B etabliert werden [88]. Dies konnte durch die zuvor beschriebenen Ergebnisse (Kapitel 3.4.) bestätigt werden.

Für die Herstellung von MNS mittels TSD mussten verschiedene kritische Qualitätsanforderungen erfüllt werden (Kapitel 3.2.). Aus diesem Grund konnte die Verwendung von AMM A und B als Polymer zur Herstellung von unlöslichen MNS mittels TSD ausgeschlossen werden. Die zuvor hergestellten Polymerlösungen R1 und R2 waren zu viskos, um mittels TSD verdrückt zu werden. Quellende MNS zeichnen sich ebenfalls durch eine sehr hohe η der verwendeten Polymerlösungen aus und waren für diese Herstellungsmethode nicht geeignet. PLGA wurde jedoch bereits erfolgreich mittels TSD verarbeitet [226]. Des Weiteren ist PLGA biokompatibel und wurde bereits zur Herstellung von

Implantaten weitreichend charakterisiert [227, 228]. Aus diesen Gründen wurde PLGA als bioabbaubares Polymer ausgewählt, welches mittels TSD zur Herstellung von MNS verwendet werden sollte.

3.5.2.2. Formulierungsentwicklung

Es wurden die TZ B1 – 9 (Kapitel 5.4.3.2., Tabelle 20) hergestellt und charakterisiert. Wie zuvor beschrieben haben η , σ , ρ und der verwendete Düsendurchmesser des Druckkopfes maßgeblich Einfluss auf die Verdruckbarkeit von TZ mittels TSD [147]. Diese Zielgrößen wurden jeweils für die TZ B1 – 9 bestimmt und im Anschluss wurden die dimensionslosen Z-Zahlen (Kapitel 1.4.3., Gleichung 4) der TZ berechnet. Es wurde eine Z-Zahl zwischen 1 – 10 angestrebt [164], um eine geeignete Verdruckbarkeit der TZ zu ermöglichen.

Die Ergebnisse der Charakterisierung der TZ sind in Tabelle 12 zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 12: Ergebnisse der Tintencharakterisierung bei Verwendung des piezoelektrischen Druckkopfes Spectra SL-128 AA mit einem Düsendurchmesser von 50 μm ; Gezeigt sind Werte für η , σ und ρ ; $\bar{x} \pm \text{sd}$; n=90 für η , n=30 für σ , n=3 für ρ

Name	PLGA [% w/w]	LM	η [mPa*s]	σ [mN/m]	ρ [kg/m ³]	Z-Zahl
B1	20,0	EtAc	40,46 $\pm 4,21$	-	895,47 $\pm 21,96$	-
B2	20,0	ACN	10,33 $\pm 3,08$	29,7 $\pm 0,08$	796,73 $\pm 11,39$	3,39
B3	5,0	DMSO	7,06 $\pm 1,84$	-	1098,07 $\pm 4,76$	-
B4	10,0	DMSO	20,10 $\pm 1,88$	45,17 $\pm 0,31$	1109,73 $\pm 2,87$	2,49
B5	15,0	DMSO	53,64 $\pm 1,83$	-	1117,07 $\pm 3,53$	-
B6	5,0	DMF	2,87 $\pm 1,82$	-	949,27 $\pm 1,50$	-
B7	10,0	DMF	6,90 $\pm 1,79$	-	956,80 $\pm 2,27$	-
B8	15,0	DMF	18,08 $\pm 1,75$	37,08 $\pm 0,11$	972,67 $\pm 0,81$	2,35
B9	20,0	DMF	42,67 $\pm 1,75$	-	989,8 $\pm 2,84$	-

B1, B5 und B9 zeigten eine η größer als 40 mPa*s. In dem vorherigen Versuchsteil der Untersuchung einer wasserbasierten TZ für die Herstellung von löslichen MNS mittels TSD

(Kapitel 3.2.2.2.) konnte bereits gezeigt werden, dass diese Viskositäten zu hoch waren, um mit dem verwendeten Druckkopf (Spectra SL 128-AA, Düsendurchmesser von 50 μm) verdrückt zu werden. Daher wurden von diesen TZ keine Bestimmungen der σ und somit keine Berechnung der Z-Zahlen durchgeführt. Für die Bestimmung der σ waren relativ große Volumina von 15 – 20 ml notwendig. Dies hätte zu einer unwirtschaftlichen Nutzung des kostenintensiven Polymers PLGA geführt.

B3 und B6 enthielten lediglich 5,0 % PLGA. Das Verdrücken dieser geringen Polymer-Anteile führte zu keiner erfolgreichen Bildung von Mikronadeln nach dem Trocknungsprozess. Selbiges galt für B7 (10 % PLGA in Dimethylformamid (DMF)). Aus diesen Gründen wurde die σ dieser TZ ebenfalls nicht experimentell überprüft.

Die Z-Zahlen von B2, B4 und B8 lagen im angestrebten Zielbereich zwischen 1 und 10. Damit stellten diese drei TZ geeignete Kandidaten für die Herstellung von bioabbaubaren MNS mittels TSD dar. Im Rahmen von ersten Druckuntersuchungen konnte jedoch festgestellt werden, dass B2 nicht verdruckbar war. Der Dampfdruck von Acetonitril (ACN) beträgt bei der eingestellten Drucktemperatur von 30 °C 152,71 hPa [229]. Dieser Dampfdruck war zu hoch, um einen stabilen Druckprozess zu ermöglichen. ACN verdunstete zu schnell während des Druckens. Dies resultierte in einem Verstopfen der Düse und B2 konnte nicht über einen ausreichend langen Zeitraum gedruckt werden. Aus diesem Grund musste auch B2 von einer weiteren Charakterisierung ausgeschlossen werden.

In TZ B4 wurde DMSO als LM für PLGA verwendet. Diese TZ konnte erfolgreich verdruckt werden und der Druckprozess war für einen längeren Zeitraum stabil. Jedoch weist DMSO einen geringen Dampfdruck von ca. 1,13 hPa auf [230]. Aus diesem Grund konnte die verdruckte TZ B4 nicht ausreichend getrocknet werden. Des Weiteren wurde DMSO als potenter Hilfsstoff für die Verbesserung der transdermalen Permeation beschrieben [231]. Aus diesen Gründen wurde B4 ebenfalls von einer weiteren Charakterisierung ausgeschlossen. Eine Herstellung von MNS mit dieser TZ hätte eine lange und aufwendige Trocknung zur Folge.

B8 zeigte eine gute Verdruckbarkeit mittels TSD. Diese TZ konnte über einen ausreichend langen Zeitraum erfolgreich verdruckt werden und die Trocknung der MNS stellte sich als unproblematisch heraus. Die Herstellung eines bioabbaubaren MNS nahm ca. 5 min in Anspruch. Auch nach 6 h konnte B8 noch problemlos verdruckt werden. Dies könnte auch für einen späteren Scale-up Prozess interessant sein. B8 wurde demnach als am besten geeignete TZ für die Herstellung von bioabbaubaren MNS aus PLGA ausgewählt und in der Folge weiter charakterisiert. DMF wies eine ausreichend niedrige σ auf, sodass kein Tensid hinzugegeben werden musste. Des Weiteren wurden bereits MNS aus PLGA hergestellt ohne die Verwendung eines WM [232]. PLGA bildete Mikronadeln, welche auch ohne die

Verwendung weiterer Hilfsstoffe geeignete mechanische Eigenschaften aufwiesen. Daher wurde auf den Zusatz eines WM in der TZ B8 verzichtet.

3.5.3. Ibuprofen-haltige Tintenformulierung

500,0 mg IBU wurden in 20,0 g von B8 gelöst. Die resultierende AS-Konzentration betrug somit 25,0 mg/g.

3.5.3.1. Ermittlung geeigneter Tintenstrahldruck-Parameter

B8 wurde als die am besten geeignete TZ für die Herstellung von bioabbaubaren MNS mittels TSD charakterisiert (Kapitel 3.5.2.2.). Allerdings mussten auch geeignete Parameter für den Herstellungsprozess mittels TSD gefunden werden. Es wurde beschrieben, dass vor allem die Wellenform, welche zur Aktivierung der Tropfenabgabe am Piezokristall des Druckkopfes angelegt wird, einen großen Einfluss auf das Volumen und die Geschwindigkeit der gedruckten Tropfen haben kann [154]. Auch die Druckfrequenz, welche am Druckkopf angelegt wird, kann einen Einfluss auf die Ausbreitung und Form der Tropfen haben [220]. Aus diesem Grund wurde die Frequenz zwischen 100 – 500 Hz variiert. Auch wurde die Haltezeit der maximalen Spannung am Druckkopf zwischen 0 – 25 μs variiert. Als Zielgröße wurde das DM verwendet (Gleichung 5). Das DM wird berechnet als das Produkt aus der Masse und Geschwindigkeit der gedruckten Tropfen. Es wurde ein möglichst hohes DM angestrebt, um die Herstellungszeit der MNS mittels TSD möglichst gering zu halten und das Füllen der Kavitäten so präzise wie möglich zu gestalten.

Die Ergebnisse zum Finden geeigneter Druckparameter sind in Abbildung 53 dargestellt.

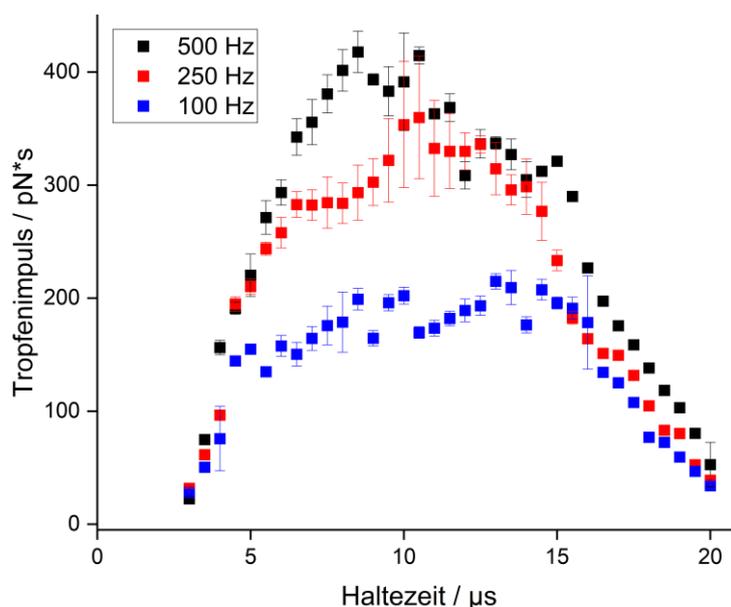


Abbildung 53: Einfluss der Haltezeit auf den Tropfenimpuls; Verwendet wurde TZ B8 und der piezoelektrische Druckkopf Spectra SL-128 AA; $\bar{x} \pm \text{sd}$, n=9

Es konnte festgestellt werden, dass keine Tropfen abgegeben werden konnten, wenn die Haltezeit der maximalen Spannung am Druckkopf $< 3,0$ bzw. $> 20,0 \mu\text{s}$ war. Des Weiteren war auffällig, dass das DM bei einer angelegten Druckfrequenz von 100 Hz tendenziell am geringsten war.

Das maximale DM bei einer Frequenz von 100 Hz wurde bei einer Haltezeit von $13,0 \mu\text{s}$ mit einem DM von $214,84 \pm 6,81 \text{ pN*s}$ erreicht. Die abgegebenen Tropfen waren zusammenhängend und es bildeten sich keine Satellitentropfen, welche die Qualität des Druckbildes verschlechtern würden (Abbildung 54 B). Die Tropfen wiesen eine Geschwindigkeit von $4,31 \pm 0,14 \text{ m/s}$ auf und hatten ein Volumen von $50,97 \pm 0,56 \text{ pl}$.

Eine Verringerung der Haltezeit auf $7,0 \mu\text{s}$ resultierte bei einer angelegten Druckfrequenz von 100 Hz in einer Reduktion des Tropfenvolumens auf $40,38 \pm 1,71 \text{ pl}$. Interessanterweise blieb die Tropfengeschwindigkeit nahezu unverändert im Vergleich zu der Verwendung einer Haltezeit von $13,0 \mu\text{s}$. Wurde die Haltezeit bei gleichbleibender Frequenz auf $16,5 \mu\text{s}$ erhöht, resultierte dies in einem Anstieg des Tropfenvolumens auf $54,69 \pm 0,63 \text{ pl}$ (Abbildung 54 C). Jedoch wurden die abgegebenen Tropfen deutlich langsamer und wiesen eine Geschwindigkeit von nur $2,52 \pm 0,04 \text{ m/s}$ auf.

Die Erhöhung der angelegten Druckfrequenz auf 250 Hz resultierte in einer Zunahme des DM (Abbildung 53). Das maximale DM wurde bei Anlegen einer Haltezeit von $10,5 \mu\text{s}$ mit einem DM von $359,72 \pm 54,09 \text{ pN*s}$ erreicht. Diese Tropfen wiesen eine längliche Form auf (Abbildung 54 E). Das Tropfenvolumen betrug $74,81 \pm 1,49 \text{ pl}$ und die Tropfen erreichten eine durchschnittliche Geschwindigkeit von $4,94 \pm 0,72 \text{ m/s}$. Sowohl eine Verringerung der Haltezeit auf $3,0 \mu\text{s}$ (Abbildung 54 D), als auch eine Erhöhung dieser auf $17,0 \mu\text{s}$ (Abbildung 54 F) führte zu einer Reduktion des DM. Das Tropfenvolumen war zum Teil deutlich geringer ($37,78 \pm 0,36 \text{ pl}$ bei $3,0 \mu\text{s}$ und $70,86 \pm 0,33 \text{ pl}$ bei $17,0 \mu\text{s}$) und die Tropfen waren deutlich langsamer ($0,86 \pm 0,02 \text{ m/s}$ bei $3,0 \mu\text{s}$ und $2,17 \pm 0,01 \text{ m/s}$ bei $17,0 \mu\text{s}$).

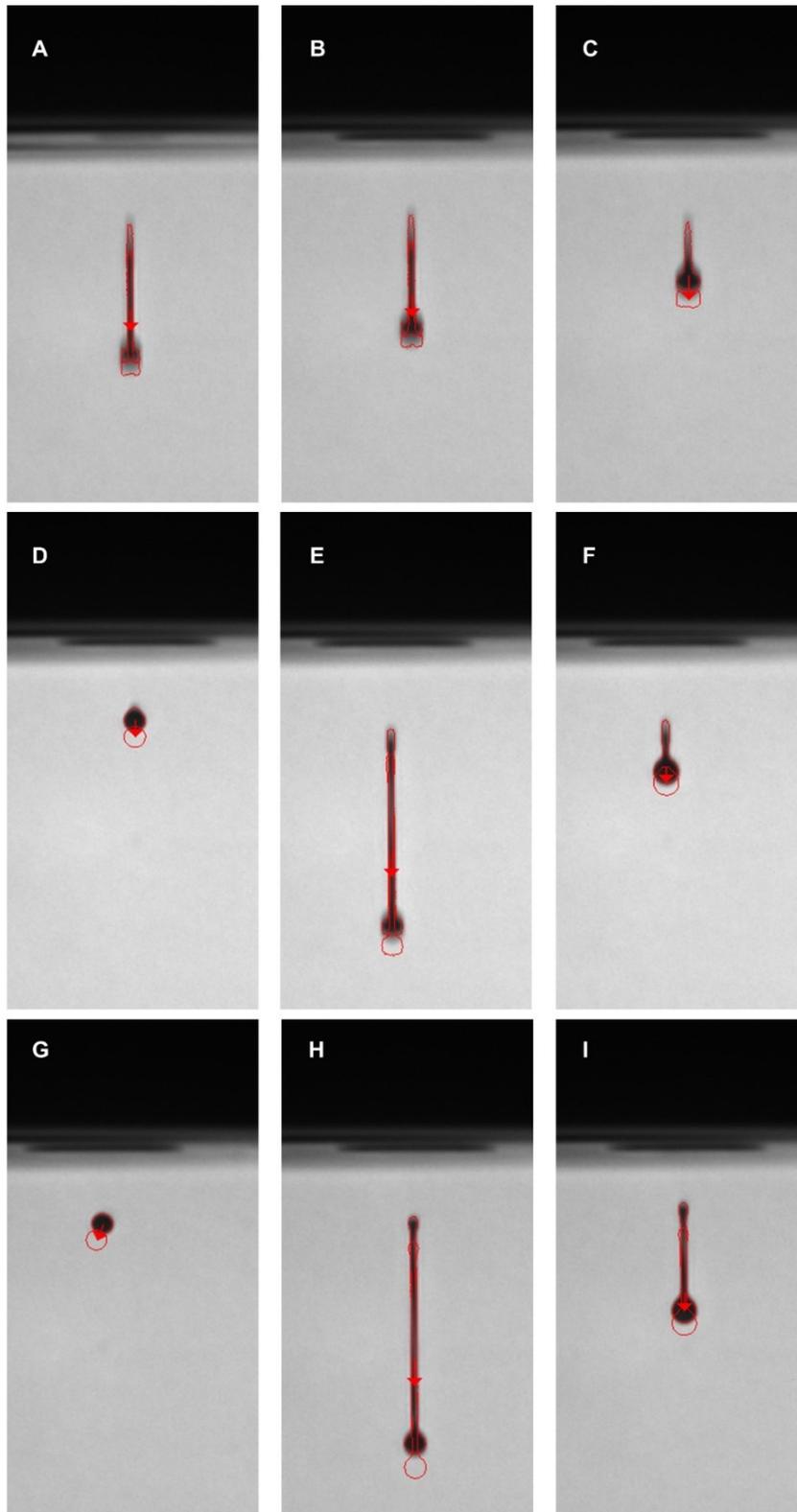


Abbildung 54: Exemplarische Darstellung von Tropfen bei verschiedenen Frequenzen und Haltezeiten, TZ B8, verwendeter Druckkopf: Spectra SL-128AA; A: 100 Hz, 7,0 μ s; B: 100 Hz, 13,0 μ s; C: 100 Hz, 16,5 μ s; D: 250 Hz, 3,0 μ s; E: 250 Hz, 10,5 μ s; F: 250 Hz, 17,0 μ s; G: 500 Hz, 3,0 μ s; H: 500 Hz, 8,5 μ s; I: 500 Hz, 15,5 μ s

Das tendenziell größte DM wurde bei Anlegen einer Frequenz von 500 Hz erreicht. Das maximale DM im untersuchten Bereich der Haltezeit wurde bei einer Haltezeit von 8,5 μs mit $417,74 \pm 18,21 \text{ pN}\cdot\text{s}$ gemessen (Abbildung 53). Diese Tropfen wiesen ebenfalls eine längliche Form auf. Diese ließ sich mit der zugrundeliegenden Viskoelastizität von B8 erklären. Die Tropfen wiesen im Durchschnitt ein Volumen von $79,59 \pm 0,66 \text{ pl}$ und eine Geschwindigkeit von $5,40 \pm 0,27 \text{ m/s}$ auf (Abbildung 54 H). Auch in diesem Fall führte sowohl eine Erhöhung, als auch eine Reduktion der Haltezeit auf 3,0 bzw. 15,5 μs zu einer Verringerung des DM. Wurde eine Haltezeit von 15,5 μs am Druckkopf angelegt blieb das Tropfenvolumen vergleichbar groß ($77,94 \pm 0,27 \text{ pl}$, Abbildung 54 I), jedoch war die Tropfengeschwindigkeit deutlich geringer ($3,82 \pm 0,05 \text{ m/s}$). Bei einer Haltezeit von 3,0 μs (Abbildung 54 G) waren sowohl das Tropfenvolumen ($33,62 \pm 0,25 \text{ pl}$), als auch die Geschwindigkeit ($0,69 \pm 0,07 \text{ m/s}$) gering.

Eine Übersicht über die berechneten DM sämtlicher Haltezeiten (Tabelle 30 - 32) und die jeweilige Tropfen-Geometrie (Abbildung 81 - 86) ist dem Anhang zu entnehmen.

Insgesamt konnte festgehalten werden, dass das höchste DM im untersuchten Frequenz- und Haltezeit-Bereich bei einer Einstellung von 500 Hz und 8,5 μs erzielt wurde. Demnach handelte es sich dabei um die am besten geeigneten Einstellungen für den Herstellungsprozess von bioabbaubaren MNS aus PLGA mittels TSD. Die gewählten Einstellungen sind zusammenfassend in Tabelle 25 dargestellt.

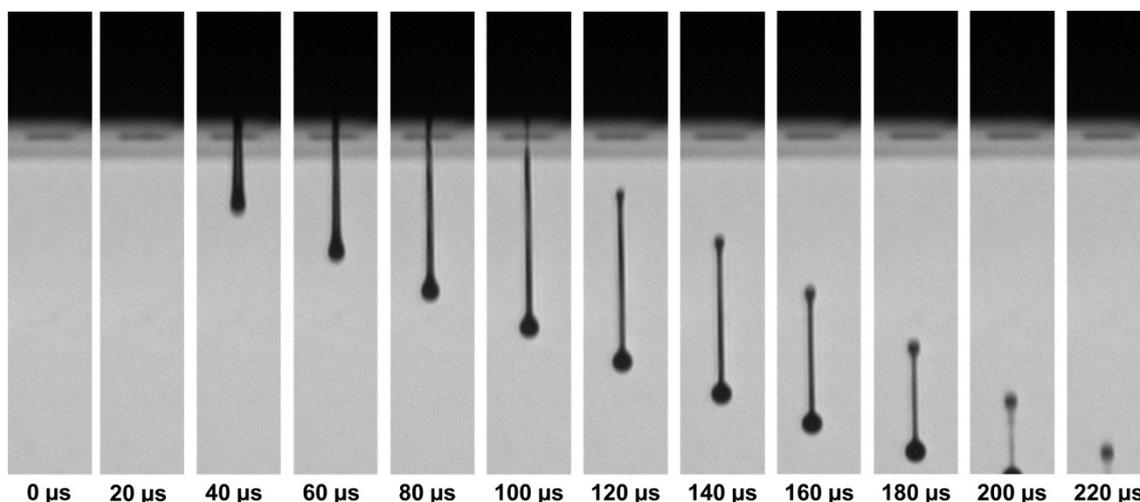


Abbildung 55: Tropfenentwicklung während des Druckprozesses; TZ B8, gedruckt bei $f=500 \text{ Hz}$ und einer Haltezeit von $8,5 \mu\text{s}$ mit dem piezoelektrischen Druckkopf Spectra SL-128AA

Des Weiteren wurde die Bildung von Satellitentropfen während des Druckprozesses untersucht. B8 wurde mit den zuvor charakterisierten Einstellungen gedruckt und in 20 μs -Abständen wurden Aufnahmen des gejetten Tropfens gemacht (Abbildung 55). Dabei sollten sich keine Satellitentropfen bilden, da diese die Präzision des Druckprozesses negativ beeinflussen könnten [233]. Es konnte festgestellt werden, dass der Druckprozess leicht

zeitverzögert nach 20 – 40 μs startete. Im Anschluss breitete der Tropfen sich ohne die Bildung von Satellitentropfen aus. Der gesamte Abgabeprozess des Tropfens dauerte dabei ca. 220 μs .

Es konnte gezeigt werden, dass die verwendeten Einstellungen während des Druckprozesses eine wichtige Rolle spielten. Sowohl die angelegte Haltezeit der maximalen Spannung am Druckkopf, als auch die verwendete Druckfrequenz hatten einen Einfluss auf die Tropfengeschwindigkeit und das Tropfenvolumen. Es wurden die am besten geeigneten Einstellungen gefunden, um den Druckprozess zur Herstellung der MNS möglichst kurz und präzise zu gestalten.

3.5.4. Charakterisierung bioabbaubarer Mikronadelsysteme

3.5.4.1. Optische Charakterisierung

Zur Herstellung der bioabbaubaren MNS wurde TZ B8 verwendet. Der Herstellungsprozess mittels TSD erfolgte mit den in Tabelle 25 zusammengefassten Prozessparametern. Als Mikronadelnegativ diente eine Silikonmatrize, welche 300 pyramidale Kavitäten (300 x 300 μm Grundfläche, 650 μm Höhe) enthielt. Diese Matrize ist in Abbildung 39 dargestellt. Sämtliche Kavitäten des Mikronadelnegativs wurden mit jeweils 490 Tropfen befüllt.

Zunächst wurde optisch mittels digitaler Lichtmikroskopie überprüft, ob die Herstellung der bioabbaubaren MNS erfolgreich war. Die Ergebnisse dieser Überprüfung sind der Abbildung 56 zu entnehmen.

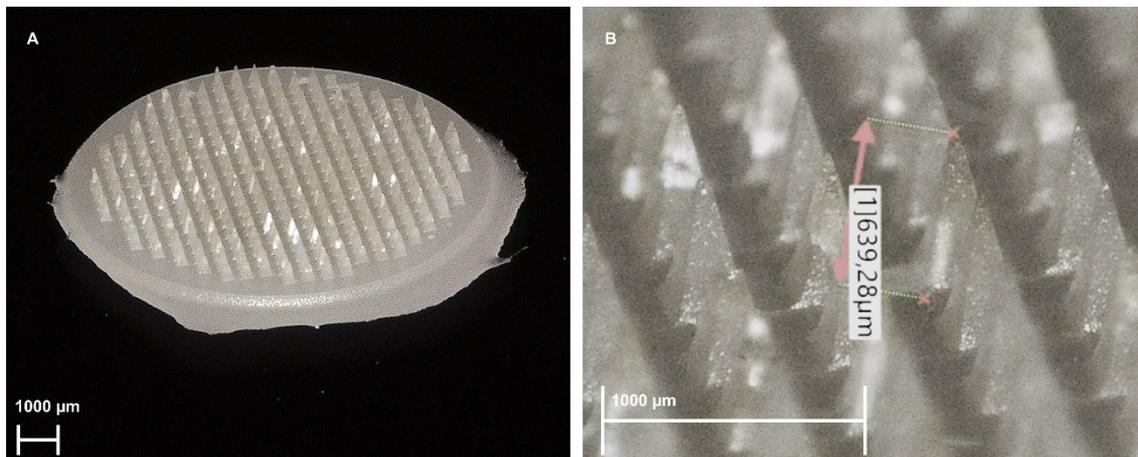


Abbildung 56: MNS hergestellt mittels TSD aus TZ B8; A: Gesamtes MNS, am Mikroskop eingestellte Vergrößerung: 10x; B: Exemplarische Messung einer einzelnen Mikronadel, am Mikroskop eingestellte Vergrößerung: 50x

Es konnte gezeigt werden, dass die Herstellung von MNS mittels TSD unter Verwendung von TZ B8 erfolgreich war. Nach dem Trocknungsprozess konnten MNS dem Mikronadelnegativ entnommen werden, welche 300 gut ausgebildete Mikronadeln enthielten (Abbildung 56 A). Sämtliche Mikronadeln waren von pyramidalen Form und wiesen eine intakte Nadelspitze auf.

Des Weiteren zeigten die Mikronadeln kein Schrumpfen während der Trocknung. Die Nadeln waren durchschnittlich $646,64 \pm 4,59 \mu\text{m}$ lang (Abbildung 56 B).

Die Herstellung von Mikronadeln aus PLGA wurde bereits zuvor beschrieben. Allerdings wurden diese MNS durch andere Herstellungsmethoden fabriziert. Es wurde bereits berichtet, dass PLGA-Pellets unter Anbringen von Vakuum auf den Mikronadelmatrizen geschmolzen wurden [76] oder eine Zentrifugationsmethode zur Herstellung dieser bioabbaubaren MNS verwendet wurde [170]. Diese Herstellungsmethoden ermöglichten jedoch nicht das präzise Füllen einzelner Kavitäten. Die Nachteile, welche mit diesen Herstellungsmethoden einhergehen, wurden bereits zuvor in dieser Arbeit herausgestellt (Kapitel 3.2.). Die Herstellung von PLGA-MNS mittels TSD wurde hingegen noch nicht beschrieben und stellte einen vielversprechenden Ansatz dar, die Anwendungsmöglichkeiten für die MNS-Herstellung mittels TSD zu erweitern.

3.5.4.2. Charakterisierung der mechanischen Eigenschaften

Die hergestellten MNS wurden zunächst hinsichtlich ihrer mechanischen Eigenschaften charakterisiert. Dazu wurde die relative HR als Maß für die mechanische Robustheit der Nadeln verwendet. Die Ergebnisse der Bestimmung der mechanischen Stabilität der mittels TSD hergestellten PLGA-MNS sind in Abbildung 57 dargestellt.

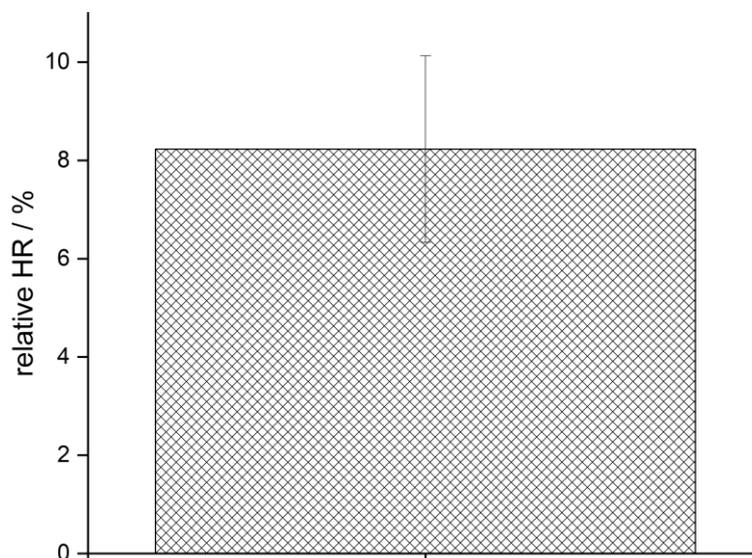


Abbildung 57: Ergebnisse der mechanischen Stabilität der PLA-MNS; Bestimmung mittels Texture Analyser bei einer Kraft von 32 N, gehalten für 30 s und Vermessung der Nadelhöhe vor und nach Kompression; $\bar{x} \pm \text{sd}$, n=6

Die Mikronadeln wiesen vor der Kompression mit einer Kraft von 32 N für 30 s eine durchschnittliche Höhe von $646,64 \pm 4,59 \mu\text{m}$ auf. Nach der Kompression wurde eine Nadelhöhe von $593,38 \pm 12,43 \mu\text{m}$ gemessen. Dies entsprach einer relativen HR von $8,2 \pm 1,9$ %. Dieser Wert lag unter dem in der Literatur beschriebenen Grenzbereich der prozentualen HR von 10 – 15 % [102, 174, 225]. Es wurde beschrieben, dass eine relative HR

unter 10 – 15 % erforderlich ist, um eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe mittels MNS zu ermöglichen. Größere Werte würden indizieren, dass die hergestellten MNS zu weich sind und während der Applikation verbiegen. Diese MNS würden das SC nicht erfolgreich durchstechen und die AS-Abgabe wäre nicht erfolgreich. Allerdings wurden die meisten dieser Studien anhand von löslichen MNS evaluiert. Bei PLGA-MNS liegen weniger Daten vor, allerdings wurde auch für diese MNS eine HR beschrieben, welche ca. 27 % betrug [142]. Diese MNS konnten trotz der verhältnismäßig großen HR den Modell-AS Finasterid erfolgreich in-vitro transdermal applizieren. In dieser Studie wurde geschlussfolgert, dass die relative HR weniger entscheidend sei, sondern im Vordergrund steht, dass die Mikronadeln nach Kompression spitz und intakt bleiben.

Aus diesem Grund wurden die einzelnen Mikronadeln im Anschluss an die Kompression erneut mittels digitaler Lichtmikroskopie vermessen. Diese Ergebnisse sind in Abbildung 58 zusammenfassend dargestellt.

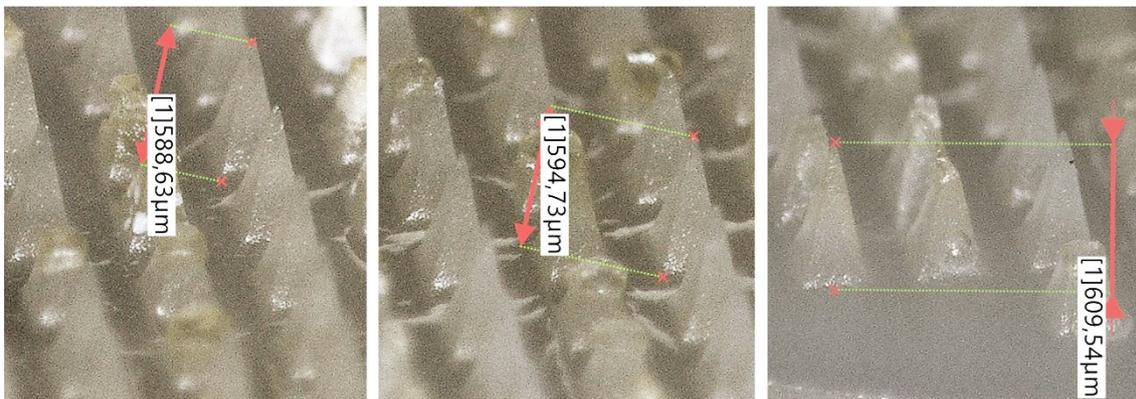


Abbildung 58: Exemplarische Darstellung von 3 verschiedenen Mikronadeln nach Kompression mit einer Kraft von 32 N für eine Dauer von 30 s

Es konnte festgestellt werden, dass die Mikronadeln im Anschluss an die Kompression zum Großteil spitz und intakt verblieben. Einzelne Spitzen zeigten ein schwach ausgeprägtes Biegen während der Kraffteinwirkung. Diese Ergebnisse in Kombination mit der gering ausgeprägten relativen HR von < 10 % waren positive Indikatoren, dass die mittels TSD hergestellten MNS aus PLGA sich für eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe eignen könnten. Weitere Untersuchungen waren erforderlich, um diese Aussage zu verifizieren.

3.5.4.3. Penetration in ein künstliches Hautmodell

Das Eindringverhalten der hergestellten MNS aus PLGA wurde zunächst mithilfe eines künstlichen Hautmodells bestehend aus acht Schichten Parafilm® M überprüft, welches sich nicht signifikant hinsichtlich der mechanischen Eigenschaften von Schweinehaut unterscheidet [133].

Jede Schicht des künstlichen Hautmodells wies eine Dicke von 127 μm . Das Eindringverhalten wurde nach Kraftausübung von 32 N für 30 s analysiert. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind der Abbildung 59 zu entnehmen.

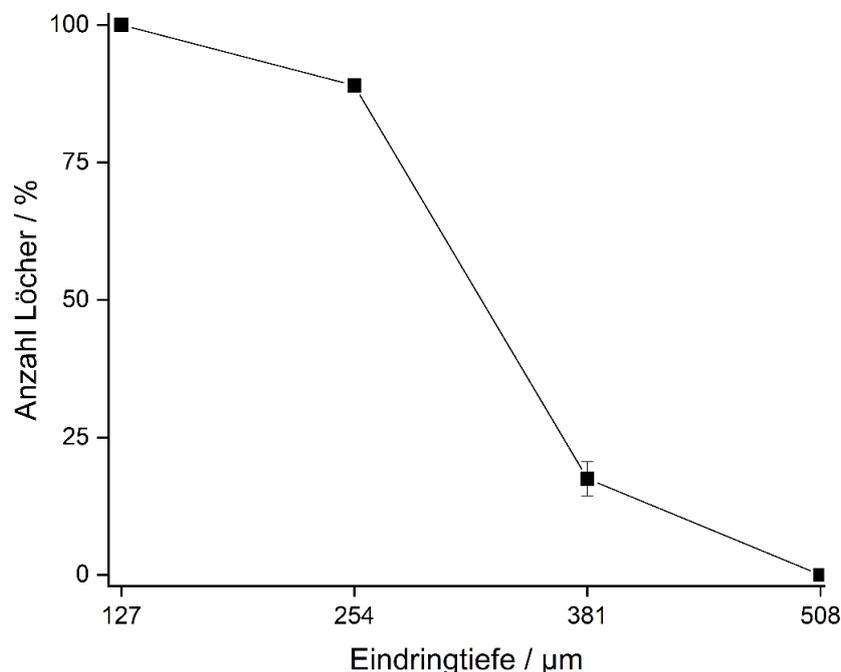


Abbildung 59: Insertion in 8 Schichten Parafilm® M als künstliches Hautmodell mittels Texture Analyser (Kraft von 32 N, für 30 s gehalten); gezeigt ist die prozentuale Anzahl an Mikronadeln, die die jeweilige Schicht durchstachen; $\bar{x} \pm \text{sd}$, n=3

Sämtliche Mikronadeln aus PLGA durchstachen die erste Schicht Parafilm® M. Ein Großteil ($89 \pm 1 \%$) der Mikronadeln konnte ebenfalls die zweite Schicht durchstechen. Dies entsprach einer Eindringtiefe von 254 μm in das künstliche Hautmodell. Allerdings konnten nur wenige Nadeln das künstliche Hautmodell noch tiefer durchstechen. Lediglich $17 \pm 3 \%$ durchstachen die dritte Schicht Parafilm® M.

Es wurde für lösliche Mikronadeln beschrieben, dass mindestens zwei Schichten dieses künstlichen Membranmodells durchstochen werden sollten, damit eine effiziente transdermale AS-Abgabe möglich ist [105, 234]. Dieser Wert wurde von den in diesem Versuchsteil angefertigten MNS erreicht. Allerdings ist eine Übertragung auf bioabbaubare MNS, welche länger in der Haut verbleiben müssen für eine erfolgreiche AS-Deposition, nicht möglich.

Die Herstellung und Charakterisierung von PLGA-Mikronadeln wurde zuvor beschrieben [142]. In dieser Studie konnten die Autoren zeigen, dass das Durchstechen von zwei Parafilm® M Schichten ausreichend war, um eine transdermale AS-Abgabe zu ermöglichen. In dieser Studie konnten ebenfalls nur ca. 20 % der Mikronadeln die dritte Schicht des künstlichen Hautmodells durchstechen. Die Ergebnisse deckten sich demnach mit den in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnissen.

Abschließend konnte gezeigt werden, dass die hergestellten MNS mechanisch vergleichbar waren mit in der Literatur hergestellten MNS. Der Herstellungsprozess mittels TSD führte zu MNS mit vergleichbaren mechanischen Eigenschaften wie konventionell hergestellte MNS. Allerdings mussten weitere Untersuchungen durchgeführt werden, um die Anwendbarkeit der PLGA-MNS hinsichtlich einer transdermalen Applikation zu charakterisieren.

3.5.4.4. Insertion in Humanhaut

Die hergestellten PLGA-MNS wurden ebenfalls hinsichtlich ihres Eindringverhaltens in Humanhaut charakterisiert. Dabei stellt das Durchstechen des SC eine besondere Anforderung für die erfolgreiche transdermale AS-Abgabe dar. Da das SC die äußerste Barriere der Humanhaut darstellt, ist ein Durchstechen von großer Bedeutung für eine erfolgreiche transdermale Applikation.

Die PLGA-MNS wurden für 30 s manuell auf die Humanhaut gepresst und diese wurde mit Methyleneblau angefärbt (Kapitel 5.4.11.). Im Anschluss wurde der Farbstoff abgewaschen und die Haut wurde mit Hilfe eines Digitalmikroskopes untersucht. Die Ergebnisse des Eindringverhaltens der PLGA-Mikronadeln sind in Abbildung 60 dargestellt.

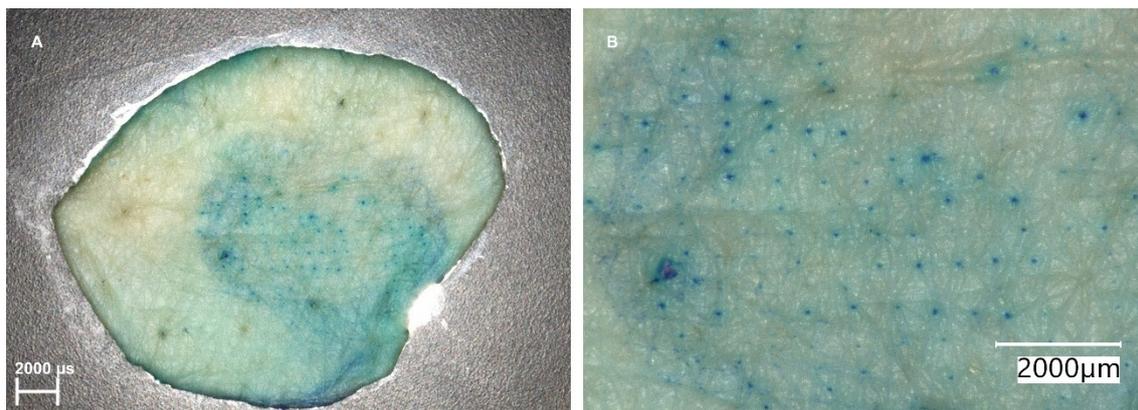


Abbildung 60: Insertion des MNS in Humanhaut; A: Übersicht über gesamte Hautprobe, am Mikroskop eingestellte Vergrößerung: 10x; B: Vergrößerung der perforierten Hautareale, am Mikroskop eingestellte Vergrößerung: 40x

Die PLGA-Mikronadeln waren in der Lage das SC der Humanhaut zu durchstechen. Dies ist eindeutig an den blau angefärbten Mikroporen in der Hautprobe zu erkennen (Abbildung 60 B). Das SC stellt eine lipophile Barriere dar. Durch Perforation kann sich der hydrophile Farbstoff in den hydrophilen Mikroporen anlagern und wird im Anschluss nicht abgewaschen. Diese Methode wird oft verwendet, um das Eindringverhalten von MNS in Haut zu charakterisieren [180].

Folglich konnte gezeigt werden, dass die angefertigten MNS geeignet waren, dass menschliche SC zu durchstechen. Allerdings stellte dies keinen Beweis für eine mögliche transdermale AS-Abgabe dar. Die Permeation von AS durch die menschliche Haut hängt von

weiteren Faktoren wie den AS-Eigenschaften [139] oder der Nadelgeometrie [130] ab. Daher wurde im Folgenden die Permeation des Modell-AS IBU genauer untersucht.

3.5.4.5. Permeation durch Humanhaut

Die Permeation von AS durch Humanhaut wird typischerweise mit Hilfe von Franz-Diffusionszellen charakterisiert. Diese Methode wurde bereits erfolgreich für Transdermalpflaster [231] und für MNS [222] angewendet.

Im Rahmen dieses Versuchsteils wurde IBU als Modell-AS verwendet. Allerdings ist IBU in der Lage, durch passive Diffusion das SC zu überwinden [235]. Aus diesem Grund wurden Filmformulierungen hergestellt, welche ebenfalls aus PLGA bestanden und die gleiche Masse IBU enthielten, wie die MNS (Kapitel 5.2.4.). Die Permeation von IBU mittels dieser Filmformulierungen wurde analog zu der Permeation von IBU mittels MNS bestimmt. Somit konnte die Permeation, welche durch die MNS vermittelt wurde mit der Permeation von IBU durch unperforierte Humanhaut verglichen werden.

Die Ergebnisse der Bestimmung der Permeation von IBU durch Humanhaut sind in Abbildung 61 dargestellt.

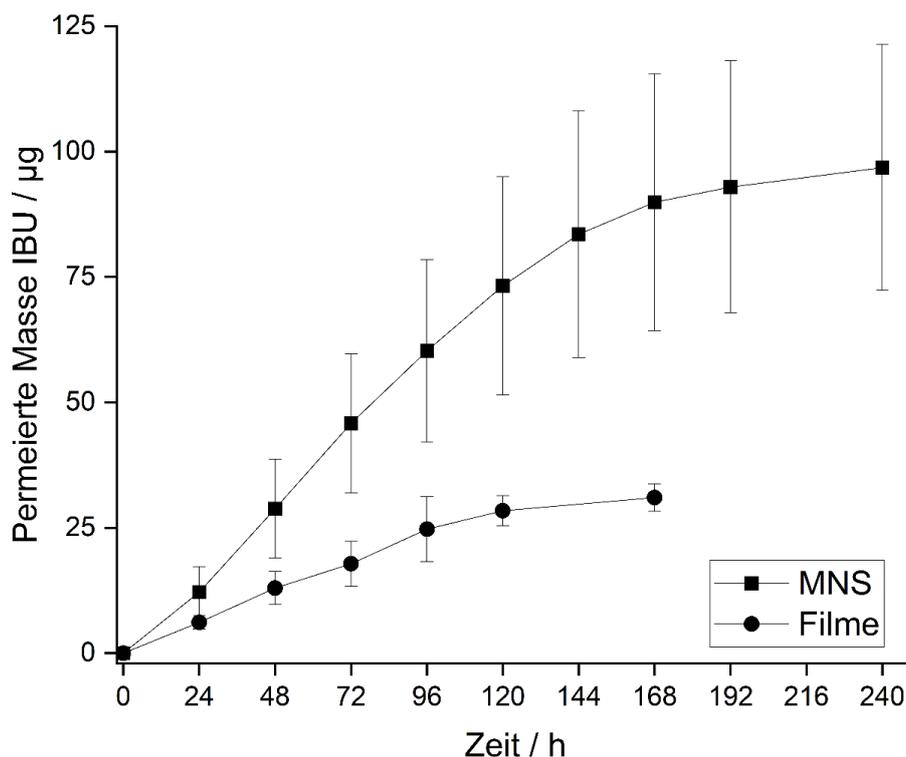


Abbildung 61: Permeation von IBU mittels MNS und Filmen durch Humanhaut; Testmedium 11,5 ml PBS pH=7,4 im Akzeptorkompartiment, T=30 °C, 200 UpM Rührgeschwindigkeit; $\bar{x} \pm sd$; n=6 für MNS, n=3 für Filme

Die Permeation von IBU wurde durch die Verwendung von MNS im Vergleich zur Verwendung von Filmzubereitungen deutlich erhöht. Nach 168 h (7 d) permeierten $31,04 \pm 2,73 \mu\text{g}$ IBU durch die Humanhaut unter Verwendung der PLGA-

MNS durchstochen, konnte die Permeation auf $89,90 \pm 25,57 \mu\text{g}$ IBU erhöht werden. Die initiale transdermale AS-Abgabe war ebenfalls erhöht unter Verwendung der MNS. $28,81 \pm 9,82 \mu\text{g}$ IBU permeierten durch die Humanhaut nach 48 h. Im Vergleich dazu permeierten zum gleichen Zeitpunkt lediglich $12,98 \pm 3,30 \mu\text{g}$ IBU bei Verwendung der PLGA-Filme. Des Weiteren war die Permeation nach 168 h nicht abgeschlossen. Nach 240 h (10 d) waren $96,79 \pm 24,51 \mu\text{g}$ IBU permeiert unter Verwendung der MNS.

Insgesamt konnte aus diesen Ergebnissen geschlussfolgert werden, dass eine transdermale AS-Abgabe unter Verwendung von PLGA-MNS in-vitro möglich war. Die Permeation des Modell-AS IBU konnte erhöht werden im Vergleich zur Permeation unter Verwendung von PLGA-Filmen, welche die gleiche AS-Beladung aufwiesen. Dies konnte durch das erfolgreiche Durchstechen des SC bei Applikation der MNS erklärt werden. Die Permeation mittels der PLGA-Filme beruhte auf dem Prinzip der passiven Diffusion durch das SC. Durch das Durchstechen des SC mit Hilfe der MNS konnte diese Barriere der Humanhaut umgangen werden und die Permeation wurde folglich erhöht.

Eine transdermale AS-Abgabe war über einen verlängerten Zeitraum von mindestens 10 d in-vitro möglich. Aufgrund der Degradation der Humanhaut im Verlauf der Versuche konnte die Permeation nicht über einen längeren Zeitraum untersucht werden. Die Soll-Masse jedes MNS betrug $290,36 \mu\text{g}$ IBU (Tabelle 27). Somit waren lediglich 33,33 % des AS nach 10 d durch die Humanhaut permeiert. Es konnte davon ausgegangen werden, dass eine noch längere transdermale AS-Abgabe mittels der hergestellten MNS möglich war.

Es konnte demnach gezeigt werden, dass sich TSD für die Herstellung von applizierbaren MNS aus PLGA eignete. Eine verlängerte transdermale AS-Abgabe über einen Zeitraum von mindestens 10 d war möglich. Diese Ergebnisse deckten sich mit in der Literatur beschriebenen MNS aus PLGA, welche mit Hilfe einer Zentrifugationsmethode oder dem Anlegen von Druck hergestellt wurden [119, 137, 142]. Diese Studien zeigten eine transdermale AS-Abgabe über einen Zeitraum von mindestens 14 d. Nach 10 d waren 20 – 60 % der Modell-AS permeiert.

Dieser Versuchsteil konnte erfolgreich den Anwendungsbereich von TSD zur Herstellung von Arzneiformen erweitern. Die Herstellung von bioabbaubaren MNS war möglich und nicht mehr ausschließlich auf Povidon als wasserlösliches Polymer limitiert. Dadurch konnte eine verlängerte transdermale AS-Abgabe ermöglicht werden.

3.5.4.6. Restlösemittel

In TZ B8 wurde DMF als LM verwendet. DMF wurde bereits als Permeationsvermittler beschrieben [236]. Außerdem ist DMF in Tabelle 2 der ICH-Leitlinie Q3C (R8) gelistet [237]. Dies bedeutet, dass es sich bei DMF um ein LM handelt, dessen Gehalt in der Arzneiform limitiert werden muss. Die Grenzkonzentration ist dabei auf 880 ppm festgelegt.

Die Konzentration an DMF, welches im Anschluss an die Trocknung im MNS verblieb, wurde mittels $^1\text{H-NMR}$ bestimmt. Die Gehaltsbestimmung erfolgte unter Verwendung des internen Standards Dichlormethan (DCM). Die Ergebnisse der Bestimmung des Restlösemittel-Gehaltes in den MNS ist der Abbildung 62 zu entnehmen.

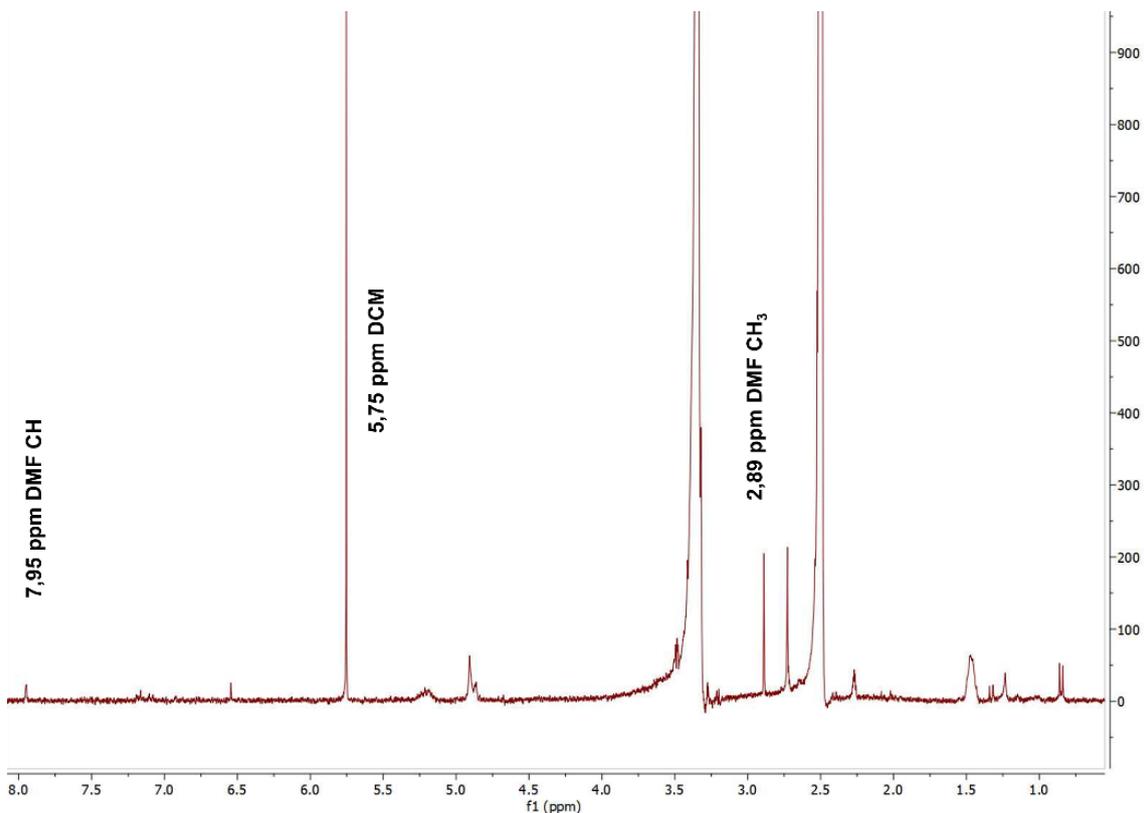


Abbildung 62: $^1\text{H-NMR}$ Spektrum des PLGA-MNS; gelöst in DMSO-d₆ mit DCM als interner Standard (c=1 µg/ml)

Die Berechnung des Gehaltes DMF in den hergestellten MNS erfolgte unter Verwendung des Signals der C-H-Schwingung von DMF bei einer chemischen Verschiebung von 7,95 ppm. Als Referenz diente das DCM-Signal bei einer chemischen Verschiebung von 5,75 ppm.

DCM wurde in einer Konzentration von 1 µg/ml der Probe zugesetzt. Über das Wissen dieser Konzentration konnte der Gehalt an DMF berechnet werden. Somit ergab sich ein Restlösemittel-Gehalt von DMF von 245 ppm. Dieser Wert ist deutlich unter dem geforderten Grenzwert von 880 ppm. Des Weiteren wurde der permeationsverbessernde Effekt von DMF als geringer ausgeprägt beschrieben im Vergleich zu anderen Permeationsvermittlern [236]. Außerdem wurden in dieser Studie die Permeationsvermittler unverdünnt verwendet. Daher

konnte davon ausgegangen werden, dass der enthaltene Restlösemittel-Gehalt von 245 ppm DMF keinen nennenswerten Einfluss auf die zuvor charakterisierte Permeation von IBU mittels MNS hatte.

3.5.5. Zusammenfassende Beurteilung

Die Herstellung von MNS mittels TSD war zuvor ausschließlich auf das wasserlösliche Polymer Povidon limitiert. Povidon eignete sich allerdings nicht für eine verlängerte transdermale AS-Abgabe, welche jedoch für viele Therapieformen erstrebenswert ist. Verlängert freisetzende MNS wurden ausschließlich über konventionelle Methoden hergestellt. Dazu zählen das Anlegen eines Überdruckes auf ein Mikronadelnegativ oder dessen Zentrifugation, um die Polymerlösung in die Kavitäten zu füllen. Allerdings resultieren diese Herstellungsweisen oftmals in einer unwirtschaftlichen Nutzung des AS. Außerdem kann auf diese Weise nur jede Kavität mit der identischen Menge der Formulierung gefüllt werden. Zuvor konnte bereits gezeigt werden, dass sich TSD eignen kann, um diese Einschränkungen zu umgehen. Mittels TSD kann die Füllhöhe der Kavitäten erfolgreich und präzise variiert werden. Auch die räumliche Trennung von unterschiedlichen Mikronadeln innerhalb eines MNS war mittels TSD möglich.

Es wurde eine TZ charakterisiert, welche sich verdrucken ließ. Als bioabbaubares Polymer wurde PLGA verwendet, um eine verlängerte transdermale AS-Abgabe zu erreichen. Es wurden geeignete Druckparameter für die Herstellung untersucht. Im Anschluss konnten erfolgreich MNS durch Verdrucken der PLGA-haltigen TZ hergestellt werden. Die hergestellten Mikronadeln waren spitz und intakt. Die Mikronadeln, deren Spitzen aus PLGA bestanden, verbanden sich erfolgreich mit der Povidon-Hyprolose-basierten DS. Die Mikronadeln zeigten kein Schrumpfen und wiesen zufriedenstellende mechanische Eigenschaften auf. Nach Kompression mit einer Kraft von 32 N für 30 s waren die Nadeln spitz und intakt und brachen nicht. Im Anschluss wurde das Insertionsverhalten der PLGA-MNS in ein künstliches Hautmodell und in Humanhaut untersucht. Die Mikronadeln konnten erfolgreich zwei Schichten Parafilm® M durchstechen. Das SC der Humanhaut wurde ebenfalls erfolgreich penetriert. Des Weiteren wurde die transdermale AS-Abgabe in-vitro untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Permeation durch Humanhaut eindeutig verbessert wurde unter Verwendung der PLGA-MNS. Als Vergleich diente die Permeation durch Humanhaut, welche von PLGA-Filmen ohne Durchstechen des SC vermittelt wurde. Eine transdermale AS-Abgabe von mindestens 10 d war möglich durch Verwendung der PLGA-MNS. Abschließend konnte gezeigt werden, dass der Restlösemittel-Gehalt in den hergestellten MNS deutlich unter dem geforderten Grenzwert für DMF lag.

Insgesamt konnte die Anwendbarkeit von TSD zur Herstellung von MNS erfolgreich erweitert werden. Die Herstellung von MNS für eine verlängerte transdermale AS-Abgabe war möglich.

Jedoch müssen weitere Untersuchungen durchgeführt werden, um die Anwendbarkeit der hergestellten MNS zu bewerten. Interessant wäre die Verwendung eines therapeutisch relevanten AS. Zum Beispiel könnten sich die hergestellten MNS in Zukunft für die hormonelle Kontrazeption eignen. Dabei werden niedrig-dosierte Sexualhormone verwendet. Durch die geringe Dosierung und die hohe Wirkpotenz sollten bei diesen Plasmaspiegelschwankungen vermieden werden. Die Verwendung von PLGA-MNS scheint hier demnach sinnvoll zu sein. Dazu müssten jedoch zunächst in-vivo Daten generiert und diese mit den in diesem Versuchsteil gewonnenen Erkenntnissen verglichen werden.

4. Zusammenfassung und Ausblick

MNS stellen eine neuartige und vielversprechende Möglichkeit dar, AS effektiv und sicher transdermal zu applizieren. Da die Mikrometergroßen Nadeln das SC der menschlichen Haut durchstechen können, kann diese Barriere umgangen werden. Damit lässt sich ein breiteres Spektrum an AS transdermal applizieren. Die Nadeln sind von der Länge her so gestaltet, dass sie Nervenfasern in der Dermis bei der Applikation nicht erreichen können. Dadurch ist die Applikation von MNS im Gegensatz zu klassischen parenteralen Arzneiformen weniger schmerzhaft. Jedoch gibt es bisher noch kein zugelassenes Marktpräparat. Ein vielversprechender Ansatz von beschichteten MNS, welche Zolmitriptan als AS enthalten, musste in Phase II b / III der klinischen Entwicklung abgebrochen werden, da die Dosiergenauigkeit nicht gegeben war [238]. Das liegt an den bisher verwendeten Herstellungsmethoden von löslichen und bioabbaubaren MNS. In der Regel werden diese Arten von MNS mittels Spritzguss-Verfahren hergestellt, wobei sich diese Verfahren nicht zur Kombination mehrerer, inkompatibler Arzneistoffe innerhalb eines MNS eignen. So kann mit Hilfe dieser Verfahren nicht die Füllhöhe der Kavitäten der Mikronadelnegative variiert werden. Bei der Herstellung von MNS mittels Spritzguss-Verfahren wird zudem mit einem Überschuss an AS-haltiger Polymerlösung gearbeitet. Dadurch soll sichergestellt werden, dass sämtliche Kavitäten des Mikronadelnegatives gefüllt werden. Der Überschuss der Formulierung wird im Anschluss an den Füllprozess mechanisch entfernt, wobei dennoch AS in der DS verbleibt, welcher im Anschluss nicht für eine transdermale Applikation zur Verfügung steht. Dies resultiert insgesamt in einer unwirtschaftlichen Nutzung des AS. Dies kann insbesondere bei der Verwendung kostenintensiver AS einen großen Nachteil darstellen.

Im ersten Teil der angefertigten Arbeit wurden verschiedene, wasserlösliche Polymere hinsichtlich der Eignung zur Herstellung von löslichen MNS charakterisiert. Dabei wurden sechs verschiedene Polymere – Povidon, Copovidon, Soluplus®, HPC, Kollicoat® IR und PUL – verwendet. Besonders wurde die Wichtigkeit der Art und Konzentration des verwendeten WM herausgestellt. So konnte gezeigt werden, dass sprödebrüchige Polymere wie Povidon und Copovidon einen hohen Anteil von bis zu 12 % WM enthalten müssen, damit MNS hergestellt werden können, welche die Anforderungen an die mechanischen Eigenschaften für eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe erfüllen. Wurde HPC als Polymer zur Herstellung von MNS verwendet, so musste kein WM der Formulierung hinzugegeben werden, um geeignete mechanische Eigenschaften zu erreichen. Der Zusatz geringer Konzentrationen an WM resultierte bereits in Mikronadeln, welche zu weich für eine erfolgreiche transdermale Applikation waren. Diese Beobachtungen konnten ebenfalls für die Herstellung von MNS aus Soluplus® gemacht werden. MNS, welche aus PUL hergestellt wurden, zeigten hingegen ausreichend mechanische Stabilität unabhängig von Art und Konzentration des verwendeten

WM. Die Herstellung von MNS aus Kollicoat® IR war nicht möglich. Diese MNS waren bereits ohne den Zusatz von WM zu weich für eine zufriedenstellende transdermale Applikation und zeigten eine stark ausgeprägte Volumenkontraktion. Das hohe Einflusspotential der WM auf die resultierenden mechanischen Eigenschaften der MNS konnte eindrucksvoll gezeigt werden. Dabei wurde in der vorliegenden Arbeit der Einfluss der WM-Art und -Konzentration auf die mechanischen Eigenschaften von MNS erstmalig systematisch untersucht. Bisweilen wurden lediglich einzelne WM und Polymere hinsichtlich dieser Fragestellung charakterisiert. Der gegenüberstellende Vergleich verschiedener WM und Polymere fand hingegen wenig Beachtung.

Die am besten geeigneten Polymer-WM-Kombinationen konnten darüber hinaus allesamt Humanhaut erfolgreich perforieren. Das Freisetzungsverhalten der MNS wurden ebenfalls untersucht. Sämtliche MNS setzten den Modell-AS LIS innerhalb weniger Minuten frei, wobei die MDT zwischen $2,67 \pm 0,98$ min (Copovidon) und $13,95 \pm 3,25$ min (PUL) lag. Damit konnten insgesamt fünf Polymere charakterisiert werden, welche sich zur Herstellung von löslichen MNS eigneten. Durch Auswahl des Polymers konnte dabei das Freisetzungsverhalten variiert werden.

Die übrigen vier Kapitel dieser Arbeit beschäftigten sich mit der Herstellung und Charakterisierung von MNS mittels TSD. Dabei wurde zunächst eine wasserlösliche TZ entwickelt und untersucht. PVP K17 eignete sich als Polymer zur Herstellung von löslichen MNS mittels TSD. Es konnte gezeigt werden, dass TSD eine alternative Herstellungsmethode verglichen mit konventionell genutzten Spritzguss-Verfahren darstellt. Es war möglich, personalisierte lösliche MNS mittels TSD herzustellen, indem einzelne Kavitäten des Mikronadelnegatives gefüllt und ausgelassen wurden. Dies resultierte in einer Variation der AS-Beladung zwischen $33,45 \pm 0,98$ µg (alle Kavitäten gefüllt) und $18,44 \pm 1,39$ µg (abwechselndes Füllen und Auslassen der Kavitäten) LIS. Lösliche MNS, welche mittels TSD hergestellt wurden, zeigten dabei vergleichbare mechanische Eigenschaften zu konventionell hergestellten löslichen MNS. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Insertion in ein künstliches Hautmodell ausreichend tief war für eine erfolgreiche transdermale AS-Abgabe. Die Herstellung von löslichen MNS mittels TSD resultierte dabei in einer wesentlich geringeren Verschwendung von AS im Vergleich zur Herstellung mittels einer Zentrifugationsmethode. Insgesamt konnte demnach gezeigt werden, dass TSD eine geeignete Herstellungsmethode für MNS darstellt. Durch Variation der Anzahl an gefüllten Kavitäten konnte die Dosis pro MNS präzise eingestellt werden. Diese Aspekte machen die Herstellung von MNS mittels TSD zu einer optimalen Methode für die Herstellung von individualisierten Arzneiformen für die personalisierte Therapie.

Anschließend konnten erfolgreich mehrschichtige MNS mittels einer Kombination aus TSD und einer Zentrifugationsmethode hergestellt werden. Die Füllhöhe der einzelnen Kavitäten des Mikronadelnegatives wurde erfolgreich variiert, indem die Anzahl an Tropfen, welche pro Kavität gedruckt wurden, variiert wurde. Auf diese Weise konnte die Dosierung zwischen $11,58 \pm 0,59$ und $33,99 \pm 0,17 \mu\text{g}$ in Schritten von bis zu $8 \mu\text{g}$ präzise variiert werden. Die hergestellten MNS waren mechanisch robust und zeigten ein ausreichend tiefes Eindringen in ein künstliches Hautmodell. Außerdem konnte gezeigt werden, dass sowohl die verwendeten Polymere für die Nadelschichten, als auch die LM, in welchen die Polymere gelöst waren, von entscheidender Bedeutung für eine erfolgreiche Separierung der Nadelspitze von der DS waren. Zu diesem Zweck konnte KRM als Charakterisierungsmethode etabliert werden. Die Messmethode mittels KRM wurde teilvalidiert und eignete sich, um die Konzentration von LIS in den Mikronadeln zu quantifizieren. Dies gab Aufschluss über die Lokalisation des AS innerhalb der einzelnen Mikronadeln. Es konnte gezeigt werden, dass das LM, welches für die Herstellung der zweiten Schicht verwendet wurde, nicht das bereits in die Kavitäten gefüllte Polymer der Nadelspitze auflösen durfte. Ansonsten kam es zu einer Vermischung von Nadelspitze und DS, sodass die applizierbare Dosis nicht den Anforderungen entsprach. Eine erfolgreiche Separierung von Nadelspitze und DS konnte erreicht werden, indem die Nadelspitze mittels TSD aus Povidon hergestellt wurde. Die DS wurde in einem darauffolgenden Herstellungsschritt mittels der Zentrifugationsmethode aus EC hergestellt. Dabei musste EC in EtAc gelöst vorliegen. Mittels KRM konnte die klare räumliche Trennung der arzneistoffhaltigen und arzneistofffreien Schicht gezeigt werden und LIS lag ausschließlich in der Nadelspitze separiert vor.

Im vierten Teil der vorliegenden Arbeit wurden erfolgreich verschiedene Polymere zur Herstellung von MNS verwendet. Diese Polymere konnten durch die Kombination von TSD und der Zentrifugationsmethode erfolgreich räumlich voneinander getrennt werden. Innerhalb der MNS lagen schnelllösliche Mikronadeln, welche aus Povidon mittels TSD hergestellt wurden, räumlich getrennt von unlöslichen Mikronadeln aus AMM A / B vor. Auf diese Weise konnten Mikronadeln, welche unterschiedliche Freisetzungskinetiken der Modellarzneistoffe IBU und LIS aufwiesen, innerhalb eines einzigen MNS kombiniert werden. Außerdem kann diese Herstellungsmethode zur Kombination von inkompatiblen Arzneistoffen innerhalb eines MNS verwendet werden. Mittels konventioneller Spritzguss-Verfahren ist diese räumliche Trennung bisweilen nicht möglich. Im Rahmen der Charakterisierung konnte gezeigt werden, dass sich diese MNS für eine transdermale Applikation eignen könnten. Die erfolgreiche Permeation der AS durch Humanhaut konnte in-vitro verifiziert werden. Durch die Ergebnisse dieses Kapitels konnte der mögliche Anwendungsbereich erweitert und die Wichtigkeit der Herstellung von MNS mittels TSD verdeutlicht werden.

Im letzten Kapitel der vorliegenden Arbeit konnte der Anwendungsbereich von TSD auf die Herstellung von bioabbaubaren MNS ausgeweitet werden. Es wurde eine geeignete TZ charakterisiert, welche PLGA als bioabbaubares Polymer enthielt und sich zur Herstellung der bioabbaubaren MNS eignete. Bis zu diesem Zeitpunkt war die Herstellung von MNS mittels TSD lediglich auf die Verwendung löslicher Polymere beschränkt. Durch die präzise Herstellung von bioabbaubaren MNS aus PLGA konnte gezeigt werden, dass auch MNS für eine langanhaltende transdermale AS-Applikation mittels TSD hergestellt werden konnten. Es konnte zudem gezeigt werden, dass die PLGA-MNS die transdermale AS-Abgabe im Vergleich zur Verwendung von Filmformulierungen deutlich erhöhten. Die hergestellten MNS waren mechanisch robust, ermöglichten in-vitro die Permeation von IBU und wiesen eine Restlösemittel-Konzentration unterhalb des vorgeschriebenen Grenzwertes auf.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Herstellung von MNS mittels TSD erfolgreich etabliert wurde. Diese Herstellungsmethode weist dabei einige Vorteile auf, verglichen mit der bisher verwendeten Herstellung mittels Spritzguss-Verfahrens. Es konnte gezeigt werden, dass TSD zu einer wirtschaftlicheren Nutzung von AS-haltigen Polymerformulierungen beitragen kann. Dies kann in Zukunft zu einer Kostenreduktion im Herstellungsprozess von MNS beitragen. Außerdem konnte gezeigt werden, dass durch TSD präzise einzelne Kavitäten der Mikronadelnegative gefüllt werden können. Dies resultiert in der Möglichkeit, dass auch inkompatible Arzneistoffe innerhalb eines MNS kombiniert werden können. In der Pharmakotherapie könnte dies zu einer Erhöhung der Therapietreue beitragen, wenn Patienten und Patientinnen lediglich ein MNS anwenden müssen anstelle von mehreren MNS, welche jeweils nur einen AS enthalten. TSD stellt zudem einen geeigneten Ansatz zur Personalisierung von MNS dar. Durch Variation der Anzahl an AS-haltigen Mikronadeln, der Füllhöhe der AS-haltigen Nadelschicht oder durch Anpassung der AS-Konzentration in der TZ kann die Dosis frei variiert werden und den individuellen Anforderungen der zu therapierenden Person angepasst werden. Des Weiteren konnte KRM als nützliche Methode zur Charakterisierung von mehrschichtigen MNS etabliert werden. KRM eignet sich, um die AS-Konzentration in Mikronadeln zu bestimmen. In Zukunft kann diese Methode im Rahmen von In-Prozess-Kontrollen oder zur Qualitätskontrolle von MNS verwendet werden. Außerdem konnten auf diese Weise wertvolle Informationen über die Stabilität von mehrschichtigen MNS während des Herstellungsprozesses gewonnen werden. Besonders hervorzuheben ist, dass KRM eine nicht-destruktive Charakterisierungsmöglichkeit von MNS darstellt. Bisweilen wurde die Stabilität von mehrschichtigen MNS bestimmt, indem die einzelnen Mikronadeln mit Hilfe eines Skalpell von der DS getrennt wurden und in einem geeigneten LM gelöst wurden. Anschließend wurden die Mikronadeln mittels HPLC-Analytik vermessen. Dies stellt jedoch eine destruktive Methode dar, welche diesbezüglich der KRM unterlegen ist.

Allerdings muss bedacht werden, dass die Herstellung von MNS mittels TSD zeitintensiv ist verglichen mit Spritzguss-Verfahren. Das Befüllen der Kavitäten erfolgte im Rahmen dieser Arbeit individuell mit einer einzelnen aktiven Düse des piezoelektrischen Druckkopfes. Eine Möglichkeit, diesen Prozess zu beschleunigen, könnte die Automatisierung durch entsprechende Programmierung des Tintenstrahldruckers darstellen. Für andere Arzneiformen ist bereits ein (semi)-kontinuierlicher Herstellungsprozess beschrieben [151]. Außerdem kann die Verwendung mehrerer aktiver Düsen während des Druckprozesses oder die Verwendung von mehr als einem Druckkopf die Zeit, welche zur Herstellung eines MNS benötigt wird, reduzieren. Weitere Studien müssen zeigen, ob sich diese Automatisierung auf MNS übertragen lässt.

Außerdem wurden im Rahmen dieser Arbeit Modellarzneistoffe verwendet. In einem nächsten Schritt müsste geklärt werden, ob sich die Herstellung der MNS mittels TSD problemlos auf therapeutische Dosierungen von AS übertragen lässt. MNS stellen vor allem für die transdermale Applikation von Vakzinen und Proteinen einen interessanten Ansatz dar. Bei der Herstellung mittels TSD muss geklärt werden, ob die empfindlichen Proteinstrukturen den mechanischen Stress des Druckprozesses unbeschadet überstehen. Auch muss im Rahmen von weiteren Untersuchungen geklärt werden, ob die Kombination inkompatibler Arzneistoffe innerhalb eines MNS tatsächlich möglich ist.

Es kann hervorgehoben werden, dass im Rahmen dieser Arbeit zum ersten Mal beschrieben wurde, dass die Herstellung von bioabbaubaren MNS aus PLGA ebenfalls mittels TSD möglich ist. Nichtsdestotrotz bleibt dadurch die Auswahl an Polymeren, welche zur Herstellung von MNS mittels TSD verwendet werden können, auf Povidon und PLGA limitiert. Vor allem die Viskosität der verwendeten TZ stellt dabei einen stark limitierenden Faktor dar. Durch die Etablierung neuartiger Tintenstrahldrucker ist es bereits möglich, hochviskose Zubereitungen zu verdrucken. Eine Erweiterung des Spektrums der verwendbaren Polymere zur Herstellung von MNS mittels TSD scheint daher möglich und sollte im Rahmen von weiterführenden Untersuchungen charakterisiert werden.

Sämtliche MNS, welche in dieser Arbeit hergestellt und weiterführend charakterisiert wurden, zeigten eine ausreichende mechanische Stabilität und indizierten in-vitro eine mögliche Verwendung zur transdermalen AS-Applikation. Allerdings muss betont werden, dass diese Ergebnisse in-vivo bestätigt werden müssen. Trotzdem kann zusammenfassend festgehalten werden, dass die Herstellung von MNS mittels TSD wichtige Vorteile gegenüber klassischen Herstellungsmethoden bieten kann. Die Anwendung von TSD konnte eindrucksvoll als alternatives Herstellungsverfahren von MNS etabliert werden.

5. Experimenteller Teil

Teile dieses Abschnittes wurden bereits im Vorfeld im Rahmen von wissenschaftlichen Konferenzen und in Zeitschriften mit Peer-Review-Verfahren veröffentlicht. Der Inhalt wurde unverändert übernommen oder ins Deutsche übersetzt und teilweise erweitert.

5.1. Verwendete Materialien

Tabelle 13: Modellarzneistoffe

Name	Charge	Hersteller
LIS	C5170-21-126	Zhejiang Huahai Pharmaceutical, China
IBU	090240003	Caesar & Loretz, Deutschland

Tabelle 14: Materialien für die Tintenherstellung

Name	Handelsname	Hersteller
PVP K12	Kollidon® K12	BASF, Deutschland
PVP K17	Kollidon® K17	BASF, Deutschland
Amaranth	Amaranth 85	BASF, Deutschland
HPMC	Pharmacoat® 603	Shin-Etsu Chemical, Japan
PUL	-	TCI, Japan
PEG 1500	Polyglykol 1500	Clariant, Schweiz
PEG 3000	Polyglykol 3000	Clariant, Schweiz
PS 20	Tween® 20	Caesar & Loretz, Deutschland
Gly	Ph. Eur.	Caesar & Loretz Deutschland
PLGA	Resomer® RG 503 H	Evonik, Deutschland
ACN	p.a.	VWR, Frankreich
DMF	p.a.	
DMSO	p.a.	
EtAc	p.a.	Fisher Scientific, Belgien
Deionisiertes H ₂ O	-	Frisch abgefüllt

Tabelle 15: Materialien für die Herstellung der DS

Name	Handelsname	Hersteller
PVP K30	Kollidon® K30	BASF, Deutschland
EC	Aqualon™ EC-N10	Ashland, Deutschland
HPC	HPC SSL	Nisso, Japan
AMM A	Eudragit® RL PO	Evonik, Deutschland
AMM B	Eudragit® RS PO	Evonik, Deutschland
PS 20	Tween® 20	Caesar & Loretz, Deutschland
Glycerol	Ph.Eur.	Caesar & Loretz, Deutschland
Triethylcitrat	Citrofol AI	Jungbunzlauer, Schweiz
PEG 400	Polyglykol 400	Clariant, Schweiz
EtOH 96 %	Technisch	Hausintern
Deionisiertes Wasser	-	Frisch abgefüllt

Tabelle 16: Polymerlösungen für MNS, hergestellt durch Zentrifugation

Name	Handelsname	Hersteller
HPC	HPC SSL	Nisso, Japan
PVP K30	Kollidon® K30	BASF, Deutschland
PUL	-	TCI, Japan
Polyvinyl Caprolactam-polyvinyl acetat- Polyethylenglycol-Copolymer	Soluplus®	BASF, Deutschland
Copovidon	Kollidon® VA64	BASF, Deutschland
Polyethylenglycol-polyvinylalkohol- Copolymer	Kollicoat® IR	BASF, Deutschland
Gly	Ph. Eur.	Caesar & Loretz, Deutschland
PEG 300	Polyglykol 300	Clariant, Schweiz
PS 20	Tween® 20	Caesar & Loretz, Deutschland
Sor	Parteck® SI 150	Merck, Deutschland

Tabelle 17: Materialien für Analytik

Name	Handelsname	Hersteller
ACN	p.a.	VWR, Frankreich
Natriumdihydrogenphosphat	p.a.	Merck, Deutschland
Natriumchlorid	Ph. Eur.	Sigma Aldrich, Deutschland
Kaliumchlorid	Ph. Eur.	VWR, Belgien
Phosphorsäure	p.a.	Sigma Aldrich, Deutschland
Natriumhydroxid 1 M	p.a.	VWR, Frankreich
Dinatriumhydrogenphosphat	p.a.	Carl Roth, Deutschland
Kaliumdihydrogenphosphat	p.a.	AppliChem, Deutschland
Wasser	Ultrafiltriert	Mittels Mili-Q®-Apparatur frisch hergestellt

5.2. Herstellungsmethoden

5.2.1. Tintenformulierungen

Zur Herstellung der TZ wurden die Arznei- und Farbstoffe eingewogen (Tabelle 18). Anschließend wurden diese bei Raumtemperatur unter Rühren in dem jeweiligen LM gelöst. Während der Lagerung wurden die Gefäße mit Parafilm® M (Bemis, Neenah, USA) abgedeckt, um eine Veränderung der AS-Konzentration durch Verdunstung zu vermeiden.

Tabelle 18: Verwendete Waagen

AS	Waage	Hersteller
LIS	Cubis® MCE225P-2S00-A	Sartorius, Göttingen, Deutschland
IBU	Cubis® MCE225P-2S00-A	Sartorius, Göttingen, Deutschland
Amaranth	Practum 224S-1S	Sartorius, Göttingen, Deutschland

5.2.1.1. Arzneistofffreie Tintenformulierungen

Für die Entwicklung einer geeigneten TZ zur Herstellung von löslichen MNS mittels TSD (Kapitel 3.2.) wurden initial 11 arzneistofffreie, polymerhaltige TZ hergestellt und charakterisiert (Tabelle 19).

Tabelle 19: Arzneistofffreie TZ für die Herstellung von löslichen MNS mittels TSD

TZ	Polymer	Polymerkonzentration m/m [%]	PS 20 m/m [%]	G 85 % m/m [%]
F1	PVP K12	40,0	1,0	4,0
F2	PVP K17	30,0	1,0	4,0
F3	PVP K17	25,0	1,0	4,0
F4	HPMC	5,0	1,0	4,0
F5	HPMC	10,0	1,0	4,0
F6	PUL	5,0	1,0	4,0
F7	PUL	10,0	1,0	4,0
F8	PEG 1500	35,0	1,0	4,0
F9	PEG 1500	45,0	1,0	4,0
F10	PEG 3000	30,0	1,0	4,0
F11	PEG 3000	35,0	1,0	4,0

Die einzelnen Bestandteile wurden eingewogen und anschließend unter Rühren bei Raumtemperatur in deionisiertem Wasser gelöst. Dabei wurde von jeder arzneistofffreien TZ 100,0 g hergestellt.

Des Weiteren wurden insgesamt 9 arzneistofffreie TZ für die Herstellung von bioabbaubaren MNS mittels TSD hergestellt (Tabelle 20).

Tabelle 20: Arzneistofffreie TZ für die Herstellung von bioabbaubaren MNS mittels TSD

Tinte	PLGA m/m [%]	ACN m/m [%]	DMSO m/m [%]	DMF m/m [%]	EtAc m/m [%]
B1	20,0	-	-	-	80,0
B2	20,0	80,0	-	-	-
B3	5,0	-	95,0	-	-
B4	10,0	-	90,0	-	-
B5	15,0	-	85,0	-	-
B6	5,0	-	-	95,0	-
B7	10,0	-	-	90,0	-
B8	15,0	-	-	85,0	-
B9	20,0	-	-	80,0	-

PLGA wurde eingewogen und anschließend in dem jeweiligen LM unter Rühren bei Raumtemperatur gelöst. Dabei wurden initial von jeder TZ 1,0 g hergestellt.

5.2.1.2. Arzneistoffhaltige Tintenformulierungen

Die arzneistofffreien TZ F3 (Tabelle 19) und B8 (Tabelle 20) wurden als Grundlage für arzneistoffhaltige TZ verwendet.

1050,0 mg LIS wurden in 30,0 ml der TZ F3 unter Rühren bei Raumtemperatur gelöst. Somit ergab sich für diese arzneistoffhaltige TZ eine Konzentration von 35,0 mg/ml. IBU wurde als Modell-AS für die Herstellung von bioabbaubaren MNS verwendet. Zu diesem Zweck wurden 500,0 mg IBU in 20,0 g der TZ B8 gelöst, resultierend in einer Konzentration von 25,0 mg/g.

5.2.2. Polymerlösungen

5.2.2.1. Formulierungen für die Herstellung von Mikronadelsystemen mittels Zentrifugation

Für die systematische Untersuchung des Einflusses von Art und Konzentration des WM auf die mechanischen Eigenschaften von löslichen und unlöslichen MNS wurden verschiedene Polymerlösungen hergestellt, welche zur Herstellung von MNS mittels Zentrifugation dienten (Tabelle 21, Tabelle 23).

Die wasserlöslichen Polymere wurden abgewogen und in deionisiertem Wasser gelöst. Anschließend wurden unter Rühren PS 20 und der entsprechende WM (G 85 %, PEG 300 oder Sor) hinzugegeben. Die in Tabelle 21 angegebene WM-Konzentration bezieht sich jeweils auf die Gesamtmasse der Formulierung von 100,0 g.

Es wurden im Anschluss anhand der mechanischen Eigenschaften der MNS die jeweils am besten geeigneten Kombinationen aus Polymer und WM charakterisiert. Diese wurden mit einer Polymerkonzentration von 40 % in wässriger Lösung hergestellt (Tabelle 22). Dabei wurde die Konzentration an WM bezogen auf das Trockengewicht des Polymeres konstant gehalten. Diesen Lösungen wurde LIS in einer Konzentration von 30,0 mg/g hinzugefügt.

Die Polymere zur Herstellung von unlöslichen, verlängert freisetzenden Mikronadeln (Tabelle 23) wurden abgewogen und unter Rühren bei Raumtemperatur in EtAc gelöst.

Tabelle 21: Polymerlösungen für die Herstellung von löslichen MNS für die systematische Untersuchung des WM-Einflusses

Polymer m/m [%]	PS 20 m/m [%]	G 85 % m/m [%]	PEG 300 m/m [%]	Sor m/m [%]
	1,0	-	-	-
20,0	1,0	0,8	-	-
	1,0	1,6	-	-
PVP K30	1,0	2,4	-	-
Copovidon	1,0	-	0,8	-
HPC	1,0	-	1,6	-
Soluplus®	1,0	-	2,4	-
Kollicoat® IR	1,0	-	-	0,8
PUL	1,0	-	-	1,6
	1,0	-	-	2,4

Tabelle 22: Am besten geeignete Kombinationen aus Polymer und WM; 40 % w/w Polymer; jeweils 100,0 g hergestellt

Polymer	Polymer m/m [%]	PS 20 m/m [%]	WM	WM m/m [%]
PVP K30	40,0	1,0	Sor	4,8
Copovidon	40,0	1,0	Sor	4,8
HPC	40,0	1,0	-	-
Soluplus®	40,0	1,0	-	-
PUL	40,0	1,0	PEG 300	4,8

Tabelle 23: Polymerlösungen zur Herstellung von unlöslichen MNS

Formulierung	Polymer	Polymerkonzentration m/m [%]	PEG 400 m/m [%]
R1	AMM B	20,0	-
R2	AMM A	20,0	-
R3	EC	20,0	2,0

5.2.2.2. Formulierungen für die Herstellung der Deckschicht

Verschiedene Polymerzubereitungen, welche als DS der MNS dienten, wurden hergestellt (Tabelle 24).

Die Polymere und sonstigen Hilfsstoffe wurden einzeln abgewogen und unter Rühren bei Raumtemperatur im jeweiligen LM gelöst.

Tabelle 24: Formulierungen für die DS

Name	PVP K30 [%]	HPC [%]	EC [%]	G 85 % [%]	PS 20 [%]	H ₂ O [%]	EtOH [%]	EtAc [%]
DS 1	20,0	-	-	4,0	0,5	75,5	-	-
DS 2	20,0	-	-	4,0	0,5	50,0	25,5	-
DS 3	20,0	-	-	4,0	0,5	40,0	35,5	-
DS 4	20,0	-	-	4,0	0,5	60,0	15,5	-
DS 5	20,0	-	-	4,0	0,5	70,0	5,5	-
DS 6	20,0	-	-	4,0	0,5	30,0	45,5	-
DS 7	20,0	20,0	-	-	0,5	59,5	-	-
DS 8	-	-	20,0	-	-	-	80,0	-
DS 9	-	-	20,0	-	-	-	-	80,0

5.2.3. Herstellung von Mikronadelsystemen

5.2.3.1. Herstellung von Mikronadelsystemen mittels Zentrifugation

Für die Herstellung von MNS mittels Zentrifugation wurden 3D-gedruckte Halterungen verwendet, in die die Mikronadelnegative eingelegt werden konnten. Die (arzneistoffhaltige) Polymerlösung wurde mittels Eppendorf®-Pipette auf die Mikronadelform aufgetragen und bei einer Geschwindigkeit von 4250 Upm (=3776 g) für 20 min zentrifugiert (Multifuge 1L, Heraeus, Deutschland). Im Anschluss wurde das gefüllte Mikronadelnegativ entnommen und die Polymerlösung für die DS mittels Eppendorf®-Pipette aufgetragen. Anschließend wurden die MNS unter konstanten Bedingungen (27 °C im Trockenschrank für 30 h) über frisch aktiviertem Silicagel im Exsikkator getrocknet. Nach der Trocknung wurde das MNS vorsichtig aus der Form gelöst. Der Herstellungsprozess ist in Abbildung 63 schematisch dargestellt.

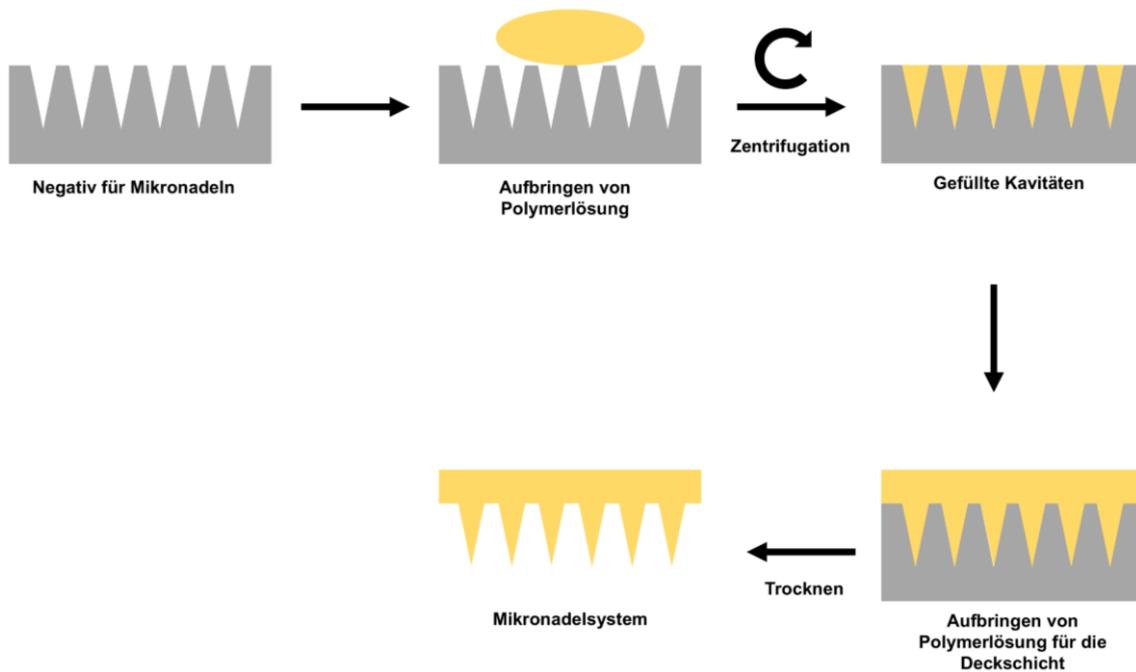


Abbildung 63: Herstellung von MNS mittels Zentrifugationsmethode

5.2.3.2. Herstellung von Mikronadelsystemen mittels Tintenstrahldruck

Die Herstellung von MNS mittels TSD erfolgte mit dem Tintenstrahldrucker PixDro LP50 (Meyer Burger, Eindhoven, Niederlande). Dabei wurde für alle TZ der mittels Piezokristall gesteuerte Druckkopf Spectra SL-128 AA (Fujifilm Dimatix, Santa Clara, USA) verwendet. Die Temperatur des Druckkopfes wurde mit 30 °C konstant gehalten und die Tropfen bei einer Frequenz von 500 Hz abgegeben. Dabei wurde lediglich eine einzelne Düse verwendet. Die Einstellungen des Druckprozesses können Tabelle 25 entnommen werden.

Tabelle 25: Einstellungen für die Herstellung von MNS mittels TSD

Tinte	Druck mbar	Frequenz Hz	Spannung V	Impulsform %	Haltezeit µs
F3	-18,30	500	100,0	90,0	7,5
B8	-18,00	500	100,0	90,0	8,5

Zunächst wurden die Kavitäten des Mikronadelnegativs individuell mittels TSD gefüllt. Die gefüllten Kavitäten wurden für 1 h getrocknet (im Trockenschrank bei 27 °C im Exsikkator über frisch aktiviertem Silicagel). Anschließend wurden 300 µl einer Polymerlösung für die DS aufgebracht und die MNS wurden unter den gleichen Bedingungen für 30 h getrocknet. Die getrockneten MNS wurden vorsichtig aus dem Negativ entnommen. Der Herstellungsprozess ist in Abbildung 64 schematisch dargestellt.

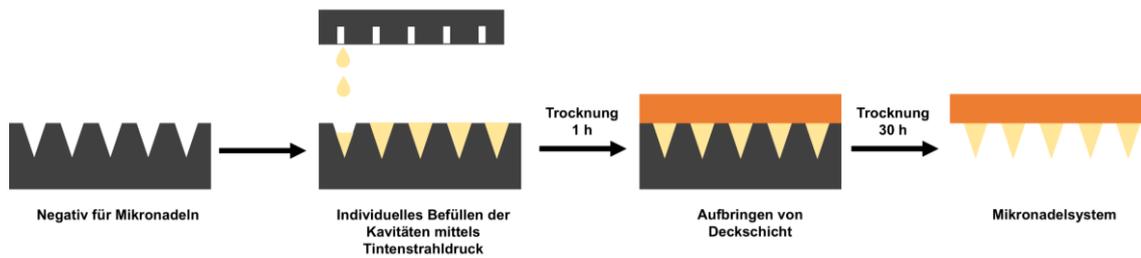


Abbildung 64: Herstellung von MNS mittels TSD

5.2.3.3. Herstellung von Mikronadelsystemen mittels Kombination aus Tintenstrahl Druck und Zentrifugation

Zur Herstellung von mehrschichtigen MNS, MNS mit zwei räumlich getrennten Arzneistoffen sowie MNS mit bioabbaubaren PLGA-Spitzen wurden die gleichen Einstellungen für den Tintenstrahl drucker verwendet, wie zuvor beschrieben (Kapitel 5.2.3.2.).

5.2.3.3.1. Herstellung von mehrschichtigen Mikronadelsystemen

Die Nadelspitze der mehrschichtigen MNS wurde mittels TSD hergestellt wie zuvor beschrieben (Kapitel 5.2.3.2.). Dazu wurde die TZ F3 (Tabelle 19) verwendet. LIS wurde in einer Konzentration von 35 mg/ml als Modellarzneistoff verwendet. Zur Visualisierung des Druckerfolges wurde die Tinte mit 18 mg/ml Amaranth angefärbt. Der Druckprozess erfolgte mit dem Tintenstrahl drucker PixDro LP50 (Meyer Burger, Niederlande). Die Kavitäten des Mikronadelnegativs wurden gefüllt. Die Füllhöhe wurde variiert, indem 150, 250 bzw. 450 Tropfen pro Kavität gejetet wurden. Anschließend wurden die Spitzen der MNS für 1-2 h getrocknet (bei 27 °C im Exsikkator über frisch aktiviertem Silicagel). Danach wurde die zweite, arzneistofffreie Schicht mittels Zentrifugation in die Kavitäten eingebracht (Kapitel 5.2.3.1.). Danach wurde unter den gleichen Bedingungen für 16 h getrocknet, ehe das MNS vorsichtig

aus dem Negativ entfernt werden konnte. Der Herstellungsprozess ist schematisch in Abbildung 65 dargestellt.

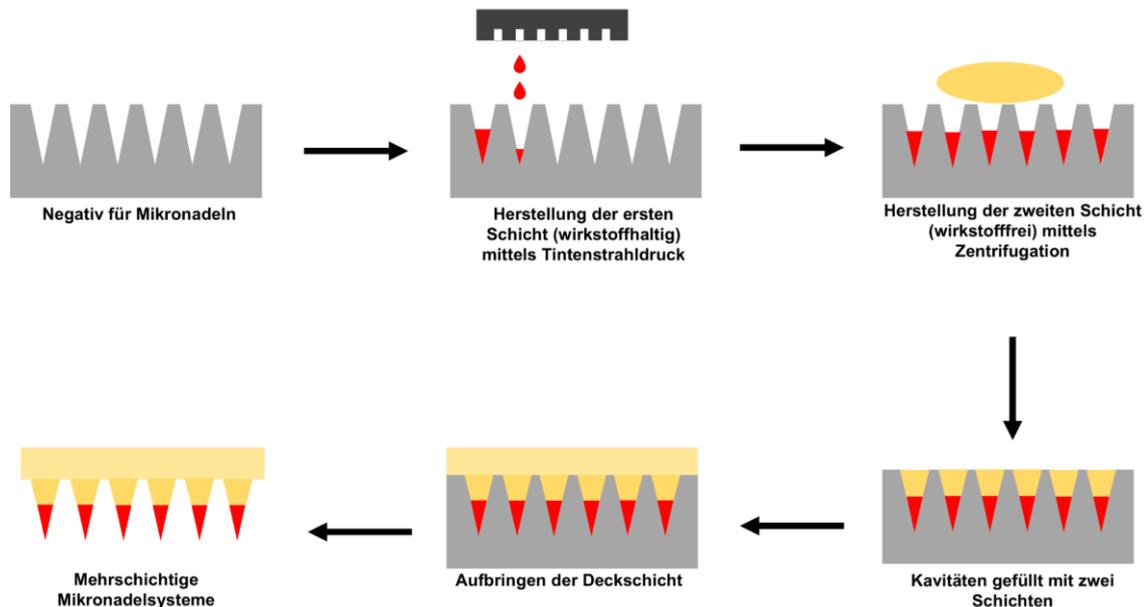


Abbildung 65: Herstellung von mehrschichtigen MNS mittels einer Kombination aus TSD und Zentrifugation

5.2.3.3.2. Herstellung von Mikronadelsystemen mit zwei räumlich getrennten Polymeren / Arzneistoffen

Durch die Kombination von TSD und Zentrifugation wurden MNS hergestellt, in welchen schnelllösliche und unlösliche Mikronadeln kombiniert vorlagen, wobei zwei unterschiedliche Polymere räumlich getrennt vorlagen. Die löslichen Nadeln wurden aus PVP K17 mit LIS als Modellarzneistoff mittels TSD hergestellt. Die unlöslichen Nadeln bestanden aus AMM A / AMM B. Diese Mikronadeln wurden mittels Zentrifugation hergestellt und IBU wurde als Modell-AS verwendet.

Zunächst wurde eine Hälfte der Kavitäten mittels TSD gefüllt. Als Tinte wurde F3 verwendet. F3 war LIS als Modellarzneistoff in einer Konzentration von 35 mg/ml zugesetzt. Jede Kavität wurde individuell mit 360 Tropfen gefüllt. Dabei wurden die Einstellungen wie zuvor beschrieben verwendet (Tabelle 25). Anschließend wurden die gefüllten Kavitäten in einem Exsikkator über frisch aktiviertem Silicagel getrocknet (27 °C für 2 h). Die andere Hälfte der Kavitäten wurde mittels Zentrifugation gefüllt. Dazu wurden 50 µg der Formulierungen R1 bzw. R2 (Tabelle 23) auf das Mikronadelnegativ aufgetragen. In den Formulierungen R1 und R2 war IBU in einer Konzentration von 20 mg/ml gelöst. Die Zentrifugation wurde durchgeführt wie zuvor beschrieben. Der Überschuss an Polymerlösung wurde mittels Kartenblatt entfernt. 150 µl der jeweils gleichen, arzneistofffreien Formulierung R1 bzw. R2 wurden als DS aufgetragen. Anschließend wurden die MNS unter den gleichen Bedingungen für 14 h

getrocknet. Die MNS konnten vorsichtig aus dem Mikronadelnegativ herausgelöst werden. Der Herstellungsprozess ist in Abbildung 66 schematisch dargestellt.

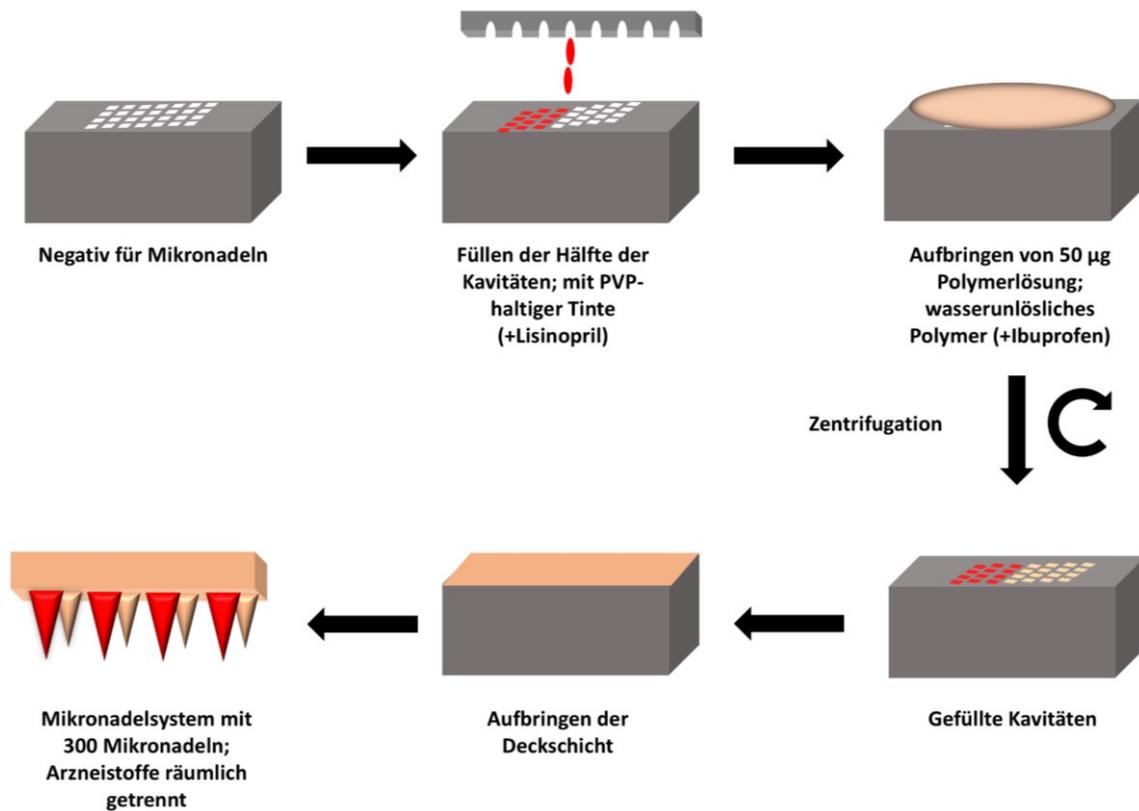


Abbildung 66: Herstellung von MNS mit räumlich getrennten Mikronadeln aus unterschiedlichen Polymeren mit unterschiedlichen Arzneistoffen

5.2.3.3.3. Herstellung von bioabbaubaren Mikronadelsystemen mit Nadelspitzen aus Poly(lactid-co-glycolid)

Die Nadelspitze aus bioabbaubarem PLGA wurde mittels TSD hergestellt. Dazu wurde IBU als Modellarzneistoff in der TZ B8 (Tabelle 20) gelöst. Die Konzentration betrug 25 mg/g. Zunächst wurde jede Kavität des Mikronadelnegativs mit 490 Tropfen individuell befüllt. Anschließend wurden die gefüllten Kavitäten getrocknet. Dies erfolgte bei einer Temperatur von 30 °C und einem verminderten Druck von 300 mbar für 18 h. Anschließend wurde die zweite Schicht aufgebracht. Dazu wurden 100 µl der Formulierung DS 7 (Tabelle 24) auf das Mikronadelnegativ aufgetragen. Die Zentrifugation wurde durchgeführt wie zuvor beschrieben. Anschließend wurden weitere 200 µl von DS 7 für die DS aufgebracht und das MNS für weitere 5 h unter den gleichen Bedingungen getrocknet. Die Herstellung ist zusammenfassend in Abbildung 67 dargestellt.

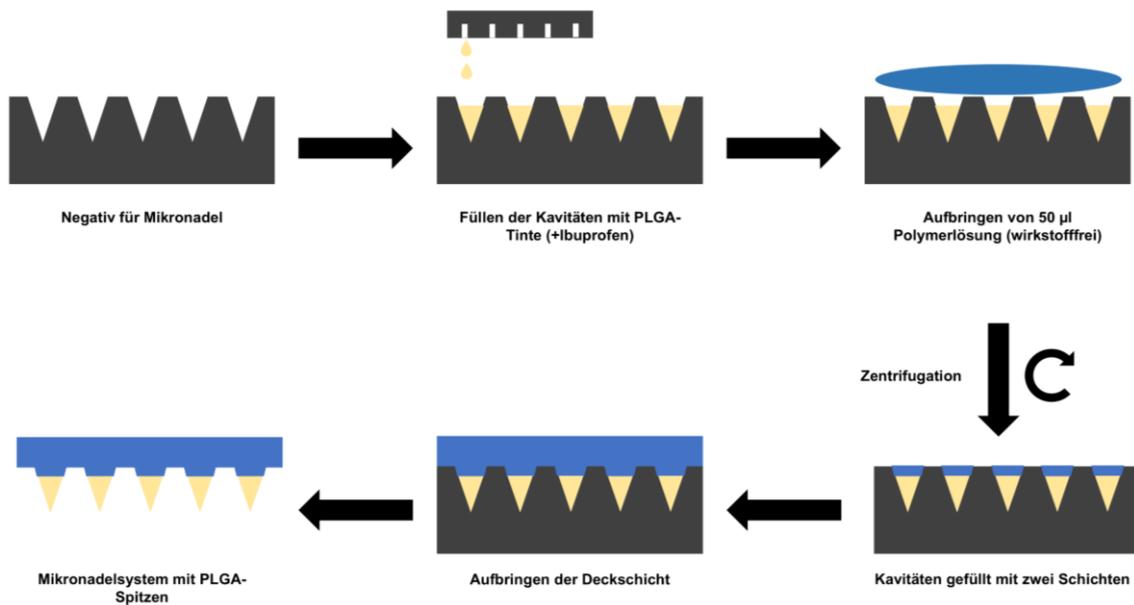


Abbildung 67: Herstellung von MNS mit AS-haltiger, bioabbaubarer Spitze und AS-freier DS

5.2.4. Herstellung von Filmformulierungen

Um die Permeation von MNS mit bioabbaubaren PLGA-Spitzen mit der Permeation ohne eine Perforation des SC zu vergleichen, wurden Filmformulierungen hergestellt. Dazu wurden 29 mg IBU in 10,0 ml DMF gelöst. Anschließend wurden 150 mg PLGA in 1,0 ml dieser Lösung gelöst. Dadurch konnte eine Formulierung mit der gleichen Zusammensetzung wie B8 hergestellt werden. 100 µl dieser Lösung wurden auf einen Liner aufgebracht, um Filme mit gleicher AS-Menge und Fläche wie die hergestellten MNS zu erhalten. Diese Filme wurden anschließend bei vermindertem Druck (300 mbar) und erhöhter Temperatur (30 °C) getrocknet.

5.3. Tintenstrahldruck

Sämtliche Versuche mit Tintenstrahldrucker wurden mit dem PixDro LP50 (Meyer Burger, Eindhoven, Niederlande) Desktop Tintenstrahldrucker durchgeführt (Abbildung 68). Dabei handelt es sich um einen sogenannten DOD-Tintenstrahldrucker, welcher mit Hilfe eines piezoelektrisch-gesteuerten Druckkopfes exakt einen Tropfen pro Bildpunkt abgeben kann. Als Druckkopf wurde in sämtlichen Versuchen der Druckkopf Spectra SL-128 AA (Fujifilm Dimatix, Santa Clara, USA) verwendet. Dieser weist einen Düsendurchmesser von 50 µm auf und verfügt über 128 Düsen. Bei sämtlichen Charakterisierungen und Herstellungsschritten wurde lediglich eine dieser Düsen verwendet.

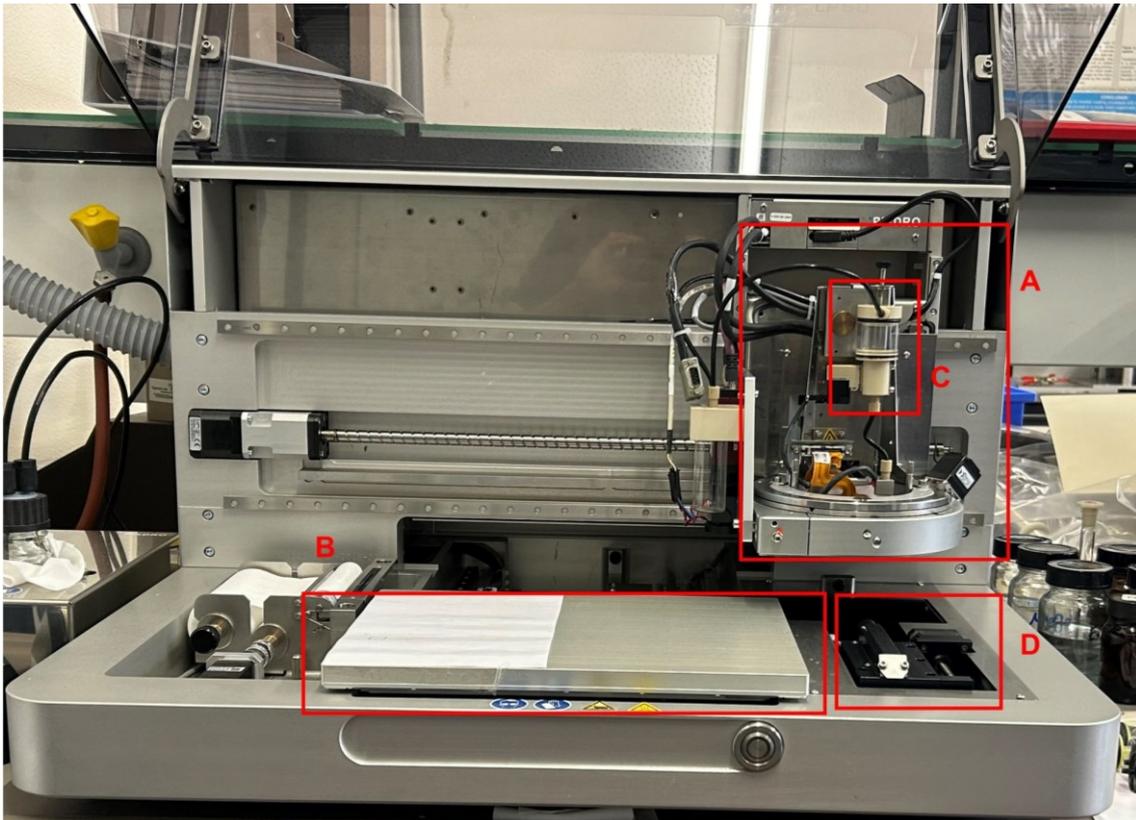


Abbildung 68: Übersicht über den verwendeten Tintenstrahldrucker PixDro LP50; A: Vorrichtung für den Druckkopf; B: Druckbett; C: Tintenreservoir; D: Kamera für die Tropfenanalyse

5.3.1. Bestimmung des Versatzes zwischen Kamera und Düse des Druckkopfes

Das Füllen der Kavitäten mittels TSD erfolgte manuell. Dazu wurden die x- und y-Koordinaten auf dem Druckbett verwendet. Über die Kamera des PixDro LP50 (Abbildung 68 D) konnten die Koordinaten der Kavitäten des Mikronadelnegativs, welches auf dem Druckbett befestigt war, ermittelt werden. Allerdings konnte mit diesen Koordinaten nicht das Füllen der Kavitäten erfolgen. Zwischen der Kamera des PixDro und der verwendeten Düse des Druckkopfes bestand ein Versatz (Abbildung 69), welcher zunächst experimentell ermittelt werden musste. Dazu wurde die TZ F3 (Tabelle 19) mit Methylenblau angefärbt. Anschließend wurde ein Blatt Papier als Substrat verwendet und auf das Druckbett gelegt. Auf dem Blatt Papier wurde eine beliebige Position angesteuert und die x- und y-Koordinaten dieser Position notiert. Anschließend wurden mit einer einzelnen Düse 1000 Tropfen gejetet. Die Position der Tropfen wurde mit Hilfe der Kamera des PixDro ermittelt und die x- und y-Koordinaten wurden erneut notiert. Anhand der jeweiligen Koordinatenpaare konnte im Anschluss der Versatz zwischen Düse und angesteuerter Position berechnet werden. Dies wurde für verschiedene Düsen durchgeführt. Jeder Versatz wurde zehnfach bestimmt und das arithmetische Mittel (\bar{x}) sowie die Standardabweichung (sd) berechnet.

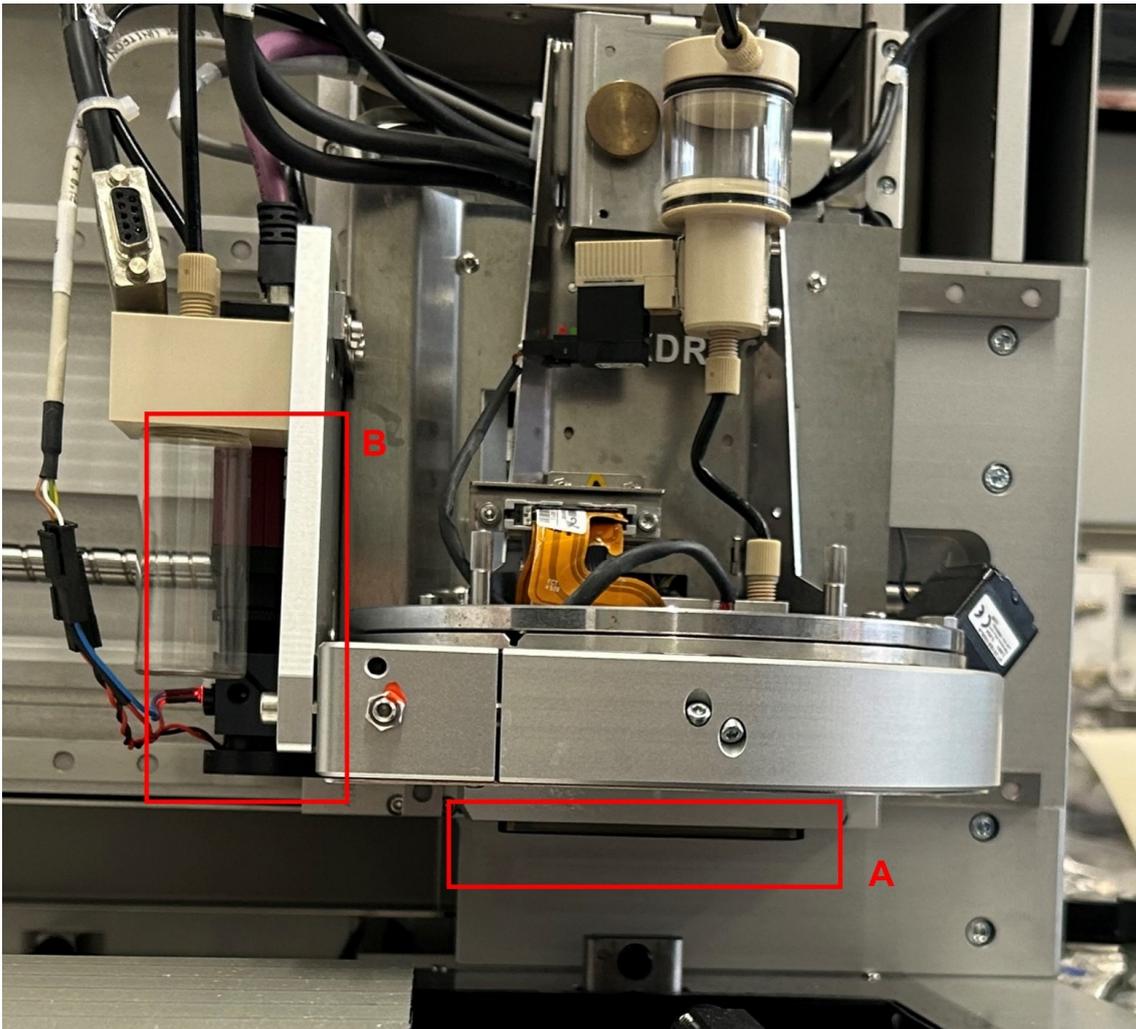


Abbildung 69: Teilaufnahme der Vorrichtung für den Druckkopf des PixDro LP50; A: Düsenplatte des Druckkopfes; B: Kamera für die Bestimmung der Position der Kavitäten

In Tabelle 26 ist der experimentell bestimmte Versatz von drei Düsen exemplarisch aufgezeigt.

Tabelle 26: Beispielhafte Versätze zwischen Kamera und Düse des PixDro LP50; $n=10$, $\bar{x} \pm sd$

Düse	Versatz x	Versatz y
14	$-77,364 \pm 0,089$	$-25,292 \pm 0,086$
51	$-96,046 \pm 0,069$	$-25,215 \pm 0,099$
99	$-120,583 \pm 0,059$	$-25,178 \pm 0,062$

Zur Herstellung von MNS wurde zunächst die Position einer Kavität per Kamera bestimmt. Anschließend konnte über den Versatz die Position bestimmt werden, welche für den Druckprozess zu verwenden war, damit die Kavität mittels TSD gefüllt wurde.

5.3.2. Druckmuster

Zur Personalisierung der mittels TSD hergestellten MNS wurden verschiedene Druckmuster angefertigt. Diese unterschieden sich in der Anzahl und der Anordnung der Mikronadeln.

Abbildung 70 A - D zeigt die Druckmuster der MNS, die mittels TSD hergestellt wurden.

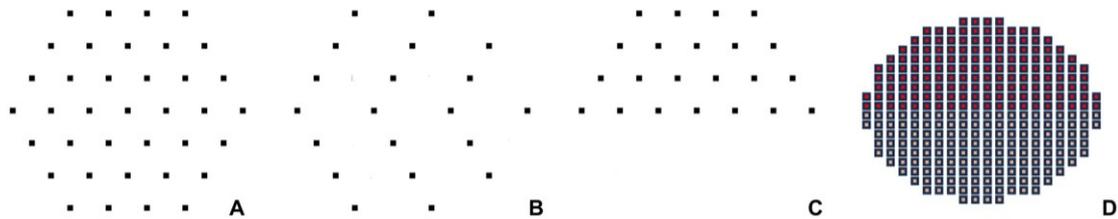


Abbildung 70: Druckmuster für personalisierte MNS, hergestellt mittels TSD; Matrize mit 37 Kavitäten (A-C) und Matrize mit 300 Kavitäten (D)

Matrizen mit 37 Kavitäten wurden für die Herstellung von drei personalisierten MNS verwendet. Dabei wurden unterschiedliche Druckmuster für die Befüllung der Kavitäten ausgewählt (Abbildung 70 A - C). Diese Druckmuster wurden für die Herstellung von wasserlöslichen MNS verwendet, bei welchen F3 (Tabelle 19) als Tinte diente und LIS als Modell-AS eingesetzt wurde. Druckmuster A entspricht einer vollständigen Befüllung sämtlicher Kavitäten der Matrize. Bei Druckmuster B wurden abwechselnd Kavitäten befüllt und ausgelassen und bei Druckmuster C wurde die obere Hälfte der 37 Kavitäten befüllt und die untere Hälfte ausgelassen. Dies entsprach dem Füllen von 20 (B) bzw. 22 (C) Kavitäten mit Hilfe des TSD. Des Weiteren ist in Abbildung 70 D das Druckmuster skizziert, welches für die Herstellung von MNS mit zwei räumlich voneinander getrennten Arzneistoffen / Polymeren verwendet wurde. Dabei wurde die obere Hälfte der Matrize mit der TZ F3 (mit LIS als Modell-AS) befüllt. Die untere Hälfte des Mikronadelnegatives wurde ausgelassen. Somit wurden insgesamt 150 der 300 Kavitäten befüllt. Außerdem wurde die selbe Matrize für die Herstellung von MNS mit bioabbaubaren PLGA-Spitzen verwendet. Dabei wurden alle 300 Kavitäten mit der TZ B8 (mit IBU als Modell-AS) befüllt.

5.3.3. Berechnung des Soll-Gehaltes

Die Berechnung des Soll-Gehaltes von MNS, welche mittels TSD hergestellt wurden, konnte nach Gleichung 6 berechnet werden.

Gleichung 6:
$$m(AS) = \frac{V_T \cdot n_T \cdot n_K \cdot c_{Tinte}}{10^6}$$

V_T ist dabei das Volumen eines einzelnen Tropfens in μl , welches mittels der Kamera des Tintenstrahldruckers (PixDro LP50, Meyer Burger, Niederlande) und der zugehörigen Software Advanced Drop Analysis (ADA, V2.4.2) bestimmt wurde (Kapitel 5.3.4.). n_T ist die Anzahl an Tropfen, welche pro Kavität gejetet wurden, n_K ist die Anzahl an Kavitäten, welche pro MNS per TSD gefüllt wurden und c_{Tinte} ist die Konzentration des jeweiligen AS, welche in der TZ

gelöst wurde in $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. $m(\text{AS})$ ist folglich die berechnete Soll-Masse eines einzelnen MNS in μg .

Tabelle 27 listet die AS-Soll-Gehalte der in dieser Arbeit hergestellten und charakterisierten MNS.

Tabelle 27: Berechnete Soll-Masse AS pro MNS, welches mittels TSD hergestellt wurde

Name MNS	AS	V_T pl	n_T	n_C	c_{Tinte} $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	$m(\text{AS})$ μg
Gedruckt, komplett		68	400	37	35,0	34,97
Gedruckt, abwechselnd		68	400	20	35,0	18,88
Gedruckt, obere Hälfte		68	400	22	35,0	20,77
Mehrschichtig, 150 Tropfen	LIS	60	150	37	35,0	11,66
Mehrschichtig, 250 Tropfen		60	250	37	35,0	19,43
Mehrschichtig, 450 Tropfen		60	450	37	35,0	34,97
Räumlich getrennt		70	360	150	35,0	132,30
PLGA	IBU	79	490	300	25,0	290,36

5.3.4. Tropfenanalyse

Die mittels TSD gedruckten Tropfen wurden in Echtzeit mit dem eingebauten Kamerasystem des PixDro LP50 analysiert. Dabei handelt es sich um eine Highspeed-Kamera, welche in sehr kurzen Zeitabständen Stroboskop-Lichtimpulse absenden kann. Dabei wird der Schatten des angeleuchteten Tropfen zur Analyse herangezogen. Es werden in bestimmten Zeitabständen Fotos des Tropfens bzw. dessen Schattens aufgenommen, sodass die Geschwindigkeit des Tropfens berechnet werden kann. Die Berechnung erfolgt mit Hilfe der integrierten Analyse-Software ADA (V2.4.2, Meyer Burger, Niederlande). Über die zeitliche Ausbreitung des Tropfen konnte des Weiteren der Winkel des Tropfens bestimmt werden, um welchen sich die Flugbahn während des Druckprozesses verändert.

Des Weiteren wurde die Software ADA verwendet, um das Volumen der gedruckten Tropfen zu bestimmen. Dazu unterteilt die Software den Tropfen in einzelne Zylinder mit einer Höhe von einem Pixel [239]. Durch die anschließende Bestimmung der Pixelanzahl konnte das Volumen des Tropfens berechnet werden (Abbildung 71).

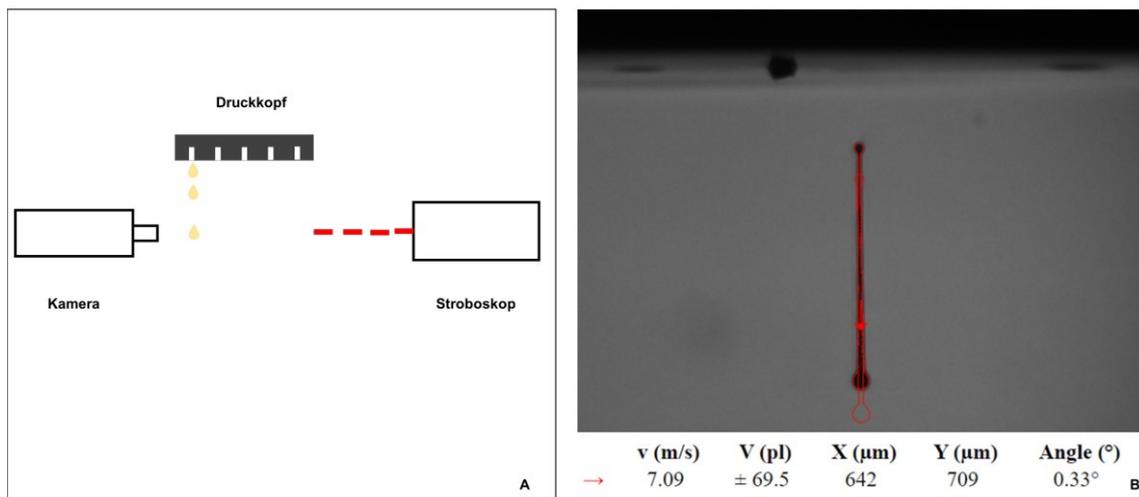


Abbildung 71: A: Prinzip der Tropfenanalyse; B: Beispielhafter Tropfen, in rot: Berechnete Ausbreitungsrichtung bestimmt mittels ADA

Die Tropfenanalyse wurde zur Charakterisierung der TZ F1 - 11 sowie B1 - 9 verwendet. Des Weiteren wurde das Tropfenvolumen vor jedem Herstellungsprozess von MNS mittels TSD bestimmt und über das Tropfenvolumen der Soll-Gehalt berechnet (Kapitel 5.3.3.). Das Tropfenvolumen wurde dabei neunfach bestimmt und das arithmetische Mittel (\bar{x}) und die Standardabweichung (sd) berechnet.

5.4. Analytische Methoden

5.4.1. Rheologische Untersuchungen

Die TZ F1 - 11 und B1 - 9 wurden hinsichtlich ihrer rheologischen Eigenschaften untersucht. Dabei wurde die η bestimmt. Das Fließverhalten von Tinten spielt während des Druckprozesses mittels TSD eine große Rolle und hat erheblichen Einfluss auf den Druckerfolg. Die Charakterisierung erfolgte mit dem Rotationsrheometer Kinexus Pro (Malvern Instruments, Worcestershire, UK). Das Rheometer wurde mit einer Kegel-Platte-Geometrie ausgestattet. Für die TZ F1 - 11 wurde ein Kegel mit einem Durchmesser von 60 mm und einem Winkel von 1° verwendet (CP 1/60 SR2482 SS). Für die TZ B1 - 9 wurde ein Kegel mit einem Durchmesser von 20 mm und einem Winkel von 1° verwendet (CP 1/20 SC004 SS). Für sämtliche TZ wurde die gleiche Platte verwendet (PL65 S0520 SS). Diese hatte einen Durchmesser von 65 mm. Das Probenvolumen betrug 1,0 ml für die TZ F1-11 und 50 μl für die TZ B1 - 9.

Die Temperatur wurde auf 30°C eingestellt und die Scherrate auf 1000 s^{-1} . Die Scherrate wurde über den gesamten Messzeitraum von 5 min konstant gehalten und alle 10 s wurde ein Messwert aufgezeichnet (insgesamt 30 Messwerte pro Messung). Sämtliche Messungen wurde dreifach durchgeführt und anschließend wurde das arithmetische Mittel (\bar{x}) und Standardabweichungen (sd) bestimmt.

5.4.2. Oberflächenspannung

Die σ der TZ F1 - 11 und B2, B5 und B8 wurde mit dem automatischen Tensiometer K100 (Krüss, Deutschland) bestimmt. Von den PLGA-haltigen TZ standen nur geringe Volumina zur Verfügung, weshalb ausschließlich die drei aussichtsreichsten Kandidaten hinsichtlich der σ charakterisiert wurden. Das Tensiometer wurde mit einer Wilhelmy-Platte ausgestattet und die Temperatur auf 30 °C eingestellt. Die Messungen wurden jeweils über einen Zeitraum von 60 s durchgeführt. Dabei wurde alle 6 s ein Messwert aufgezeichnet (insgesamt 10 Messwerte pro Messung). Sämtliche Messungen wurden als Dreifachbestimmung durchgeführt. Arithmetische Mittel (\bar{x}) und Standardabweichungen (sd) wurden berechnet.

5.4.3. Dichte

5.4.3.1. Tintenformulierungen für lösliche Mikronadelsysteme

Die ρ der TZ F1-11 wurden mit Hilfe eines Pyknometers (Brand, Wertheim, Deutschland) bestimmt. Das Pyknometer wurde im leeren Zustand gewogen und anschließend vollständig befüllt. Die befüllten Pyknometer wurden auf eine Temperatur von 30 °C erwärmt und im Anschluss im befüllten Zustand erneut gewogen. Über das Volumen des Pyknometers (52,319 cm³) wurde die ρ der TZ berechnet. Sämtliche Dichtebestimmungen wurden dreifach durchgeführt. Arithmetische Mittel (\bar{x}) und Standardabweichungen (sd) wurden berechnet.

5.4.3.2. Tintenformulierungen für bioabbaubare Mikronadelsysteme

Die ρ der TZ B1 - 9 wurde durch Auswiegen einer definierten Menge der TZ bestimmt. Die Verwendung des Pyknometers war nicht möglich, da von dem kostenintensiven Polymer PLGA nur geringe Mengen zur Verfügung standen. Zunächst wurden die TZ auf eine Temperatur von 30 °C erwärmt. Anschließend wurden jeweils 500 μ l der TZ mit Hilfe einer Hochpräzisions-Analysenwaage (Sartorius, Göttingen, Deutschland) gewogen. Aus dem Verhältnis von Masse und Volumen wurde die ρ berechnet. Sämtliche Dichtebestimmungen wurden dreifach durchgeführt und arithmetische Mittel (\bar{x}) sowie Standardabweichungen (sd) berechnet.

5.4.4. Mikroskopische Methoden

5.4.4.1. Lichtmikroskopische Aufnahmen

Die Visualisierung von MNS erfolgte hauptsächlich mit Hilfe von Lichtmikroskopie. Für diesen Zweck wurde das digitale Lichtmikroskop VHX 7000 (Keyence, Osaka, Japan) verwendet. Aufnahmen von vollständigen MNS wurden durch Schwenken der Digitalkamera um 60° bei einer 10 - 20fachen Vergrößerung durchgeführt. Die Aufnahmen von einzelnen Mikronadeln wurden bei einer 50fachen Vergrößerung aufgenommen. Das Ausmessen der Höhe von einzelnen Mikronadeln sowie der einzelnen Schichten der mehrschichtigen Mikronadeln erfolgte ebenfalls bei einer 50fachen Vergrößerung unter Zuhilfenahme der integrierten Software.

5.4.4.2. Konfokale Raman Mikroskopie und Raman-Oberflächenmessungen

Raman-mikroskopische Untersuchungen wurden mit einem konfokalen Raman-Mikroskop (alpha 300R, WITec, Ulm, Deutschland) durchgeführt. Dazu wurden die mehrschichtigen MNS mit einem Skalpell vorsichtig entlang der DS abgeschnitten und anschließend horizontal auf den Mikroskopiertisch gelegt. Hellfeld-Aufnahmen wurden angefertigt mit einem 10x / 0,25 Objektiv (EC Epiplan HD, Zeiss, Jena, Deutschland). Die Raman-Messungen wurden mit einem anderen Objektiv durchgeführt (Epiplan Neofluar Dic 50x / 0,8, Zeiss, Jena, Deutschland). Ein Einzelfaser-Laser wurde verwendet mit einer Wellenlänge von 532 nm. Die Probe wurde mit diesem Laser bestrahlt und angeregt. Das Raman-Mikroskop war mit einem Spektrometer (UHTS 300, WITec, Ulm, Deutschland) und einer auf -60 °C gekühlten Depletions-CCD-Kamera (iDus Deep, Andor Oxford Instruments, Abingdon, UK) ausgestattet. Es wurde ein Reflexionsgitter mit 600 Linien pro mm verwendet. Damit wurde eine durchschnittliche spektrale Auflösung von $3,8\text{ cm}^{-1}$ pro Pixel erreicht.

An den Mikronadeln wurden Einzelpunktmessungen an zufällig ausgewählten Positionen durchgeführt. Die Einzelpunktmessungen wurden an beiden Schichten der mehrschichtigen MNS durchgeführt. Die Belichtungszeit pro Spektrum wurde auf 20 s (10 x 2 s kumuliert) festgelegt und für jede Messung konstant gehalten. Die Laserleistung wurde auf 20 mW eingestellt. Die Verarbeitung der Raman-Spektren, einschließlich Grundlinienkorrektur und Normalisierung, erfolgte mit der Software WITec FIVE (V.5.3.18.110, WITec, Ulm, Deutschland).

Mehrschichtige Mikronadeln, bei welchen die Nadelspitze aus PVP (hergestellt mittels TSD aus TZ F3) und die DS aus PVP oder EC bestand wurden mit Hilfe der KRM charakterisiert. Es wurde der Gehalt an LIS in der PVP-haltigen Nadelspitze sowie der DS bestimmt. Dies erfolgte anhand des LIS-Signals bei einer Wellenzahl von 1603 cm^{-1} . Das Signal wurde auf das Polymersignal bei einer Wellenzahl von 2927 cm^{-1} normiert.

Außerdem wurden Raman-Oberflächenmessungen von mehrschichtigen MNS durchgeführt. Dazu wurde das gleiche Raman-Mikroskop verwendet, welches auch für die Einzelpunktmessungen zur Quantifizierung von LIS in den MNS verwendet wurde. Dieses war ausgestattet mit einem EC Epiplan-Neofluar Objektiv (Zeiss, Jena, Deutschland). Die eingestellte Vergrößerung betrug 20x und der eingesezte Anregungswellenlänge des Lasers wurde auf 532 nm eingestellt. Das Raman-Oberflächenbild, welches von mehrschichtigen MNS aus Povidon und EC in EtAc untersucht wurde, war $300 \times 150\text{ }\mu\text{m}$ groß. Die Ortsauflösung wurde auf $2\text{ }\mu\text{m}$ eingestellt und die Laserleistung auf 20 mW. Das Raman-Oberflächenbild, welches in Kapitel 3.3.3.1. dargestellt wurde, wurde mit einer Ortsauflösung von $1\text{ }\mu\text{m}$ aufgenommen. Die Größe des untersuchten Bereiches der Oberfläche der Mikronadel betrug $120 \times 20\text{ }\mu\text{m}$. Sämtliche anderen Einstellungen wurden beibehalten.

5.4.4.2.1. Kalibrierung

Die Raman-Messungen um die Messmethode zu kalibrieren wurden unter Verwendung der gleichen Einstellungen und Geräte wie in Kapitel 5.4.4.2. beschrieben durchgeführt. Es wurden Konzentrationen zwischen 10,0 - 35,0 mg/ml in äquidistanten Schritten von LIS in der TZ F3 gelöst. Anschließend wurden diese 6 Polymerlösungen auf einen Objektträger aufgetragen und die Polymerlösungen wurden getrocknet. Die getrockneten Polymerlösungen wurden mittels KRM vermessen. Es wurden 6 Einzelpunktmessungen durchgeführt pro Polymerlösung. Die Spektren und das resultierende Ergebnis der Kalibrierung sind der Abbildung 72 zu entnehmen.

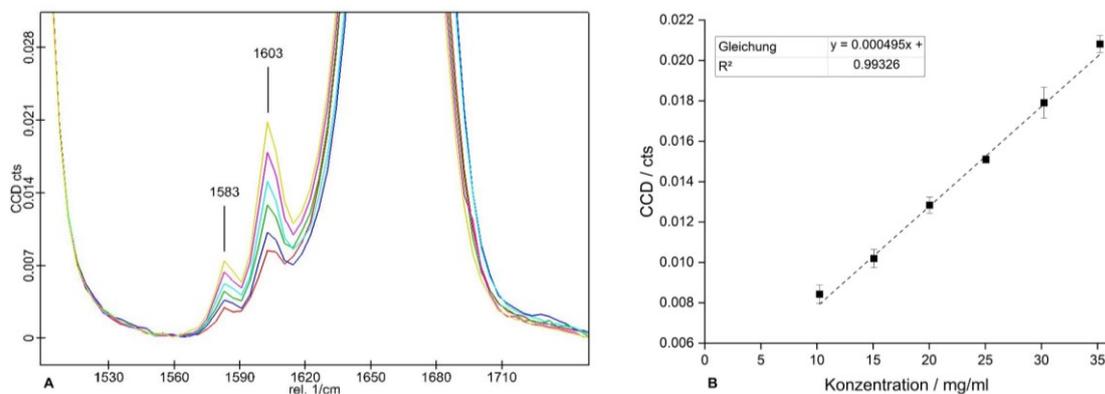


Abbildung 72: Ergebnisse der Kalibrierung der KRM zur Quantifizierung von LIS in TZ F3; A: Ausschnitt der Spektren der 6 Verdünnungslösungen; B: Kalibriergerade ($\bar{x} \pm sd$, n=6)

Es ergab sich ein eindeutig linearer Zusammenhang zwischen dem Signal von LIS und der Konzentration in F3 (R^2 von 0,99326). Es war demnach möglich LIS im Konzentrationsbereich von 10,0 - 35,0 mg/ml zu quantifizieren, ohne einen negativen Einfluss der TZ auf die Signaldetektion zu beobachten.

5.4.4.3. Visualisierung des Druckerfolges

Zur Überprüfung des erfolgreichen Füllens der Kavitäten des Mikronadelnegatives wurde die integrierte Kamera des PixDro LP50 (Meyer Burger, Eindhoven, Niederlande) verwendet. Diese ist neben dem Druckkopf angebracht (Abbildung 69). Mittels der Steuerung über x- und y-Koordinaten wurde die Kamera an die Positionen der Kavitäten gesteuert. Es konnte eindeutig erkannt werden, ob die Kavitäten erfolgreich mittels TSD gefüllt wurden. Es wurden Bilder vor und nach dem Füllen der Kavitäten aufgenommen.

5.4.5. Trocknung von Mikronadelsystemen

5.4.5.1. Anzahl gut ausgebildeter Nadeln als Qualitätsmerkmal

Im Rahmen der Untersuchung geeigneter Trocknungsparameter wurde die Anzahl gut ausgebildeter Mikronadeln als Qualitätsmerkmal verwendet. Dabei wurde definiert, dass die Anzahl an gut ausgebildeten Mikronadeln pro MNS möglichst groß sein sollte. Als gut wurde definiert, dass die Mikronadeln intakt sind, d.h. keine Bruchstellen aufwiesen. Des Weiteren

durften die Mikronadeln nicht mehr feucht sein. Auch Schrumpfen der Nadeln wurde als Qualitätsmangel definiert. Abbildung 73 sind beispielhaft gut und schlecht ausgebildete Mikronadeln zu entnehmen.

Lediglich spitze Mikronadeln, welche keinerlei Schrumpfen aufwiesen und auf einer kohärenten DS befestigt waren, wurden als gut ausgebildete Mikronadeln bezeichnet. Sämtliche Versuche zur Bestimmung der Anzahl gut ausgebildeter Mikronadeln wurden als Sechsfachbestimmung durchgeführt. Als Negativ für die Mikronadelherstellung wurde eine Matrize mit 37 Kavitäten verwendet. Jede Kavität hatte eine pyramidale Form mit einer quadratischen Grundfläche von $300 \times 300 \mu\text{m}$. Die Höhe der Mikronadeln betrug $900 \mu\text{m}$. Der Abstand zwischen den Mikronadeln betrug 2 mm in horizontaler Richtung und $1,7 \text{ mm}$ in vertikaler Richtung.

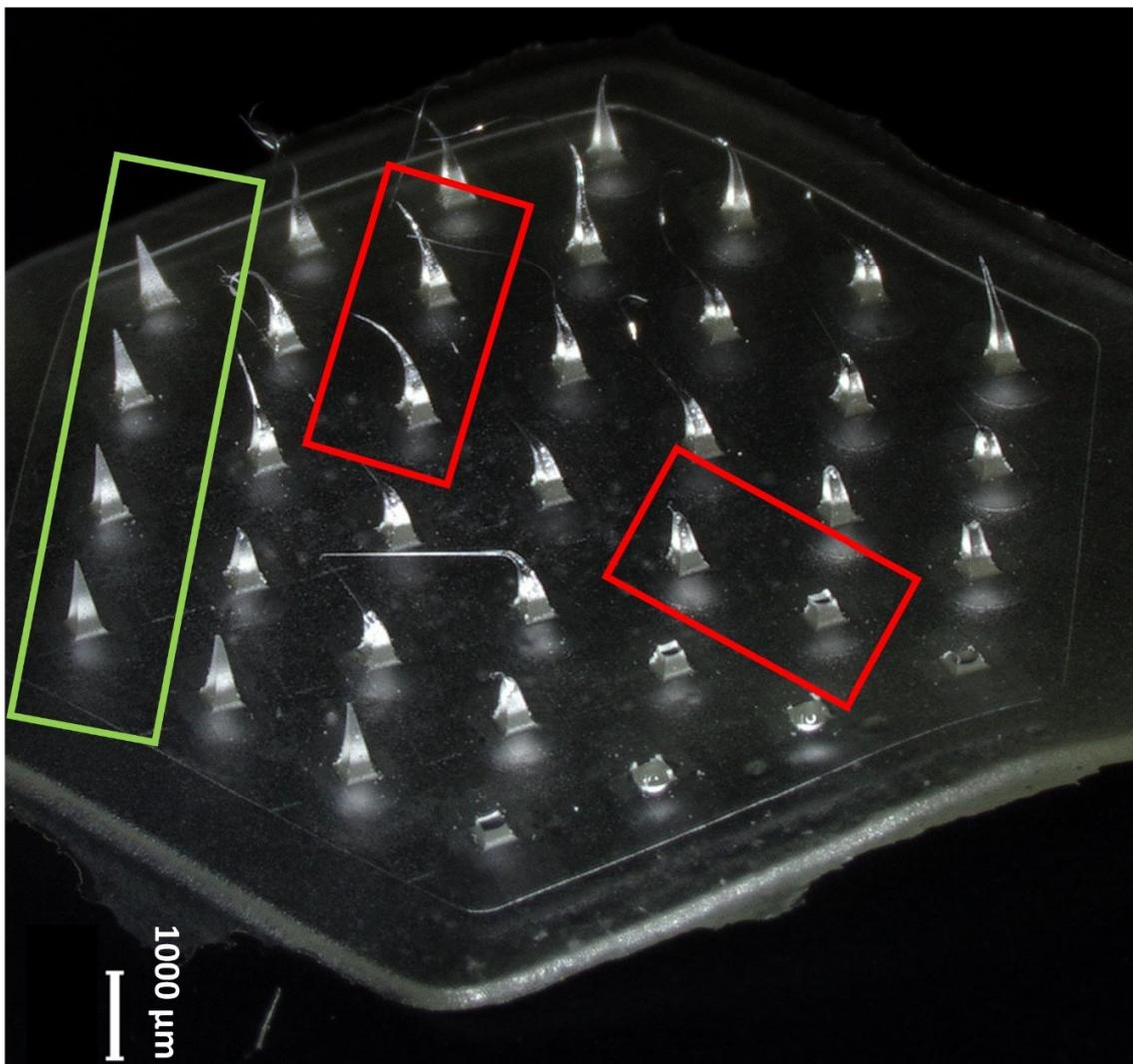


Abbildung 73: Beispielhaftes defektes MNS; grün: gut ausgebildete Mikronadeln, rot: verformte beziehungsweise unvollständig ausgebildete Mikronadeln

5.4.5.2. Variation des Wassergehaltes in der Deckschicht

Zunächst wurden verschiedene Formulierungen für die DS untersucht (DS 1-6, Tabelle 24). Diese Polymerzubereitungen unterschieden sich lediglich in ihrem Wasser- (30,0 - 75,5 %) und EtOH-Gehalt (0 - 45,5 %). Die Trocknung wurde in einem Exsikkator bei Raumtemperatur, welcher mit frisch aktiviertem Silicagel gefüllt war, durchgeführt. Die MNS wurden mittels der Zentrifugationsmethode, wie in Kapitel 5.2.3.1 beschrieben, hergestellt. Die gefüllten Kavitäten wurden konstant für 60 min getrocknet, ehe die DS aufgebracht wurde. Anschließend wurden als DS die Polymerlösungen DS 1-6 aufgebracht und die MNS wurden für weitere 30 h unter den gleichen Bedingungen getrocknet. Die Anzahl an gut ausgebildeten Mikronadeln (Kapitel 5.4.5.1.) wurde als Zielgröße für eine geeignete Trocknungszeit und DS-Formulierung verwendet. Sämtliche MNS wurden dreifach vermessen. Arithmetische Mittel (\bar{x}) und Standardabweichungen (sd) wurden berechnet. Die DS-Formulierung, bei welcher die meisten vollständig ausgebildeten Mikronadeln nach der Trocknung charakterisiert wurden, wurde für die weitere Untersuchung (Kapitel 5.4.5.3.) verwendet.

5.4.5.3. Variation der Trocknungszeit der Mikronadeln

Als weiterer Einflussfaktor auf die Trocknung der MNS wurde die Trocknungszeit der gefüllten Kavitäten untersucht. Dieser Trocknungsschritt erfolgte vor dem Aufbringen der DS. Als Polymerlösung für die DS diente DS 1 (Tabelle 24). Die Trocknungszeit der gefüllten Kavitäten wurde zwischen 15, 30, 60 und 120 min variiert. Anschließend wurde die DS aufgetragen und für weitere 30 h getrocknet. Die Trocknung fand dabei unter kontrollierten Bedingungen (Exsikkator gefüllt mit frisch aktiviertem Silicagel bei Raumtemperatur) statt. Die Anzahl an gut ausgebildeten Mikronadeln (spitze Nadeln, an DS zusammenhängend) wurde als Maß für die Güte der Trocknung verwendet (Kapitel 5.4.5.1.). Die Anzahl an gut ausgebildeten Mikronadeln wurde für jede Trocknungszeit der Kavitäten dreifach bestimmt. Arithmetische Mittel (\bar{x}) und Standardabweichungen wurden berechnet.

5.4.6. Quantifizierung von Arzneistoffen

5.4.6.1. Lisinopril

Die Quantifizierung von LIS (als Dihydrat) erfolgte mittels Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC). Dazu wurde das analytische HPLC-System Agilent 1260 infinity (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) verwendet. Dieses bestand aus einer binären Pumpe (G1312B), einem Autosampler (G1329B), einem temperierten Säulenofen (G1316A), einem Entgaser (G4225A) und einem Diodenarray-Detektor (DAD, G4212B). Es wurde eine C18-modifizierte Umkehrphase als stationäre Phase verwendet (Eurospheer II 100-5 C18A, Knauer, Berlin, Deutschland). Diese Säule war 150 mm lang und hatte einen Durchmesser von 4,6 mm. Die Packung des Säulenmaterials betrug 5 μm . Es wurden 20 μl Probe injiziert. Die Temperatur wurde auf 40 °C eingestellt und die Detektion von LIS erfolgte bei einer

Wellenlänge von 210 nm. Es wurde eine isokratische Methode verwendet. Als mobile Phase dienten Phosphatpuffer (0,8 g/l Natriumdihydrogenphosphat, eingestellt auf einen pH-Wert von 3,5 mit Phosphorsäure 85 %) und ACN im Verhältnis 80:20. Die Fließrate wurde auf 1,0 ml/min eingestellt. LIS zeigte bei der Verwendung dieser Methode eine Retentionszeit von 2,68 min.

Die Gehaltsbestimmung von LIS in MNS wurde durchgeführt, indem die vollständigen MNS in 10,0 ml Wasser gelöst wurden. Daher wurde als Zielkonzentration 3,5 µg/ml LIS (Tabelle 27) gewählt.

Die Methode wurde hinsichtlich Identität, Richtigkeit, Linearität, Präzision und dem Wiederfinden von LIS in der TZ teilvalidiert. Die Bestimmungen wurden jeweils als Dreifachbestimmung durchgeführt.

Die Identität von LIS wurde bestimmt, indem die Retentionszeit mit der Retentionszeit der chemischen Referenz-Substanz (CRS) von LIS (ebenfalls als Dihydrat) verglichen wurde. Dazu wurden jeweils 50 mg LIS und der CRS in Wasser gelöst und anschließend auf eine Konzentration von 10,0 µg/ml verdünnt. Die Retentionszeiten von der CRS und des AS betragen 2,68 min. Damit konnte die Identität bestätigt werden.

Die Genauigkeit der Methode wurde bestimmt, indem der AS mit der CRS verglichen wurde. Es wurden Lösungen von LIS in Wasser hergestellt, welche 80 %, 100 % und 120 % der Zielkonzentration aufwiesen (2,8 µg/ml, 3,5 µg/ml und 4,2 µg/ml). Anschließend wurde die Fläche unter der Kurve (AUC) der CRS und der AS-Lösung verwendet, um die Konzentration an LIS zu berechnen. Die arithmetischen Mittel betragen 100,10 % (2,8 µg/ml), 100,23 % (3,5 µg/ml) und 99,57 % (4,2 µg/ml) der Zielkonzentration. Die relative Standardabweichung betrug 0,49 - 0,79 %.

Des Weiteren wurde der Einfluss der TZ auf die Quantifizierung von LIS bestimmt. Dazu wurde LIS in der TZ F3 gelöst. Die Konzentration betrug 35,0 mg/ml. Anschließend wurde die TZ verdünnt, dass die Proben 80 %, 100 % und 120 % der Zielkonzentration aufwiesen (2,8 µg/ml, 3,5 µg/ml und 4,2 µg/ml). Es wurden im Mittel 100,16 % (2,8 µg/ml), 99,28 % (3,5 µg/ml) und 99,34 % (4,2 µg/ml) der Zielkonzentration wiedergefunden. Die relative Standardabweichung lag zwischen 0,18-0,65 %. Damit konnte gezeigt werden, dass die Formulierungsmatrix keinen nennenswerten Einfluss auf die Form und die Fläche des Peaks von LIS hatte.

Die Linearität wurde bestimmt, indem eine Verdünnungsreihe an sieben Tagen über einen Zeitraum von sechs Monaten frisch hergestellt und vermessen wurde. Es wurden acht äquidistante Verdünnungen angefertigt und vermessen. Die Konzentrationen lagen im Bereich von 1,00 - 11,50 µg/ml (Abbildung 74). Das Bestimmtheitsmaß lag an allen sieben Tagen

zwischen 0,9991 - 0,9999 und damit über dem geforderten Wert von 0,999. Die Steigung der Kalibriergerade wurde als Maß für die Sensitivität der Methode verwendet und lag zwischen 34,98 und 35,56. Die relative Standardabweichung betrug dabei 0,88 %.

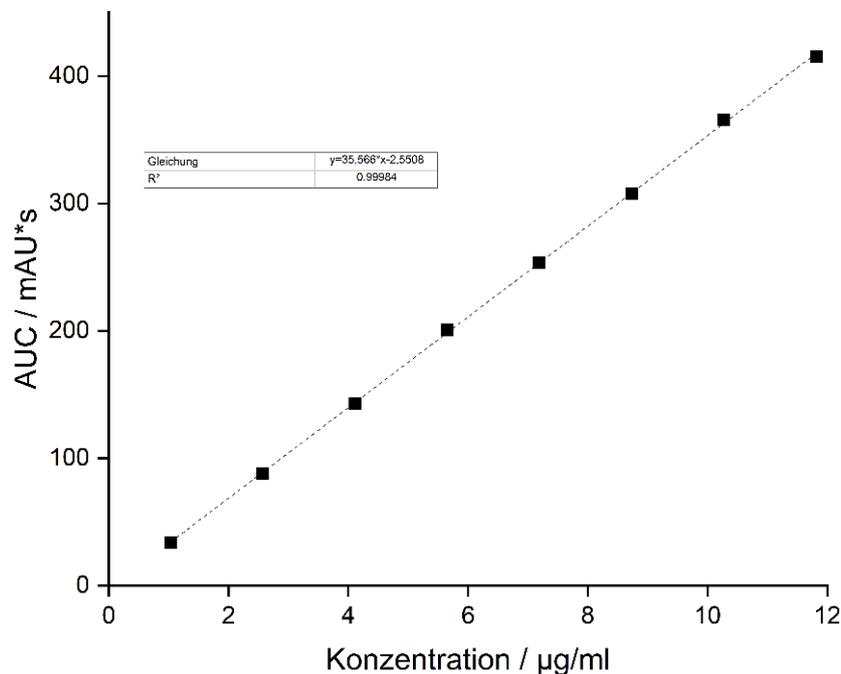


Abbildung 74: Beispielhafte Kalibriergerade von LIS in Wasser unter Verwendung der zuvor beschriebenen isokratischen Elution; Detektion bei einer Wellenlänge von 210 nm; Stationäre Phase: Eurospher II 100-5 C18A, Knauer

Die intermediäre Präzision und die Injektionswiederholbarkeit wurden untersucht. Für die intermediäre Präzision wurden Proben mit einer Konzentration von 3,5 µg/ml angefertigt. Es wurden sechs Proben an einem Tag hergestellt (*intra-day precision*) und vermessen und ebenso fünf Proben an verschiedenen Tagen (*inter-day precision*). Die Untersuchungen hinsichtlich der intermediären Präzision wurden ebenfalls als Dreifachbestimmung durchgeführt. Die relative Standardabweichung betrug zwischen 0,05 und 0,44 % und lag damit unter 1 %. Die Injektionswiederholbarkeit wurde untersucht, indem eine Lösung mit der gleichen Konzentration (3,5 µg/ml) zehnmal in Folge injiziert und vermessen wurde. Die relative Standardabweichung betrug 0,15 %.

Diese Methode wurde für die Gehaltsbestimmungen LIS-haltiger MNS sowie die Quantifizierung von LIS bei Freisetzungsuntersuchungen verwendet. Die Proben der Freisetzungsuntersuchungen wurden unverdünnt mit der oben beschriebenen Methode vermessen.

5.4.6.2. Ibuprofen

Die Quantifizierung von IBU erfolgte mittels HPLC. Dazu wurde das in Kapitel 5.4.6.1. beschriebene HPLC-System (Agilent 1260 Infinity, Agilent Technologies, Santa Clara, USA) verwendet.

Als stationäre Phase wurde eine C18-modifizierte Umkehrphase verwendet (Europher II 100-5 C18A, Knauer, Berlin, Deutschland). Diese wies eine Länge von 150 mm, einen Durchmesser von 4,6 mm und eine Packungsdichte von 5 µm auf. Als mobile Phase wurde ein Gemisch aus Natriumdihydrogenphosphat-Puffer (0,8 g/l, eingestellt auf einen pH-Wert von 3,0 mit Phosphorsäure 85 %) und ACN im Verhältnis 35:65 verwendet. Die Elution wurde isokratisch bei einer Flussrate von 1,0 ml/min und einer Temperatur von 40 °C durchgeführt. Es wurden jeweils 20 µl Probenlösung injiziert. Die Detektion von IBU erfolgte bei einer Wellenlänge von 210 nm. Die Retentionszeit von IBU betrug 3,8 min.

Die Methode wurde hinsichtlich Linearität teilvalidiert. Dazu wurde die IBU in ACN gelöst, um die Stammlösung zu generieren. Anschließend wurden fünf Verdünnungen in äquidistanten Verdünnungsschritten zwischen 5 - 45 µg/ml angefertigt und vermessen (Abbildung 75).

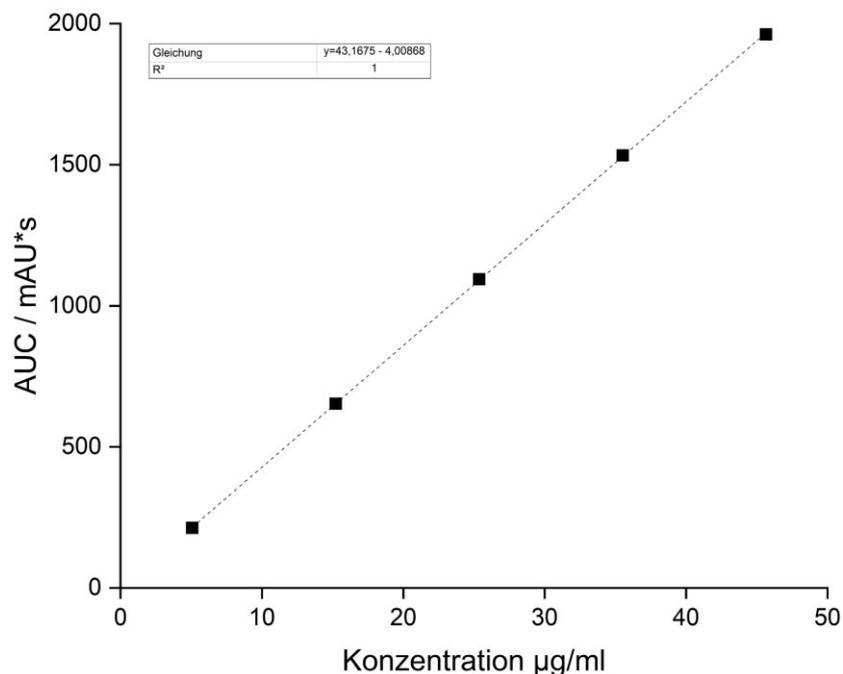


Abbildung 75: Beispielhafte Kalibriergerade von IBU in ACN unter Verwendung der zuvor beschriebenen isokratischen Elution; Detektion bei einer Wellenlänge von 210 nm; Stationäre Phase: Europher II 100-5 C18A, Knauer

Diese Methode wurde verwendet, um die Proben von Freisetzungs- und Permeationsuntersuchungen zu vermessen. Die Proben wurden unverdünnt vermessen und anschließend wurde der Gehalt an IBU anhand der AUC berechnet.

5.4.6.3. Lisinopril und Ibuprofen

Proben, welche sowohl LIS, als auch IBU enthielten, wurden mittels HPLC-Analytik unter Nutzung einer Gradienten-Elution quantifiziert. Für diesen Zweck wurde die in Kapitel 5.4.6.1. beschriebene HPLC (Agilent Infinity 1260, Agilent Technologies, Santa Clara, USA) verwendet. 20 µl der Proben wurde injiziert und bei einer Wellenlänge von 210 nm detektiert. Als mobile Phase A wurde Phosphatpuffer (0,8 g/l Natriumdihydrogenphosphat, eingestellt auf einen pH-

Wert von 3,5 mit Phosphorsäure 85 %) verwendet. Als mobile Phase B diente ACN. Die Flussrate wurde mit 1,0 ml/min konstant gehalten. Die Temperatur wurde auf 40 °C eingestellt. Die Gradienten-Elution kann Tabelle 28 entnommen werden.

Tabelle 28: HPLC Gradienten-Methode für die Trennung und Quantifizierung von LIS und IBU

Zeit min	A: Phosphatpuffer %	B: ACN %
0,0 – 1,5	85	15
1,5 – 2,5	85 → 30	15 → 70
2,5 – 8,0	30	70
8,0 – 9,0	30 → 85	70 → 15
9,0 – 12,0	85	15

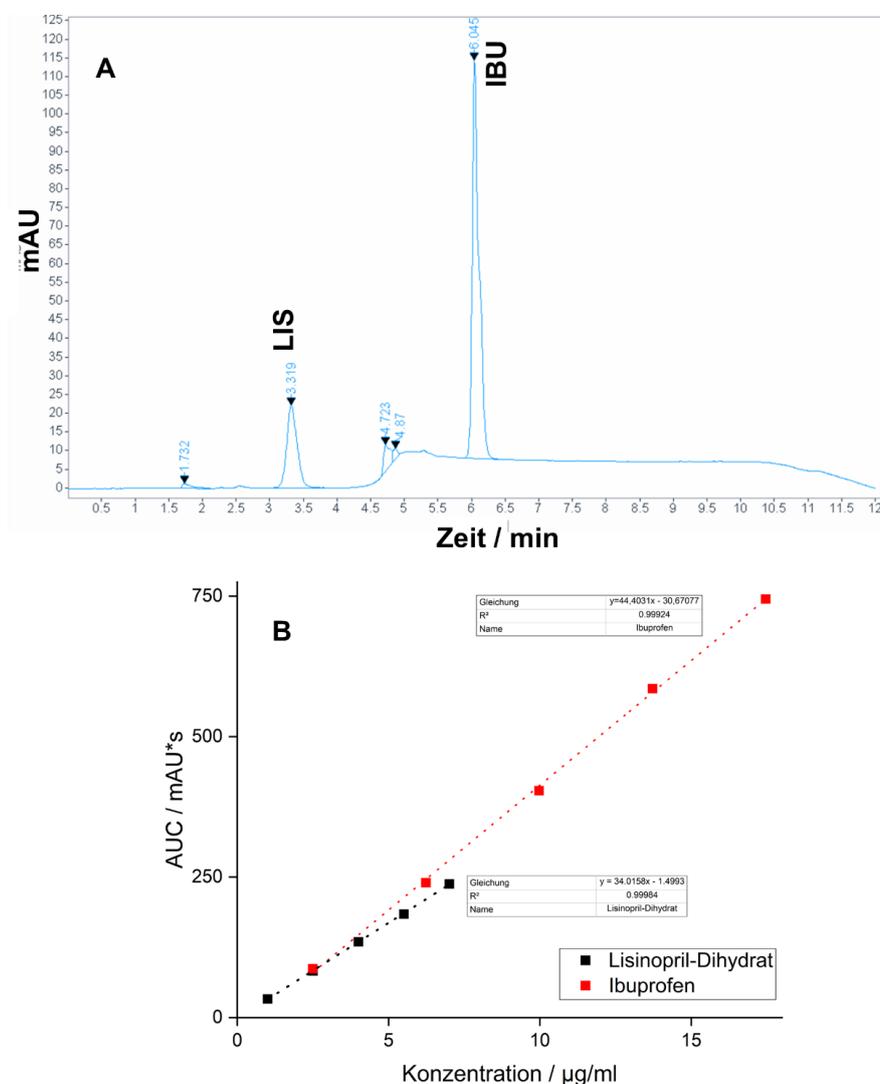


Abbildung 76: A: Beispielchromatogramm mit LIS und IBU generiert mit der zuvor beschriebenen Gradientenelution; Detektion bei einer Wellenlänge von 210 nm; Stationäre Phase: Eurospher II 100-5 C18A, Knauer; B: Beispielhafte Kalibriergerade von LIS und IBU

Die Retentionszeit von LIS betrug 3,3 min und von IBU 6,0 min (Abbildung 76 A). Eine erfolgreiche Separation der beiden Arzneistoffe war folglich möglich unter Zuhilfenahme der beschriebenen Methode. Die Methode wurde hinsichtlich der Linearität teilvalidiert. Dazu wurde IBU in ACN gelöst und LIS in demineralisiertem Wasser. Anschließend wurde eine Kalibrierreihe angefertigt. Dazu wurden beide Stammlösungen in einem Messkolben vereinigt und entsprechend verdünnt. Es wurden Verdünnungen zwischen 1,0 - 7,0 µg/ml (LIS) und 2,5 - 17,5 µg/ml (IBU) angefertigt. Eine beispielhafte Kalibrierreihe beider AS ist Abbildung 76 B zu entnehmen.

5.4.7. Löslichkeitsuntersuchungen

Die Sättigungslöslichkeit von LIS in der TZ F3 wurde untersucht. Es sollte die Sättigungslöslichkeit bei einer Temperatur von 30 °C bestimmt werden. Dazu wurden jeweils 2100 - 2200 mg LIS eingewogen und anschließend in 20,0 ml der TZ F3 suspendiert. Die Lösung war jederzeit übersättigt und ein deutlicher Bodensatz erkennbar. Die Proben wurden für 48 h bei 30 °C auf einer Magnetrührplatte gerührt (600 Upm). Anschließend wurden die Proben mit einem Polytetrafluorethylen-Filter mit einer Porengröße von 0,45 µm (CHROMAFIL® Xtra, Machery Nagel, Düren, Deutschland) filtriert. Die ersten 2,0 ml Filtrat wurden jeweils verworfen. Anschließend wurden die Proben mittels HPLC vermessen (Kapitel 5.4.6.1.) und über die AUC des LIS-Peaks die Sättigungskonzentration von LIS in F3 bestimmt.

Die Sättigungslöslichkeit wurde dreifach bestimmt. Arithmetische Mittel (\bar{x}) und Standardabweichungen (sd) wurden berechnet. Die Sättigungslöslichkeit von LIS in F3 betrug bei 30 °C $40,84 \pm 0,84$ mg/ml. Daher wurden für die Herstellung von löslichen MNS 1750,0 mg LIS in 50,0 ml TZ F3 gelöst. Die resultierende Konzentration betrug somit 35,0 mg/ml.

5.4.8. Mechanische Stabilität von Mikronadelsystemen

Die mechanische Stabilität von MNS wurde mit Hilfe einer in der Literatur beschriebenen Methode untersucht [133]. Zunächst wurde die Höhe der Mikronadeln mittels des Digitalmikroskopes VHX 7000 (Keyence, Osaka, Japan; Kapitel 5.4.4.1.) bestimmt. Anschließend wurden die MNS mit den Mikronadeln nach unten gerichtet mit Hilfe von doppelseitigem Klebeband an der zylindrischen Sonde eines TA.XT Plus Texture Analysers (Stable Micro Systems, Godalming, UK) befestigt. Die Sonde wurde mit einer Geschwindigkeit von 1,0 mm/s nach unten bewegt ($v_{(pre)}$). Die Nadeln wurden gegen den Aluminiumblock des Texture Analysers gedrückt, sobald die Auslösekraft von 0,049 N erreicht wurde. Die Kompression der Mikronadeln erfolgte für 30 s mit einer Kraft von 32 N und einer Testgeschwindigkeit von 0,5 mm/s. Anschließend wurde die Sonde mit einer Geschwindigkeit von 1,0 mm/s ($v_{(post)}$) nach oben zurück in die Ausgangsposition gefahren. Das MNS wurde vorsichtig von der Sonde gelöst und die Nadelhöhe wurde nach der Kompression erneut

mikroskopisch vermessen. Als Maß für die mechanische Stabilität der Mikronadeln wurde die relative HR berechnet (Gleichung 7).

Gleichung 7:
$$HR (\%) = \frac{h_v - h_n}{h_v} * 100$$

h_v ist die Höhe der Mikronadel vor der Kompression und h_n ist die Höhe der Mikronadel im Anschluss an die Kompression.

Die Testmethode ist in Abbildung 77 zusammenfassend skizziert.

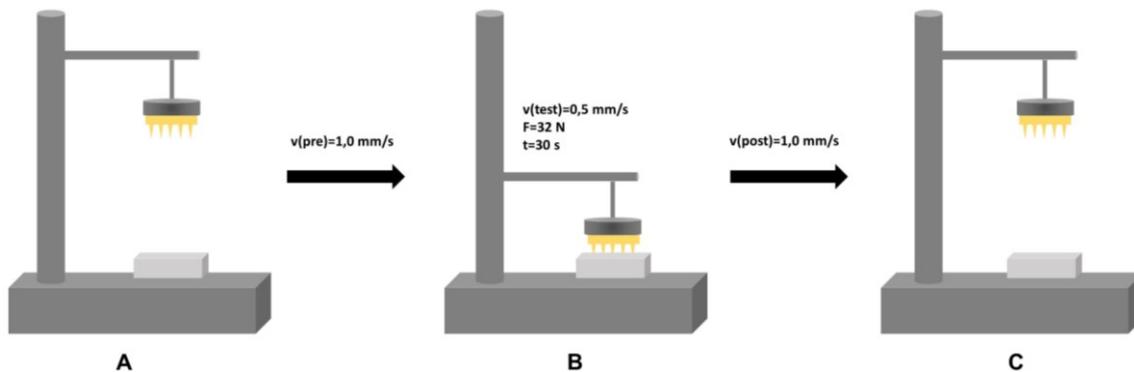


Abbildung 77: Ablauf Texture Analyser; A: Sonde fährt in Startposition; B: Kompression der Mikronadeln gegen Aluminiumblock mit einer Geschwindigkeit von 0,5 mm/s, eine Kraft von 32 N wird für 30 s gehalten; C: Sonde fährt in Ausgangsposition

Die relative HR der MNS wurde für jedes MNS repräsentativ an sechs einzelnen Mikronadeln bestimmt. Arithmetische Mittel (\bar{x}) und Standardabweichungen (sd) wurden berechnet.

5.4.9. Penetration von Mikronadelsystemen in ein künstliches Hautmodell

In der Literatur wurde beschrieben, dass acht Schichten Parafilm® M (Bemis, Neenah, Wisconsin, USA) ein geeignetes Modell für Haut darstellen aufgrund vergleichbarer mechanischer Eigenschaften [133]. Dabei wurde Schweinehaut mit den acht Schichten Parafilm® M verglichen und die künstliche Membran unterschied sich dabei nicht signifikant hinsichtlich der mechanischen Eigenschaften von der Schweinehaut. Erste Charakterisierungen hinsichtlich des Insertionsverhaltens wurden daher zunächst mit acht Schichten Parafilm® M durchgeführt.

Die Testmethode wurde ebenfalls mittels des in Kapitel 5.4.8. beschriebenen Texture Analysers (TA.XT Plus, Stable Micro Systems, Godalming, UK) unter Nutzung des identischen Aufbaus durchgeführt. Die MNS wurden an der beweglichen, zylindrischen Sonde des Texture Analysers mit Hilfe von doppelseitigem Klebeband angebracht. Dabei zeigten die Mikronadeln nach unten (Abbildung 77). Anschließend wurde die Sonde nach unten bewegt und die Mikronadeln wurden gegen / in acht Schichten aus Parafilm® M gedrückt. Die Kompressionskraft wurde mit 32 N über den kompletten Testzeitraum von 30 s konstant gehalten. Nach Ablauf der Testdauer wurde die bewegliche Sonde erneut in die

Ausgangsposition gefahren und das MNS vorsichtig entfernt. Anschließend wurden mit Hilfe des Digitalmikroskopes VHX 7000 (Keyence, Osaka, Japan) bei einer zehnfachen Vergrößerung Aufnahmen der einzelnen Schichten Parafilm® M gemacht. Die Löcher, welche von den Mikronadeln in jeder Schicht Parafilm® M kreiert wurden, wurden gezählt. Da jede Schicht Parafilm® M eine Dicke von 127 µm aufweist, konnte dadurch auf die Eindringtiefe in das künstliche Hautmodell geschlossen werden.

Jede Messung wurde mit drei MNS durchgeführt. Arithmetische Mittel (\bar{x}) und Standardabweichungen (sd) wurden berechnet.

5.4.10. Präparation von Humanhaut

Humanhaut für Insertions- und Permeationsversuche von MNS wurden von Männern und Frauen aus Schönheitschirurgischen Eingriffen in verschiedenen Kliniken von dafür ausgebildeten Fachpersonal gewonnen und anschließend der Firma Labtec by AdhexPharma (Langenfeld, Deutschland) zur Verfügung gestellt. Die Haut wurde bei -80 °C eingefroren und gelagert. Die Haut wurde direkt vor dem Dermatomisieren aufgetaut. Anschließend wurde die Humanhaut mit Hilfe eines Dermatoms (Integra Padgett® Dermatomer Model S, Integra LifeSciences, Ratingen, Deutschland) auf eine einheitliche Dicke von 800-850 µm geschnitten, um zu gewährleisten, dass sie im Rahmen der Permeationsuntersuchungen nicht vollständig von den MNS durchstochen wird. Im Anschluss wurden die Hautproben erneut eingefroren und bei einer Temperatur von -80 °C gelagert.

Die Hautproben wurden unmittelbar vor Start der Permeations- und Insertionsuntersuchungen aufgetaut. Es wurde visuell überprüft, ob das SC intakt war. Nachdem die Haut vollständig aufgetaut war, wurde diese mithilfe einer Lochstanze in Proben mit einem Durchmesser von 22 mm gestanzt.

5.4.11. Insertion von Mikronadelsystemen in Humanhaut

Die Humanhaut wurde vorbereitet wie in Kapitel 5.4.10. beschrieben. Die Hautproben mit einem Durchmesser von 22 mm wurden sorgfältig mit PBS (eingestellt auf einen pH-Wert von 7,4) gespült. Danach wurde das MNS mit Hilfe von Daumenkraft für 30 s in die Hautprobe eingedrückt. Im Anschluss wurde das MNS vorsichtig entfernt. Die mit dem MNS behandelte Haut wurde mit einer wässrigen Methylenblau-Lösung (1 % w/w) gespült. Nach einer Einwirkzeit von 1 min wurde die Methylenblau-Lösung mit EtOH 96 % gründlich abgewaschen. Die Mikroporen in der Haut wurden mit Hilfe des Digitalmikroskopes VHX 7000 (Keyence, Osaka, Japan) untersucht. Im Vergleich zur umliegenden, intakten Haut waren die Mikroperforationen an der intensiveren Blaufärbung zu erkennen.

5.4.12. Arzneistofffreisetzung aus Mikronadelsystemen

Das Freisetzungsverhalten aus MNS wurde mit Hilfe selbstkonstruierter Halterungen charakterisiert. Dazu wurden die MNS mit Cyanoacrylat-Kleber an den Halterungen befestigt. Sobald der Kleber getrocknet war, wurde die Halterung in ein Gefäß einbracht (20 ml Fassungsvermögen), welches mit 10,0 ml PBS (eingestellt auf einen pH-Wert von 7,4, vorgewärmt auf 37 °C) als FreisetzungsmEDIUM gefüllt wurde. Dabei wurde auf ein vollständiges Eintauchen der MNS (inklusive DS) in das FreisetzungsmEDIUM geachtet.

Die Freisetzungsuntersuchungen wurden in einem Klimaschrank (Binder, Deutschland) bei einer konstant eingestellten Temperatur von 37 °C durchgeführt. Die Proben wurden mit einer Magnetrührplatte bei einer Geschwindigkeit von 200 Upm durchmischt. Zu festgelegten Zeitpunkten wurden Proben entnommen. 1,0 ml Probe wurde zu jedem Zeitpunkt entnommen und das entnommene Volumen direkt mit frischem, auf 37 °C vorgewärmten PBS (eingestellt auf einen pH-Wert von 7,4) ersetzt.

Die Proben wurden im Anschluss unverdünnt mittels HPLC-Analytik (Kapitel 5.4.6.) analysiert.

5.4.13. Berechnung der mittleren Auflösungszeit

Anhand der generierten Daten aus den Freisetzungsuntersuchungen der Arzneistoffe aus den Mikronadeln konnte ebenfalls die mittlere Auflösungszeit (*mean dissolution time*, MDT) berechnet werden. Die Berechnung der MDT erfolgte dabei anhand von Gleichung 8.

Gleichung 8:
$$MDT = \frac{ABC}{c_{\infty}}$$

Dabei ist c_{∞} die Grenzkonzentration nach vollständigem Auflösen des AS. ABC (*area between the curves*) ist die Fläche zwischen der Auflösungskurve und der zugehörigen Asymptote. ABC wird wie in Gleichung 9 beschrieben berechnet.

Gleichung 9:
$$ABC = \sum_{i=1}^n (c_{n+1} - c_n) * (t_{n+1} - t_n) * \frac{1}{2}$$

c_n ist die Konzentration des AS, welche zu dem Zeitpunkt t_n gelöst in dem verwendeten FreisetzungsmEDIUM vorliegt.

5.4.14. Auflösen von mehrschichtigen Mikronadelsystemen mittels Agarose-Gel

Zur Überprüfung, ob die Mikronadelspitze der mehrschichtigen MNS aus wasserlöslichem Povidon besteht, wurden Agarose-Gele angefertigt. 2,0 g Agarose wurden in 100,0 g demineralisiertem Wasser dispergiert. Unter Rühren wurde die Dispersion zum Sieden erwärmt, bis sich die Agarose vollständig gelöst hatte. Anschließend wurden Verdunstungsverluste ergänzt. Die Agarose-Lösung wurde im warmen Zustand in runde Formen mit einer Dicke von 10 mm und einem Durchmesser von 20 mm ausgegossen. Nach dem Abkühlen wurden die Gele vorsichtig aus der Form entnommen. Die MNS wurden in die

Agarose eingestochen und nach festgelegten Zeiten aus den Agarose-Gelen entfernt. Die einzelnen Mikronadeln wurden mit Hilfe des Digitalmikroskopes VHX 7000 (Keyence, Osaka, Japan) visualisiert und analysiert.

5.4.15. Permeation durch Humanhaut mittels Franz-Diffusionszellen

Für die Permeationsuntersuchungen durch Humanhaut wurde die in Kapitel 5.4.10. beschriebene, präparierte Humanhaut verwendet. Die auf einen Durchmesser von 22 mm gestanzten Hautproben wurden visuell auf die Unversehrtheit des SC und der Epidermis überprüft. Es wurden Franz-Diffusionszellen verwendet, um die Permeation von Arzneistoffen zu untersuchen. Die Franz-Diffusionszellen wiesen ein Volumen von 11,5 ml im Akzeptorkompartiment auf. Als Akzeptormedium wurde PBS (eingestellt auf einen pH-Wert von 7,4) verwendet. Die Permeation von AS wurde sowohl von Filmen, welche nicht das SC durchstachen, als auch von MNS untersucht.

Die MNS wurden mit der Kraft eines Daumens für 30 s in die Humanhaut gedrückt. Anschließend wurden die runden Hautproben mit Cyanoacrylat-Kleber auf der runden Öffnung (Durchmesser 16 mm) der Franz-Diffusionszelle angebracht. Ein Edeltstahlgewicht (25,0 g) wurde auf dem MNS platziert, um dieses in Position zu halten. Anschließend wurde die Franz-Diffusionszelle vollständig mit Parafilm® M (Bemis, Neenah, Wisconsin, USA) umwickelt, um eine Verdunstung des Akzeptormediums zu minimieren. Der Aufbau für die Untersuchung des Permeationsverhaltens ist schematisch in Abbildung 78 dargestellt. Das Permeationsverhalten wurde bei einer Temperatur von 37 °C in einem Klimaschrank untersucht. Die Probennahme erfolgte mit einer Spritze mit Kanüle über den seitlichen Anschluss. 1,0 ml Probe wurde jeweils zu definierten Zeitpunkten entnommen und das entnommene Probenvolumen direkt mit frischem, auf 37 °C vorgewärmten PBS (pH-Wert von 7,4) ersetzt. Im Anschluss wurden die Proben mittels HPLC-Analytik (Kapitel 5.4.6.) analysiert und der AS quantifiziert.

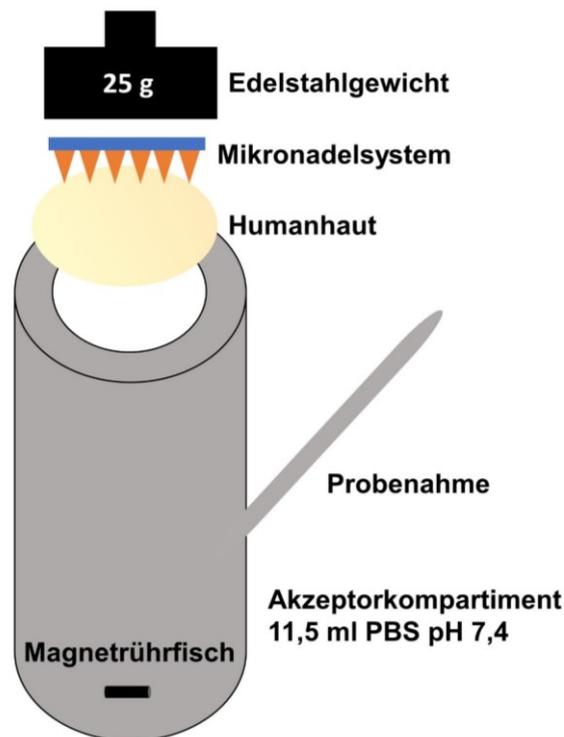


Abbildung 78: Übersicht Franz-Diffusionszelle zur Bestimmung der AS-Permeation von MNS

Die Permeation mittels MNS wurde jeweils sechsfach bestimmt. Die Permeation mittels dünner Filmformulierungen wurde als Dreifachbestimmung untersucht. Es wurden jeweils arithmetische Mittel (\bar{x}) und Standardabweichungen (sd) berechnet.

5.4.16. Restlösemittel ($^1\text{H-NMR}$)

Der Gehalt an Restlösemittel in den MNS wurde mittels $^1\text{H-NMR}$ bestimmt. Es wurde der Gehalt an DMF in den PLGA-Spitzen von bioabbaubaren MNS bestimmt. Die MNS wurden in 2,0 ml deuteriertem DMSO gelöst. Es wurden $^1\text{H-NMR}$ -Spektren mit einem 300 MHz Spektrometer aufgenommen (Bruker Avance III – 300, Bruker, Billerica, USA). Den Proben wurde DCM als interner Standard zugesetzt (1 $\mu\text{g/ml}$). Der Gehalt an DMF in den Proben wurde anhand dessen C-H-Signals bei einer chemischen Verschiebung von 7,95 ppm relativ zu DCM berechnet. Das DMSO- d_6 -Signal bei 2,50 ppm wurde als interne Referenz der chemischen Verschiebung verwendet. Die Daten wurden im Anschluss an die Messung mit Hilfe der MestReNova Software (v.14.1.2, Mestrelab Research S.L., Santiago de Compostella, Spanien) ausgewertet.

6. Anhang

Tabelle 29: Gemessene Werte für Tropfengeschwindigkeit und -volumen und berechneter Tropfenimpuls in Abhängigkeit von der Haltezeit am Druckkopf; TZ F3, f=500 Hz; $\bar{x} \pm sd$, n=9

Haltezeit / μ s	Geschwindigkeit / m/s	Volumen / pl	DM / pN*s
0	1,39 \pm 0,04	19,82 \pm 0,64	32,73 \pm 1,33
1,0	2,47 \pm 0,02	26,38 \pm 0,35	77,33 \pm 1,16
1,5	3,32 \pm 0,04	27,63 \pm 0,61	109,08 \pm 1,76
2,0	3,31 \pm 0,01	36,49 \pm 0,46	143,63 \pm 1,73
2,5	2,74 \pm 0,28	40,53 \pm 0,92	131,80 \pm 11,67
3,0	3,10 \pm 0,12	46,94 \pm 0,60	172,82 \pm 6,76
3,5	2,84 \pm 0,10	49,97 \pm 0,24	168,51 \pm 6,08
4,0	3,84 \pm 0,14	53,64 \pm 0,46	244,76 \pm 10,23
4,5	3,65 \pm 0,06	55,94 \pm 0,57	424,29 \pm 4,64
5,0	7,63 \pm 0,26	71,61 \pm 1,37	649,33 \pm 33,21
5,5	7,48 \pm 0,17	63,32 \pm 0,70	562,49 \pm 15,80
6,0	8,56 \pm 0,74	66,48 \pm 1,18	675,29 \pm 54,33
6,5	7,23 \pm 0,22	68,11 \pm 0,76	584,63 \pm 17,82
7,0	9,79 \pm 0,20	68,81 \pm 0,54	800,46 \pm 19,77
7,5	7,36 \pm 0,18	71,77 \pm 0,32	627,68 \pm 14,61
8,0	8,87 \pm 0,23	74,89 \pm 0,4	789,55 \pm 21,93
8,5	7,08 \pm 0,45	69,69 \pm 0,29	586,39 \pm 38,64
9,0	7,56 \pm 0,55	73,79 \pm 0,98	662,72 \pm 53,16
9,5	8,57 \pm 0,43	71,41 \pm 0,90	727,57 \pm 43,47
10,0	7,66 \pm 0,07	73,41 \pm 0,52	668,23 \pm 32,02
10,5	7,47 \pm 0,16	76,19 \pm 0,89	676,48 \pm 19,04
11,0	7,13 \pm 0,11	71,31 \pm 0,49	603,79 \pm 12,29
11,5	7,03 \pm 0,21	72,39 \pm 0,60	604,42 \pm 20,73
12,0	6,60 \pm 0,37	68,74 \pm 2,14	538,44 \pm 24,07
12,5	7,02 \pm 0,31	72,82 \pm 0,54	607,13 \pm 27,27
13,0	6,27 \pm 0,13	69,02 \pm 0,41	514,14 \pm 12,03
13,5	5,01 \pm 0,18	69,36 \pm 2,71	412,49 \pm 3,40
14,0	4,66 \pm 1,72	64,58 \pm 17,10	332,38 \pm 156,68
14,5	4,35 \pm 0,08	69,24 \pm 0,68	357,91 \pm 6,01
15,0	4,57 \pm 0,02	76,69 \pm 2,23	416,47 \pm 12,49
15,5	3,71 \pm 0,22	67,88 \pm 0,86	299,24 \pm 21,05
16,0	4,23 \pm 0,02	73,72 \pm 2,09	370,47 \pm 10,62
16,5	3,08 \pm 0,01	66,48 \pm 0,41	243,42 \pm 1,48

Haltezeit / μs	Geschwindigkeit / m/s	Volumen / pl	DM / pN*s
17,0	$3,75 \pm 0,03$	$72,07 \pm 0,39$	$321,43 \pm 2,45$
17,5	$2,54 \pm 0,23$	$60,54 \pm 4,97$	$182,34 \pm 20,01$
18,0	$3,16 \pm 0,02$	$65,96 \pm 0,42$	$247,86 \pm 1,80$
18,5	$2,56 \pm 0,01$	$59,39 \pm 0,61$	$180,47 \pm 2,44$
19,0	$2,45 \pm 0,02$	$60,91 \pm 0,38$	$177,45 \pm 1,93$
19,5	$1,81 \pm 0,01$	$53,76 \pm 0,49$	$115,45 \pm 0,94$
20,0	$1,58 \pm 0,01$	$53,77 \pm 0,64$	$100,85 \pm 1,27$

Tabelle 30: Gemessene Werte für Tropfengeschwindigkeit und -volumen und berechneter Tropfenimpuls in Abhängigkeit von der Haltezeit am Druckkopf; TZ B8, f=100 Hz; $\bar{x} \pm \text{sd}$, n=9

Haltezeit / μs	Geschwindigkeit / m/s	Volumen / pl	DM / pN*s
3,0	$0,82 \pm 0,02$	$35,34 \pm 0,41$	$28,16 \pm 0,92$
3,5	$1,46 \pm 0,02$	$35,56 \pm 0,38$	$50,34 \pm 0,52$
4,0	$2,23 \pm 0,05$	$37,49 \pm 1,02$	$75,63 \pm 28,47$
4,5	$3,99 \pm 0,07$	$37,20 \pm 0,32$	$144,40 \pm 2,04$
5,0	$3,58 \pm 0,10$	$44,43 \pm 0,41$	$154,81 \pm 4,03$
5,5	$3,38 \pm 0,11$	$41,01 \pm 0,43$	$134,80 \pm 3,34$
6,0	$3,82 \pm 0,22$	$42,39 \pm 0,43$	$157,64 \pm 9,11$
6,5	$3,63 \pm 0,27$	$42,58 \pm 0,61$	$150,27 \pm 10,42$
7,0	$4,18 \pm 0,22$	$40,38 \pm 1,71$	$164,30 \pm 10,50$
7,5	$3,87 \pm 0,38$	$46,72 \pm 0,36$	$175,71 \pm 17,08$
8,0	$3,96 \pm 0,61$	$46,47 \pm 0,86$	$178,74 \pm 26,63$
8,5	$4,31 \pm 0,20$	$47,52 \pm 0,63$	$199,01 \pm 9,48$
9,0	$3,44 \pm 0,16$	$49,23 \pm 0,48$	$164,49 \pm 6,75$
9,5	$4,21 \pm 0,16$	$47,84 \pm 0,60$	$195,89 \pm 7,26$
10,0	$4,36 \pm 0,19$	$47,63 \pm 0,65$	$202,07 \pm 7,47$
10,5	$3,54 \pm 0,09$	$49,28 \pm 1,22$	$169,49 \pm 5,16$
11,0	$3,77 \pm 0,16$	$47,32 \pm 0,75$	$173,34 \pm 6,94$
11,5	$3,95 \pm 0,18$	$47,37 \pm 0,74$	$181,95 \pm 6,40$
12,0	$4,02 \pm 0,26$	$48,33 \pm 0,67$	$189,06 \pm 10,06$
12,5	$4,03 \pm 0,20$	$49,30 \pm 0,60$	$193,19 \pm 8,48$
13,0	$4,31 \pm 0,14$	$51,20 \pm 0,56$	$214,84 \pm 6,81$
13,5	$4,04 \pm 0,27$	$53,30 \pm 0,81$	$209,34 \pm 15,08$
14,0	$3,26 \pm 0,10$	$55,59 \pm 1,15$	$176,36 \pm 7,23$
14,5	$3,60 \pm 0,15$	$59,30 \pm 0,49$	$207,40 \pm 9,19$
15,0	$3,44 \pm 0,08$	$58,49 \pm 0,66$	$195,71 \pm 5,37$

Haltezeit / μs	Geschwindigkeit / m/s	Volumen / pl	DM / pN*s
15,5	3,34 \pm 0,16	58,88 \pm 0,89	191,03 \pm 9,71
16,0	3,31 \pm 0,58	54,82 \pm 3,28	178,38 \pm 41,22
16,5	2,52 \pm 0,04	54,69 \pm 0,63	134,29 \pm 2,60
17,0	2,20 \pm 0,05	58,51 \pm 0,65	125,03 \pm 3,93
17,5	1,85 \pm 0,04	59,98 \pm 0,67	107,67 \pm 2,75
18,0	1,42 \pm 0,04	55,79 \pm 0,50	76,93 \pm 2,29
18,5	1,29 \pm 0,03	57,76 \pm 1,29	72,42 \pm 2,96
19,0	1,06 \pm 0,01	57,43 \pm 0,57	59,40 \pm 0,75
19,5	0,83 \pm 0,02	58,01 \pm 0,31	46,83 \pm 1,36
20,0	0,60 \pm 0,04	57,77 \pm 0,58	33,96 \pm 1,96

Tabelle 31: Gemessene Werte für Tropfengeschwindigkeit und -volumen und berechneter Tropfenimpuls in Abhängigkeit von der Haltezeit am Druckkopf; TZ B8, f=250 Hz; $\bar{x} \pm \text{sd}$, n=9

Haltezeit / μs	Geschwindigkeit / m/s	Volumen / pl	DM / pN*s
3,0	0,86 \pm 0,02	37,78 \pm 0,36	31,64 \pm 0,58
3,5	1,55 \pm 0,02	40,63 \pm 0,46	61,39 \pm 0,95
4,0	2,14 \pm 0,02	46,42 \pm 0,20	96,43 \pm 0,93
4,5	3,90 \pm 0,13	51,32 \pm 0,32	194,85 \pm 6,38
5,0	3,89 \pm 0,13	55,51 \pm 0,44	210,14 \pm 6,87
5,5	4,29 \pm 0,11	58,38 \pm 0,38	243,64 \pm 5,70
6,0	4,32 \pm 0,20	61,38 \pm 0,85	257,89 \pm 13,46
6,5	4,57 \pm 0,19	63,66 \pm 0,40	282,66 \pm 11,46
7,0	4,40 \pm 0,18	65,92 \pm 0,94	282,26 \pm 13,47
7,5	4,31 \pm 0,37	67,83 \pm 1,00	284,44 \pm 22,78
8,0	4,20 \pm 0,29	69,56 \pm 0,66	283,88 \pm 17,92
8,5	4,26 \pm 0,40	70,84 \pm 0,88	293,29 \pm 24,30
9,0	4,27 \pm 0,28	72,89 \pm 0,90	302,58 \pm 20,63
9,5	4,52 \pm 0,53	73,24 \pm 0,70	321,89 \pm 37,06
10,0	4,81 \pm 0,69	75,46 \pm 0,93	353,46 \pm 55,78
10,5	4,94 \pm 0,73	74,81 \pm 1,49	359,72 \pm 54,09
11,0	4,51 \pm 0,59	75,81 \pm 1,64	332,39 \pm 42,34
11,5	4,49 \pm 0,46	75,49 \pm 1,08	329,83 \pm 32,99
12,0	4,44 \pm 0,18	76,39 \pm 1,15	329,84 \pm 16,42
12,5	4,49 \pm 0,12	76,88 \pm 1,18	336,01 \pm 7,61
13,0	4,24 \pm 0,26	76,20 \pm 1,29	314,45 \pm 23,06
13,5	3,98 \pm 0,16	76,38 \pm 0,67	295,71 \pm 13,37

Haltezeit / μs	Geschwindigkeit / m/s	Volumen / pl	DM / pN*s
14,0	4,06 \pm 0,35	75,68 \pm 0,56	298,52 \pm 24,41
14,5	3,74 \pm 0,34	76,04 \pm 0,51	276,74 \pm 25,67
15,0	3,20 \pm 0,10	74,94 \pm 0,91	233,30 \pm 9,04
15,5	2,58 \pm 0,06	72,73 \pm 1,09	182,46 \pm 5,46
16,0	2,34 \pm 0,03	72,20 \pm 0,35	164,10 \pm 2,41
16,5	2,21 \pm 0,03	70,40 \pm 0,92	151,10 \pm 2,41
17,0	2,17 \pm 0,01	70,86 \pm 0,33	149,40 \pm 0,92
17,5	1,97 \pm 0,02	68,86 \pm 0,40	131,64 \pm 1,65
18,0	1,62 \pm 0,02	66,59 \pm 0,26	104,71 \pm 1,35
18,5	1,34 \pm 0,03	63,80 \pm 0,51	83,08 \pm 1,88
19,0	1,29 \pm 0,02	63,77 \pm 0,31	80,29 \pm 1,52
19,5	0,90 \pm 0,01	60,07 \pm 0,50	52,51 \pm 0,46
20,0	0,68 \pm 0,02	58,90 \pm 0,43	38,96 \pm 0,96

Tabelle 32: Gemessene Werte für Tropfengeschwindigkeit und -volumen und berechneter Tropfenimpuls in Abhängigkeit von der Haltezeit am Druckkopf; TZ B8, f=500 Hz; $\bar{x} \pm \text{sd}$, n=9

Haltezeit / μs	Geschwindigkeit / m/s	Volumen / pl	DM / pN*s
3,0	0,69 \pm 0,07	33,62 \pm 0,25	22,45 \pm 2,17
3,5	1,83 \pm 0,02	42,01 \pm 0,25	74,87 \pm 1,00
4,0	3,29 \pm 0,13	48,79 \pm 0,33	156,18 \pm 6,31
4,5	3,59 \pm 0,11	54,68 \pm 0,37	190,98 \pm 5,49
5,0	4,00 \pm 0,34	56,62 \pm 0,59	220,18 \pm 18,79
5,5	4,39 \pm 0,26	63,53 \pm 0,48	271,30 \pm 14,85
6,0	4,45 \pm 0,18	67,86 \pm 0,23	293,40 \pm 11,25
6,5	4,98 \pm 0,23	70,76 \pm 0,38	342,52 \pm 16,35
7,0	5,01 \pm 0,29	73,04 \pm 0,35	355,61 \pm 19,92
7,5	5,14 \pm 0,25	76,11 \pm 0,73	380,60 \pm 16,81
8,0	5,30 \pm 0,25	77,82 \pm 0,45	401,40 \pm 18,33
8,5	5,40 \pm 0,27	79,59 \pm 0,66	417,74 \pm 18,21
9,0	5,01 \pm 0,06	80,73 \pm 0,37	393,33 \pm 4,97
9,5	4,81 \pm 0,13	81,89 \pm 0,37	383,00 \pm 21,81
10,0	4,88 \pm 0,57	82,38 \pm 0,70	391,28 \pm 43,09
10,5	5,25 \pm 0,10	81,27 \pm 0,56	414,62 \pm 7,46
11,0	4,46 \pm 0,04	83,68 \pm 0,49	363,10 \pm 3,96
11,5	4,57 \pm 0,16	82,88 \pm 0,47	368,55 \pm 12,22
12,0	3,83 \pm 0,16	82,78 \pm 0,47	308,51 \pm 12,05

Haltezeit / μs	Geschwindigkeit / m/s	Volumen / pl	DM / pN*s
12,5	4,12 \pm 0,17	83,87 \pm 0,61	336,40 \pm 12,65
13,0	4,21 \pm 0,07	82,22 \pm 0,44	337,05 \pm 5,52
13,5	4,08 \pm 0,17	82,39 \pm 0,24	327,05 \pm 13,57
14,0	3,81 \pm 0,15	82,16 \pm 1,35	304,75 \pm 15,72
14,5	4,09 \pm 0,03	78,38 \pm 0,29	312,14 \pm 2,04
15,0	4,22 \pm 0,05	78,16 \pm 0,51	321,14 \pm 4,38
15,5	3,82 \pm 0,05	77,94 \pm 0,27	289,86 \pm 3,41
16,0	3,01 \pm 0,03	77,52 \pm 0,36	226,63 \pm 2,61
16,5	2,70 \pm 0,02	75,02 \pm 0,74	197,35 \pm 2,26
17,0	2,45 \pm 0,02	73,69 \pm 0,29	175,60 \pm 1,36
17,5	2,29 \pm 0,03	71,30 \pm 0,46	158,66 \pm 2,04
18,0	2,05 \pm 0,03	69,46 \pm 0,38	138,26 \pm 1,66
18,5	1,84 \pm 0,02	66,26 \pm 0,49	118,44 \pm 1,45
19,0	1,65 \pm 0,04	64,14 \pm 0,55	103,08 \pm 2,51
19,5	1,35 \pm 0,02	61,33 \pm 0,49	80,34 \pm 1,41
20,0	1,04 \pm 0,01	58,39 \pm 0,40	52,69 \pm 19,77

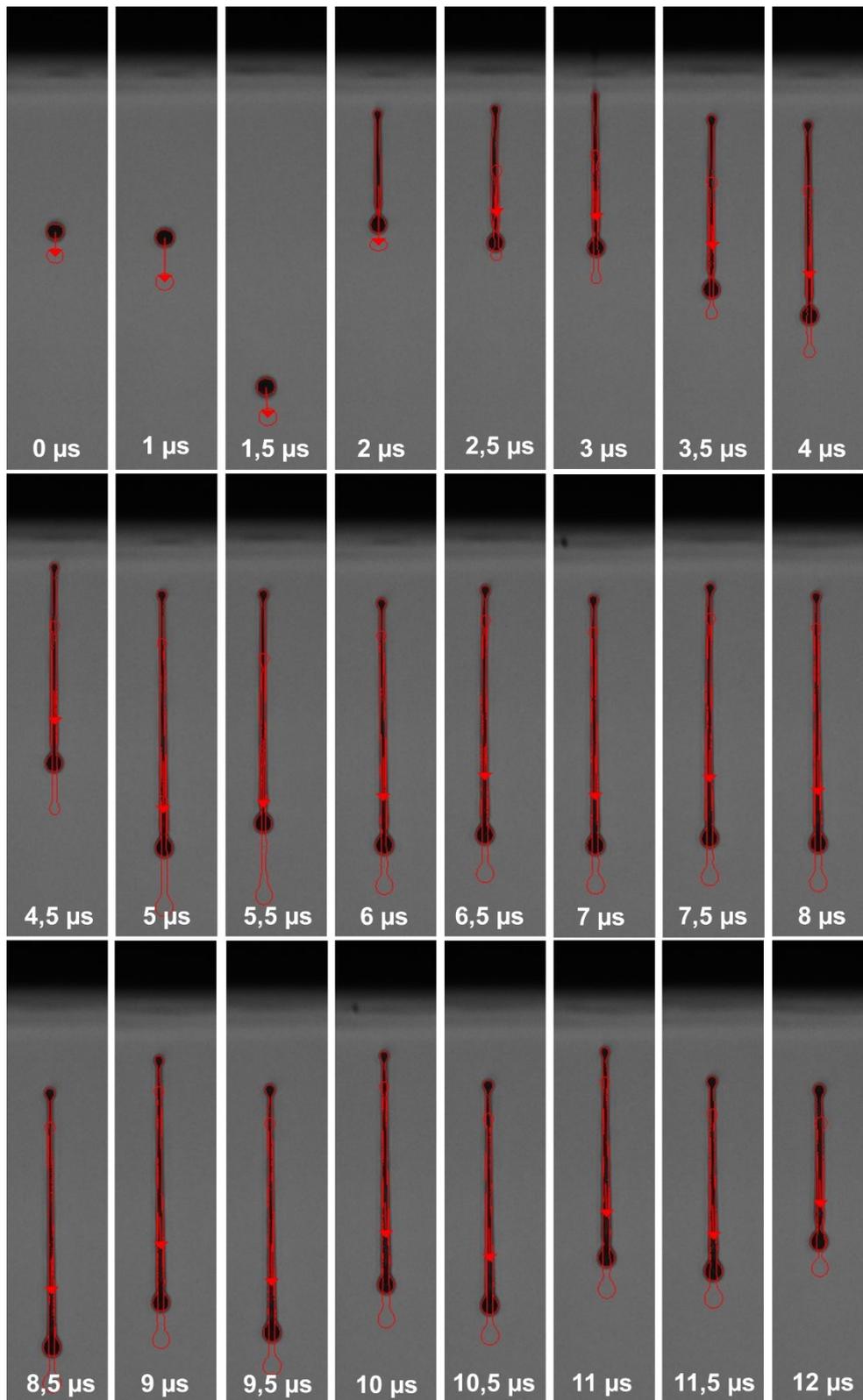


Abbildung 79: Abgegebene Tropfen der TZ F3; Tropfenform in Abhängigkeit der Haltezeit (0 – 12 μs); $f=500$ Hz

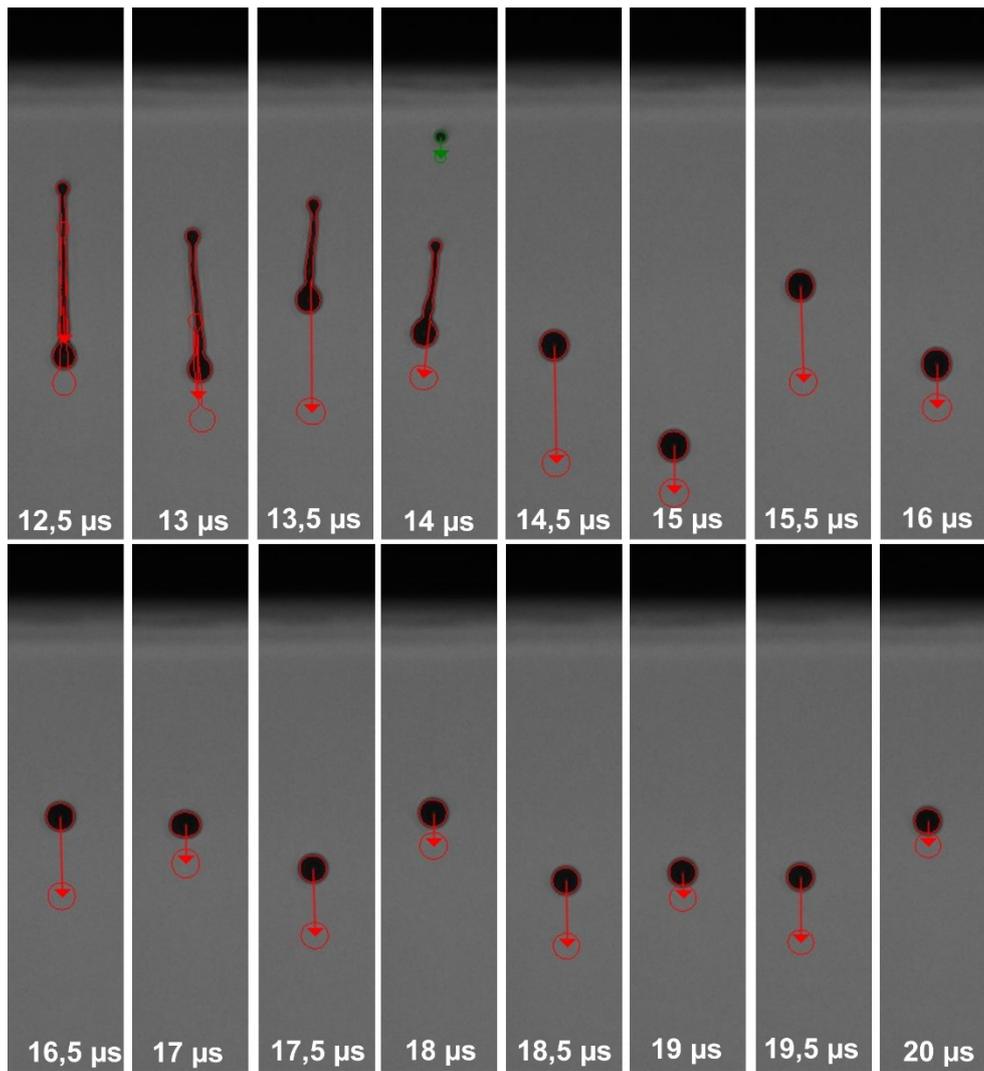


Abbildung 80: Abgegebene Tropfen der TZ F3; Tropfenform in Abhängigkeit der Haltezeit (12,5 – 20 μ s); $f=500$ Hz

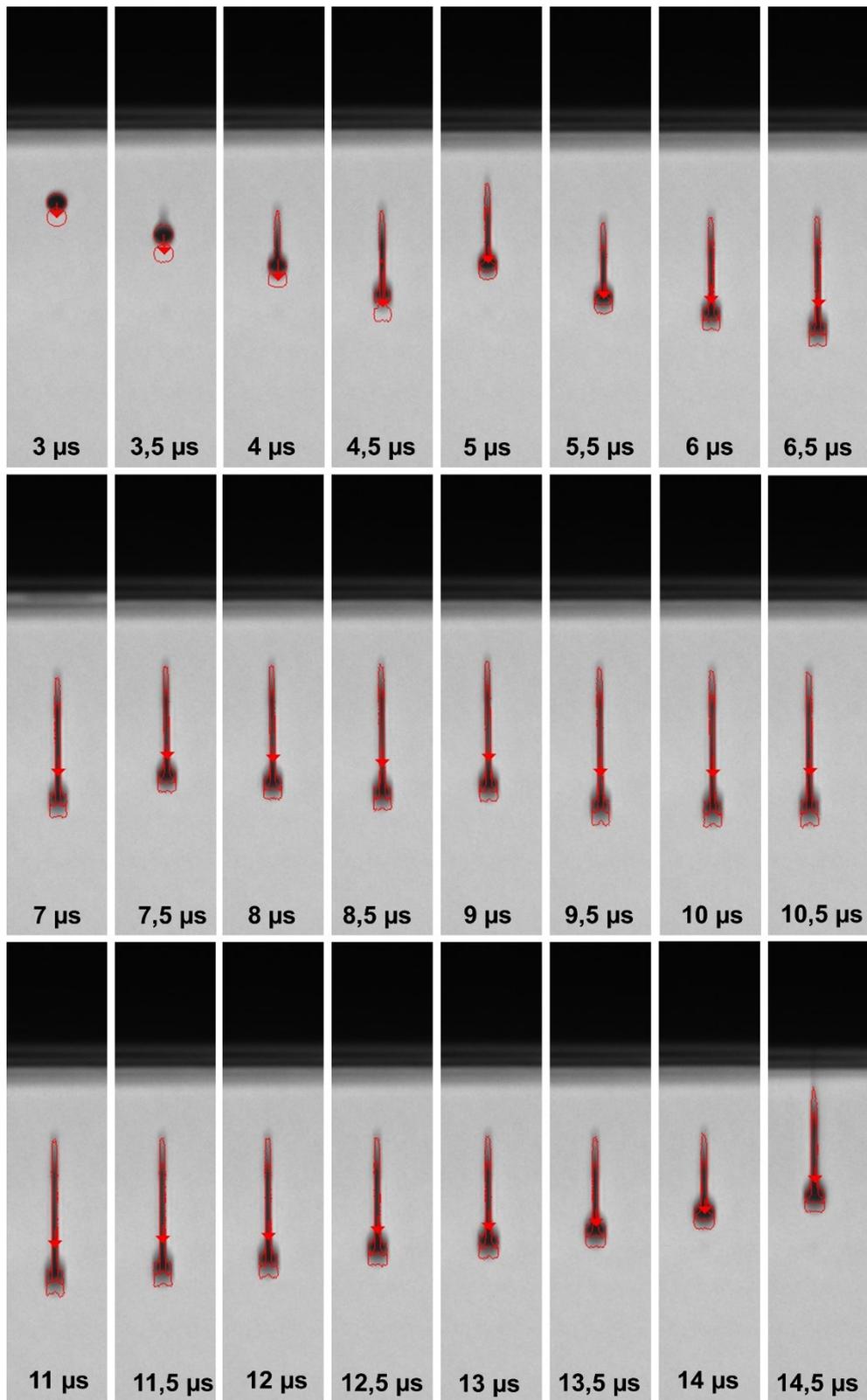


Abbildung 81: Abgegebene Tropfen der TZ B8; Tropfenform in Abhängigkeit der Haltezeit (3 – 14,5 μs); $f=100$ Hz

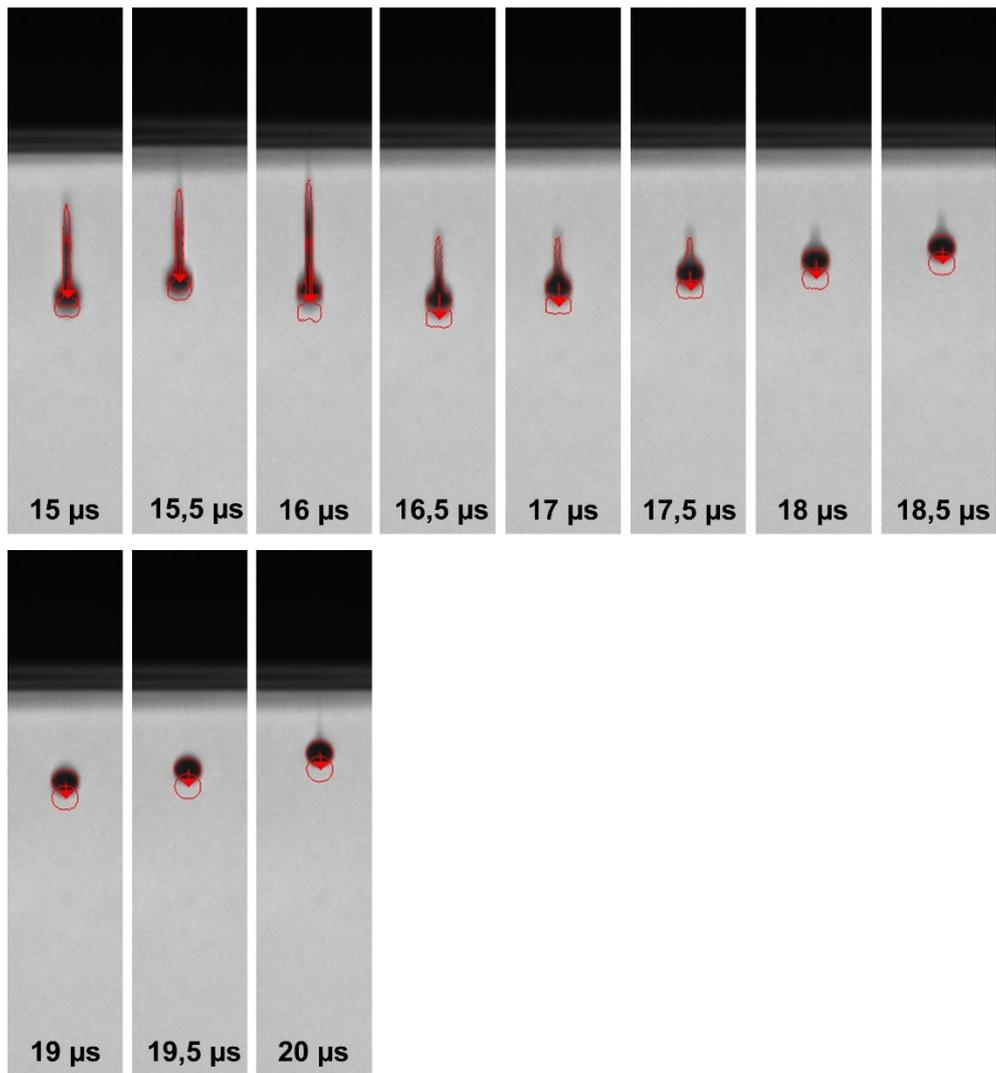


Abbildung 82: Abgegebene Tropfen der TZ B8; Tropfenform in Abhängigkeit der Haltezeit (15 – 20 μ s); $f=100$ Hz

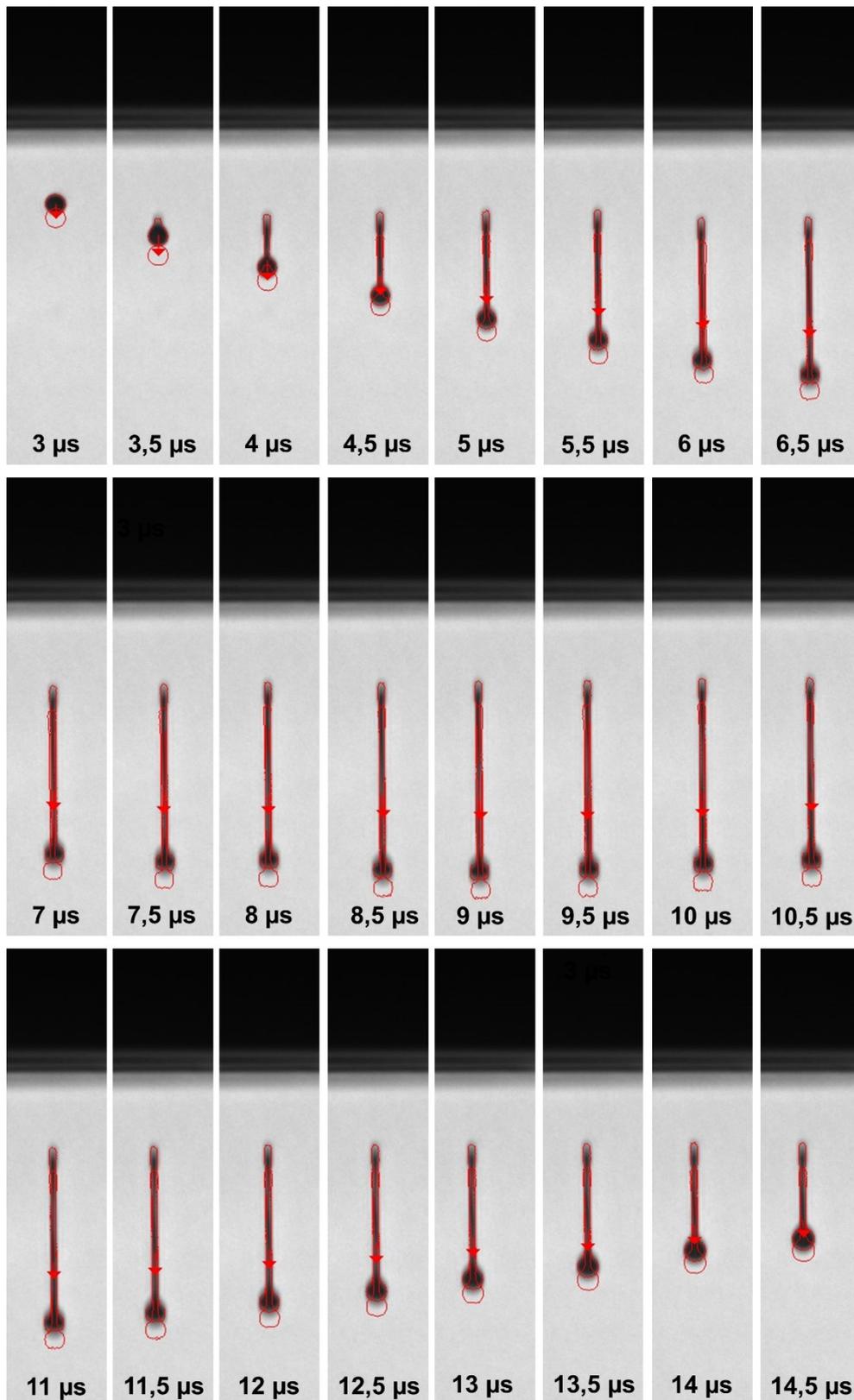


Abbildung 83: Abgegebene Tropfen der TZ B8; Tropfenform in Abhängigkeit der Haltezeit (3 – 14,5 μs); $f=250$ Hz

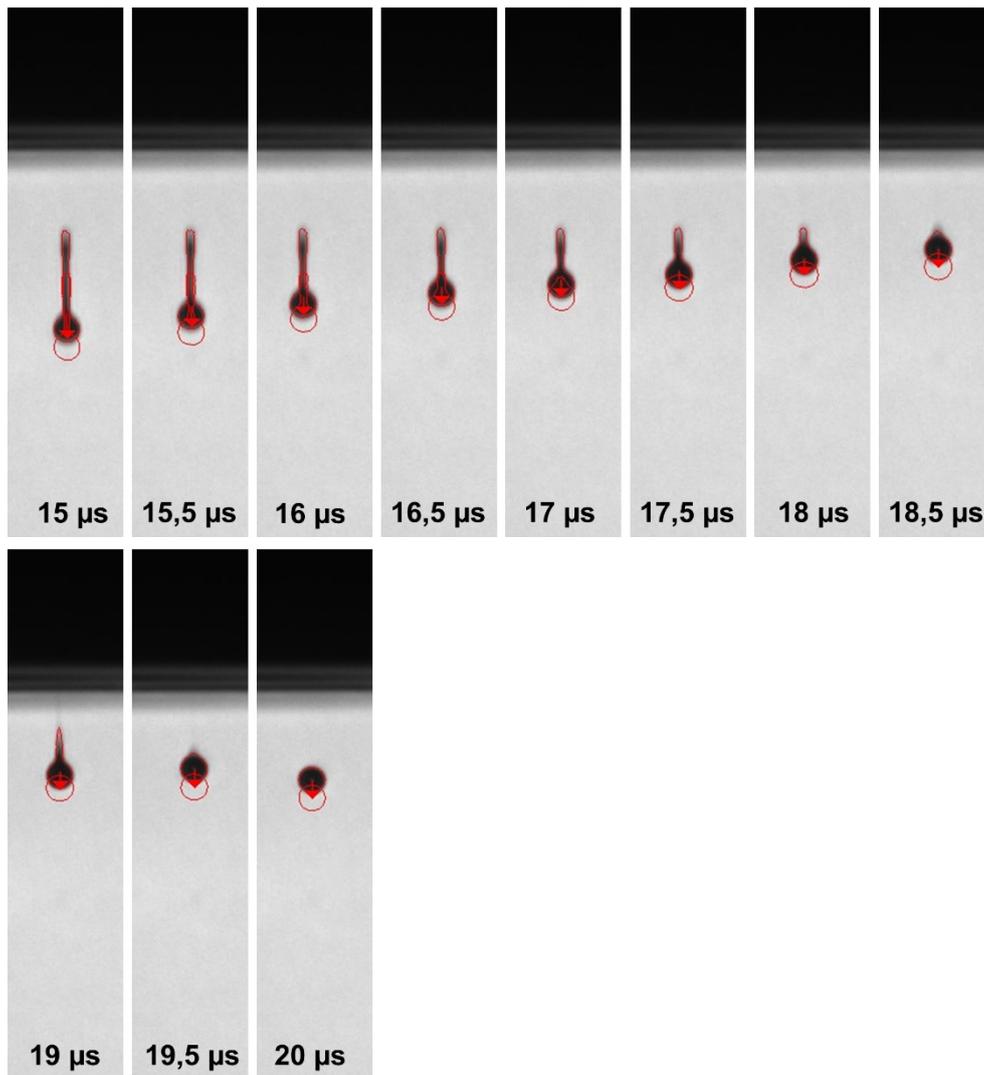


Abbildung 84: Abgegebene Tropfen der TZ B8; Tropfenform in Abhängigkeit der Haltezeit (15 – 20 μs); $f=250$ Hz

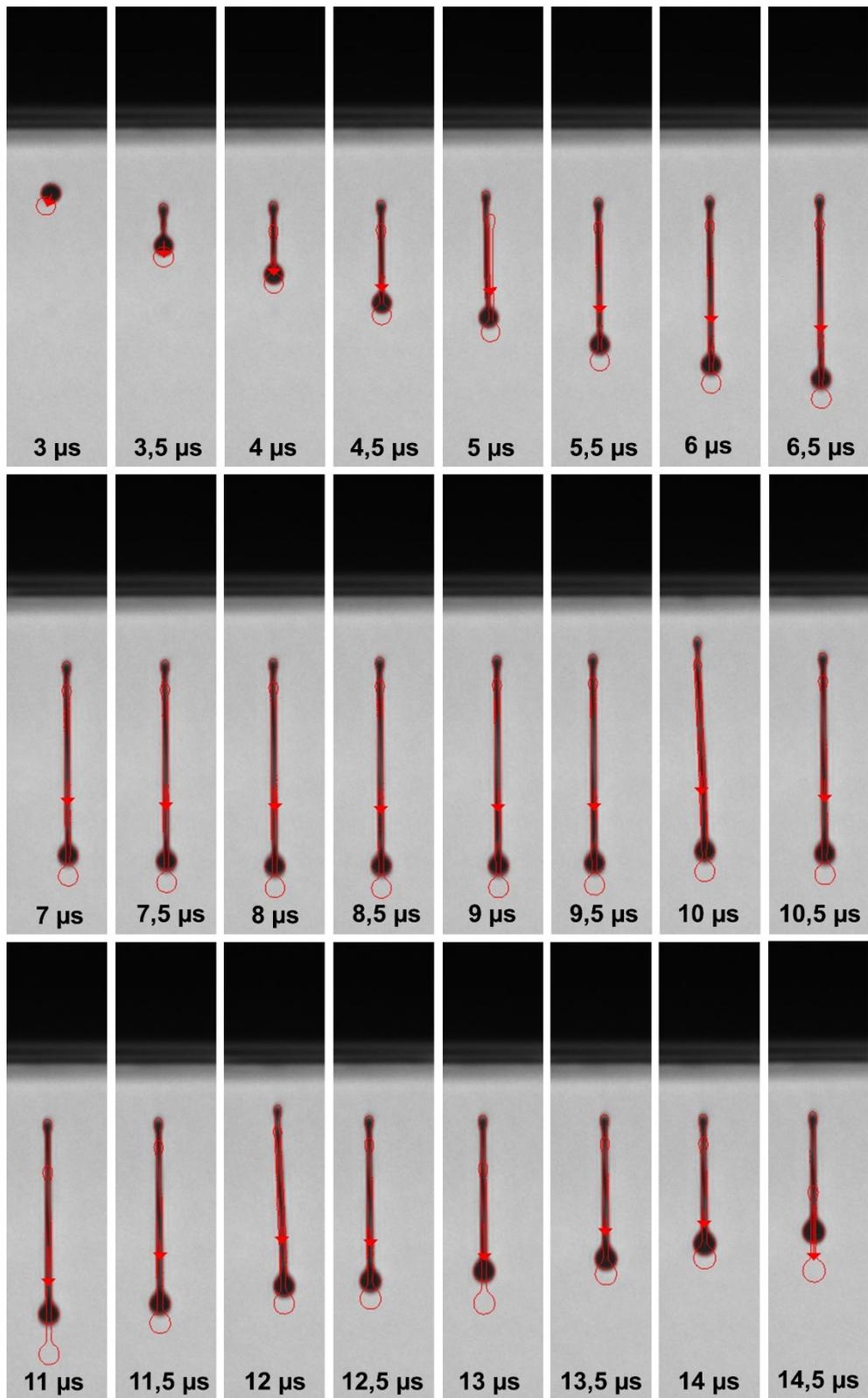


Abbildung 85: Abgegebene Tropfen der TZ B8; Tropfenform in Abhängigkeit der Haltezeit (3 – 14,5 μs); $f=500$ Hz

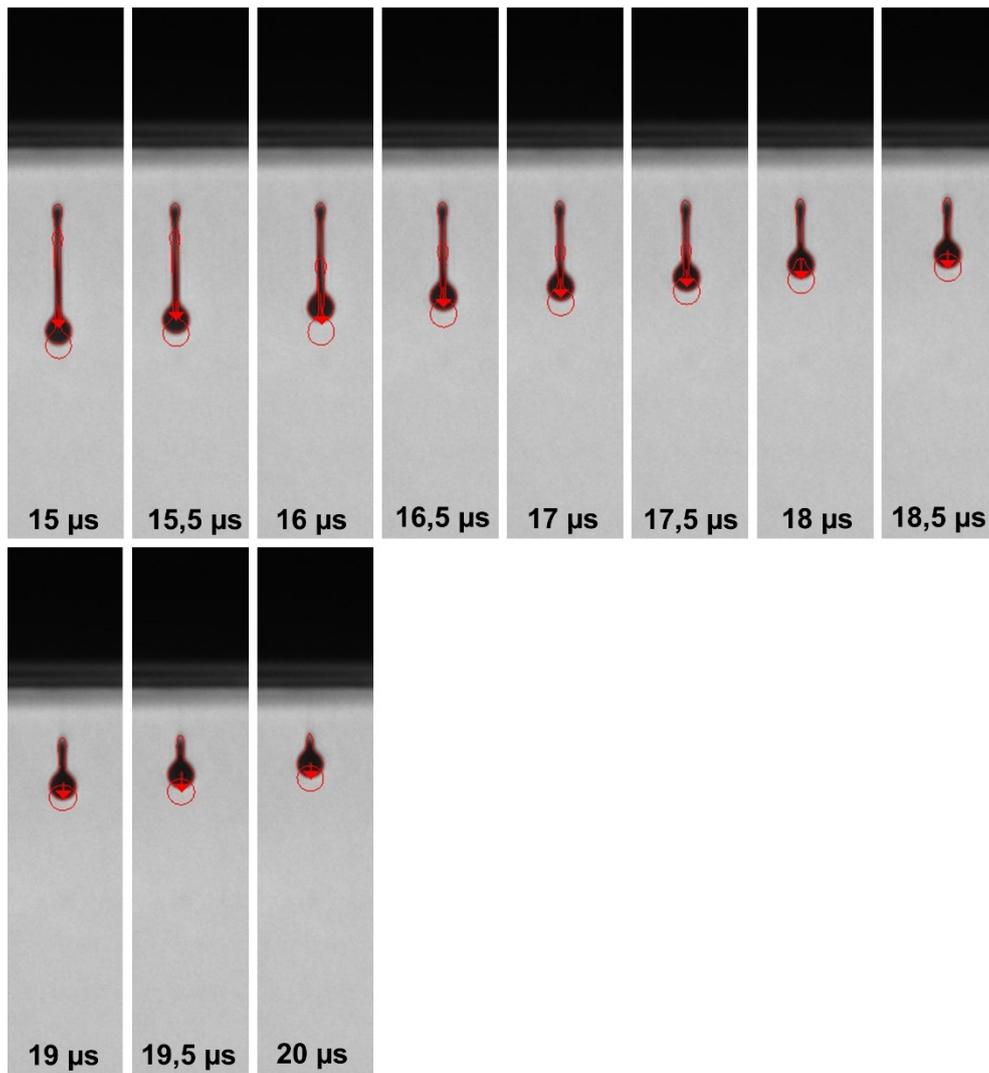


Abbildung 86: Abgegebene Tropfen der TZ B8; Tropfenform in Abhängigkeit der Haltezeit (15 – 20 μ s); $f=500$ Hz

7. Literaturverzeichnis

- [1] J.A. Bouwstra, M. Ponc, The skin barrier in healthy and diseased state, *Biochim Biophys Acta*, 1758 (2006) 2080-2095.
- [2] E.R. Nadel, R.W. Bullard, J.A. Stolwijk, Importance of skin temperature in the regulation of sweating, *J Appl Physiol*, 31 (1971) 80-87.
- [3] E.R. Nadel, J.W. Mitchell, B. Saltin, J.A. Stolwijk, Peripheral modifications to the central drive for sweating, *J Appl Physiol*, 31 (1971) 828-833.
- [4] G.W. Oertel, L. Treiber, Metabolism and excretion of C19- and C18-steroids by human skin, *Eur J Biochem*, 7 (1969) 234-238.
- [5] A.K. Bhattacharyya, W.E. Connor, A.A. Spector, Excretion of sterols from the skin of normal and hypercholesterolemic humans. Implications for sterol balance studies, *J Clin Invest*, 51 (1972) 2060-2070.
- [6] E. Boelsma, H.F. Hendriks, L. Roza, Nutritional skin care: health effects of micronutrients and fatty acids, *Am J Clin Nutr*, 73 (2001) 853-864.
- [7] L. Chen, S. Guo, M.J. Ranzer, L.A. DiPietro, Toll-like receptor 4 has an essential role in early skin wound healing, *J Invest Dermatol*, 133 (2013) 258-267.
- [8] J.D. Bos, I. Zonneveld, P.K. Das, S.R. Krieg, C.M. van der Loos, M.L. Kapsenberg, The skin immune system (SIS): distribution and immunophenotype of lymphocyte subpopulations in normal human skin, *J Invest Dermatol*, 88 (1987) 569-573.
- [9] R.A. Clark, B.F. Chong, N. Mirchandani, K. Yamanaka, G.F. Murphy, R.K. Dowgiert, T.S. Kupper, A novel method for the isolation of skin resident T cells from normal and diseased human skin, *J Invest Dermatol*, 126 (2006) 1059-1070.
- [10] J. Nolte, DocCheck, Aufbau der Haut, in <https://www.doccheck.com/de/detail/photos/42378-aufbau-der-haut>, 2023. letzter Aufruf: 03.10.2024
- [11] I.H. Blank, Factors which influence the water content of the stratum corneum, *J Invest Dermatol*, 18 (1952) 433-440.
- [12] G.E. Burch, T. Winsor, Diffusion of water through dead plantar, palmar and tarsal human skin and through toe nails, *Arch Derm Syphilol*, 53 (1946) 39-41.
- [13] A.V. Rawlings, P.J. Matts, C.D. Anderson, M.S. Roberts, Skin biology, xerosis, barrier repair and measurement, *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, 5 (2008) 127-136.
- [14] G.M. Gray, H.J. Yardley, Lipid compositions of cells isolated from pig, human, and rat epidermis, *J Lipid Res*, 16 (1975) 434-440.
- [15] K.C. Madison, Barrier function of the skin: "la raison d'etre" of the epidermis, *J Invest Dermatol*, 121 (2003) 231-241.
- [16] K.C. Madison, D.C. Swartzendruber, P.W. Wertz, D.T. Downing, Presence of intact intercellular lipid lamellae in the upper layers of the stratum corneum, *J Invest Dermatol*, 88 (1987) 714-718.

- [17] C. Urmacher, Histology of Normal Skin, *Am J Surg Pathol*, 14 (1990) 16.
- [18] K. Yoshida, M. Yokouchi, K. Nagao, K. Ishii, M. Amagai, A. Kubo, Functional tight junction barrier localizes in the second layer of the stratum granulosum of human epidermis, *J Dermatol Sci*, 71 (2013) 89-99.
- [19] M. Merad, M.G. Manz, H. Karsunky, A. Wagers, W. Peters, I. Charo, I.L. Weissman, J.G. Cyster, E.G. Engleman, Langerhans cells renew in the skin throughout life under steady-state conditions, *Nat Immunol*, 3 (2002) 1135-1141.
- [20] R.A. Briggaman, F.G. Dalldorf, C.E. Wheeler, Jr., Formation and origin of basal lamina and anchoring fibrils in adult human skin, *J Cell Biol*, 51 (1971) 384-395.
- [21] J.W. Wiechers, The barrier function of the skin in relation to percutaneous absorption of drugs, *Pharm Weekbl Sci*, 11 (1989) 185-198.
- [22] H.S. Gill, M.R. Prausnitz, Does needle size matter?, *J Diabetes Sci Technol*, 1 (2007) 725-729.
- [23] A. Kroger, W. Atkinson, E. Marcuse, L. Pickering, General Recommendations on Immunization: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 2006.
- [24] S. Schwartz, D. Hassman, J. Shelmet, R. Sievers, R. Weinstein, J. Liang, W. Lyness, A multicenter, open-label, randomized, two-period crossover trial comparing glycemic control, satisfaction, and preference achieved with a 31 gauge x 6 mm needle versus a 29 gauge x 12.7 mm needle in obese patients with diabetes mellitus, *Clin Ther*, 26 (2004) 1663-1678.
- [25] M.R. Prausnitz, S. Mitragotri, R. Langer, Current status and future potential of transdermal drug delivery, *Nat Rev Drug Discov*, 3 (2004) 115-124.
- [26] G. Ma, C. Wu, Microneedle, bio-microneedle and bio-inspired microneedle: A review, *J Control Release*, 251 (2017) 11-23.
- [27] M.R. Prausnitz, R. Langer, Transdermal drug delivery, *Nat Biotechnol*, 26 (2008) 1261-1268.
- [28] C. Richard, S. Cassel, M. Blanzat, Vesicular systems for dermal and transdermal drug delivery, *RSC Adv*, 11 (2020) 442-451.
- [29] Y.B. Choy, M.R. Prausnitz, The rule of five for non-oral routes of drug delivery: ophthalmic, inhalation and transdermal, *Pharm Res*, 28 (2011) 943-948.
- [30] C.C. Long, A.Y. Finlay, The finger-tip unit - A new practical measure, *Clin Exp Dermatol*, 16 (1991) 444-447.
- [31] European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare (EDQM), European Pharmacopoeia 11.0, Wirkstoffhaltige Pflaster, 3032 (2023) 1485-1486.
- [32] European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare (EDQM), European Pharmacopoeia 11.0, Pflaster, 1011 (2023) 1484-1485.

- [33] S. Prodduturi, N. Sadrieh, A.M. Wokovich, W.H. Doub, B.J. Westenberger, L. Buhse, Transdermal delivery of fentanyl from matrix and reservoir systems: Effect of heat and compromised skin, *J Pharm Sci*, 99 (2010) 2357-2366.
- [34] S. Scheindlin, Transdermal drug delivery: Past, present, future, *Mol Interv*, 4 (2004) 308-312.
- [35] A. Karim, Transdermal absorption: A unique opportunity for constant delivery of nitroglycerin, *Drug Dev Ind Pharm*, 9 (2008) 671-689.
- [36] R.J. Roberge, E.P. Krenzlok, R. Mrvos, Transdermal drug delivery system exposure outcomes, *J Emerg Med*, 18 (2000) 5.
- [37] J. Files, J.M. Kling, Transdermal delivery of bioidentical estrogen in menopausal hormone therapy: A clinical review, *Expert Opin Drug Deliv*, 17 (2020) 543-549.
- [38] M.I. Whitehead, D. Fraser, L. Schenkel, D. Crook, J.C. Stevenson, Transdermal administration of oestrogen/progestagen hormone replacement therapy, *Lancet*, 335 (1990) 310-312.
- [39] K. Mystakidou, S. Befon, E. Tsilika, K. Dardoufas, S. Georgaki, L. Vlahos, Use of TTS fentanyl as a single opioid for cancer pain relief: A safety and efficacy clinical trial in patients naive to mild or strong opioids, *Oncology*, 62 (2002) 9-16.
- [40] M. Haftek, M.-H. Teillon, D. Schmitt, Stratum corneum, corneodesmosomes and ex vivo percutaneous penetration, *Microsc Res Tech*, 43 (1998) 242-249.
- [41] H. Marwah, T. Garg, A.K. Goyal, G. Rath, Permeation enhancer strategies in transdermal drug delivery, *Drug Deliv*, 23 (2016) 564-578.
- [42] H.A. Benson, Transdermal drug delivery: Penetration enhancement techniques, *Curr Drug Deliv*, 2 (2005) 23-33.
- [43] A.A. Gurtovenko, J. Anwar, Modulating the structure and properties of cell membranes: the molecular mechanism of action of dimethyl sulfoxide, *J Phys Chem B*, 111 (2007) 10453-10460.
- [44] J. Müller, M. Trapp, R.H.H. Neubert, The effect of hydrophilic penetration/diffusion enhancer on stratum corneum lipid models: Part II*: DMSO, *Chem Phys Lipids*, 225 (2019) 104816.
- [45] J.F. Tranchant, F. Bonte, S. Leroy, M. Nedyalkov, D. Platikanov, I. Javierre, J.J. Benattar, Black foam films from aqueous solutions of a mixture of phospholipids and a permeation enhancer, *J Colloid Interface Sci*, 249 (2002) 398-404.
- [46] H.O. Ammar, H.A. Salama, M. Ghorab, S.A. El-Nahhas, H. Elmotasem, A transdermal delivery system for glipizide, *Curr Drug Deliv*, 3 (2006) 333-341.
- [47] H.K. Vaddi, L.Z. Wang, P.C. Ho, S.Y. Chan, Effect of some enhancers on the permeation of haloperidol through rat skin in vitro, *Int J Pharm*, 212 (2001) 247-255.

- [48] H. Sasaki, M. Kojima, J. Nakamura, J. Shibasaki, Enhancing effect of pyrrolidone derivatives on the transdermal penetration of sulfaguanidine, aminopyrine and sudan III, *J Pharmacobiodyn*, 13 (1990) 200-205.
- [49] M. Goodman, B.W. Barry, Action of penetration enhancers on human skin as assessed by the permeation of model drugs 5-fluorouracil and estradiol. I. Infinite dose technique, *J Invest Dermatol*, 91 (1988) 323-327.
- [50] N. Kanikkannan, M. Singh, Skin permeation enhancement effect and skin irritation of saturated fatty alcohols, *Int J Pharm*, 248 (2002) 219-228.
- [51] S. Andega, N. Kanikkannan, M. Singh, Comparison of the effect of fatty alcohols on the permeation of melatonin between porcine and human skin, *J Control Release*, 77 (2001) 17-25.
- [52] M.J. Kim, H.J. Doh, M.K. Choi, S.J. Chung, C.K. Shim, D.D. Kim, J.S. Kim, C.S. Yong, H.G. Choi, Skin permeation enhancement of diclofenac by fatty acids, *Drug Deliv*, 15 (2008) 373-379.
- [53] W.J. Xia, H. Onyuksel, Mechanistic studies on surfactant-induced membrane permeability enhancement, *Pharm Res*, 17 (2000) 612-618.
- [54] A.N. Saab, K.B. Sloan, H.D. Beall, R. Villaneuva, Effect of aminomethyl (N-Mannich base) derivatization on the ability of S6-acetyloxymethyl-6-mercaptopurine prodrug to deliver 6-mercaptopurine through hairless mouse skin, *J Pharm Sci*, 79 (1990) 1099-1104.
- [55] S.A. Megwa, S.E. Cross, H.A. Benson, M.S. Roberts, Ion-pair formation as a strategy to enhance topical delivery of salicylic acid, *J Pharm Pharmacol*, 52 (2000) 919-928.
- [56] J. Kemken, A. Ziegler, B.W. Müller, Influence of supersaturation on the pharmacodynamic effect of bupranolol after dermal administration using microemulsions as vehicle, *Pharm Res*, 9 (1992) 554-558.
- [57] P.W. Stott, A.C. Williams, B.W. Barry, Transdermal delivery from eutectic systems: Enhanced permeation of a model drug, ibuprofen, *J Control Release*, 50 (1998) 297-308.
- [58] M. Mezei, V. Gulasekharan, Liposomes - A selective drug delivery system for the topical route of administration. Lotion dosage form, *Life Sci*, 26 (1980) 1473-1477.
- [59] C. Santos Maia, W. Mehnert, M. Schaller, H.C. Korting, A. Gysler, A. Haberland, M. Schafer-Korting, Drug targeting by solid lipid nanoparticles for dermal use, *J Drug Target*, 10 (2002) 489-495.
- [60] S.A. Wissing, R.H. Müller, The influence of solid lipid nanoparticles on skin hydration and viscoelasticity - In vivo study, *Eur J Pharm Biopharm*, 56 (2003) 67-72.
- [61] K.B. Sloan, S.A. Koch, K.G. Siver, F.P. Flowers, Use of solubility parameters of drug and vehicle to predict flux through skin, *J Invest Dermatol*, 87 (1986) 244-252.
- [62] T.M. Karpinski, Selected Medicines Used in Iontophoresis, *Pharmaceutics*, 10 (2018) 204.

- [63] V. Dhote, P. Bhatnagar, P.K. Mishra, S.C. Mahajan, D.K. Mishra, Iontophoresis: A potential emergence of a transdermal drug delivery system, *Sci Pharm*, 80 (2012) 1-28.
- [64] M.A. Smutok, M.F. Mayo, C.L. Gabaree, K.E. Ferslew, P.C. Panus, Failure to detect dexamethasone phosphate in the local venous blood postcathodic iontophoresis in humans, *J Orthop Sports Phys Ther*, 32 (2002) 461-468.
- [65] R. Crevenna, A. Burian, Z. Oesterreicher, E. Lackner, W. Jager, G. Rezcicek, M. Keilani, M. Zeitlinger, Iontophoresis driven concentrations of topically administered diclofenac in skeletal muscle and blood of healthy subjects, *Eur J Clin Pharmacol*, 71 (2015) 1359-1364.
- [66] E.R. Viscusi, L. Reynolds, F. Chung, L.E. Atkinson, S. Khanna, Patient-controlled transdermal fentanyl hydrochloride vs intravenous morphine pump for postoperative pain: A randomized controlled trial, *JAMA*, 291 (2004) 1333-1341.
- [67] D.O. Draper, M. Coglianese, C. Castel, Absorption of iontophoresis-driven 2% lidocaine with epinephrine in the tissues at 5 mm below the surface of the skin, *J Athl Train*, 46 (2011) 277-281.
- [68] Janssen Cilag GmbH, Rote-Hand-Brief zu Ionsys(R): Rückruf, (2008).
- [69] L. Machet, A. Boucaud, Phonophoresis: Efficiency, mechanisms and skin tolerance, *Int J Pharm*, 243 (2002) 1-15.
- [70] M. Ogura, S. Paliwal, S. Mitragotri, Low-frequency sonophoresis: Current status and future prospects, *Adv Drug Deliv Rev*, 60 (2008) 1218-1223.
- [71] B.M. Becker, S. Helfrich, E. Baker, K. Lovgren, P.A. Minugh, J.T. Machan, Ultrasound with topical anesthetic rapidly decreases pain of intravenous cannulation, *Acad Emerg Med*, 12 (2005) 289-295.
- [72] E.J. Park, J. Werner, N.B. Smith, Ultrasound mediated transdermal insulin delivery in pigs using a lightweight transducer, *Pharm Res*, 24 (2007) 1396-1401.
- [73] W.Z. Li, M.R. Huo, J.P. Zhou, Y.Q. Zhou, B.H. Hao, T. Liu, Y. Zhang, Super-short solid silicon microneedles for transdermal drug delivery applications, *Int J Pharm*, 389 (2010) 122-129.
- [74] S. Lin, G. Quan, A. Hou, P. Yang, T. Peng, Y. Gu, W. Qin, R. Liu, X. Ma, X. Pan, H. Liu, L. Wang, C. Wu, Strategy for hypertrophic scar therapy: Improved delivery of triamcinolone acetonide using mechanically robust tip-concentrated dissolving microneedle array, *J Control Release*, 306 (2019) 69-82.
- [75] Z. Luo, W. Sun, J. Fang, K. Lee, S. Li, Z. Gu, M.R. Dokmeci, A. Khademhosseini, Biodegradable gelatin methacryloyl microneedles for transdermal drug delivery, *Adv Healthc Mater*, 8 (2019) 1801054.
- [76] P.C. DeMuth, X. Su, R.E. Samuel, P.T. Hammond, D.J. Irvine, Nano-layered microneedles for transcutaneous delivery of polymer nanoparticles and plasmid DNA, *Adv Mater*, 22 (2010) 4851-4856.

- [77] K.J. Koh, Y. Liu, S.H. Lim, X.J. Loh, L. Kang, C.Y. Lim, K.K.L. Phua, Formulation, characterization and evaluation of mRNA-loaded dissolvable polymeric microneedles (RNApatch), *Sci Rep*, 8 (2018) 11842.
- [78] M.H. Ling, M.C. Chen, Dissolving polymer microneedle patches for rapid and efficient transdermal delivery of insulin to diabetic rats, *Acta Biomater*, 9 (2013) 8952-8961.
- [79] Y. Tian, J. Lee, K. van der Maaden, Y. Bhide, J.J. de Vries-Idema, R. Akkerman, C. O'Mahony, W. Jiskoot, H.W. Frijlink, A.L.W. Huckriede, W.L.J. Hinrichs, J.A. Bouwstra, M. Beukema, Intradermal administration of influenza vaccine with trehalose and pullulan-based dissolving microneedle arrays, *J Pharm Sci*, 111 (2022) 1070-1080.
- [80] H.R. Jeong, H.S. Lee, I.J. Choi, J.H. Park, Considerations in the use of microneedles: pain, convenience, anxiety and safety, *J Drug Target*, 25 (2017) 29-40.
- [81] N.W. Kang, S. Kim, J.Y. Lee, K.T. Kim, Y. Choi, Y. Oh, J. Kim, D.D. Kim, J.H. Park, Microneedles for drug delivery: Recent advances in materials and geometry for preclinical and clinical studies, *Expert Opin Drug Deliv*, 18 (2021) 929-947.
- [82] M.R. Prausnitz, Microneedles for transdermal drug delivery, *Adv Drug Deliv Rev*, 56 (2004) 581-587.
- [83] S. Henry, D.V. McAllister, M.G. Allen, M.R. Prausnitz, Microfabricated microneedles: A novel approach to transdermal drug delivery, *J Pharm Sci*, 87 (1998) 922-925.
- [84] W. Martanto, S.P. Davis, N.R. Holiday, J. Wang, H.S. Gill, M.R. Prausnitz, Transdermal delivery of insulin using microneedles in vivo, *Pharm Res*, 21 (2004) 947-952.
- [85] S.N. Economidou, C.P. Pissinato Pere, M. Okereke, D. Douroumis, Optimisation of design and manufacturing parameters of 3D printed solid microneedles for improved strength, sharpness, and drug delivery, *Micromachines*, 12 (2021) 117.
- [86] D.V. McAllister, P.M. Wang, S.P. Davis, J.H. Park, P.J. Canatella, M.G. Allen, M.R. Prausnitz, Microfabricated needles for transdermal delivery of macromolecules and nanoparticles: Fabrication methods and transport studies, *Proc Natl Acad Sci USA*, 100 (2003) 13755-13760.
- [87] W. Lin, M. Cormier, A. Samiee, A. Griffin, B. Johnson, C. Teng, G.E. Haardee, P.E. Daddona, Transdermal delivery of antisense oligonucleotides with microprojection patch (Macroflux(R)) technology, *Pharm Res*, 18 (2001) 1789-1793.
- [88] G. Yang, M. He, S. Zhang, M. Wu, Y. Gao, An acryl resin-based swellable microneedles for controlled release intradermal delivery of granisetron, *Drug Dev Ind Pharm*, 44 (2018) 808-816.
- [89] H.S. Gill, M.R. Prausnitz, Coated microneedles for transdermal delivery, *J Control Release*, 117 (2007) 227-237.

- [90] J. Tu, G. Du, M. Reza Nejadnik, J. Monkare, K. van der Maaden, P.H.H. Bomans, N. Sommerdijk, B. Slutter, W. Jiskoot, J.A. Bouwstra, A. Kros, Mesoporous silica nanoparticle-coated microneedle arrays for intradermal antigen delivery, *Pharm Res*, 34 (2017) 1693-1706.
- [91] H.S. Lee, H.R. Ryu, J.Y. Roh, J.H. Park, Bleomycin-coated microneedles for treatment of warts, *Pharm Res*, 34 (2017) 101-112.
- [92] H.S. Gill, M.R. Prausnitz, Coating formulations for microneedles, *Pharm Res*, 24 (2007) 1369-1380.
- [93] X. Chen, T.W. Prow, M.L. Crichton, D.W. Jenkins, M.S. Roberts, I.H. Frazer, G.J. Fernando, M.A. Kendall, Dry-coated microprojection array patches for targeted delivery of immunotherapeutics to the skin, *J Control Release*, 139 (2009) 212-220.
- [94] M.G. McGrath, A. Vrdoljak, C. O'Mahony, J.C. Oliveira, A.C. Moore, A.M. Crean, Determination of parameters for successful spray coating of silicon microneedle arrays, *Int J Pharm*, 415 (2011) 140-149.
- [95] C. O'Mahony, L. Hilliard, T. Kosch, A. Bocchino, E. Sulas, A. Kenthao, S. O'Callaghan, A.J.P. Clover, D. Demarchi, G. Bared, Accuracy and feasibility of piezoelectric inkjet coating technology for applications in microneedle-based transdermal delivery, *Microelectronic Engineering*, 172 (2017) 19-25.
- [96] A.K. Jain, C.H. Lee, H.S. Gill, 5-Aminolevulinic acid coated microneedles for photodynamic therapy of skin tumors, *J Control Release*, 239 (2016) 72-81.
- [97] C.L. Caudill, J.L. Perry, S. Tian, J.C. Luft, J.M. DeSimone, Spatially controlled coating of continuous liquid interface production microneedles for transdermal protein delivery, *J Control Release*, 284 (2018) 122-132.
- [98] X. Zhao, S.A. Coulman, S.J. Hanna, F.S. Wong, C.M. Dayan, J.C. Birchall, Formulation of hydrophobic peptides for skin delivery via coated microneedles, *J Control Release*, 265 (2017) 2-13.
- [99] K. Kusamori, H. Katsumi, R. Sakai, R. Hayashi, Y. Hirai, Y. Tanaka, K. Hitomi, Y.S. Quan, F. Kamiyama, K. Yamada, S. Sumida, K. Kishi, K. Hashiba, T. Sakane, A. Yamamoto, Development of a drug-coated microneedle array and its application for transdermal delivery of interferon alpha, *Biofabrication*, 8 (2016) 015006.
- [100] Y.C. Kim, J.H. Park, M.R. Prausnitz, Microneedles for drug and vaccine delivery, *Adv Drug Deliv Rev*, 64 (2012) 1547-1568.
- [101] D. Ramadon, L.F.P. Sutrisna, Y. Harahap, K.S.S. Putri, F. Ulayya, P. Hartrianti, Q.K. Anjani, R.F. Donnelly, Enhancing intradermal delivery of lidocaine by dissolving microneedles: Comparison between hyaluronic acid and poly(vinyl pyrrolidone) backbone polymers, *Pharmaceutics*, 15 (2023) 289.

- [102] M.T. McCrudden, A.Z. Alkilani, C.M. McCrudden, E. McAlister, H.O. McCarthy, A.D. Woolfson, R.F. Donnelly, Design and physicochemical characterisation of novel dissolving polymeric microneedle arrays for transdermal delivery of high dose, low molecular weight drugs, *J Control Release*, 180 (2014) 71-80.
- [103] N.G. Oh, S.Y. Hwang, Y.H. Na, Fabrication of a pva-based hydrogel microneedle patch, *ACS Omega*, 7 (2022) 25179-25185.
- [104] A.C.Q. Silva, B. Pereira, N.S. Lameirinhas, P.C. Costa, I.F. Almeida, P. Dias-Pereira, I. Correia-Sa, H. Oliveira, A.J.D. Silvestre, C. Vilela, C.S.R. Freire, Dissolvable carboxymethylcellulose microneedles for noninvasive and rapid administration of diclofenac sodium, *Macromol Biosci*, 23 (2023) 2200323.
- [105] F. Volpe-Zanutto, L.T. Ferreira, A.D. Permana, M. Kirkby, A.J. Paredes, L.K. Vora, P.B. A. I. Charlie-Silva, C. Raposo, M.C. Figueiredo, I.M.O. Sousa, A. Brisibe, F.T.M. Costa, R.F. Donnelly, M.A. Foglio, Artemether and lumefantrine dissolving microneedle patches with improved pharmacokinetic performance and antimalarial efficacy in mice infected with *Plasmodium yoelii*, *J Control Release*, 333 (2021) 298-315.
- [106] J.D. Kim, M. Kim, H. Yang, K. Lee, H. Jung, Droplet-born air blowing: Novel dissolving microneedle fabrication, *J Control Release*, 170 (2013) 430-436.
- [107] M.J. Kim, S.C. Park, B. Rizal, G. Guanes, S.K. Baek, J.H. Park, A.R. Betz, S.O. Choi, Fabrication of circular obelisk-type multilayer microneedles using micro-milling and spray deposition, *Front Bioeng Biotechnol*, 6 (2018) 54.
- [108] H. Kathuria, D. Lim, J. Cai, B.G. Chung, L. Kang, Microneedles with tunable dissolution rate, *ACS Biomater Sci Eng*, 6 (2020) 5061-5068.
- [109] I.K. Ramoller, I.A. Tekko, H.O. McCarthy, R.F. Donnelly, Rapidly dissolving bilayer microneedle arrays - A minimally invasive transdermal drug delivery system for vitamin B12, *Int J Pharm*, 566 (2019) 299-306.
- [110] X. Zhao, S. Zhang, G. Yang, Z. Zhou, Y. Gao, Exploring trehalose on the release of levonorgestrel from implantable PLGA microneedles, *Polymers*, 12 (2020) 59.
- [111] L. Wu, P. Shrestha, M. Iapichino, Y. Cai, B. Kim, B. Stoeber, Characterization method for calculating diffusion coefficient of drug from polylactic acid (PLA) microneedles into the skin, *J Drug Deliv Sci and Technol*, 61 (2021) 102192.
- [112] E. Caffarel-Salvador, T.M. Tuan-Mahmood, J.C. McElnay, H.O. McCarthy, K. Mooney, A.D. Woolfson, R.F. Donnelly, Potential of hydrogel-forming and dissolving microneedles for use in paediatric populations, *Int J Pharm*, 489 (2015) 158-169.
- [113] R.F. Donnelly, T.R. Singh, M.J. Garland, K. Migalska, R. Majithiya, C.M. McCrudden, P.L. Kole, T.M. Mahmood, H.O. McCarthy, A.D. Woolfson, Hydrogel-forming microneedle arrays for enhanced transdermal drug delivery, *Adv Funct Mater*, 22 (2012) 4879-4890.

- [114] M.C. Kearney, E. Caffarel-Salvador, S.J. Fallows, H.O. McCarthy, R.F. Donnelly, Microneedle-mediated delivery of donepezil: Potential for improved treatment options in Alzheimer's disease, *Eur J Pharm Biopharm*, 103 (2016) 43-50.
- [115] I.A. Tekko, G. Chen, J. Dominguez-Robles, R.R.S. Thakur, I.M.N. Hamdan, L. Vora, E. Larraneta, J.C. McElnay, H.O. McCarthy, M. Rooney, R.F. Donnelly, Development and characterisation of novel poly (vinyl alcohol)/poly (vinyl pyrrolidone)-based hydrogel-forming microneedle arrays for enhanced and sustained transdermal delivery of methotrexate, *Int J Pharm*, 586 (2020) 119580.
- [116] Y.A. Naser, I.A. Tekko, L.K. Vora, K. Peng, Q.K. Anjani, B. Greer, C. Elliott, H.O. McCarthy, R.F. Donnelly, Hydrogel-forming microarray patches with solid dispersion reservoirs for transdermal long-acting microdepot delivery of a hydrophobic drug, *J Control Release*, 356 (2023) 416-433.
- [117] W. Li, R.N. Terry, J. Tang, M.R. Feng, S.P. Schwendeman, M.R. Prausnitz, Rapidly separable microneedle patch for the sustained release of a contraceptive, *Nat Biomed Eng*, 3 (2019) 220-229.
- [118] L.Y. Chu, M.R. Prausnitz, Separable arrowhead microneedles, *J Control Release*, 149 (2011) 242-249.
- [119] W. Li, J. Tang, R.N. Terry, S. Li, A. Brunie, R.L. Callahan, R.K. Noel, C.A. Rodriguez, S.P. Schwendeman, M.R. Prausnitz, Long-acting reversible contraception by effervescent microneedle patch, *Sci Adv*, 5 (2019) 8145.
- [120] A. Carcamo-Martinez, B. Mallon, J. Dominguez-Robles, L.K. Vora, Q.K. Anjani, R.F. Donnelly, Hollow microneedles: A perspective in biomedical applications, *Int J Pharm*, 599 (2021) 120455.
- [121] S.N. Economidou, M.J. Uddin, M.J. Marques, D. Douroumis, W.T. Sow, H. Li, A. Reid, J.F.C. Windmill, A. Podoleanu, A novel 3D printed hollow microneedle microelectromechanical system for controlled, personalized transdermal drug delivery, *Additive Manufacturing*, 38 (2021) 101815.
- [122] C.J.W. Bolton, O. Howells, G.J. Blayney, P.F. Eng, J.C. Birchall, B. Gualeni, K. Roberts, H. Ashraf, O.J. Guy, Hollow silicon microneedle fabrication using advanced plasma etch technologies for applications in transdermal drug delivery, *Lab Chip*, 20 (2020) 2788-2795.
- [123] S.P. Davis, W. Martanto, M.G. Allen, M.R. Prausnitz, Hollow metal microneedles for insulin delivery to diabetic rats, *IEEE Trans Biomed Eng*, 52 (2005) 909-915.
- [124] K. van der Maaden, S.J. Trietsch, H. Kraan, E.M. Varypataki, S. Romeijn, R. Zwier, H.J. van der Linden, G. Kersten, T. Hankemeier, W. Jiskoot, J. Bouwstra, Novel hollow microneedle technology for depth-controlled microinjection-mediated dermal vaccination: A study with polio vaccine in rats, *Pharm Res*, 31 (2014) 1846-1854.

- [125] R.F. Donnelly, M.J. Garland, D.I. Morrow, K. Migalska, T.R. Singh, R. Majithiya, A.D. Woolfson, Optical coherence tomography is a valuable tool in the study of the effects of microneedle geometry on skin penetration characteristics and in-skin dissolution, *J Control Release*, 147 (2010) 333-341.
- [126] D. Ando, T. Miyazaki, E. Yamamoto, T. Koide, K.I. Izutsu, Chemical imaging analysis of active pharmaceutical ingredient in dissolving microneedle arrays by Raman spectroscopy, *Drug Deliv Transl Res*, 12 (2022) 426-434.
- [127] Q.K. Anjani, A. Carcamo-Martinez, L.A.H. Wardoyo, N. Moreno-Castellanos, A.H.B. Sabri, E. Larraneta, R.F. Donnelly, MAP-box: A novel, low-cost and easy-to-fabricate 3D-printed box for the storage and transportation of dissolving microneedle array patches, *Drug Deliv Transl Res*, 14 (2024) 208-222.
- [128] M.I. Nasiri, L.K. Vora, J.A. Ershaid, K. Peng, I.A. Tekko, R.F. Donnelly, Nanoemulsion-based dissolving microneedle arrays for enhanced intradermal and transdermal delivery, *Drug Deliv Transl Res*, 12 (2022) 881-896.
- [129] M. Li, L.K. Vora, K. Peng, R.F. Donnelly, Trilayer microneedle array assisted transdermal and intradermal delivery of dexamethasone, *Int J Pharm*, 612 (2022) 121295.
- [130] S.M. Bal, A.C. Kruithof, R. Zwier, E. Dietz, J.A. Bouwstra, J. Lademann, M.C. Meinke, Influence of microneedle shape on the transport of a fluorescent dye into human skin in vivo, *J Control Release*, 147 (2010) 218-224.
- [131] Y.K. Demir, Z. Akan, O. Kerimoglu, Characterization of polymeric microneedle arrays for transdermal drug delivery, *PLoS One*, 8 (2013) 77289.
- [132] J.H. Park, M.R. Prausnitz, Analysis of mechanical failure of polymer microneedles by axial force, *J Korean Phys Soc*, 56 (2010) 1223-1227.
- [133] E. Larraneta, J. Moore, E.M. Vicente-Perez, P. Gonzalez-Vazquez, R. Lutton, A.D. Woolfson, R.F. Donnelly, A proposed model membrane and test method for microneedle insertion studies, *Int J Pharm*, 472 (2014) 65-73.
- [134] A.D. Permana, Q.K. Anjani, Sartini, E. Utomo, F. Volpe-Zanutto, A.J. Paredes, Y.M. Evary, S.A. Mardikasari, M.R. Pratama, I.N. Tuany, R.F. Donnelly, Selective delivery of silver nanoparticles for improved treatment of biofilm skin infection using bacteria-responsive microparticles loaded into dissolving microneedles, *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 120 (2021) 111786.
- [135] Q.K. Anjani, A.D.C. Nainggolan, H. Li, A. Miatmoko, E. Larraneta, R.F. Donnelly, Parafilm(R) M and Strat-M(R) as skin simulants in in vitro permeation of dissolving microarray patches loaded with proteins, *Int J Pharm*, 655 (2024) 124071.
- [136] C.S. Kolli, A.K. Banga, Characterization of solid maltose microneedles and their use for transdermal delivery, *Pharm Res*, 25 (2008) 104-113.

- [137] K. Lee, H.B. Song, W. Cho, J.H. Kim, J.H. Kim, W. Ryu, Intracorneal injection of a detachable hybrid microneedle for sustained drug delivery, *Acta Biomater*, 80 (2018) 48-57.
- [138] K. Moffatt, I.A. Tekko, L. Vora, F. Volpe-Zanutto, A.R.J. Hutton, J. Mistilis, C. Jarrahan, N. Akhavein, A.D. Weber, H.O. McCarthy, R.F. Donnelly, Development and evaluation of dissolving microarray patches for co-administered and repeated intradermal delivery of long-acting rilpivirine and cabotegravir nanosuspensions for paediatric HIV antiretroviral therapy, *Pharm Res*, 40 (2023) 1673-1696.
- [139] R. Rahbari, I. Ichim, R. Bamsey, J. Burridge, O.J. Guy, J. Bolodeoku, M. Graz, Characterisation of drug delivery efficacy using microstructure-assisted application of a range of APIs, *Pharmaceutics*, 12 (2020) 213.
- [140] J. McCaffrey, C.M. McCrudden, A.A. Ali, A.S. Massey, J.W. McBride, M.T. McCrudden, E.M. Vicente-Perez, J.A. Coulter, T. Robson, R.F. Donnelly, H.O. McCarthy, Transcending epithelial and intracellular biological barriers; A prototype DNA delivery device, *J Control Release*, 226 (2016) 238-247.
- [141] D. Kottke, H. Majid, J. Breitreutz, B.B. Burckhardt, Development and evaluation of mucoadhesive buccal dosage forms of lidocaine hydrochloride by ex-vivo permeation studies, *Int J Pharm*, 581 (2020) 119293.
- [142] A.J. Paredes, F. Volpe-Zanutto, A.D. Permana, A.J. Murphy, C.J. Picco, L.K. Vora, J.A. Coulter, R.F. Donnelly, Novel tip-loaded dissolving and implantable microneedle array patches for sustained release of finasteride, *Int J Pharm*, 606 (2021) 120885.
- [143] S.A. Coulman, A. Anstey, C. Gateley, A. Morrissey, P. McLoughlin, C. Allender, J.C. Birchall, Microneedle mediated delivery of nanoparticles into human skin, *Int J Pharm*, 366 (2009) 190-200.
- [144] I.K. Ramoller, F. Volpe-Zanutto, L.K. Vora, M.T.A. Abbate, A.R.J. Hutton, P.E. McKenna, K. Peng, I.A. Tekko, A. Sabri, E. McAlister, H.O. McCarthy, A.J. Paredes, R.F. Donnelly, Intradermal delivery of the antiretroviral drugs cabotegravir and rilpivirine by dissolving microarray patches: Investigation of lymphatic uptake, *J Control Release*, 366 (2024) 548-566.
- [145] Q.K. Anjani, A.K. Pandya, S. Demartis, J. Dominguez-Robles, N. Moreno-Castellanos, H. Li, E. Gavini, V.B. Patravale, R.F. Donnelly, Liposome-loaded polymeric microneedles for enhanced skin deposition of rifampicin, *Int J Pharm*, 646 (2023) 123446.
- [146] L.K. Vora, I.A. Tekko, F.V. Zanutto, A. Sabri, R.K.M. Choy, J. Mistilis, P. Kwarteng, C. Jarrahan, H.O. McCarthy, R.F. Donnelly, A bilayer microarray patch (MAP) for HIV pre-exposure prophylaxis: The role of MAP designs and formulation composition in enhancing long-acting drug delivery, *Pharmaceutics*, 16 (2024) 16010142.
- [147] B. Derby, Inkjet printing of functional and structural materials: Fluid property requirements, feature stability, and resolution, *Annu Rev Mater Res*, 40 (2010) 395-414.

- [148] G.D. Martin, S.D. Hoath, I.M. Hutchings, Inkjet printing - The physics of manipulating liquid jets and drops, *Journal of Physics: Conference Series*, 105 (2008) 012001.
- [149] D. Li, D. Sutton, A. Burgess, D. Graham, P.D. Calvert, Conductive copper and nickel lines via reactive inkjet printing, *J Mater Chem*, 19 (2009) 3719-3724.
- [150] M. Fligge, I. Letofsky-Papst, M. Baumers, A. Zimmer, J. Breitzkreutz, Personalized dermal patches - Inkjet printing of prednisolone nanosuspensions for individualized treatment of skin diseases, *Int J Pharm*, 630 (2023) 122382.
- [151] Y. Thabet, D. Lunter, J. Breitzkreutz, Continuous inkjet printing of enalapril maleate onto orodispersible film formulations, *Int J Pharm*, 546 (2018) 180-187.
- [152] O. Kiefer, B. Fischer, J. Breitzkreutz, Fundamental investigations into metoprolol tartrate deposition on orodispersible films by inkjet printing for individualised drug dosing, *Pharmaceutics*, 13 (2021) 13020247.
- [153] P.F. Blazdell, J.R.G. Evans, Application of a continuous ink jet printer to solid freeforming of ceramics, *J Mater Process Technol*, 99 (2000) 94-102.
- [154] A.B. Aqeel, M. Mohasan, P. Lv, Y. Yang, H. Duan, Effects of the actuation waveform on the drop size reduction in drop-on-demand inkjet printing, *Acta Mechanica Sinica*, 36 (2020) 983-989.
- [155] Q.F. Xiang, J.R.G. Evans, M.J. Edirisinghe, P.F. Blazdell, Solid freeforming of ceramics using a drop-on-demand jet printer, *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part B: J Eng Manufact*, 211 (2005) 211-214.
- [156] C.E. Slade, J.R.G. Evans, Freeforming ceramics using a thermal jet printer, *J Mater Sci*, 17 (1998) 1669-1671.
- [157] H.K. Cader, G.A. Rance, M.R. Alexander, A.D. Goncalves, C.J. Roberts, C.J. Tuck, R.D. Wildman, Water-based 3D inkjet printing of an oral pharmaceutical dosage form, *Int J Pharm*, 564 (2019) 359-368.
- [158] M. Palo, K. Kogermann, I. Laidmae, A. Meos, M. Preis, J. Heinamaki, N. Sandler, Development of oromucosal dosage forms by combining electrospinning and inkjet printing, *Mol Pharm*, 14 (2017) 808-820.
- [159] J. Pardeike, D.M. Strohmeier, N. Schrodli, C. Voura, M. Gruber, J.G. Khinast, A. Zimmer, Nanosuspensions as advanced printing ink for accurate dosing of poorly soluble drugs in personalized medicines, *Int J Pharm*, 420 (2011) 93-100.
- [160] E.A. Allen, C. O'Mahony, M. Cronin, T. O'Mahony, A.C. Moore, A.M. Crean, Dissolvable microneedle fabrication using piezoelectric dispensing technology, *Int J Pharm*, 500 (2016) 1-10.
- [161] M.J. Uddin, N. Scoutaris, P. Klepetsanis, B. Chowdhry, M.R. Prausnitz, D. Douroumis, Inkjet printing of transdermal microneedles for the delivery of anticancer agents, *Int J Pharm*, 494 (2015) 593-602.

- [162] Z. Du, X. Yu, Y. Han, Inkjet printing of viscoelastic polymer inks, *Chin Chem Lett*, 29 (2018) 399-404.
- [163] J.E. Fromm, Numerical calculation of the fluid dynamics of drop-on-demand jets, *IBM J Res Dev*, 28 (1984) 322-333.
- [164] N. Reis, B. Derby, Ink jet deposition of ceramic suspensions: Modeling and experiments of droplet formation, *MRS Proceedings*, 625 (2011) 117.
- [165] Y. Liu, B. Derby, Experimental study of the parameters for stable drop-on-demand inkjet performance, *Physics of Fluids*, 31 (2019) 032004.
- [166] B. Derby, Inkjet printing ceramics: From drops to solid, *J Eur Ceram Soc*, 31 (2011) 2543-2550.
- [167] S. Krainer, C. Smit, U. Hirn, The effect of viscosity and surface tension on inkjet printed picoliter dots, *RSC Adv*, 9 (2019) 31708-31719.
- [168] S.G. Lancaster, P.A. Todd, Lisinopril. A preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in hypertension and congestive heart failure, *Drugs*, 35 (1988) 646-669.
- [169] K.D. Rainsford, Ibuprofen: Pharmacology, efficacy and safety, *Inflammopharmacology*, 17 (2009) 275-342.
- [170] A. Panda, A. Shettar, P.K. Sharma, M.A. Repka, S.N. Murthy, Development of lysozyme loaded microneedles for dermal applications, *Int J Pharm*, 593 (2021) 120104.
- [171] S. Pawar, P. Shende, 2(2) factorial design-based biocompatible microneedle arrays containing artemether co-loaded with lumefantrine nanoparticles for transepidermal delivery, *Biomed Microdevices*, 22 (2020) 19.
- [172] N.N. Aung, T. Ngawhirunpat, T. Rojanarata, P. Patrojanasophon, P. Opanasopit, B. Pamornpathomkul, HPMC/PVP dissolving microneedles: A promising delivery platform to promote trans-epidermal delivery of alpha-arbutin for skin lightening, *AAPS PharmSciTech*, 21 (2019) 25.
- [173] S. Liu, M.N. Jin, Y.S. Quan, F. Kamiyama, H. Katsumi, T. Sakane, A. Yamamoto, The development and characteristics of novel microneedle arrays fabricated from hyaluronic acid, and their application in the transdermal delivery of insulin, *J Control Release*, 161 (2012) 933-941.
- [174] E. Altuntas, I.A. Tekko, L.K. Vora, N. Kumar, R. Brodsky, O. Chevallier, E. McAlister, Q. Kurnia Anjani, H.O. McCarthy, R.F. Donnelly, Nestorone nanosuspension-loaded dissolving microneedles array patch: A promising novel approach for "on-demand" hormonal female-controlled peritcoital contraception, *Int J Pharm*, 614 (2022) 121422.
- [175] Technisches Datenblatt Kollicoat IR, BASF, (2015).
- [176] Technisches Datenblatt Soluplus, BASF, (2019).

- [177] E.A. Fouad, M. El-Badry, S.H. Neau, F.K. Alanazi, I.A. Alsarra, Technology evaluation: Kollicoat IR, *Expert Opin Drug Deliv*, 8 (2011) 693-703.
- [178] P. Gonzalez-Vazquez, E. Larraneta, M.T.C. McCrudden, C. Jarrahan, A. Rein-Weston, M. Quintanar-Solares, D. Zehring, H. McCarthy, A.J. Courtenay, R.F. Donnelly, Transdermal delivery of gentamicin using dissolving microneedle arrays for potential treatment of neonatal sepsis, *J Control Release*, 265 (2017) 30-40.
- [179] Q.K. Anjani, A.H.B. Sabri, N. Moreno-Castellanos, E. Utomo, A. Carcamo-Martinez, J. Dominguez-Robles, L.A.H. Wardoyo, R.F. Donnelly, Soluplus(R)-based dissolving microarray patches loaded with colchicine: Towards a minimally invasive treatment and management of gout, *Biomater Sci*, 10 (2022) 5838-5855.
- [180] L.K. Vora, A.J. Courtenay, I.A. Tekko, E. Larraneta, R.F. Donnelly, Pullulan-based dissolving microneedle arrays for enhanced transdermal delivery of small and large biomolecules, *Int J Biol Macromol*, 146 (2020) 290-298.
- [181] G. Li, A. Badkar, S. Nema, C.S. Kolli, A.K. Banga, In vitro transdermal delivery of therapeutic antibodies using maltose microneedles, *Int J Pharm*, 368 (2009) 109-115.
- [182] H.R. Jeong, J.Y. Kim, S.N. Kim, J.H. Park, Local dermal delivery of cyclosporin A, a hydrophobic and high molecular weight drug, using dissolving microneedles, *Eur J Pharm Biopharm*, 127 (2018) 237-243.
- [183] S. Pervez, F. Nasir, T. Hidayatullah, M.A. Khattak, F. Alasmari, S.R. Zainab, S. Gohar, A. Tahir, G.E. Maryam, Transdermal delivery of glimepiride: A novel approach using nanomicelle-embedded microneedles, *Pharmaceutics*, 15 (2023) 15082019.
- [184] W. Sun, Z. Araci, M. Inayathullah, S. Manickam, X. Zhang, M.A. Bruce, M.P. Marinkovich, A.T. Lane, C. Milla, J. Rajadas, M.J. Butte, Polyvinylpyrrolidone microneedles enable delivery of intact proteins for diagnostic and therapeutic applications, *Acta Biomater*, 9 (2013) 7767-7774.
- [185] N.U. Rehman, C. Song, J. Kim, I. Noh, Y.S. Rhee, H.J. Chung, Pharmacokinetic evaluation of a novel donepezil-loaded dissolving microneedle patch in rats, *Pharmaceutics*, 14 (2021) 14010005.
- [186] S.D. Gittard, A. Ovsianikov, H. Akar, B. Chichkov, N.A. Monteiro-Riviere, S. Stafslie, B. Chisholm, C.C. Shin, C.M. Shih, S.J. Lin, Y.Y. Su, R.J. Narayan, Two photon polymerization-micromolding of polyethylene glycol-gentamicin sulfate microneedles, *Adv Eng Mater*, 12 (2010) 77-82.
- [187] H.Y. Gan, X. Shan, T. Eriksson, B.K. Lok, Y.C. Lam, Reduction of droplet volume by controlling actuating waveforms in inkjet printing for micro-pattern formation, *J Micromech Microeng*, 19 (2009) 055010.

- [188] L.C. Su, M.C. Chen, Efficient delivery of nanoparticles to deep skin layers using dissolvable microneedles with an extended-length design, *J Mater Chem B*, 5 (2017) 3355-3363.
- [189] Q.K. Anjani, A.H.B. Sabri, E. Utomo, J. Dominguez-Robles, R.F. Donnelly, Elucidating the impact of surfactants on the performance of dissolving microneedle array patches, *Mol Pharm*, 19 (2022) 1191-1208.
- [190] H.L. Quinn, L. Bonham, C.M. Hughes, R.F. Donnelly, Design of a dissolving microneedle platform for transdermal delivery of a fixed-dose combination of cardiovascular Drugs, *J Pharm Sci*, 104 (2015) 3490-3500.
- [191] M. He, G. Yang, X. Zhao, S. Zhang, Y. Gao, Intradermal implantable PLGA microneedles for etonogestrel sustained release, *J Pharm Sci*, 109 (2020) 1958-1966.
- [192] A. Göbel, J. Breitzkreutz, Concept of orodispersible or mucoadhesive "Tandem Films" and their pharmaceutical realization, *Pharmaceutics*, 14 (2022) 264.
- [193] Y. Wu, L.K. Vora, Y. Wang, M.F. Adrianto, I.A. Tekko, D. Waite, R.F. Donnelly, R.R.S. Thakur, Long-acting nanoparticle-loaded bilayer microneedles for protein delivery to the posterior segment of the eye, *Eur J Pharm Biopharm*, 165 (2021) 306-318.
- [194] S. Lau, J. Fei, H. Liu, W. Chen, R. Liu, Multilayered pyramidal dissolving microneedle patches with flexible pedestals for improving effective drug delivery, *J Control Release*, 265 (2017) 113-119.
- [195] Y. Xia, K. Xu, M. Luo, Z. Li, S. He, T. Gong, Z. Zhang, L. Deng, A bilayer microneedle for modulated sequential release of adrenaline and lidocaine for prolonged local anesthesia, *ACS Appl Bio Mater*, 7 (2024) 1229-1239.
- [196] C. Zhang, L.K. Vora, I.A. Tekko, F. Volpe-Zanutto, K. Peng, A.J. Paredes, H.O. McCarthy, R.F. Donnelly, Development of dissolving microneedles for intradermal delivery of the long-acting antiretroviral drug bicitgravir, *Int J Pharm*, 642 (2023) 123108.
- [197] C.P.P. Pere, S.N. Economidou, G. Lall, C. Ziraud, J.S. Boateng, B.D. Alexander, D.A. Lamprou, D. Douroumis, 3D printed microneedles for insulin skin delivery, *Int J Pharm*, 544 (2018) 425-432.
- [198] Z. Dong, W. Zhao, Y. Li, X. Wang, T. Ma, Y. Wang, L. Zhang, F. Wei, H. Liu, Q. Wang, Development and evaluation of new methods for protein quantification in dissolving microneedles formulations, *J Pharm Biomed Anal*, 189 (2020) 113453.
- [199] A. Zaid Alkilani, H. Abo-Zour, H.A. Basheer, H. Abu-Zour, R.F. Donnelly, Development and evaluation of an innovative approach using niosomes based polymeric microneedles to deliver dual antioxidant drugs, *Polymers*, 15 (2023) 962.

- [200] M.A. Frohoff-Hulsmann, A. Schmitz, B.C. Lippold, Aqueous ethyl cellulose dispersions containing plasticizers of different water solubility and hydroxypropyl methylcellulose as coating material for diffusion pellets. I. Drug release rates from coated pellets, *Int J Pharm*, 177 (1999) 69-82.
- [201] I. Singh, V. Rana, Iron oxide induced enhancement of mucoadhesive potential of Eudragit RLPO: Formulation, evaluation and optimization of mucoadhesive drug delivery system, *Expert Opin Drug Deliv*, 10 (2013) 1179-1191.
- [202] N. Pearnchob, R. Bodmeier, Dry powder coating of pellets with micronized Eudragit RS for extended drug release, *Pharm Res*, 20 (2003) 1970-1976.
- [203] M.A. Frohoff-Hulsmann, B.C. Lippold, J.W. McGinity, Aqueous ethyl cellulose dispersion containing plasticizers of different water solubility and hydroxypropyl methyl-cellulose as coating material for diffusion pellets II: properties of sprayed films, *Eur J Pharm Biopharm*, 48 (1999) 67-75.
- [204] M. Xing, Y. Ma, X. Wei, C. Chen, X. Peng, Y. Ma, B. Liang, Y. Gao, J. Wu, Preparation and evaluation of auxiliary permeable microneedle patch composed of polyvinyl alcohol and eudragit NM30D aqueous dispersion, *Pharmaceutics*, 15 (2023) 2007.
- [205] N.N. Aung, T. Ngawhirunpat, T. Rojanarata, P. Patrojanasophon, P. Opanasopit, B. Pamornpathomkul, Enhancement of transdermal delivery of resveratrol using Eudragit and polyvinyl pyrrolidone-based dissolving microneedle patches, *J Drug Deliv Sci Technol*, 61 (2021) 102284.
- [206] D. Jakka, A.V. Matadh, V.K. Shankar, H.N. Shivakumar, S. Narasimha Murthy, Polymer coated polymeric (PCP) microneedles for controlled delivery of drugs (dermal and intravitreal), *J Pharm Sci*, 111 (2022) 2867-2878.
- [207] Q.K. Anjani, F. Volpe-Zanutto, K.A. Hamid, A.H.B. Sabri, N. Moreno-Castellano, X.A. Gaitan, J. Calit, D.Y. Bargieri, R.F. Donnelly, Primaquine and chloroquine nano-sized solid dispersion-loaded dissolving microarray patches for the improved treatment of malaria caused by *Plasmodium vivax*, *J Control Release*, 361 (2023) 385-401.
- [208] M.P. Oth, A.J. Moës, Sustained release solid dispersions of indomethacin with Eudragit RS and RL, *Int J Pharm*, 55 (1989) 157-164.
- [209] Y. Cao, Y. Tao, Y. Zhou, S. Gui, Development of sinomenine hydrochloride-loaded polyvinylalcohol/maltose microneedle for transdermal delivery, *J Drug Deliv Sci Technol*, 35 (2016) 1-7.
- [210] N.N. Aung, S. Pengnam, T. Ngawhirunpat, T. Rojanarata, P. Patrojanasophon, P. Opanasopit, B. Pamornpathomkul, Fabrication of polyvinyl pyrrolidone-K90/Eudragit RL100-based dissolving microneedle patches loaded with alpha-arbutin and resveratrol for skin depigmentation, *Biomater Sci*, 11 (2023) 4583-4601.

- [211] D. Ando, M. Miyatsuji, H. Sakoda, E. Yamamoto, T. Miyazaki, T. Koide, Y. Sato, K.I. Izutsu, Mechanical characterization of dissolving microneedles: Factors affecting physical strength of needles, *Pharmaceutics*, 16 (2024) 200.
- [212] S. Thakral, N.K. Thakral, D.K. Majumdar, Eudragit: A technology evaluation, *Expert Opin Drug Deliv*, 10 (2013) 131-149.
- [213] A. Carcamo-Martinez, B. Mallon, Q.K. Anjani, J. Dominguez-Robles, E. Utomo, L.K. Vora, I.A. Tekko, E. Larraneta, R.F. Donnelly, Enhancing intradermal delivery of tofacitinib citrate: Comparison between powder-loaded hollow microneedle arrays and dissolving microneedle arrays, *Int J Pharm*, 593 (2021) 120152.
- [214] Z. Chen, B. Han, L. Liao, X. Hu, Q. Hu, Y. Gao, Y. Qiu, Enhanced transdermal delivery of polydatin via a combination of inclusion complexes and dissolving microneedles for treatment of acute gout arthritis, *J Drug Deliv Sci Technol*, 55 (2020) 101487.
- [215] P. Dali, P. Shende, Use of 3D applicator for intranasal microneedle arrays for combinational therapy in migraine, *Int J Pharm*, 635 (2023) 122714.
- [216] Y.W. Naguib, A. Kumar, Z. Cui, The effect of microneedles on the skin permeability and antitumor activity of topical 5-fluorouracil, *Acta Pharm Sin B*, 4 (2014) 94-99.
- [217] R.C. Scott, M.A. Corrigan, F. Smith, H. Mason, The influence of skin structure on permeability: An intersite and interspecies comparison with hydrophilic penetrants, *J Invest Dermatol*, 96 (1991) 921-925.
- [218] R. Naffa, C. Maidment, M. Ahn, B. Ingham, S. Hinkley, G. Norris, Molecular and structural insights into skin collagen reveals several factors that influence its architecture, *Int J Biol Macromol*, 128 (2019) 509-520.
- [219] E. Dathathri, S. Lal, M. Mittal, G. Thakur, S. De, Fabrication of low-cost composite polymer-based micro needle patch for transdermal drug delivery, *Appl Nanosci*, 10 (2019) 371-377.
- [220] D. Jang, D. Kim, J. Moon, Influence of fluid physical properties on ink-jet printability, *Langmuir*, 25 (2009) 2629-2635.
- [221] Y. Gao, M. Hou, R. Yang, L. Zhang, Z. Xu, Y. Kang, P. Xue, Highly porous silk fibroin scaffold packed in PEGDA/sucrose microneedles for controllable transdermal drug delivery, *Biomacromolecules*, 20 (2019) 1334-1345.
- [222] M.C. Chen, S.F. Huang, K.Y. Lai, M.H. Ling, Fully embeddable chitosan microneedles as a sustained release depot for intradermal vaccination, *Biomaterials*, 34 (2013) 3077-3086.
- [223] Y. Xie, B. Xu, Y. Gao, Controlled transdermal delivery of model drug compounds by MEMS microneedle array, *Nanomedicine*, 1 (2005) 184-190.
- [224] K.Y. Hwa, V.H.S. Chang, Y.Y. Cheng, Y.D. Wang, P.S. Jan, B. Subramani, M.J. Wu, B.K. Wang, Analyzing polymeric matrix for fabrication of a biodegradable microneedle array to enhance transdermal delivery, *Biomed Microdevices*, 19 (2017) 84.

- [225] U. Angkawinitwong, A.J. Courtenay, A.M. Rodgers, E. Larraneta, H.O. McCarthy, S. Brocchini, R.F. Donnelly, G.R. Williams, A novel transdermal protein delivery strategy via electrohydrodynamic coating of PLGA microparticles onto microneedles, *ACS Appl Mater Interfaces*, 12 (2020) 12478-12488.
- [226] J.D. Kim, J.S. Choi, B.S. Kim, Y. Chan Choi, Y.W. Cho, Piezoelectric inkjet printing of polymers: Stem cell patterning on polymer substrates, *Polymer*, 51 (2010) 2147-2154.
- [227] H.K. Makadia, S.J. Siegel, Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier, *Polymers*, 3 (2011) 1377-1397.
- [228] C. Bassand, J. Freitag, L. Benabed, J. Verin, F. Siepmann, J. Siepmann, PLGA implants for controlled drug release: Impact of the diameter, *Eur J Pharm Biopharm*, 177 (2022) 50-60.
- [229] M.B. Ewing, J.C.S. Ochoa, Vapor pressures of acetonitrile determined by comparative ebulliometry, *J Chem Eng Data*, 49 (2004) 486-491.
- [230] M. Fulem, K. Růžička, M. Růžička, Recommended vapor pressures for thiophene, sulfolane, and dimethyl sulfoxide, *Fluid Phase Equilibria*, 303 (2011) 205-216.
- [231] A. Otterbach, A. Lamprecht, Enhanced skin permeation of estradiol by dimethyl sulfoxide containing transdermal patches, *Pharmaceutics*, 13 (2021) 320.
- [232] J.H. Park, M.G. Allen, M.R. Prausnitz, Polymer microneedles for controlled-release drug delivery, *Pharm Res*, 23 (2006) 1008-1019.
- [233] Y. Zhang, G. Hu, Y. Liu, J. Wang, G. Yang, D. Li, Suppression and utilization of satellite droplets for inkjet printing: A review, *Processes*, 10 (2022) 932.
- [234] A.D. Permana, A.J. Paredes, F. Volpe-Zanutto, Q.K. Anjani, E. Utomo, R.F. Donnelly, Dissolving microneedle-mediated dermal delivery of itraconazole nanocrystals for improved treatment of cutaneous candidiasis, *Eur J Pharm Biopharm*, 154 (2020) 50-61.
- [235] S.M. Al-Saidan, Transdermal self-permeation enhancement of ibuprofen, *J Control Release*, 100 (2004) 199-209.
- [236] D. Southwell, B. Barry, Penetration enhancement in human skin; Effect of 2-pyrrolidone, dimethylformamide and increased hydration on finite dose permeation of aspirin and caffeine, *Int J Pharm*, 22 (1984) 291-298.
- [237] International conference on harmonization, Guideline Q3C (R8), (2021). Letzter Aufruf: 03.10.2024
- [238] A.M. Rapoport, M. Ameri, H. Lewis, D.J. Kellerman, Development of a novel zolmitriptan intracutaneous microneedle system (Qtrypta) for the acute treatment of migraine, *Pain Manag*, 10 (2020) 359-366.
- [239] PixDro LP50 Benutzerhandbuch, Meyer Burger, Eindhoven, Niederlande, (v.V5.1.2015).

8. Danksagung

Zuallererst möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Jörg Breitzkreutz für die freundliche und herzliche Aufnahme in seinen Arbeitskreis danken. Ich danke herzlich, dass ich ein spannendes und innovatives Promotionsthema bearbeiten durfte. Ich bedanke mich für die gute Betreuung in den vergangenen Jahren und Ihre stetig offene Tür. Ich konnte jederzeit nach Ihrem Rat fragen und schätzte Ihre Meinung sehr. Vielen Dank für die vielen spannenden Anregungen und Diskussionen bzgl. meiner Arbeit und die entspannte Atmosphäre während der Treffen. Außerdem danke ich zutiefst für Ihr Vertrauen in meine Arbeit, sodass ich eigene Ideen und Anregungen immer einbringen konnte.

Jun-Prof. Dr. Michael Hacker danke ich für die Übernahme des Koreferates. Es bereitete mir immer große Freude mit dir die Daten zu besprechen und bin dir dankbar für deine offene und ehrliche Art. Danke, dass du mir geholfen hast, den Weg der Promotion zu meistern. Ohne deine Anmerkungen und Verbesserungsvorschläge wäre diese Arbeit in dem Maße nicht möglich gewesen.

Herrn Prof. Dr. Peter Kleinebudde danke ich für die Übernahme der Mentorenschaft während meiner Promotion. Außerdem danke ich Ihnen für die zahlreichen interessanten Einwände und Vorschläge im Rahmen der Fokusgruppen. Ihr differenzierter Blickwinkel auf die erzielten Ergebnisse und Daten half ungemein, die Qualität der Arbeit zu verbessern.

Frau Prof. Dr. Anne Seidlitz danke ich für die nützlichen Anmerkungen im Rahmen der Fokusgruppen. Durch die Diskussionen mit dir konnte ich die Qualität der Promotionsarbeit entscheidend steigern. Danke auch für die schöne Zeit während der gemeinsamen Betreuung des Moduls „Regulatory Framework“ im Masterstudiengang. Mit dir kam mir diese Zeit kaum mehr wie Arbeit vor und es machte mir eine große Freude.

Ich danke allen verantwortlichen Personen von LTS Lohmann-Therapiesysteme AG für das Zurverfügungstellen der Micromolds. Ohne diese Unterstützung wäre die Herstellung der Mikronadelsysteme niemals möglich gewesen und viele Ideen wären lediglich Ideen geblieben.

Dr. Tobias Tellkamp-Schehr von Labtec by AdhexPharma danke ich herzlich für die Unterstützung im Rahmen der Versuche mit Humanhaut.

Den Postdocs des Institutes, Dr. Tobias Auel, Dr. Sebastian Braun und Dr. Björn Fischer danke ich für ihre stetige Unterstützung.

Sebastian, vielen Dank für deine ansteckende Leidenschaft über Mirkonadelsysteme. Du warst mir während der gesamten Promotionszeit eine riesige Hilfe und der Dank, der dir gebührt, lässt sich nur schwer in Worte fassen. Vor allem zu Beginn meiner Zeit am Institut,

als ich mich selbst erst einmal in das Thema einfinden musste, warst du immer und überall erreichbar, wenn bei mir mal wieder der Schuh gedrückt hat. Dank deiner Vorschläge, Ideen und Unterstützung war die Umsetzung dieser Arbeit überhaupt erst möglich. Danke für das Reviewen zahlreicher Kongressbeiträge und Publikationen. Mit dir hat das Diskutieren über Mikronadelsysteme Spaß gemacht und ich wurde nach jedem unserer Meetings schlauer. Danke, dass du in meinem zweiten Jahr an unser Institut gekommen bist!

Björn, dir möchte ich für die gemeinsamen Untersuchungen mittels konfokaler Ramanmikroskopie danken. Ohne deinen Elan und deine Begeisterung hätten wir niemals die mehrschichtigen Mikronadelsysteme so gut charakterisieren können. Danke für deine vielen Stunden, die du am Mikroskop verbracht hast und deine Hartnäckigkeit, bis wir eine geeignete Methode gefunden haben. Auch behalte ich unsere Diskussionen in guter Erinnerung. Die Zeit ist immer verfliegen mit dir, wenn wir bei literweise Kaffee die Daten gemeinsam diskutiert haben und mehr als einmal vom Thema abgeschweift sind.

Tobi, danke für die tolle Freundschaft die während meiner Promotionszeit mit dir entstanden ist. Sei es beim gemeinsamen Bier trinken, beim frühmorgendlichen Pumpen im FitX oder beim Fußballgucken – du hast den Unialltag oftmals erträglicher gemacht und hattest immer ein offenes Ohr. Auch deine fachlichen Ratschläge und Tipps waren immer eine große Hilfe. Danke, dass du als Postdoc zu uns gekommen bist.

Meinen langjährigen Bürokollegen Mariele Scherer (Fliggi), Finn Siebel und Lee Roy Oldfield danke ich vom ganzen Herzen. Ihr werdet immer einen besonderen Platz in meinem Herzen haben! Danke für eure zahlreichen Anmerkungen und die fachlichen Diskussionen. Ihr habt mir in der gesamten Zeit Rückhalt gegeben und wusstet, wie ihr mich immer aufmuntern konntet. Danke für die unendlich schönen Erinnerungen, die tollen Gespräche und die Freundschaft. Ich denke gerne an die zahllosen Hektoliter Kaffee und die Nerf-Gun-Schlachten zurück.

Chris Mentrup (sorry, alle Namen kann ich mir immer noch nicht merken) und Tessa Boralewski danke ich für die tolle Büronachbarschaft. Mit euch konnte die Mittagspause auch gerne mal 2 Stunden dauern, die Zeit verging bei tollen Gesprächen eben wie im Flug. Mit euch ist unser Kaffeeverbrauch ins Unermessliche gestiegen und 1 kg Bohnen in 5 Tagen waren keine Seltenheit. Danke für eure Freundschaft und eure Unterstützung.

Julia Matros und Charline Hoffmann möchte ich für die tollen gemeinsamen Momente danken. Sei es beim gemeinsamen Mittagessen in der Mensa, beim Feiern oder auch im Labor – mit euch war die Zeit immer lustig.

Johannes „Jonathan“ Reiß danke ich für die entwickelte Freundschaft. Danke für hunderte Bierpong-Matches. Wir wurden ein unbesiegbares Team, dass noch in Jahrzehnten von den

Studierenden gefürchtet sein wird. Dank dir konnte ich die ostdeutsche Kultur ein wenig besser verstehen und schätzen lernen :)

Max Schulz danke ich für die anfängliche Unterstützung am PixDro. Ohne deine ruhige und besonnene Art hätte ich das Gerät mehrmals am liebsten aus dem Fenster geworfen.

Hanna „Plappi“ Grumann danke ich für die tolle gemeinsame Zeit am Institut und die daraus entstandene Freundschaft.

Den Studierenden Nazgol Yadmand, Leonie Süselbeck, Leonie Lemberg, Yusra Lmaslam und Awadhi Arora danke ich für die unterstützende Arbeit im Rahmen ihrer WPP-Arbeiten. Ihr habt diese Promotion mitgeprägt.

Ich danke auch allen ungenannten aktuellen und ehemaligen Institutsmitgliedern. Ihr habt die Promotion zu einer unvergesslichen Zeit gemacht. Ich behalte die gemeinsamen Konferenzen und Teamevents in guter Erinnerung.

Meinen Jungs Focke, Jakob, Jul, Freddy, Jan, Egger, Klaus, Rubi, Draeger, Eule und Jacek danke ich für die Ablenkung vom Uni-Alltag und ihre Freundschaft. Der DC und unsere gemeinsamen Touren waren und sind das Highlight zahlreicher Wochenenden mit viel Bier und wenig Schlaf.

Sabrina Berkenkemper danke ich für alles. Du hast mir zu Beginn meiner Promotion als Mentorin geholfen und wurdest meine Seelenverwandte. Du bist mein Lieblingsmensch geworden und ich danke dir von ganzem Herzen für deine Liebe, Unterstützung und deine Rückendeckung. Danke, dass du immer für mich da bist.

Zuletzt möchte ich meiner Familie danken. Ohne euch wäre die gesamte Zeit meiner Ausbildung, begonnen bei der Schulzeit, über das Studium, bis hin zur Promotion, nicht möglich gewesen. Ihr habt mich immer voller Liebe und Überzeugung unterstützt. Danke, dass ihr immer für mich da seid!

9. Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere an Eides statt, dass die vorliegende Dissertation von mir selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe unter Beachtung der „Grundsätze zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf“ erstellt worden ist.

Düsseldorf, den 10.10.2024

Lukas Christian Lammerding