

[bilingual text:]

The Tolerability of Nasal Drugs With Special Regard to Preservatives and Physico-chemical Parameters

Th. Verse ¹
C. Sikora ²
P. Rudolph ²
N. Klöcker ³

Abstract

Background: Recent technical developments allow preservative-free nasal drug application in multi-dose systems. New pharmaceutical formulations for better tolerable nasal sprays are now possible and consequently reformulations introduced to the market. Therefore, a representative and systematic overview on comparable products is mandatory.

Methods: Marketed nasal products in the indication groups: decongestants, antiallergics, care and wound-healing, hormones and saline solutions were tested for their cytotoxic properties according to DIN EN 30993 – 5, pH, and osmolality.

Results: In all indication groups reformulation to preservative-free application resulted in significant increase of cell growth and reduction of cytotoxicity. Physico-chemical galenic properties are of considerable importance too. With decongestants tolerability is dependant on the concentration of the active compound.

Conclusions: Our data lead to the conclusion that preserved nasal sprays are obsolete, when preservative-free alternatives are available. Attention should be paid to galenic properties and dosage of the active.

Key words

Nasal sprays · preservatives · benzalkonium chloride · tolerability · cytotoxicity

Institute information

- ¹ Ear, nose and throat hospital Mannheim University (director: Prof. Dr. med. K. Hörmann)
- ² Institute of Hygiene and Environmental Medicine, Ernst-Moritz-Armdt University (director: Prof. Dr. med. A. Kramer)
- ³ AUDIT institute, Taunusstein

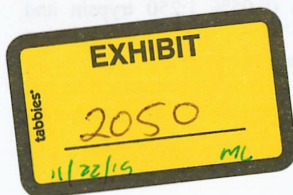
Correspondence address

Priv.-Doz. Dr. med. Thomas Verse – Ear, nose and throat hospital Mannheim University – 68135 Mannheim
Email: thomas.verse@hno.ima.uni-heidelberg.de

Received: June 20, 2003 – Accepted: August 27, 2003

Bibliography

Laryngo-Rhino-Otol 2003; 82: 782-789 © Georg Thieme Verlag Stuttgart – New York – ISSN 0935-8943



Introduction

The European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) stipulates the addition of suitable preservatives at an appropriate concentration for preparations for nasal application (nasal drugs) in multidose containers. The only exception are established and approved exemptions such as, e.g., oils, auto-microbicidal solutions or preparations for immediate and short-term application prepared by the pharmacist. Most of the nasal drugs on the market are preserved with benzalkonium chloride (BZC) at concentrations of 0.005% to 0.02%. The pharmacopoeia furthermore stipulates for preparations for nasal application that they are not irritating and do not have any adverse effects on the function of mucociliary clearance. This is a conflict in itself since the allergenic and cytotoxic potential of preservatives has been known for some time and the negative effect of preservatives on ciliary function has been described in many ways [1-6]. For this reason, the Federal Institute for Drugs and Medical Devices (FIDMD) has since then initiated a step-by-step plan combating BZC in nasal drugs [7].

Knowledge of the harmful effect of preservatives [8] first led to the development of preservative-free (psf) alternatives in ophthalmology, initially in form of single-dose containers (SDC), then also multidose containers (COMOD system). Psf systems have also been available for nasal drugs for some time. A considerable amount of preparations have been changed or are currently being changed. The microbiological safety of the new psf systems has been proven without a doubt in extensive testing and they are thus the state of the art [9].

To date, there were no extensive practical comparative studies that would allow for a justified statement on the comparison of the cytotoxic properties of market-based preparations and provide the physician or pharmacist with a rational selection. The data available to date on the toxicity of preservatives in nasal drugs is mostly based on animal experiments *ex vivo*, *in vivo* examinations on the cilia or rather *in vitro* examinations of the cell culture. *In vivo* studies were barely possible to date due to lack of comparative preparations free of preservatives.

For this reason we conducted an extensive cytotoxic examination of almost all available preparations on the market. The selection was based on the respective market share so that the most important preparations were included. We also determined the pH and osmolality in all cases since a direct statement on the prefabricated compound is only possible if the main properties of the matrix are known. Most of the examinations were performed as part of a dissertation. The results presented here represent an excerpt that is relevant for the medical practice.

Methodology

Cytotoxicity testing was performed according to DIN EN 30993-5. The growth values indicate the mean value from 19 individual tests per preparation, compared to the respective control. These are thus relative values.

The exact course of the testing was already described in an earlier work [10]. FL cells, a cell line of the human amnion, was used for cell cultivation. The inventory was kept in 250 ml tissue culture bottles (Greiner GmbH, Solingen). The cells were passaged every 4 hours. The inventory was cultivated again from the cell culture after the 100th passage. For this, the medium was decanted, the cell layer rinsed with 20 ml PBS (phosphate buffered saline), uniformly moistened with 20 ml of the enzyme solution (0.05% 1:250 trypsin + 0.02% EDTA in Ca²⁺ and Mg²⁺ free PBS) and the solution decanted again. After incubation of the bottles at 37°C for about 10 minutes, the separated cells were suspended in 40 ml MEM (minimum essential medium) + 8% serum and the cell count determined by means of the universal counter. 4 x 10⁶ cells were sowed in 75 ml growth medium per subculture bottle.

For testing the cells were sowed in culture tubes (ca. 200,000 cells/1.5 ml growth medium per tube) after previous separation. The growth medium consists of 70% lactalbumin hydrolysate and 30% MEM with additives of 1% antibiotic solution (final concentration: 100 IU Penicillin G and 100 µg Streptomycin sulfate/ml) and 8% bovine calf serum. The pH was adjusted to 7.2 with 1 M NaOH solution. Then, the medium was heated in a water bath at 37°C.

The cells were available as monolayer after 72 hours of cultivation. Afterwards, a medium change with incubation medium is performed. It consists of MEM + 1% antibiotic solution + 1% bovine calf serum (control). The incubation medium additionally contains the trial substance.

The substances to be tested were initially dissolved in water. Medium was used for the two last dilution steps and the pH was adjusted to 7.2. The incubation medium was heated to 37°C in a water bath. The solutions are prepared anew for each test. The incubation medium is made about 30 minutes before the medium change and stored in a refrigerator after cooling. 1 ml of the antibiotic solution of Penicillin and Streptomycin is applied to 100 ml medium. The inventory solutions of antibiotics and serum are stored in a freezer at -18°C. The cell were incubated in the medium with the trial substance for 24 hours.

The medium is decanted, the cell layer uniformly moistened with 0.3 ml enzyme solution (0.05% 1:250 trypsin and 0.02% EDTA in Ca²⁺ and Mg²⁺ free PBS) and the solution decanted. After the tubes are incubated at 37°C for about 10 minutes, the separated cells are suspended in 1 ml MEM and 1% serum each and the cell count is determined by means of the universal counter.

Tab. 1 Decongestants, Xylometazoline

Trade name	Manufacturer	Form	Active agent	Conc. (%)	Additives	Preservation	pH	Osmolality	Growth (%)
Xylometazoline + Dexpanthenol	New development	NS	Xylometazoline	0.1	Dexpanthenol 5%	Ø	5.58	422	84
Xylometazoline + Hyaluronic acid	New development	NS	Xylometazoline	0.1	Hyaluronic acid	Ø	5.90	286	41.8
Nasic	Casella med	NS	Xylometazoline	0.1	Dexpanthenol 5%	BZC	6.01	419	38
Otriven OK	Novartis	NS	Xylometazoline	0.1	Ø	Ø	5.79	274	20
Olynth OK	Pfizer	NS	Xylometazoline	0.1	Ø	Ø	5.86	295	17
Nasan	Hexal	NS	Xylometazoline	0.1	Ø	BZC	5.91	297	13
Schnupfen Endrine	Asche	NS	Xylometazoline	0.1	Ø	BZC	6.51	292	8
Nasenspray E	ratiopharm	NS	Xylometazoline	0.1	Ø	Ø	5.75	274	6
Otriven	Novartis	NS	Xylometazoline	0.1	Ø	BZC	6.35	289	4
Olynth	Pfizer	NS	Xylometazoline	0.1	Ø	BZC	6.24	279	2
Xylometazoline	Bundeswehr	NS	Xylometazoline	0.1	Ø	BZC	5.92	289	1
Nasic for children	Cassella med	NS	Xylometazoline	0.05	Dexpanthenol 5%	BZC	5.95	407	46
Otriven 0.05% OK	Novartis	NS	Xylometazoline	0.05	Ø	Ø	5.72	270	21
Olynth 0.05% OK	Pfizer	NS	Xylometazoline	0.05	Ø	Ø	5.86	295	15
Nasenspray K	ratiopharm	NS	Xylometazoline	0.05	Ø	Ø	6.00	300	11
Otriven 0.05%	Novartis	NS	Xylometazoline	0.05	Ø	BZC	6.35	282	7

784

Tonicity and pH were always determined by the same person using the same device and conventional standard procedures.

A statistical analysis was not sensible due to the large number of tests performed. However, differences in growth of >10% are always of statistical significance ($p < 0.05$, $\alpha=10$, Wilcoxon-Mann-Whitney U test) and the significances are of descriptive nature.

Results

The results are shown in seven groups with respective tables and short comments on each. The highest concentration of a substance class is always listed first in the presentation. The substance tolerated best is shown first, measured by relative cell growth, and the comparable preparations follow based on their tolerance in descending order. Providing the absolute values with standard deviation is not helpful since the values are based on many different test series with different values for the respective controls. For this reason, the growth percentage in relation to the control is indicated. Anomalous matrix properties are highlighted; these mostly relate to osmolality since the pH range of almost all examined preparations was comparable.

We following common abbreviations were used: WP = without preservatives, A = adult preparation, C = child preparation, NS = nasal spray, ND = nasal drops, ED = eye drops, MD = medical device.

1. Decongestants, Xylometazoline (tab. 1)

This market-dominating group, like the two next groups, that also include decongestant α sympathomimetics are mostly purchased directly from the pharmacy over-the-counter. For this reason, controlled and limiting ingestion cannot be achieved and the medicinally induced side effects caused by “too often, too much, too long” such as mucosal atrophy, rhinitis medicamentosa and allergic reactions must thus be taken particularly seriously. Thus, any improvement in tolerance is welcome.

Firstly, we generally noticed that the psf products are better tolerated than those preserved (fig. 1) at each concentration level and, secondly, that the tolerance was dose-dependent. These differences are particularly visible in the example of the market-leading products Otriven® and Olynth®, both of which are available preserved and unpreserved at two different concentrations each. The excellent tolerance of

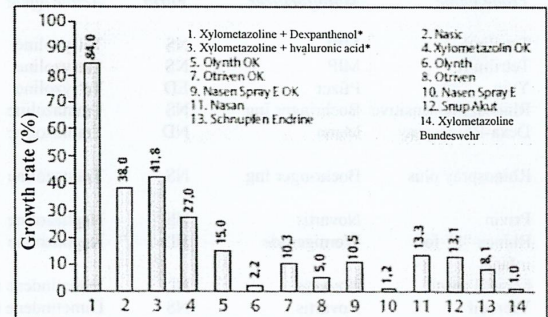


Fig. 1 Cell growth using the example of Xylometazoline (0.1 %, *new developments).

Tab. 2 Decongestants, Oxymetazoline

Trade name	Manufacturer	Form	Active agent	Conc. (%)	Additives	Preservation	pH	Osmolality	Growth (%)
Nasivin-Sanft	Merck	NS	Oxymetazoline	0.05	Ø	Ø	6.85	297	23
Nasivin	Merck	NS	Oxymetazoline	0.05	Ø	BZC	6.85	294	20
Sinex Schnupfen-Spray	Wick	NS	Oxymetazoline	0.05	Camphor, cineol, levomenthol	Chlorhexidine digluconate	5.53	213	3
Nasivin-Sanft	Merck	NS	Oxymetazoline	0.025	Ø	Ø	6.86	292	30
Nasivin	Merck	ND	Oxymetazoline	0.025	Ø	BZC	6.86	297	27
Nasivin-Sanft for babies	Merck	NS	Oxymetazoline	0.01	Ø	Ø	6.85	301	28

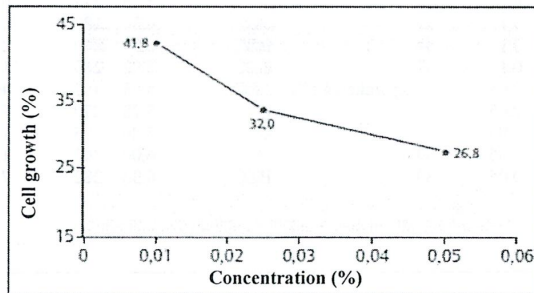


Fig. 2 Dependence of tolerance on active agent concentration using the example of Oxymetazoline (unpreserved).

2. Decongestants, Oxymetazoline (tab. 2)

The statements in the previous chapter regarding better tolerance when no preservative is used and the worse tolerance the higher the dose were also confirmed in the Oxymetazoline preparation (fig. 2). The assertion sometimes made that tolerance is better due to half of the dose burden is no longer comprehensible in comparison to modern preservation-free Xylometazoline preparations.

The preparation Sinex® with the combination of camphor, cineol and levomenthol is not very adequate in comparison. Interestingly, it is the only one of the agents shown here that is not preserved with BZC. Chlorhexidine gluconate used instead is questionable from today's point of view [8]. The significantly hypo-osmolar galenic must also be considered an additional source of damage.

Nasic® at both concentrations must be highlighted, even though the product is still preserved. This is achieved by the combination with Dexpanthenol. Our own examinations, in the meantime confirmed by clinical data, showed that Dexpanthenol is able to significantly lower the toxic potentials of Xylometazoline and BZC [10-12]. The preparation by the Bundeswehr is at the bottom of the rankings regarding tolerance. This should be emphasized since it is based on the standard approval by the FIDMD.

3. Decongestants, Tetryzoline, Tramazoline, Naphazoline, Dimetin (tab. 3)

The remarks made for Xylometazoline and Oxymetazoline regarding the effect of preservation and concentration on tolerance also apply to this group. The combination with other substances, as in Rhinospray plus® and Dexa-Rhinospray® also seems questionable. Furthermore, the latter preparation has very hypertonic galenic with a very low pH.

Tab. 3 Decongestants, Tetryzoline, Tramazoline, Naphazoline, Dimetindene

Trade name	Manufacturer	Form	Active agent	Conc. (%)	Additives	Preservation	pH	Osmolality	Growth (%)
Tetralin E	MIP	NS	Tetryzoline	0.1	Ø	Ø	6.03	310	60
Tetralin K	MIP	NS	Tetryzoline	0.05	Ø	Ø	6.06	314	73
Yxin	Pfizer	ED	Tetryzoline	0.05	Ø	BZC	6.36	292	2
Rhinospray-sensitive	Boehringer Ing.	NS	Tramazoline	0.1	Ø	Ø	6.1	303	16
Dexa-Rhinospray	Mann	ND	Tramazoline	0.1	Dexamethasone 0.02%	BZC	4.62	760	2
Rhinospray plus	Boehringer Ing.	NS	Tramazoline	0.1	Cineol menthol Camphor	BZC	6.17	297	3
Privin	Novartis	NS	Naphazoline	0.1	Ø	BZC	5.1	310	18
Rhinex "S" for infants	Wernigerode	ND	Naphazoline	0.02	Ø	BZC	5.17	307	10
Fenistil nasal	Novartis	ND	Dimetindene mal.	0.1	Phenylephrine	BZC	5.09	345	72
Vibrocil	Novartis	NS	Dimetindene mal.	0.025	Phenylephrine 2.50 mg/g	BZC	6.43	306	9

Tab. 4 Antiallergics

Trade name	Manufacturer	Form	Active agent	Conc. (%)	Additives	Preservation	pH	Osmolality	Growth (%)
Allergo-COMOD	Ursapharm	NS	Cromoglycin	2	∅	∅	6.01	313	53
Cromohexal sanft	Hexal	NS	Cromoglycin	2	∅	∅	6.81	286	17
Cromohexal	Hexal	NS	Cromoglycin	2	∅	BZC	6.72	287	4
DNCG nasal spray	STADA	NS	Cromoglycin	2	∅	BZC	6.73	293	4
Allergocrom	Ursapharm	NS	Cromoglycin	2	∅	BZC	5.45	290	3
Crom-Ophthal	Dr. Winzer	NS	Cromoglycin	2	∅	BZC	5.40	291	3
Cromoglicin Heumann	Heumann	NS	Cromoglycin	2	∅	BZC	6.77	287	2
Lomupren comp.	FISONS	NS	Cromoglycin	2	Xylo 0.025%	BZC	5.48	72	2
LOMUPREN	FISONS	NS	Cromoglycin	2	∅	BZC	5.52	70	2
Cromo-ratiopharm	ratiopharm	NS	Cromoglycin	2	∅	∅	5.54	70	1
Nasacort	Aventis	NS	Triamcinolone	0.9	∅	BZC	5.02	326	3
Livocab	Janssen	NS	Levocabastine	0.5	∅	BZC	7.01	976	3
Irtan	Aventis	NS	Nedocromil	1	∅	BZC	4.95	288	2
Nasonex	Essex	NS	Mometasone	0.5	∅	BZC	4.60	316	1
Pulmicort Topinasal	Astra-Zeneca	NS	Budesonide	0.1	∅	BZC	4.34	317	4
Beconase	Glaxo	NS	Beclomethasone	0.05	∅	BZC	6.34	301	4
Flutide Nasal	Glaxo	NS	Fluticasone	0.05	∅	BZC	6.41	334	2
Beclomet	Orion	NS	Beclomethasone	0.05	∅	BZC	6.30	304	2

4. Antiallergics (tab. 4)

Most of the preparations have Cromoglycin as the active ingredient. The tolerance of the substance as well as of the steroids can generally be described as unsatisfactory. It is worth mentioning that there were significant improvements in cell growth in the psf formulations in the comparisons between Allergocrom[®] and Allergo-COMOD[®] and between Cromohexal[®] and Cromohexal-sanft[®]. This is even more remarkable considering that Cromo-ratiopharm[®] (the market leader, by the way), which is also unpreserved, had the worst tolerance of all nasal sprays containing Cromoglycin. One can plainly see the reason for this when looking at the matrix properties (fig. 3). The effect of pH and tonicity has been known since 1965 and this is outstandingly documented [13-14]. A tonicity of only 70 (!) mOsm/kg as in Cromo-ratiopharm[®] is simply not consistent with the physiology of an intact nasal mucosa. It is therefore surprising that this preparation was approved. The similar applies to the preparations Lomupren[®] and Lomupren comp[®]. The extremely high tonicity of Livocab[®] should give cause for caution during longer-term use.

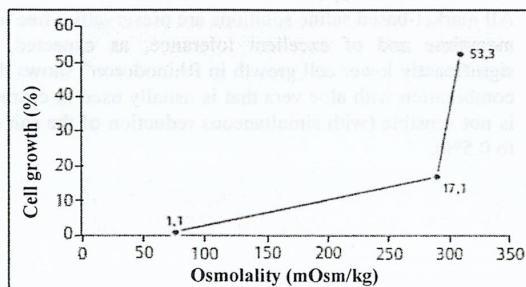


Fig. 3 Influence of osmolality on tolerance using the example of nasal sprays containing Cromoglycin.

Particularly the comparison between the two unpreserved preparations Cromohexal-sanft[®] and Cromo-ratiopharm[®] which are interchangeable due to the same indication, application, the same active ingredient, potency and the same dose according to the aut-idem rule shows the dangers of the aut-idem rule.

5. Medicines and care products with pharmaceutical additives, oils (tab. 5)

Dexpanthenol is in the foreground in this group; we already alluded to its positive characteristics. In total, this group is well tolerated. Even the preserved Nasicur[®] shows good cell growth. It is remarkable that the attempt to sneak Dexpanthenol past the Medicinal Products Act as a medical device containing a pharmacologically ineffective concentration (for example Mar plus[®]) achieved neither the tolerance of saline solutions nor that of the pharmacologically effective Dexpanthenol preparations.

The example Kamillan supra[®] has tolerance that is low for medicines and care products. The application of alcohol extracts on the nose does not seem to make much sense due to a high danger of allergies, particularly for chamomile.

Emser Nasenspray[®] was the only saline solution added to this group since it is approved as a pharmaceutical and has shown a pharmacological effect.

We would like to expressly point out the three oils with their excellent tolerance which make them appear perfectly suitable for nasal tamponades and preparing prescriptions at the pharmacy.

Verse Th et al. The tolerability of nasal drugs.... Laryngo-Rhino-Otol 2003; 82: 782-789

Tab. 5 Medicines and care products with pharmaceutical additives; oils

Trade name	Manufacturer	Form	Active agent	Conc. (%)	Additives	Preservation	pH	Osmolality	Growth (%)
Otriven Pflege with Dexp.	Novartis	NS	Dexpanthenol	5		Ø	7.20	369	101
Nasicur	Cassella med	NS	Dexpanthenol	5	Ø	BZC	5.78	732	81
Mar plus (MP)	Stada	NS	Dexpanthenol	1	Ø	Ø	6.15	317	73
Rhinoclair	Febena	NS	Dexpanthenol	5		Ø	7.18	401	63
Emser Nasenspray	Siemens & Co	NS	Emser salt	1.175	Ø	Ø	8.76	288	64
Kamillan supra	Ph. Wernigerode	NS	Chamomile liquid extract (1:1)	10	Ø	BZC	6.02	not meas.	21
Coldastop nasal oil	Desitin	ND	Retinol palmitate α-tocopherol Citric oil Orange oil Terpineol	15000 IU 20 mg 4 mg 2 mg 2 mg	Ø	Ø	Ø	Ø	99
Paraffin oil	Pharmacy	ND	Paraffin oil		Ø	Ø	Ø	Ø	100
Peanut oil	Pharmacy	ND	Peanut oil		Ø	Ø	Ø	Ø	99

Tab. 6 Hormones

Trade name	Manufacturer	Form	Active agent	Conc. (%)	Additives	Preservation	pH	Osmolality	Growth (%)
Calcitonin-ratiopharm	ratiopharm	NS	Calcitonin	100 IU/0.1 ml	Ø	Ø	4.10	273	94
Karil	Novartis	NS	Calcitonin	100 IU/puff	Ø	BZC	4.04	274	92
Kryptocur	Aventis	NS	Gonadorelin	0.2	Ø	BZC	6.39	416	74
Synarella	Heumann	NS	Nafarelin	0.2	Ø	BZC	5.28	328	4
Profact nasal	HMR	NS	Buserelin	0.15	Ø	BZC	5.64	281	3
Suprecur	Aventis	NS	Buserelin	0.15	Ø	BZC	5.70	285	2

Tab. 7 Saline solutions

Trade name	Manufacturer	Form	Active agent	Conc. (%)	Additives	Preservation	pH	Osmolality	Growth (%)
Olynth salin dose spray	Pfizer	NS	NaCl	0.9	Ø	Ø	6.25	291	98
Rhinomer Soft	Novartis	NS	NaCl	0.9	Ø	Ø	7.87	326	96
Wero-mar	Wero-medical	NS	Sea salt	0.9	Ø	Ø	7.40	306	93
St. Christoph	ALDI	NS	Sea water	0.9	Ø	Ø	7.70	308	93
Rhinospray Atlantik	Thomae	NS	NaCl	0.9	Ø	Ø	9.12	307	92
Tetesept-Meerwasser	Tetesept	NS	Sea water	0.9	Ø	Ø	7.14	295	84
Rhinodoron	Weleda	NS	NaCl	0.5	Aloe vera 0.5%	Ø	5.82	287	56

6. Hormones (tab. 6)

Medical need is ahead of tolerance for this group. The latter is characterized by significant differences regarding cell growth. We noticed that tolerance was identical in both products containing calcitonin, even though one was preserved and the other unpreserved. Similarly to gonadorelin, the influence of the hormone seems to neutralize that of the preservative here.

7. Saline solutions, medical devices (tab. 7)

All market-based saline solutions are preservative-free in the meantime and of excellent tolerance, as expected. The significantly lower cell growth in Rhinodoron® shows that a combination with aloe vera that is usually used in cosmetics is not sensible (with simultaneous reduction of the salt ratio to 0.5%).

Discussion

The data presented here leave little doubt that preservatives in pharmaceuticals for nasal application have a significant cytotoxic effect. The results of this examination are thus consistent with data from literature. The highly sensitive mucociliary apparatus represents one of the human body's most important defense mechanisms. More and more research groups detected a harmful effect of BZC on the ciliary function as well [15, 16]. This damage can cause irreversible loss of ciliary activity [7]. Preservatives in nasal drugs should be viewed critically because of this cyto- and ciliary toxic potential, the side effects and the allergenic risk. Pharmaceuticals can now be produced in microbiologically harmless, unpreserved form due to new technical developments in the field of pump systems for nasal sprays.

It was shown that unpreserved nasal drugs are tolerated much better than preserved ones. However, other factors such as the concentration of the active ingredient, its dosage and toxic characteristics as well as the matrix of the solution also play an important role regarding tolerance in addition to preservation. With that said, preservatives in any case represent an additional stress that has become unnecessary in the meantime.

Toxic effects on the isolated cell, as tested in our model, are generally more severe than on the intact mucosa which is physiologically protected by its secretion coating. It is therefore certainly possible that the cytotoxic effects of the active ingredient, preservative and physical-chemical parameters described here have been overestimated. On the other hand, the nasal mucosa is frequently previously damaged, at least in industrial nations, due to chronic or acute infections, multiple and long-term use of pharmaceuticals, allergies, severe exposure to environmental burdens, smoking habits, etc. This previous damage to the nasal mucosa is generally associated with a reduction of the protective secretory coating and previous damage to the highly sensitive cilia. Furthermore, the consistent results of cytotoxicity and ciliary toxicity testing confirm the validity of the ex vivo in vitro cytotoxicity tests to determine the harmful effect of topical noxa on the mucociliary apparatus. Also, the validity of our data for in vivo conditions is supported by the recently published work by Kehrl et al. [12] in which a randomized, double-blind study of 152 patients detected the same results and interpretations.

In Germany alone about 60 million bottles of nasal spray are sold annually on the controlled pharmacy market, generally over the counter. Additionally, an amount that cannot be estimated is sold in drugstores and discount stores. For this reason, the type and duration of application cannot be reliably controlled. The risk potential is not insignificant here since it is difficult for the user to detect adverse drug reactions as such, but are rather associated with the underlying illness.

Unfortunately, there are a number of inhibition levels that oppose the reasonable restructuring to preserved psf products:

1. The higher technical complexity in manufacturing (aseptic filling, highly complex pump systems) results in higher production costs. However, there is no economic incentive for investment as long as identical sales prices can be achieved for technically inferior preparations with worse tolerance due to fixed reference prices.
2. Many companies do not have the technical know-how to make this switch and for in-house production so that external service providers must be consulted, resulting in another cost factor.
3. The FIDMD has to date tended to interfere with the switch to psf formulations rather than support it and has made this process very costly for the industry.
4. As a result of globalization many pharmaceutical companies are dependent on foreign, mostly Anglo-American headquarters regarding decisions; they are mostly indifferent to German quality standards and concerns.
5. The medical profession and pharmacists are mostly not yet sufficiently familiar with and aware of the problem. However, comparative data has also been absent to date and this needs to be presented first.
6. As is well known, patients who are self-medicating tend to select the cheapest alternative and brand management by large corporations has shaped our buying habits. Recommendations from the medical profession or pharmacists can have positive effects here.

The nasal route of application for systemically effective substances will become more and more important in the coming years while topically effective nasal substances were in the foreground of medical-pharmaceutical interest in the past, as evidenced by the number of preparations and indications listed here. Not just the group of hormones examined here will continue to grow. For example, the introduction of nasal triptans recently decisively enriched the field of migraine therapy. Nasal vaccines and the addition of hyaluronic acid are currently being researched intensively [17, 18]. There is currently also interest in a nasal route of application for opioids [19], central acting substances, e.g. for epilepsy and dyskinesia [20] and drugs for treatment of erectile dysfunction. For this reason, a comparative presentation of tolerance, as presented here, seems necessary.

In summary, we would like to again point out the partially significant differences between the cytotoxicity of individual nasal drugs. The greatest differences are in dependence on preservation, the active ingredient's dosage and galenic. The aut-idem rule must be reviewed critically because of this.

Based on the present data, it no longer seems justifiable for new pharmaceutical developments to use preserved formulations. Preparations that are still preserved should be restructured as quickly as possible and where ps restructuring is not possible, e.g. in crystal suspensions, the cytotoxic effect of the preservative should be attenuated by adding an accompanying protective medication (e.g. Dexpantenol). In the authors' opinion, preserved agents have become obsolete where unpreserved alternatives are available.

Acknowledgment

We would also like to thank the many pharmaceutical companies who supported this work by supplying reference samples free of charge.

There is no financial or any other type of dependence and no conflict of interest between the examining physicians and the manufacturers of the preparations tested here. The examination results presented here are the result of examinations by the authors that are independent in every respect.

Bibliography

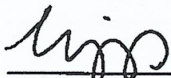
- ¹ Berg OH, Lie K, Steinsvag SK. The effects of topical nasal steroids on rat respiratory mucosa in vivo, with special reference to benzalkonium chloride. *Allergy* 1997; 52: 627-632
- ² Bernstein IL. Is the use of benzalkonium chloride as a preservative for nasal formulations a safety concern? A cautionary note based on compromised mucociliary transport. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 39-44
- ³ Boek WM, Romeijn SG, Graamans K, Verhoef JC, Merkus FW, Huizing EH. Validation of animal experiments on ciliary function in vitro. II. The influence of absorption enhancers, preservatives and physiologic saline. *Acta Otolaryngol* 1999; 119: 98-101
- ⁴ Cho JH, Kwun YS, Jang HS, Kang JM, Won YS, Yoon HR. Long-term use of preservatives on rat nasal respiratory mucosa. Effects of benzalkonium chloride and potassium sorbate. *Laryngoscope* 2000; 110: 312-317
- ⁵ Graf P, Enerdal J, Hallén H. Ten days' use of oxymetazoline nasal spray with or without benzalkonium chloride in patients with vasomotor rhinitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 103: 1128-1132
- ⁶ Klöcker N, Rudolph P. Preserved nasal sprays are obsolete. *Pharm Journal* 2000; 21: 1710-1712
- ⁷ FIDMD, Federal Gazette 2002, no. 120 (07/03/2002)
- ⁸ Furrer P, Mayer JM, Gummy R. Ocular tolerance of preservatives and alternatives. *Eur J Pharm Biopharm* 2002; 53: 263-280
- ⁹ Bagel S, Wiedemann B. Nasal sprays without preservatives. *Dt. Pharm. Journal* 1999; 139: 4438-4441
- ¹⁰ Klöcker N, Verse T, Rudolph P. The mucosal protective effect of Dexpantenol in nasal sprays. First results of cytotoxic and ciliary toxic in vitro attempts. *Laryngo-Rhin-Otol* 2003; 82: 177-182
- ¹¹ Klöcker N, Rudolph P, Verse T. Evaluation of protective and curative effects of dexpantenol on nasal decongestants and preservatives. Results of cytotoxic studies in-vitro. *Am J Rhinol* 2003; in press
- ¹² Kerl W, Sonnemann U, Dethlefsen U. Advances in the therapy of acute rhinitis. Comparison of efficacy and harmlessness of Xylometazoline with the combination of Xylometazoline-Dexpantenol in patients with acute rhinitis. *Laryngo-Rhino-Otol* 2003; 82: 266-271
- ¹³ Grumbach PE, Kapetanidis I, Mirimanoff A, Paley A. Remarques sur le controle physiologique des gouttes nasales: etude critique de l'influence du pH, role des systèmes-Tampon. *Pharm Acta Helv* 1965; 40: 432-440
- ¹⁴ Stepper M, Wayer M, Kedvessy G, Szabon J. The role of tonicity and viscosity of solutions in the activity of the ciliated epithelium of the nasal mucosa. *Pharmaceutical research* 1965; 11: 1347-1349
- ¹⁵ Neugebauer P, Seine R, Meister H, Mickenhagen A, Bonnekoh B. The effect of benzalkonium chloride on the ciliary frequency of nasal ciliated epithelial cells in vitro. *Abstract ENT* 1998; 46: 433
- ¹⁶ Riechelmann H. Pharmaceutical aids in nasal preparations. *Biennial Congress of the European Rhinologic Society*. Ulm; June 2002
- ¹⁷ Sing M, Briones M, O'Hagan DT. Anovel bioadhesive intranasal delivery system for inactivated influenza vaccines. *J Control release* 2001; 70: 267-276
- ¹⁸ Castellano F, Mautone G. Decongestant activity of a new formulation of xylometazoline nasal spray: a double-blind, randomized versus placebo and reference drugs controlled, dose-effect study. *Drugs Exp Clin Res* 2002; 28: 27-35
- ¹⁹ Striebel HW, Toussaint S, Raab C, Klöcker N. Non-invasive methods for PCA in Pain management. *Acute Pain* 1999; 2: 36-40
- ²⁰ Klöcker N, Hanschke W, Toussaint S, Verse T. Scopolamine nasal spray in motion sickness. A randomized, controlled, and crossover study for the comparison of two scopolamine nasal sprays with oral dimenhydrinate and placebo. *Eur J Pharm Sci* 2001; 13: 227-232



TRANSPERFECT

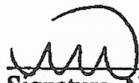
City of New York, State of New York, County of New York

I, Wendy Poon, hereby certify that the document "The tolerability of nasal drugs (002)" is, to the best of my knowledge and belief, a true and accurate translation from German into English.



Wendy Poon

Sworn to before me this
November 20, 2019



Signature, Notary Public

AURORA ROSE LANDMAN
NOTARY PUBLIC-STATE OF NEW YORK
No. 01LA6380858
Qualified in New York County
My Commission Expires 09-17-2022

Stamp, Notary Public

LANGUAGE AND TECHNOLOGY SOLUTIONS FOR GLOBAL BUSINESS
1250 BROADWAY, 6TH FLOOR, NEW YORK, NY 10001 | T 212.689.5555 | F 212.689.1059 | WWW.TRANSPERFECT.COM
OFFICES IN 90 CITIES WORLDWIDE

Die Verträglichkeit von Nasalia unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses von Konservierungsmitteln und physikalisch-chemischen Parametern

Th. Verse¹
C. Sikora²
P. Rudolph²
N. Klöcker³

The Tolerability of Nasal Drugs With Special Regard to Preservatives and Physico-chemical Parameters

Zusammenfassung

Hintergrund: Neue Entwicklungen auf dem Gebiet der Pumpentechnologie bei Nasalsprays ermöglichen die konservierungsmittel-freie Applikation von Nasalia auch in Mehrdosis-Behältnissen. Hierdurch kann eine Verbesserung der lokalen Toleranz von Nasalia erreicht werden. Zunehmend werden Produkte auf eine konservierungsmittel-freie Formulierung umgestellt. Die Fülle von Präparaten zur nasalen Anwendung verlangt nach einer vergleichenden systematischen Untersuchung vergleichbarer Präparate.

Methode: Die auf dem Markt befindlichen abschwellenden Nasalia, Antiallergika, Heil- und Pflegemittel, Hormone und saline Lösungen wurden auf ihre Zytotoxizität nach DIN EN 30993-5, ihren pH-Wert und die Osmolalität geprüft.

Ergebnisse: In allen Substanzgruppen bewirkte die Eliminierung des Konservierungsmittels eine signifikante Verbesserung des Zellwachstums und Reduzierung der Zytotoxizität. Auch die Galenik hat einen entscheidenden Einfluss. Im Fall der abschwellenden Nasalia sinkt die Verträglichkeit mit zunehmender Dosierung des Wirkstoffs.

Schlussfolgerung: Dort wo nicht konservierte Alternativen zur Verfügung stehen, erscheinen konservierte Nasalia obsolet. Des Weiteren muss auf die Galenik und die Dosierung des Wirkstoffes geachtet werden.

Schlüsselwörter

Nasensprays · Konservierungsmittel · Benzalkoniumchlorid · Verträglichkeit · Zytotoxizität

Abstract

Background: Recent technical developments allow preservative-free nasal drug application in multi-dose systems. New pharmaceutical formulations for better tolerable nasal sprays are now possible and consequently reformulations introduced to the market. Therefore, a representative and systematic overview on comparable products is mandatory.

Methods: Marketed nasal products in the indication groups: decongestants, antiallergics, care and wound-healing, hormones and saline solutions were tested for their cytotoxic properties according to DIN EN 30993-5, pH, and osmolality.

Results: In all indication groups reformulation to preservative-free application resulted in significant increase of cell growth and reduction of cytotoxicity. Physico-chemical galenic properties are of considerable importance too. With decongestants tolerability is dependant on the concentration of the active compound.

Conclusions: Our data lead to the conclusion that preserved nasal sprays are obsolete, when preservative-free alternatives are available. Attention should be paid to galenic properties and dosage of the active.

Key words

Nasal sprays · preservatives · benzalkonium chloride · tolerability · cytotoxicity

Institutsangaben

¹ Universitäts-Hals-Nasen-Ohrenklinik Mannheim (Direktor: Prof. Dr. med. K. Hörmann)

² Institut für Hygiene und Umweltmedizin, Ernst-Moritz-Arndt-Universität

(Direktor: Prof. Dr. med. A. Kramer)

³ AUDIT Institute, Taunusstein

Korrespondenzadresse

Priv.-Doz. Dr. med. Thomas Verse · Universitäts-Hals-Nasen-Ohrenklinik Mannheim · 68135 Mannheim

E-mail: thomas.verse@hno.ma.uni-heidelberg.de

Eingegangen: 20. Juni 2003 · Angenommen: 27. August 2003

Bibliografie

Laryngo-Rhino-Otol 2003; 82: 782-789 © Georg Thieme Verlag Stuttgart · New York · ISSN 0935-8943

Das Europäische Arzneibuch (Ph.Eur) verlangt für Zubereitungen zur nasalen Anwendung (Nasalia) bei Mehrdosisbehältnissen den Zusatz von geeigneten Konservierungsmitteln in angemessener Konzentration. Ausgenommen sind lediglich begründete und zugelassene Ausnahmen wie z. B. Öle, antimikrobiologische Lösungen oder durch den Apotheker hergestellte Präparate zur sofortigen und kurzzeitigen Anwendung. Die überwiegende Anzahl der im Verkehr befindlichen Nasalia ist mittels Benzalkoniumchlorid (BZC) in Konzentrationen von 0,005% bis 0,02% konserviert. Das Arzneibuch fordert für Zubereitungen zur nasalen Anwendung weiterhin, dass diese nicht reizend sind und keine unerwünschten Wirkungen auf die Funktion der mukoziliären Clearance ausüben. Dies ist ein Widerspruch in sich, da das allergene und zytotoxische Potenzial von Konservierungsmitteln seit langem bekannt ist und der negative Einfluss von Konservierungsmitteln auf die Zilienfunktion vielfältig beschrieben wurde [1–6]. Deshalb hat das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) inzwischen ein Stufenplanverfahren gegen BZC in Nasalia eingeleitet [7].

Das Wissen um den schädigenden Einfluss von Konservierungsmitteln [8] hat als erstes in der Ophthalmologie zur Entwicklung von konservierungsmittel-freien (psf = preservative free) Alternativen geführt, zunächst in Form von Ein-Dosis-Behältnissen (EDO), dann auch zu einem Mehrdosisbehältnis (COMOD-System). Seit geraumer Zeit sind auch für Nasalia psf-Systeme erhältlich. Eine beträchtliche Anzahl von Präparaten wurde bereits umgestellt, bzw. wird derzeit umgestellt. Die mikrobiologische Sicherheit der neuen psf-Systeme ist in umfangreichen Prüfungen zweifelsfrei nachgewiesen worden und somit Stand der Technik [9].

Bisher fehlten umfangreiche praxisbezogene Vergleichsstudien, die eine begründete Aussage über den Vergleich der zytotoxischen Eigenschaften marktüblicher Präparate erlauben und dem Arzt bzw. Apotheker eine rationale Auswahl ermöglichen. Die bis heute vorliegenden Daten zur Toxizität von Konservierungsmitteln in Nasalia beruhen zumeist auf tierexperimentellen Untersuchungen ex vivo, In-vitro-Untersuchungen an der Zilie bzw. In-vitro-Untersuchungen an der Zellkultur. In-vivo-Studien waren bis dato schon aus Mangel an konservierungsmittelfreien Vergleichspräparaten kaum möglich.

Aus diesem Grunde haben wir eine umfassende zytotoxische Untersuchung fast aller auf dem Markt befindlichen Präparate durchgeführt. Die Auswahl richtete sich nach dem jeweiligen Marktanteil, so dass die wichtigsten Präparate erfasst wurden. Da eine direkte Aussage über das Fertigpräparat erst möglich ist, wenn die Grundzüge der Matrix bekannt sind, wurden in allen Fällen auch pH-Wert und Osmolalität bestimmt. Die Untersuchungen wurden zum Großteil im Rahmen einer Dissertationsarbeit durchgeführt. Die hier dargestellten Ergebnisse stellen einen für die ärztliche Praxis relevanten Auszug dar.

Die Zytotoxizitätsprüfung erfolgte gemäß DIN EN 30993–5. Die Wachstumswerte geben den Mittelwert aus jeweils 19 Einzeltestungen pro Präparat an, gemessen gegen die jeweilige Kontrolle. Es handelt sich also um Relativwerte.

Der genaue Ablauf der Testung wurde bereits in einer früheren Arbeit beschrieben [10]. Zur Zellkultivierung wurden FL-Zellen, eine Zelllinie des menschlichen Amnions verwendet. Die Vorratshaltung erfolgt in 250 ml Gewebekulturflaschen (Greiner GmbH, Solingen). Die Zellen werden alle 4 Stunden passagiert. Nach der 100. Passage wird die Vorratshaltung aus der Stammkultur neu angelegt. Dazu wird das Medium dekantiert, der Zellrasen mit 20 ml PBS (Phosphate Buffered Saline) abgespült, mit 20 ml der Enzymlösung (0,05% 1:250 Trypsin + 0,02% EDTA in Ca^{2+} und Mg^{2+} freier PBS) gleichmäßig benetzt und die Lösung wieder dekantiert. Nach etwa 10 Minuten Inkubation der Flaschen bei 37 °C werden die abgelösten Zellen in jeweils 40 ml MEM (Minimum Essential Medium) + 8% Serum suspendiert und die Zellzahlen mit Hilfe des Universal-Zählers ermittelt. Pro Subkultur-Flasche werden 4×10^6 Zellen in 75 ml Anzuchtmedium eingesät.

Zur Testung werden die Zellen nach vorheriger Ablösung in Kulturröhrchen eingesät (ca. 200 000 Zellen/1,5 ml Anzuchtmedium pro Röhrchen). Das Anzuchtmedium besteht aus 70% Laktalbuminhydrolysat und 30% MEM mit Zusätzen von 1% Antibiotikarlösung (Endkonzentration: 100 IE Penicillin G und 100 µg Streptomycinsulfat/ml) und 8% Jungrinderserum. Der pH-Wert wird mit 1 M NaOH Lösung auf 7,2 eingestellt. Dann wird das Medium im Wasserbad bei 37 °C erwärmt.

Nach 72-stündiger Kultivierung liegen die Zellen als Monolayer vor. Hiernach wird ein Mediumwechsel mit Inkubationsmedium vorgenommen. Dieses setzt sich aus MEM + 1% Antibiotikarlösung + 1% Jungrinderserum (Kontrolle) zusammen. Das Inkubationsmedium enthält zusätzlich die Prüfsubstanz.

Die zu prüfenden Substanzen werden zunächst in Wasser gelöst. Für die jeweils zwei letzten Verdünnungsschritte wird Medium verwendet und ein pH-Wert von 7,2 eingestellt. Im Wasserbad wird das Inkubationsmedium auf 37 °C erwärmt. Die Lösungen werden für jeden Versuch frisch zubereitet. Das Inkubationsmedium wird etwa 30 Minuten vor dem Mediumwechsel hergestellt und nach dem Abkühlen im Kühlschrank gelagert. Von der Antibiotikarlösung aus Penicillin und Streptomycin wird 1 ml auf 100 ml Medium gegeben. Die Vorratslösungen von Antibiotika und Serum werden im Tiefkühlschrank bei –18 °C gelagert. Die Zellen werden 24 Stunden im Medium mit Prüfsubstanz inkubiert.

Zum Ablösen und Zählen der Zellen wird das Medium dekantiert, der Zellrasen mit 0,3 ml Enzymlösung (0,05% 1:250 Trypsin und 0,02% EDTA in Ca^{2+} und Mg^{2+} und freies PBS) gleichmäßig benetzt und die Lösung dekantiert. Nach etwa 10 Minuten Inkubation der Röhrchen bei 37 °C werden die abgelösten Zellen in jeweils 1 ml MEM und 1% Serum suspendiert und die Zellzahlen mit Hilfe des Universal-Zählers ermittelt.

Tab. 1 Abschwellende Mittel, Xylometazolin

Handelsname	Hersteller	Form	Wirkstoff	Konz. (%)	Zusätze	Konservierung	pH	Osmolalität	Wachstum (%)
Xylometazolin + Dexpanthenol	Neuentwicklung	NS	Xylometazolin	0,1	Dexpanthenol 5%	∅	5,58	422	84
Xylometazolin + Hyaluronsäure	Neuentwicklung	NS	Xylometazolin	0,1	Hyaluronsäure	∅	5,90	286	41,8
Nasic	Cassella med	NS	Xylometazolin	0,1	Dexpanthenol 5%	BZC	6,01	419	38
Otriven OK	Novartis	NS	Xylometazolin	0,1	∅	∅	5,79	274	20
Olynth OK	Pfizer	NS	Xylometazolin	0,1	∅	∅	5,86	295	17
Nasan	Hexal	NS	Xylometazolin	0,1	∅	BZC	5,91	297	13
Schnupfen Endrine	Asche	NS	Xylometazolin	0,1	∅	BZC	6,51	292	8
Nasenspray E	ratiopharm	NS	Xylometazolin	0,1	∅	∅	5,75	274	6
Otriven	Novartis	NS	Xylometazolin	0,1	∅	BZC	6,35	289	4
Olynth	Pfizer	NS	Xylometazolin	0,1	∅	BZC	6,24	279	2
Xylomethazolin	Bundeswehr	NS	Xylometazolin	0,1	∅	BZC	5,92	289	1
Nasic für Kinder	Cassella med	NS	Xylometazolin	0,05	Dexpanthenol 5%	BZC	5,95	407	46
Otriven 0,05% OK	Novartis	NS	Xylometazolin	0,05	∅	∅	5,72	270	21
Olynth 0,05% OK	Pfizer	NS	Xylometazolin	0,05	∅	∅	5,86	295	15
Nasenspray K	ratiopharm	NS	Xylometazolin	0,05	∅	∅	6,00	300	11
Otriven 0,05%	Novartis	NS	Xylometazolin	0,05	∅	BZC	6,35	282	7

Tonizität und pH wurden nach herkömmlichen Standardverfahren immer von der gleichen Person am gleichen Gerät ermittelt.

Aufgrund der großen Zahl der durchgeführten Tests ist eine statistische Auswertung nicht sinnvoll. Unterschiede im Wachstum von > 10% sind aber immer von statistischer Signifikanz ($p < 0,05$, $\alpha = 10$, Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test), wobei die Signifikanz deskriptiver Natur sind.

Ergebnisse

Die Ergebnisse werden in sieben Gruppen mit dazu gehörigen Tabellen dargestellt und jeweils kurz kommentiert. Die Darstellung erfolgt derart, dass immer die höchste Konzentration einer Substanzklasse zuerst aufgeführt wird. Am relativen Zellwachstum gemessen wird jeweils das am besten Verträgliche zuerst dargestellt, danach folgen die vergleichbaren Präparate gemäß ihrer Verträglichkeit in absteigender Reihenfolge. Da die Werte auf vielen unterschiedlichen Testreihen beruhen mit unterschiedlichen Werten für die jeweiligen Kontrollen, ist eine Angabe in Absolutzahlen mit Standardabweichung nicht hilfreich. Es wird daher das prozentuale Wachstum in Relation zur Kontrolle genannt. Auffällige Matriceigenschaften sind hervorgehoben, wobei diese sich größtenteils auf die Osmolalität beziehen, da fast alle untersuchten Präparate in einem vergleichbaren pH-Bereich liegen.

Folgende Abkürzungen wurden verwandt und sind üblich: OK = ohne Konservierungsstoffe, E = Erwachsenenzubereitung, K = Kinderzubereitung, NS = Nasalspray, NT = Nasentropfen, AT = Augentropfen, MP = Medizinprodukt.

1. Abschwellende Mittel, Xylometazolin (Tab. 1)

Diese marktbestimmende Gruppe wie die beiden nächsten, die auch abschwellende α -Sympathomimetika umfassen, wird größtenteils frei verkäuflich direkt aus der Apotheke bezogen. Daher ist eine kontrollierte und limitierte Einnahme nicht erreichbar und die durch „zu oft, zu viel, zu lange“ medikamentös induzierten Nebenwirkungen wie Schleimhautatrophie, Rhinitis medicamentosa und allergische Reaktionen müssen somit besonders ernst genommen werden. Daher ist jede Verbesserung der Verträglichkeit begrüßenswert.

Generell fällt auf, dass erstens in jeder Konzentrationsstufe die psf-Produkte besser verträglich sind als die konservierten (Abb. 1) und dass zweitens die Verträglichkeit dosisabhängig ist. Diese Unterschiede sind sehr gut am Beispiel der marktführenden Produkte Otriven® und Olynth® zu sehen, die beide konserviert und unkonserviert in jeweils zwei unterschiedlichen Konzentrationen erhältlich sind. Als Besonderheit muss die hervor-

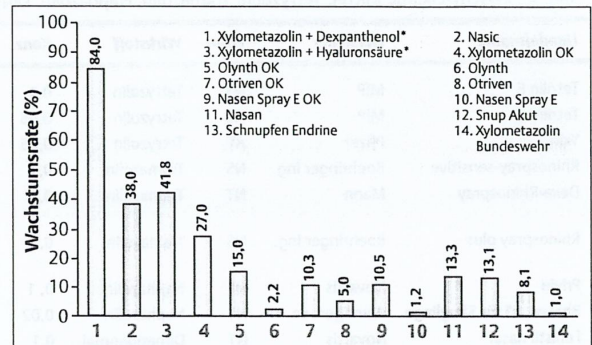


Abb. 1 Zellwachstum am Beispiel von Xylometazolin (0,1%); * Neuentwicklungen).

Tab. 2 Abschwellende Mittel, Oxymetazolin

Handelsname	Hersteller	Form	Wirkstoff	Konz. (%)	Zusätze	Konservierung	pH	Osmolalität	Wachstum (%)
Nasivin-Sanft	Merck	NS	Oxymetazolin	0,05	∅	∅	6,85	297	23
Nasivin	Merck	NS	Oxymetazolin	0,05	∅	BZC	6,85	294	20
Sinex Schnupfen-Spray	Wick	NS	Oxymetazolin	0,05	Campher, Cineol, Lavomenthol	Chlorhexidin-digluconat	5,53	213	3
Nasivin-Sanft	Merck	NS	Oxymetazolin	0,025	∅	∅	6,86	292	30
Nasivin	Merck	NT	Oxymetazolin	0,025	∅	BZC	6,86	297	27
Nasivin-Sanft für Babies	Merck	NS	Oxymetazolin	0,01	∅	∅	6,85	301	38

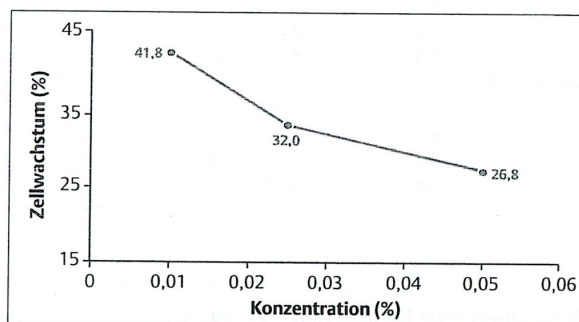


Abb. 2 Abhängigkeit der Verträglichkeit von der Wirkstoffkonzentration am Beispiel von Oxymetazolin (unkonserviert).

ragende Verträglichkeit von Nasic® in beiden Konzentrationen hervorgehoben werden, obwohl das Produkt noch immer konserviert ist. Dies wird durch die Kombination mit Dexpanthenol erreicht. Eigene Untersuchungen, inzwischen durch klinische Daten bestärkt, zeigten, dass Dexpanthenol in der Lage ist, die toxischen Potenziale von Xylometazolin und BZC signifikant zu reduzieren [10–12]. Trauriges Schlusslicht bezüglich der Verträglichkeit stellt das Präparat der Bundeswehr dar. Dies sollte hervorgehoben werden, da es auf der Standardzulassung des BfArM beruht.

2. Abschwellende Mittel, Oxymetazolin (Tab. 2)

Die schon im vorhergehenden Kapitel getroffenen Aussagen bezüglich der besseren Verträglichkeit bei Konservierungsmittel-Freiheit und der schlechteren Verträglichkeit bei steigender Dosis bestätigen sich auch bei den Oxymetazolin-Präparaten (Abb. 2). Die manchmal behauptete bessere Verträglichkeit aufgrund der hälftigen Dosisbelastung ist im Vergleich zu modernen konservierungsmittelfreien Xylometazolin-Präparaten nicht mehr nachvollziehbar.

Die Kombination mit Campher, Cineol und Lavomenthol lassen das Präparat Sinex® im Vergleich wenig geeignet erscheinen. Interessanterweise ist es das einzige der hier dargestellten Mittel, welches nicht mit BZC konserviert ist. Das stattdessen verwendete Chlorhexidingluconat steht aus heutiger Sicht infrage [8]. Auch die deutlich hypoosmolare Galenik muss als additiv schädigend angesehen werden.

3. Abschwellende Mittel, Tetryzolin, Tramazolin, Naphazolin, Dimetin (Tab. 3)

Die zu Xylometazolin und Oxymetazolin getroffenen Bemerkungen bezüglich des Einflusses von Konservierung und Konzentration auf die Verträglichkeit gelten auch für diese Gruppe. Die Kombination mit anderen Substanzen wie bei Rhinospray plus® und Dexa-Rhinospray® erscheint ebenfalls fragwürdig. Beim letztgenannten Präparat fallen zudem eine sehr hypertone Galenik mit sehr niedrigem pH-Wert auf.

Tab. 3 Abschwellende Mittel, Tetryzolin, Tramazolin, Naphazolin, Dimetiden

Handelsname	Hersteller	Form	Wirkstoff	Konz.	Zusätze	Konservierung	pH	Osmol.	Wachstum %
Tetrilin E	MIP	NS	Tetryzolin	0,1	∅	∅	6,03	310	60
Tetrilin K	MIP	NS	Tetryzolin	0,05	∅	∅	6,06	314	73
Yxin	Pfizer	AT	Tetryzolin	0,05	∅	BZC	6,36	292	2
Rhinospray-sensitive	Boehringer Ing.	NS	Tramazolin	0,1	∅	∅	6,1	303	16
Dexa-Rhinospray	Mann	NT	Tramazolin	0,1	Dexamethason 0,02%	BZC	4,62	760	2
Rhinospray plus	Boehringer Ing.	NS	Tramazolin	0,1	Cineol Menthol Campher	BZC	6,17	297	3
Privin	Novartis	NS	Naphazolin	0,1	∅	BZC	5,1	310	18
Rhinex „S“ für Säuglinge	Wernigerode	NT	Naphazolin	0,02	∅	BZC	5,17	307	10
Fenistil nasal	Novartis	NT	Dimetidenmal.	0,1	Phenylephrin	BZC	5,09	345	72
Vibrocil	Novartis	NS	Dimetidenmal.	0,025	Phenylephrin 2,50 mg/g	BZC	6,43	306	9

Tab. 4 Antiallergika

Handelsname	Hersteller	Form	Wirkstoff	Konz. (%)	Zusätze	Konservierung	pH	Osmolalität	Wachstum (%)
Allergo-COMOD	Ursapharm	NS	Cromoglycin	2	∅	∅	6,01	313	53
Cromohexal sanft	Hexal	NS	Cromoglycin	2	∅	∅	6,81	286	17
Cromohexal	Hexal	NS	Cromoglycin	2	∅	BZC	6,72	287	4
DNCG Nasenspray	STADA	NS	Cromoglycin	2	∅	BZC	6,73	293	4
Allergocrom	Ursapharm	NS	Cromoglycin	2	∅	BZC	5,45	290	3
Crom-Ophtal	Dr. Winzer	NS	Cromoglycin	2	∅	BZC	5,40	291	3
Cromoglycin Heumann	Heumann	NS	Cromoglycin	2	∅	BZC	6,77	287	2
Lomupren comp.	FISONS	NS	Cromoglycin	2	Xylo 0,025%	BZC	5,48	72	2
LOMUPREN	FISONS	NS	Cromoglycin	2	∅	BZC	5,52	70	2
Cromo-ratiopharm	ratiopharm	NS	Cromoglycin	2	∅	∅	5,54	70	1
Nasacort	Aventis	NS	Triamcinolon	0,9	∅	BZC	5,02	326	3
Livocab	Janssen	NS	Levocabastin	0,5	∅	BZC	7,01	976	3
Irtan	Aventis	NS	Nedocromil	1	∅	BZC	4,95	288	2
Nasonex	Essex	NS	Mometason	0,5	∅	BZC	4,60	316	1
Pulmicort Topinasal	Astra-Zeneca	NS	Budesonid	0,1	∅	BZC	4,34	317	4
Beconase	Glaxo	NS	Beclomethason	0,05	∅	BZC	6,34	301	4
Flutide Nasal	Glaxo	NS	Fluticason	0,05	∅	BZC	6,41	334	2
Beclomet	Orion	NS	Beclomethason	0,05	∅	BZC	6,30	304	2

4. Antiallergika (Tab. 4)

Der Großteil der Präparate wird durch Cromoglycin als Wirkstoff bestimmt. Die Verträglichkeit der Substanz ebenso wie die der Steroide kann generell nur als unbefriedigend bezeichnet werden. Erwähnenswert ist, dass bei den Vergleichen von Allergocrom[®] mit Allergo-COMOD[®] und Cromohexal[®] mit Cromohexal-sanft[®] die psf-Formulierungen signifikante Verbesserungen des Zellwachstums ergeben haben. Dies ist umso bemerkenswerter, als dass das ebenfalls unkonservierte Cromo-ratiopharm[®] (übri-gens der Marktführer) die schlechteste Verträglichkeit aller Cromoglycin-haltigen Nasensprays aufweist. Ein Blick auf die Mat-rixeigenschaften zeigt unschwer den Grund hierfür (Abb. 3). Der Einfluss von pH-Wert und Tonizität ist seit 1965 bekannt und hervorragend dokumentiert [13–14]. Eine Tonizität von nur 70 (!) mOsm/kg wie bei Cromo-ratiopharm[®] ist schlechter-dings nicht mit der Physiologie der intakten Nasenschleimhaut vereinbar. Es verwundert daher, dass dieses Präparat eine Zulasung erhalten hat. Ähnliches gilt für die Präparate Lomupren[®] und Lomupren comp[®]. Die extrem hohe Tonizität von Livocab[®] sollte Anlass zur Vorsicht bei längerfristigem Gebrauch geben.

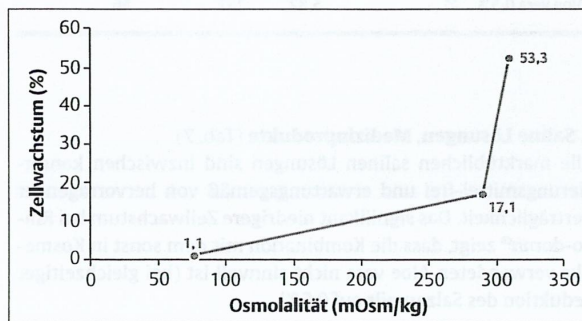


Abb. 3 Einfluss der Osmolalität auf die Verträglichkeit am Beispiel von Cromoglycin-haltigen Nasensprays.

Verse Th et al. Die Verträglichkeit von Nasalia... Laryngo-Rhino-Otol 2003; 82: 782–789

Insbesondere der Vergleich zwischen den beiden unkonservierten Präparaten Cromohexal-sanft[®] und Cromo-ratiopharm[®], welche bei gleicher Indikation, gleicher Anwendung, gleichem Wirkstoff, gleicher Wirkstärke und gleicher Dosis nach der Aut-Idem-Regelung austauschbar sind, lässt die Gefahren des Aut Idem deutlich werden.

5. Heil- und Pflegemittel mit arzneilichen Zusätzen, Öle (Tab. 5)

In dieser Gruppe steht das Dexpanthenol im Vordergrund, auf dessen positive Eigenschaften bereits hingewiesen wurde. Die Gruppe zeigt insgesamt eine gute Verträglichkeit. Selbst das noch konservierte Nasicur[®] zeigt ein gutes Zellwachstum. Bemerkenswert ist, dass der Versuch, Dexpanthenol in pharmakolo-gisch nicht wirksamer Konzentration als Medizinprodukt am Arzneimittelgesetz vorbeizuschleusen (Beispiel Mar plus[®]), we-der die Verträglichkeit saliner Lösungen noch die pharmakolo-gisch wirksamer Dexpanthenol-Zubereitungen erreicht.

Das Beispiel Kamillan supra[®] weist eine für Heil- und Pflegesub-stanzen schlechte Verträglichkeit auf. Die Anwendung alkoholischer Extrakte in der Nase erscheint bei hoher Allergiegefahr, insbesondere für Kamille, wenig sinnvoll.

Als einzige saline Lösung wurde Emser Nasenspray[®] dieser Gruppe zugeschlagen, da es als Arzneimittel zugelassen ist, mit-hin pharmakologische Wirkung nachgewiesen hat.

Hingewiesen werden soll ausdrücklich auf die drei Öle mit ihrer hervorragenden Verträglichkeit, die sie für Nasentamponaden und Rezepturanfertigung in der Offizin bestens geeignet erschei-nen lassen.

Tab. 5 Heil- und Pflegemittel mit arzneilichen Zusätzen, Öle

Handelsname	Hersteller	Form	Wirkstoff	Konz. (%)	Zusätze	Konservierung	pH	Osmolalität	Wachstum (%)
Otriven Pflege mit Dexp.	Novartis	NS	Dexpanthenol	5		Ø	7,20	369	101
Nasicur	Cassella med	NS	Dexpanthenol	5	Ø	BZC	5,78	732	81
Mar plus (MP)	Stada	NS	Dexpanthenol	1	Ø	Ø	6,15	317	73
Rhinocilr	Febena	NS	Dexpanthenol	5		Ø	7,18	401	63
Emser Nasenspray	Siemens & Co	NS	Emser Salz	1,175	Ø	Ø	8,76	288	64
Kamillan supra	Ph. Wernigerode	NS	Kamillenblütenfluidextrakt (1:1)	10	Ø	BZC	6,02	Nicht messbar	21
Coldastop Nasenöl	Desitin	NT	Retinolpalmitat α-Tocopherol Zitronenöl Orangenöl Terpineol	15 000 IE 20 mg 4 mg 2 mg 2 mg	Ø	Ø	Ø	Ø	99
Paraffinöl	Apotheke	NT	Paraffinöl		Ø	Ø	Ø	Ø	100
Erdnussöl	Apotheke	NT	Erdnussöl		Ø	Ø	Ø	Ø	99

Tab. 6 Hormone

Handelsname	Hersteller	Form	Wirkstoff	Konz. (%)	Zusätze	Konservierung	pH	Osmolalität	Wachstum (%)
Calcitonin-ratiopharm	ratiopharm	NS	Calcitonin	100 i.E./0,1 mL	Ø	Ø	4,10	273	94
Karil	Novartis	NS	Calcitonin	100 i.E./Sprühst.	Ø	BZC	4,04	274	92
Kryptocur	Aventis	NS	Gonadorelin	0,2	Ø	BZC	6,39	416	74
Synarela	Heumann	NS	Nafarelin	0,2	Ø	BZC	5,28	328	4
Profact nasal	HMR	NS	Buserelin	0,15	Ø	BZC	5,64	281	3
Suprecur	Aventis	NS	Buserelin	0,15	Ø	BZC	5,70	285	2

Tab. 7 Saline Lösungen

Handelsname	Hersteller	Form	Wirkstoff	Konz. (%)	Zusätze	Konservierung	pH	Osmolalität	Wachstum (%)
Olynth Salin Dosierspray	Pfizer	NS	NaCl	0,9	Ø	Ø	6,25	291	98
Rhinomer Soft	Novartis	NS	NaCl	0,9	Ø	Ø	7,87	326	96
Wero-mar	Wero-medical	NS	Meersalz	0,9	Ø	Ø	7,40	306	93
St. Christoph	ALDI	NS	Meerwasser	0,9	Ø	Ø	7,70	308	93
Rhinospray Atlantik	Thomae	NS	NaCl	0,9	Ø	Ø	9,12	307	92
tetesept-Meerwasser	Tetesept	NS	Meerwasser	0,9	Ø	Ø	7,14	295	84
Rhino-doron	Weleda	NS	NaCl	0,5	Aloe vera 0,5%	Ø	5,82	287	56

6. Hormone (Tab. 6)

Für diese Gruppe steht die medizinische Notwendigkeit vor der Verträglichkeit. Letztere ist von starken Unterschieden bezüglich des Zellwachstums geprägt. Es fällt auf, dass die beiden Calcitonin-haltigen Produkte von identischer Verträglichkeit sind, obwohl das eine konserviert und das andere unkonserviert ist. Ähnlich wie bei Gonadorelin scheint hier der Einfluss des Hormons den des Konservierungsmittels zu neutralisieren.

7. Saline Lösungen, Medizinprodukte (Tab. 7)

Alle marktüblichen salinen Lösungen sind inzwischen konservierungsmittel-frei und erwartungsgemäß von hervorragender Verträglichkeit. Das signifikant niedrigere Zellwachstum bei Rhino-doron® zeigt, dass die Kombination mit dem sonst in Kosmetika verwendeten Aloe vera nicht sinnvoll ist (bei gleichzeitiger Reduktion des Salzanteils auf 0,5%).

Diskussion

Die hier gezeigten Daten lassen wenig Zweifel daran, dass Konservierungsmittel in Arzneimitteln zur nasalen Anwendung einen starken zytotoxischen Einfluss haben. Die Ergebnisse dieser Untersuchung stehen somit in Einklang mit Daten aus der Literatur. Der hoch empfindliche mukoziliäre Apparat stellt eine der wichtigsten Abwehrmechanismen des menschlichen Körpers dar. Ein schädigender Einfluss von BZC auch auf die Zilienfunktion wird von immer mehr Forschungsgruppen dargestellt [15,16]. Diese Schädigung kann bis zum irreversiblen Verlust der Zilientätigkeit führen [7]. Aufgrund dieses zyto- und zilientoxischen Potenzials, der Nebenwirkungen und des allergenen Risikos sind Konservierungsmittel in Nasalia kritisch zu betrachten. Neue technische Entwicklungen im Bereich der Pumpsysteme für Nasensprays erlauben es nunmehr, Arzneimittel in mikrobiologisch unbedenklicher, unkonservierter Form zu produzieren.

Es konnte gezeigt werden, dass unkonservierte Nasalia deutlich besser verträglich sind als konservierte. Neben der Konservierung spielen aber auch andere Faktoren wie die Konzentration des Wirkstoffes, seine Dosierung und toxischen Eigenschaften sowie die Matrix der Lösung eine wesentliche Rolle für die Verträglichkeit. Vor diesem Hintergrund stellen Konservierungsmittel in jedem Falle eine zusätzliche und inzwischen unnötige Belastung dar.

Toxische Einflüsse an der isolierten Zelle, so wie in unserem Modell getestet, sind in der Regel gravierender als an der intakten Mukosa, welche physiologischerweise durch ihren Sekretmantel geschützt ist. Es ist also durchaus möglich, dass die hier beschriebenen zytotoxischen Wirkungen von Wirksubstanz, Konservierungsmittel und physikalisch-chemischen Parametern überschätzt werden. Andererseits ist die nasale Mukosa, zumindest in den Industrieländern, häufig durch chronische oder akute Infekte, multiplen und lang anhaltenden Gebrauch von Arzneimitteln, Allergien, starke Exposition durch Umweltbelastungen, Rauchgewohnheiten etc. vorgeschädigt. Diese Vorschädigung der Nasenschleimhaut geht in der Regel mit einer Reduktion des schützenden Sekretfilms und einer Vorschädigung der hoch empfindlichen Zilien einher. Die übereinstimmenden Ergebnisse der Prüfungen von Zytotoxizität und Zilientoxizität bekräftigen zudem die Validität der Zytotoxizitätsprüfung *ex vivo in vitro* zur Ermittlung der schädigenden Wirkung topischer Noxen auf den mukoziliären Apparat. Weiterhin wird die Validität unserer Daten für *In-vivo*-Verhältnisse durch die kürzlich erschienene Arbeit von Kehrl et al. [12] unterstützt, die in einer randomisierten, doppelblinden Studie an 152 Patienten zu gleichen Ergebnissen und Interpretationen kommt.

Allein in Deutschland werden jährlich ca. 60 Millionen Flaschen Nasenspray über den kontrollierten Apothekenmarkt verkauft, zumeist frei erhältlich. Eine nicht abzuschätzende Menge wird zusätzlich über Drogerien und Discounter verkauft. Daher sind Art und Dauer der Anwendung jeder zuverlässigen Kontrolle entzogen. Hier besteht ein nicht unerhebliches Gefährdungspotenzial, zumal unerwünschte Arzneimittelwirkungen vom Anwender nur schwer als solche erkannt werden können, sondern eher mit der zugrunde liegenden Krankheit assoziiert werden.

Leider stehen der begründeten Forderung nach Umformulierung von konservierten in psf-Produkte eine Reihe von Hemmschwellen entgegen:

1. Der höhere technische Aufwand bei der Herstellung (aseptische Abfüllung, hochkomplexe Pumpsysteme) bedingt höhere Produktionskosten. Solange aber durch pauschalisierende Festbeträge gleiche Abgabepreise wie für technisch minderwertige und schlechter verträgliche Präparate erzielt werden können, fehlt der wirtschaftliche Anreiz für Investitionen.
2. Vielen Unternehmen fehlt das technische Know-how zur Umstellung und Eigenproduktion, so dass externe Dienstleister hinzu gezogen werden müssen, was einen weiteren Kostenfaktor bedeutet.
3. Das BfArM hat bisher die Umstellung auf psf-Formulierungen eher behindert denn gefördert und für die Industrie sehr konträrkt gemacht.
4. Viele pharmazeutische Unternehmen sind inzwischen als Folge der Globalisierung von Entscheidungen ausländischer, zumeist anglo-amerikanischer Zentralen abhängig, die deutschen Qualitätsstandards und Bedenken eher gleichgültig gegenüber stehen.
5. Ärzteschaft und Apotheker sind größtenteils noch nicht hinreichend mit der Problematik vertraut und dafür sensibilisiert. Bisher fehlten allerdings auch vergleichende Daten, die hier erstmals vorgelegt werden.
6. Patienten in der Selbstmedikation tendieren bekanntlich zur preiswertesten Alternative und das Markenmanagement großer Konzerne hat unsere Kaufgewohnheiten geprägt. Empfehlungen seitens Ärzte- bzw. Apothekerschaft können hier positiv einwirken.

Während in der Vergangenheit die topisch in der Nase wirksamen Substanzen im Vordergrund des medizinisch-pharmazeutischen Interesses standen, wie die Anzahl der hier aufgeführten Präparate und Indikationen belegt, wird die nasale Applikationsform für systemisch wirksame Substanzen in den kommenden Jahren zunehmend wichtiger werden. Nicht nur die Gruppe der hier schon untersuchten Hormone wird weiter anwachsen. So hat z.B. die Einführung der nasalen Triptane die Migränetherapie kürzlich entscheidend bereichert. Derzeit werden nasale Impfstoffe intensiv erforscht und die additive Zugabe von Hyaluronsäure [17,18]. Auch für Opioide [19], zentralnervös wirksame Substanzen, z.B. gegen Epilepsie und Dyskinesie [20] und Medikamente zur Therapie der erektilen Dysfunktion besteht derzeit Interesse an der nasalen Darreichungsform. Aus diesem Grund erscheint eine vergleichende Darstellung der Verträglichkeit, wie hier vorgelegt, notwendig.

Zusammenfassend sei nochmals auf die zum Teil deutlichen Unterschiede bezüglich der Zytotoxizität der einzelnen Nasalia hingewiesen. Die größten Unterschiede finden sich in Abhängigkeit von der Konservierung, der Dosierung des Wirkstoffes und der Galenik. Vor diesem Hintergrund ist die Aut-Idem-Regelung kritisch zu sehen.

Für pharmazeutische Neuentwicklungen erscheinen auf der vorliegenden Datenlage konservierte Formulierungen nicht mehr vertretbar. Noch konservierte Präparate sollten schnellstmöglich umformuliert werden und solche, bei denen eine psf-Umformulierung nicht möglich ist, z.B. bei Kristallsuspensionen, sollte der

zytotoxische Effekt des Konservierungsmittels durch den Zusatz einer begleiteten protektiven Medikation (z.B. Dexpanthenol) abgemildert werden. Da, wo unkonservierte Alternativen zur Verfügung stehen, sind konservierte Mittel nach Meinung der Autoren inzwischen obsolet geworden.

Danksagung

Unser Dank gilt auch den vielen pharmazeutischen Firmen, die diese Arbeit durch kostenlose Überlassung von Prüfmustern unterstützt haben.

Es bestehen keinerlei finanzielle oder anders geartete Abhängigkeiten und kein Interessenkonflikt zwischen den Untersuchern und den Herstellern der hier geprüften Präparate. Die hier dargestellten Untersuchungsergebnisse gehen auf in jeder Hinsicht unabhängige Untersuchungen der Autoren zurück.

Literatur

- 1 Berg OH, Lie K, Steinsvag SK. The effects of topical nasal steroids on rat respiratory mucosa in vivo, with special reference to benzalkonium chloride. *Allergy* 1997; 52: 627–632
- 2 Bernstein IL. Is the use of benzalkonium chloride as a preservative for nasal formulations a safety concern? A cautionary note based on compromised mucociliary transport. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 39–44
- 3 Boek WM, Romeijn SG, Graamans K, Verhoef JC, Merkus FW, Huizing EH. Validation of animal experiments on ciliary function in vitro. II. The influence of absorption enhancers, preservatives and physiologic saline. *Acta Otolaryngol* 1999; 119: 98–101
- 4 Cho JH, Kwun YS, Jang HS, Kang JM, Won YS, Yoon HR. Long-term use of preservatives on rat nasal respiratory mucosa. Effects of benzalkonium chloride and potassium sorbate. *Laryngoscope* 2000; 110: 312–317
- 5 Graf P, Enerdal J, Hallén H. Ten days' use of oxymetazoline nasal spray with or without benzalkonium chloride in patients with vasomotor rhinitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 103: 1128–1132
- 6 Klöcker N, Rudolph P. Konservierte Nasensprays sind obsolet. *Pharm Ztg* 2000; 21: 1710–1712
- 7 BfArM. Bundesanzeiger 2002, Nr. 120 (03.07.02)
- 8 Furrer P, Mayer JM, Gurny R. Ocular tolerance of preservatives and alternatives. *Eur J Pharm Biopharm* 2002; 53: 263–280
- 9 Bagel S, Wiedemann B. Nasensprays ohne Konservierungsmittel. *Dt Apoth Ztg* 1999; 139: 4438–4441
- 10 Klöcker N, Verse T, Rudolph P. Die schleimhautprotektive Wirkung von Dexpanthenol in Nasensprays. Erste Ergebnisse zytotoxischer und ziliotoxischer Versuche in vitro. *Laryngo-Rhino-Otol* 2003; 82: 177–182
- 11 Klöcker N, Rudolph P, Verse T. Evaluation of protective and curative effects of dexpanthenol on nasal decongestants and preservatives. Results of cytotoxic studies in-vitro. *Am J Rhinol* 2003; in press
- 12 Kerl W, Sonnemann U, Dethlefsen U. Fortschritt in der Therapie der akuten Rhinitis. Vergleich der Wirksamkeit und Unbedenklichkeit von Xylometazolin mit der Kombination von Xylometazolin-Dexpanthenol bei Patienten mit akuter Rhinitis. *Laryngo-Rhino-Otol* 2003; 82: 266–271
- 13 Grumbach PE, Kapetanidis I, Mirimanoff A, Paley A. Remarques sur le controle physiologique des gouttes nasales: etude critique de l'influence du pH, role des systemes-Tampon. *Pharm Acta Helv* 1965; 40: 432–440
- 14 Stepper M, Wayer M, Kedvessy G, Szabon J. Die Rolle der Tonizität und Viskosität von Lösungen in der Aktivität des Flimmerepithels der Nasenschleimhaut. *Arzneimittelforschung* 1965; 11: 1347–1349
- 15 Neugebauer P, Seine R, Meister H, Mickenhagen A, Bonnekoh B. Die Wirkung von Benzalkoniumchlorid auf die Zilienschlagfrequenz nasaler Flimmerepithelzellen in-vitro. Abstract HNO 1998; 46: 433
- 16 Riechelmann H. Pharmaceutical aids in nasal preparations. Biennial Congress of the European Rhinologic Society. Ulm: June 2002
- 17 Sing M, Briones M, O'Hagan DT. Anovel bioadhesive intranasal delivery system for inactivated influenza vaccines. *J Control release* 2001; 70: 267–276
- 18 Castellano F, Mautone G. Decongestant activity of a new formulation of xylometazoline nasal spray: a double-blind, randomized versus placebo and reference drugs controlled, dose-effect study. *Drugs Exp Clin Res* 2002; 28: 27–35
- 19 Striebel HW, Toussaint S, Raab C, Klöcker N. Non-invasive methods for PCA in Pain management. *Acute Pain* 1999; 2: 36–40
- 20 Klöcker N, Hanschke W, Toussaint S, Verse T. Scopolamine nasal spray in motion sickness. A randomized, controlled, and crossover study for the comparison of two scopolamine nasal sprays with oral dimenhydrinate and placebo. *Eur J Pharm Sci* 2001; 13: 227–232