

Standardarbeitsvorschrift im Rahmen des BMBF Verbundvorhabens

Validierungsstudie zur Prüfung auf Hautpenetration mit Hilfe von
 biotechnologisch hergestellten Hautmodellen

Standard Operating Procedure (SOP)

| | | | | |
|--|--------------------------------|---|---|------------------|
| Titel Herstellung von den Donor- und Akzeptorlösungen | | Version 04 | Dokumentennr.: SOP_M_LÖS_04 | |
| Erstausgabedatum 25.04.2005 | gültig ab 25.04.2005 | Ersteller Monika Kaca | Seite 1 | von 12 |
| Ausgabe | gültig ab | Beschreibung der Änderung | | |
| 01 | - | Erste Ausgabe | | |
| 02 | - | Korrektur in der Sörensenpufferzusammensetzung | | |
| 03 | 25.04.2005 | Änderung der Einheit von mg auf mL bei der Nicotinlösung Anpassung HPLC-Donor an LSC-Donor bei der Nicotinlösung (Ethanolzugabe) | | |
| 04 | 11.02.2008 | Redaktionelle Anpassung | | |
| Genehmigung: Prof. Dr. Monika Schäfer-Korting | | | | |
| Erstellt: Monika Kaca | | Geprüft: Dr. Udo Bock | Genehmigt: Dr. Eleonore Haltner | |
| Verteiler: Freie Universität Berlin (FU), Tierärztliche Hochschule Hannover (TiHo), Universität des Saarlandes (US), Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU), ZEBET Berlin, Across Barriers (ACB), Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik, Fraunhofer (IGB), BASF AG (BASF), Beiersdorf AG (BDF), Cognis Deutschland GmbH & Co.KG (CND) | | | | |

| | | | | |
|---|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|------------------|
| Titel Herstellung von den Donor- und Akzeptorlösungen | | Version 04 | Dokumentennr.: SOP_M_LÖS_04 | |
| Erstausgabedatum 25.04.2005 | gültig ab 25.04.2005 | Ersteller Monika Kaca | Seite 2 | von 12 |

Inhaltsverzeichnis

| | Seite |
|--|--------------|
| 1 ZWECK | 3 |
| 2 EINSATZBEREICH | 3 |
| 3 ABKÜRZUNGEN | 3 |
| 4 MATERIAL | 4 |
| 4.1 Puffer | 4 |
| 4.1.1 Isotonischer Phosphatpuffer pH 7,4 (PBS) mit normaler Pufferkapazität | 4 |
| 4.1.2 Isotonischer Phosphatpuffer pH 7,4 (PBS) mit vierfach erhöhter Pufferkapazität | 4 |
| 4.1.3 Isotonischer Sörensen-Puffer pH 7,4 | 5 |
| 4.2 Testsubstanzen | 5 |
| 4.3 Chemikalien | 6 |
| 5 DURCHFÜHRUNG | 7 |
| 5.1 Testsubstanzen für die Stufe 1 der Validierungsphase | 7 |
| 5.1.1 Coffein (HPLC/LSC) | 7 |
| 5.1.2 Testosteron (HPLC/LSC) | 7 |
| 5.1.3 Flufenaminsäure (HPLC) | 8 |
| 5.1.4 Mannitol (LSC) | 8 |
| 5.2 Testsubstanzen für die Stufe 2 der Validierungsphase | 9 |
| 5.2.1 Ivermectin (HPLC) | 9 |
| 5.2.2 Benzoesäure (HPLC) | 10 |
| 5.2.3 Nicotin (HPLC/LSC) | 10 |
| 5.2.4 Digoxin (LSC) | 10 |
| 5.2.5 Clotrimazol (LSC) | 11 |
| 5.3 Lagerung | 12 |

| | | | | |
|---|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|------------------|
| Titel Herstellung von den Donor- und Akzeptorlösungen | | Version 04 | Dokumentennr.: SOP_M_LÖS_04 | |
| Erstausgabedatum 25.04.2005 | gültig ab 25.04.2005 | Ersteller Monika Kaca | Seite 3 | von 12 |

1 Zweck

Standardisierte Herstellung und Vorbereitung von Donor- und Akzeptorlösungen zur Durchführung von Permeationsversuchen mit Franz-Diffusionszellen innerhalb der Stufe 1 und 2 der Validierungsphase.

2 Einsatzbereich

Die Arbeitsanweisung dient der Vereinheitlichung der Permeationsversuche im Rahmen des BMBF-Projektes (BEO 0312881-6).

3 Abkürzungen

| | |
|------|--|
| LSC | Liquid Scintillation Counting |
| HPLC | High Performance Liquid Chromatography |
| Bq | Becquerel |
| PBS | Phosphatpuffer |
| FUB | Freie Universität Berlin |
| LMU | Ludwig-Maximilians-Universität München |
| TiHo | Tierärztliche Hochschule Hannover |
| ACB | Across Barriers GmbH |

| | | | | |
|---|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|------------------|
| Titel Herstellung von den Donor- und Akzeptorlösungen | | Version 04 | Dokumentennr.: SOP_M_LÖS_04 | |
| Erstausgabedatum 25.04.2005 | gültig ab 25.04.2005 | Ersteller Monika Kaca | Seite 4 | von 12 |

4 Material

4.1 Puffer

4.1.1 Isotonischer Phosphatpuffer pH 7,4 (PBS) mit normaler Pufferkapazität

| | |
|---|--------------------|
| KCl | 0,2 g |
| NaCl | 8,0 g |
| KH ₂ PO ₄ | 0,2 g |
| Na ₂ HPO ₄ x 7H ₂ O oder Na ₂ HPO ₄ | 1,44 g 1,1486 g |
| in aqua bidest. ad | 1 L |

alle Substanzen (z.B. Merck, Darmstadt oder vergleichbare Qualität)
pH-Werteinstellung auf pH = 7,4 mit NaOH bzw. HCl

Die entsprechenden Mengen der Salze sind mit Aqua bidest. anzusetzen. Nach Kontrolle des pH-Werts wird die Lösung in verschließbaren Glasflaschen bei 4 °C gelagert. Die Haltbarkeit des Puffers ist auf 1 Woche bei 4°C festgelegt.

4.1.2 Isotonischer Phosphatpuffer pH 7,4 (PBS) mit vierfach erhöhter Pufferkapazität

| | |
|---|------------------|
| KCl | 0,8 g |
| NaCl | 5,5 g |
| KH ₂ PO ₄ | 0,8 g |
| Na ₂ HPO ₄ x 7H ₂ O oder Na ₂ HPO ₄ | 8,56 g 4,53 g |
| in aqua bidest. ad | 1 L |

alle Substanzen (z.B. Merck, Darmstadt oder vergleichbare Qualität)
pH-Werteinstellung auf pH = 7,4 mit NaOH bzw. HCl

| | | | | |
|---|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|------------------|
| Titel Herstellung von den Donor- und Akzeptorlösungen | | Version 04 | Dokumentennr.: SOP_M_LÖS_04 | |
| Erstausgabedatum 25.04.2005 | gültig ab 25.04.2005 | Ersteller Monika Kaca | Seite 5 | von 12 |

Die entsprechenden Mengen der Salze sind mit Aqua bidest. anzusetzen. Nach Kontrolle des pH-Werts wird die Lösung in verschließbaren Glasflaschen bei 4 °C gelagert. Die Haltbarkeit des Puffers ist auf 1 Woche bei 4°C festgelegt.

4.1.3 Isotonischer Sörensen-Puffer pH 7,4

| | |
|---|--------|
| KH ₂ PO ₄ | 2,0 g |
| Na ₂ HPO ₄ x 2 H ₂ O | 9,2 g |
| NaCl | 4,19 g |
| in aqua bidest. ad | 1 L |

alle Substanzen (z.B. Merck, Darmstadt oder vergleichbare Qualität)
pH-Werteinstellung auf pH = 7,4 mit NaOH bzw. HCl

Die entsprechenden Mengen der Salze sind mit Aqua bidest. anzusetzen. Nach Kontrolle des pH-Werts wird die Lösung in verschließbaren Glasflaschen bei 4 °C gelagert. Die Haltbarkeit des Puffers ist auf 1 Woche bei 4°C festgelegt.

4.2 Testsubstanzen

Tab. 1: Nicht radioaktive Testsubstanzen

| Testsubstanz | Lieferant | Produkt Nr. |
|---------------------|------------------|--------------------|
| Coffein | Sigma Aldrich | C0750 |
| Testosteron | Sigma Aldrich | T1500 |
| Flufenaminsäure | Sigma Aldrich | F9005 |
| Mannitol | Sigma Aldrich | M8429 |
| Ivermectin | Sigma Aldrich | I8898 |
| Benzoessäure | Sigma Aldrich | B9300 |
| Nicotin | Sigma Aldrich | N0267 |
| Digoxin | Sigma Aldrich | D6003 |
| Clotrimazol | Sigma Aldrich | C6019 |

Falls von den vorgeschlagenen Lieferanten abgewichen wird, ist auf eine vergleichbare Produktqualität zu achten.

| | | | | |
|---|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|------------------|
| Titel Herstellung von den Donor- und Akzeptorlösungen | | Version 04 | Dokumentennr.: SOP_M_LÖS_04 | |
| Erstausgabedatum 25.04.2005 | gültig ab 25.04.2005 | Ersteller Monika Kaca | Seite 6 | von 12 |

Tab. 2: Radioaktive Testsubstanzen

| Testsubstanz | Aktivität | Lösemittel | Lieferant | Produkt Nr. |
|--|-----------------------|--|--|--------------|
| [¹⁴ C]-Coffein | 1,85 MBq in 0,5 mL | Ethanol | Perkin Elmer | NEC-412050UC |
| [1,2,6,7- ³ H]- Testosteron | 37 MBq/mL | Toluol:Ethanol (9:1) | Amersham Biosciences Europe GmbH | TRK-402 |
| D-[1- ¹⁴ C]- Mannitol | 7,4 MBq/mL | Aqueous solu- tion + 2 % Ethanol | Amersham Biosciences Europe GmbH | CFA-238 |
| L-(-)-[N-Methyl- ³ H]-Nicotine | 37 MBq/mL | Ethanol | Perkin Elmer | NET-827001MC |
| [³ H(G)]-Digoxin | 37 MBq/mL | Ethanol | Perkin Elmer | NET222250UC |
| [³ H]-Clotrimazole* | 37 MBq/mL | Ethanol | Moravek Bio- chemicals | MT1519 |

* die Substanz wurde von der Across Barriers GmbH für die Partner FUB, LMU, TiHo und BASF zentral beschafft, aliquotiert und wird mit Analysenzertifikat weitergeleitet. Die Beschaffung der restlichen Testsubstanzen erfolgt individuell durch jeden Projektpartner. Falls von den vorgeschlagenen Lieferanten abgewichen werden sollte, ist darauf zu achten, dass insbesondere die Gehalte an Lösemittel qualitativ und quantitativ übereinstimmen.

4.3 Chemikalien

Als Solubilizer in der Donor- bzw. Akzeptorphase ist Nonidet und/oder Ethanol vorgesehen. Für die Beschaffung der Solubilizer sind folgende Lieferanten vorgesehen:

- Nonidet (Igepal CA-630) (Sigma Aldrich, Produkt Nr.: I3021)
- Ethanol, absolut (z.B. Riedel de Haen)

Falls von den vorgeschlagenen Lieferanten abgewichen wird, ist insbesondere für das Nonidet auf eine vergleichbare Produktqualität zu achten, da es sich bei diesem um ein Gemisch unterschiedlicher Einzelkomponenten handelt.

| | | | | |
|---|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|------------------|
| Titel Herstellung von den Donor- und Akzeptorlösungen | | Version 04 | Dokumentennr.: SOP_M_LÖS_04 | |
| Erstausgabedatum 25.04.2005 | gültig ab 25.04.2005 | Ersteller Monika Kaca | Seite 7 | von 12 |

5 Durchführung

5.1 Testsubstanzen für die Stufe 1 der Validierungsphase

5.1.1 Coffein (HPLC/LSC)

Donor: Bei Versuchen mit einer Quantifizierung des Coffeins durch HPLC dient eine 0,1 %-ige Lösung (1 mg/mL) in Phosphat-Puffer mit normaler Pufferkapazität als Donor. Dazu kann z.B. folgender Ansatz dienen: 0,05 g Coffein werden in 50 mL PBS-Puffer (normale Pufferkapazität) gelöst.

Bei Quantifizierung durch Szintillationszählung erfolgt der Ansatz wie folgt: 1 mL einer 0,1 % (1 mg/mL) Coffeinlösung in PBS und 20 µL radioaktiver Stammlösung [¹⁴C]-Coffein. Der Donor enthält somit 2 % (v/v, %) Ethanol und hat eine Gesamtaktivität von 0,074 MBq/mL.

Akzeptor: PBS mit normaler Pufferkapazität

5.1.2 Testosteron (HPLC/LSC)

Donor: Bei Versuchen mit einer Quantifizierung des Testosterons durch HPLC dient eine 0,004 %-ige Lösung (40 µg/mL) in Phosphat-Puffer mit normaler Pufferkapazität als Donor.

Aufgrund begrenzter Löslichkeit von Testosteron in PBS-Puffer wird mit einer Testosteronlösung gearbeitet, die unter zu Hilfenahme von Igepal und Ethanol hergestellt wird. Die finale Donorlösung (40 µg/mL Testosteron) enthält 2 % (v/v, %) Igepal und 0,4 % Ethanol (v/v, %).

Dazu kann z.B. folgender Ansatz dienen:

1. 50 mg Testosteron werden in 5 mL Ethanol gelöst (10 mg/mL) [Lösung A]
2. 1 mL Igepal wird mit PBS-Puffer (normale Pufferkapazität) zu 50 mL ergänzt und gelöst [Lösung B]

Bemerkung: Das Lösen von Igepal in PBS-Puffer bedarf etwas Zeit, da es zur Schlierenbildung kommt.

3. 200 µL Lösung A werden mit Lösung B zu 50 mL ergänzt und gemischt [Lösung C], wobei durch vorsichtiges Umschwenken des Messkolbens auf die Reduzierung der auftretenden Schaumbildung zu achten ist.

| | | | | |
|---|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|------------------|
| Titel Herstellung von den Donor- und Akzeptorlösungen | | Version 04 | Dokumentennr.: SOP_M_LÖS_04 | |
| Erstausgabedatum 25.04.2005 | gültig ab 25.04.2005 | Ersteller Monika Kaca | Seite 8 | von 12 |

Bei Quantifizierung durch Szintillationzählung erfolgt der Ansatz wie folgt: 4 mL einer 0,04 % (40 µg/mL) Testosteronlösung in PBS (mit 2 % (v/v, %) Igepal und 0,4 % (v/v, %) Ethanol) wie im HPLC Ansatz beschrieben, werden 8 µL einer radioaktiven Stammlösung [1,2,6,7-³H]-Testosteron zugesetzt. Hierdurch enthält der Donor 0,42 % (v/v, %) Ethanol, 0,18 % (v/v, %) Toluol und 2 % (v/v, %) Nonidet. Die Gesamtaktivität an [1,2,6,7-³H]-Testosteron beträgt 0,074 MBq/mL.

Akzeptor: PBS (normale Pufferkapazität)

5.1.3 Flufenaminsäure (HPLC)

Donor: Bei Versuchen mit Flufenaminsäure dient eine 0,075 %-ige Lösung (750 µg/mL) in isotonischem Sörensen-Puffer als Donor. Die Quantifizierung erfolgt ausschließlich mit HPLC.

Dazu kann z.B. folgender Ansatz dienen:

1. 75 mg Flufenaminsäure in einen 100 mL-Messkolben einwiegen und mit 20 mL Pufferlösung versetzen
2. 15 min Ultraschallbad
3. Auffüllen auf ca. 80 mL
4. 30 min Ultraschallbad
5. Auffüllen bis zur Eichmarke und über Nacht bei 32 °C rühren.

Lagerung: dunkel bei Raumtemperatur. NICHT IM KÜHLSCHRANK, um Ausfällungen zu vermeiden.

Akzeptor: isotonischer Sörensen-Puffer

5.1.4 Mannitol (LSC)

Donor: Die Quantifizierung des Mannitol erfolgt ausschließlich durch Szintillationzählung. Hierzu wird ein Gemisch von nichtradioaktivem und ¹⁴C-markiertem Mannitol hergestellt. Die nichtradioaktive 0,1 %-ige Lösung (1 mg/mL) in Phosphat-Puffer mit normaler Pufferkapazität kann wie folgt hergestellt werden: 0,05 g Mannitol werden in 50 mL PBS-Puffer (normale Pufferkapazität) gelöst.

Durch die Zugabe von 10 µL einer radioaktiven Stammlösung von D-[1-¹⁴C]-Mannitol zu 1 mL einer

| | | | | |
|---|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|------------------|
| Titel Herstellung von den Donor- und Akzeptorlösungen | | Version 04 | Dokumentennr.: SOP_M_LÖS_04 | |
| Erstausgabedatum 25.04.2005 | gültig ab 25.04.2005 | Ersteller Monika Kaca | Seite 9 | von 12 |

0,1 % (1 mg/mL) Mannitollösung in PBS enthält der Donor 0,2 % (v/v, %) Ethanol und hat eine Gesamtaktivität von 0,074 MBq/mL.

Akzeptor: PBS mit normaler Pufferkapazität

5.2 Testsubstanzen für die Stufe 2 der Validierungsphase

5.2.1 Ivermectin (HPLC)

Die Quantifizierung erfolgt ausschließlich mit HPLC-MS zentral beim Projektpartner ACB.

Donor: Hier dient eine 0,1 %-ige Lösung (1 mg/mL) in Phosphat-Puffer mit normaler Pufferkapazität als Donor. Aufgrund begrenzter Löslichkeit von Ivermectin in PBS-Puffer wird mit einer Ivermectinlösung gearbeitet, die unter Zuhilfenahme von Igepal und Ethanol hergestellt wird. Die finale Donorlösung (1 mg/mL Ivermectin) enthält 2 % (v/v, %) Igepal und 0,4 % Ethanol (v/v, %).

Dazu kann z.B. folgender Ansatz dienen:

1. 50 mg Ivermectin in einen 50 mL-Messkolben einwiegen und mit 10 mL Pufferlösung versetzen
2. 1 mL Igepal zugeben
3. 30 min Ultraschalbad
4. auffüllen auf ca. 20 mL
5. 30 min Ultraschalbad
6. auffüllen auf ca. 40 mL
7. 30 min Ultraschalbad
8. 200 µL Ethanol zugeben
9. auffüllen bis zur Eichmarke und über Nacht bei 32 °C rühren

Bemerkung: Das Lösen von Igepal in PBS-Puffer bedarf etwas Zeit, da es zur Schlierenbildung kommt.

Akzeptor: Aufgrund begrenzter Löslichkeit von Ivermectin in PBS-Puffer mit normaler Pufferkapazität ist eine Zugabe von 0,02 % (v/v, %) Nonidet im Akzeptor notwendig.

| | | | | |
|---|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|------------------|
| Titel Herstellung von den Donor- und Akzeptorlösungen | | Version 04 | Dokumentennr.: SOP_M_LÖS_04 | |
| Erstausgabedatum 25.04.2005 | gültig ab 25.04.2005 | Ersteller Monika Kaca | Seite 10 | von 12 |

5.2.2 Benzoessäure (HPLC)

Die Quantifizierung erfolgt ausschließlich mit HPLC.

Donor: Hier dient eine 0,1 %-ige Lösung (1 mg/mL) in Phosphat-Puffer mit normaler Pufferkapazität als Donor. Dazu kann z.B. folgender Ansatz dienen: 0,05 g Benzoessäure werden in 50 mL PBS-Puffer (normale Pufferkapazität) gelöst.

Akzeptor: PBS mit vierfach erhöhter Pufferkapazität

5.2.3 Nicotin (HPLC/LSC)

Donor: Bei Versuchen mit einer Quantifizierung des Nicotin durch HPLC dient eine 0,1 %-ige Lösung (1 mg/mL) in Phosphat-Puffer mit normaler Pufferkapazität als Donor. Dazu kann z.B. folgender Ansatz dienen: 0,05 mL Nicotin werden in 50 mL PBS-Puffer (normale Pufferkapazität) gelöst. Für die HPLC-Quantifizierung soll eine Zugabe von 0,1 mL Ethanol [0,2 % (v/v, %)] in die Donorlösung erfolgen, damit der HPLC-Donor identisch mit dem LSC-Donor ist.

Bei Quantifizierung durch Szintillationzählung erfolgt der Ansatz wie folgt: 4 mL einer 0,1 % (1 mg/mL) Nicotinlösung in PBS (ohne Ethanolzugabe) und 8 µL radioaktiver Stammlösung L-(-)-[N-Methyl-³H]-Nicotin. Der Donor enthält somit 0,2 % (v/v, %) Ethanol und hat eine Gesamtaktivität von 0,074 MBq/mL.

Akzeptor: PBS mit normaler Pufferkapazität

5.2.4 Digoxin (LSC)

Donor: Die Quantifizierung des Digoxin erfolgt ausschließlich durch Szintillationzählung. Hierzu wird ein Gemisch von nichtradioaktivem und ³H-markiertem Digoxin hergestellt. Die nichtradioaktive 0,001 % (10 µg/mL) in Phosphat-Puffer mit normaler Pufferkapazität Digoxinlösung kann wie folgt hergestellt werden: 1 mg Digoxin wird in 100 mL PBS-Puffer (normale Pufferkapazität) gelöst.

4 mL einer 0,001 % (10 µg/mL) Digoxinlösung in PBS mit normaler Pufferkapazität werden mit 8 µL einer radioaktiven Stammlösung [³H(G)]-Digoxin gemischt. Der Donor enthält somit 0,2 % (v/v, %)

| | | | | |
|---|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|------------------|
| Titel Herstellung von den Donor- und Akzeptorlösungen | | Version 04 | Dokumentennr.: SOP_M_LÖS_04 | |
| Erstausgabedatum 25.04.2005 | gültig ab 25.04.2005 | Ersteller Monika Kaca | Seite 11 | von 12 |

Ethanol und hat eine Gesamtaktivität von 0,074 MBq/mL.

Akzeptor: PBS mit normaler Pufferkapazität

5.2.5 Clotrimazol (LSC)

Donor: Die Quantifizierung des Clotrimazol erfolgt ausschließlich durch Szintillationzählung. Hierzu wird ein Gemisch von nichtradioaktivem und ³H-markiertem Clotrimazol hergestellt. Aufgrund begrenzter Löslichkeit von Clotrimazol in PBS-Puffer mit normaler Pufferkapazität wird mit einer Clotrimazolösung gearbeitet, die unter zu Hilfenahme von Igepal und Ethanol hergestellt wird. Die finale Donorlösung mit [³H]-Clotrimazol beträgt 0,025 % (250 µg/mL Clotrimazol) und enthält 2 % (v/v, %) Igepal und 0,4 % Ethanol (v/v, %).

Dazu kann z.B. folgender Ansatz dienen:

1. 10 mL Igepal werden in einem 500 mL Messkolben vorgelegt.
2. Pipette mit ca. 5 mL PBS Puffer spülen (um Igepal vollständig zu transferieren)
3. Messkolben bis zur Eichmarke mit 400 mL PBS Puffer auffüllen und 30 min rühren
4. 50 mg Clotrimazol in einen 200 mL-Messkolben einwiegen und mit 20 mL Pufferlösung mit 2 % Igepal versetzen
5. 5 min Ultraschalbad
6. auffüllen auf ca. 180 mL Pufferlösung mit 2 % Igepal und von Hand kurz schütteln
7. 400 µL Ethanol zugeben
8. Auf dem Magnetrührer/Heizplatte unter Erwärmen (ca. 40 °C) und 1 h kräftig rühren
9. Rührfisch entfernen und abkühlen lassen
10. auffüllen bis zur Eichmarke

Bei Quantifizierung durch Szintillationzählung erfolgt der weitere Ansatz wie folgt: zu 4 mL einer 0,025 % (250 µg/mL) Clotrimazolösung in PBS (mit 2 % (v/v, %) Nonidet und 0,2 % (v/v, %) Ethanol) werden 8 µL radioaktiver Stammlösung [³H]-Clotrimazol zugegeben. Der Donor enthält somit 0,4 % (v/v, %) Ethanol und 2 % (v/v, %) Nonidet. Die Gesamtaktivität beträgt 0,074 MBq/mL.

Akzeptor: Aufgrund begrenzter Löslichkeit von Clotrimazol in PBS-Puffer mit normaler Pufferkapazität ist eine Zugabe von 0,05 % (v/v, %) Nonidet im Akzeptor notwendig.

| | | | | |
|---|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|------------------|
| Titel Herstellung von den Donor- und Akzeptorlösungen | | Version 04 | Dokumentennr.: SOP_M_LÖS_04 | |
| Erstausgabedatum 25.04.2005 | gültig ab 25.04.2005 | Ersteller Monika Kaca | Seite 12 | von 12 |

5.3 Lagerung

Die Donorlösungen sind bis zu 24 h stabil und können somit bis zu 24 Stunden vor dem Versuchstart hergestellt werden. Die Proben sollen lichtgeschützt und außer bei der Flufenaminsäure bei 4 °C gelagert werden.