



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Entwicklung von Mikroemulsionssystemen und
Charakterisierung von Wechselwirkungen mit porciner
Haut mittels FTIR“

Verfasserin

Denise-Silvia Mahrhauser

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, Oktober 2011

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Diplomstudium Pharmazie

Betreuerin / Betreuer:

Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Claudia Valenta

Danksagung

Mein besonderer Dank geht an Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Claudia Valenta für die Ermöglichung meiner Diplomarbeit am Department für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie. Insbesondere möchte ich mich für den Einblick in das wissenschaftliche Arbeiten in einem so interessanten Themengebiet bedanken.

Ich möchte mich auch bei O. Univ.-Prof. Dr. Helmut Viernstein für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes am Department bedanken.

Des Weiteren ein großes Dankeschön an Mag. pharm. Julia Schwarz und Mag. pharm. Victoria Klang für ihre informative Vorbereitung und ihre geduldige Hilfe.

Außerdem danke ich meinen Eltern, dass sie mich immer unterstützt haben.

Von ganzem Herzen möchte ich mich bei meinem Freund bedanken, der mir tatkräftig und mit grenzenloser Geduld zur Seite stand.

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG.....	1
2	ALLGEMEINER TEIL.....	3
2.1	Haut	3
2.1.1	Aufbau der Haut	3
2.1.2	Penetrationswege	6
2.1.3	Hautmodelle	8
2.2	Mikroemulsionen	11
2.2.1	Definition	11
2.2.2	Verwendete Komponenten.....	12
2.3	Formulierungen mit neuen Glykokonjugaten	15
2.3.1	Neue Glykokonjugate.....	15
2.4	WOW – Nanoemulsionen	17
2.4.1	Definition	17
2.5	Liposomen	18
2.5.1	Definition	18
2.5.2	Deuterierte Liposomen	20
2.6	ATR-FTIR Grundlagen.....	20
3	METHODEN	26
3.1	Formulierungsfindung in Bezug auf die Mikroemulsionen.....	26
3.1.1	Vorversuche	26
3.1.2	Erstellung von Phasendiagrammen	26
3.2	FTIR-Messungen.....	30
3.2.1	Probenbereitung.....	31

3.2.2	Messvorgang.....	32
3.3	Kombination von Tape Stripping und FTIR.....	34
3.3.1	Vermessung nach Tape Stripping	34
3.3.2	Vermessung deuterierter DPPC-Liposomen	34
4	ERGEBNISSE	36
4.1	Formulierungsfindung	36
4.1.1	Phasendiagramm	36
4.2	FTIR – Spektren	38
4.2.1	FTIR – Spektren von Mikroemulsionen und Hautinteraktion	40
4.2.2	FTIR – Spektren neuartiger Glykokonjugate	52
4.2.3	FTIR – Spektren von WOW-Nanoemulsionen und Hautinteraktion.....	54
4.2.4	FTIR – Spektren deuterierter Liposomen und Hautinteraktion	56
4.2.5	FTIR – Spektren in Verbindung mit Tape Stripping	58
5	DISKUSSION	60
6	ZUSAMMENFASSUNG	65
7	ANHANG.....	66
7.1	Tabellen FTIR – Messungen	66
7.2	Tabellen Tape Stripping	90
8	LITERATUR	93
9	ABSTRACT.....	99
10	LEBENS LAUF	101

1 Einleitung

Die Haut ist mit etwa 2m^2 Fläche das größte Organ des Menschen. Sie erfüllt sowohl eine Schutz- als auch eine Barrierefunktion. Zudem dient sie dem menschlichen Organismus als Sinnesorgan und trägt wesentlich zur Wärmeregulation des Körpers bei [1].

Neben ihrem Schutz vor äußeren Einflüssen der Umwelt, steuert sie auch den natürlichen Wasserverlust. Dieser transepidermale Wasserverlust (transepidermal water loss, TEWL) ist somit ein wichtiger Wert, der über den Zustand der Hautbarriere Auskunft gibt [1].

Sowohl für die lokale, als auch für die systemische Wirkung eines Arzneistoffes ist die Haut ein wichtiges Ziel in der Arzneimitteltherapie. Als vorteilhaft erweist sich die lokale Applikation der Wirkstoffe bei verschiedensten Hauterkrankungen, da hier, im Gegensatz zur systemischen Verabreichung, der Organismus weniger belastet wird. Die Penetration der Wirkstoffe in tiefere Hautschichten ist jedoch begrenzt. Grund hierfür ist die Barrierefunktion der Haut [2].

Diese wird zu einem wesentlichen Anteil durch das Stratum corneum (SC), die äußerste Schicht der Epidermis, bestimmt. Während diese Hornschicht das Eindringen exogener Noxen verhindert, sorgt sie gleichzeitig dafür, dass der TEWL möglichst gering gehalten wird. Möglich ist dies durch die besondere Struktur des Stratum corneum [1].

Für die Barrierefunktion des Stratum corneum spielen vor allem die Zusammensetzung und die molekulare Organisation der SC-Lipide eine wichtige Rolle. Proteine mit den hauptsächlich α -helikalen Keratinstrukturen in den Korneozyten sind für diese Funktion weniger von Bedeutung [3, 4, 5, 6].

Die ATR-FTIR (attenuated total reflectance Fourier-transform infrared) Spektroskopie, eignet sich gut, um einen Einblick in den Aufbau der Haut auf molekularer Ebene zu erhalten [7].

Da Veränderungen in den Mikro-Bestandteilen der Haut, wie etwa Änderungen der Lipidanordnung oder der Proteinstruktur, mit Hilfe der ATR-FTIR Spektroskopie gut dargestellt werden können, war es das Ziel dieser Arbeit mögliche Interaktionen verschiedener Formulierungen mit der Ultrastruktur der Haut zu erkennen und zu charakterisieren. Diese Untersuchungen wurden unternommen, da zahlreiche Studien einen Zusammenhang zwischen der Lipidorganisation und der Hautpermeabilität beschreiben [4, 7].

Unter diesen Formulierungen befanden sich einige Mikroemulsionen, da bei ihnen bekannt ist, dass sie aufgrund reversiblen Herabsetzens der Barrierefunktion der Haut gute Penetrationseigenschaften aufweisen. Aufgrund weiterer zahlreicher Vorteile wären sie für die pharmazeutische Industrie von großem Interesse. Lediglich ihr hoher Tensidgehalt stellt einen Nachteil bei dermalen Anwendung dar, da es zu Hautirritationen kommen kann [2].

Im ersten Teil der Diplomarbeit wurden daher Mikroemulsionen gesucht, die einen möglichst geringen Tensidanteil aufwiesen. Durch Erstellung von Phasendiagrammen mittels mikroskopischer Charakterisierung konnten solche ermittelt werden. Anschließend wurden ausgewählte Mikroemulsionen auf porciner Ohrhaut aufgetragen und nach einer 2-stündigen Einwirkzeit die IR-Spektren aufgenommen.

In einem weiteren Teil wurde die Hornschicht der Hautstücke mittels „Tape Strips“ Schicht für Schicht abgetragen und mittels FTIR charakterisiert, um mögliche Änderungen in der Tiefenstruktur der Haut zu erkennen.

Da die Hauptbanden der beobachteten Schwingungen von CH_2 -Gruppen stammen, war es wichtig ausschließen zu können, dass etwaige Veränderungen nicht von den aufgetragenen Formulierungen stammten, daher sollte in einem letzten Teil der vorliegenden Arbeit mit deuterierten DPPC-Liposomen gearbeitet werden.

2 Allgemeiner Teil

2.1 Haut

2.1.1 Aufbau der Haut [8]

Die Haut besteht aus Epidermis (Oberhaut), Dermis (Lederhaut) und Subcutis (Unterhaut).

Die Epidermis lässt sich wiederum unterteilen in:

Stratum corneum (Hornschicht)

Stratum granulosum (Körnerschicht)

Stratum spinosum (Stachelzellschicht)

Stratum basale (Basalschicht)

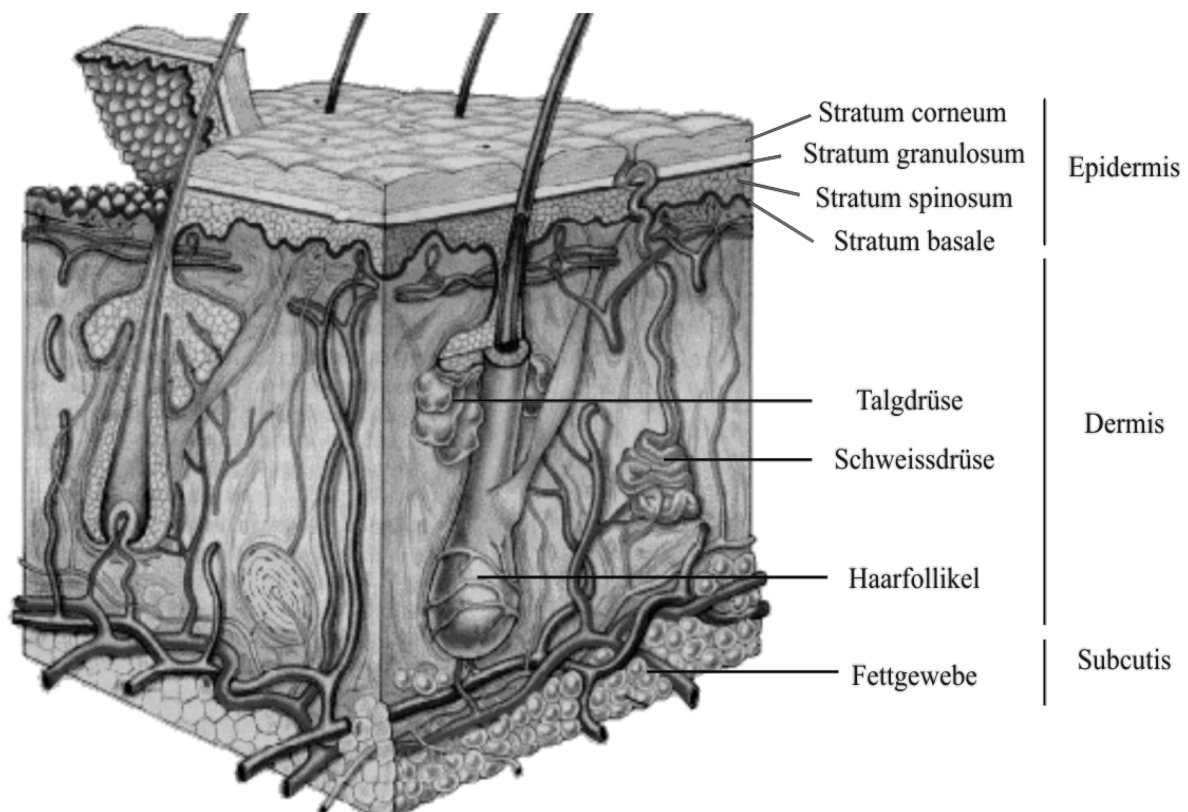


Abb. 1: Aufbau humaner Haut [1]

Unterbrochen wird diese Struktur durch Haare, Talg- und Schweißdrüsen, den sogenannten Hautanhangsgebilden [2, 6, 8].

Die Subcutis besteht aus lockerem Bindegewebe und Fettzellen. Neben einer Schutzfunktion speichert sie Energie in Form von Fett [9].

Hauptbestandteile der Dermis sind Kollagen und Elastin. Sie sorgt für die Elastizität und mechanische Stabilität der Haut. Des Weiteren finden sich hier zahlreiche Gefäße und Nervenfasern, welche für die Ernährung sowie für die Berührungsempfindlichkeit der Haut zuständig sind [9].

Die Epidermis besteht überwiegend aus Keratinozyten, die vom aktiv proliferierenden Stratum basale gebildet werden und innerhalb von etwa 20-30 Tagen an die Oberfläche wandern. Während dieses Weges verändern sich die Keratinozyten, sodass sie, wenn sie im Stratum corneum angekommen sind, keinen Zellkern, stattdessen aber sehr viel Keratin enthalten [9].

Das Stratum corneum besteht aus etwa 20 Lagen dieser abgestorbenen, kernlosen, Korneozyten genannten Zellen. Im Bereich zwischen Stratum granulosum und Stratum corneum werden nach Absterben des Zellkerns relativ hohe Konzentrationen an Lipiden frei, die in Form lamellarer Schichten das Stratum corneum durchziehen [1, 8].

Es wird eine Co-Existenz zweier lamellarer Phasen für die Stratum corneum-Lipidmatrix beschrieben. Die Wiederholabstände sind 6 (bezeichnet als SPP = short periodicity phase) bzw. 13 nm (LPP = long periodicity phase). Man nimmt an, dass die LPP eine wichtige Rolle für die Barrierefunktion der Haut spielt [1, 10, 11, 12].

Innerhalb dieser lamellaren Strukturen werden für die laterale Anordnung (Kettenpackung) der SC-Lipid-Alkylketten orthorhombische (OR) und hexagonale (HEX) Orientierungen vermutet. Diese wiederum liegen vermutlich neben fluiden Lipidketten vor [1, 13].

Während die orthorhombische und hexagonale Phase den geordneten Domänen (Gelphase) zugeteilt werden, zählt die flüssig-kristalline Phase (LIQ = liquid) zur ungeordneten Domäne [4].

Abb. 2 stellt ein von Boncheva et al. [4] erarbeitetes Modell der Kettenkonformation und der lateralen Kettenpackungen dar. In der oberen Reihe ist die Kettenkonformation und in der unteren Reihe ist die laterale Kettenpackung zu sehen.

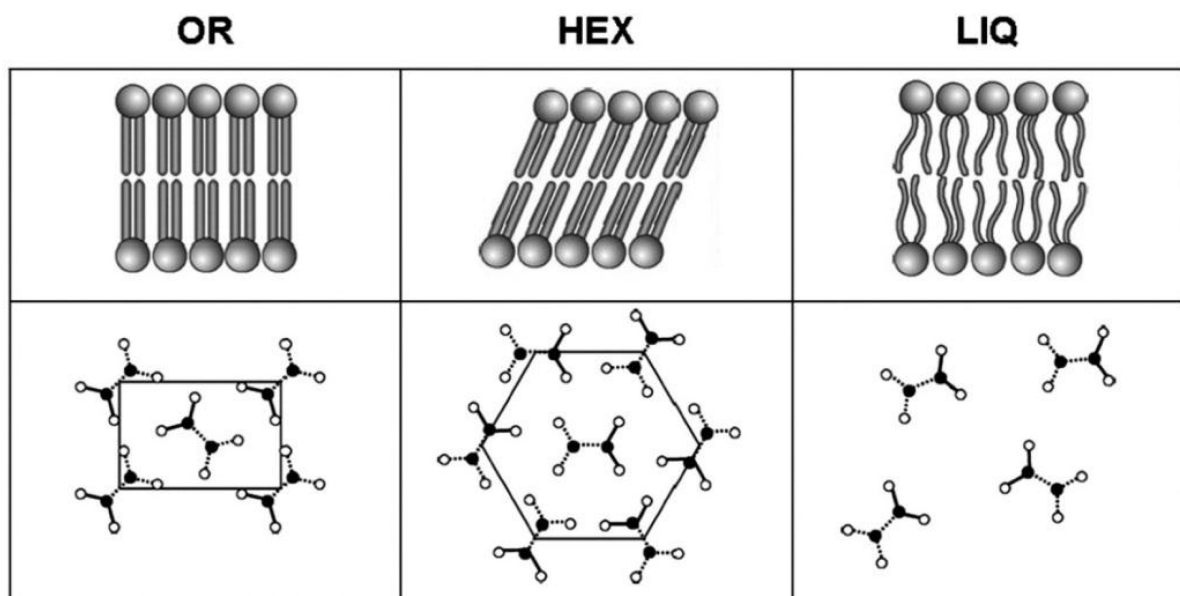


Abb. 2: Molekulare Organisation der SC Lipide [4]

In der OR Phase sind die Alkylketten der Lipide in einer all-trans Konformation, dicht gepackt in einem rechtwinkligen Kristallgitter, organisiert. Im Gegensatz dazu neigen sich die Alkylketten in der HEX Phase zur Kristallebene und liegen in einer weniger dichten, hexagonalen Struktur vor [4].

Lipide der LIQ Phase, in der sie keine konkrete laterale Anordnung mehr aufweisen, haben die größte Bewegungsfreiheit. Grund hierfür ist der hohe Anteil an Gauche-Konformeren in den Alkylketten, der mit einem Anstieg der konformativen Freiheit und Flexibilität der Alkylketten verbunden ist. Dies führt zu einer Abnahme der Bilayer-Dicke und des Ordnungsgrades [14].

In welcher Phase sich die SC-Lipide befinden, hängt von mehreren Faktoren ab. Neben der Hydratation der Haut, spielen Temperatur und aufgebrachte Formulierungen, die beispielsweise Lösungsmittel oder Penetrationsenhancer enthalten, eine entscheidende Rolle [15].

Bei Erhöhung der Temperatur erfolgt ein Übergang von orthorhombischen zu hexagonalen Strukturen. Das Erhitzen der Proben über 90°C würde dazu führen, dass nur noch fluide Phasen vorgefunden werden [1, 16].

Stabilität und Barrierefunktion werden erzielt durch die hakenähnliche Struktur der Korneozyten, durch die Corneodesmosomen, durch tight junctions (Schlussleisten) und durch die Bilayer (Doppelschichtstrukturen) des Stratum corneum, welche von den Lipiden des Stratum corneum gebildet werden [1, 5].

Die Epidermis wird von einem dünnen Hydrolipidfilm, bestehend aus Hornhautschuppen, Schweißbestandteilen, Lipiden und anderen Komponenten, bedeckt. Dessen pH-Wert beträgt 4,2 bis 5,6 und schützt vor Befall durch Mikroorganismen [2, 8, 9].

2.1.2 Penetrationswege

Für das Erreichen einer systemischen Wirkung, aber auch um eine Wirkung der äußerlich applizierten Wirkstoffe zu erlangen, ist eine Penetration des Wirkstoffes in tiefere Hautschichten notwendig. Es können folgende Penetrationswege vorliegen [5, 8]:

- interzellulär
- transzellulär
- transglandulär
- transfollikulär

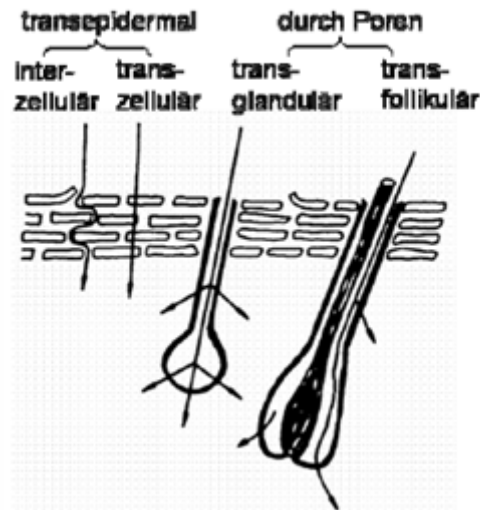


Abb. 3: Penetrationswege durch die Haut [17]

Die Penetration der Wirkstoffe erfolgt im wesentlichen interzellulär. Der transzelluläre Weg ist sehr unwahrscheinlich, da die Substanzen abwechselnd durch lipophile und hydrophile Schichten penetrieren oder diffundieren müssten. Auch der transglanduläre sowie der transfollikuläre Transport machen nur einen geringen Teil aus, da der Anteil der Poren im Vergleich zur Gesamtfläche der Haut bei nur 0,1 bis 1% liegt [5, 6].

Ein Penetrationsweg über corneodesmosomale Strukturen, welche die einzelnen Korneozyten molekular miteinander verbinden, ist aufgrund der hohen Zahl an Corneodesmosomen pro Korneozyt denkbar [5].

Für lipophile Wirkstoffe erfolgt der Transport in die Haut durch die lipidreichen Interzellularräume der Hornschicht. Um die Penetration eines Arzneistoffes in das Stratum corneum und die Permeation (Durchdringung) dieser Barriere zu begünstigen, erwies es sich als vorteilhaft, wenn der Arzneistoff lipophil ist und zudem eine gewisse Wasserlöslichkeit besitzt. Die Permeation von Fetten, fetten Ölen, sowie stark hydrophilen Stoffen ist hingegen gering [9].

Zustandsänderungen des Stratum corneum, wie z.B. die Zusammensetzung, der Gehalt an Lipiden und die Hydratation, führen zu regionalen Barriere- und Permeabilitätsunterschieden. So können etwa Lipidlösungsmittel, welche die natürliche Schutzfunktion der Haut zerstören, wie auch eine Erhöhung der Temperatur, Penetrationenhancer (Substanzen, welche die Penetration beschleunigen) und Okklusion die Permeation steigern [6, 8].

Durch Okklusion wird die Haut daran gehindert Wasserdampf aus der Haut an die Umgebung abzugeben, wodurch die Hydratation der Hornschicht stark erhöht wird [9].

2.1.3 Hautmodelle

Die Struktur des Stratum corneum kann nach ELIAS [18] als Ziegel-Mörtel-Modell verstanden werden. Wobei die Korneozyten die Ziegelsteine und die interzellulären Lipide, welche Bilayer ausbilden, den Mörtel darstellen. Bei den interzellulären Lipiden handelt es sich um Ceramide, freie Fettsäuren sowie Cholesterol und dessen Derivate. Diese tragen, wie auch die abwesenden, fluidisierend wirkenden Phospholipide, zur Barrierefunktion bei [5, 8].

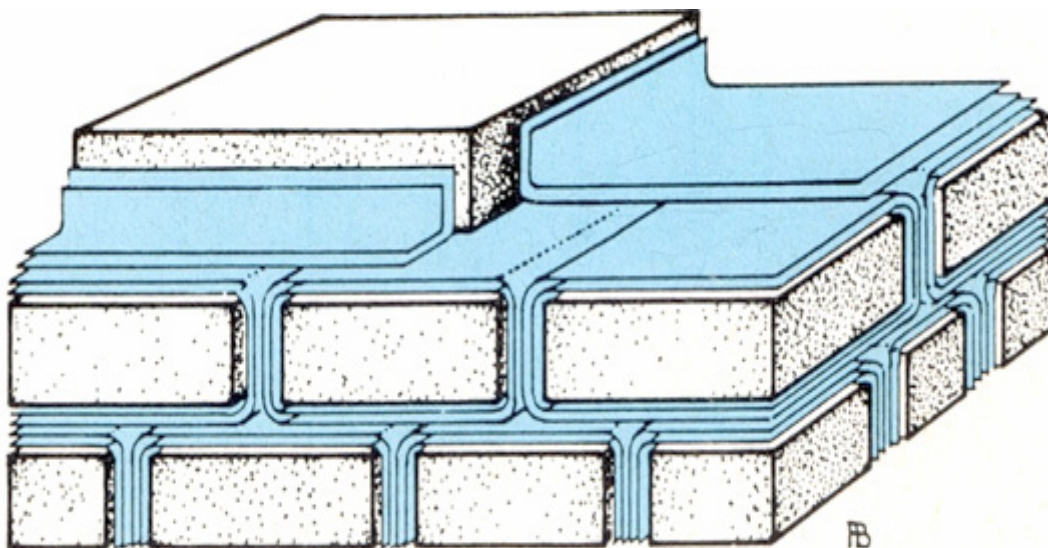


Abb. 4: Ziegel-Mörtel-Modell nach ELIAS [3, 18]

Das Domäne-Mosaik-Modell von FORSLIND [13] geht davon aus, dass Lipide für Diffusionsprozesse im flüssigkristallinen Zustand vorliegen müssen. Die Dominanz langer Kohlenwasserstoffketten bedingt jedoch die Anwesenheit kristalliner oder Gelphasen, die den mechanischen Anforderungen an die Barriere aber nicht entsprechen. Es werden daher Domänen innerhalb der Bilayer angenommen, in denen die Lipide als kristalline oder Gelphasen vorliegen. Begrenzt werden diese Gebiete durch Grain borders, welche die Lipide im flüssigkristallinen Zustand beinhalten [6].

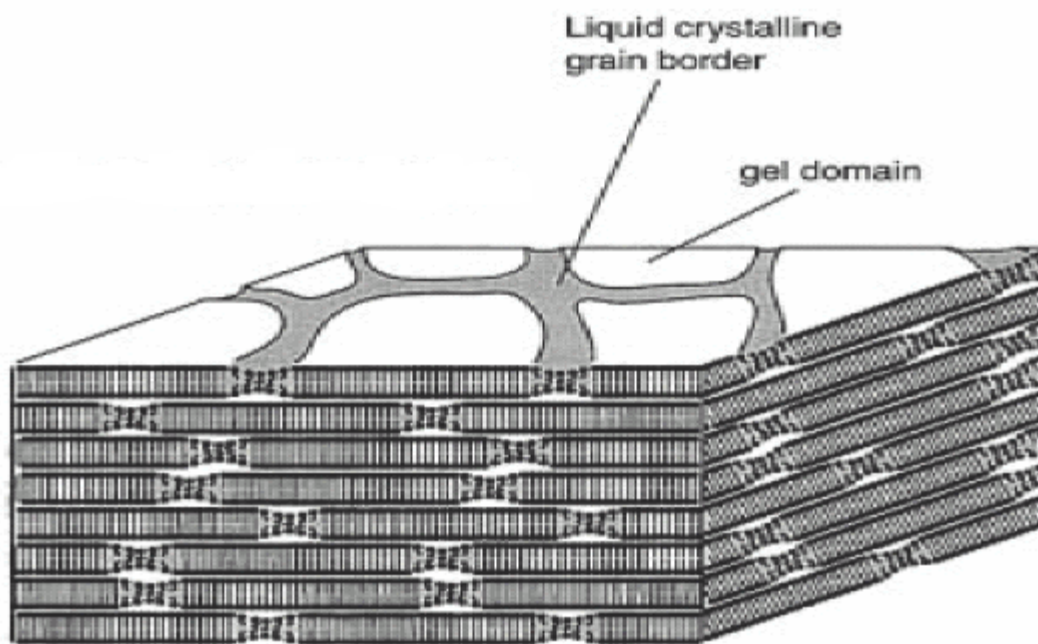


Abb. 5: Domäne-Mosaik-Modell nach FORSLIND [3, 13]

Das Sandwich-Modell erarbeitet von Bouwstra et al. 2000 [19] berücksichtigt die Anordnung der Lipidschichten. Dieses Modell bezieht eine „breit-schmal-breit“-Abfolge der lamellaren Schichten mit ein. Innerhalb des 13 nm Wiederholabstandes liegt eine fluide (schmale) Phase von 3 nm, welche aus ungesättigten Seitenketten von Ceramiden und Cholesterol besteht. Diese ist umgeben von geordneten Lipidstrukturen (breit), welche den gesättigten Molekülteilen der Lipide entsprechen. Nach dieser Vorstellung erfolgt die Permeation von Substanzen durch das SC hauptsächlich im Bereich der fluiden Phasen [3].

Das Single-Gel-Phase-Modell von NORLÉN [20] beschreibt die Lipidmatrix als eine einzige zusammenhängende, kohärente lamellare Gelstruktur. Sie unterscheidet sich damit völlig von den vorangegangenen Modellen. Die fehlende Phasenseparation führt dazu, dass weder flüssigkristalline Phasen und Gelphasen, noch orthorhombische oder hexagonale Kettenpackungen in den kristallinen Phasen unterschieden werden. Ein geringer Wassergehalt, eine geringe Beweglichkeit der Lipidketten und eine geringe Wasserpermeabilität kennzeichnen die Lipidstruktur [3].

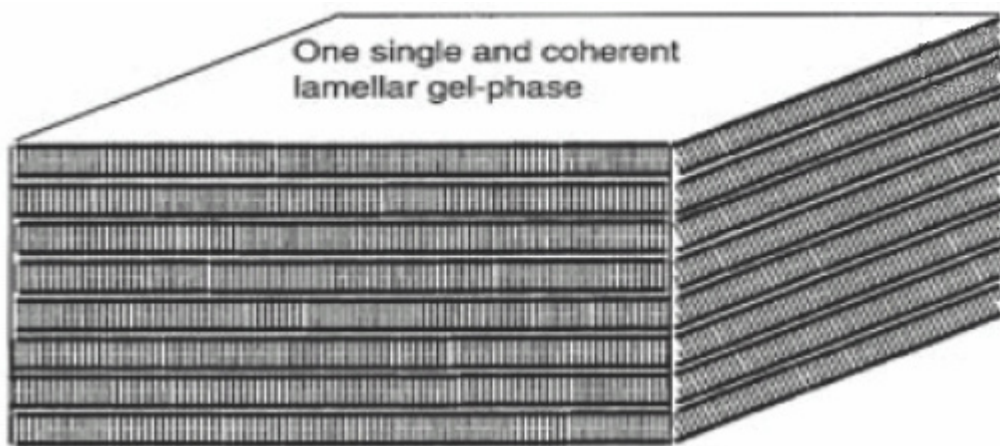


Abb. 6: Single-Gel-Phase-Modell nach NORLÉN [3, 20]

Anzumerken ist, dass sich gegenwärtig alle Modelle über die Anordnung der Lipide in der SC-Matrix in Diskussion befinden. Experimentelle Hindernisse erschweren die Validierung der einzelnen Vorstellungen, wie etwa das Einstellen optimaler Versuchsbedingungen und die Entwicklung geeigneter Modelle. Der vermehrte Einsatz synthetisch dargestellter Lipide macht Letzteres mittlerweile gut beherrschbar [3].

Keines der beschriebenen Modelle konnte bisher aufgrund experimenteller Daten eindeutig bestätigt werden [3].

2.2 Mikroemulsionen

2.2.1 Definition

Bei Mikroemulsionen handelt es sich um keine Emulsion per Definition. Diese Bezeichnung entstand aus der Annahme, dass bei diesen klaren, niedrig viskosen, kolloidalen Lösungen feinste Dispersionen von Öl-in-Wasser oder Wasser-in-Öl vorliegen. Es liegt hier jedoch kein Emulsionszustand vor, da Wasser- und Ölphase selbst unter einem Elektronenmikroskop nicht mehr unterscheidbar sind. Der Begriff Mikroemulsion erscheint daher etwas irreführend [8, 21].

Emulsionen sind im Unterschied zu Mikroemulsionen disperse, mehrphasige Systeme. Ihre dispersen Einheiten können mit dem freien Auge oder mittels Lichtmikroskop betrachtet werden. Für die Charakterisierung einer Mikroemulsion erfolgt daher eine makroskopische, sowie mikroskopische Beurteilung [8].

Zudem sind Emulsionen, im Gegensatz zu Mikroemulsionen, instabil. Da Öle eine höhere Grenzflächenspannung als Wasser haben, muss für die Stabilisierung des Emulsionszustandes die Grenzflächenspannung erniedrigt werden. Dies ist mit Tensiden, die hier als Emulgatoren fungieren, möglich [8].

Emulgatoren sind eine spezielle Untergruppe der Tenside. Sie erleichtern das Zerteilen der inneren Phase bei der Dispergierung, da sie die Grenzflächenspannung an der Wasser/Öl-Grenzfläche erheblich verringern. Dadurch wird die Grenzflächenenergie, die treibende Kraft zur Phasentrennung, herabgesetzt und die entstandenen Emulsionstropfen werden somit vor dem Zusammenfließen geschützt [8].

Ein weiterer Unterschied liegt darin, dass für die Dispergierung zweier nicht miteinander mischbarer Flüssigkeiten bei einer Emulsion eine Grenzflächenenergie aufzubringen ist, während der Lösungszustand der Mikroemulsion ohne Energieaufwand von selbst eintritt [8].

2.2.2 Verwendete Komponenten

Isopropylmyristat (IPM)

Isopropylmyristat (IPM) ist der Isopropylester der Myristinsäure und wird oft in topischen Applikationen verwendet. Es ist eine klare, ölige Flüssigkeit, die sich mit pflanzlichen Ölen, nicht jedoch mit Wasser, Propylenglycol und Glycerol mischt. Es handelt sich um ein hautverträgliches, toxikologisch unbedenkliches Lösungsmittel, das gute Spreitungseigenschaften aufweist, rasch penetriert und zudem die Resorption durch die Haut verbessert [2, 22].

In den verwendeten Mikroemulsionen diente es als lipophile Komponente.

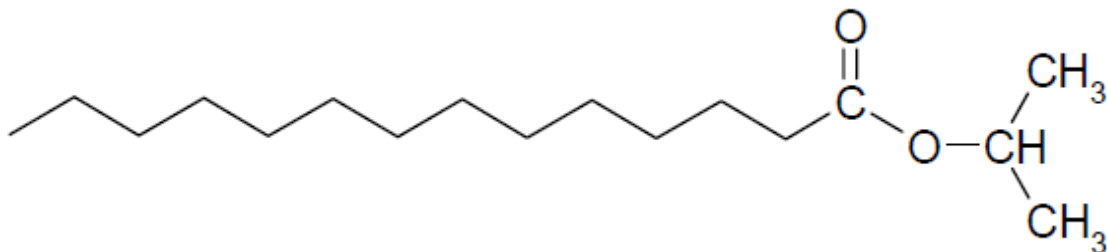


Abb. 7: Strukturformel von Isopropylmyristat ($C_{17}H_{34}O_2$), MW: 270,45 g/mol [2]

Einige Studien berichten, dass inkorporiertes IPM im SC zu einer Auflockerung der Bilayerstruktur und zu einem Ordnungsverlust der Korneozyten gebundenen Lipide führt [23].

Tenside

Bei Tensiden handelt es sich um amphiphile, grenzflächenaktive Substanzen, die hydrophile und lipophile Molekülteile enthalten. Diese Bauweise ist der Grund ihrer guten Affinität zu hydrophilen wie auch lipophilen Phasen. Bei Mischungen eigentlich nicht mischbarer Komponenten lagern sich Tenside an den Grenzflächen der unterschiedlichen Phasen an und setzen die Grenzflächenspannung herab [8].

Amphotere Tenside haben sowohl kationische als auch anionische Gruppen im Molekül, weshalb sie den ionogenen Tensiden zugeteilt werden. In wässriger Lösung liegen sie ionisiert vor und können ihr dadurch einen anionischen, neutralen oder kationischen Charakter verleihen [8].

Eine Charakterisierung vorwiegend der nicht-ionischen Tenside ist mittels Hydrophilic-Lipophilic-Balance (HLB) – Wert möglich. Dabei sind die lipophilen Gruppen zu den hydrophilen Gruppen in Beziehung gesetzt. Ein HLB kleiner als 10 ergibt daher ein lipophiles Tensid, ein HLB größer als 10 ist daher ein hydrophiles Tensid [9].

Lezithin

Lezithine sind amphotere Tenside. Sie können aus verschiedenen Komponenten hergestellt werden. In der vorliegenden Arbeit wurde Lipoid S75, das aus Sojabohnen hergestellt wurde, verwendet [8].

Unter Lezithinen versteht man verschiedene Mischungen, die aus Phospholipiden, Phosphorsäure, verschiedenen Fettsäuren, Alkohol (meistens Glycerol) und einer stickstoffhaltigen Komponente (z.B. Cholin) bestehen.

In der folgenden Abbildung sind einige Komponenten dargestellt.

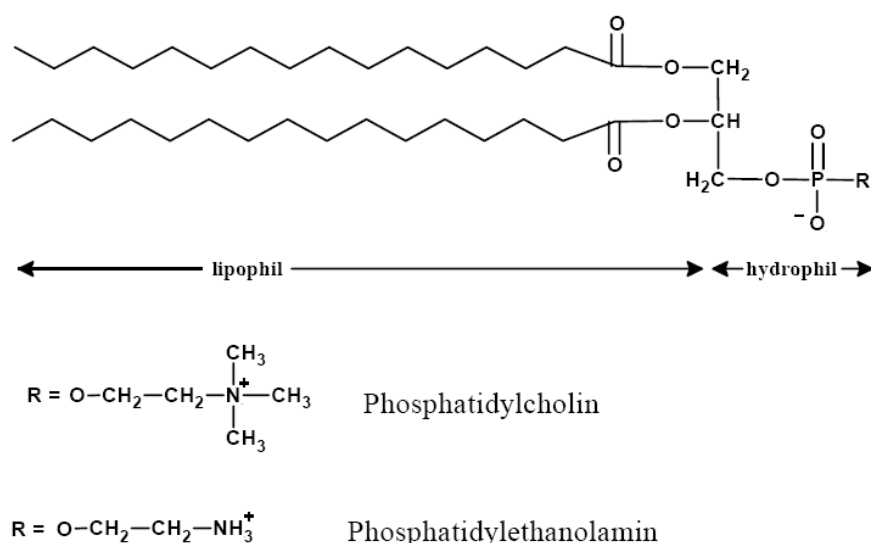


Abb. 8: Chemische Struktur ausgewählter Phosphoglyceride [24]

Lezithine können aus Eigelb, pflanzlichem Material, oder Sojabohnen, gewonnen werden. Als physiologischer Bestandteil aller Organismen ist Lezithin eine unbedenkliche Substanz, weshalb es auch für den parenteralen Gebrauch geeignet ist [8, 9].

Saccharoselaurat L-1695

In der vorliegenden Arbeit wurde für die Herstellung der Mikroemulsionen der Laurinsäureester L-1695, welcher einen HLB von 16 aufwies, verwendet. Nach den Vorversuchen für Mikroemulsionen, in denen verschiedene Saccharoseester ausgetestet wurden, ergaben sich für Saccharoselaurat die meisten Mikroemulsionen.

Saccharosefettsäureester sind nicht-ionische Tenside, hautverträglich und biologisch abbaubar. Abhängig vom Grad der Veresterung sowie von der verwendeten Fettsäure sind sie in einem großen HLB-Bereich erhältlich [23].

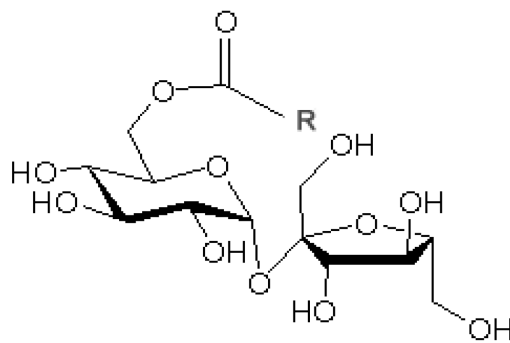


Abb. 9: chemische Struktur des Saccharose-Monoesters, R=Fettsäure [23]

2.3 Formulierungen mit neuen Glykokonjugaten

Es standen vier neue Glykokonjugate zur Verfügung¹, die in verschiedene Formulierungen eingearbeitet wurden.

2.3.1 Neue Glykokonjugate

LP 4

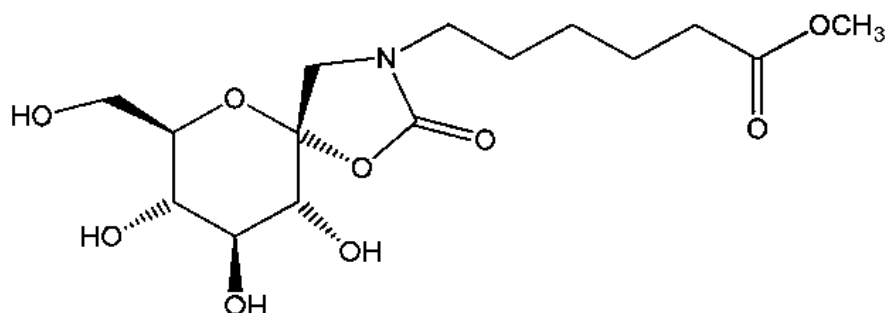


Abb. 10: Strukturformel von LP4 (willkürliche Abkürzungen zugeordnet)

$C_{15}H_{25}NO_9$

Molekulargewicht (MW): 363,36 g/mol

Log P 0,98

LP 08_4

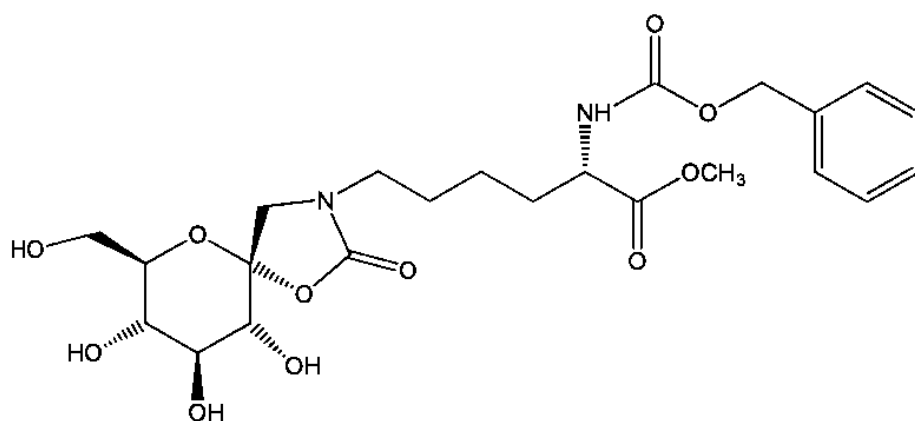


Abb. 11: Strukturformel von LP 08_4

$C_{23}H_{32}N_2O_9$

MW: 512,51 g/mol

Log P 2,45

¹ synthetisiert in der Arbeitsgruppe von Prof. Wrodnigg [25]

LP7

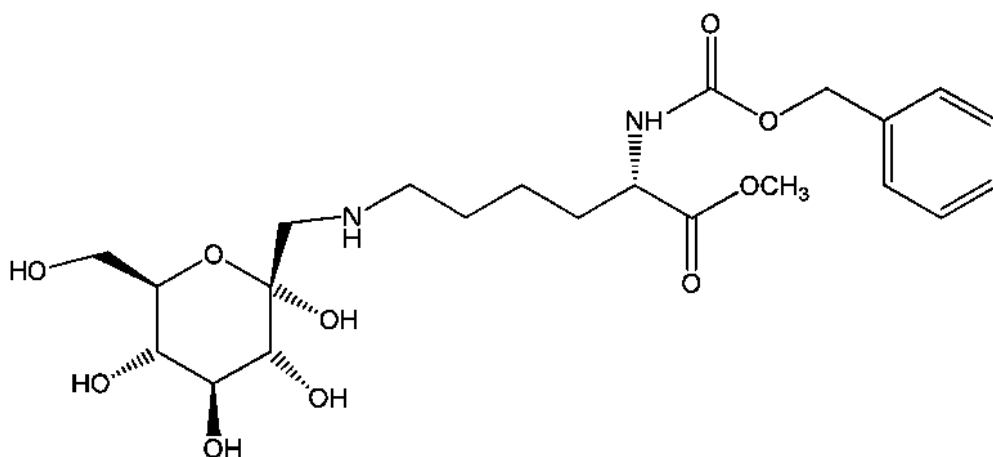


Abb. 12: Strukturformel von LP 7

$C_{22}H_{34}N_2O_9$

MW: 486,51 g/mol

Log P 2,05

TM107

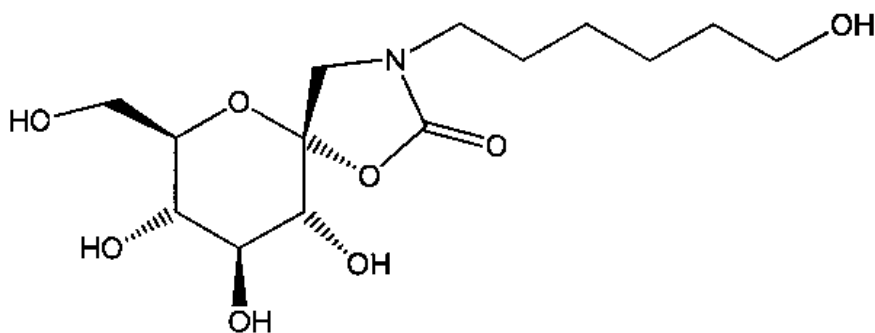


Abb. 13: Strukturformel von TM 107

$C_{14}H_{23}NO_9$

MW: 349,33 g/mol

Log P 0,62

Diese Glykokonjugate wurden einerseits als methanolische Lösungen appliziert und andererseits in Mikroemulsionen eingearbeitet.

Die Herstellung erfolgte wie im Folgenden beschrieben.

Methanolische Lösungen

Zunächst wurde jedes Glykokonjugat in Methanol in einer Konzentration von 2 mg/ml gut gelöst und anschließend sowohl von der methanolischen Lösung, als auch von der porzinen Haut nach 2-stündiger Einwirkzeit FTIR-Spektren aufgenommen.

Mikroemulsionen aus Glykokonjugaten

Um eine mögliche Wirkung des Methanols ausschließen zu können, wurden auch Mikroemulsionen mit den Glykokonjugaten hergestellt. Hierzu wurden die methanolischen Lösungen zur Trockene eingedampft und der erhaltene Feststoff wiederum in Isopropanol aufgenommen. Diese Lösungen wurden dann in die Mikroemulsionen zusammen mit Isopropylmyristat, Lezithin und Flufenaminsäure (1%) eingearbeitet sodass methanolfreie Mikroemulsionen entstanden.

2.4 WOW – Nanoemulsionen

2.4.1 Definition

WOW-Nanoemulsionen sind multiple Emulsionen bei denen sich reverse Mizellen innerhalb der Öltröpfchen befinden, die wiederum in der Wasserphase dispergiert sind. Die Tröpfchengröße liegt im Submikronbereich bei etwa 100 nm. Die Herstellung erfolgte nach einer Arbeitsvorschrift von Anton et al. (2010). Dabei kam die Phaseninversionstemperaturmethode zur Anwendung. Es wurden drei WOW-Formulierungen entwickelt, wobei sowohl das hydrophile Solutol (HS 15 bzw. S1670) zur Herstellung der O/W-Emulsion als auch das lipophile Tensid (Span 80 bzw. S270) für die inverse Mizellbildung variiert wurde. Weitere Bestandteile der Formulierungen waren Neutralöl, destilliertes Wasser und Natriumchlorid [26,27].

Für die in der vorliegenden Arbeit vermessenen WOW-Nanoemulsionen wurden die willkürlich gewählten Bezeichnungen C2, F6 und G1 festgelegt.

2.5 Liposomen

2.5.1 Definition

Bei Liposomen handelt es sich um künstlich hergestellte Vesikel, für deren Herstellung großteils Phospholipide, Glycolipide und Cholesterol verwendet werden. Die abgeschlossenen Membranen dieser kugelförmigen Strukturen bestehen aus Lipiddoppelschichten (Bilayer) dieser amphiphilen Lipide, die einen wässrigen Innenraum umhüllen. Die hydrophilen Teile („Kopfgruppen“) ordnen sich der wässrigen Seite zu, während die lipophilen Molekülteile der Lipiddoppelschicht einen Bilayer bilden. Vesikel nichtionischer synthetischer Lipide bezeichnet man als Niosomen [28].

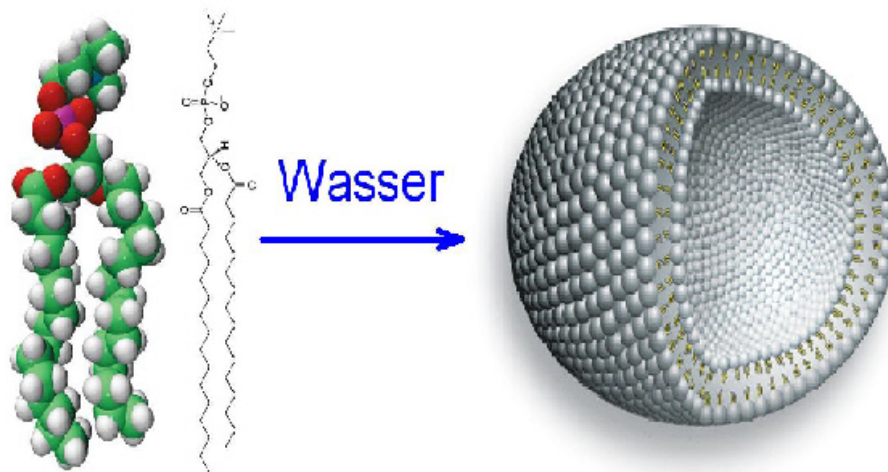


Abb. 14: Aufbau eines unilamellaren Liposoms [29]

Der Durchmesser der Liposomen beträgt etwa zwischen 20 nm und mehreren μm . Sie sind von pharmazeutischem Interesse, da hydrophile Wirkstoffe in das wässrige Innenvolumen wie auch in die wässrigen Zwischenschichten verkapselt werden können, amphiphile oder geladene Moleküle an die Membranen angelagert und hydrophobe Wirkstoffe in die Lipidschichten eingebaut werden können [8, 28].

Liposomen werden anhand ihrer Größe und Lamellenzahl unterteilt in: SUV, LUV, OLV, MVV und MLV [28].

SUV (small unilamellar vesicles):

SUVs sind sehr kleine Vesikel mit einem Durchmesser bis zu 50 nm. Das Volumen der Bilayer ist um ein Vielfaches größer als das des wässrigen Innenraums. Dieses geringe Innenvolumen bedingt eine beschränkte Einschlusseffizienz für hydrophile Moleküle [28].

LUV (large unilamellar vesicles):

Diese großen Vesikel haben einen Durchmesser von >50nm. Im Gegensatz zu den SUVs sind ihre Membranen annähernd spannungsfrei und besitzen damit eine bessere Lagerstabilität. Ihre singulären Lamellen machen sie zu geeigneten Modellen für biologische Membranen [28].

OLV (oligolamellar large vesicles) und MVV (multivesicular vesicles):

Bei der Herstellung bestimmter Liposomen können Nebenprodukte, wie etwa die OLVs oder die MVVs entstehen. Die OLVs sind unerwünschte Strukturen der LUV-Präparation, die sich durch zusätzliche Membranen von den LUV's unterscheiden. Dadurch wird die Wirkstofffreisetzung verzögert und die Gegebenheit in der Zelle kann verändert sein [28].

MVV, die bei der MLV-Synthese anfallen können, sind zwei oder mehr Vesikel, die sich zugleich in einem größeren Vesikel befinden [28].

MLV (multilamellar large vesicles):

Es handelt sich hier um Vesikel mit einer Größe von etwa 100 nm bis zu mehreren 1000 nm. Ihre hohe Lamellenzahl führt zu einer verminderten Freisetzung hydrophiler Moleküle. Das kann auch als Depoteffekt genutzt werden [28].

Die Herstellung erfolgte wie bei Schwarz et al. beschrieben [30].

2.5.2 Deuterierte Liposomen

Da bei der vorliegenden Arbeit in den FTIR-Spektren sowohl der Haut als auch der fertigen Formulierung CH_2 -Schwingungen beobachtet wurden, war es von Interesse genauer zu untersuchen ob diese Schwingungen von der Haut oder von der Formulierung stammen. Um eine eindeutige Zuordnung treffen zu können, wurden daher Liposomen mit deuterierten DPPC (Dipalmitoylphosphatidylcholin) hergestellt.

Bei Lipiden mit deuterierten Acyl-Ketten treten die IR-Banden des CD_2 -stretchings bei niedrigeren Wellenzahlen zwischen 2050 cm^{-1} und 2200 cm^{-1} auf, wodurch sie exzellent von den CH_2 -stretching Banden im Bereich von 2920 cm^{-1} und 2850 cm^{-1} abgegrenzt werden können [31].

Die deuterierten DPPC-Liposomen enthielten 2% DPPC und wurden nach einer bereits publizierten Methode hergestellt [30].

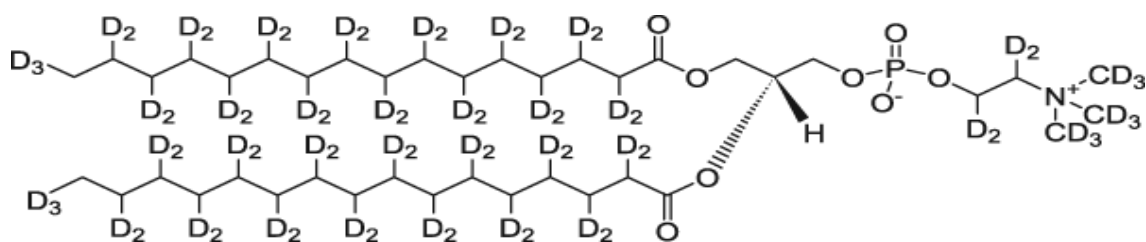


Abb. 15: Chemische Struktur eines deuterierten Phospholipids: 1,2-dipalmitoyl(d62)-*sn*-glycero-3-phosphocholine-1,1,2,2-d4-N,N,N-trimethyl-d9, ($\text{C}_{40}\text{H}_5\text{NO}_8\text{PD}_{75}$)

MW: 809,50 g/mol [32]

2.6 ATR-FTIR Grundlagen

Die IR-Spektroskopie ist eine Methode zur Aufnahme von Schwingungsspektren. Hierbei werden Moleküle durch Absorption elektromagnetischer Strahlung im infraroten Bereich angeregt. Dies erfolgt jedoch nur, wenn eine Dipolmomentänderung eintritt. Man bezeichnet jene Moleküle als IR-aktiv [1, 33].

IR-inaktiv sind demzufolge Schwingungen, bei denen keine Dipolmomentänderung auftritt. Moleküle können nur zu höheren Energiezuständen angeregt werden, wenn sie bereits ein Dipolmoment besitzen, oder ein solches bei einer Schwingung induziert wird [33].

Abb. 16 zeigt, dass die infrarote Strahlung in drei Bereiche unterteilt wird: fernes IR, mittleres IR und nahes IR.

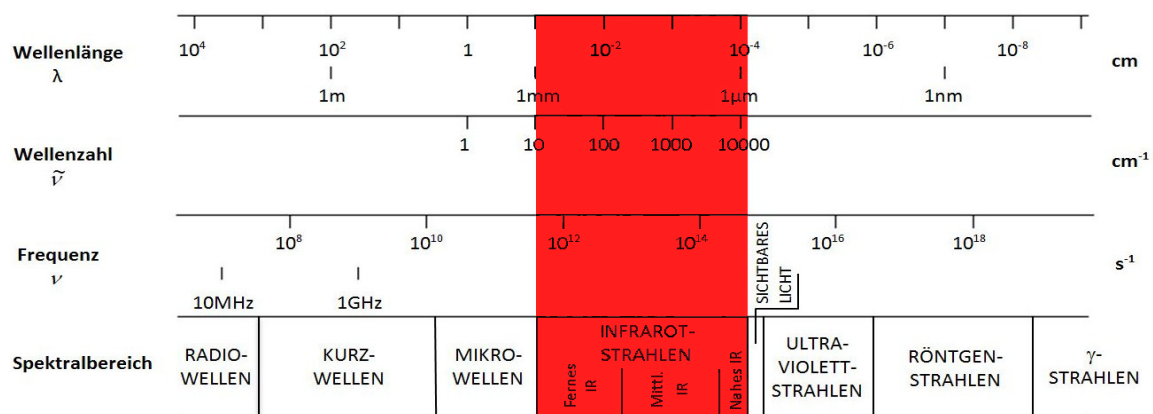


Abb. 16: Spektralbereiche nach Günzler [33]

Zahlreiche funktionelle Gruppen organischer Moleküle können aufgrund ihrer charakteristischen Schwingungen bestimmten Absorptionsbanden im IR-Spektrum zugeordnet werden. Die IR-Spektroskopie eignet sich daher, um z.B. strukturelle Informationen von Lipiden der Haut zu charakterisieren [33, 34].

Sie bietet damit eine direkte Einsicht in die Ultrastruktur der Haut. Veränderungen ihrer Bestandteile, wie es etwa durch Temperaturerhöhung oder durch bestimmte Substanzen erfolgt, können daher gut erkannt und gekennzeichnet werden.

Komplexe Moleküle, wie es viele organische Moleküle sind, besitzen mehrere Schwingungsmöglichkeiten. In Abhängigkeit der Schwingungsform werden sie unterteilt in:

- Valenzschwingungen: Änderung der Bindungslängen
- Deformationsschwingungen: Änderung der Bindungswinkel

Des Weiteren wird auch nach dem Symmetrieverhalten unterschieden:

- symmetrische Schwingungen: Die äußeren Atome des Moleküls bewegen sich symmetrisch hin oder weg vom Zentralatom
- antisymmetrische Schwingungen: Die äußeren Atome bewegen sich in die gleiche Richtung und damit antisymmetrisch zum Zentralatom [33, 35]

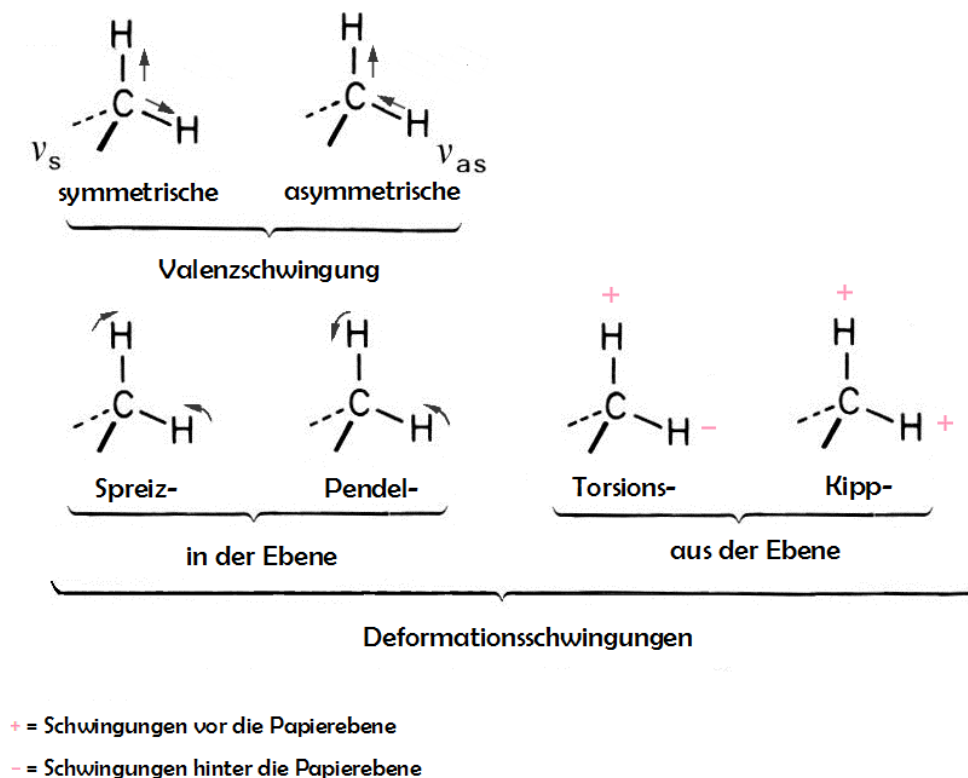


Abb. 17: lokale Schwingungsmöglichkeiten einer Methylen-Gruppe nach Hesse [35]

Aufbau eines IR-Spektrometers

Das wichtigste Element des Spektrometers ist der Spektralapparat. Hiermit kann Strahlung begrenzter Spektralbereiche isoliert werden. Abhängig vom verwendeten Spektralapparat unterteilt man in nicht-dispersive, disperse und Fourier-Transform (FT) Spektrometer. Im Gegensatz zu nicht-dispersiven Spektrometern ist bei

dispersiven und FT-Spektrometern eine variable Wellenlängenselektion möglich. In FT-Spektrometern läuft die spektrale Zerlegung über ein Interferometer, in den meisten Fällen ein Michelson-Interferometer, ab [33].

Hierbei wird eine Hälfte des einfallenden Lichts durchgelassen, die andere reflektiert. Das reflektierte Licht trifft auf einen fest montierten Spiegel an dem es wiederum reflektiert wird und zum zweiten Mal auf den Strahlenteiler trifft. Mit dem durchgelassenen Teil passiert Ähnliches, wobei dieser jedoch auf einen beweglichen Spiegel trifft, der eine definierte Strecke vor und zurück verschiebbar ist. Jede Position des Spiegels entspricht im Prinzip einer bestimmten Wellenlänge, bzw. Wellenzahl [33].

Durch die Spiegelbewegung wird der Strahl moduliert, verlässt schließlich das Interferometer und passiert die Probe. Vom Detektor wird letztendlich ein Signal, das sogenannte Interferogramm, registriert. Dieses entspricht also der Intensität der IR-Strahlung in Abhängigkeit der Entfernung des Spiegels.

Mit Hilfe der Fourier-Transformation, einer rechnerischen Umwandlung durch den Computer, und einer aufgenommenen Referenz erhält man letztlich das gemessene Spektrum [33]

Für Messungen im mittleren IR werden meistens Halbleiterdetektoren aus HgCdTe (MCT), bei denen der Einsatz von flüssigem Stickstoff erforderlich ist, verwendet. Die MCT-Detektoren sind gegenüber den DTGS-Detektoren (deuteriertes Triglycinsulfat) wesentlich empfindlicher [33].

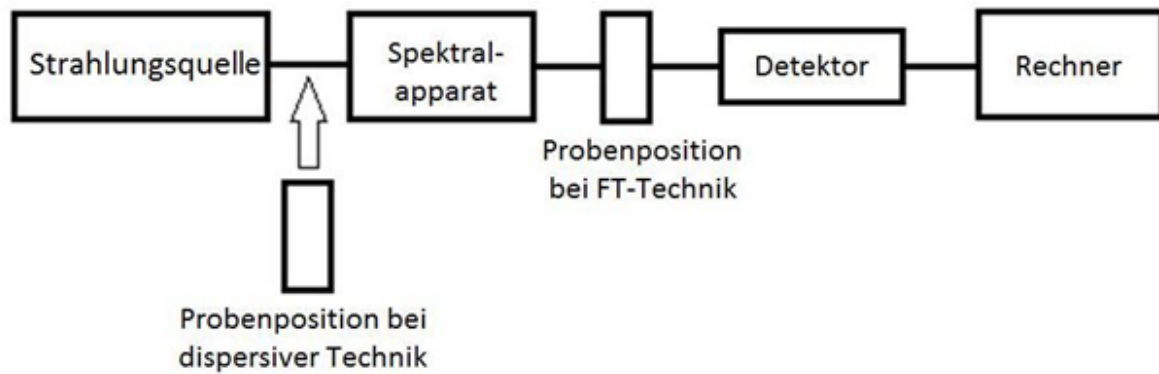


Abb. 18: Schematischer Aufbau eines IR-Spektrometers [33]

Die Wellenzahlgenauigkeit von IR-Spektren, die bei Werten von $0,01\text{ cm}^{-1}$ liegt, ist Ergebnis der Spiegelpositionsbestimmung des beweglichen Spiegels durch ein He-Ne-Laser-Interferogramm. Hierbei wird durch das Interferometer zusätzlich zum Infrarot-Strahl noch der Strahl eines He-Ne-Laser geschickt und von einem eigenen Laserdetektor registriert. Dadurch können geringfügige Unterschiede zwischen Spektren durch Differenzbildung sehr genau festgestellt werden [33].

Die FTIR hat sich mittlerweile als Standardmethode durchgesetzt und die konventionellen IR-Geräte vom Markt verdrängt. Sie weist gegenüber der konventionellen Technik einige Vorteile auf. Hierzu gehört eine erhebliche Zeitersparnis, da alle Wellenlängen zugleich im Detektor registriert werden, sowie ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis und eine hohe Wellenzahl-Präzision [35].

Die ATR-FTIR (attenuated total reflectance Fourier-transform infrared) ist eine Technik der IR-Spektroskopie. Sie bietet den Vorteil, dass sie nicht invasiv ist. Das Probenmaterial wird daher nicht zerstört und ist damit nach der Messung für weitere Untersuchungen, wie etwa für das Tape Stripping, weiter anwendbar. Auch Flüssigkeiten können mittels ATR-FTIR gemessen werden [33].

Die Eindringtiefe der IR liegt bei etwa $1\mu\text{m}$. Dies entspricht etwa 1-1,5 Zellschichtlagen des Stratum corneum. Erhaltene Spektren liefern daher Informationen über die Oberfläche eines Stoffes. Daher können auch Proben spektroskopiert werden, die für andere Verfahren, wie etwa das Standard-

Durchstrahl-Verfahren, zu dick wären. Für Messungen des SC ist folglich keine Abtrennung von darunterliegenden Geweben mehr notwendig [4, 7, 33].

Es ist auch möglich, mit IR-spektroskopischen Messungen eine quantitative Analyse durchzuführen. Hierbei wird die Intensität einer bestimmten Wellenlänge vor und nach Probendurchgang bestimmt. Grundlage für die Ermittlung der Stoffkonzentration ist das Lambert-Beer'sche Gesetz, welches den Einfluss der Konzentration eines Stoffes auf die Strahlungsabschwächung berücksichtigt [33].

$$\lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot c \cdot d = E_\lambda$$

Lambert-Beer-Gesetz [35]

3 Methoden

3.1 Formulierungsfindung in Bezug auf die Mikroemulsionen

3.1.1 Vorversuche

Im ersten Schritt der vorliegenden Arbeit wurden Mikroemulsionen mit unterschiedlichen Saccharoseestern hergestellt, um jenes Tensid zu ermitteln, das im ternären Phasendiagramm die größte Fläche für Mikroemulsionen ergibt. Dabei zeigte sich Saccharoselaurat (L-1695, HLB 16) als am besten geeignet.

3.1.2 Erstellung von Phasendiagrammen

Herstellung der Mikroemulsionen:

Unterschiedliche ternäre Mischungen wurden aus Wasser, Isopropylmyristat als Ölkomponente und einer Tensid/Co-Tensid-Mischung bestehend aus Saccharoselaurat, Lipoid S75 und Isopropylalkohol hergestellt und danach mikroskopisch charakterisiert.

Das Verhältnis der Komponenten wurde variiert, sodass für die Mikroemulsion auf Saccharoseester-Basis und für die Mikroemulsion auf Lezithin-Basis je 36 Mischungen entstanden. Für jede Mikroemulsion wurde diese Vorhergehensweise drei Mal wiederholt.

Die Einwaage erfolgte mit Hilfe einer Analysenwaage. Zunächst wurden Tensid, Öl und Co-Tensid in gekennzeichnete Schraubgläser eingewogen und auf einer Magnetrührplatte bis zur Lösung der Substanzen gerührt. Anschließend wurde destilliertes Wasser zugetropft. Der gesamte Vorgang fand bei Raumtemperatur statt.

Aus diesen Vorversuchen ergab sich eine Gruppe Mikroemulsionen auf Basis von Saccharoselaurat und eine Gruppe auf Basis von Lipoid S75.

Qualitative Zusammensetzung der Mikroemulsionen mit Saccharoselaurat²:

Saccharoseester L-1695
Isopropylalkohol
IPM
Aqua dest.

Qualitative Zusammensetzung der Mikroemulsionen mit Lipoid S75:

Lipoid S75
Isopropylalkohol
IPM
Aqua dest.

Phosphatidylcholin	68-73%
Phosphatidylethanolamin	7-10%
Lysophosphatidylcholin	max. 3%
sonstige Bestandteile	17-25%

Tab. 1: Zusammensetzung des verwendeten Sojalezithins, Lipoid S 75³

In der folgenden Tabelle sind die Mischungsverhältnisse der Einzelkomponenten gelistet.

² Saccharoselaurat bestehend aus: 80% Monoester und 20% Di-, Tri-Polyester, Firma Mitsubishi, Japan

³ Firma Lipoid, Deutschland

Mischungsverhältnisse in Prozent

	Wasser	Tensid/Co-Tensid	Öl
		1:1	
1	80	10	10
2	70	20	10
3	60	30	10
4	50	40	10
5	40	50	10
6	30	60	10
7	20	70	10
8	10	80	10
9	70	10	20
10	60	20	20
11	50	30	20
12	40	40	20
13	30	50	20
14	20	60	20
15	10	70	20
16	60	10	30
17	50	20	30
18	40	30	30
19	30	40	30
20	20	50	30
21	10	60	30
22	50	10	40
23	40	20	40
24	30	30	40
25	20	40	40
26	10	50	40
27	40	10	50
28	30	20	50
29	20	30	50
30	10	40	50
31	30	10	60
32	20	20	60
33	10	30	60
34	20	10	70
35	10	20	70
36	10	10	80

Mischungsverhältnisse in Gramm

Wasser	Tensid/Co-Tensid	Öl
	1:1	
4	0,5	0,5
3,5	1	0,5
3	1,5	0,5
2,5	2	0,5
2	2,5	0,5
1,5	3	0,5
1	3,5	0,5
0,5	4	0,5
3,5	0,5	1
3	1	1
2,5	1,5	1
2	2	1
1,5	2,5	1
1	3	1
0,5	3,5	1
3	0,5	1,5
2,5	1	1,5
2	1,5	1,5
1,5	2	1,5
1	2,5	1,5
0,5	3	1,5
2,5	0,5	2
2	1	2
1,5	1,5	2
1	2	2
0,5	2,5	2
2	0,5	2,5
1,5	1	2,5
1	1,5	2,5
0,5	2	2,5
1,5	0,5	3
1	1	3
0,5	1,5	3
1	0,5	3,5
0,5	1	3,5
0,5	0,5	4

Tab. 2: getestete ternäre Mischungen

Erstellung eines ternären Phasendiagramms:

Mit Hilfe der mikroskopischen Charakterisierung können in einem Phasendiagramm jene ternären Mischungen, die eine Mikroemulsion ergeben als zusammenhängende Fläche dargestellt werden [2, 36].

Wie aus der Tabelle abgelesen werden kann, wurden Mischungen in 10%-Abstufungen hergestellt, die schließlich im Diagramm an den jeweiligen Schnittpunkten angezeichnet wurden. Um Grenzbereiche der isotropen Phase genauer definieren zu können, erfolgten in diesen Bereichen 5%-Abstufungen.

Die makroskopische und mikroskopische Beurteilung der Mikroemulsionen wurde, nach Einstellung eines Gleichgewichts, 24 h nach der Herstellung durchgeführt. Nur bei optisch transparenten, klaren und einphasigen Systemen handelt es sich um Mikroemulsionen. Um anisotrope Eigenschaften klarer, flüssiger Systeme feststellen und somit flüssigkristalline Phasen von Mikroemulsionen abgrenzen zu können, wurde anschließend eine mikroskopische Beurteilung mittels Polarisationsmikroskopie durchgeführt.

Hierfür wurde die Mikroemulsion auf einem Objektträger aufgetragen, auf ein Deckglas aufgebracht und im Polarisationsmikroskop betrachtet. Linear polarisiertes Licht durchdringt die Probe. Mit einem zweiten Polarisator können Veränderungen sichtbar gemacht werden. Hierbei erscheinen anisotrope Systeme durch Doppellichtbrechung bunt. So sind etwa Flüssigkristalle als hell leuchtende Strukturen sichtbar. Isotrope Phasen erscheinen hingegen schwarz [2].

Nur eindeutige Mikroemulsionen deren mikroskopisches Bild optisch isotrop war, wurden als solche im Phasendiagramm eingezeichnet.

3.2 FTIR-Messungen

Alle Spektren wurden mit einem Tensor 27⁴ FTIR-Spektrometer aufgenommen. Als Detektor wurde ein Quecksilber-Cadmium-Tellur (MCT) Detektor verwendet, der durch flüssigen Stickstoff gekühlt wird. Die Spektren wurden als Absorptionsspektren im Bereich von 4000 cm⁻¹ bis 870 cm⁻¹ gemessen. Jedes Spektrum ist der Mittelwert aus 60 Scans.

Strahlungsquelle: MIR (Laser Wellenzahl: 15800)

Strahlenteiler: KBr

Optisches Filter: offen

Apertur: 2,5 mm

Spiegelgeschwindigkeit: 20 KHz

ATR-Einheit: temperierter ZnSe-Kristall (BIO-ATR 1; 7,5 cm x 1 cm)

Zusatzgeräte

Thermostat: Haake K20/DC 30⁵

Kompressor: Atlas Copco SF1⁶



Abb. 19: FTIR-Spektrometer Tensor 27 [37]

⁴ Tensor 27; Bruker Optik GmbH (Deutschland)

⁵ Haake K20/DC30; Thermo Fisher Scientific GmbH (Deutschland)

⁶ Atlas Copco SF1; Atlas Copco GmbH (Österreich)

Folgende Einstellungen wurden gewählt:

Temperatur 32°C

Je drei Messungen im Abstand von 20 sec

Zerofilling Faktor: 8

Auflösung: 4 cm⁻¹

3.2.1 Probenbereitung

Aus vorangegangenen Arbeiten haben sich die folgenden optimierten Parameter für die Probenbereitung ergeben und wurden für diese Arbeit herangezogen [7].

Die tiefgekühlten Schweineohren, wurden am Tag der Präparation aufgetaut. Vor Beginn der Häutung erfolgten die Trocknung des porcinen Ohrs und die anschließende Entfernung des Knorpels. Die für die Vermessung verwendete dorsale Seite des Schweineohrs wurde mit Hilfe eines Skalpells abgetrennt. Danach erfolgte das Zuschneiden auf genau 1 cm x 7,5 cm große Stücke, die auf vorgeschrittenen Styroporplatten mittels Stecknadeln befestigt wurden. Dieser Schritt war für die bessere Handhabung der Proben bei der Vermessung notwendig. Auf die so vorbereitete Haut wurden die Formulierungen aufgetragen.



Abb. 20: Applikation der Formulierung auf ein Hautpräparat

Die fertig präparierten Proben wurden in Petrischalen, das Stratum corneum nach oben gerichtet, zusammen mit 1-2 ml Phosphatpuffer 2 h lang bei 32°C am Wasserbad inkubiert.



Abb. 21: Fertig präparierte Proben in einer Petrischale

Es wurden sowohl unbehandelte als auch mit Wasser behandelte Hautproben hergestellt. Die Haut wurde somit entweder mit 40 μ L Formulierung oder 40 μ L Wasser vorbehandelt.

3.2.2 Messvorgang

Flüssige Formulierungen

Um flüssige Medien messen zu können, wurde vorerst eine Spezialzelle auf der ATR-Einheit befestigt, die das Verdunsten der Probe verhinderte. Darauf folgte das Aufbringen der Probe mittels Eppendorf-Pipette. Nach einer kurzen Wartezeit wurden die Spektren aufgenommen. Als Hintergrundmessung diente bei allen Proben, bis auf die methanolischen Lösungen der Glykokonjugate, destilliertes Wasser.

Bei den methanolischen Lösungen wurde Methanol als Hintergrund gewählt. Nach der Messung folgte das Reinigen des Kristalls vorsichtig mit verdünnten Ethanol und destillierten Wasser.

Hautpräparate

Unbehandelte Hautproben benötigten vor der Messung lediglich eine Entfernung eventuell anhaftenden Phosphatpuffers an der Unterseite (Styroporfläche) der Probe. Darauf folgend wurde die Probe mit dem Stratum corneum zum Kristall gerichtet platziert und mit 100 g beschwert. Dieser Schritt war für einen optimalen Kontakt der Probe mit dem ZnSe-Kristall und für eine bessere Temperierung hilfreich. Nach einer Wartezeit von 4 min wurden die Spektren aufgenommen. Die Einhaltung der Wartezeit war notwendig, um sowohl die Temperierung, als auch einen besseren Kontakt der Probe zum Kristall zu erreichen.

Mit destilliertem Wasser inkubierte Proben, wurden zusätzlich an der Oberfläche mit einem Kosmetiktuch vorsichtig getrocknet. Danach wurde die Probe, das Stratum corneum zum Kristall gerichtet aufgelegt und mit 100 g beschwert. Nach einer Wartezeit von 4 min wurden die Spektren aufgenommen.

Bei Proben, die jedoch mit einer Formulierung behandelt wurden, war vor der Messung eine Entfernung der Formulierung notwendig. Hierzu wurde sie mit einem angefeuchteten, weichen Kosmetiktuch vorsichtig abgetragen. Anschließend wurde die Hautprobe abgetrocknet. Danach wurde die Probe wiederum mit dem Stratum corneum zum Kristall gerichtet platziert und mit 100 g beschwert. Nach einer Wartezeit von 4 min wurden die Spektren aufgenommen.



Abb. 22: Probenraum mit aufgebrachtter Hautprobe am ZnSe-Kristall und Gewichtsbeschwerung

Lediglich jene Hautpräparate, die mit deuterierten Liposomen behandelt wurden, bedurften keiner zusätzlichen Behandlung, außer der Entfernung des Phosphatpuffers. Das Abtragen der deuterierten Liposomen war in diesem Fall nicht notwendig, da diese zur Gänze in die Hautpräparate einzogen. Wie bei allen anderen Messungen wurde die Probe mit dem Stratum corneum zum Kristall gerichtet platziert und mit 100 g beschwert. Nach einer Wartezeit von 4 min wurden die Spektren aufgenommen.

3.3 Kombination von Tape Stripping und FTIR

Tape Stripping (Filmabrissmethode)

Bei dieser Methode wird die Hornschicht der Haut Lage für Lage mit Hilfe eines Klebefolienabrisses (Tesafilm, tesa® crystal clear) entfernt. Dadurch kann das Eindringen eines Pharmakons in die einzelnen Hautschichten verfolgt werden [9].

3.3.1 Vermessung nach Tape Stripping

Es wurden Proben angefertigt, die für Untersuchungen der Tiefenstruktur der Haut bestimmt waren. Hierfür wurden die Proben, die mit Wasser inkubiert wurden, einmal vor dem Tape Stripping und darauffolgend nach 5, 10, 15 und 20 Strips vermessen. Zugleich wurde die abgetragene Hornschichtmenge durch Messung der Korneozyten mittels NIR (Nahes Infrarot) Densitometrie bestimmt. Die Bestimmung der Hornschichtmenge ist wichtig, da ein direkter Zusammenhang zur Hornschichtdicke besteht [38, 39].

3.3.2 Vermessung deuterierter DPPC-Liposomen

Im Unterschied zur oben angeführten Methodik wurden die Präparate hier mit den deuterierten Liposomen inkubiert, einmal vor dem Tape Stripping und dann nach 5, 10, 15 und 20 Strips vermessen. Als Kontrollprobe diente ein mit destilliertem Wasser inkubiertes Präparat.

Da die Molekülmasse deuterierter Formulierungen höher ist, erscheinen die CD₂-stretching Banden bei niedrigeren Wellenzahlen. In jenen Bereichen ist das Hautspektrum frei von anderen Banden, wodurch unbeeinflusste Bewertungen vorgenommen werden können [14].

4 Ergebnisse

4.1 Formulierungsfindung

4.1.1 Phasendiagramm

In Abb. 23 ist das Phasendiagramm aus Isopropylmyristat, Saccharoselaurat L-1695/Isopropylalkohol und Wasser dargestellt. Die große farbige Fläche stellt den Isotropiebereich und damit den Mikroemulsionsbereich dar. Bei dem eingezeichneten Punkt handelt es sich um die Mischung 26, zusammengesetzt aus 10% Wasser, 50% Tensid/Co-Tensid und 40% IPM (Tab. 2, S. 28).

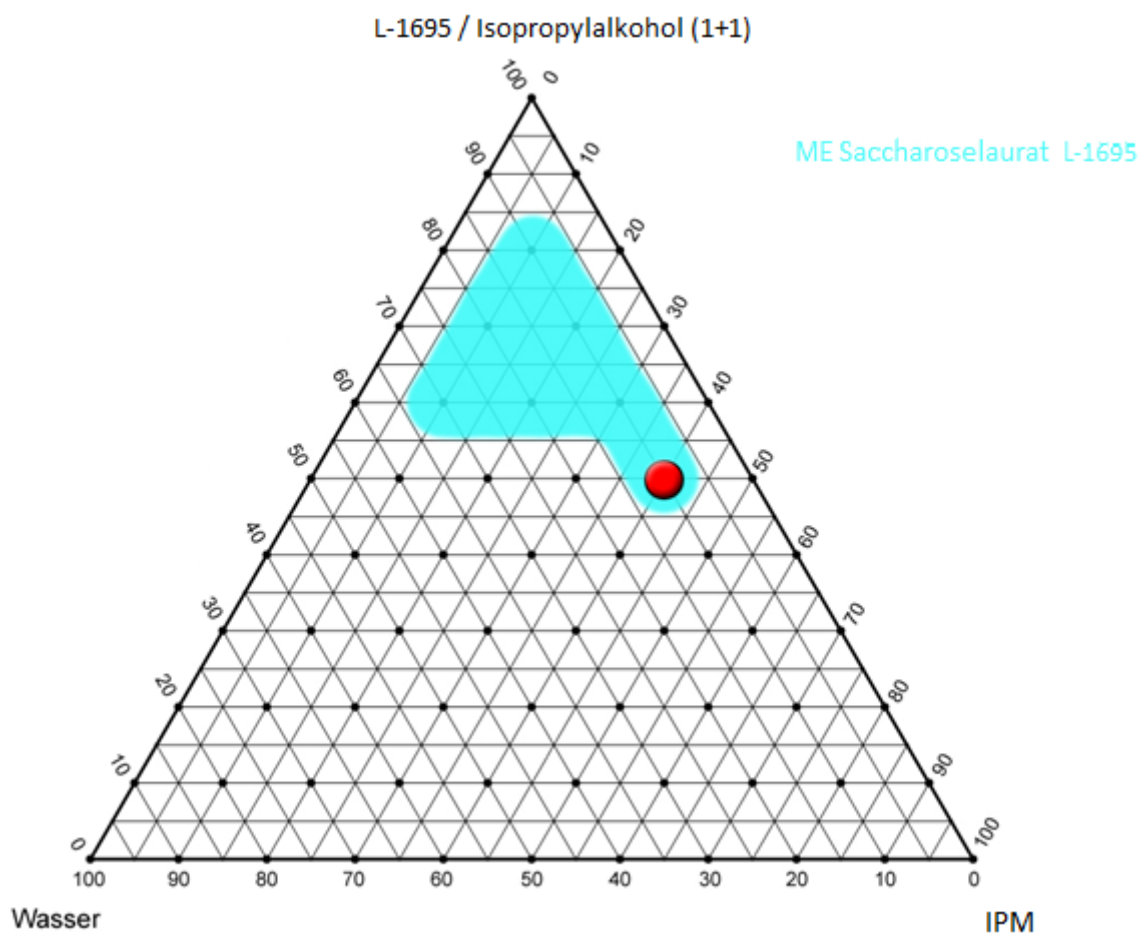


Abb. 23: Phasendiagramm der Mikroemulsionen hergestellt mit L-1695

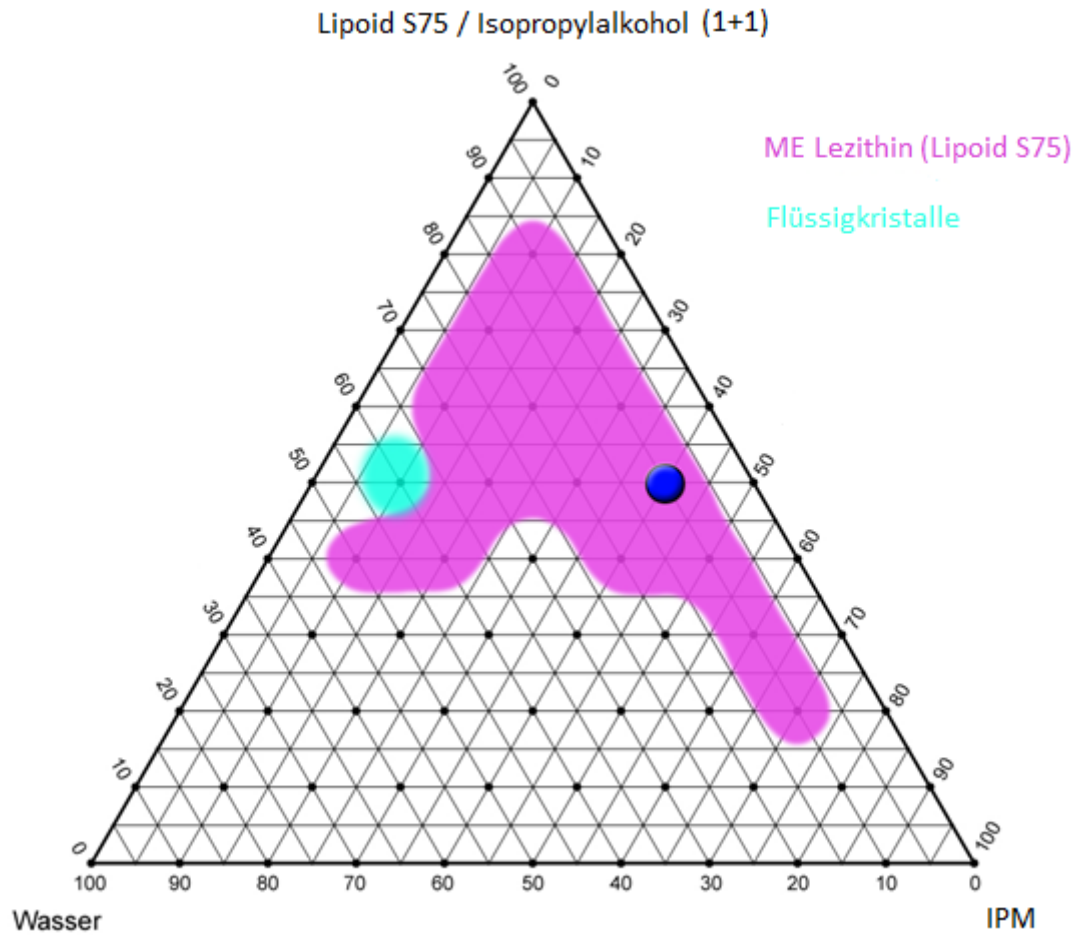


Abb. 24: Phasendiagramm der Mikroemulsionen hergestellt mit Lipoid S 75

In Abb. 24 ist das Phasendiagramm aus Isopropylmyristat, Lipoid S75/Isopropylalkohol und Wasser dargestellt. Die große farbige Fläche stellt den Isotropiebereich und damit den Mikroemulsionsbereich dar. Bei dem eingezeichneten Punkt handelt es sich um die Mischung 26, zusammengesetzt aus 10% Wasser, 50% Tensid/Co-Tensid und 40% IPM (Tab. 2, S. 28).

Das größere Mikroemulsionsgebiet wurde bei Verwendung des Sojalezithins Lipoid S75 erhalten. Außerdem ergab sich, wie in Abb. 24 dargestellt, ein flüssigkristalliner Bereich im isotropen Randgebiet.

4.2 FTIR – Spektren

Die Angabe der Absorptionsbanden erfolgt mittels Wellenzahl $\tilde{\nu}$. Diese gibt an, wieviele Wellen einer bestimmten Wellenlänge pro Zentimeter vorliegen. Der Wert entspricht somit dem reziproken Wert der Wellenlänge, welcher mit der Einheit cm^{-1} angegeben wird und ist direkt proportional zur Frequenz ν [33].

Für die Auswertung der Spektren waren die Banden, die in Tab. 3 angegeben sind, von Interesse.

Bande	Wellenzahl cm^{-1}
asymm. CH_2 -stretching	~2920
symm. CH_2 -stretching	~2850
C=O Stretch	~1740
Amid1-Stretch	~1650
Amid2-Stretch	~1550
CH_2 -scissoring	~1460-1480

Tab. 3: Übersicht der charakteristischen Banden der Hautproben [34, 40, 41]

Die FTIR-Spektren der Hautstücke wurden mit jenen verglichen, auf denen Formulierungen appliziert waren.

In Abb. 25 ist ein Spektrum mit den charakteristischen Banden eines unbehandelten porcinen Hautpräparats (Kontrolle) dargestellt.

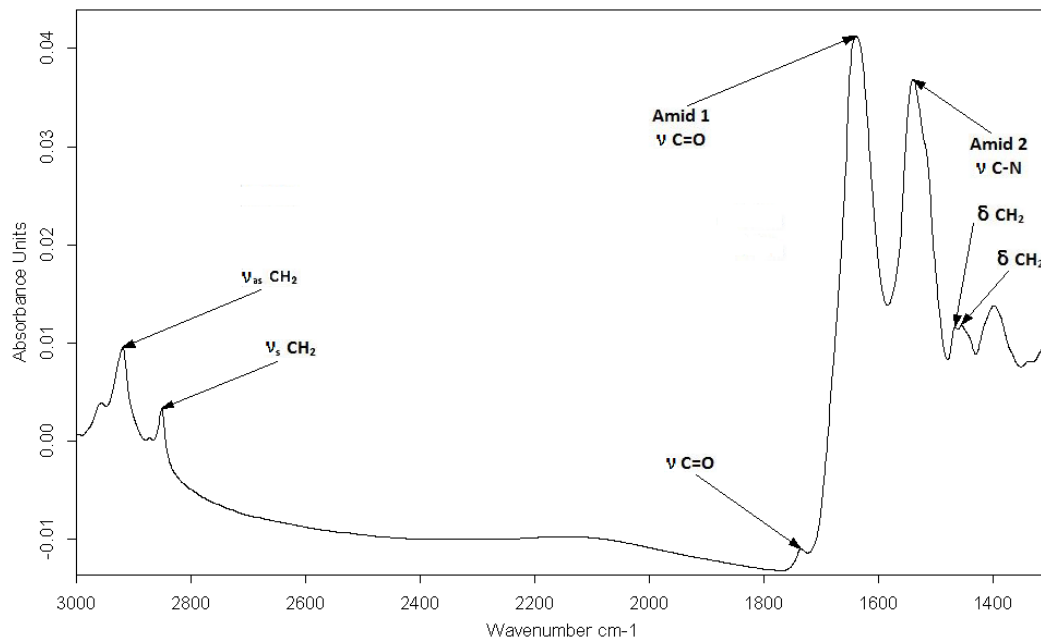


Abb. 25: FTIR-Spektrum unbehandelter porciner Ohrhaut

Spektrenbearbeitung

Mit Hilfe der Spektroskopie-Software OPUS⁷ wurden die Spektren im Bereich von 3000-1300 cm⁻¹ abgeschnitten, normiert und im Bereich von 2400-1900 cm⁻¹ eine gerade Linie erzeugt. Die Spektren nach den Tape Stripping Versuchen wurden zudem einer Fourier-Selbstentfaltung mit dem Entfaltungsfaktor 50 und 100 unterzogen.

Die Fourier-Selbstentfaltung bietet die Möglichkeit die scheinbare Auflösung eines Spektrums zu verbessern, bzw. die Breite der Banden zu verringern. Spektralbereiche, die breite, überlappende Linien enthalten, können dadurch in schärfere Einzellinien zerlegt werden [33].

Alle gezeigten Spektren sind Mittelwerte dreier Messungen. Jeder Versuch wurde in dreifacher Ausführung wiederholt.

⁷ OPUS Version 5.5, Bruker Optiks GmbH (Deutschland)

4.2.1 FTIR – Spektren von Mikroemulsionen und Hautinteraktion

Von den hergestellten Mikroemulsionen, die sich in ihrer Tensidkomponente unterschieden, wurde für deren Darstellung das aussagekräftigste Spektrum gewählt.

Zunächst wurde von der Formulierung ein Spektrum aufgenommen. Danach wurden die Hautproben nach zweistündiger Einwirkzeit der applizierten Formulierung vermessen.

LEZITHIN-MIKROEMULSIONEN

Die Lezithin-Mikroemulsionen enthielten als Tensidkomponente ausschließlich Lezithin.

Das Spektrum der Formulierung in Abb. 26 differenziert sich von jenem der Haut durch die fehlenden Amid-Banden. Banden, die in beiden Spektren zu sehen sind, haben meistens unterschiedliche Wellenzahlen.

Die Bande bei $1379,03\text{ cm}^{-1}$ in Abb. 26 könnte auf eine symmetrische Methyl-Deformationsschwingung zurückzuführen sein [42].

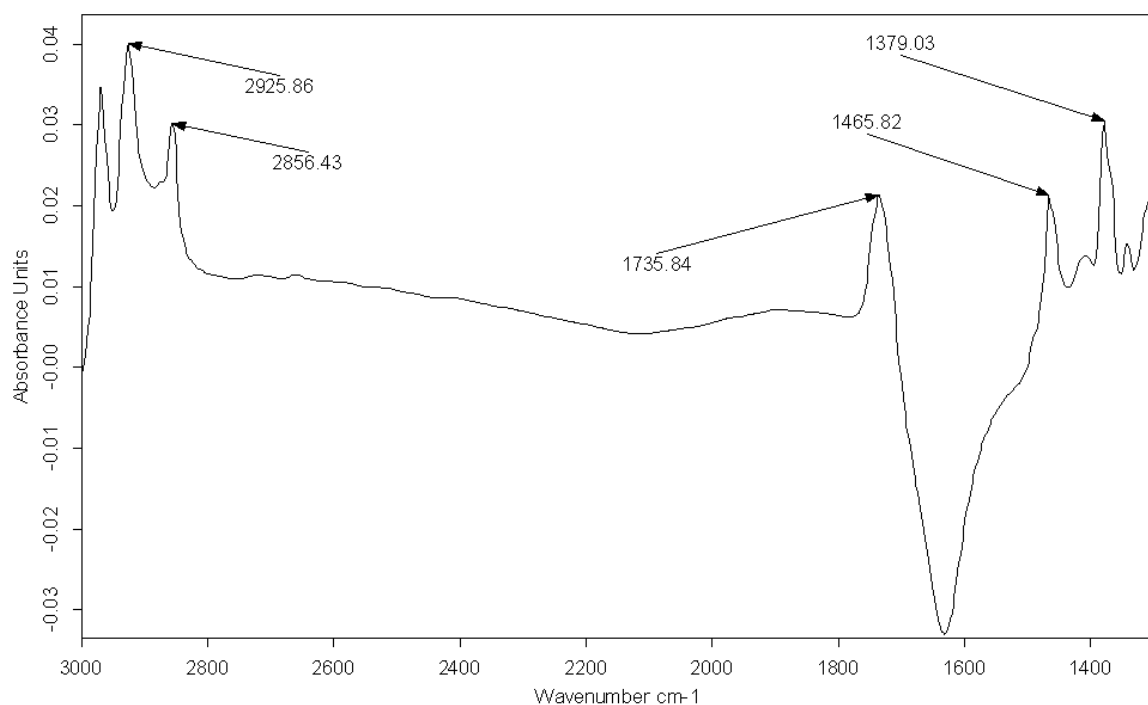


Abb. 26: FTIR-Spektrum der Mikroemulsion Nr. 8

Das Mischungsverhältnis der Mikroemulsion Nr. 8 ist in Tab. 2 (S. 28) zu finden.

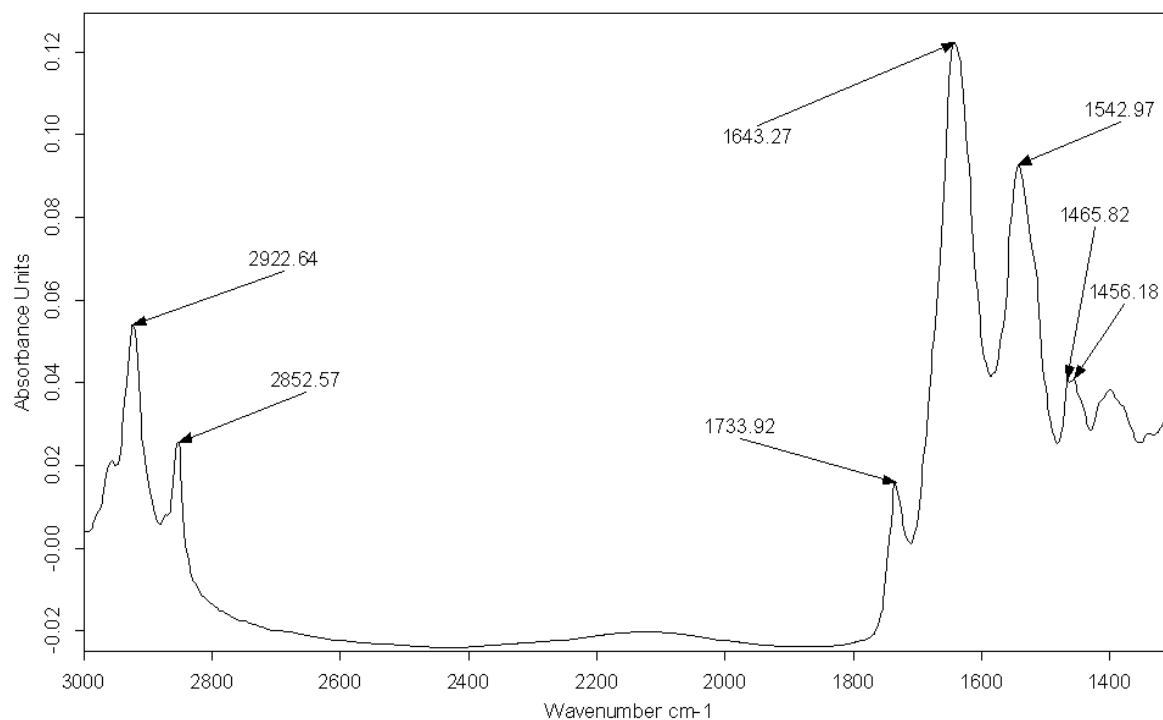


Abb. 27: FTIR-Spektrum porciner Ohrhaut behandelt mit der Mikroemulsion Nr. 8

Die asymmetrischen und symmetrischen CH₂-stretching Banden erscheinen in Abb. 27 bei 2922,64 cm⁻¹ und 2852,57 cm⁻¹. Der C=O Stretch ist bei 1733,92 cm⁻¹ zu sehen. Bei 1643,27 cm⁻¹ und 1542,97 cm⁻¹ treten die Banden von Amid1 und Amid2 auf. Die Banden des CH₂-scissoring zeigen sich, deutlich aufgespalten, bei 1465,82 cm⁻¹ und 1456,18 cm⁻¹.

LEZITHIN+L-1695-MIKROEMULSIONEN

Die Tensidkomponenten dieser Mikroemulsionen waren Lezithin und Saccharoselaurat L-1695 im Verhältnis 1:1.

Das Spektrum der Formulierung in Abb. 28 unterscheidet sich von jenem der Haut durch die fehlenden Amid-Banden. Banden, die in beiden Spektren zu sehen sind, haben meistens unterschiedliche Wellenzahlen.

Die Bande bei $1374,21\text{ cm}^{-1}$ in Abb. 28 könnte auf eine symmetrische Methyl-Deformationsschwingung zurückzuführen sein [42].

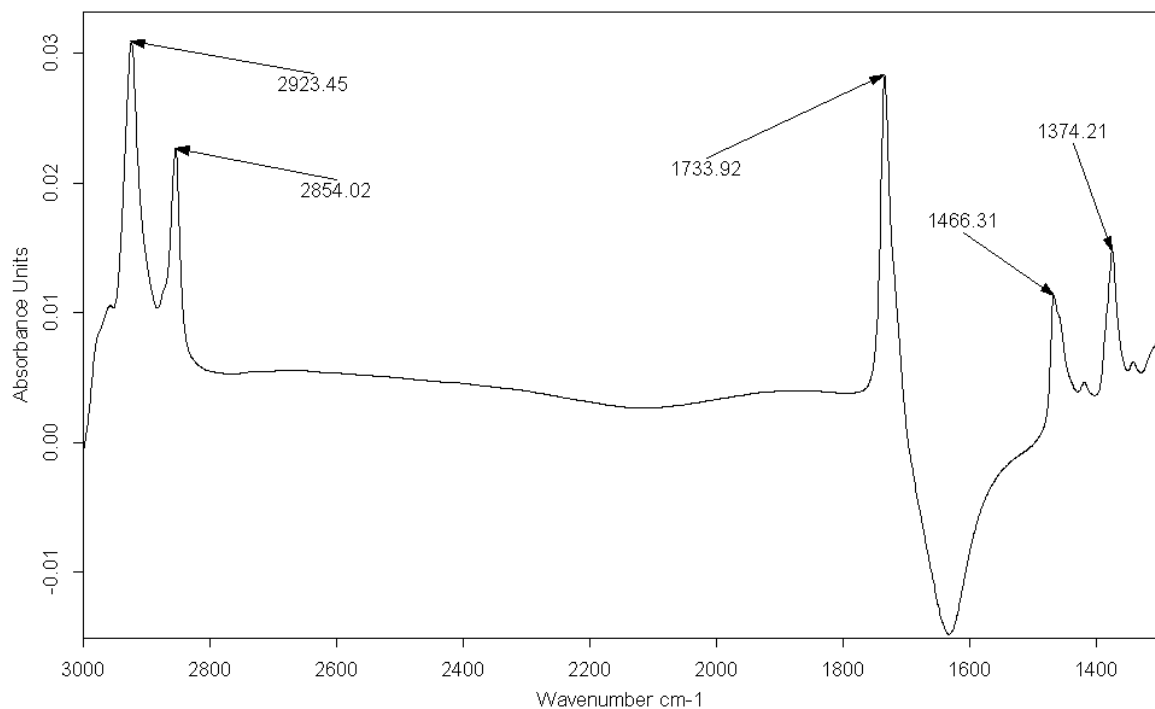


Abb. 28: FTIR-Spektrum der Mikroemulsion Nr. 33

Das Mischungsverhältnis der Mikroemulsion Nr. 33 ist in Tab. 2 (S. 28) zu finden.

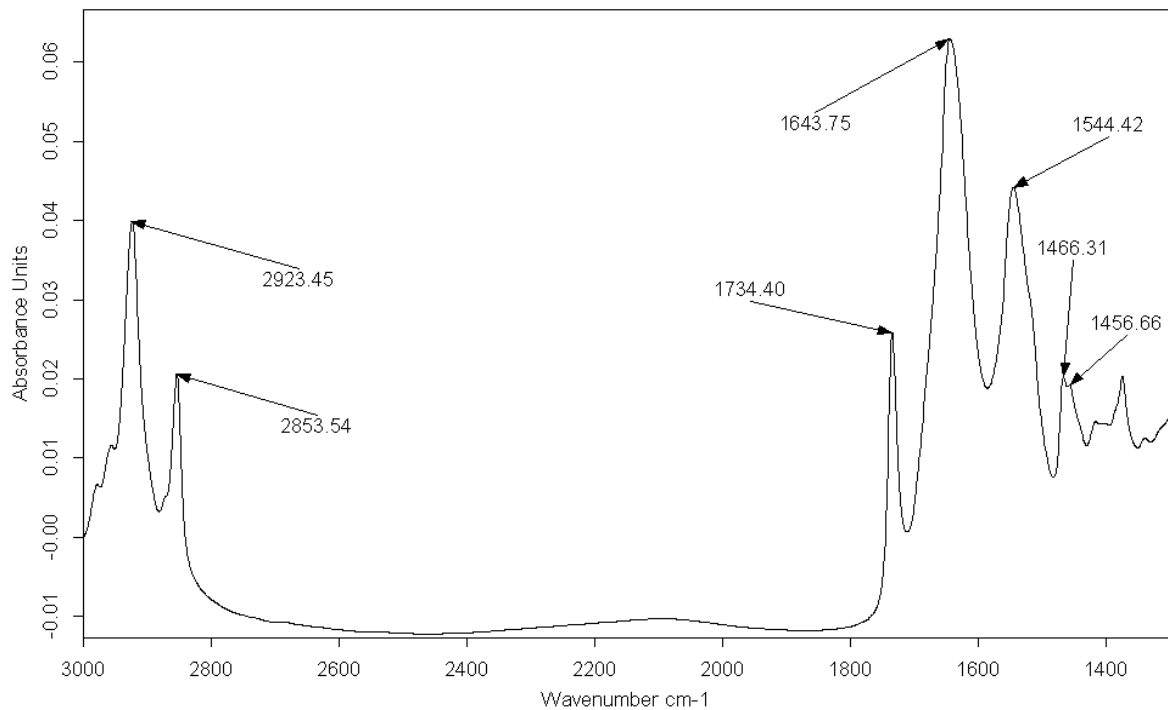


Abb. 29: FTIR-Spektrum porciner Ohrhaut behandelt mit der Mikroemulsion Nr. 33

In Abb. 29 sind bei 2923,45 cm^{-1} und 2853,45 cm^{-1} das asymmetrische und symmetrische CH_2 -stretching zu sehen. Bei 1734,40 cm^{-1} erscheint ein intensiver C=O Stretch. Die Amid1 und Amid2 Bande treten bei 1643,75 cm^{-1} und 1544,26 cm^{-1} auf. Das CH_2 -scissoring erscheint bei 1466,31 cm^{-1} und 1456,82 cm^{-1} .

L-1695-MIKROEMULSIONEN

Jene Mikroemulsionen enthielten nur Saccharoselaurat L-1695 als Tensid.

Das Spektrum der Formulierung in Abb. 30 unterscheidet sich von jenem der Haut durch die fehlenden Amid-Banden. Banden, die in beiden Spektren zu sehen sind, haben meistens unterschiedliche Wellenzahlen.

Die Bande bei $1377,58\text{ cm}^{-1}$ in Abb. 30 könnte auf eine symmetrische Methyl-Deformationsschwingung zurückzuführen sein [42].

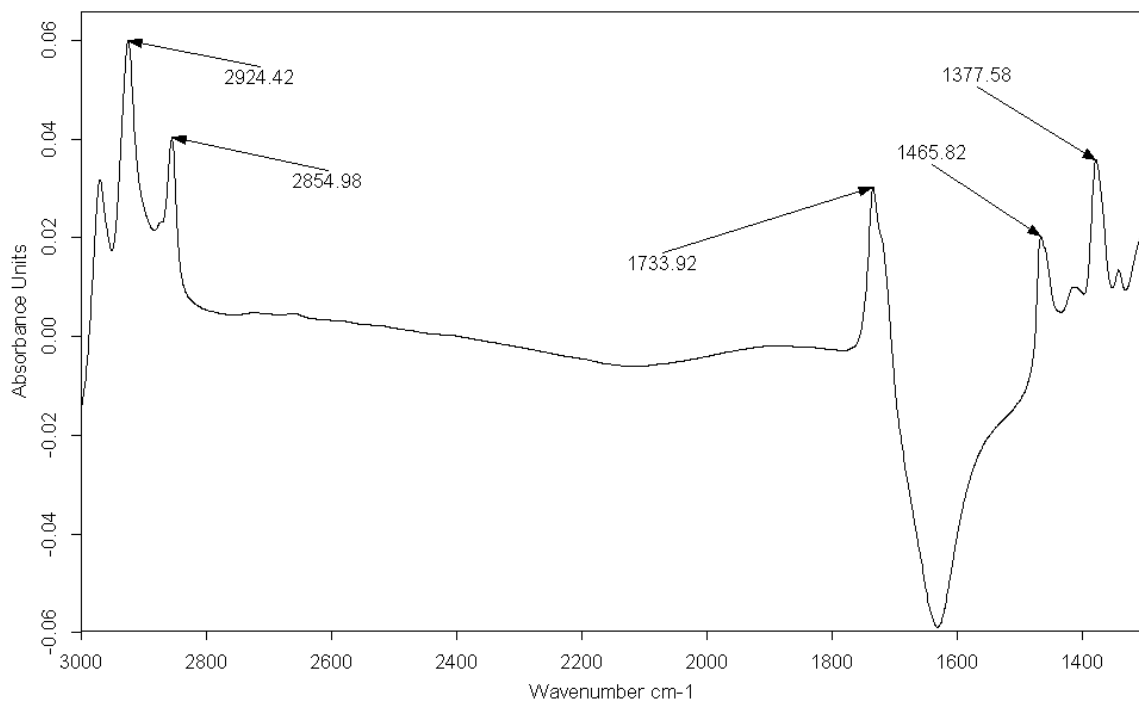


Abb. 30: FTIR-Spektrum der Mikroemulsion Nr. 15

Das Mischungsverhältnis der Mikroemulsion Nr. 15 ist in Tab. 2 (S. 28) zu finden.

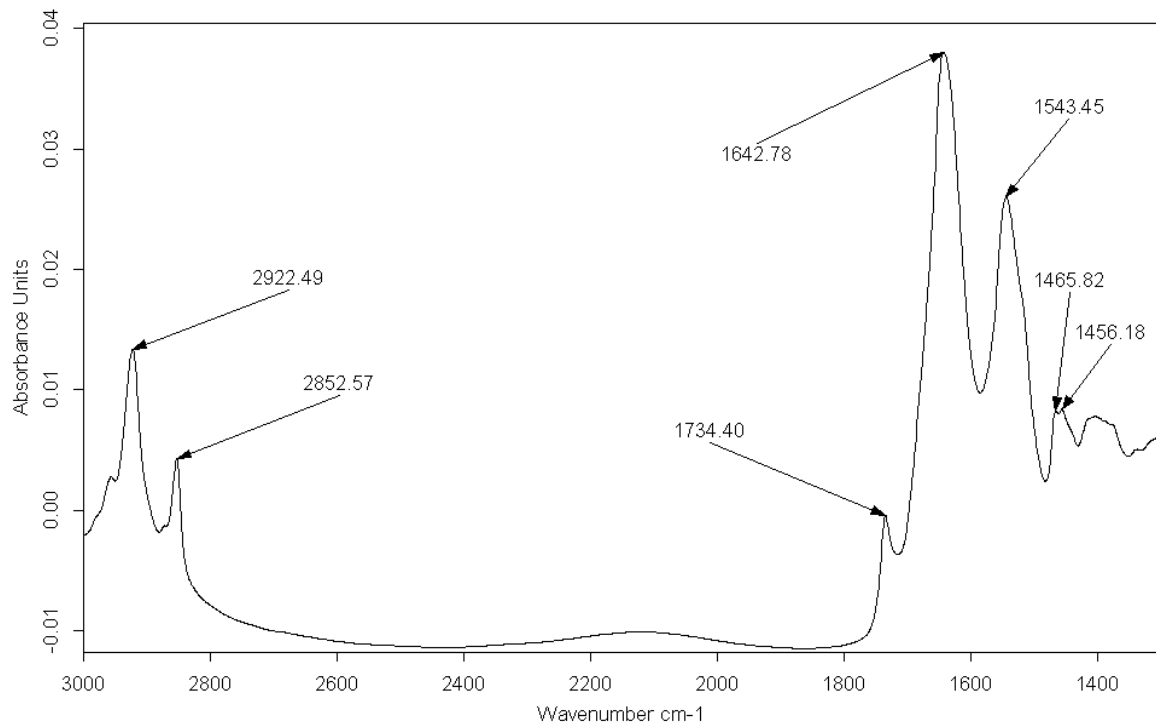


Abb. 31: FTIR-Spektrum porciner Ohrhaut behandelt mit der Mikroemulsion Nr. 15

Die Abb. 31 zeigt die asymmetrische und symmetrische CH₂-stretching Bande bei 2922,49 cm⁻¹ und 2852,57 cm⁻¹. Der C=O Stretch tritt bei 1734,40 cm⁻¹ auf. Die Banden von Amid1 und Amid2 erscheinen bei 1642,78 cm⁻¹ und 1543,45cm⁻¹. Bei 1465,82 cm⁻¹ und 1456,18 cm⁻¹ befinden sich die Banden des CH₂-scissoring.

APG-MIKROEMULSIONEN

In der Arbeitsgruppe wurden auch Mikroemulsionen hergestellt, deren Tensidkomponente APG (Alkylpolyglucoside) Montanov S⁸ war. Diese Mikroemulsionen wurden ebenfalls für Messversuche herangezogen.

Bei Alkylpolyglucosiden handelt es sich um Glucoside, die mit Fettalkoholen verethert sind. Montanov S enthält APG's deren Komponenten Kokosglucoside und Kokosalkohole sind.

Das Spektrum der Formulierung in Abb. 32 unterscheidet sich von jenem der Haut durch die fehlenden Amid-Banden. Banden, die in beiden Spektren zu sehen sind, haben meistens unterschiedliche Wellenzahlen.

Die Bande bei 1375,17 cm⁻¹ in Abb. 32 könnte auf eine symmetrische Methyl-Deformationsschwingung zurückzuführen sein [42].

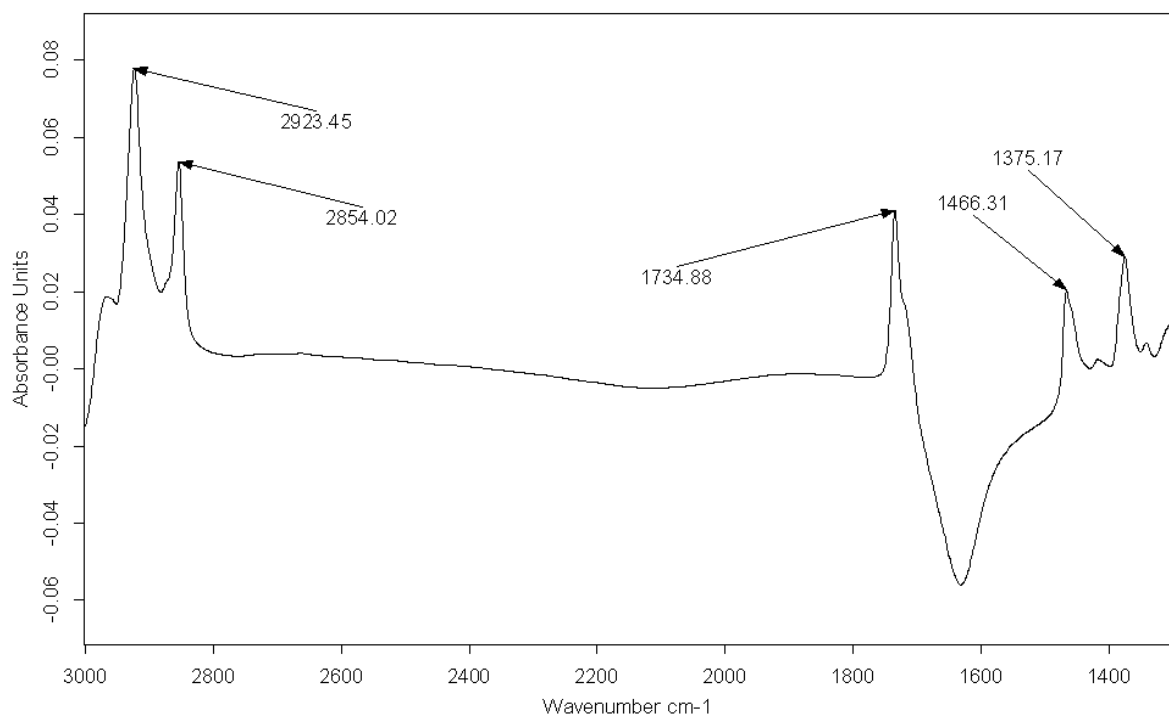


Abb. 32: FTIR-Spektrum der Mikroemulsion Nr. 30

Das Mischungsverhältnis der Mikroemulsion Nr. 30 ist in Tab. 2 (S. 28) zu finden.

⁸ Montanov S: 60-70% APG (C₁₂-C₁₈)
30-40% Alkohol (C₁₂-C₁₈)
Firma Seppic, Großbritannien

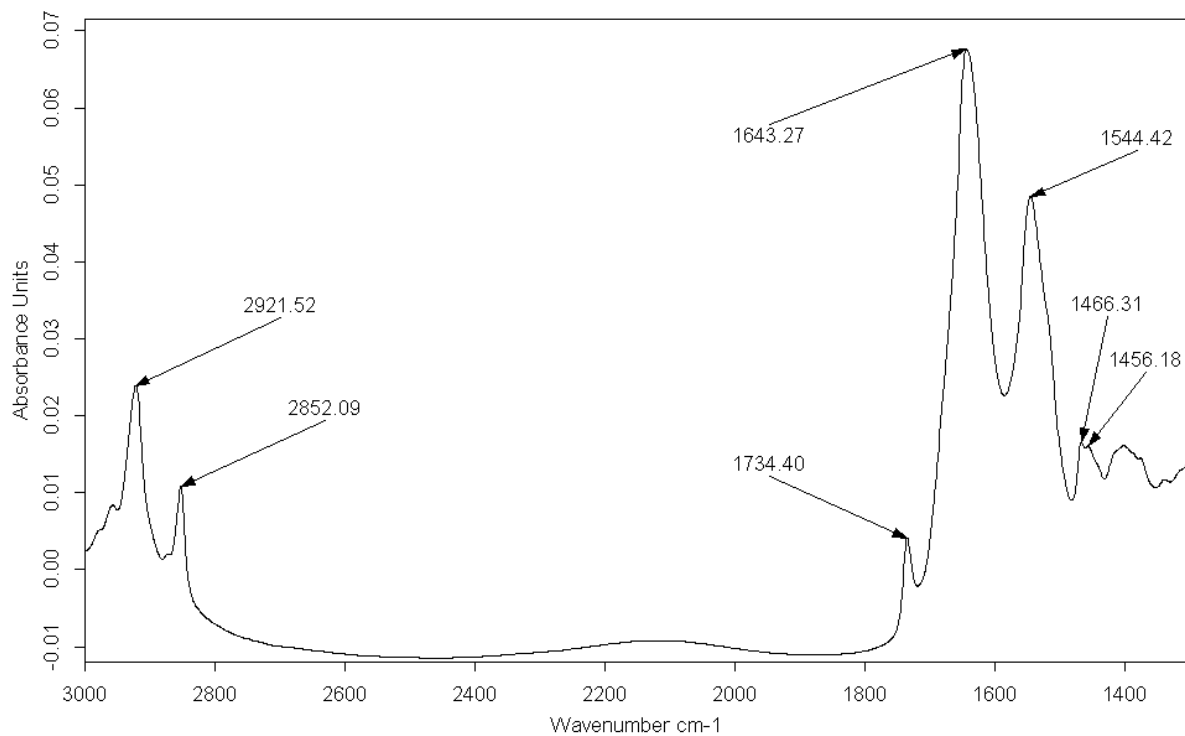


Abb. 33: FTIR-Spektrum porciner Ohrhaut behandelt mit der Mikroemulsion Nr. 30

In Abb. 33 treten das asymmetrische und symmetrische CH₂-stretching bei 2921,52 cm⁻¹ und 2852,09 cm⁻¹ auf. Bei 1734,40 cm⁻¹ erscheint der C=O stretch. Die intensiven Amid-Banden befinden sich bei 1643,27 cm⁻¹ und 1544,42 cm⁻¹. Das CH₂-scissoring ist bei 1466,31 cm⁻¹ und 1456,18 cm⁻¹ zu sehen.

LEZITHIN+APG-MIKROEMULSIONEN

Für die Herstellung dieser Mikroemulsionen wurde ein Tensidgemisch aus Lezithin und APG im Mischungsverhältnis 1:1 herangezogen.

Das Spektrum der Formulierung in Abb. 34 unterscheidet sich von jenem der Haut durch die fehlenden Amid-Banden. Banden, die in beiden Spektren zu sehen sind, haben meistens unterschiedliche Wellenzahlen.

Die Bande bei $1376,14\text{ cm}^{-1}$ in Abb. 34 könnte auf eine symmetrische Methyl-Deformationsschwingung zurückzuführen sein [42].

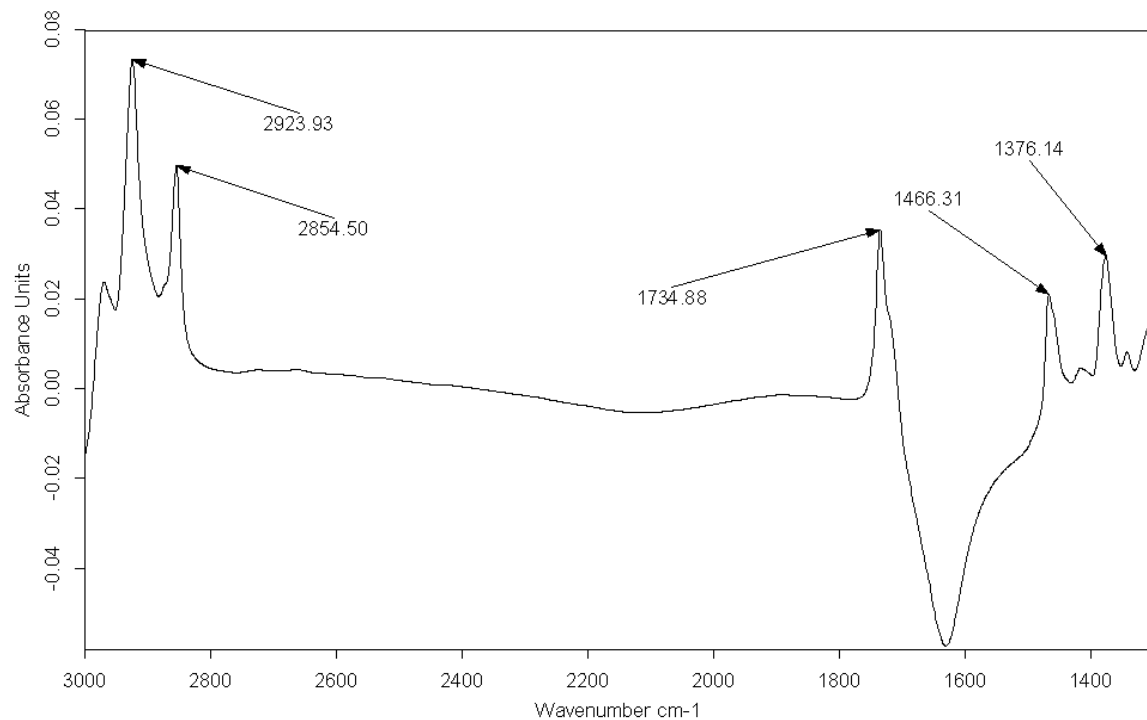


Abb. 34: FTIR-Spektrum der Mikroemulsion Nr. 20

Das Mischungsverhältnis der Mikroemulsion Nr. 20 ist in Tab. 2 (S. 28) zu finden.

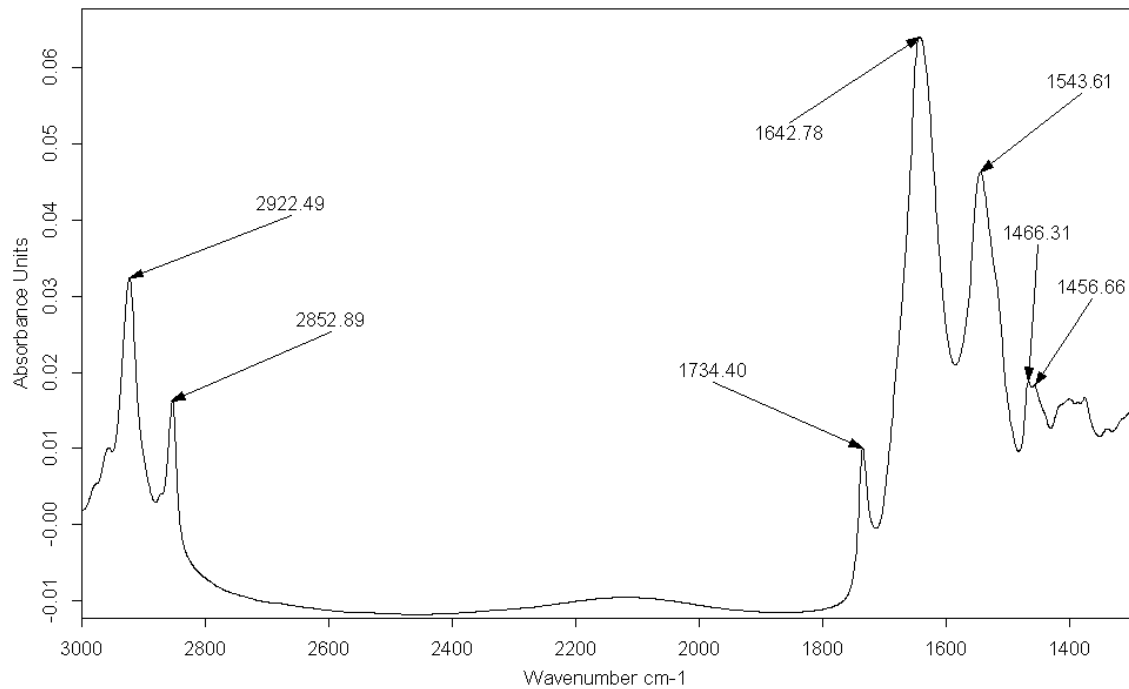


Abb.35: FTIR-Spektrum porciner Ohrhaut behandelt mit der Mikroemulsion Nr. 20

Wie in Abb. 35 ersichtlich, waren die Banden des asymmetrischen und symmetrischen CH₂-stretching bei 2922,49 cm⁻¹ und 2852,89 cm⁻¹ zu finden. Ein ausgeprägter C=O Stretch lag bei 1734,40 cm⁻¹. Die großen Amid1 und Amid2 Banden wiesen die Wellenzahlen 1642,78 cm⁻¹ und 1543,61 cm⁻¹ auf. Die getrennten Banden des CH₂-scissoring waren bei 1466,31 cm⁻¹ und 1456,66 cm⁻¹ vorhanden.

MIKROEMULSIONEN MIT GLYKOKONJUGATEN

Das Tensid der Mikroemulsionen mit Glykokonjugaten war Lezithin.

Das Spektrum der Formulierung in Abb. 36 unterscheidet sich von jenem der Haut durch die fehlenden Amid-Banden. Banden, die in beiden Spektren zu sehen sind, haben meistens unterschiedliche Wellenzahlen.

Die Bande bei $1375,66\text{ cm}^{-1}$ in Abb. 36 könnte auf eine symmetrische Methyl-Deformationsschwingung zurückzuführen sein [42].

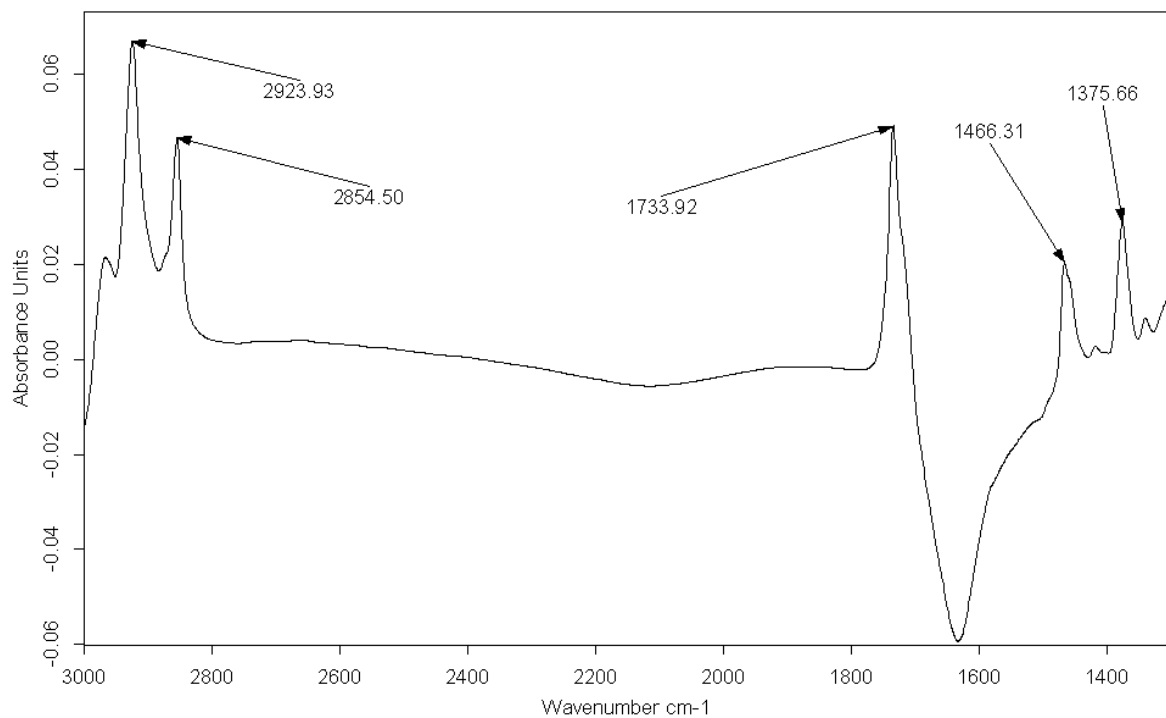


Abb. 36: FTIR-Spektrum der Mikroemulsion LP7

Das Mischungsverhältnis der Mikroemulsionen mit Glykokonjugaten entspricht dem Mischungsverhältnis der Mikroemulsion Nr. 26 und ist in Tab. 2 (S. 28) zu finden.

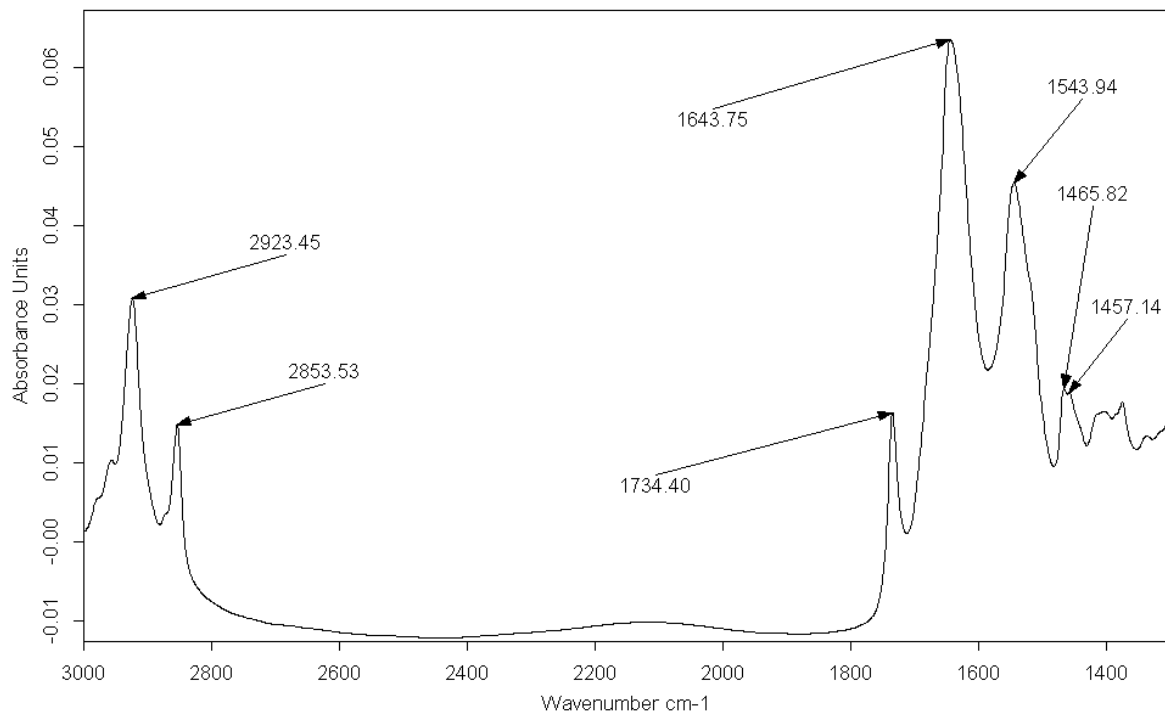


Abb.37: FTIR-Spektrum porciner Ohrhaut behandelt mit der Mikroemulsion LP7

Die Abb. 37 zeigt, dass die CH₂-stretching Banden bei 2923,45 cm⁻¹ und 2853,53 cm⁻¹ erscheinen. Der C=O Stretch hatte seine auffällige Bande bei 1734,40 cm⁻¹. Die Banden von Amid1 und Amid2 traten bei 1643,75 cm⁻¹ und 1543,94 cm⁻¹ auf. Deutlich geteilte CH₂-scissoring Banden befanden sich bei 1465,82 cm⁻¹ und 1457,14 cm⁻¹.

4.2.2 FTIR – Spektren neuartiger Glykokonjugate

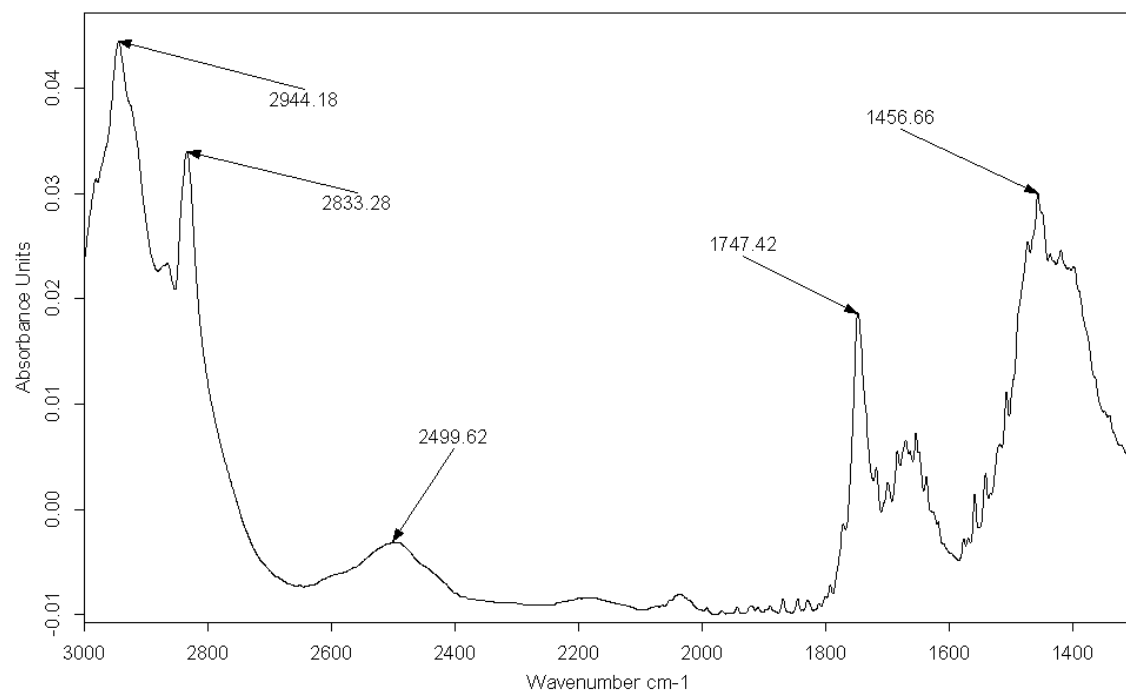


Abb. 38: FTIR-Spektrum der methanolischen Glykokonjugatlösung TM107

Das Spektrum der Formulierung in Abb. 38 unterscheidet sich von jenem der Haut durch die fehlenden Amid-Banden. Banden, die in beiden Spektren zu sehen sind, haben meistens unterschiedliche Wellenzahlen.

Die breite Bande bei $2499,62\text{ cm}^{-1}$ in Abb. 38 kann laut Literatur quartären Aminogruppen zugeordnet werden [35].

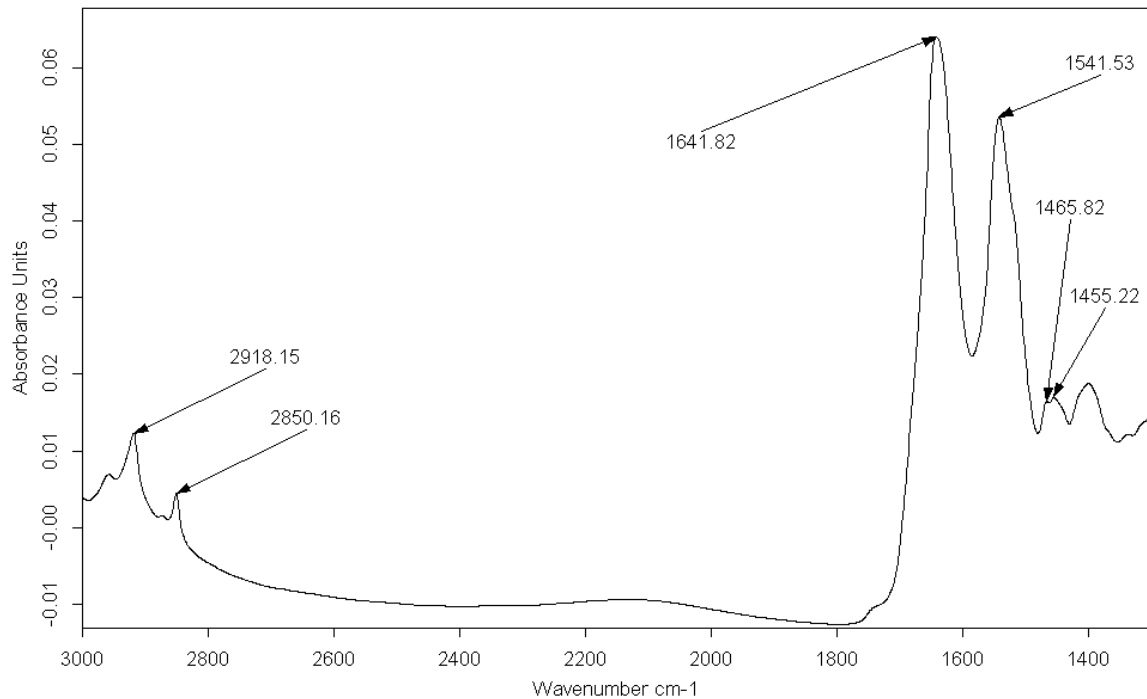


Abb.39: FTIR-Spektrum porciner Ohrhaut behandelt mit TM107

Die asymmetrischen und symmetrischen CH₂-stretching Banden erscheinen in Abb. 39 bei 2918,15 cm⁻¹ und 2850,16 cm⁻¹. Der C=O Stretch ist hier schwach zu sehen. Bei 1641,82 cm⁻¹ und 1541,53 cm⁻¹ treten die Banden von Amid1 und Amid2 auf. Die Banden des CH₂-scissoring zeigen sich, deutlich aufgespalten, bei 1465,82 cm⁻¹ und 1455,22 cm⁻¹.

4.2.3 FTIR – Spektren von WOW-Nanoemulsionen und Hautinteraktion

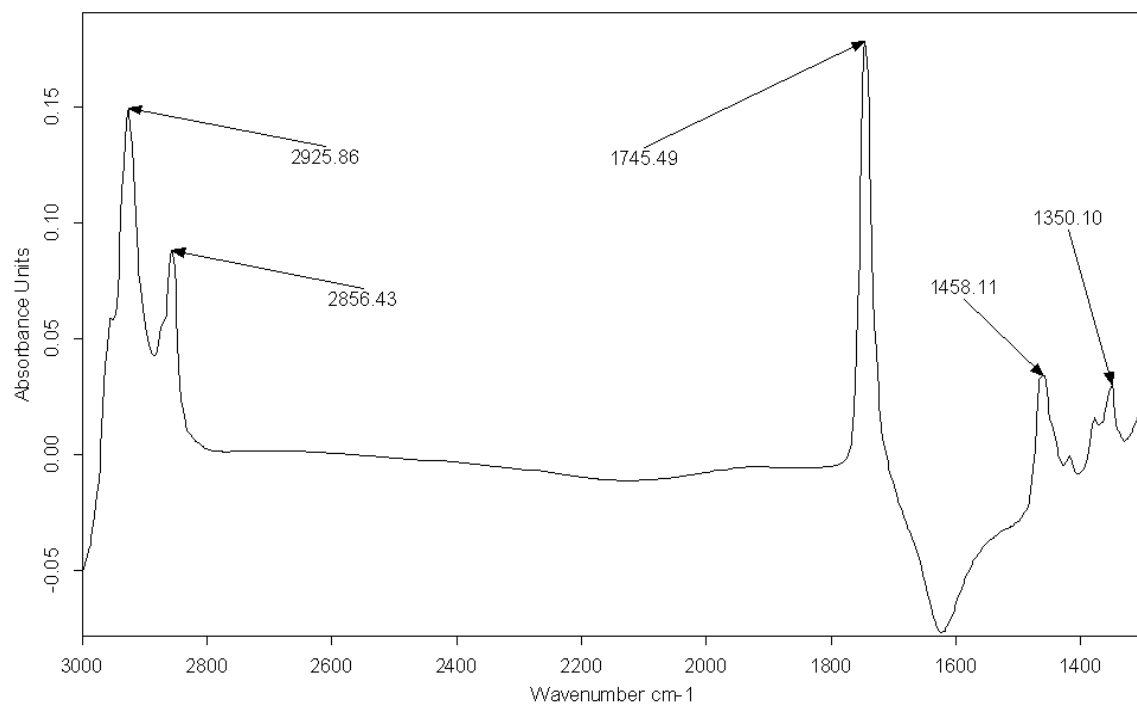


Abb. 40: FTIR-Spektrum der WOW-Nanoemulsion

Das Spektrum der Formulierung in Abb. 40 unterscheidet sich von jenem der Haut durch die fehlenden Amid-Banden. Banden, die in beiden Spektren zu sehen sind, haben meistens unterschiedliche Wellenzahlen.

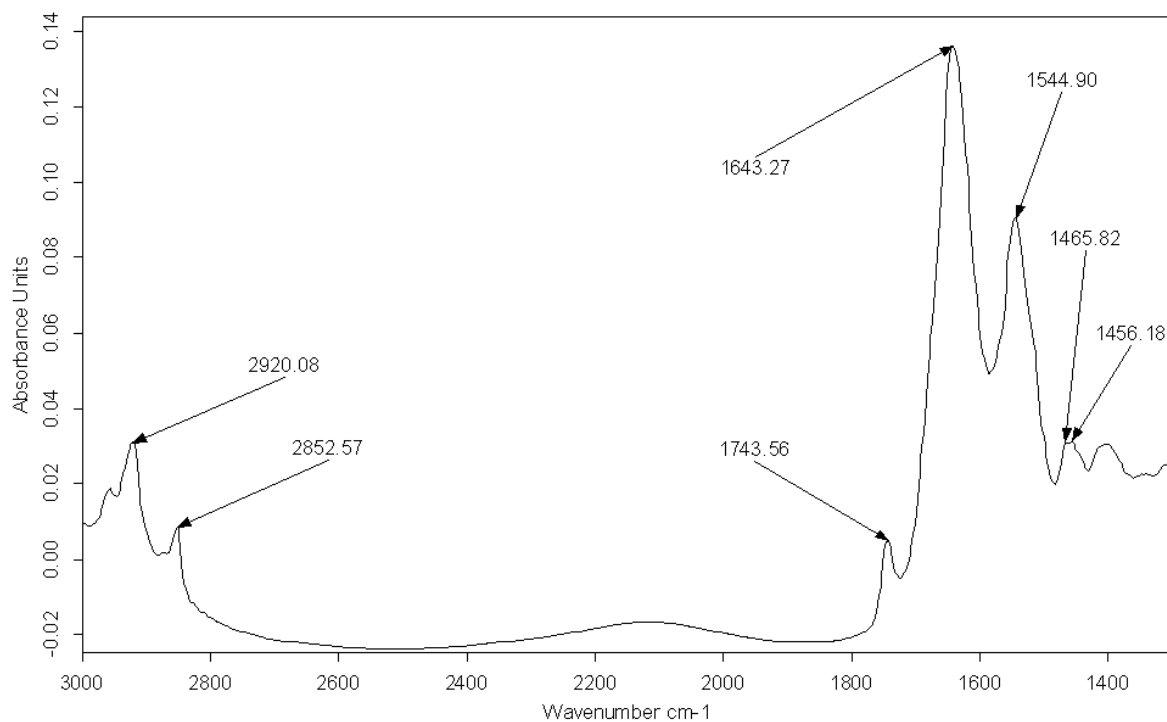


Abb.41: FTIR-Spektrum porciner Ohrhaut behandelt mit der WOW-Nanoemulsion C2

In Abb. 41 sind bei $2920,08\text{ cm}^{-1}$ und $2852,57\text{ cm}^{-1}$ das asymmetrische und symmetrische CH_2 -stretching zu sehen. Bei $1743,56\text{ cm}^{-1}$ erscheint der C=O Stretch. Die Amid1 und Amid2 Bande treten bei $1643,27\text{ cm}^{-1}$ und $1544,90\text{ cm}^{-1}$ auf. Das CH_2 -scissoring erscheint bei $1465,82\text{ cm}^{-1}$ und $1456,18\text{ cm}^{-1}$.

4.2.4 FTIR – Spektren deuterierter Liposomen und Hautinteraktion

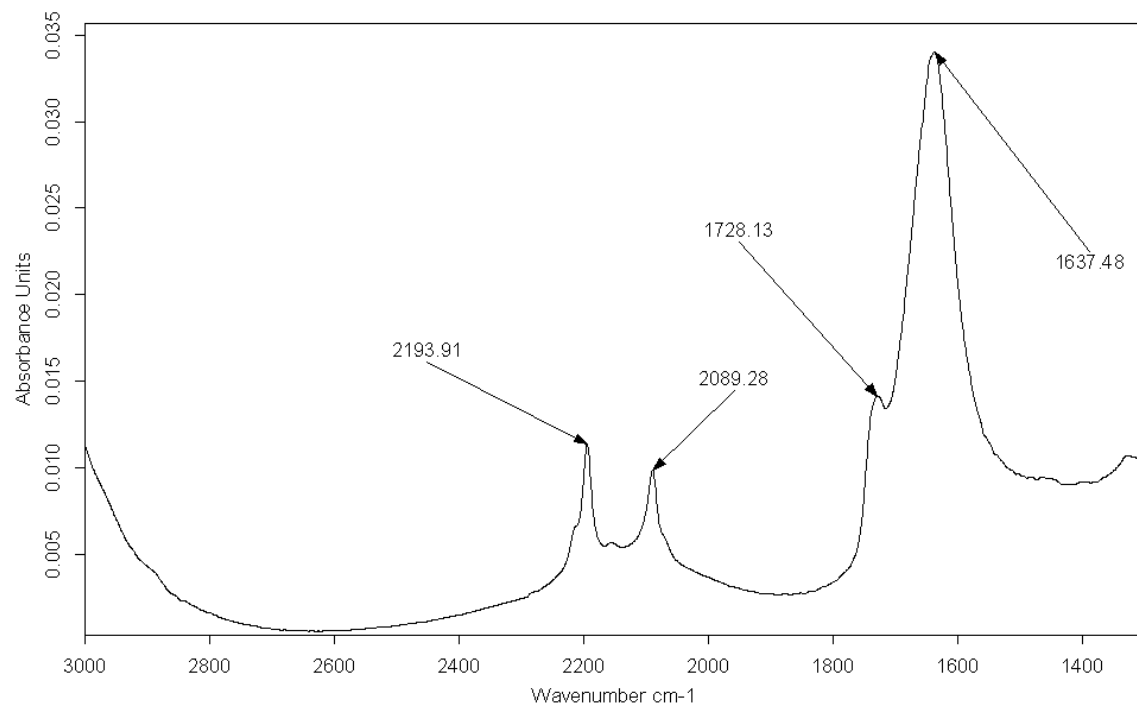


Abb. 42: FTIR-Spektrum der deuterierten Liposomen

Wie in Abb. 42 deutlich zu erkennen ist, treten bei 2193,91 cm⁻¹ und 2089,28 cm⁻¹ die Banden des CD₂-stretchings auf. Der C=O Stretch ist hier bei 1728,13 cm⁻¹ zu sehen und bei 1637,48 cm⁻¹ tritt die Amid1-Bande auf.

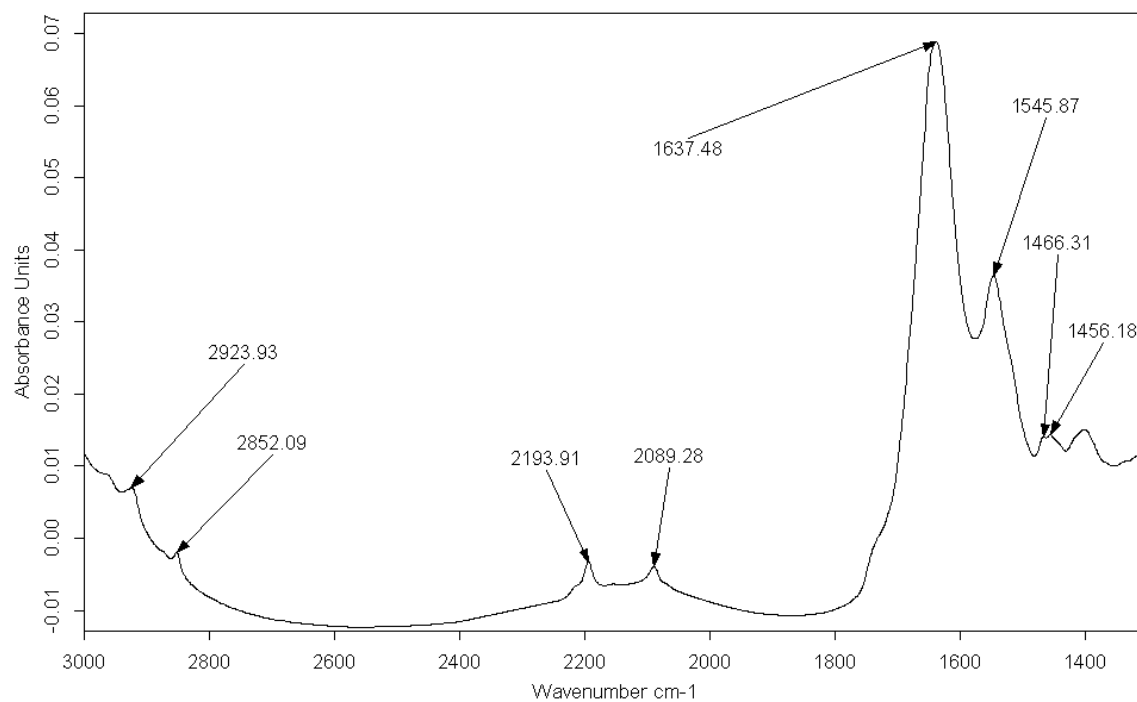


Abb. 43: FTIR-Spektrum porciner Ohrhaut behandelt mit deuterierten Liposomen

Wie in Abb. 43 zu sehen ist, treten hier, im Vergleich zu bereits angeführten Spektren, zwei weitere Banden bei $2193,91\text{ cm}^{-1}$ und $2089,28\text{ cm}^{-1}$ auf. Diese erscheinen deutlich abgegrenzt von jenen der Haut und stammen von den deuterierten Liposomen.

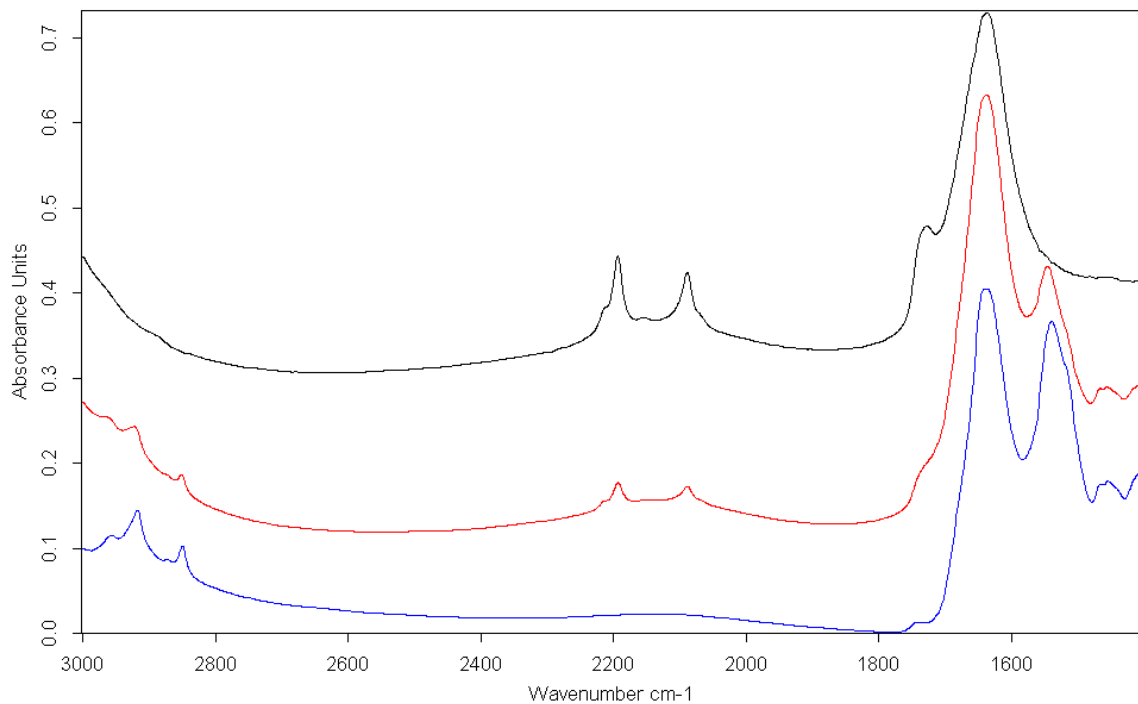


Abb. 44: Vergleich der FTIR-Spektren

schwarz = Formulierung ohne Haut
rot = Haut behandelt mit deut. Lipos.
blau = unbehandelte Haut

In Abb. 44 werden die Spektren von unbehandelter porciner Haut, porciner Haut behandelt mit deuterierten Liposomen und der Formulierung ohne Haut miteinander verglichen. Abb. 44 zeigt, dass im Spektrum der unbehandelten Haut im Bereich von 2050 cm^{-1} und 2200 cm^{-1} , jener Bereich in dem die Banden des CD_2 -stretching auftreten, keine Banden erscheinen. Das Spektrum der mit deuterierten Liposomen behandelten Haut und das Spektrum der Formulierung hingegen weisen ausgeprägte Banden in diesem Bereich auf. Die Banden der Formulierung können daher gut von jenen der Haut abgegrenzt werden.

4.2.5 FTIR – Spektren in Verbindung mit Tape Stripping

PROBEN MIT WASSER

Da sich das Spektrum einer mit dest. Wasser inkubierten Probe vor dem Tape Stripping nicht wesentlich von dem Spektrum einer unbehandelten Probe unterscheidet, wurde hier für eine bessere Übersicht der Auswirkungen des Tape Strippings stattdessen eine Tabelle eingefügt.

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
ohne t.str.	2917,66	2850,16	1636,03	1541,69	1466,15	1455,54
nach 5	2917,66	2850,16	1642,46	1541,37	1466,31	1454,89
nach 10	2917,66	2850,16	1638,44	1541,04	1466,31	1455,06
nach 15	2918,15	2850,16	1639,89	1542,01	1466,31	1455,06
nach 20	2918,63	2850,64	1641,82	1542,97	1466,31	1455,38

Tab. 4: Vergleich der Banden vor dem Tape Stripping, nach 5 Strips, nach 10 Strips, nach 15 Strips und nach 20 Strips

PROBEN MIT DEUTERIERTEN LIPOSOMEN

Proben, die mit deuterierten Liposomen behandelt und mit Tape Stripping kombiniert wurden, zeigten im Bereich der Deuteriumbanden, wie in Abb. 45 dargestellt, eine abnehmende Intensität mit zunehmender Hornschichttiefe.

Wie sich erkennen lässt, sind selbst nach 20 Strips noch schwache Banden der deuterierten Liposomen zu erkennen. Dies verdeutlicht, wie tief die aufgetragenen Liposomen penetriert sind.

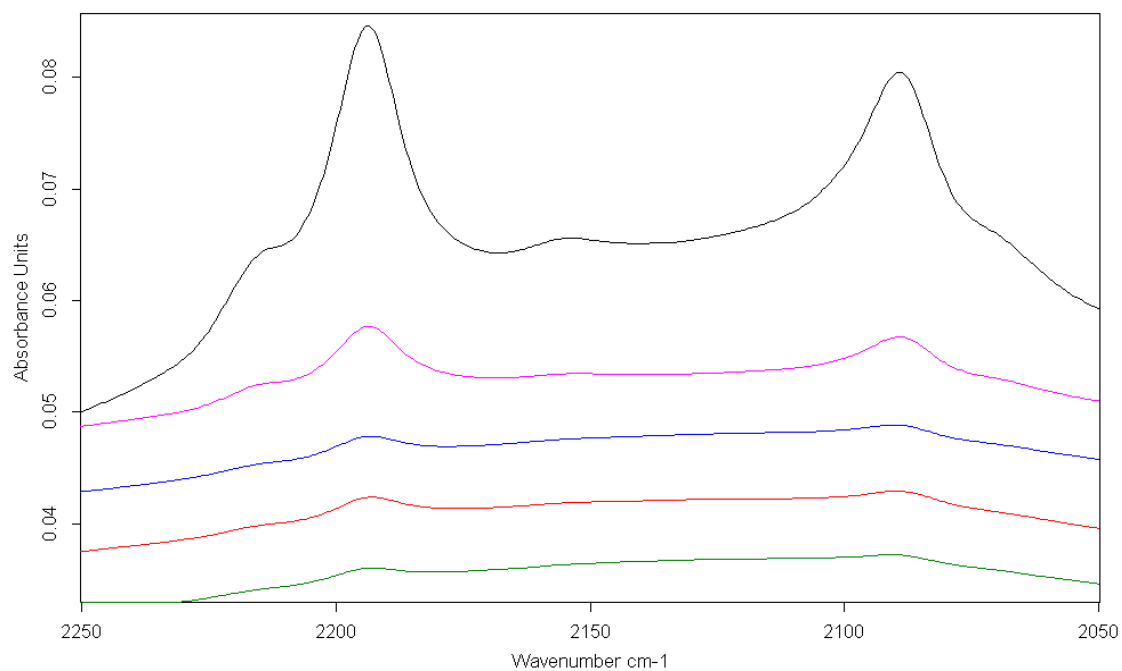


Abb. 45: Spektrenausschnitt der Deuteriumbanden

schwarz = ohne Tape Stripping
 rosa = nach 5 strips
 blau = nach 10 strips
 rot = nach 15 strips
 grün = nach 20 strips

In Abb. 45 ist die abnehmende Intensität der CD_2 -stretching Banden dargestellt. Mit zunehmender Anzahl der abgetragenen Strips verminderte sich ihre Intensität.

5 Diskussion

Ausgehend vom Domäne-Mosaik-Modell nach FORSLIND [13], das beschreibt, dass die SC-Lipide in Gel- und flüssig-kristallinen Phasen vorliegen, wird eine höhere Permeabilität innerhalb der ungeordneten Phase (flüssig-kristalline Phase) angenommen. Die dicht gepackte OR Phase ist hingegen der limitierende Faktor, je größer ihr Anteil, desto ausgeprägter ist die Barrierefunktion des SC. Der Übergang von OR zu HEX bzw. LIQ Phasen bringt eine Fluidisierung der Lipide und damit eine Zunahme der Hautpenetration mit sich [7, 13, 43, 44].

Mittels ATR-FTIR Spektroskopie können charakteristische Frequenzen der Lipid-Alkyl-Ketten unterschiedlichen Phasen zugeordnet werden, weshalb mit dieser Methode bereits Phasenänderungen der SC Lipide beschrieben wurden. Diese Methode wurde daher unter anderem angewendet, um den Anteil OR und HEX bzw. LIQ Phasen zu bestimmen, um damit auf eine Änderung der Permeabilität schließen zu können [4, 7, 41].

Für die Zuordnung der Phasen werden in der Literatur sowohl die CH₂-stretching als auch die CH₂-scissoring Banden herangezogen [7, 45].

Die CH₂-stretching Banden sind sensitive Marker für die Konformationsänderungen der SC-Lipide. Ein Übergang der Lipide von einer all-trans Konformation in ungeordnetere Strukturen zeigt eine Frequenzzunahme des symmetrischen und asymmetrischen CH₂-stretching. Es können daher mit ihrer Hilfe die Phasenzustände der Lipide bestimmt werden. So wird etwa bei einer Erhöhung der Temperatur eine Verschiebung der beiden Banden zu höheren Wellenzahlen beschrieben. Dies entspricht einem zunehmenden Anteil an Gauche-Konformeren [42, 46, 47].

In den Arbeiten von Rodriguez et al. [43] wurde für das symmetrische CH₂-stretching folgende Einteilung unternommen:

	Wellenzahl (cm ⁻¹)	
symmetr. CH₂-stretching	2849	OR
	2850	HEX
	2852	LIQ

Tab. 5: Zuordnung der Wellenzahlen zu bestimmten Phasen [43]

Auch mit Hilfe der CH₂-scissoring Banden können Aussagen über den Anteil der Phasen im SC getroffen werden. Erscheint das CH₂-scissoring in Form zweier deutlich getrennter Banden, befinden sich die SC-Lipide in der OR Phase. Verschmelzen die beiden Banden zu einer resultierenden Bande, die laut Literatur schließlich bei ~1468 cm⁻¹ auftritt, wird ein Phasenübergang von OR zu HEX angenommen [4, 7, 43].

Diese Beobachtung konnte in dieser Arbeit jedoch nicht eindeutig festgestellt werden. Dies würde zwar auf das Vorliegen einer OR Phase schließen lassen, jedoch zeigen die CH₂-Stretching Banden eine deutliche Zunahme der Wellenzahlen, die anhand vorliegender Arbeiten HEX bzw. LIQ Phasen zugeordnet werden können. Grund für das Fehlen jener Verschmelzung könnte die, in FTIR-Studien an porcinem Stratum corneum beschriebene, Co-Existenz verschiedener Anordnungen der Lipide sein [34].

Außerdem wurden Verschiebungen der Amid1 Bande beobachtet. Diese bietet Information über die Sekundärstruktur der in der Haut vorkommenden Keratine. Unter Einwirkung einiger Formulierungen konnten erhöhte Werte im Vergleich zur Kontrollprobe gezeigt werden. Vorangegangene Arbeiten ermöglichten die Zuordnung der Amid1-Wellenzahlen zu bestimmten Sekundärstrukturen. Jene Einteilung basiert auf empirischen Regeln [48].

Wellenzahl cm^{-1}	Sekundärstruktur
1695-1660	β -Faltblatt und β -Schleife
1660-1650	α -Helix
1650-1640	ungeordnete Strukturen
1640-1620	β - Faltblatt

Tab. 6: Zuordnung von Schwingungsfrequenzen zu Sekundärstrukturen [48]

Auch mit Hilfe der FT-Raman-Spektroskopie konnten diese Änderungen der SC-Proteine beobachtet werden. Diese Studien zeigten, dass Proteine mit den hauptsächlich α -helikalen Keratinstrukturen in den Korneozyten Änderungen zu β -Faltblatt Konformationen aufwiesen, die anhand der Verschiebungen der Wellenzahlen hin zu höheren Werten charakterisiert werden konnten. Eine mögliche Erklärung für diesen Effekt ist, dass das Protein-gebundene Wasser, wodurch die Proteinstruktur stabilisiert wird, verdrängt wird. Dadurch kommt es zu einer Auflockerung der Struktur, die in einer erhöhten Permeabilität resultiert [15, 48].

Bei den in dieser Arbeit durchgeführten Messungen konnte anhand dieser Einteilung keine der erbrachten Werte der Amid1 Bande den α -helicalen Strukturen zugeordnet werden. Dies liegt möglicherweise daran, dass α -Helix-Banden auch sehr niederfrequent, im Bereich des β -Faltblattes bei $1640\text{-}1620\text{ cm}^{-1}$, auftreten können. Die Ursache hierfür könnten starke Wasserstoffbrückenbindungen der Peptidgruppen mit Lösungsmittelmolekülen und Verzerrungen der Helixstrukturen sein [48].

Messungen der Hautpräparate, welche mit Mikroemulsionen behandelt wurden, deren Tenside Lezithin, Saccharoselaurat L-1695, APG oder Mischungen jener waren, zeigten Verschiebungen der CH_2 -stretching Banden sowie der Amid1 Bande, siehe Tab. 9, 10, 31, 32, 41, 42, 49, 50, 59, 60. Mit Hilfe der Einteilung durch Rodriguez et al. [43] sind daraus Phasenänderungen von HEX Phasen der Kontrollproben (unbehandelt) zu LIQ Phasen zu schließen. Die Frequenzzunahme der Amid1 Banden lässt sich laut oben angeführter Einteilung „ungeordneten Strukturen“ zuordnen.

Änderungen, welche durch die aufgetragenen Nanoemulsionen hervorgerufen wurden, sind im Vergleich zu den Mikroemulsionen schwächer, am intensivsten jedoch, wie in Tabelle 65 und 66 zu sehen, bei der Nanoemulsion C2, ausgeprägt.

Geringfügige Veränderungen zeigen sich auch bei den methanolischen Lösungen der Glykokonjugate, dargestellt in den Tabellen 77 und 78. Die hieraus gefertigten Mikroemulsionen wurden schließlich mit den zugehörigen glykokonjugatfreien Mikroemulsionen verglichen. Wie aus den Tabellen 81 und 82. ersichtlich, wurden hier im Vergleich zur reinen Mikroemulsion kaum signifikante Unterschiede registriert.

Die zuletzt durchgeführten Tape Stripping Versuche führten zu etwas unterschiedlichen Ergebnissen. Proben, die mit destilliertem Wasser inkubiert wurden, mit abnehmender Hornschichtdicke geringe Zunahmen der Wellenzahlen, die auf eine erhöhte Unordnung innerhalb tieferer Hautschichten hinweisen (siehe Tab. 4).

Die Verwendung deuterierter Lipide bot in Kombination mit Tape Stripping die Möglichkeit, die Penetration in tiefere Schichten zu verfolgen. Wie in Abb. 45 dargestellt, konnten die Banden der deuterierten Liposomen selbst nach 20 abgetragenen Strips anhand der Spektren nachgewiesen werden. Zudem traten die charakteristischen CD_2 -Stretching Banden bei niedrigeren Wellenzahlen auf, wie Abb. 42 zeigt. Überlappungen der Banden der Formulierungen mit jener der Haut konnten dadurch ausgeschlossen werden, da sich diese eindeutig von den Banden der Haut abgrenzten.

Wurden die Präparate zuvor mit deuterierten Liposomen behandelt, so wiesen Messungen vor dem Tape Stripping für den CH_2 -Stretching-Bereich erhöhte Werte auf, die sich mit den Tape Stripping-Durchgängen wieder verringerten, zu sehen in Tab. 98. Dies könnte als eine Zunahme des Ordnungsgrades und damit als eine Unterstützung der Barrierefunktion des Stratum corneum verstanden werden. Grund hierfür könnte der, in Spektren deutlich sichtbare, Anteil penetrierter Liposomen sein, die möglicherweise eine positive Wirkung auf die Barrierefunktion der Haut ausüben [49].

In dieser Arbeit konnten erfolgreich die Auswirkungen verschiedener Formulierungen auf die Struktur des SC untersucht werden, wobei die angewendeten Mikroemulsionen die ausgeprägtesten Einflüsse zeigten.

6 Zusammenfassung

Im ersten Teil dieser Arbeit wurden Mikroemulsionen mit möglichst geringem Tensidanteil gesucht. Durch Vorversuche wurde aus einigen Tensiden der Saccharoselaursäureester gewählt, der bei den durchgeführten Mischungen die meisten Mikroemulsionen ergab. Im Zuge dieser Versuche wurden auch andere Mikroemulsionen und Formulierungen entworfen, deren Auswirkungen auf die Strukturelemente der Haut mittels ATR-FTIR untersucht werden sollten.

Mit Hilfe der ATR-FTIR konnten mögliche Veränderungen, hervorgerufen durch die angewendeten Formulierungen, anhand der Spektren charakterisiert werden.

Ausgehend von den Spektren unbehandelter porciner Ohrhaut, die mittels der sensitiveren symmetrischen CH₂-Stretching Bande und der Einteilung von Rodriguez et al. [43] den HEX Phasen zugeteilt werden können, wurden diese mit Spektren behandelter Präparate verglichen. Dabei dominierten bei den mit Mikroemulsionen inkubierten Proben die LIQ Phasen. Präparate, die mit W/O/W-Nanoemulsionen oder methanolischen Lösungen der Glykokonjugate behandelt wurden, zeigten geringere Verschiebungen der Banden und lagen somit weitgehend in der HEX Phase vor.

Im letzten Teil der Arbeit wurden Tape Stripping-Versuche mit Proben durchgeführt, die mit Wasser oder mit deuterierten Liposomen inkubiert wurden. Das Tape Stripping bot die Möglichkeit Informationen über die Tiefenstruktur des Stratum corneum zu erhalten. Die Kombination mit deuterierten Liposomen ermöglichte darüber hinaus deren Penetration zu beobachten, da die Banden der deuterierten Liposomen klar abgegrenzt von den Banden der Haut erscheinen. Daher konnten durch ihren Einsatz Überlappungen der Banden von Haut und Formulierung, wie es etwa bei lipidhaltigen Formulierungen der Fall sein kann, ausgeschlossen werden.

Für die Tape Stripping-Untersuchungen der mit Wasser behandelten Proben zeigte sich mit der Abnahme der Hornschichtdicke eine geringfügige Abnahme des Ordnungsgrades der SC-Lipide. Die Versuche mit deuterierten Liposomen wiesen, im Vergleich zu den Kontrollproben keine Abnahme, sondern eine schwache Zunahme des Ordnungsgrades auf, bzw. blieb dieser mit zunehmender Hautschichttiefe bestehen. Grund hierfür könnte eine unterstützende Wirkung der Liposomen auf die Barrierefunktion des Stratum corneum sein.

7 Anhang

7.1 Tabellen FTIR – Messungen

Die folgenden Tabellen geben die Wellenzahlen der Mittelwerte wieder. Es werden die Mittelwerte der Proben jeweils einer Versuchsreihe (=Probe) und der Mittelwert aus drei Versuchsreihen angegeben. Die zubereiteten Mikroemulsionen haben Bezeichnungen erhalten, die dem verwendeten Tensid und dem jeweiligen Mischungsverhältnis entsprechen. Das Mischungsverhältnis kann mit Hilfe der angefügten Nummer aus Tab. 2 (S. 28) entnommen werden.

Tab. 7: Mikroemulsion L4 (L=Lezithin)

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2923,93	2923,93	2923,93	2923,93	±0,00
Symm. CH₂	2854,50	2852,57	2853,21	2853,43	±0,98
C=O stretch	1733,92	1733,92	1733,92	1733,92	±0,00
Amid1	1643,27	1643,27	1641,33	1642,62	±1,12
Amid2	1542,97	1542,97	1542,97	1542,97	±0,00
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,82	1465,82	±0,00
CH₂ sciss. 2	1458,11	1456,18	1457,47	1457,25	±0,98

Tab. 8: Kontrollproben für Mikroemulsion L4

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2920,08	2920,08	2920,08	2920,08	±0,00
Symm. CH₂	2850,64	2850,64	2850,64	2850,64	±0,00
C=O stretch	-	-	-	-	-
Amid1	1641,34	1638,12	1638,77	1639,41	±1,70
Amid2	1543,61	1541,04	1542,97	1542,54	±1,34
CH₂ sciss. 1	1465,82	Schulter	Schulter	1465,82	-
CH₂ sciss. 2	1456,18	1454,89	1454,89	1455,32	±0,74

Tab. 9: Mikroemulsion L8

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2923,93	2923,93	2922,64	2923,50	±0,74
Symm. CH₂	2854,50	2854,50	2852,57	2853,86	±1,11
C=O stretch	1733,92	1733,92	1733,92	1733,92	±0,00
Amid1	1639,41	1641,34	1643,27	1641,34	±1,93
Amid2	1544,90	1544,90	1542,97	1544,26	±1,11
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,82	1465,82	±0,00
CH₂ sciss. 2	Schulter	Schulter	1456,18	1456,18	-

Tab. 10: Kontrollproben für Mikroemulsion L8

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2920,08	2917,51	2920,08	2919,22	±1,49
Symm. CH₂	2850,64	2850,64	2850,64	2850,64	±0,00
C=O stretch	-	-	1741,63	1741,63	-
Amid1	1637,48	1640,70	1640,05	1639,41	±1,70
Amid2	1542,97	1538,47	1542,97	1541,47	±2,60
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,82	1465,82	±0,00
CH₂ sciss. 2	1456,18	1454,25	1456,18	1455,54	±1,11

Tab. 11: Mikroemulsion L25

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2923,93	2923,93	2923,93	2923,93	±0,00
Symm. CH₂	2854,50	2854,50	2854,50	2854,50	±0,00
C=O stretch	1733,92	1733,92	1733,92	1733,92	±0,00
Amid1	1645,19	1643,27	1645,20	1644,55	±1,11
Amid2	1543,61	1544,90	1542,97	1543,83	±0,98
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,82	1465,82	±0,00
CH₂ sciss. 2	Schulter	Schulter	Schulter	-	-

Tab. 12: Kontrollproben für Mikroemulsion L25

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2916,22	2916,22	2918,15	2916,86	±1,11
Symm. CH₂	2848,71	2848,71	2850,64	2849,35	±1,11
C=O stretch	-	-	-	-	-
Amid1	1636,19	1631,69	1639,41	1635,76	±3,88
Amid2	1539,76	1537,19	1539,12	1538,69	±1,34
CH₂ sciss. 1	1465,18	1463,90	1465,82	1464,97	±0,98
CH₂ sciss. 2	1455,53	1452,32	1454,25	1454,03	±1,62

Tab. 13: Mikroemulsion L26

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2923,93	2923,93	2923,93	2923,93	±0,00
Symm. CH₂	2854,50	2854,50	2854,50	2854,50	±0,00
C=O stretch	1733,92	1733,92	1733,92	1733,92	±0,00
Amid1	1645,19	1643,27	1643,27	1643,91	±1,11
Amid2	1541,68	1542,97	1541,68	1542,11	±0,74
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,82	1465,82	±0,00
CH₂ sciss. 2	Schulter	Schulter	1458,11	1458,11	-

Tab. 14: Kontrollproben für Mikroemulsion L26

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2916,22	2920,08	2917,51	2917,94	±1,97
Symm. CH₂	2848,71	2850,64	2850,64	2850,00	±1,11
C=O stretch	-	-	-	-	-
Amid1	1636,19	1637,48	1640,70	1638,12	±2,32
Amid2	1539,76	1542,97	1538,47	1540,40	±2,32
CH₂ sciss. 1	1465,18	1465,82	1465,82	1465,61	±0,37
CH₂ sciss. 2	1455,53	1456,18	1454,25	1455,32	±0,98

Tab. 15: Mikroemulsion L+L-1695 2 (L-1695=Saccharosefettsäureester L-1695)

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2923,45	2922,00	2922,97	2922,81	±0,74
Symm. CH₂	2853,05	2852,09	2853,05	2852,73	±0,55
C=O stretch	1734,40	1734,40	-	1734,40	±0,00
Amid1	1642,78	1642,94	1643,59	1643,10	±0,43
Amid2	1544,26	1544,26	1544,58	1544,37	±0,18
CH₂ sciss. 1	1465,82	1466,15	1465,82	1465,93	±0,19
CH₂ sciss. 2	1456,18	1455,86	1456,18	1456,07	±0,18

Tab. 16: Kontrollproben für Mikroemulsion L+L-1695 2

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2917,18	2918,15	2918,63	2917,99	±0,74
Symm. CH₂	2849,68	2850,16	2850,16	2850,00	±0,28
C=O stretch	-	1741,15	-	1741,15	±0,00
Amid1	1637,64	1638,93	1638,60	1638,39	±0,67
Amid2	1539,12	1540,08	1542,65	1540,62	±1,83
CH₂ sciss. 1	1465,34	1465,34	1465,82	1465,50	±0,28
CH₂ sciss. 2	1455,06	1455,22	1455,54	1455,27	±0,25

Tab. 17: Mikroemulsion L+L-1695 4

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2922,97	2921,04	2922,33	2922,11	±0,98
Symm. CH₂	2853,05	2851,61	2852,09	2852,25	±0,73
C=O stretch	1734,40	1734,40	1733,92	1734,24	±0,28
Amid1	1642,78	1640,37	1643,27	1642,14	±1,55
Amid2	1543,94	1541,04	1544,42	1543,13	±1,83
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,34	1465,34	1465,50	±0,28
CH₂ sciss. 2	1456,18	1454,73	1455,54	1455,48	±0,73

Tab. 18: Kontrollproben für L+L-1695 4

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2917,18	2920,56	2918,63	2918,79	±1,70
Symm. CH₂	2849,68	2851,12	2850,16	2850,32	±0,73
C=O stretch	-	-	-	-	-
Amid1	1637,64	1637,64	1638,60	1637,96	±0,56
Amid2	1539,12	1542,97	1542,65	1541,58	±2,14
CH₂ sciss. 1	1465,34	1465,34	1465,82	1465,50	±0,28
CH₂ sciss. 2	1455,06	1455,54	1455,54	1455,38	±0,28

Tab. 19: Mikroemulsion L+L-1695 8

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2920,72	2922,97	2921,85	2921,85	±1,13
Symm. CH₂	2851,61	2852,57	2852,09	2852,33	±0,34
C=O stretch	1734,40	1734,40	1733,92	1734,24	±0,28
Amid1	1642,30	1641,34	1643,27	1642,31	±1,36
Amid2	1542,49	1542,49	1544,42	1543,46	±1,36
CH₂ sciss. 1	1465,82	1464,54	1465,02	1464,78	±0,34
CH₂ sciss. 2	1455,22	1455,22	1455,38	1455,30	±0,11

Tab. 20: Kontrollproben für Mikroemulsion L+L-1695 8

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2917,18	2920,56	2918,63	2918,79	±1,36
Symm. CH₂	2849,68	2851,12	2850,16	2850,32	±0,68
C=O stretch	-	-	-	-	-
Amid1	1637,64	1637,64	1638,60	1637,96	±0,56
Amid2	1539,12	1542,97	1542,65	1541,58	±2,14
CH₂ sciss. 1	1465,34	1465,34	1465,82	1465,50	±0,28
CH₂ sciss. 2	1455,06	1455,54	1455,54	1455,38	±0,28

Tab. 21: Mikroemulsion L+L-1695 10

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2923,45	2922,97	2921,52	2922,65	±1,00
Symm. CH₂	2852,57	2852,57	2852,09	2852,41	±0,28
C=O stretch	1734,40	1734,40	1734,40	1734,40	±0,00
Amid1	1641,82	1643,27	1642,78	1642,62	±0,74
Amid2	1542,81	1543,94	1543,45	1543,40	±0,57
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1466,31	1465,98	±0,28
CH₂ sciss. 2	1455,54	1455,70	1455,86	1455,70	±0,16

Tab. 22: Kontrollproben für Mikroemulsion L+L-1695 10

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2920,56	2918,63	2917,66	2918,95	±1,48
Symm. CH₂	2851,12	2850,16	2850,16	2850,48	±0,55
C=O stretch	-	-	1742,11	1742,11	-
Amid1	1637,64	1638,60	1637,80	1638,01	±0,52
Amid2	1542,97	1542,65	1540,24	1541,95	±1,49
CH₂ sciss. 1	1465,34	1465,82	1465,50	1465,55	±0,24
CH₂ sciss. 2	1455,54	1455,54	1455,86	1455,65	±0,18

Tab. 23: Mikroemulsion L+L-1695 12

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2921,84	2923,45	2923,93	2923,07	±1,09
Symm. CH₂	2852,09	2853,05	2853,53	2852,89	±0,73
C=O stretch	1734,40	1734,40	1734,40	1734,40	±0,00
Amid1	1643,27	1641,82	1639,09	1641,39	±2,12
Amid2	1544,42	1543,13	1540,56	1542,70	±1,97
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,34	1465,66	1465,61	±0,24
CH₂ sciss. 2	1455,70	1455,70	1455,70	1455,70	±0,00

Tab. 24: Kontrollproben für Mikroemulsion L+L-1695 12

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2917,66	2920,56	2917,82	2918,68	±1,63
Symm. CH₂	2850,16	2851,12	2850,16	2850,48	±0,55
C=O stretch	1742,11	-	-	1742,11	-
Amid1	1637,80	1637,64	1633,46	1636,30	±2,46
Amid2	1540,24	1542,97	1536,54	1539,92	±3,23
CH₂ sciss. 1	1465,50	1465,34	1464,86	1465,23	±0,33
CH₂ sciss. 2	1455,86	1455,54	1453,44	1454,95	±1,31

Tab. 25: Mikroemulsion L+L-1695 25

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2921,52	2923,93	2923,77	2923,07	±1,35
Symm. CH₂	2852,09	2853,05	2853,53	2852,89	±0,73
C=O stretch	1734,88	1734,40	1734,40	1734,56	±0,28
Amid1	1643,27	1640,86	1640,53	1641,55	±1,50
Amid2	1543,29	1543,13	1538,31	1541,58	±2,83
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,82	1465,82	±0,00
CH₂ sciss. 2	1455,86	1455,54	1454,89	1455,43	±0,49

Tab. 26: Kontrollproben für Mikroemulsion L+L-1695 25

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2917,66	2918,63	2917,82	2918,04	±0,52
Symm. CH₂	2850,16	2850,16	2850,16	2850,16	±0,00
C=O stretch	1742,11	1740,18	-	1741,15	±1,36
Amid1	1637,80	1637,96	1633,46	1636,41	±2,55
Amid2	1540,24	1540,08	1536,54	1538,95	±2,09
CH₂ sciss. 1	1465,50	1465,66	1464,86	1465,34	±0,42
CH₂ sciss. 2	1455,86	1454,41	1453,44	1454,57	±1,21

Tab. 27: Mikroemulsion L+L-1695 26

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2923,45	2922,81	2923,45	2923,24	±0,37
Symm. CH₂	2853,21	2852,57	2853,05	2852,94	±0,33
C=O stretch	1734,40	1734,40	1734,40	1734,40	±0,00
Amid1	1639,25	1642,14	1641,34	1640,91	±1,49
Amid2	1538,79	1542,01	1540,08	1540,29	±1,62
CH₂ sciss. 1	1465,34	1465,34	1465,82	1465,50	±0,28
CH₂ sciss. 2	1454,89	1455,54	1455,38	1455,27	±0,34

Tab. 28: Kontrollproben für Mikroemulsion L+L-1695 26

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2917,66	2918,95	2918,95	2918,52	±0,74
Symm. CH₂	2850,16	2850,64	2850,64	2850,48	±0,28
C=O stretch	-	1734,88	1734,88	1734,88	±0,00
Amid1	1634,10	1638,28	1638,28	1636,89	±2,41
Amid2	1537,51	1539,43	1539,43	1538,79	±1,11
CH₂ sciss. 1	1465,50	1465,98	1465,98	1465,82	±0,28
CH₂ sciss. 2	1453,61	1455,22	1455,22	1454,68	±0,93

Tab. 29: Mikroemulsion L+L-1695 30

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2922,00	2923,93	2923,45	2923,13	±1,00
Symm. CH₂	2852,57	2853,54	2853,54	2853,22	±0,56
C=O stretch	1734,40	1734,88	-	1734,64	±0,34
Amid1	1643,27	1642,30	1642,30	1642,62	±0,56
Amid2	1543,94	1542,97	1542,01	1542,97	±0,97
CH₂ sciss. 1	1466,31	1465,82	1465,82	1465,98	±0,28
CH₂ sciss. 2	1456,18	1455,54	1455,86	1455,86	±0,32

Tab. 30: Kontrollproben für Mikroemulsion L+L-1695 30

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2917,66	2918,63	2917,66	2917,98	±0,56
Symm. CH₂	2850,16	2850,16	2849,68	2850,00	±0,28
C=O stretch	1742,11	1740,18		1741,15	±1,36
Amid1	1637,80	1637,96	1636,03	1637,26	±1,07
Amid2	1540,24	1540,08	1540,08	1540,13	±0,09
CH₂ sciss. 1	1465,50	1465,66	1465,34	1465,50	±0,16
CH₂ sciss. 2	1455,86	1454,41	1456,34	1455,54	±1,00

Tab. 31: Mikroemulsion L+L-1695 33

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2922,97	2923,45	2923,93	2923,45 ^a	±0,48
Symm. CH₂	2853,05	2853,54	2853,53	2853,37 ^a	±0,28
C=O stretch	1734,40	1734,40	1734,40	1734,40	±0,00
Amid1	1643,27	1643,75	1641,34	1642,79 ^a	±1,28
Amid2	1543,45	1544,26	1544,74	1544,15	±0,65
CH₂ sciss. 1	1466,31	1466,31	1466,31	1466,31	±0,00
CH₂ sciss. 2	1456,18	1456,82	1456,18	1456,39	±0,37

^a signifikanter Anstieg (durchgeführt mit dem T-Test; p<0,05)

Tab. 32: Kontrollproben für Mikroemulsion L+L-1695 33

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2917,66	2918,47	2917,66	2917,93	±0,47
Symm. CH₂	2850,16	2850,16	2849,68	2850,00	±0,28
C=O stretch	1742,11	-	-	1742,11	±0,00
Amid1	1637,80	1637,64	1636,03	1637,16	±0,98
Amid2	1540,24	1541,37	1540,08	1540,56	±0,70
CH₂ sciss. 1	1465,50	1465,34	1465,34	1465,39	±0,09
CH₂ sciss. 2	1455,86	1454,89	1456,34	1455,70	±0,74

Tab. 33: L-1695-Mikroemulsion 6

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2922,00	2921,52	2919,11	2920,88	±1,55
Symm. CH₂	2852,09	2851,61	2851,12	2851,61	±0,49
C=O stretch	1733,92	-	1732,47	1733,20	±1,03
Amid1	1642,78	1640,86	1641,34	1641,66	±1,00
Amid2	1544,42	1544,10	1542,01	1543,51	±1,31
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,82	1465,82	±0,00
CH₂ sciss. 2	1456,18	1455,38	1454,73	1455,43	±0,73

Tab. 34: Kontrollproben für L-1695-Mikroemulsion 6

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2917,66	2918,47	2917,66	2917,93	±0,47
Symm. CH₂	2850,16	2850,16	2849,68	2850,00	±0,28
C=O stretch	1742,11	-	-	1742,11	-
Amid1	1637,80	1637,64	1636,03	1637,16	±0,98
Amid2	1540,24	1541,37	1540,08	1540,56	±0,70
CH₂ sciss. 1	1465,50	1465,34	1465,34	1465,39	±0,09
CH₂ sciss. 2	1455,86	1454,89	1456,34	1455,70	±0,74

Tab. 35: L-1695-Mikroemulsion 7

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2920,08	2922,00	2921,04	2921,04	±0,96
Symm. CH₂	2851,12	2852,09	2851,61	2851,61	±0,49
C=O stretch	1731,99	1732,47	1734,88	1733,11	±1,55
Amid1	1640,86	1642,78	1639,25	1640,96	±1,77
Amid2	1542,01	1543,30	1538,96	1541,42	±2,23
CH₂ sciss. 1	1465,34	1465,82	1465,02	1465,39	±0,40
CH₂ sciss. 2	1455,06	1455,70	1454,41	1455,06	±0,65

Tab. 36: Kontrollproben für L-1695-Mikroemulsion 7

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2918,47	2917,66	2918,09	±0,41
Symm. CH₂	2850,16	2850,16	2849,68	2850,00	±0,28
C=O stretch	1741,15	-	-	1741,15	-
Amid1	1638,93	1637,64	1636,03	1637,53	±1,45
Amid2	1540,08	1541,37	1540,08	1540,51	±0,74
CH₂ sciss. 1	1465,34	1465,34	1465,34	1465,34	±0,00
CH₂ sciss. 2	1455,22	1454,89	1456,34	1455,48	±0,76

Tab. 37: L-1695-Mikroemulsion 8

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2919,43	2922,97	2919,59	2920,66	±2,00
Symm. CH₂	2851,12	2852,57	2851,12	2851,60	±0,84
C=O stretch	1734,40	1734,88	1733,43	1734,24	±0,74
Amid1	1641,34	1641,82	1641,34	1641,50	±0,28
Amid2	1542,01	1541,37	1541,53	1541,64	±0,33
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,34	1465,82	1465,66	±0,28
CH₂ sciss. 2	1454,57	1455,38	1455,22	1455,06	±0,43

Tab. 38: Kontrollproben für L-1695-Mikroemulsion 8

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2918,15	2917,66	2917,99	±0,28
Symm. CH₂	2850,16	2850,16	2850,16	2850,16	±0,00
C=O stretch	-	1739,22		1739,22	-
Amid1	1639,89	1639,25	1638,12	1639,09	±0,89
Amid2	1542,17	1540,56	1539,92	1540,88	±1,16
CH₂ sciss. 1	1465,98	1465,82	1465,98	1465,93	±0,09
CH₂ sciss. 2	1454,57	1455,06	1454,73	1454,79	±0,25

Tab. 39: L-1695-Mikroemulsion 14

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2920,56	2919,11	2920,56	2920,08	±0,84
Symm. CH₂	2851,61	2851,12	2851,61	2851,45	±0,28
C=O stretch	1734,40	1734,88	1734,88	1734,72	±0,28
Amid1	1642,78	1642,14	1641,01	1641,98	±0,89
Amid2	1543,45	1542,49	1541,53	1542,49	±0,96
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,98	1465,82	1465,87	±0,09
CH₂ sciss. 2	1455,70	1454,89	1455,06	1455,22	±0,43

Tab. 40: Kontrollproben für L-1695-Mikroemulsion 14

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2918,15	2917,66	2917,99	±0,28
Symm. CH₂	2850,16	2850,16	2850,16	2850,16	±0,00
C=O stretch	-	1739,22	-	1739,22	-
Amid1	1639,89	1639,25	1638,12	1639,09	±0,89
Amid2	1542,17	1540,56	1539,92	1540,88	±1,16
CH₂ sciss. 1	1465,98	1465,82	1465,98	1465,93	±0,09
CH₂ sciss. 2	1454,57	1455,06	1454,73	1454,79	±0,25

Tab. 41: L-1695-Mikroemulsion 15

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2922,49	2922,49	2921,20	2922,06 ^a	±0,74
Symm. CH₂	2852,57	2852,57	2851,61	2852,25	±0,55
C=O stretch	1734,40	1734,40	1734,88	1734,56	±0,28
Amid1	1642,78	1641,34	1639,89	1641,34	±1,45
Amid2	1543,45	1542,01	1540,56	1542,01	±1,45
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,66	1465,77	±0,09
CH₂ sciss. 2	1456,18	1455,70	1454,89	1455,59	±0,65

^a signifikanter Anstieg (durchgeführt mit dem T-Test; p<0,05)

Tab. 42: Kontrollproben für L-1695-Mikroemulsion 15

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2918,15	2917,66	2917,99	±0,28
Symm. CH₂	2850,16	2850,16	2850,16	2850,16	±0,00
C=O stretch	-	1739,22	-	1739,22	-
Amid1	1639,89	1639,25	1638,12	1639,09	±0,89
Amid2	1542,17	1540,56	1539,92	1540,88	±1,16
CH₂ sciss. 1	1465,98	1465,82	1465,98	1465,93	±0,09
CH₂ sciss. 2	1454,57	1455,06	1454,73	1454,79	±0,25

Tab. 43: L-1695-Mikroemulsion 21

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2922,00	2919,75	2921,36	2921,04	±1,16
Symm. CH₂	2852,09	2851,12	2851,61	2851,61	±0,49
C=O stretch	1733,92	1734,88	1733,92	1734,24	±0,55
Amid1	1642,30	1642,78	1638,12	1641,07	±2,56
Amid2	1544,90	1543,13	1541,04	1543,02	±1,93
CH₂ sciss. 1	1466,31	1466,31	1465,66	1466,09	±0,38
CH₂ sciss. 2	1456,18	1455,22	1456,02	1455,81	±0,51

Tab. 44: Kontrollproben für L-1695-Mikroemulsion 21

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2918,15	2917,66	2917,99	±0,28
Symm. CH₂	2850,16	2850,16	2850,16	2850,16	±0,00
C=O stretch	-	1739,22	-	1739,22	-
Amid1	1639,89	1639,25	1638,12	1639,09	±0,89
Amid2	1542,17	1540,56	1539,92	1540,88	±1,16
CH₂ sciss. 1	1465,98	1465,82	1465,98	1465,93	±0,09
CH₂ sciss. 2	1454,57	1455,06	1454,73	1454,79	±0,25

Tab. 45: L-1695-Mikroemulsion 26

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2922,00	2923,45	2922,65	2922,70	±0,73
Symm. CH₂	2852,09	2853,05	2852,25	2852,46	±0,51
C=O stretch	1734,40	1734,40	1734,40	1734,40	±0,00
Amid1	1642,30	1639,89	1640,21	1640,80	±1,31
Amid2	1542,65	1541,85	1541,85	1542,12	±0,46
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,82	1465,82	±0,00
CH₂ sciss. 2	1455,70	1456,34	1455,54	1455,86	±0,42

Tab. 46: Kontrollproben für L-1695-Mikroemulsion 26

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2920,08	2918,15	2918,79	±1,11
Symm. CH₂	2850,16	2851,12	2850,16	2850,48	±0,55
C=O stretch	1741,15	-	-	1741,15	-
Amid1	1638,93	1638,12	1637,64	1638,23	±0,65
Amid2	1540,08	1544,74	1541,36	1542,06	±2,41
CH₂ sciss. 1	1465,34	1465,82	1466,15	1465,77	±0,41
CH₂ sciss. 2	1455,22	1455,22	1454,09	1454,84	±0,65

Tab. 47: Mikroemulsion APG 26M (M=Montanov S)

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2920,08	2921,52	2922,00	2921,20	±1,00
Symm. CH₂	2851,61	2852,09	2852,09	2851,93	±0,28
C=O stretch	1734,40	1734,40	1734,40	1734,40	±0,00
Amid1	1643,27	1642,78	1639,08	1641,71	±2,29
Amid2	1544,42	1543,94	1543,45	1543,94	±0,48
CH₂ sciss. 1	1466,31	1466,31	1466,31	1466,31	±0,00
CH₂ sciss. 2	1455,70	1456,02	1456,34	1456,02	±0,32

Tab. 48: Kontrollproben für Mikroemulsion APG 26M

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2920,08	2918,15	2918,79	±1,11
Symm. CH₂	2850,16	2851,12	2850,16	2850,48	±0,55
C=O stretch	1741,15	-	-	1741,15	-
Amid1	1638,93	1638,12	1637,64	1638,23	±0,65
Amid2	1540,08	1544,74	1541,36	1542,06	±2,41
CH₂ sciss. 1	1465,34	1465,82	1466,15	1465,77	±0,41
CH₂ sciss. 2	1455,22	1455,22	1454,09	1454,84	±0,65

Tab. 49: Mikroemulsion APG 30M

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2921,52	2922,49	2921,36	2921,79 ^a	±0,61
Symm. CH₂	2852,09	2852,57	2852,09	2852,25 ^a	±0,28
C=O stretch	1734,40	1733,92	1734,40	1734,24	±0,28
Amid1	1643,27	1640,70	1642,78	1642,25 ^a	±1,37
Amid2	1544,58	1544,10	1542,97	1543,88	±0,83
CH₂ sciss. 1	1466,31	1466,31	1466,31	1466,31	±0,00
CH₂ sciss. 2	1456,18	1456,34	1456,18	1456,23	±0,09

^a signifikanter Anstieg (durchgeführt mit dem T-Test; p<0,05)

Tab. 50: Kontrollproben für Mikroemulsion APG 30M

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2917,66	2918,15	2917,99	±0,28
Symm. CH₂	2850,16	2849,68	2850,16	2850,00	±0,28
C=O stretch	1741,15	-	-	1741,15	-
Amid1	1638,93	1638,28	1637,64	1638,28	±0,64
Amid2	1540,08	1539,92	1541,36	1540,45	±0,79
CH₂ sciss. 1	1465,34	1465,34	1466,15	1465,61	±0,47
CH₂ sciss. 2	1455,22	1455,38	1454,09	1454,90	±0,70

Tab. 51: Mikroemulsion APG 33M

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2922,00	2922,49	2922,00	2922,16	±0,28
Symm. CH₂	2852,57	2852,57	2852,09	2852,41	±0,28
C=O stretch	1734,40	1733,92	1734,40	1734,24	±0,28
Amid1	1643,27	1643,11	1642,94	1643,11	±0,16
Amid2	1544,42	1544,74	1544,42	1544,53	±0,18
CH₂ sciss. 1	1466,31	1466,31	1466,31	1466,31	±0,00
CH₂ sciss. 2	1456,18	1456,66	1456,18	1456,34	±0,28

Tab. 52: Kontrollproben für Mikroemulsion APG 33M

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2917,66	2918,15	2917,99	±0,28
Symm. CH₂	2850,16	2849,68	2850,64	2850,16	±0,48
C=O stretch	1741,15	-	-	1741,15	-
Amid1	1638,93	1638,28	1641,34	1639,52	±1,61
Amid2	1540,08	1539,92	1542,33	1540,78	±1,35
CH₂ sciss. 1	1465,34	1465,34	1465,82	1465,50	±0,28
CH₂ sciss. 2	1455,22	1455,38	1455,22	1455,27	±0,09

Tab. 53: Mikroemulsion L+A (APG) 6

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2921,04	2920,88	2920,56	2920,83	±0,24
Symm. CH₂	2851,61	2851,61	2851,61	2851,61	±0,00
C=O stretch	1734,88	1732,47	1734,88	1734,08	±1,39
Amid1	1640,85	1641,82	1642,30	1641,66	±0,74
Amid2	1542,01	1545,71	1543,94	1543,89	±1,85
CH₂ sciss. 1	1465,82	1466,31	1466,31	1466,15	±0,28
CH₂ sciss. 2	1455,54	1456,66	1456,50	1456,23	±0,61

Tab. 54: Kontrollproben für Mikroemulsion L+A 6

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2917,66	2917,66	2917,82	±0,28
Symm. CH₂	2850,16	2849,68	2850,16	2850,00	±0,28
C=O stretch	1739,22	-	-	1739,22	-
Amid1	1638,12	1636,03	1639,89	1638,01	±1,93
Amid2	1540,08	1540,08	1543,45	1541,20	±1,95
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,34	1466,15	1465,77	±0,41
CH₂ sciss. 2	1456,18	1456,34	1455,22	1455,91	±0,61

Tab. 55: Mikroemulsion L+A 7

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2920,56	2921,04	2920,08	2920,56	±0,48
Symm. CH₂	2851,61	2851,77	2851,61	2851,66	±0,09
C=O stretch	1734,88	1733,75	1734,88	1734,50	±0,65
Amid1	1641,82	1641,34	1642,78	1641,98	±0,73
Amid2	1543,94	1544,90	1543,30	1544,05	±0,81
CH₂ sciss. 1	1466,31	1466,31	1466,31	1466,31	±0,00
CH₂ sciss. 2	1456,66	1457,63	1457,14	1457,14	±0,49

Tab. 56: Kontrollproben für Mikroemulsion L+A 7

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2917,66	2917,66	2917,82	±0,28
Symm. CH₂	2850,16	2849,68	2850,16	2850,00	±0,28
C=O stretch	1739,22	-	-	1739,22	-
Amid1	1638,12	1636,03	1639,25	1637,80	±1,63
Amid2	1540,08	1540,08	1541,36	1540,51	±0,74
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,34	1465,82	1465,66	±0,28
CH₂ sciss. 2	1456,18	1456,34	1456,18	1456,23	±0,09

Tab. 57: Mikroemulsion L+A 14

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2922,49	2922,97	2922,49	2922,65	±0,28
Symm. CH₂	2852,57	2852,89	2852,57	2852,68	±0,18
C=O stretch	1734,88	1734,40	1734,88	1734,72	±0,28
Amid1	1643,27	1640,21	1643,27	1642,25	±1,77
Amid2	1544,74	1544,90	1544,58	1544,74	±0,16
CH₂ sciss. 1	1466,31	1466,31	1466,31	1466,31	±0,00
CH₂ sciss. 2	1457,63	1457,63	1457,95	1457,74	±0,18

Tab. 58: Kontrollproben für Mikroemulsion L+A 14

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2917,66	2918,15	2917,99	±0,28
Symm. CH₂	2850,16	2849,68	2850,16	2850,00	±0,28
C=O stretch	1739,22	-	-	1739,22	-
Amid1	1638,12	1636,03	1639,89	1638,01	±1,93
Amid2	1540,08	1540,08	1543,45	1541,20	±1,95
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,34	1466,15	1465,77	±0,41
CH₂ sciss. 2	1456,18	1456,34	1455,22	1455,91	±0,61

Tab. 59: Mikroemulsion L+A 20

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2922,49	2922,49	2922,97	2922,65 ^a	±0,28
Symm. CH₂	2852,57	2852,89	2853,05	2852,84	±0,24
C=O stretch	1734,40	1734,40	1734,40	1734,40	±0,00
Amid1	1642,78	1642,78	1643,10	1642,89	±0,18
Amid2	1543,94	1543,61	1542,49	1543,35	±0,76
CH₂ sciss. 1	1466,31	1466,31	1466,31	1466,31	±0,00
CH₂ sciss. 2	1456,66	1456,66	1457,63	1456,98	±0,56

^a signifikanter Anstieg (durchgeführt mit dem T-Test; p<0,05)

Tab. 60: Kontrollproben für Mikroemulsion L+A 20

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2917,66	2918,15	2917,99	±0,28
Symm. CH₂	2850,16	2850,16	2850,16	2850,16	±0,00
C=O stretch	1739,22	-	-	1739,22	-
Amid1	1638,12	1639,25	1639,89	1639,09	±0,90
Amid2	1540,08	1541,36	1543,45	1541,63	±1,70
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1466,15	1465,93	±0,19
CH₂ sciss. 2	1456,18	1456,18	1455,22	1455,86	±0,55

Tab. 61: Mikroemulsion L+A 26

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2922,97	2922,49	2922,97	2922,81	±0,28
Symm. CH₂	2853,05	2852,57	2853,05	2852,89	±0,28
C=O stretch	1734,40	1734,40	1734,40	1734,40	±0,00
Amid1	1642,78	1641,82	1641,82	1642,14	±0,55
Amid2	1542,81	1539,44	1543,61	1541,95	±2,22
CH₂ sciss. 1	1466,31	1465,82	1466,31	1466,15	±0,28
CH₂ sciss. 2	1457,14	1455,86	1456,66	1456,55	±0,65

Tab. 62: Kontrollproben für Mikroemulsion L+A 26

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2917,66	2918,95	2918,95	2918,52	±0,74
Symm. CH₂	2850,16	2850,64	2850,64	2850,48	±0,28
C=O stretch	-	1734,88	1734,88	1734,88	±0,00
Amid1	1634,10	1638,28	1638,28	1636,89	±2,41
Amid2	1537,51	1539,43	1539,43	1538,79	±1,11
CH₂ sciss. 1	1465,50	1465,98	1465,98	1465,82	±0,28
CH₂ sciss. 2	1453,61	1455,22	1455,22	1454,68	±0,93

Tab. 63: Mikroemulsion L+A 30

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2922,97	2922,49	2922,49	2922,65	±0,28
Symm. CH₂	2853,05	2852,89	2853,05	2853,00	±0,09
C=O stretch	1734,40	1734,40	1734,40	1734,40	±0,00
Amid1	1643,75	1643,27	1642,78	1643,27	±0,49
Amid2	1544,58	1543,61	1542,49	1543,56	±1,05
CH₂ sciss. 1	1466,31	1466,31	1466,31	1466,31	±0,00
CH₂ sciss. 2	1457,30	1456,98	1456,50	1456,93	±0,40

Tab. 64: Kontrollproben für Mikroemulsion L+A 30

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2917,66	2918,15	2917,99	±0,28
Symm. CH₂	2850,16	2850,16	2850,16	2850,16	±0,00
C=O stretch	1739,22	-	-	1739,22	-
Amid1	1638,12	1639,25	1639,89	1639,09	±0,90
Amid2	1540,08	1541,36	1543,45	1541,63	±1,70
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1466,15	1465,93	±0,19
CH₂ sciss. 2	1456,18	1456,18	1455,22	1455,86	±0,55

Tab. 65: W/O/W Nanoemulsion C2

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2920,08	2918,15	2919,59	2919,27	±1,00
Symm. CH₂	2852,57	2850,64	2851,12	2851,44	±1,00
C=O stretch	1743,56	1737,77	1743,08	1741,47	±3,21
Amid1	1643,27	1643,27	1641,82	1642,79 ^a	±0,84
Amid2	1544,90	1544,90	1544,10	1544,63	±0,46
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1466,31	1465,98	±0,28
CH₂ sciss. 2	1456,18	1454,25	1455,70	1455,38	±1,00

^a signifikanter Anstieg (durchgeführt mit dem T-Test; p<0,05)

Tab. 66: Kontrollproben für W/O/W Nanoemulsion C2

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2918,15	2918,63	2918,31	±0,28
Symm. CH₂	2850,64	2850,64	2850,64	2850,64	±0,00
C=O stretch	-	1741,63	-	1741,63	-
Amid1	1639,41	1641,34	1639,73	1640,16	±1,03
Amid2	1541,04	1542,97	1542,01	1542,01	±0,97
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1466,15	1465,93	±0,19
CH₂ sciss. 2	1456,18	1454,25	1454,73	1455,05	±1,00

Tab. 67: W/O/W Nanoemulsion F6

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2918,15	2918,15	2918,15	±0,00
Symm. CH₂	2850,64	2850,64	2850,64	2850,64	±0,00
C=O stretch	1743,56	1739,06	-	1741,31	±3,18
Amid1	1643,27	1643,27	1643,27	1643,27	±0,00
Amid2	1544,90	1542,97	1544,90	1544,26	±1,11
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,82	1465,82	±0,00
CH₂ sciss. 2	1456,18	1455,54	1454,25	1455,32	±0,98

Tab. 68: Kontrollproben für W/O/W Nanoemulsion F6

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2920,07	2918,15	2918,79	±1,11
Symm. CH₂	2850,64	2850,64	2850,64	2850,64	±0,00
C=O stretch	-	-	1741,63	1741,63	-
Amid1	1639,41	1637,48	1641,34	1639,41	±1,93
Amid2	1541,04	1542,97	1542,97	1542,33	±1,11
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,82	1465,82	±0,00
CH₂ sciss. 2	1456,18	1455,54	1454,25	1455,32	±0,98

Tab. 69: W/O/W Nanoemulsion G1

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2920,08	2918,15	2918,79	±1,11
Symm. CH₂	2850,64	2850,64	2850,64	2850,64	±0,00
C=O stretch	1741,63	1739,70	1743,08	1741,47	±1,70
Amid1	1643,27	1641,34	1643,27	1642,63	±1,11
Amid2	1542,97	1544,90	1543,78	1543,88	±0,97
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1466,31	1465,98	±0,28
CH₂ sciss. 2	1456,18	1456,18	1455,70	1456,02	±0,28

Tab. 70: Kontrollproben für W/O/W Nanoemulsion G1

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2920,07	2918,63	2918,95	±1,00
Symm. CH₂	2850,64	2850,64	2850,64	2850,64	±0,00
C=O stretch	-	-	-	-	-
Amid1	1639,41	1637,48	1639,73	1638,87	±1,22
Amid2	1541,04	1542,97	1542,01	1542,01	±0,97
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1466,15	1465,93	±0,19
CH₂ sciss. 2	1456,18	1455,54	1454,73	1455,48	±0,72

Tab. 71: LP 4 (methanolische Lösung des Glykokonjugats)

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2917,66	2918,15	2918,15	2917,99	±0,28
Symm. CH₂	2850,16	2850,16	2850,16	2850,16	±0,00
C=O stretch	-	-	-	-	-
Amid1	1642,78	1641,98	1639,57	1641,44	±1,67
Amid2	1542,49	1542,01	1541,20	1541,90	±0,65
CH₂ sciss. 1	1466,31	1465,82	1465,82	1465,98	±0,28
CH₂ sciss. 2	1455,54	1455,22	1455,54	1455,43	±0,18

Tab. 72: Kontrollproben für LP4

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,63	2918,63	2917,18	2918,15	±0,84
Symm. CH₂	2850,64	2850,64	2849,68	2850,32	±0,55
C=O stretch	-	-	-	-	-
Amid1	1639,73	1638,60	1638,77	1639,03	±0,61
Amid2	1542,01	1541,04	1538,63	1540,56	±1,74
CH₂ sciss. 1	1465,66	1465,34	1465,34	1465,45	±0,18
CH₂ sciss. 2	1455,06	1455,54	1453,77	1454,79	±0,91

Tab. 73: LP7 (methanolische Lösung des Glykokonjugats)

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2917,66	2918,63	2918,15	±0,49
Symm. CH₂	2850,64	2850,16	2850,32	2850,37	±0,24
C=O stretch	-	-	-	-	-
Amid1	1643,43	1639,25	1639,57	1640,75	±2,33
Amid2	1543,61	1540,72	1541,53	1541,95	±1,49
CH₂ sciss. 1	1466,31	1465,82	1465,82	1465,98	±0,28
CH₂ sciss. 2	1455,38	1454,89	1455,06	1455,11	±0,25

Tab. 74: Kontrollproben für LP7

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,63	2918,63	2917,18	2918,15	±0,84
Symm. CH₂	2850,64	2850,64	2849,68	2850,32	±0,55
C=O stretch	-	-	-	-	-
Amid1	1642,46	1638,60	1638,77	1639,94	±2,18
Amid2	1543,61	1541,04	1538,63	1541,10	±2,49
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,34	1465,34	1465,50	±0,28
CH₂ sciss. 2	1455,38	1455,54	1453,77	1454,90	±0,98

Tab. 75: LP08_4 (methanolische Lösung des Glykokonjugats)

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2917,66	2918,15	2918,15	2917,99	±0,28
Symm. CH₂	2850,16	2850,64	2850,16	2850,32	±0,28
C=O stretch	-	-	-	-	-
Amid1	1641,98	1642,78	1640,37	1641,71	±1,23
Amid2	1542,49	1542,97	1541,04	1542,17	±1,00
CH₂ sciss. 1	1466,31	1466,15	1465,82	1466,09	±0,25
CH₂ sciss. 2	1454,57	1455,22	1454,57	1454,79	±0,37

Tab. 76: Kontrollproben für LP08_4

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,79	2918,15	2917,18	2918,04	±0,81
Symm. CH₂	2850,64	2850,32	2849,68	2850,21	±0,49
C=O stretch	-	-	-	-	-
Amid1	1641,50	1639,57	1638,77	1639,95	±1,40
Amid2	1542,97	1539,76	1538,63	1540,45	±2,25
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,34	1465,66	±0,28
CH₂ sciss. 2	1455,38	1453,93	1453,77	1454,36	±0,89

Tab. 77: TM107 (methanolische Lösung des Glykokonjugats)

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,63	2919,59	2918,15	2918,79	±0,73
Symm. CH₂	2850,64	2851,12	2850,16	2850,64	±0,48
C=O stretch	-	-	-	-	-
Amid1	1643,11	1642,30	1641,82	1642,41 ^a	±0,65
Amid2	1544,26	1543,13	1541,53	1542,97	±1,37
CH₂ sciss. 1	1466,31	1465,34	1465,82	1465,82	±0,49
CH₂ sciss. 2	1455,70	1455,22	1455,22	1455,38	±0,28

^a signifikanter Anstieg (durchgeführt mit dem T-Test; p<0,05)

Tab. 78: Kontrollproben für TM107

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2918,15	2920,08	2917,18	2918,47	±1,48
Symm. CH₂	2850,32	2851,12	2849,68	2850,37	±0,72
C=O stretch	-	-	-	-	-
Amid1	1639,57	1639,89	1638,77	1639,41	±0,58
Amid2	1539,76	1542,81	1538,63	1540,40	±2,16
CH₂ sciss. 1	1465,82	1464,86	1465,34	1465,34	±0,48
CH₂ sciss. 2	1453,93	1455,06	1453,77	1454,25	±0,70

Tab. 79: Mikroemulsion LP4

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2923,93	2923,93	2923,45	2923,77	±0,28
Symm. CH₂	2854,02	2854,02	2853,54	2853,86	±0,28
C=O stretch	1734,40	1733,92	1734,40	1734,24	±0,28
Amid1	1643,43	1643,27	1643,27	1643,32	±0,09
Amid2	1542,49	1543,13	1542,97	1542,86	±0,33
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,82	1465,82	±0,00
CH₂ sciss. 2	1457,95	1458,35	1456,66	1457,65	±0,88

Tab. 80: Kontrollproben (ME K = Kontrolle) für Mikroemulsion LP4

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2923,93	2923,45	2923,93	2923,77	±0,28
Symm. CH₂	2854,02	2853,54	2853,54	2853,70	±0,28
C=O stretch	1734,40	1734,40	1734,40	1734,40	±0,00
Amid1	1643,27	1643,75	1642,78	1643,27	±0,49
Amid2	1543,61	1544,42	1543,45	1543,83	±0,52
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,82	1465,82	±0,00
CH₂ sciss. 2	1458,43	1457,14	1457,63	1457,73	±0,65

Tab. 81: Mikroemulsion LP7

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2924,9	2923,5	2923,8	2924,04	±0,76
Symm. CH₂	2854,5	2853,5	2853,5	2853,86	±0,56
C=O stretch	1734,4	1734,4	1734,4	1734,40	±0,00
Amid1	1638,3	1643,8	1643,3	1641,77	±3,03
Amid2	1548,3	1543,9	1542,8	1545,01	±2,89
CH₂ sciss. 1	1466,3	1465,8	1465,8	1465,98	±0,28
CH₂ sciss. 2	Schulter	1457,1	1456,2	1456,66	±0,68

Tab. 82: Kontrollproben für Mikroemulsion LP7

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2923,45	2923,45	2923,93	2923,61	±0,28
Symm. CH₂	2853,54	2853,54	2853,54	2853,54	±0,00
C=O stretch	1734,40	1734,40	1734,40	1734,40	±0,00
Amid1	1643,75	1643,75	1642,78	1643,43	±0,56
Amid2	1542,49	1544,42	1543,45	1543,45	±0,97
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,82	1465,82	±0,00
CH₂ sciss. 2	1456,82	1457,14	1457,63	1457,20	±0,41

Tab. 83: Mikroemulsion LP08_4

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2923,93	2923,45	2923,45	2923,61	±0,28
Symm. CH₂	2853,53	2853,53	2853,05	2853,37	±0,28
C=O stretch	1733,92	1734,40	1734,40	1734,24	±0,28
Amid1	1638,77	1643,43	1643,59	1641,93	±2,74
Amid2	1542,97	1543,45	1542,97	1543,13	±0,28
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,82	1465,82	±0,00
CH₂ sciss. 2	1456,66	1457,63	1456,18	1456,82	±0,74

Tab. 84: Kontrollproben für Mikroemulsion LP08_4

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2923,45	2923,45	2923,93	2923,61	±0,28
Symm. CH₂	2853,54	2853,54	2853,54	2853,54	±0,00
C=O stretch	1734,40	1734,40	1734,40	1734,40	±0,00
Amid1	1643,75	1643,75	1642,78	1643,43	±0,56
Amid2	1542,49	1544,42	1543,45	1543,45	±0,97
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,82	1465,82	±0,00
CH₂ sciss. 2	1456,82	1457,14	1457,63	1457,20	±0,41

Tab. 85: Mikroemulsion TM107

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2924,90	2923,45	2923,93	2924,09	±0,74
Symm. CH₂	2854,50	2853,54	2853,53	2853,86	±0,56
C=O stretch	1733,92	1734,40	1734,40	1734,24	±0,28
Amid1	1637,48	1643,59	1643,11	1641,39	±3,40
Amid2	1547,47	1542,65	1542,65	1544,26	±2,78
CH₂ sciss. 1	1466,31	1465,82	1465,82	1465,98	±0,28
CH₂ sciss. 2	1458,11	1456,66	1457,14	1457,30	±0,74

Tab. 86: Kontrollproben für Mikroemulsion TM107

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	MW	STABW
Asymm.CH₂	2923,45	2923,45	2923,93	2923,61	±0,28
Symm. CH₂	2853,54	2853,54	2853,54	2853,54	±0,00
C=O stretch	1734,40	1734,40	1734,40	1734,40	±0,00
Amid1	1643,75	1643,75	1642,78	1643,43	±0,56
Amid2	1542,49	1544,42	1543,45	1543,45	±0,97
CH₂ sciss. 1	1465,82	1465,82	1465,82	1465,82	±0,00
CH₂ sciss. 2	1456,82	1457,14	1457,63	1457,20	±0,41

Tape Stripping Präparate mit destilliertem Wasser inkubiert, Tab. 87-97:

Tab. 87: PROBE 1 Mittelwerte einer Versuchsreihe von 6 (n=6)

	Asymm.CH ₂	Symm. CH ₂	Amid1	Amid2	CH ₂ sciss. 1	CH ₂ sciss. 2
ohne t.str.	2918,63	2850,64	1638,12	1543,30	1466,47	1455,06
nach 5	2918,15	2850,16	1640,21	1542,49	1466,31	1454,89
nach 10	2918,47	2850,32	1636,68	1544,26	Schulter	1454,57
nach 15	2918,63	2850,64	1637,16	1543,61	Schulter	1455,22
nach 20	2919,11	2850,64	1635,39	1545,38	Schulter	1455,06

Tab. 88: PROBE 2

	Asymm.CH ₂	Symm. CH ₂	Amid1	Amid2	CH ₂ sciss. 1	CH ₂ sciss. 2
ohne t.str.	2918,63	2850,64	1640,05	1543,45	1466,47	1454,89
nach 5	2918,15	2850,16	1642,62	1542,17	1466,31	1454,89
nach 10	2918,15	2850,48	1642,3	1542,01	1466,31	1455,22
nach 15	2918,15	2850,64	1639,89	1542,49	1465,82	1455,54
nach 20	2918,95	2850,64	1639,57	1543,61	1465,98	1455,22

Tab. 89: PROBE 3

	Asymm.CH ₂	Symm. CH ₂	Amid1	Amid2	CH ₂ sciss. 1	CH ₂ sciss. 2
ohne t.str.	2918,15	2850,16	1637,64	1541,85	1465,82	1454,89
nach 5	2918,15	2850,16	1642,46	1542,49	1466,31	1455,22
nach 10	2918,15	2850,16	1641,34	1543,13	1466,31	1454,41
nach 15	2918,15	2850,32	1639,24	1542,97	1465,98	1455,38
nach 20	2918,15	2850,48	1640,05	1543,13	1466,15	1454,89

Tab. 90: PROBE 4

	Asymm.CH ₂	Symm. CH ₂	Amid1	Amid2	CH ₂ sciss. 1	CH ₂ sciss. 2
ohne t.str.	2917,66	2850,16	1636,03	1541,69	1466,15	1455,54
nach 5	2917,66	2850,16	1642,46	1541,37	1466,31	1454,89
nach 10	2917,66	2850,16	1638,44	1541,04	1466,31	1455,06
nach 15	2918,15	2850,16	1639,89	1542,01	1466,31	1455,06
nach 20	2918,63	2850,64	1641,82	1542,97	1466,31	1455,38

Tab. 91: PROBE 5

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
ohne t.str.	2917,82	2850,16	1633,3	1537,99	Schulter	1453,93
nach 5	2917,82	2850,16	1639,25	1540,40	1466,47	1454,41
nach 10	2917,66	2850,16	1639,24	1540,88	1466,47	1454,25
nach 15	2918,15	2850,16	1641,34	1542,01	1466,31	1454,41
nach 20	2918,15	2850,48	1641,34	1543,29	1466,63	1454,41

Tab. 92: PROBE 6

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
ohne t.str.	2918,47	2850,32	1637,48	1542,49	1466,31	1455,54
nach 5	2918,15	2850,16	1638,28	1542,65	1466,31	1455,86
nach 10	2917,66	2850,16	1638,60	1541,53	1466,31	1456,02
nach 15	2918,63	2850,64	1637,96	1543,45	1465,82	1456,18
nach 20	2918,63	2850,64	1638,44	1543,94	1465,82	1455,38

Mittelwerte von 6 Versuchsreihen (n=6), Tab. 93-97:

Tab. 93: Präparate mit dest. Wasser inkubiert, Resultate ohne Tape Stripping (Kontrolle)

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	C=O stretch	Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
Probe 1	2918,63	2850,64	-	1638,12	1543,30	1466,47	1455,06
Probe 2	2918,63	2850,64	-	1640,05	1543,45	1466,47	1454,89
Probe 3	2918,15	2850,16	-	1637,64	1541,85	1465,82	1454,89
Probe 4	2917,66	2850,16	-	1636,03	1541,69	1466,15	1455,54
Probe 5	2917,82	2850,16	-	1633,30	1537,99	Schulter	1453,93
Probe 6	2918,47	2850,32	-	1637,48	1542,49	1466,31	1455,54
MW	2918,23	2850,35	-	1637,10	1541,80	1466,24	1454,98
STABW	±0,42	±0,24	-	±2,27	±2,00	±0,27	±0,59

Tab. 94: Präparate mit dest. Wasser inkubiert, Resultate nach 5 Strips

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	C=O stretch	Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
Probe 1	2918,15	2850,16	-	1640,21	1542,49	1466,31	1454,89
Probe 2	2918,15	2850,16	-	1642,62	1542,17	1466,31	1454,89
Probe 3	2918,15	2850,16	-	1642,46	1542,49	1466,31	1455,22
Probe 4	2917,66	2850,16	-	1642,46	1541,37	1466,31	1454,89
Probe 5	2917,82	2850,16	-	1639,25	1540,40	1466,47	1454,41
Probe 6	2918,15	2850,16	-	1638,28	1542,65	1466,31	1455,86
MW	2918,01	2850,16	-	1640,88 ^a	1541,93	1466,34	1455,03
STABW	± 0,22	±0,00	-	±1,89	±0,88	±0,07	±0,48

^a signifikanter Unterschied (durchgeführt mit dem T-Test; p<0,05), bezogen auf Kontrollprobe

Tab. 95: Präparate mit dest. Wasser inkubiert, Resultate nach 10 Strips

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	C=O stretch	Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
Probe 1	2918,47	2850,32	-	1636,68	1544,26	Schulter	1454,57
Probe 2	2918,15	2850,48	-	1642,30	1542,01	1466,31	1455,22
Probe 3	2918,15	2850,16	-	1641,34	1543,13	1466,31	1454,41
Probe 4	2917,66	2850,16	-	1638,44	1541,04	1466,31	1455,06
Probe 5	2917,66	2850,16	-	1639,24	1540,88	1466,47	1454,25
Probe 6	2917,66	2850,16	-	1638,60	1541,53	1466,31	1456,02
MW	2917,96	2850,24	-	1639,43	1542,14	1466,34	1454,92
STABW	±0,35	±0,13	-	±2,06	±1,32	±0,07	±0,66

Tab. 96: Präparate mit dest. Wasser inkubiert, Resultate nach 15 Strips

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	C=O stretch	Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
Probe 1	2918,63	2850,64	-	1637,16	1543,61	Schulter	1455,22
Probe 2	2918,15	2850,64	-	1639,89	1542,49	1465,82	1455,54
Probe 3	2918,15	2850,32	-	1639,24	1542,97	1465,98	1455,38
Probe 4	2918,15	2850,16	-	1639,89	1542,01	1466,31	1455,06
Probe 5	2918,15	2850,16	-	1641,34	1542,01	1466,31	1454,41
Probe 6	2918,63	2850,64	-	1637,96	1543,45	1465,82	1456,18
MW	2918,31	2850,43	-	1639,25	1542,76	1466,05	1455,30
STABW	±0,25	±0,24	-	±1,50	±0,70	±0,25	±0,58

Tab. 97: Präparate mit dest. Wasser inkubiert, Resultate nach 20 Strips

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	C=O stretch	Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
Probe 1	2919,11	2850,64	-	1635,39	1545,38	Schulter	1455,06
Probe 2	2918,95	2850,64	-	1639,57	1543,61	1465,98	1455,22
Probe 3	2918,15	2850,48	-	1640,05	1543,13	1466,15	1454,89
Probe 4	2918,63	2850,64	-	1641,82	1542,97	1466,31	1455,38
Probe 5	2918,15	2850,48	-	1641,34	1543,29	1466,63	1454,41
Probe 6	2918,63	2850,64	-	1638,44	1543,94	1465,82	1455,38
MW	2918,60	2850,59	-	1639,44	1543,72	1466,18	1455,06
STABW	±0,40	±0,08	-	±2,33	±0,88	±0,31	±0,37

Tape Stripping Präparate mit deuterierten Liposomen inkubiert, Tab. 98-109

Tab. 98: PROBE 1 Mittelwerte einer Versuchsreihe von 6 (n=6)

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	CD₂ stretch.a	CD₂ stretch.s
wasser	2919,11	2850,64	-	-
ohne t.str.	2922,81	2851,61	2193,91	2089,28
nach 5	2919,11	2850,64	2193,43	2089,12
nach 10	2918,79	2850,64	2193,43	2089,76
nach 15	2918,63	2850,64	2193,43	2089,76
nach 20	2918,63	2850,64	2192,95	2090,25
	Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
	1645,35	1542,97	1465,82	1456,34
	1637,48	1546,02	1467,27	1456,18
	1638,92	1542,49	1466,79	1454,57
	1638,77	1542,81	1466,15	1455,86
	1639,40	1542,01	1465,98	1456,02
	1640,70	1543,78	1466,79	1454,89

Tab. 99: PROBE 2

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	CD₂ stretch.a	CD₂ stretch.s
wasser	2919,11	2850,64	-	-
ohne t.str.	2921,04	2851,12	2193,43	2088,32
nach 5	2918,63	2850,48	2193,43	2088,8
nach 10	2918,63	2850,64	2193,43	2088,8
nach 15	2918,15	2850,16	2193,43	2089,28
nach 20	2918,63	2850,64	2192,95	2090,25
	Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
	1645,35	1542,97	1465,82	1456,34
	1637,48	1541,53	1466,47	1456,02
	1639,89	1539,28	1466,95	1454,41
	1639,89	1542,49	1466,63	1455,06
	1637,64	1541,20	1465,98	1456,50
	1640,70	1543,78	1466,79	1454,89

Tab. 100: PROBE 3

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	CD₂ stretch.a	CD₂ stretch.s
wasser	2920,08	2850,64	-	-
ohne t.str.	2919,92	2851,12	2193,43	2088,80
nach 5	2917,66	2850,16	2193,11	2090,09
nach 10	2917,66	2850,16	-	-
nach 15	2917,66	2850,16	-	-
nach 20	2918,15	2850,16	2191,18	2092,82
	Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
	1638,93	1546,19	1466,95	1458,59
	1643,11	1542,49	1466,79	1455,70
	1642,62	1540,56	1466,31	1455,06
	1639,08	1541,04	1466,15	1456,02
	1641,66	1541,37	1466,63	1454,41
	1642,46	1542,97	1466,31	1455,54

Tab. 101: PROBE 4

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	CD₂ stretch.a	CD₂ stretch.s
wasser	2919,11	2850,64	-	-
ohne t.str.	2920,88	2851,12	2193,43	2088,80
nach 5	2918,15	2850,64	2192,31	2091,37
nach 10	2918,63	2850,64	-	-
nach 15	2919,11	2850,64	-	-
nach 20	2919,11	2850,64	2191,50	2089,76
	Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
	1639,25	1544,90	1466,63	1456,34
	1638,77	1542,97	1466,79	1457,14
	1643,59	1542,65	1466,47	1456,50
	1643,27	1543,45	1466,63	1455,06
	1642,46	1544,90	1466,63	1455,06
	1642,78	1544,10	1465,82	1456,34

Tab. 102: PROBE 5

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	CD₂ stretch.a	CD₂ stretch.s
wasser	2919,59	2850,64	-	-
ohne t.str.	2918,15	2850,16	2192,95	2088,32
nach 5	2917,18	2850,16	2192,47	2089,76
nach 10	2917,18	2850,16	2191,99	-
nach 15	2916,86	2849,68	2191,82	2090,09
nach 20	2917,34	2850,16	2189,57	-
	Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
	1639,73	1546,83	1467,43	1453,77
	1640,53	1538,96	1466,79	1455,06
	1643,11	1539,76	1466,15	1455,86
	1639,72	1538,63	1466,15	1455,06
	1637,48	1537,66	1465,82	1456,82
	1639,73	1537,66	1466,15	1456,34

Tab. 103: PROBE 6

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	CD₂ stretch.a	CD₂ stretch.s
wasser	2918,63	2850,64	-	-
ohne t.str.	2920,56	2851,12	2193,43	2088,80
nach 5	2917,66	2850,16	2192,95	2090,09
nach 10	2917,66	2850,16	-	-
nach 15	2917,66	2850,16	-	-
nach 20	2918,15	2850,16	-	-
	Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
	1641,66	1544,42	1466,79	1456,02
	1639,41	1544,90	1467,27	1455,70
	1643,27	1542,65	1466,47	1456,66
	1642,46	1540,88	1466,31	1455,38
	1638,92	1540,88	1466,15	1455,54
	1640,69	1542,49	1466,31	1454,73

Mittelwerte der 6 Versuchsreihen (n=6), Tab. 104-109:

Tab. 104: Präparate mit dest. Wasser inkubiert (Kontrolle)

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	CD₂ stretch.a	CD₂ stretch.s
Probe 1	2919,11	2850,64	-	-
Probe 2	2919,11	2850,64	-	-
Probe 3	2920,08	2850,64	-	-
Probe 4	2919,11	2850,64	-	-
Probe 5	2919,59	2850,64	-	-
Probe 6	2918,63	2850,64	-	-
MW	2919,27	2850,64	-	-
STABW	±0,50	±0,00	-	-

	Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
	1645,35	1542,97	1465,82	1456,34
	1645,35	1542,97	1465,82	1456,34
	1638,93	1546,19	1466,95	1458,59
	1639,25	1544,90	1466,63	1456,34
	1640,69	1544,10	1466,79	1455,70
	1639,73	1546,83	1467,43	1453,77
	1641,55	1544,66	1466,57	1456,18
	±3,00	±1,62	±0,64	±1,54

Tab. 105: Präparate mit deut. Liposomen inkubiert, Resultate ohne Tape Stripping

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	CD₂ stretch.a	CD₂ stretch.s
Probe 1	2922,81	2851,61	2193,91	2089,28
Probe 2	2921,04	2851,12	2193,43	2088,32
Probe 3	2919,92	2851,12	2193,43	2088,8
Probe 4	2920,88	2851,12	2193,43	2088,8
Probe 5	2918,15	2850,16	2192,95	2088,32
Probe 6	2920,56	2851,12	2192,95	2088,32
MW	2920,56 ^a	2851,04 ^a	2193,35	2088,64
STABW	±1,52	±0,47	±0,36	±0,39
	Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
	1637,48	1546,02	1467,27	1456,18
	1637,48	1541,53	1466,47	1456,02
	1643,11	1542,49	1466,79	1455,70
	1638,77	1542,97	1466,79	1457,14
	1637,80	1540,56	1466,31	1457,14
	1640,53	1538,96	1466,79	1455,06
	1639,20 ^a	1542,09	1466,74	1456,21
	±2,24	±2,40	±0,33	±0,82

^a signifikanter Unterschied (durchgeführt mit dem T-Test; p<0,05), bezogen auf Kontrollprobe

Tab. 106: Präparate mit deut. Liposomen inkubiert, Resultate nach 5 Strips

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	CD₂ stretch.a	CD₂ stretch.s
Probe 1	2919,11	2850,64	2193,43	2089,12
Probe 2	2918,63	2850,48	2193,43	2088,80
Probe 3	2917,66	2850,16	2193,11	2090,09
Probe 4	2918,15	2850,64	2192,31	2091,37
Probe 5	2917,18	2850,16	2192,95	2088,32
Probe 6	2917,66	2850,16	2192,47	2089,76
MW	2918,07 ^a	2850,37 ^a	2192,95	2089,58
STABW	±0,71	±0,24	±0,47	±1,09

Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
1638,92	1542,49	1466,79	1454,57
1639,89	1539,28	1466,95	1454,41
1642,62	1540,56	1466,31	1455,06
1643,59	1542,65	1466,47	1456,50
1638,76	1539,27	1466,31	1455,38
1643,11	1539,76	1466,15	1455,86
1641,15	1540,67	1466,50	1455,30
±2,20	±1,55	±0,31	±0,79

^a signifikanter Unterschied (durchgeführt mit dem T-Test; p<0,05), bezogen auf Kontrollprobe

Tab. 107: Präparate mit deut. Liposomen inkubiert, Resultate nach 10 Strips

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	CD₂ stretch.a	CD₂ stretch.s
Probe 1	2918,79	2850,64	2193,43	2089,76
Probe 2	2918,63	2850,64	2193,43	2088,8
Probe 3	2917,66	2850,16	-	-
Probe 4	2918,63	2850,64	-	-
Probe 5	2917,18	2850,16	-	-
Probe 6	2917,66	2850,16	2191,99	-
MW	2918,09 ^a	2850,40 ^a	2192,95	2089,28
STABW	±0,67	±0,26	±0,83	±0,68

Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
1638,77	1542,81	1466,15	1455,86
1639,89	1542,49	1466,63	1455,06
1639,08	1541,04	1466,15	1456,02
1643,27	1543,45	1466,63	1455,06
1638,92	1540,08	1466,31	1455,38
1639,72	1538,63	1466,15	1455,06
1639,94	1541,42	1466,34	1455,41
±1,69	±1,84	±0,24	±0,43

^a signifikanter Unterschied (durchgeführt mit dem T-Test; p<0,05), bezogen auf Kontrollprobe

Tab. 108: Präparate mit deut. Liposomen inkubiert, Resultate nach 15 Strips

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	CD₂ stretch.a	CD₂ stretch.s
Probe 1	2918,63	2850,64	2193,43	2089,76
Probe 2	2918,15	2850,16	2193,43	2089,28
Probe 3	2917,66	2850,16	-	-
Probe 4	2919,11	2850,64	-	-
Probe 5	2916,86	2849,68	2191,34	2089,60
Probe 6	2917,66	2850,16	2191,82	2090,09
MW	2918,01 ^a	2850,24 ^a	2192,51	2089,68
STABW	±0,80	±0,36	±1,09	±0,34

Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
1639,40	1542,01	1465,98	1456,02
1637,64	1541,20	1465,98	1456,50
1641,66	1541,37	1466,63	1454,41
1642,46	1544,90	1466,63	1455,06
1641,82	1542,17	1466,31	1454,89
1637,48	1537,66	1465,82	1456,82
1640,08	1541,55	1466,23	1455,62
±2,21	±2,33	±0,35	±0,97

^a signifikanter Unterschied (durchgeführt mit dem T-Test; p<0,05), bezogen auf Kontrollprobe

Tab. 109: Präparate mit deut. Liposomen inkubiert, Resultate nach 20 Strips

	Asymm.CH₂	Symm. CH₂	CD₂ stretch.a	CD₂ stretch.s
Probe 1	2918,63	2850,64	2192,95	2090,25
Probe 2	2918,63	2850,64	2192,95	2090,25
Probe 3	2918,15	2850,16	2191,18	2092,82
Probe 4	2919,11	2850,64	2191,50	2089,76
Probe 5	2917,34	2850,16	-	-
Probe 6	2918,15	2850,16	2189,57	-
MW	2918,34	2850,40 ^a	2191,63	2090,77
STABW	±0,61	±0,26	±1,41	±1,39

Amid1	Amid2	CH₂ sciss. 1	CH₂ sciss. 2
1640,70	1543,78	1466,79	1454,89
1640,70	1543,78	1466,79	1454,89
1642,46	1542,97	1466,31	1455,54
1642,78	1544,10	1465,82	1456,34
1642,62	1543,45	1466,31	1455,22
1639,73	1537,66	1466,15	1456,34
1641,50	1542,62	1466,36	1455,54
±1,28	±2,46	±0,38	±0,67

^a signifikanter Unterschied (durchgeführt mit dem T-Test; p<0,05, bezogen auf Kontrollprobe)

7.2 Tabellen Tape Stripping

Tape Stripping Präparate mit dest. Wasser inkubiert

Tab. 110:

PROBE 1

Strip Nr.	Absorption NIR in %	Masse [µg]
1	8,3	20,17
2	7,6	18,47
3	6,6	16,04
4	7,8	18,96
5	8	19,45
6	8	19,45
7	9,9	24,06
8	7,3	17,74
9	9,6	23,33
10	8,4	20,42
11	3,1	7,54
12	8,2	19,93
13	6,3	15,31
14	5,2	12,64
15	3,4	8,26
16	5,6	13,61
17	7,8	18,96
18	5,1	12,40
19	6,1	14,83
20	6,1	14,83

Tab. 111:

PROBE 2

Strip Nr.	Absorption NIR in %	Masse [µg]
1	8,0	19,45
2	9,8	23,82
3	8,4	20,42
4	5,9	14,34
5	7,3	17,74
6	4,8	11,67
7	6,4	15,56
8	6,2	15,07
9	8,5	20,66
10	8,5	20,66
11	2,6	6,32
12	5,0	12,15
13	6,8	16,53
14	7,3	17,74
15	5,1	12,40
16	1,4	3,40
17	4,0	9,72
18	3,9	9,48
19	1,7	4,13
20	3,0	7,29

Tab. 112:

PROBE 3

Strip Nr.	Absorption NIR in %	Masse [µg]
1	6,8	16,53
2	8,6	20,90
3	10,4	25,28
4	7,9	19,20
5	7,5	18,23
6	2,7	6,56
7	5,8	14,10
8	5,6	13,61
9	6,6	16,04
10	7,6	18,47
11	4,8	11,67
12	6,2	15,07
13	7,4	17,99
14	8,2	19,93
15	7,8	18,96
16	3,3	8,02
17	4,2	10,21
18	4,2	10,21
19	4,3	10,45
20	3,4	8,26

Tab. 113:

PROBE 4

Strip Nr.	Absorption NIR in %	Masse [µg]
1	9,4	22,85
2	12,8	31,11
3	8,9	21,63
4	8,5	20,66
5	9,9	24,06
6	5,9	14,34
7	10,6	25,77
8	9,2	22,36
9	9,3	22,61
10	8,7	21,15
11	7,3	17,74
12	9,4	22,85
13	11,2	27,22
14	10,3	25,04
15	11,7	28,44
16	8,3	20,17
17	5,5	13,37
18	7,5	18,23
19	6,5	15,80
20	3,5	8,51

Tab. 114:

PROBE 5

Strip Nr.	Absorption NIR in %	Masse [µg]
1	9,2	22,36
2	12,4	30,14
3	5,8	14,10
4	6,3	15,31
5	8,9	21,63
6	4,5	10,94
7	9,6	23,33
8	10,4	25,28
9	8,7	21,15
10	8,2	19,93
11	8,3	20,17
12	4,4	10,69
13	8,5	20,66
14	8,8	21,39
15	9,7	23,58
16	3,6	8,75
17	7,1	17,26
18	8,0	19,45
19	8,3	20,17
20	8,0	19,45

Tab. 115:

PROBE 6

Strip Nr.	Absorption NIR in %	Masse [µg]
1	14,2	34,52
2	12,9	31,36
3	14	34,03
4	14,8	35,97
5	8,8	21,39
6	8,7	21,15
7	5	12,15
8	14,6	35,49
9	12,1	29,41
10	8,5	20,66
11	7,1	17,26
12	11,1	26,98
13	9,5	23,09
14	9,9	24,06
15	8,1	19,69
16	4,9	11,91
17	10,5	25,52
18	7,7	18,72
19	7,6	18,47
20	4,5	10,94

Tape Stripping Präparate mit deut.Liposomen inkubiert

Tab. 116:

PROBE 1

Strip Nr.	Absorption NIR in %	Masse [µg]
1	2,8	6,81
2	3,5	8,51
3	1,9	4,62
4	1,9	4,62
5	2,6	6,32
6	3,2	7,78
7	4,1	9,97
8	3,6	8,75
9	4,6	11,18
10	5,3	12,88
11	2,8	6,81
12	2,9	7,05
13	2,9	7,05
14	8,0	19,45
15	3,3	8,02
16	0,5	1,22
17	1,3	3,16
18	2,4	5,83
19	3,1	7,54
20	2,8	6,81

Tab. 117:

PROBE 2

Strip Nr.	Absorption NIR in %	Masse [µg]
1	2,8	6,81
2	3,4	8,26
3	3,4	8,26
4	4,4	10,69
5	4,4	10,69
6	2,9	7,05
7	4,9	11,91
8	5,6	13,61
9	8,0	19,45
10	5,3	12,88
11	2,4	5,83
12	4,8	11,67
13	4,8	11,67
14	4,3	10,45
15	3,9	9,48
16	1,7	4,13
17	2,7	6,56
18	3,5	8,51
19	2,6	6,32
20	4,4	10,69

Tab. 118:

PROBE 3

Strip Nr.	Absorption NIR in %	Masse [µg]
1	6,5	15,80
2	5,8	14,10
3	7,2	17,50
4	9,1	22,12
5	9,6	23,33
6	7,0	17,01
7	10,5	25,52
8	10,0	24,31
9	11,2	27,22
10	10,4	25,28
11	4,6	11,18
12	6,5	15,80
13	9,0	21,88
14	8,5	20,66
15	7,4	17,99
16	9,8	23,82
17	7,2	17,50
18	9,1	22,12
19	4,6	11,18
20	6,0	14,58

Tab. 119:

PROBE 4

Strip Nr.	Absorption NIR in %	Masse [µg]
1	11,3	27,47
2	8,2	19,93
3	10,1	24,55
4	9,4	22,85
5	5,2	12,64
6	6,0	14,58
7	8,5	20,66
8	7,4	17,99
9	11,2	27,22
10	9,7	23,58
11	8,1	19,69
12	7,1	17,26
13	10,0	24,31
14	8,6	20,90
15	8,2	19,93
16	1,1	2,67
17	1,7	4,13
18	2,3	5,59
19	1,2	2,92
20	2,3	5,59

Tab. 120:

PROBE 5

Strip Nr.	Absorption NIR in %	Masse [µg]
1	10,5	25,52
2	12,6	30,63
3	10,8	26,25
4	9,9	24,06
5	8,0	19,45
6	8,6	20,90
7	9,6	23,33
8	9,2	22,36
9	12,4	30,14
10	9,8	23,82
11	5,2	12,64
12	6,7	16,29
13	8,3	20,17
14	8,5	20,66
15	6,7	16,29
16	8,3	20,17
17	9,4	22,85
18	9,4	22,85
19	8,5	20,66
20	5,9	14,34

Tab. 121:

PROBE 6

Strip Nr.	Absorption NIR in %	Masse [µg]
1	10,7	26,01
2	10,7	26,01
3	11,1	26,98
4	10,3	25,04
5	8,4	20,42
6	4,1	9,97
7	8,7	21,15
8	9,1	22,12
9	8,0	19,45
10	6,4	15,56
11	4,1	9,97
12	3,6	8,75
13	6,1	14,83
14	8,5	20,66
15	10,8	26,25
16	1,9	4,62
17	4,6	11,18
18	8,4	20,42
19	6,8	16,53
20	6,1	14,83

8 Literatur

- [1] Raudenkolb, S., *Untersuchungen zur strukturellen und physikochemischen Charakterisierung von SC Lipiden und deren Mischsystemen*, Dissertation, Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg, Deutschland (2002)
- [2] Krause, S.A., *Entwicklung und Charakterisierung von Mikroemulsionen zur dermalen Applikation von Arzneistoffen*, Dissertation, Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg, Deutschland (2001)
- [3] Kessner, D., *Neutron scattering on biological subjects – Neue Einblicke in die Struktur der Lipidmatrix des Stratum corneum, basierend auf Modellmembranen*, Dissertation, Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg, Deutschland, 2008
- [4] Boncheva, M., Damien, F., Normand, V., *Molecular organization of the lipid matrix in intact Stratum corneum using ATR-FTIR spectroscopy*, Biochim. Biophys. Acta, 1778, 1344-1355 (2008)
- [5] <http://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=2957>, Stand August 2011
- [6] Neubert, R.R.H., Wohlrab, J., Marsch, W.C., *Dermatopharmazie*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart (2001)
- [7] Hasanovic, A., Winkler, R., Resch, G.P., Valenta, C., *Modification of the conformational skin structure by treatment with liposomal formulations and its correlation to the penetration depth of aciclovir*, Eur. J. Pharm. Biopharm., 79, 76-81 (2011)
- [8] Bauer, K.H., Froemming, K.-H., Fuehrer, C., *Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie (Mit einer Einführung in die Biopharmazie)*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 8. Auflage, 2006

- [9] Voigt, R., *Pharmazeutische Technologie für Studium und Beruf*, Deutscher Apothekerverlag Stuttgart, 11. Auflage (2010)
- [10] Janssens, M., Gooris, G.S., Bouwstra, J.A., *Infrared spectroscopy studies of mixtures prepared with synthetic ceramides varying in head group architecture: Coexistence of liquid and crystalline phases*, Biochim. Biophys. Acta, 1788, 732-742 (2009)
- [11] Groen, D., Poole, D.S., Gooris, G.S., Bouwstra, J.A., *Is an orthorhombic lateral packing and a proper lamellar organization important for the skin barrier function?*, Biochim. Biophys. Acta, 1808, 1529-1537 (2011)
- [12] Obata, Y., Utsumi, S., Watanabe, H., Suda, M., Tokudome, Y., Otsuka, M., Takayama, K., *Infrared spectroscopic study of lipid interaction in stratum corneum treated with transdermal absorption enhancers*, Int. J. Pharm., 389, 18-23 (2010)
- [13] Forslind, B., *A domain mosaic model of the skin barrier*, Acta Derm. Venereol., 74, 1-6 (1994)
- [14] Ongpipattanakul, B., Burnette, R.R., Potts, R.O., Francoeur, M.L., *Evidence that Oleic Acid exists in a separate phase within stratum corneum lipids*, Pharm. Res., 8, 350-354 (1991)
- [15] Anigbogu, A.N.C., Williams, A.C., Barry, B.W., Edwards, H.G.M., *Fourier transform Raman spectroscopy of interactions between the penetration enhancer dimethyl sulfoxide and human stratum corneum*, Int. J. Pharm., 125, 265-282 (1995)
- [16] Caussin, J., Gooris, G.S., Janssens, M., Bouwstra, J.A., *Lipid organization in human and porcine stratum corneum differs widely, while lipid mixtures with porcine ceramides model human stratum corneum lipid organization very closely*, Biochim. Biophys. Acta, 1778, 1472-1482 (2008)

- [17] Köpper, D., *Struktur- und Stabilitätsuntersuchungen an neuartigen topischen Grundlagen aus Naturstoffen*, Dissertation, Friedrich - Alexander - Universität zu Erlangen - Nürnberg (2004)
- [18] Elias, P.M., Friends, D.S., *The permeability barriere in mammalian epidermis*, J. Cell Biol., 20, 1-19 (1975)
- [19] Bouwstra, J.A., Dubbelaar, F.E., Gooris, G.S., Ponc, M., *The lipid organisation in the skin barrier*, Acta Derm. Venereol. Suppl., 208, 23-30 (2000)
- [20] Norlen, L., *Skin barrier structure and function: The single gel phase model*, J. Investig. Dermatol., 117, 830-836 (2001)
- [21] Lautenschläger, H., *Emulsionen – wirkungsvolle Mischungen*, Kosmetik International, 2, 44-47 (2002)
- [22] Ammon, H.P.T., *Hunnius – Pharmazeutisches Wörterbuch*, Walter de Gruyter Verlag, 2004
- [23] Höller, S., *Cubic gels, microemulsions and nanoemulsions for optimised skin penetration/permeation of active molecules and improved chemical stability*, Dissertation, Universität Wien, 2008
- [24] Yilmaz, E., *Development of phytosphingosine-containing positively charged nanoemulsions for dermal application*, Digitale Dissertation, FU Berlin (2005), <http://www.diss.fu-berlin.de/2005/98/>, Stand August 2011
- [25] Wrodnigg, T.M., Kartusch, C., Illaszewicz, C., *The Amadori rearrangement as key reaction for the synthesis of neoglycoconjugates*, Carbohydr. Res., 343, 2057-2066 (2008)

- [26] Anton, N., Mojzisova, H., Porcher, E., Benoit, J.P., Saulnier, P., *Reverse micelle-loaded lipid nano-emulsions: New technology for nano-encapsulation of hydrophilic materials*, Int. J. Pharm., 398, 204-209 (2010)
- [27] Schwarz, J.C., Klang, V., Karall, S., Mahrhauser, D., Resch, G.P., Valenta, C., *Optimisation of multiple W/O/W nanoemulsions for dermal delivery of acyclovir*, Submitted to Int. J. Pharm., (2011)
- [28] Müller, R.H., Hildebrand, G.E., Bauer, K.H., *Pharmazeutische Technologie: moderne Arzneiformen*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1997
- [29] Leirer, C., *Dynamik und Struktur in der Phasenkoexistenz von Lipidmembranen*, Dissertation, Universität Augsburg (2008)
- [30] Schwarz, J., Kählig, H., Matsko, N.B., Kratzel, M., Husa, M., Valenta, C., *Decrease of liposomal size and retarding effect on fluconazole skin permeation by lysine derivatives*, J. Pharm. Sci., 100, 2911-2919 (2011)
- [31] Lasch, P., Schultz, C.P., Naumann, D., *The influence of Poly-(L-Lysine) and porin on the domain structure of mixed vesicles composed of lipopolysaccharide and phospholipid: an infrared spectroscopic study*, Biophys. J., 75, 840-852 (1998)
- [32] http://www.avantilipids.com/index.php?option=com_content&view=article&id=891&Itemid=142&catnumber=860358, Stand August 2011
- [33] Günzler, H., Gremlich, H., *IR-Spektroskopie - Eine Einführung*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA Weinheim, 4. Auflage, 2003
- [34] Babita, K., Kumar, V., Rana, V., Jain, S., Tiwary, A.K., *Thermotropic and spectroscopic behavior of skin: relationship with percutaneous permeation enhancement*, Curr. Drug Deliv., 3, 95-113 (2006)

- [35] Hesse, M., Meier, H., Zeeh, B., *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 5. Auflage, 1995
- [36] Höller, S., Klang, V., Valenta, C., *Skin-compatible lecithin drug delivery systems for fluconazole: Effect of phosphatidylethanolamine and oleic acid on skin permeation*, J. Pharm. Pharmacol., 60, 587-591 (2008)
- [37] <http://www.brukeroptics.com/tensor.html>
- [38] Klang, V., Schwarz, J.C., Hartl, A., Valenta, C., *Facilitating in vitro tape stripping: Application of infrared densitometry for quantification of porcine stratum corneum proteins*, Skin Pharmacol. Physiol., 24, 256–268 (2011)
- [39] Voegeli, R., Heiland, J., Doppler, S., Rawlings, A.V., Schreier, T., *Efficient and simple quantification of stratum corneum proteins on tape stippings by infrared densitometry*, Skin Res. Technol., 13, 242-251 (2007)
- [40] He, W., Guo, X., Xiao, L., Feng, M., *Study on the mechanisms of chitosan and its derivatives used as transdermal penetration enhancers.*, Int. J. Pharm., 382, 234-243 (2009)
- [41] Rodriguez, G., Rubio, L., Cocera M., Estelrich, J., Pons, R., Maza, A., Lopez, O., *Application of bicellar systems on skin: diffusion and molecular organization effects*, Langmuir, 26, 10578-10584 (2010)
- [42] Wolfangel, P., Lehnert, R., Meyer, H.H., Müller, K., *FTIR studies of phospholipid membranes containing monoacetylenic acyl chains*, Phys. Chem. Chem. Phys., 1, 4833-4841 (1999)
- [43] Rodriguez, G., Barbosa-Barros, L., Rubio, L., Cocera M., Diez, A., Estelrich, J., Pons, R., Caelles, J., Maza, A., Lopez, O., *Conformational changes in stratum corneum lipids by effect of bicellar systems*, Langmuir, 25, 10595-10603 (2009)

- [44] Damien, F., Boncheva, M., *The extent of orthorhombic lipid phases in the stratum corneum determines the barrier efficiency of human skin in vivo*, J. Invest. Dermatol., 130, 611-614 (2010)
- [45] Pensack, R., Michniak, B.B., Moore, D., Mendelsohn, R., *Infrared kinetic/structural studies of barrier reformation in intact stratum corneum following thermal perturbation*, Appl. Spectrosc., 60, 1399-1404 (2006)
- [46] Moore, D., Rerek, M.E., *Insights into the molecular organization of lipids in the skin barrier from infrared spectroscopy studies of stratum corneum lipid models*, Acta Derm. Venereol., 208, 16-22 (2000)
- [47] Garidel, P., *The thermotropic phase behaviour of phyto-ceramide 1 as investigated by ATR-FTIR and DSC*, Phys. Chem. Chem. Phys., 4, 2714-2720 (2002)
- [48] Hauser, K., *FTIR-Differenzspektroskopie zur Untersuchung von Konformationsänderungen in Proteinen*, Dissertation, Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg in Breisgau, Deutschland, 2000
- [49] Bouwstra, J., Ponc, M., *The skin barrier in healthy and diseased state*, Biochim. Biophys. Acta , 1758, 2080-2095 (2006)

9 Abstract

Deutsch

Die Haut ist durch ihre Barrierefunktion ein wichtiges Hindernis für die Permeation verschiedener Wirkstoffe. Diese wird größtenteils durch das Stratum corneum, im Detail durch die molekulare Anordnung seiner Lipide und geringfügig durch die Strukturen seiner Proteine, bestimmt.

Mit Hilfe der ATR-FTIR Spektroskopie können jene Strukturelemente genau analysiert werden. Es handelt sich hierbei um ein Verfahren mit einer Eindringtiefe von $\sim 1\ \mu\text{m}$. Diese Methode zeichnet sich durch seine Schnelligkeit und seine hohe Wellenzahlengenauigkeit aus. Darüber hinaus erfolgt die Messung nicht invasiv, wodurch das Probenmaterial nicht zerstört wird und dadurch für weitere Versuche anwendbar ist.

Durch den Vergleich von Spektren behandelter porciner Ohrhaut mit Spektren unbehandelter Haut (Kontrollproben) konnten Veränderungen der Lipid- bzw. Proteinstrukturen, die mit Änderungen der Permeationseigenschaften einhergehen, analysiert werden. Spektren der mit Mikroemulsionen behandelten Präparate ergaben Abnahmen im Ordnungsgrad der SC-Lipide. Die erhaltenen Wellenzahlen konnten der LIQ Phase zugeordnet werden. Proben, die mit W/O/W-Nanoemulsionen oder methanolischen Lösungen der Glykokonjugate inkubiert wurden, zeigten einen geringeren Grad der Unordnung. Die SC-Lipide verblieben hier in der HEX Phase.

Zuletzt wurden Tape Stripping-Versuche unternommen, die Informationen über die Tiefenstruktur des Stratum corneum boten. Proben, die zuvor mit Wasser inkubiert wurden, zeigten mit abnehmender Hornschichtdicke eine Abnahme der Ordnung der SC-Lipide, während jene Hautpräparate, die mit deuterierten Liposomen hergestellt wurden, verglichen zu den Kontrollproben eine geringfügige Zunahme des Ordnungsgrades bzw. keine Abnahme dieser aufwiesen. Möglicherweise sind hierfür die penetrierten Liposomen verantwortlich, denen eine positive Wirkung auf die Barrierefunktion der Haut zugeschrieben wird.

Englisch

Through its barrierfunction, the skin is an important obstacle for the penetration of various substances. Responsible for this fact is mostly the stratum corneum, in detail the molecular arrangement of its lipids and the structure of its proteins.

Using the ATR-FTIR spectroscopy those structures can be analysed accurately. This superficial technique reaches a penetration depth of $\sim 1 \mu\text{m}$ and is standing out, through its rapidity and wavenumber-precision. Beyond that, the measurement is non-invasive, which preserves the sample for further investigations.

It was possible to analyse changes in the structure of lipids and proteins, which attend to a change in the penetration-properties, by the comparison of spectra from treated porcine ear skin with spectra from untreated skin (control sample).

Spectra of specimens treated with microemulsions showed a decrease of SC-lipid-arrangement, the received wavenumbers referred to the LIQ phase. Samples treated with nanoemulsions or methanolic solutions of the glycoconjugates, showed a lower degree of disorder. Here, the SC-lipids remained in the HEX phase.

Finally tape stripping-experiments were performed, which provided information about the depth-profile of Stratum corneum. Samples incubated with water, showed a lower degree of order in the SC-lipids, with decreasing horny layer thickness.

In contrast to that, those specimens prepared with deuterated liposomes, showed a slight increase in SC-lipid-arrangement and no decrease respectively, compared to the control samples.

Perhaps the penetrated liposomes, which are ascribed to enhance the barrierfunction of the skin, are responsible for this elucidated effect.

10 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Denise-Silvia Mahrhauser

Adresse: Dr.Adolf Schärf-Strasse 3/7/6; 2353 Guntramsdorf

Geburtsdatum: 02.04.1987

Geburtsort: Baden

Nationalität: Österreich

Familienstand: ledig

Schulbildung:

seit WS 2005 Studium der Pharmazie an der Universität Wien

2001 – 2005 Bundesoberstufenrealgymnasium - Wr.Neustadt

1997 - 2001 Wirtschaftshauptschule Baden

1993 - 1997 Volksschule Tribuswinkel

Studienbegleitende Tätigkeiten

08/2004 Ferialpraktikum in der Kur-Apotheke Bad Vöslau

08-09/2005 Ferialpraktikum in der Kur-Apotheke Bad Vöslau

09/2006 Ferialpraktikum in der Kur-Apotheke Bad Vöslau

08/2007 Ferialpraktikum in der Kur-Apotheke Bad Vöslau

08/2008 Ferialpraktikum in der Kur-Apotheke Bad Vöslau

02/2009 u. 07/2009 Ferialpraktikum in der Kur-Apotheke Bad Vöslau

07/2010 Ferialpraktikum in der Kur-Apotheke Bad Vöslau

09/2010 Ferialpraktikum in der Pharmazeutischen Gehaltskasse

01/2006-05/2011 geringfügig beschäftigt in der Kur-Apotheke Bad Vöslau

11/2009-09/2011 geringfügig beschäftigt in der Pharmazeutischen Gehaltskasse

Tutorin des Departments Pharmakologie und Toxikologie SS 2009 und SS 2010

Tutorin im Praktikum „Magistrale Arzneimittelherstellung“ am Department für

Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie SS 2011

Sonstige Kenntnisse

Sprachen: Deutsch (Muttersprache)

Englisch (Schulkenntnisse)

Französisch (Grundkenntnisse)