



universität
wien

DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

Untersuchung der Penetration von dermal applizierten
Substanzen mittels Raman-Spektroskopie und
Entwicklung von Nanoemulsionen mit semifluorierten
Alkanen

verfasst von / submitted by

Eva Maria Kulovits

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2018 / Vienna, 2018

Studienkennzahl lt. Studienblatt /
degree programme code as it appears on
the student record sheet:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt /
degree programme as it appears on
the student record sheet:

Diplomstudium Pharmazie

Betreut von / Supervisor:

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

Danksagung

Hiermit möchte ich Ao. Univ.-Prof. Mag. pharm. Dr. Claudia Valenta für die Möglichkeit danken in ihrem Team mitwirken zu dürfen und in diesem Rahmen meine Diplomarbeit schreiben zu können.

Besonderer Dank gilt auch O. Univ.-Prof. Mag. pharm. Dr. Helmut Viernstein für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes am Department für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie.

Außerdem möchte ich mich bei Ass. Prof. Dr. Hanspeter Kählig für die Durchführung der ^{19}F - NMR- Analytik der fluorhaltigen Submikronemulsionen bedanken.

Großen Dank an Mag. pharm. Lisa Binder, die mir jederzeit bei der Durchführung der Versuche mit Rat und Tat zur Seite stand. Ich konnte viel von ihr lernen.

Bei allen anderen Dissertanten und Diplomanden möchte ich mich herzlich für das freundliche Miteinander und die geleistete Hilfe bedanken. Es war ein gutes Gefühl, sich dieser großen Herausforderung nicht allein stellen zu müssen.

Vielen Dank auch an Johannes Jatschka für die lehrreiche und charmante Einschulung im Labor.

Am allermeisten möchte ich mich hier bei meinen Eltern, Geschwistern und meiner ganzen Familie bedanken, dafür dass sie immer hinter mir stehen und stets mit aufmunternden Worten, finanzieller Unterstützung und viel Schokolade, Tee und Umarmungen für mich da waren und sind.

.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
2	Allgemeiner Teil.....	3
2.1	Die Haut	3
2.1.1	Aufbau der Haut.....	3
2.1.1.1	Epidermis	5
2.1.1.2	Dermis	7
2.1.1.3	Subcutis.....	8
2.1.2	Arzneistofftransport durch die Haut.....	8
2.2	Verwendete Substanzen	10
2.2.1	Natriumdodecylsulfat	10
2.2.2	Natriumlaurylethersulfat	10
2.2.3	Dimethylsulfoxid.....	11
2.2.4	Sulfathiazol	11
2.2.5	Sulfadiazin	12
2.3	Raman-Spektroskopie	13
2.3.1	Funktionsprinzip.....	13
2.3.2	Aufbau des Raman-Spektrometers.....	14
2.3.3	Messungen an der Haut.....	16
2.3.3.1	High-Wave-Number.....	17
2.3.3.2	Fingerprint	17
2.3.4	Bestimmung der Stratum corneum Dicke	19
2.4	Nanoemulsionen.....	20
2.4.1	Definition.....	20
2.4.2	Komponenten der Nanoemulsion.....	22
2.4.2.1	F6H8.....	22
2.4.2.2	Lecithin	23
2.4.2.3	Diclofenac.....	23

3	Experimenteller Teil.....	25
3.1	Untersuchungen am Raman-Spektrometer	25
3.1.1	Bestimmung geeigneter Messparameter	25
3.1.2	Erstellung der Ramanspektren.....	31
3.1.2.1	Spektren der Reinsubstanzen	33
3.1.2.2	Differenzspektren	34
3.1.3	Vorbereitung der Haut.....	36
3.1.4	Hautpenetrationsuntersuchungen von Natriumdodecylsulfat.....	37
3.1.5	Hautpenetrationsuntersuchungen von Natriumlaurylethersulfat.....	37
3.1.6	Hautpenetrationsuntersuchung von Dimethylsulfoxid	38
3.1.7	Hautpenetrationsuntersuchungen von Sulfathiazol.....	39
3.1.8	Wasserkonzentrationsprofil und SC-Dicke.....	39
3.2	Nanoemulsionen.....	43
3.2.1	Herstellung.....	43
3.2.2	Analytik mittels Tape-Stripping.....	44
3.2.2.1	NIR-Densitometrie	45
3.2.2.2	HPLC und NMR.....	46
3.2.3	Stabilitätsuntersuchungen.....	49
3.2.3.1	Partikelgröße, PDI und Zetapotenzial.....	49
3.2.3.2	Rheologische Eigenschaften	53
3.2.3.3	pH-Wert.....	55
4	Diskussion	57
5	Zusammenfassung	60
6	Anhang	62
6.1	Hautpenetrationsuntersuchungen.....	62
6.2	Wasserkonzentrationsprofile	67
6.3	SC-Dicke	75
6.4	Penetrationstiefe der Nanoemulsion.....	76

6.4.1	Diclofenac-Natrium mittels HPLC.....	76
6.4.2	F6H8	79
6.5	Stabilitätsuntersuchungen	82
7	Literaturverzeichnis	86
8	Abstract	94
8.1	Deutsch	94
8.2	Englisch.....	95

1 Einleitung

Die menschliche Haut ist mit einer Fläche von 1,6 bis 2 m² das größte Organ des Körpers. Sie dient sowohl als Sinnesorgan als auch als Barriere, die den Organismus von externen Einflüssen der Umwelt abschirmt. Eine intakte Haut ist wichtig für die Homöostase unseres Körpers [1, 2, 3].

Um diese Barrierefunktion nicht zu gefährden, wird der Fokus der pharmazeutischen Forschung immer mehr auf nicht-invasive Techniken zur Erforschung der Haut gerichtet. Zu diesen schonenden Verfahren zählt auch die Raman-Spektroskopie. Seit Forschungen in den späten 1990er Jahren ist diese Technik immer weiter in den Vordergrund gerückt. Mit ihr ist es möglich verschiedene Hautparameter wie Wassergehalt, Natural Moisturizing Factor (NMF), Harnstoffgehalt, aber auch die Penetrationstiefe verschiedener dermaler Systeme in vivo zu untersuchen. Letzteres kann sonst nur invasiv durch „Tape-Stripping“ untersucht werden [4, 5, 6].

Der erste Teil dieser Arbeit beschäftigte sich mit der Frage, ob, beziehungsweise wie tief, verschiedene Substanzen in unsere Haut eindringen können. Um mittels Raman-Spektroskopie bei dermaler Applikation identifizierbar zu sein, müssen die Substanzen einen oder mehrere charakteristische Peaks abseits der typischen Hautpeaks aufweisen. Andernfalls wird die Raman-Strahlung der Substanz von jener der Haut überlagert. Nach einigen Vorversuchen ergaben sich Natriumdodecylsulfat (SDS), Natriumlaurylethersulfat (SLES), Dimethylsulfoxid (DMSO), Sulfadiazin (SDZ) und Sulfathiazol (STZ) als geeignet. SDS und SLES sind in einer Vielzahl von Kosmetikartikeln, wie zum Beispiel Shampoos, Duschgelen oder Zahngelen zu finden. Diese finden regelmäßig Anwendung in der alltäglichen Körperpflege. Die beiden Sulfonamide sind als Antiinfektiva in der Human- und Tiermedizin in Verwendung [7]. Zusätzlich dazu wurden die Auswirkungen dieser Stoffe auf den Wassergehalt der Haut und die Dicke des Stratum corneum untersucht.

Das Stratum corneum, die oberste Hautschicht, ist maßgeblich für die Barrierefunktion der Haut verantwortlich. Diese muss von dermalen Zubereitungen überwunden werden, um eine ausreichende Penetration und somit den therapeutischen Erfolg der Applikation zu gewährleisten. Für viele Arzneistoffe stellt, aufgrund ihrer physikochemischen Eigenschaften, das Stratum corneum ein unüberwindbares

Hindernis dar. Durch Einarbeitung dieser Wirkstoffe in Vehikel, zum Beispiel in eine Nanoemulsion, können sie leichter in die Haut eindringen [2, 8].

Der zweite Teil dieser Arbeit untersuchte nun, ob die Möglichkeit besteht mit semifluorierten Alkanen solche stabilen O/W- Nanoemulsionen herzustellen und es sollte die Stabilität über 20 Wochen hinweg getestet werden.

Als semifluoriertes Alkan wurde F6H8 ausgewählt, um damit die innere Phase der Nanoemulsion zu bilden. Als Emulgator diente Lipoid S75, ein Sojalecithin. Es wurden zwei verschiedene Nanoemulsionen hergestellt, die sich durch das Verhältnis von F6H8 zu dem Lipoid S75 unterschieden. Um eine simultane Analyse der Eindringtiefen von F6H8 mittels NMR und eines Modellarzneistoffes mittels HPLC durchführen zu können, wurde Diclofenac-Natrium in die Nanoemulsionen eingearbeitet. Um die Stabilität der Nanoemulsionen zu überprüfen, wurden neben den rheologischen Eigenschaften sowohl pH-Wert, als auch Partikelgröße, Polydispersitätsindex und Zetapotenzial wöchentlich über einen Zeitraum von 20 Wochen bestimmt.

2 Allgemeiner Teil

2.1 Die Haut

2.1.1 Aufbau der Haut

Die Haut ist das größte Organ des Menschen, macht ca. 10% des Körpergewichts einer durchschnittlichen Person aus und stellt die äußerste Schicht des Organismus dar [1, 3]. Mit einer durchschnittlichen Größe zwischen 1,6 bis 2 m² wird sie als Flächenorgan bezeichnet. Ihre Dicke beträgt ohne Berücksichtigung des subkutanen Fettgewebes 1,5 bis 4 mm und unter Berücksichtigung deutlich mehr. Mit einem Gewicht zwischen 3 und 10 kg ist die Haut auch das schwerste Organ des menschlichen Körpers [2, 9].

Im Bereich der Körperöffnungen befindet sich der Übergang zwischen der äußeren Haut und den inneren Schleimhäuten [9].

Die Primärfunktion der Haut ist die Darstellung einer Barriere zwischen dem darunterliegenden Gewebe des Körpers und den externen Einflüssen der Natur. Sie verhindert das Eindringen und die Abgabe von Substanzen, wodurch sie, obwohl eine für den Patienten angenehme Art der Applikation von Stoffen ermöglichend, zeitgleich als ein Hindernis für die topische Applikation gilt [1, 2, 9]. Diese Barriere dient auch als Schutz gegen übermäßigen Wasserverlust und somit Austrocknung. Bei einem Menschen errechnet man ohne Epidermis bis zu 20 l Wasserverlust pro Tag [2]. Durch die hohe Elastizität, Verformbarkeit und Zugfestigkeit schützt die Haut vor mechanischen Einwirkungen. Ihr saurer pH-Wert von durchschnittlich 5.5 wird auch als Säureschutzmantel bezeichnet, hat eine enorme Pufferkapazität und ist bedeutsam für die bakterielle und fungale Mikroflora. Eine weitere Schutzfunktion der Haut ist jene gegen Strahleneinwirkung. Sie reflektiert einen großen Teil des eingestrahlten Lichts, der Rest jedoch wird absorbiert und verursacht in den Zellen photochemische Reaktionen. Hier kommen Schutzmechanismen wie die Melaninsynthese, die Reparatur lichtbedingter DNA-Schäden und Hyperkeratosen der Epidermis (Lichtschwielen) zum Einsatz [2, 3].

Bis diese Barriere voll entwickelt ist, braucht es jedoch Zeit. In vivo Studien mittels Raman-Spektrometer zeigten, dass das Stratum corneum bei Neugeborenen ca. 30% dünner ist als bei Erwachsenen. Die Gesamtdicke der jungen Epidermis (1-3 Jahre) ist

um etwa 20-30% dünner als das erwachsene Äquivalent. Dadurch werden topisch applizierte Substanzen rasch aufgenommen [10, 11].



Abb. 1: Unterschiede der Struktur von Neugeborenen- und Erwachsenenhaut [11]

Die Haut ist aus der Oberhaut (Epidermis), der Lederhaut (Dermis) und der Unterhaut (Subkutis) aufgebaut. Epidermis und Dermis werden gemeinsam als Kutis bezeichnet, wobei die Dermis ohne scharfen Übergang in die darunter gelegene Subkutis übergeht [2, 3, 9].

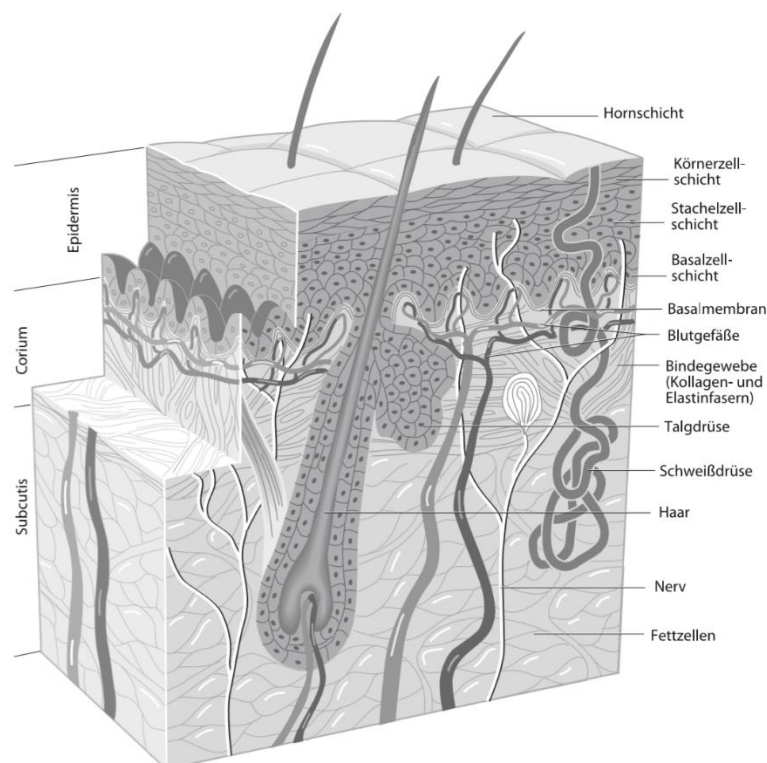


Abb. 2: Schematischer Aufbau der menschlichen Haut [12]

Weiters werden auch zahlreiche Anhangsorgane zur Haut gezählt. Diese sind Nägel, Haare, Talgdrüsen, apokrine Drüsen (Duftdrüsen) und Schweißdrüsen [3].

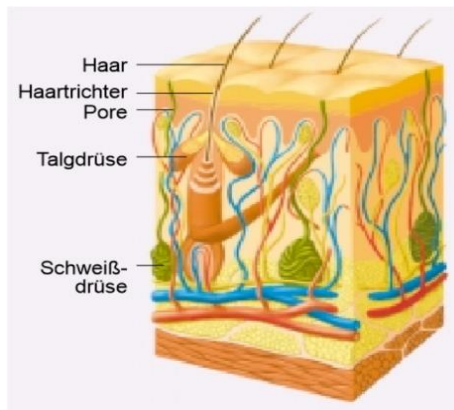


Abb. 3: Anhangsorgane der Haut [13]

2.1.1.1 Epidermis

Die Epidermis ist ein klassisches Proliferationsgewebe, was bedeutet, dass sie einer ständigen Erneuerung unterliegt. Etwa alle 20 Tage hat sie sich vollständig erneuert. Sie besteht aus einem vielschichtigen, verhornenden Plattenepithel, das zu 90% aus Keratinozyten aufgebaut ist [2, 3]. Zwischen den Keratinozyten finden sich Langerhans-Zellen, Melanozyten und Merkel-Zellen [1, 9]. Die Dicke der obersten Hautschicht ist abhängig von Alter, Geschlecht sowie Lokalisation und beträgt 40 μm an den Augenlidern bis 1,6 mm an stark beanspruchten Stellen wie Handflächen und Fußsohlen [1, 3]. Sie ist gefäßlos und muss durch die darunterliegenden Hautschichten mit Blut versorgt werden.

Auch die Epidermis wird in verschiedene Abschnitte eingeteilt. In der untersten Schicht (Stratum basale) werden die Keratinozyten durch Mitose gebildet und gelangen von dort, durch immer stärker werdende Differenzierung und Verhornung an die Oberfläche. Im Lauf dieser Wanderung werden sie durch Apoptose (programmiertem Zelltod) zu den vollständig verhornten, kernlosen Korneozyten (Hornzellen) [3]. Durch diesen Vorgang werden die verschiedenen Epidermisschichten von oben nach unten folgendermaßen unterschieden:

- Stratum corneum (Hornschicht)
- Stratum granulosum (Körnerschicht)
- Stratum spinosum (Stachelzellschicht)
- Stratum basale (Basalschicht)

Das Stratum corneum ist wie oben bereits erwähnt die oberste Schicht der Epidermis und besteht aus flachen, vollständig verhornten, kernlosen Korneozyten. Sie werden an der Hautoberfläche ständig als kleine Schüppchen abgestoßen. Es ist ca. 8-13 μm dick [2, 3]. Im Hinblick auf die Penetration von Substanzen in die Haut, stellt das Stratum corneum die Hauptbarriere dar [1]. Um eine vereinfachte Darstellung des Stratum corneum zu erlauben entwickelte Peter Elias das Ziegelstein-Mörtel-Modell. Hier übernehmen die Ziegelsteine die Rolle der Korneozyten und der Mörtel stellt die intrazellulären Lipide dar. Zu diesen zählen Ceramide, freie Fettsäuren und deren Ester, sowie Cholesterin und Cholesterinester [14, 15]. Im Gegensatz zu anderen Hautschichten sind im Stratum corneum nur mehr Spuren von Phospholipiden enthalten [16].

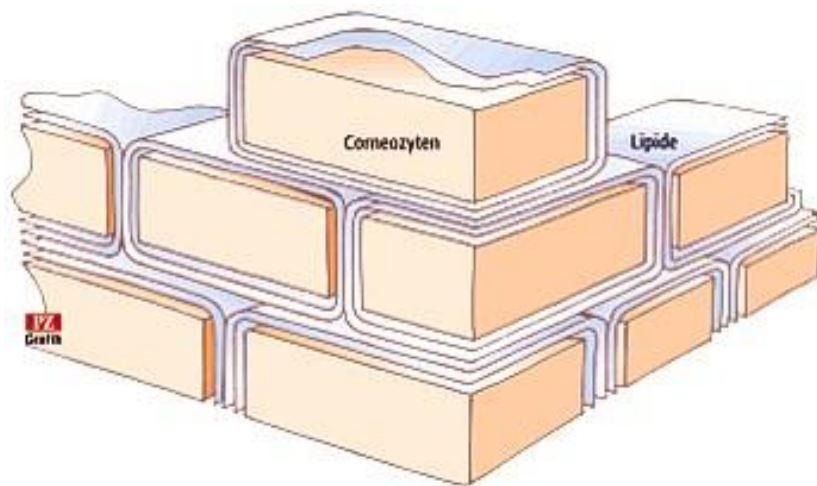


Abb. 4: Ziegelstein-Mörtel-Modell [14]

Als Stratum lucidum oder Glanzschicht wird die unterste Schicht des Stratum corneum bezeichnet. Die Zellen hier sind elastisch, kernlos und erscheinen optisch dichter. Sie kommen allerdings nur an Stellen mit ausgeprägter Hornhaut vor z.B. Handflächen und Fußsohlen [2, 7].

Das Stratum granulosum ist die Schicht unterhalb des Stratum corneum und besteht aus 2-5 Schichten von Körnerzellen. Diese besitzen noch einen kleinen Zellkern und enthalten basophile Keratohyalin granula. Keratohyalin ist eine ölige Substanz, die für die Geschmeidigkeit dieser Zellschicht und dem Stratum Corneum darüber sorgt. Weiters dient es als Synthesegrundlage des wichtigen Stützprotein Keratin [2, 3, 12].

Das darunterliegende Stratum spinosum besteht aus 4-8 Schichten polygonaler Zellen, die durch Desmosomen (stachelartige Interzellularbrücken) miteinander

verbunden sind. Für eine weitere Verfestigung sorgen Tonofibrillen. Je höher liegend die Keratinozyten innerhalb dieser Schicht sind, desto flacher werden sie [2, 3].

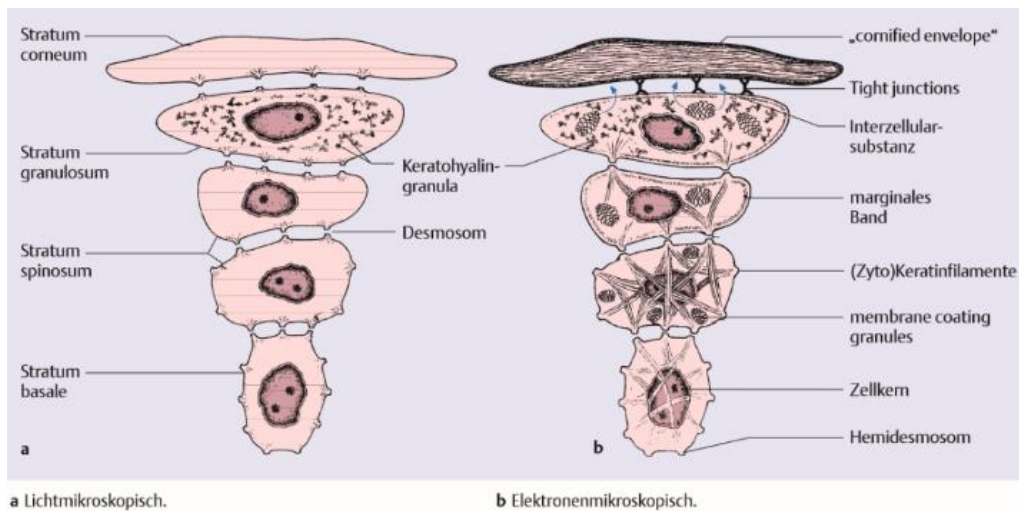


Abb. 5: Schematische Darstellung der Keratinozyten der Haut [17]

Der unterste Abschnitt der Epidermis ist das Stratum basale. Es besteht aus einer Schicht zylindrischer Zellen mit ovoiden Kernen. Hier liegt der Ausgang der Zellregeneration der Haut, denn diese Zellen sind die einzigen der Epidermis, die Mitose betreiben [1]. Hier befinden sich auch die Melanozyten, die Melanosomen enthalten. Diese dienen der Synthese und Speicherung von Melanin, das für die Hautfarbe prägend ist. Melanosome werden auch an benachbarte Keratinozyten abgegeben. Weiters findet man hier die sogenannten Merkel-Zellen, die als Rezeptoren für mechanische Reize fungieren [2, 3, 12].

2.1.1.2 Dermis

Die Dermis wird auch als Lederhaut oder Korium bezeichnet und dient als mittlere Schicht als Träger des Gefäß- und Nervensystems und somit der Versorgung der Epidermis [3]. Sie ist eine elastische Schicht aus Bindegewebe mit Fibroblasten, Histiozyten und Mastzellen als ihre Hauptbestandteile. Diese sind in eine gelartige Grundsubstanz eingebettet [2, 9]. Zusammengesetzt wird die Dermis aus dem Stratum papillare und dem Stratum reticulare. Wie die Dicke der Epidermis ist auch der Durchmesser der Dermis von der Lokalisation abhängig und beträgt 2-4 mm [2].

Das Stratum papillare ist eine schmale Schicht, in der Matrix, Zellen und Kapillaren überwiegen. Durch Papillen aus Kollagen verzahnt diese Schicht die Dermis mit der Epidermis.

Das breitere Stratum reticulare besteht aus starken, miteinander verflochtenen Kollagenfaserbündel und elastischen Fasern. Diese dienen der Gewährleistung der Elastizität der Haut. Auch Hautanhangsorgane wie Haare, Talg-, Duft- und Schweißdrüsen sind hier lokalisiert [2, 3, 12].

2.1.1.3 Subcutis

Die Dermis geht ohne scharfe Abgrenzung in die darunterliegende Subkutis über. Die auch Lederhaut genannte Subkutis besteht aus lockerem, lamellärem Bindegewebe und Fettgewebe (Lipozyten). Dadurch dient sie vor allem dem Schutz vor Kälte und der Speicherung von Energie. Die Subkutis beherbergt ca. die Hälfte bis zwei Drittel der Gesamtfettmasse des menschlichen Körpers [3, 9]. Eine weitere Funktion ist die Verankerung der Dermis an der Körperfaszie oder dem Periost der Knochen. Zusätzlich kann sie viel Flüssigkeit aufnehmen, weshalb sich subkutane Injektionen anbieten [13].

2.1.2 Arzneistofftransport durch die Haut

Da die eigentliche Funktion der Haut dazu dient, das Eindringen von Stoffen zu verhindern, verläuft der Stofftransport durch die gesunde Haut nur in geringem Maß und sehr langsam ab [18]. Das Stratum corneum stellt hierbei das eigentliche Hindernis dar. Ist dieses einmal überwunden läuft die Diffusion durch darunterliegende Schichten und die Aufnahme in das Kapillarsystem deutlich schneller ab [8, 14, 18]. Man unterscheidet vier Transportwege durch die Haut:

- Interzellulär (entlang der Lipidmatrix)
- Transzellulär (durch Korneozyten und Lipidmatrix)
- Transglandulär (entlang der Drüsenkanäle, z.B.: Schweiß- und Talgdrüsen)
- Transfollikulär (durch Haarfollikel)

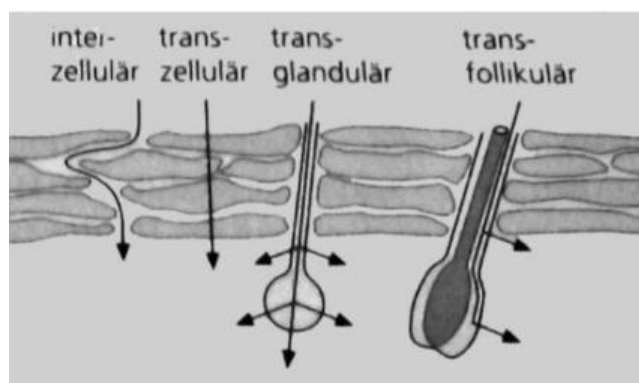


Abb. 6: Transportwege durch die Haut [19]

Der größte Teil des Transportes findet über den interzellulären Weg statt. Für lipophile Stoffe mit einer gewissen Wasserlöslichkeit bietet dieser Weg die besten Bedingungen [18]. Polare Stoffe wandern eher transzellulär, was jedoch erschwert wird, da sie abwechselnd durch lipophile und hydrophile Kompartimente diffundieren müssen [20]. Weiter wirkt sich der geringe Wassergehalt der Korneozyten negativ auf das Diffusionsverhalten von hydrophilen Stoffe aus. Es wird vermutet, dass sie sich stattdessen entlang der hydratisierten Kopfgruppen der Lipide bewegen [21].

Eine weitere Möglichkeit des Transportes durch das Stratum corneum ist der Weg über die Poren. Dieser erfolgt entweder transglandulär oder transfollikulär. Beide Arten haben jedoch aufgrund ihres geringen Anteils an der Hautoberfläche, ca. 0,1 bis 1%, nur eine geringe Bedeutung [8, 18].

Bei dem interzellulären und dem transzellulären Transport handelt es sich um passive Vorgänge, wodurch diese dem 1. Fickschen Diffusionsgesetz unterliegen [20]. Es beschreibt die Proportionalität der pro Zeiteinheit (dt) transportierten Masse (dm) zum Konzentrationsgefälle (dc) über eine gewisse Strecke hinweg. Dieses Geschehen ist abhängig von der Weglänge (Q) und dem Diffusionskoeffizienten (D), der selbst abhängig von der Viskosität, der Partikelgröße der Zubereitung und der Umgebungstemperatur ist. [20, 22].

$$\frac{dm}{dt} = -D \cdot Q \cdot \frac{dc}{dx}$$

Abb. 7: Ficksches Diffusionsgesetz [22]

Es gibt verschiedene Möglichkeiten die Penetration von Stoffen zu verbessern. Dazu zählen Okklusion, die Erhöhung der Temperatur, Vehikeleffekte und Penetrationsförderer, die das Volumen der Lipidschicht erhöhen oder die Löslichkeit der Stoffe in den Lipiden verbessern [23, 24].

2.2 Verwendete Substanzen

Die in diesem Kapitel aufgezählten Substanzen wurden im Rahmen dieser Diplomarbeit zur Forschungszwecken verwendet. SDS, SLES, Sulfathiazol und Dimethylsulfoxid wurden mittels Raman-Spektroskopie im Hinblick auf die Eindringtiefe in die Haut vermessen. Von Sulfadiazin wurde ein Reinsubstanzspektrum aufgenommen, aber keine weiteren Hauspenetrationsuntersuchungen durchgeführt.

2.2.1 Natriumdodecylsulfat

Natriumdodecylsulfat¹ (Sodiumdodecylsulfat, SDS, Sodium Lauryl Sulfate INCI) ist ein Gemisch verschiedener Natriumalkylsulfate, das mindestens aus 85% Natrium-n-dodecylsulfat besteht. Es handelt sich um weiße bis gelbliche Kristalle oder Pulver mit einem charakteristischen Geruch. SDS löst sich leicht in Wasser, wobei eine opaleszierende Lösung entsteht. Als anionisches Detergenz hat es gute Tenseideigenschaften und findet dadurch oft Verwendung in Duschgelen, Shampoos und Zahncremen [25].

Im Hinblick auf Interaktionen mit der Haut ist SDS ein aggressives Tensid, da es großen Einfluss auf die Barrierefunktion und den pH-Wert der Haut hat. Dadurch kommt es zu erhöhtem Wasserverlust [26].

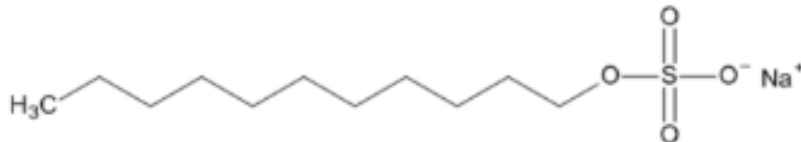


Abb. 8: Strukturformel Natriumdodecylsulfat [27]

2.2.2 Natriumlaurylethersulfat

Natriumlaurylethersulfat² (Sodium laureth sulphate, SLES, Natrium Laureth Sulfate INCI) ist die ethoxylierte Form des SDS. Es zählt wie dieses zu den anionischen Tensiden und findet ebenfalls Anwendung in Kosmetika. Es ist auch in Wasch- und Reinigungsmitteln zu finden [28]. SLES wirkt irritierend und reizend auf die menschliche Haut, aber weniger als SDS [29].

¹ Sigma-Aldrich Co., 3050 Spruce Street, St. Louis, USA

² Dr. Temt Laboratories, Sautergasse 21, 1160 Wien, Austria

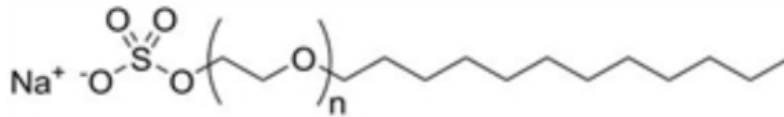


Abb. 9: Strukturformel Natriumlaurylethersulfat [30]

2.2.3 Dimethylsulfoxid

Dimethylsulfoxid³ (DMSO) ist bei Raumtemperatur eine klare, hygroskopische Flüssigkeit, die mit Wasser gut mischbar ist. Es ist ein Nebenprodukt, das bei der Herstellung von Zellstoff in der Holzindustrie entsteht [31]. DMSO dient als Penetrationsförderer in Dermatika, da es die polaren Komponenten der Hautlipide solvatisiert [23, 25]. Es kann allerdings auch bei lokaler Anwendung zu unerwünschten Nebenwirkungen wie Brennen der Haut, Erytheme, Blasenbildung, bis hin zu Erbrechen, Schwindel und abdominalen Krämpfen kommen [25].

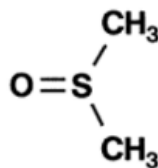


Abb. 10: Strukturformel Dimethylsulfoxid [32]

2.2.4 Sulfathiazol

Sulfathiazol⁴ ist ein Sulfonamid mit nur kurzer Wirkungsdauer. Es gibt vier polymorphe Modifikationen mit unterschiedlichen Schmelztemperaturen, von denen Modifikation 3 die bei Raumtemperatur stabile Form ist [25]. Es wurde als orales und topisches Antibiotikum verwendet, doch heute ist nur mehr die äußerliche Anwendung gebräuchlich. Diese erfolgt meist in Kombination mit Sulfabenzamid oder Sulfacetamid, die ebenfalls zu den Sulfonamiden gehören [33]. Als Tierarzneimittel wird es immer noch als systemisches Antibiotikum verwendet [25].

³ Gatt-Koller, Swarovskistraße 74, 6067 Absam, Austria

⁴ Sigma-Aldrich Co., 3050 Spruce Street, St. Louis, USA

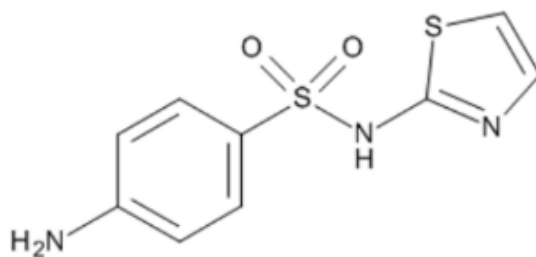


Abb. 11: Strukturformel Sulfathiazol [27]

2.2.5 Sulfadiazin

Sulfadiazin⁵ ist ein Antiinfektivum aus der Gruppe der Sulfonamide mit mittlerer Wirkungsdauer. Es hemmt die Folsäuresynthese der Mikroorganismen. Sulfadiazin liegt als weißes, gelbes, weißlich-gelbes oder weißlich-rotes kristallines Pulver vor. Äußerliche Anwendung finden vor allem die Sulfadiazin-Silber Salze [7, 25].

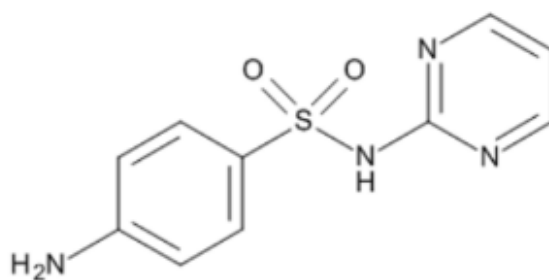


Abb. 12: Strukturformel Sulfadiazin [27]

2.3 Raman-Spektroskopie

Den Grundstein für die heutige Raman-Spektroskopie legte Chandrasekhara Venkata Raman bereits 1928, als er entdeckte, dass sich die Wellenlänge eines kleinen Teils der von Molekülen ausgehenden Streustrahlung von der Wellenlänge des einfallenden Strahles unterscheidet. Die Verschiebungen der Frequenz bzw. der Wellenlänge sind typisch für die jeweiligen Strukturen eines Moleküls. Die Raman-Streuung bezeichnet die unelastische Lichtstreuung. Für diese Entdeckung und weitere Untersuchungen daran, erhielt Raman 1930 den Nobelpreis für Physik [5, 34].

Wie bei der Raman-Spektroskopie misst auch die Infrarot-Spektroskopie (IR) die Änderungen der Molekülschwingungen [5]. Raman-aktiv sind Moleküle mit einem Symmetriezentrum und alle Schwingungen, die symmetrisch zu diesem Zentrum auftreten. Hierbei ändert sich auch die Polarisierbarkeit im Molekül. Diese werden jedoch als IR-inaktiv bezeichnet. Nun sind asymmetrische Schwingungen nicht Raman-aktiv, jedoch IR-aktiv. Raman-Spektroskopie und IR-Spektroskopie ergänzen einander also [35]. Ein Vorteil der Raman-Spektroskopie ist, dass Raman-Spektren in wässriger Lösung aufgenommen werden können, ohne eventuellen Störungen von Wasser. Weiters wird ein Raman-Spektrum nicht so stark von Hautbanden überlagert und eignet sich daher besser für die Quantifizierung von Substanzen. Trotzdem wurde die Raman-Spektroskopie vermehrt erst seit den 1960er Jahren eingesetzt, da erstmals ausreichend starke Laser verfügbar waren, die die Aufnahme der Spektren erheblich vereinfachten [5].

2.3.1 Funktionsprinzip

Das grundlegende Funktionsprinzip der Raman-Spektroskopie beschreibt der sogenannte Raman-Effekt. Die Photonen im Licht treffen auf ein Atom oder Molekül, werden absorbiert und versetzen es in einen Schwingungszustand. Die Photonen werden allerdings sofort wieder ausgestrahlt, wobei sie ihre ursprüngliche Flugrichtung verloren haben. Hierbei entstehen zwei Arten von Streulicht, die als Rayleigh- und Raman-Streuung bezeichnet werden [36].

Als Rayleigh-Streuung wird jenes Streulicht bezeichnet, das die unveränderte Frequenz der Erregungsstrahlung hat. Den Photonen wird ein elastischer Stoß versetzt [37, 38].

Das restliche Streulicht hat nun entweder eine kleinere oder größere Frequenz, als jene der Erregungsstrahlung. Stokes-Streuung entsteht, wenn der Streukörper durch das Licht in einen höheren Schwingungszustand angehoben wird, also Energie von den Photonen absorbiert. Dadurch haben die emittierten Photonen eine niedrigere Frequenz und man spricht von unelastischer Streuung. Wenn die Frequenz höher ist, als die der Erregungsstrahlung spricht man von Anti-Stokes-Streuung. Hier war das Molekül bereits im angeregten Schwingungszustand und hat Energie von den Photonen der Erregungsstrahlung absorbiert [5, 37, 38].

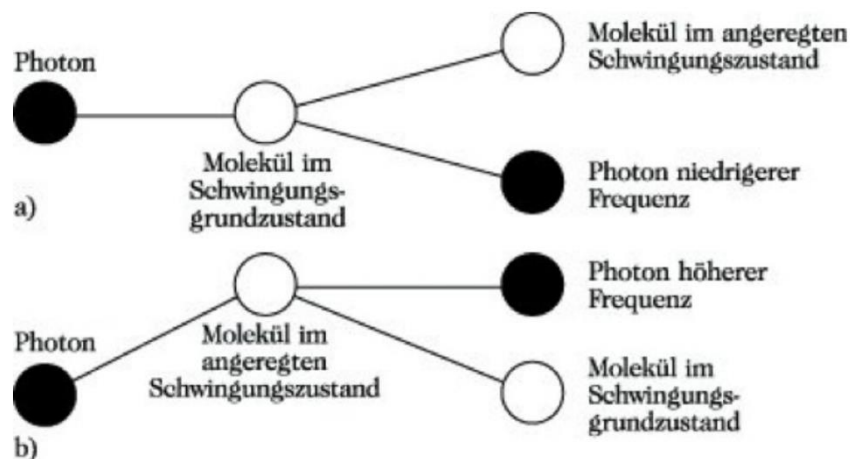


Abb. 13: Entstehung von Stokes- (a) und Anti-Stokes-Streuung (b) [37]

Die Stokes- und Anti-Stokes-Linien sind symmetrisch ober- und unterhalb der Rayleigh-Linie angeordnet. Das bedeutet sie verschieben sich um den gleichen Energiebetrag. Die Differenz zwischen diesen Linien entspricht der Schwingungsfrequenz [37, 38]. Gemeinsam bilden Stokes- und Anti-Stokes-Streuung die Raman-Streuung, deren Intensität nur 10^{-8} jener der Erregerstrahlung beträgt und somit sehr schwach ist. Dadurch wird die Verwendung einer intensiven Lichtquelle nötig [38].

2.3.2 Aufbau des Raman-Spektrometers

Das Raman-Spektrometer besteht grundsätzlich aus einer Laserlichtquelle, früher aus einem Quecksilberbogen, für monochromatisches Licht, einer Probenhalterung, einem Spektralphotometer und einem Detektor [5, 37].

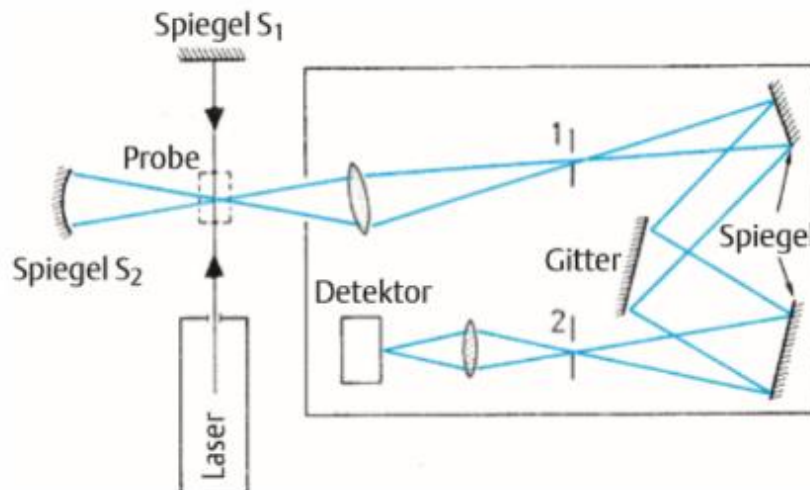


Abb. 14: Aufbau eines Raman-Spektrometers [38]

Das monochromatische Licht aus dem Laser tritt durch die Probe, wird von dem dahinterliegenden Spiegel (S1) reflektiert und durchwandert erneut die Probe, um die Intensität der Strahlung zu erhöhen. Ein zweiter Spiegel (S2) dient zur Verdoppelung der Intensität des Streulichts. Eine Linse fokussiert danach die Raman-Streuung in den Eintrittsspalt (1). Eine Anreihung von Gittern zerlegt nun die Streustrahlung spektral, um die Raman-Strahlung von der restlichen Streustrahlung zu trennen und leitet die Strahlung durch einen Austrittsspalt (2). Durch eine zweite Linse wird die Streustrahlung nun auf einen photoelektrischen Detektor fokussiert [38].

Ein Raman-Spektrum kann von optisch leeren, transparenten und nicht fluoreszierenden Stoffen aufgenommen werden. Es besteht die Möglichkeit feste, flüssige und mit etwas größerem technischen Aufwand auch gasförmige Proben zu vermessen [37].

Als Lichtquellen finden eine Vielzahl von Lasern Anwendung. Die häufigsten sind der Helium-Neon-Laser ($\lambda = 632,8 \text{ nm}$), der Argon-Ionen-Laser ($\lambda = 488 \text{ nm}$, $\lambda = 514,5 \text{ nm}$), der Neodym-Yttrium-Aluminium-Granat- (Nd-YAG-) Laser ($\lambda = 1064 \text{ nm}$) oder der LED-Laser ($\lambda = 800 \text{ nm}$) [5, 38, 39]. Der Nd-YAG-Laser gehört zu einer neueren Laser-Generation, da seine Energie im nahen IR-Bereich nicht ausreicht um die störende Fluoreszenz anzuregen. Dies bringt einen gewissen Vorteil, doch ist hier die Raman-Strahlung so gering, dass die Fourier-Transform-Technik für die Detektion notwendig ist [38].



Abb. 15: Bestandteile des Raman-Spektrometers: Power-Unit, Analyser, Analyser während einer Messung (v.l.n.r)

Die Abbildung zeigt die einzelnen Bestandteile des in dieser Arbeit verwendeten Raman-Spektrometers⁵ von RiverDiagnostics. Die Power Supply Unit dient der Stromversorgung.

Der Analyzer stellt die Messeinheit des Spektrometers dar. Er wird über den Computer und die darauf enthaltene RiverIcon 3.2 Software gesteuert. Hier befinden sich das High Performance Raman Module (HRPM) und ein CCD Detektor. In den Analyzer sind zwei verschiedene Laser-Lichtquellen eingebaut. Ein Laser misst mit der Wellenlänge $\lambda = 671$ nm und misst mit der Wellenlänge im Bereich von 2500- 4000 cm^{-1} Wellenzahlen. Er dient zur Aufnahme der High-Wave-Number-Spektren (HWVN-Spektren). Der zweite Laser, mit der Wellenlänge $\lambda = 785$ nm, misst im Bereich 400-1800 cm^{-1} Wellenzahlen und wird für die Aufnahme der Fingerprint-Spektren (FP-Spektren) eingesetzt [40].

2.3.3 Messungen an der Haut

Das Raman-Spektrometer, das im Zuge dieser Arbeit verwendet wurde, der gen2-SCA Skin Composition Analyzer, wurde speziell für Messungen an der Haut entwickelt. Es ermöglicht sowohl in vitro, als auch in vivo Messungen. Durch verschiedene Messaufsätze können unterschiedliche Hautstellen am Körper gemessen werden. In

⁵ RiverDiagnostics gen2-SCA Skin Composition Analyzer, RiverD International BV, Rotterdam, Niederlande

dieser Arbeit wurde es vor allem zur Bestimmung der Eindringtiefe von Substanzen und des Wassergehaltes der Haut eingesetzt. Zu diesem Zweck sollte vor allem intakte und gesunde Haut verwendet werden.

2.3.3.1 High-Wave-Number

Die Aufnahme der HWVN-Spektren dient zur Bestimmung des Wassergehaltes der Haut. Die Wasserkonzentration im Stratum corneum ist mit 15-30% sehr gering. Sie erhöht sich in den tiefer liegenden Schichten der Haut, bis sie in der lebenden Epidermis (10-15 μm tief) bis zu 60 bis 70% beträgt. Dort erreicht sie eine Plateauphase, das bedeutet, dass der Gehalt an Wasser nicht mehr zunimmt [4, 41, 42, 43, 44].

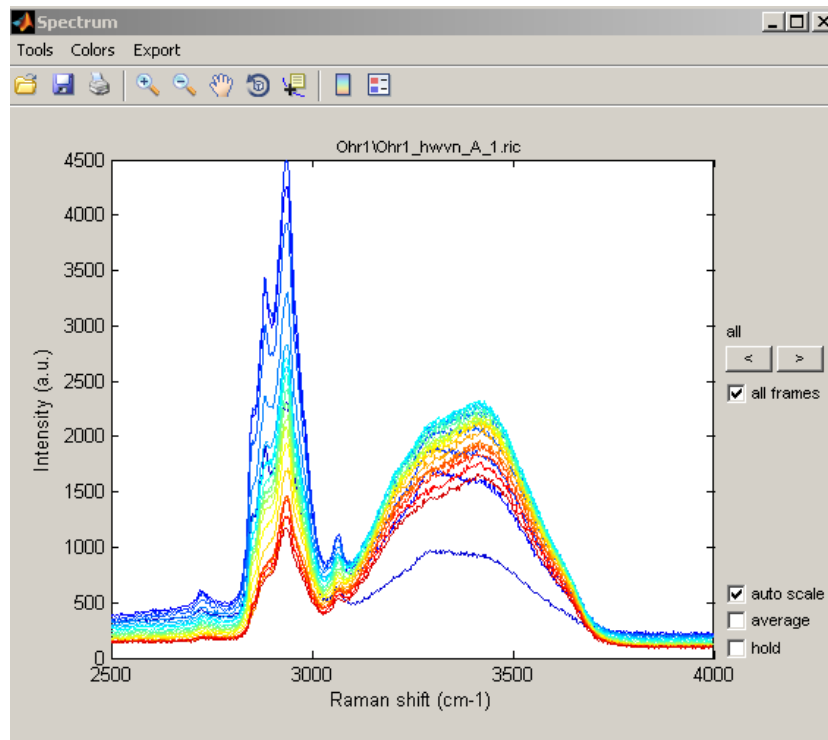


Abb. 16: HWVN-Spektrum eines unbehandelten Schweineohrs, betrachtet mit SkinTools® Software

Anhand der Raman-Spektren kann der Wassergehalt der Haut kalkuliert werden. Man vergleicht hierfür das Verhältnis der Intensität des OH-Signals bei 3390 cm^{-1} mit der Intensität des CH-Signals bei 2935 cm^{-1} [41].

2.3.3.2 Fingerprint

FP-Spektren werden aufgenommen, um bestimmte Substanzen auf und in der Haut nachzuweisen und zu quantifizieren. Zu diesen zählen unter anderem Keratin,

Ceramide, Urea, Cholesterol, Urocaninsäure und der Natural Moisturizing Factor (NMF). Sie zählen zu den hauteigenen Substanzen, doch auch fremde Stoffe sind nachweisbar, wenn die Spektren mit entsprechenden Bibliotheken abgeglichen werden.

Durch den NMF kann man auch über die FP-Spektren auf den Feuchtigkeitsgehalt der Haut schließen. Als NMF werden kleine, hydrophile Moleküle bezeichnet, die durch ihre Hydrophilie eine große Hydrathülle ausbilden. So wird Wasser in der Epidermis gebunden und das Austrocknen der Haut verhindert [12]. Die Bestandteile des NMF bestehen größtenteils aus Filaggrin-Abbauprodukten wie Urea, Pyrrolidon-5-Carbonsäure, Milchsäure und Harnsäure, sowie Aminosäuren (Serin, Glycin, Arginin, Ornithin, Citrullin, Alanin und Histidin) und Urocaninsäure [4, 45]. Letzteres dient auch dem Schutz vor Sonneneinstrahlung, indem sie UV-Strahlung absorbiert [46].

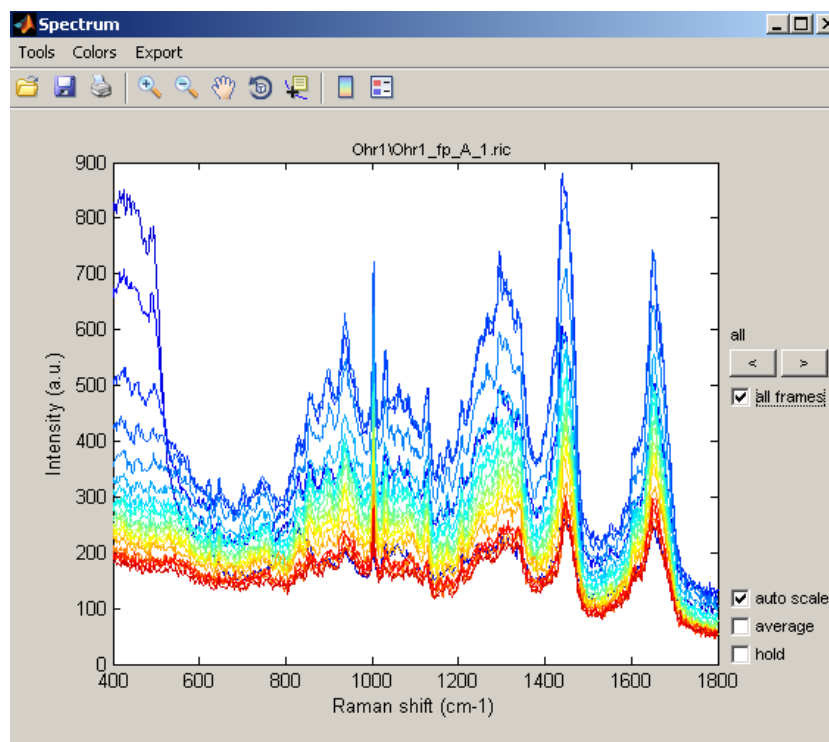


Abb. 17: FP-Spektrum eines unbehandelten Schweineohrs, betrachtet mit SkinTools® Software

Der optimale NMF-Gehalt liegt bei 80-95%. Die Wichtigkeit des NMF zeigt sich auch in Studien, in denen bei Patienten mit atopischer Dermatitis ein Filaggrin-Mangel festgestellt wurde [45].

2.3.4 Bestimmung der Stratum corneum Dicke

Neben der oben genannten Untersuchung der Penetration von Substanzen kann die Raman-Spektrometrie auch zur in vivo Bestimmung der Dicke des Stratum corneum verwendet werden. In den späten 1990er Jahren wurden die ersten Untersuchungen zu diesem Thema durchgeführt und mittlerweile gilt die SC-Dickenbestimmung mittels Raman-Spektrometer als Gold Standard [6].

Ein Vergleich mit der optischen Kohärenztomographie, der zu Validierungszwecken durchgeführt wurde, zeigte auch die bessere Auflösung der Raman-Spektrometrie. Die Abhängigkeit der SC-Dicke von seiner Lokalisation war mit dem Raman-Spektrometer feststellbar [47].

Um die Dicke des Stratum corneum zu bestimmen muss zunächst der Wassergehalt der Haut gemessen werden. Mittels Microsoft Excel wird eine Grafik mit den Werten der Messungen erstellt. Darin wird die Wasserkonzentrationskurve an der Stelle in zwei Sektionen geteilt, an der ihre Steigung 0,5 erreicht. An diese zwei Teilkurven werden zwei Geraden angelegt, an deren Schnittpunkt die SC-Dicke berechnet wird. Dieser Punkt liegt an der Stelle, wo die Wasserkonzentrationskurve in die Plateauphase übergeht. Hier befindet sich die theoretische Grenze des Stratum corneum [44, 47, 48].

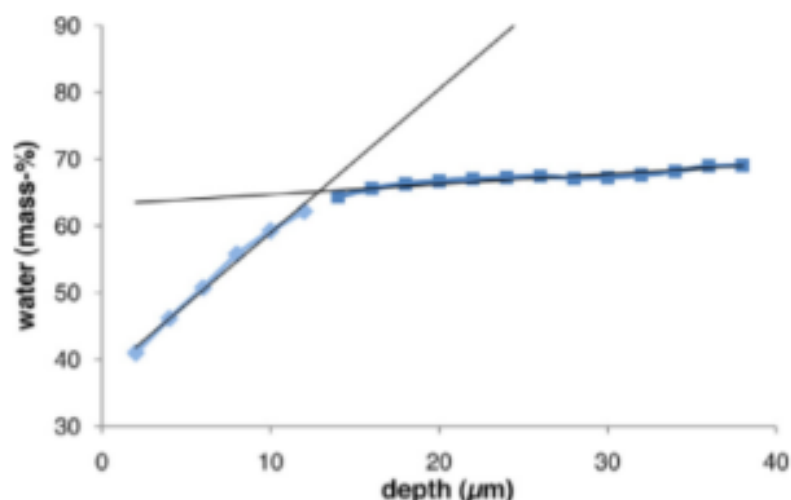


Abb. 18: Beispielkurve mit angelegten Geraden zur Bestimmung der SC-Dicke [48]

2.4 Nanoemulsionen

2.4.1 Definition

Emulsionen sind thermodynamisch instabile Systeme aus zwei nicht miteinander mischbaren Flüssigkeiten. Man unterscheidet zwischen der inneren oder dispergierten Phase und der äußeren Phase, die auch als Dispersionsmittel bezeichnet wird. Bei Wasser-in-Öl-Emulsionen (W/O) bildet Wasser oder eine andere hydrophile Substanz die innere Phase, während die äußere Phase eine lipophile Flüssigkeit bildet. Bei Öl-in-Wasser-Emulsionen (O/W) verhält es sich umgekehrt. Das Öl ist in der wässrigen Phase dispergiert. Diese Systeme werden als einfache Emulsionen bezeichnet. Bei Doppelemulsionen, die als W/O/W- oder O/W/O- Emulsionen bezeichnet werden, befinden sich in den Emulsionstropfen noch einmal Tropfen der äußeren Phase [18, 24, 49, 50].

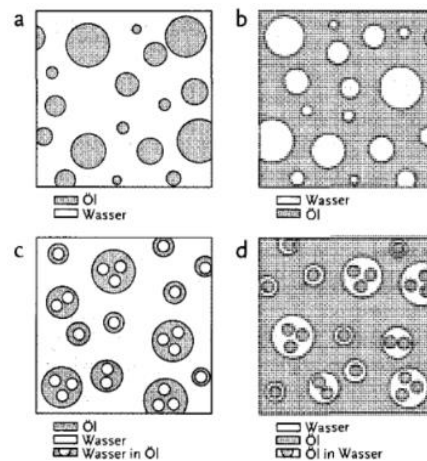


Abb. 19: Arten der Emulsionen [18]

Unter hohem Energieaufwand durch statische Mixer, Ultraturrax, Kolloidmühlen oder Hochdruckhomogenisatoren erreicht man die Dispergierung der inneren und der äußeren Phase. Dieser Zustand ist allerdings über längere Zeit hinweg nicht stabil. Für eine langanhaltende Stabilität einer Emulsion sind Emulgatoren nötig. Diese setzen die Grenzflächenspannung herab, was die Emulsionsbildung erleichtert und die Stabilität des Systems erhöht, da das Zusammenfließen der inneren Phase verhindert wird [18, 50, 51].

Emulgatoren sind oberflächen- oder grenzflächenaktive Substanzen und gehören zur Gruppe der Tenside. Diese enthalten in ihrer chemischen Struktur sowohl hydrophile als auch lipophile funktionelle Gruppen, weshalb sie auch als amphiphile Moleküle bezeichnet werden [18, 50]. Der Emulgator ist entscheidend dafür, welcher

Emulsionstyp sich ausbildet. Die Bancroft-Regel besagt, dass jene Phase, in der sich der Emulgator löst, die äußere Phase bildet. Um die Bancroft-Regel anwenden zu können, ist es entscheidend, dass die Löslichkeit des Emulgators bekannt ist. Diese wird von dem HLB-System (Hydrophilie-Lipophilie-Balance) für nichtionische Emulgatoren nach Griffin beschrieben, das die Emulgatoren nach einer Skala von 1 bis 20 einteilt [49, 50].

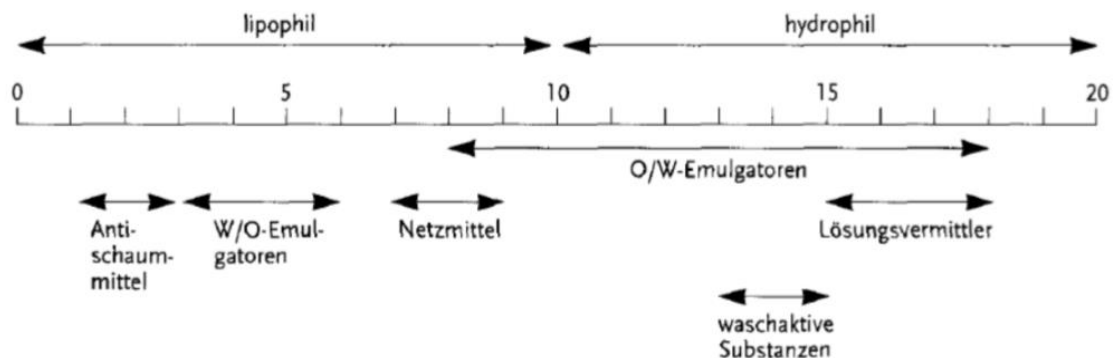


Abb. 20: HLB-System [18]

Nanoemulsionen sind Emulsionen mit einer viel geringeren Tröpfchengröße. Der Begriff Nanoemulsionen bezeichnete ursprünglich Systeme mit einer Partikelgröße unter 100 nm. Emulsionen mit Partikel im unteren Submikron-Bereich werden auch als Nanoemulsionen bezeichnet. Die nach der klassischen Terminologie als Submikronemulsionen bezeichneten Nanoemulsionen sollten Partikelgrößen von 150 bis 300 nm aufweisen [49, 52].

Seit bereits in den 1920er Jahren die ersten Nanoemulsionen zur parenteralen Ernährung verwendet wurden, gewinnen diese heute immer mehr an Bedeutung. Ihre Anwendungsgebiete liegen in der dermalen, okularen, oralen und rektalen Applikation von Arzneistoffen und in der Kosmetik [49].

Da Nanoemulsionen metastabile Dispersionen sind, werden für ihre Herstellung und ausreichende Stabilität geringere Tensidmengen benötigt, als für Mikroemulsionen. Dies macht sie für eine dermale Anwendung besonders verträglich, da eventuelle Hautreizungen und Irritationen durch Tenside vermieden werden. Durch die besonders kleine Teilchengröße unterliegen die Partikel der Brownschen Molekularbewegung, wodurch es während der Lagerung nicht zur Sedimentation oder Aufrahmen kommt. Dies verbessert die physiko-chemische Stabilität und somit die Haltbarkeit der Nanoemulsionen [49, 53, 54].

2.4.2 Komponenten der Nanoemulsion

2.4.2.1 F6H8

F6H8 ist eine Bezeichnung für Perfluorhexyloctan, das zu der Gruppe der semifluorierten Alkane gehört. Bei diesen Alkanen ist nur ein Teil des Moleküls fluoriert, das bedeutet, dass einige der Wasserstoffatome durch Fluoratome ausgetauscht wurden. Diese Verbindungen werden häufig mit FXHY bezeichnet, wobei X für die Anzahl der Kohlenstoffatome steht, die Fluor statt Wasserstoffatome tragen. Y bezeichnet jene Kohlenstoffatome, die unverändert an Wasserstoffatome gebunden sind.

Fluor ist das Element mit der höchsten Elektronegativität und besitzt zusätzlich ein hohes Ionisationspotential und eine geringe Polarisierbarkeit. Im Vergleich zu Wasserstoff ist Fluor zwar größer, besitzt aber mit neun Elektronen eine höhere Ladungsdichte. Dadurch entsteht bei der kovalenten Bindung mit Kohlenstoff eine effektive Überlappung der Atomorbitale und somit einer der stabilsten Bindungen in der organischen Chemie [55, 56].

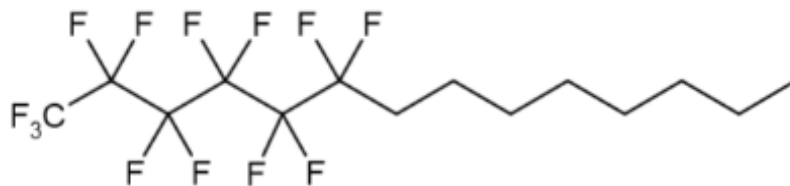


Abb. 21: Strukturformel von Perfluorhexyloctan [55]

F6H8 ist eine farblose, ölige Flüssigkeit mit einer geringen Oberflächenspannung, guten Spreitungseigenschaften, hohen Gaslöslichkeit und geringer Viskosität. Es ist chemisch, physikalisch und biologisch inert. Im Gegensatz zu perfluorierten Substanzen besitzt es eine gewisse Mischbarkeit mit lipophilen Flüssigkeiten und Silikonölen. In der Praxis findet sowohl reines F6H8, als auch seine verarbeitete Form in Emulsionen und Gelen Verwendung. Reines F6H8 wird in bei komplizierten Netzhautablösungen, Augenoperationen, Lungenschäden zur Flüssigkeitsbeatmung, als Langzeittamponade und zur Konservierung von Organen bei Transplantationen verwendet [55, 56, 57].

2.4.2.2 Lecithin

Lecithine sind die am häufigsten natürlich vorkommenden Emulgatoren und werden schon seit Jahrzehnten in der Nahrungsmittelindustrie verwendet. Ihre Vorkommen finden sich in der Zellmembran von Pflanzen und Tieren, wo sie für die Funktion der Zelle essentiell sind. Die Hauptquellen der Industrie sind Sojabohnen oder Eigelb [7, 25, 49].

Lecithine sind die Ester der Phosphatidsäure z.B. mit Cholin und gehören zur Gruppe der Glycerophospholipiden. Bei Raumtemperatur liegen sie als eine fett- oder wachsähnliche Substanz vor. Durch ihre chemische Struktur besitzen sie einen amphiphilen Charakter. Lecithine gelten als sicheres Tensid mit einer geringen Wahrscheinlichkeit auf allergische Reaktionen. Daher werden sie auch in Emulsionen zur innerlichen Anwendung und Emulsionen zu Injektionszwecken eingesetzt [7, 25].

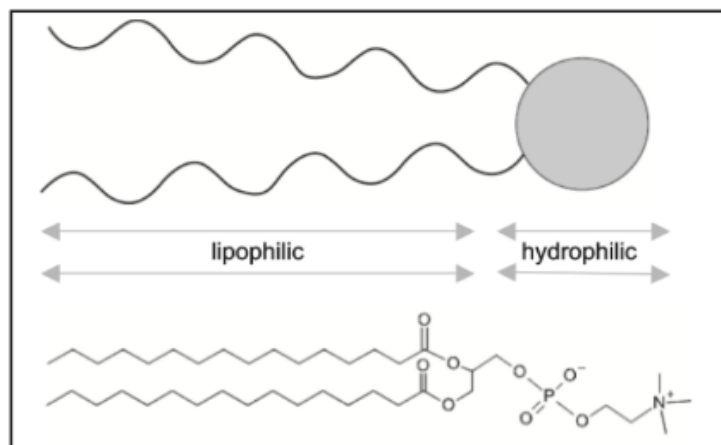


Abb. 22: Oben: Darstellung der Amphiphilie von Lecithinen, Unten: Strukturformel von Lecithin [49]

Im Zuge dieser Arbeit wurde Lipoid S75, ein Sojalecithin, als Emulgator bei der Herstellung der Nanomulsionen genutzt. Sojalecithin kann nur aus den Samen der Sojabohne (*Glycine max*) gewonnen werden, die aber weniger reines Lecithin enthalten als Eilecithin [58]. Sojalecithin besteht aus einem Gemisch verschiedener Lipide und enthält ca. 40-50% Phosphatidylcholin [7, 25].

2.4.2.3 Diclofenac

Diclofenac⁶ ist ein schwaches Analgetikum und gehört zu der Gruppe der NSAID (Nicht-Steroidale Antirheumatika). Als Cyclooxygenasehemmer wirkt es auch

⁶ Sigma-Aldrich Co., 3050 Spruce Street, St. Louis, USA

antiphlogistisch und antirheumatisch. Es kann oral, topisch oder parenteral appliziert werden. Diclofenac liegt als Salz entweder als Diclofenac-Kalium oder Diclofenac-Natrium vor, wobei letzteres in der Praxis mehr Anwendung findet [7, 25]. Im Zuge dieser Diplomarbeit wurde für die Untersuchungen der Nanoemulsionen 1% Diclofenac-Natrium in die Formulierungen eingearbeitet.

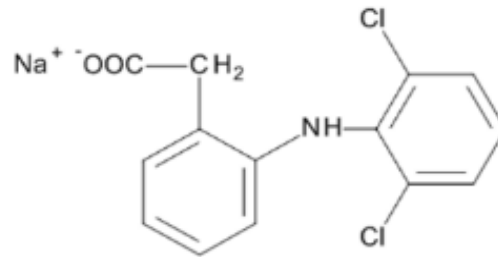


Abb. 23: Strukturformel Diclofenac-Natrium [27]

3 Experimenteller Teil

3.1 Untersuchungen am Raman-Spektrometer

3.1.1 Bestimmung geeigneter Messparameter

Bevor mit den Messungen der einzelnen Substanzen am Raman-Spektrometer begonnen wurde, mussten zuerst die Parameter für die späteren Messungen festgelegt werden. Zu diesem Zweck erfolgten in vivo Messungen am menschlichen Unterarm, möglichst immer an der gleichen Stelle.

Um die optimalen Messparameter für die Aufnahme eines HWVN-Spektrums zu ermitteln wurden jeweils 8 Messungen mit Exposure-Time 1, 2, 5 und 10 durchgeführt. Hierbei wurden im Abstand von 0,5 μm bis in eine Hauttiefe von 40 μm Spektren mit der jeweiligen Exposure-Time aufgenommen. Die Exposure-Time bezeichnet die Dauer in Sekunden, die die Haut dem Raman-Laser ausgesetzt wird.

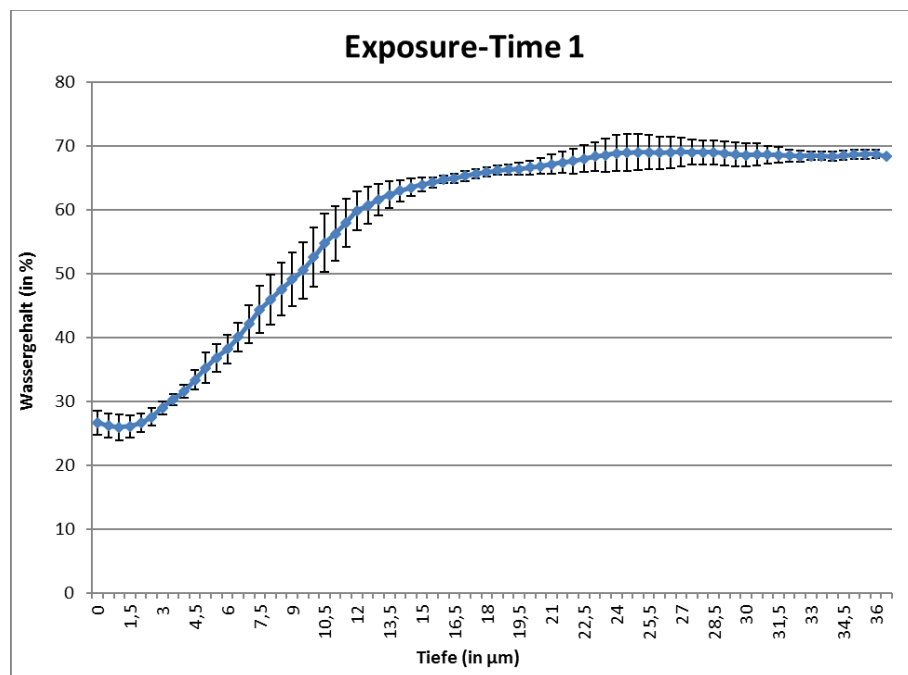


Abb. 24: Wasserkonzentrationskurve gemessen an einem menschlichen Unterarm bei Exposure-Time 1 Sek.

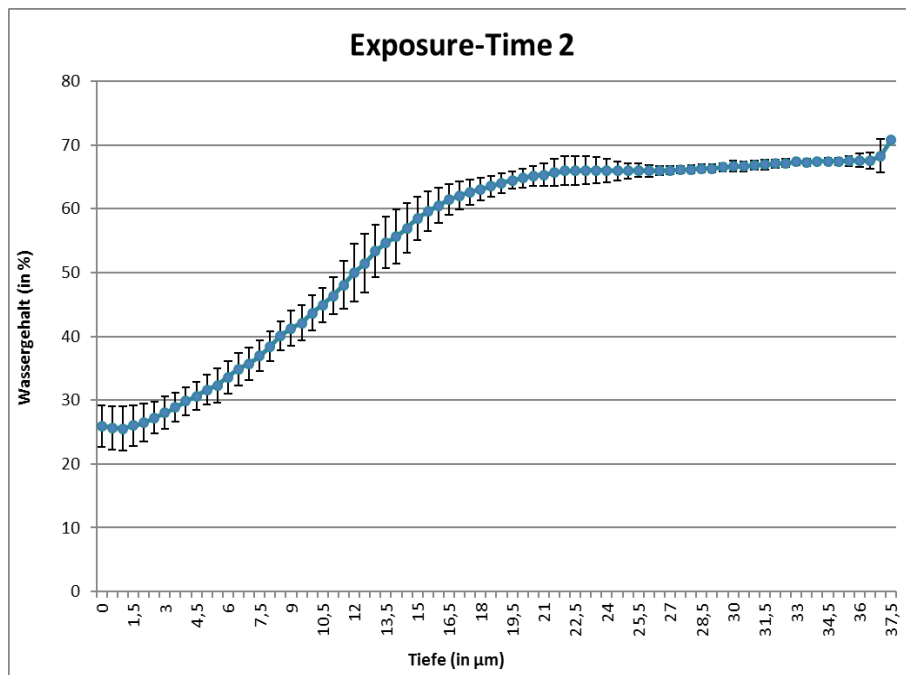


Abb. 25: Wasserkonzentrationskurve gemessen an einem menschlichen Unterarm bei Exposure-Time 2 Sek.

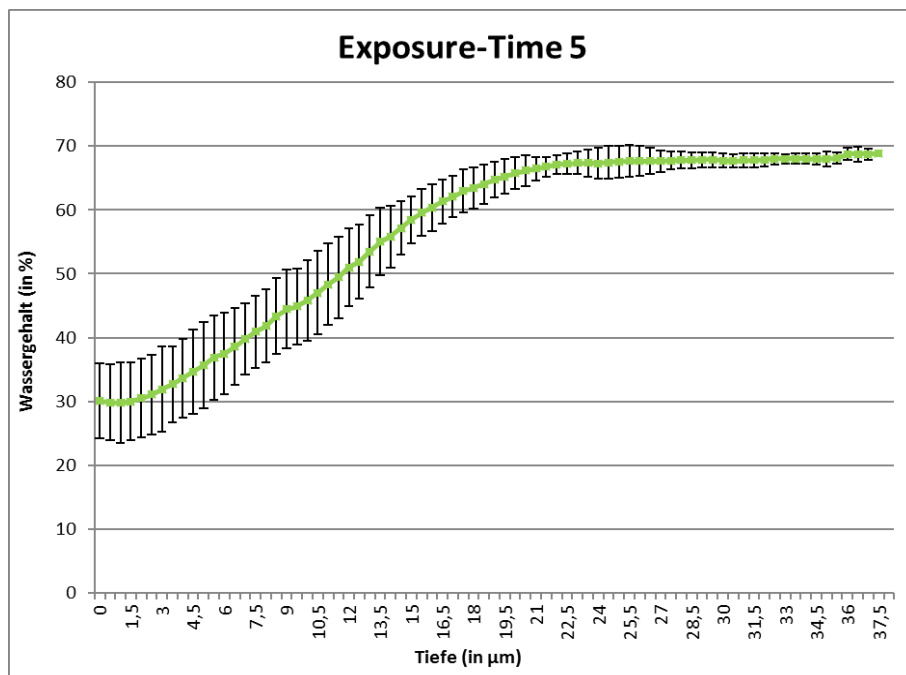


Abb. 26: Wasserkonzentrationskurve gemessen an einem menschlichen Unterarm bei Exposure-Time 5 Sek.

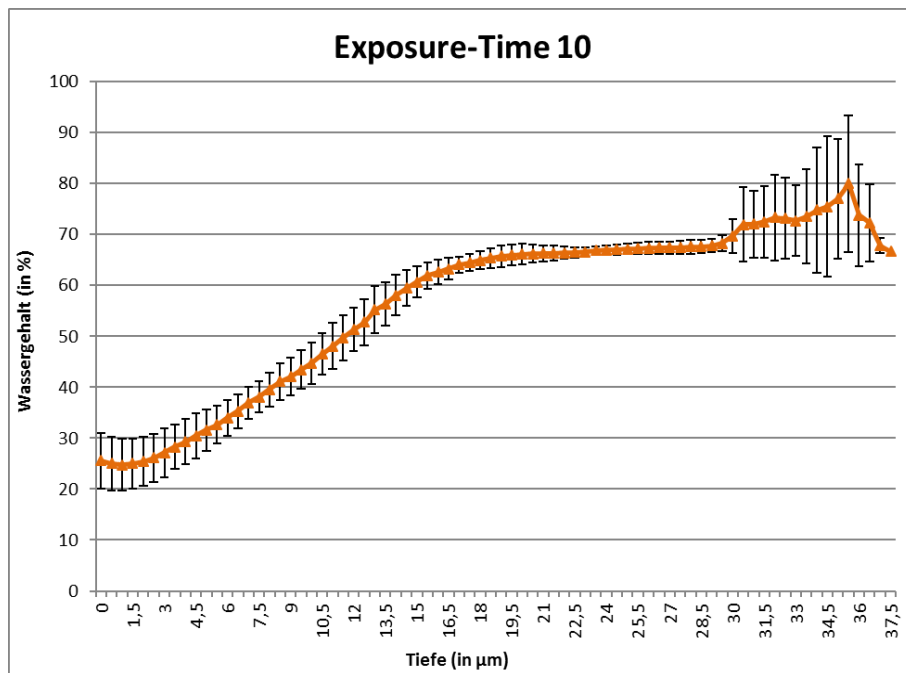


Abb. 27: Wasserkonzentrationskurve gemessen an einem menschlichen Unterarm bei Exposure-Time 10 Sek.

Wie die obigen Grafiken zeigen, variierte die Standardabweichung bei den unterschiedlichen Belichtungszeiten. Bei einer Exposure-Time von 10 Sekunden ist an der Abbildung 27 zu erkennen, dass die Messwerte der tieferen Hautschichten aus der Plateauphase herausfallen. Aus diesem Grund, und um die Hautproben nicht zu langen Messzeiten aussetzen zu müssen, wurde die Exposure-Time von 10 Sekunden für weitere Messungen ausgeschlossen. Die Standardabweichung der Messwerte der Abbildungen 24 und 25 sind am niedrigsten. Die Messungen bei einer Exposure-Time von nur einer Sekunde stellen jedoch eine Momentaufnahme der Haut dar. Theoretisch gilt, je länger eine Hautprobe bestrahlt wird, desto genauer ist das folgende Spektrum. Aufgrund der geringen Standardabweichung wurde entschieden, die weiteren Messungen mit dem HWVN-Laser mit einer Exposure-Time von 2 Sekunden durchzuführen.

Auch für das Erstellen der FP-Spektren wurden wie oben beschriebene Vorversuche bei verschiedenen Exposure-Times durchgeführt. Die folgenden Abbildungen zeigen die Intensitätskurven des NMF unter den angeführten Beleuchtungszeiten.

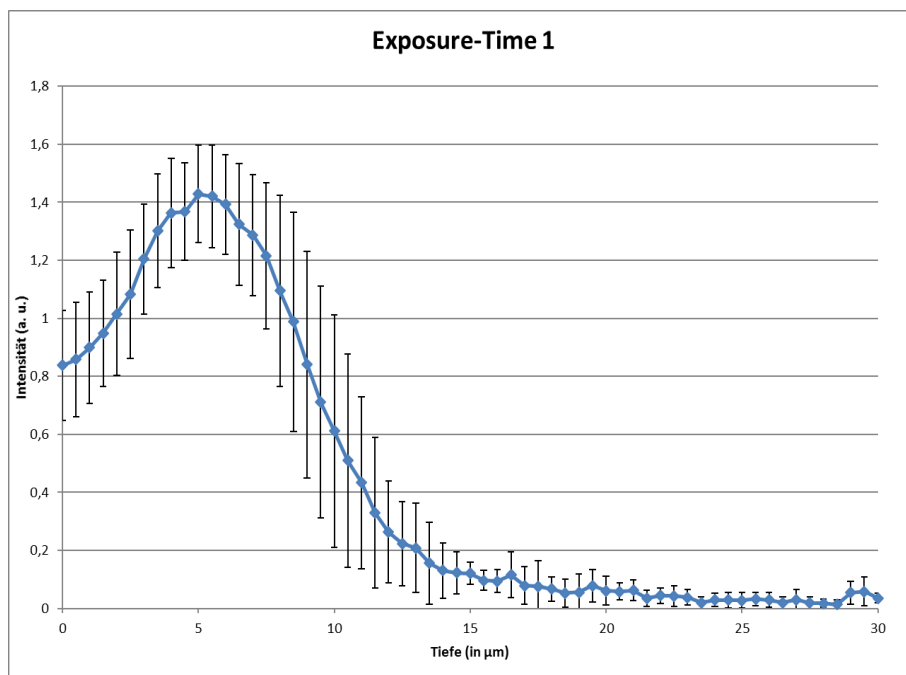


Abb. 28: NMF-Konzentrationskurve, gemessen an einem menschlichen Unterarm bei Exposure-Time 1 Sek.

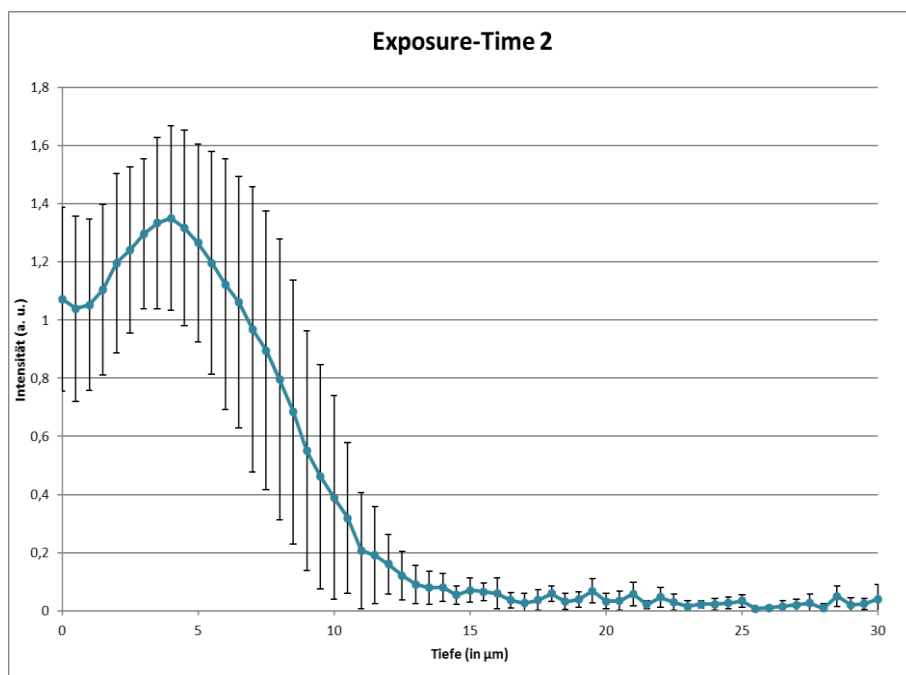


Abb. 29: NMF-Konzentrationskurve, gemessen an einem menschlichen Unterarm bei Exposure-Time 2 Sek.

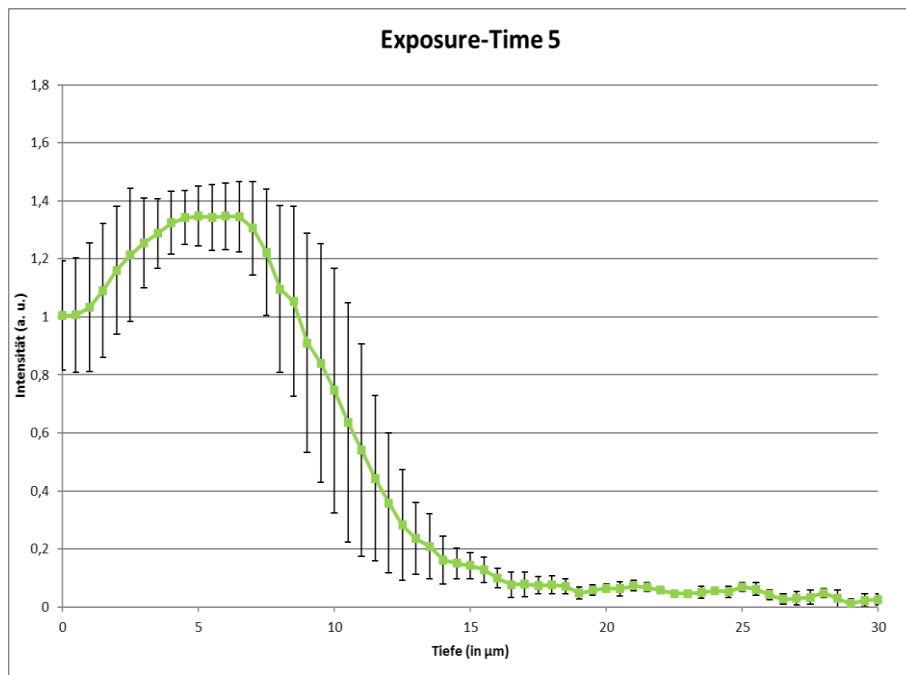


Abb. 30: NMF-Konzentrationskurve, gemessen an einem menschlichen Unterarm bei Exposure-Time 5 Sek.

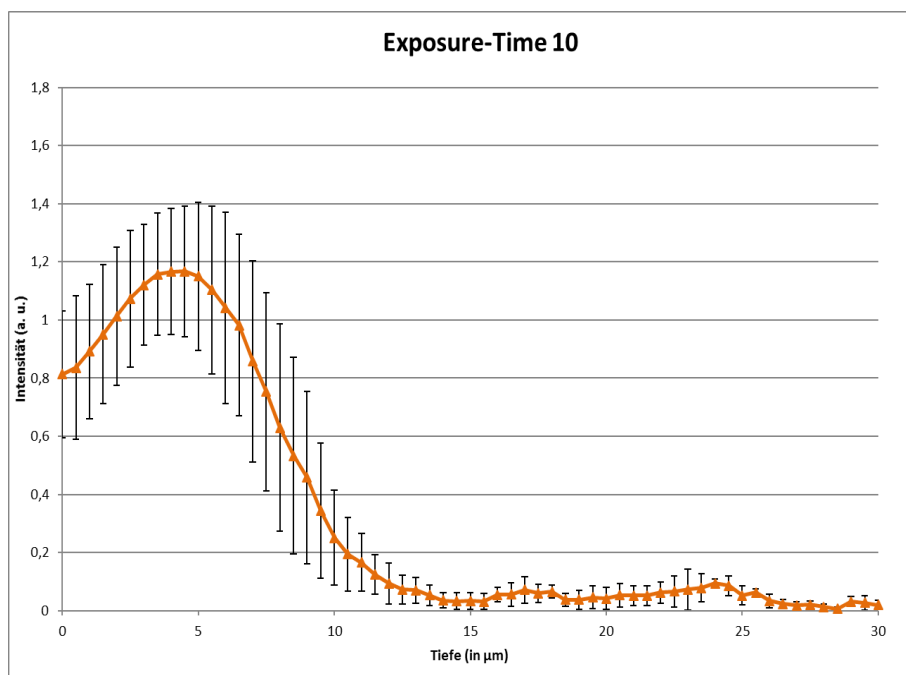


Abb. 31: NMF-Konzentrationskurve, gemessen an einem menschlichen Unterarm bei Exposure-Time 10 Sek.

Wie in den obigen Abbildungen erkennbar, weisen die Messungen des NMF bei einer Belichtungszeit von 5 Sekunden die niedrigste Standardabweichung auf. Daher wurde entschieden mit einer Exposure-Time von 5 Sekunden weiter zu arbeiten, da sich hier die Dauer der Messungen und Standardabweichung der Werte als optimal erwiesen.

Für die oben genannten Versuche zur Ermittlung der am besten geeigneten Parameter für eine Raman-Messung wurden Spektren im Abstand von $0,5\ \mu\text{m}$ in die Haut hinein aufgenommen. Diese Messungen gestalteten sich allerdings sehr zeitaufwändig, was sich negativ auf die Beschaffenheit und den Feuchtigkeitsgehalt der bereits vom Knorpel gelösten, porcinen Hautproben auswirken könnte. Daher wurde weiters untersucht, welche Einstellung der sogenannten „Steps“ für die Zwecke dieser Untersuchungen am besten geeignet waren. Die Messungen mit dem HWVN-Laser erfolgten bei einer Belichtungszeit von einer Sekunde und mit dem FP-Laser bei 5 Sekunden.

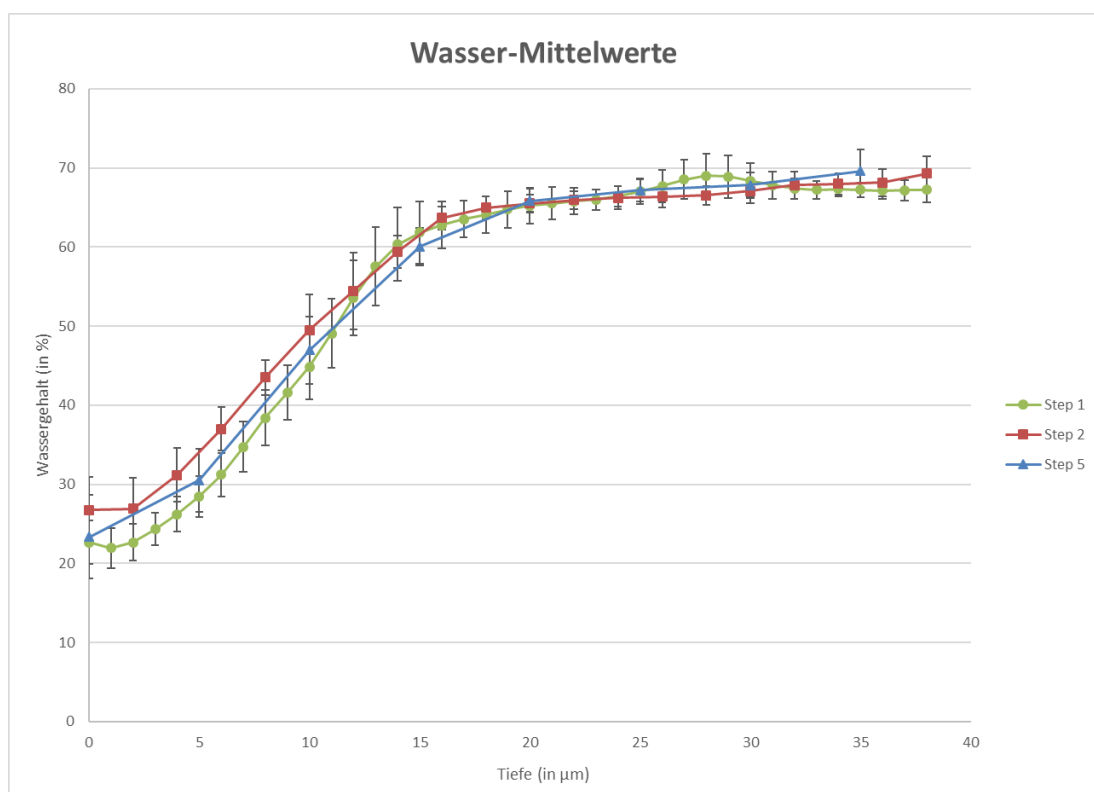


Abb. 32: Wasserkonzentrationskurven gemessen mit unterschiedlichen Step- Einstellungen

Die Abbildung 32 zeigt, dass bei einer Step-Einstellung von $5\ \mu\text{m}$ der charakteristische Verlauf einer Wasserkonzentrationskurve kaum mehr zu erkennen ist. Aufgrund der geringen Standardabweichung und dem noch immer charakteristisch dargestellten Kurvenverlauf, wurde entschieden die weiteren Versuche mit einer Step-Einstellung von $2\ \mu\text{m}$ durchzuführen.

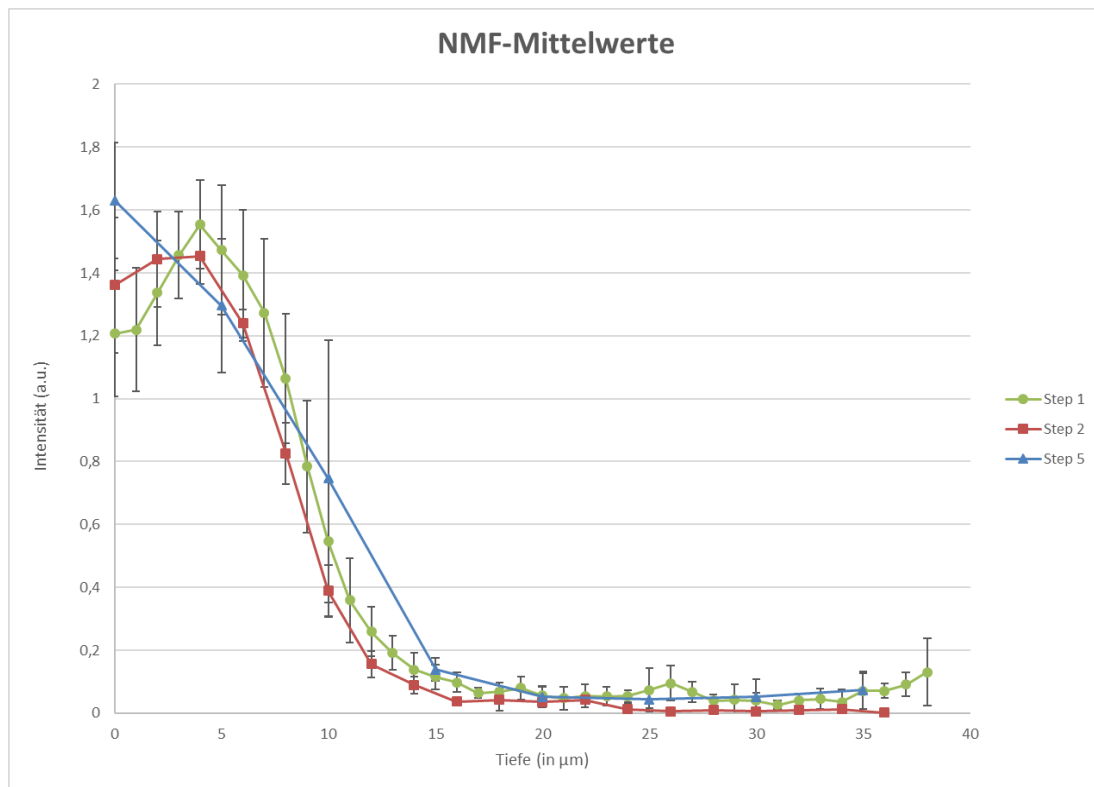


Abb. 33: NMF-Konzentrationskurven, gemessen mit unterschiedlichen Step-Einstellungen

Wie auch bei den Messungen mit dem HWVN-Laser, ist auch hier beim FP-Laser zu sehen, dass die Step-Einstellung von 5 μm zu ungenau sind, um den typischen Kurvenverlauf darzustellen. Auf Basis der geringen Standardabweichung und dem typischen Kurvenverlauf wurden auch für diese Messungen die Step-Einstellung auf 2 μm festgelegt.

3.1.2 Erstellung der Ramanspektren

Die FP-Spektren wurden mit den folgenden Messparametern aufgenommen.

Raman-Profile	
Exposure Time (s)	5
Number of Frames	1
Cycle Time	1
Track	1
Start	0
Stop	40
Step	2

Tab. 1: Messparameter zur Aufnahme der FP-Spektren

Die HWVN-Spektren wurden mit den folgenden Messparametern aufgenommen.

Raman-Profile	
Exposure Time (s)	2
Number of Frames	1
Cycle Time	1
Track	1
Start	0
Stop	40
Step	2

Tab. 2: Messparameter zur Aufnahme der HWVN-Spektren

Bei der Vermessung einer Hautprobe wurden eine FP- und eine HWVN-Messung an derselben Stelle durchgeführt. Durch den sogenannten Cycle-Vorgang wurde mittels einer Kamera eine geeignete Stelle gesucht und anschließend vermessen. Insgesamt wurden pro Hautprobe jeweils 8 Spektren mittels FP- und HWVN-Laser aufgenommen.

Menschliche und auch porcine Haut erzeugen Raman-Spektren mit hoher Intensität und breiten Peaks. Daher müssen Substanzen, um im Raman-Spektrometer detektierbar zu sein, typische Peaks aufweisen, die sich von den Hautpeaks deutlich abgrenzen lassen. In der unteren Grafik werden Spektren der auf die Haut aufgetragenen Substanzen gezeigt. Die charakteristischen Peaks, die zur Detektion und Identifikation herangezogen werden können, sind mit Sternchen markiert.

Die in der Abbildung 34 abgebildeten Substanzen wurden für die weiteren Penetrationsuntersuchungen verwendet.

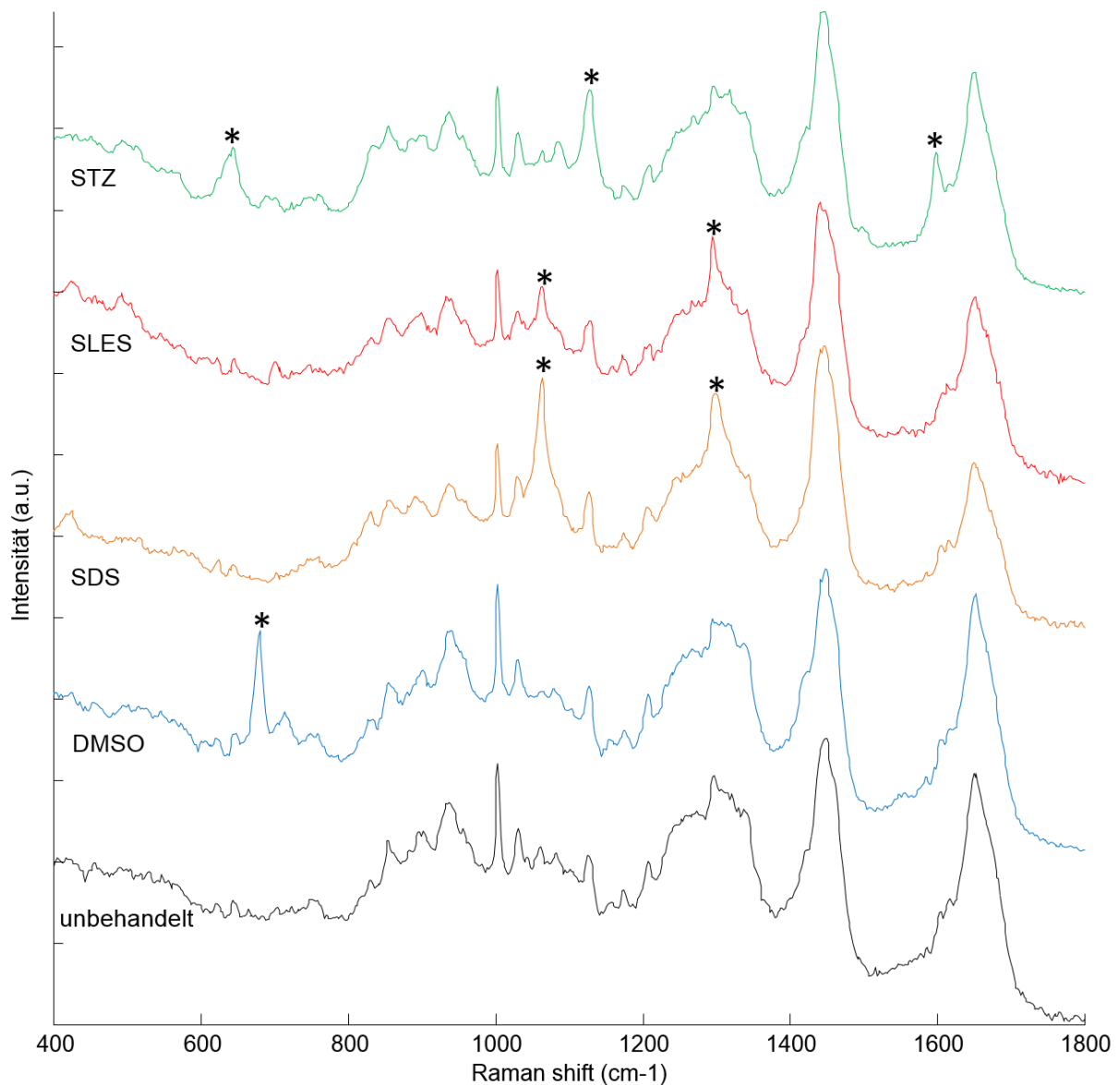


Abb. 34: Spektren von porciner Haut, behandelt mit Sulfathiazol (STZ), Natriumlauryl ethersulfat (SLES), Natriumdodecylsulfat (SDS) und Dimethylsulfoxid (DMSO)

3.1.2.1 Spektren der Reinsubstanzen

Um eine Substanz in einer Hautprobe detektieren zu können, wurde vorher die Raman-Spektren der Reinsubstanz bzw. einer 15%igen wässrigen Lösung aufgenommen und in einer entsprechenden Bibliothek zu Vergleichszwecken gespeichert. Hierzu wurde die Probe vorsichtig auf die Linse des Raman-Spektrometers getropft und mit der Schutzkappe abgedeckt, um den Verdunstungsverlust zu minimieren und störende Lichteinstrahlung zu verhindern. Die Reinsubstanzen wurden mittels Fingerprint-Laser mit den folgenden Einstellungen vermessen.

Raman-Experiment	
Exposure Time (s)	5
Number of Frames	240
Cycle Time	1

Tabelle 3: Messparameter zur Aufnahme der Substanz-Spektren

Die hohe Anzahl an Frames ermöglichte dabei eine genauere statistische Auswertung der Spektren. Die hierbei aufgenommenen Spektren sind jedoch eine Mischung zwischen der Reinsubstanz und dem Lösungsmittel, hier Wasser. Aus diesem Grund wurden für jedes der verwendeten und wie oben beschrieben aufgenommenen Spektren Differenzspektren erstellt.

3.1.2.2 Differenzspektren

Das Erstellen der Differenzspektren erfolgte mittels SkinTools®. Hierzu wurden die Spektren der Mischung und Spektren des reinen Lösungsmittels in das Programm hochgeladen und gemittelt. Danach wurde das reine Lösungsmittel-Spektrum von dem Spektrum des Gemischs abgezogen und das Ergebnis exportiert.

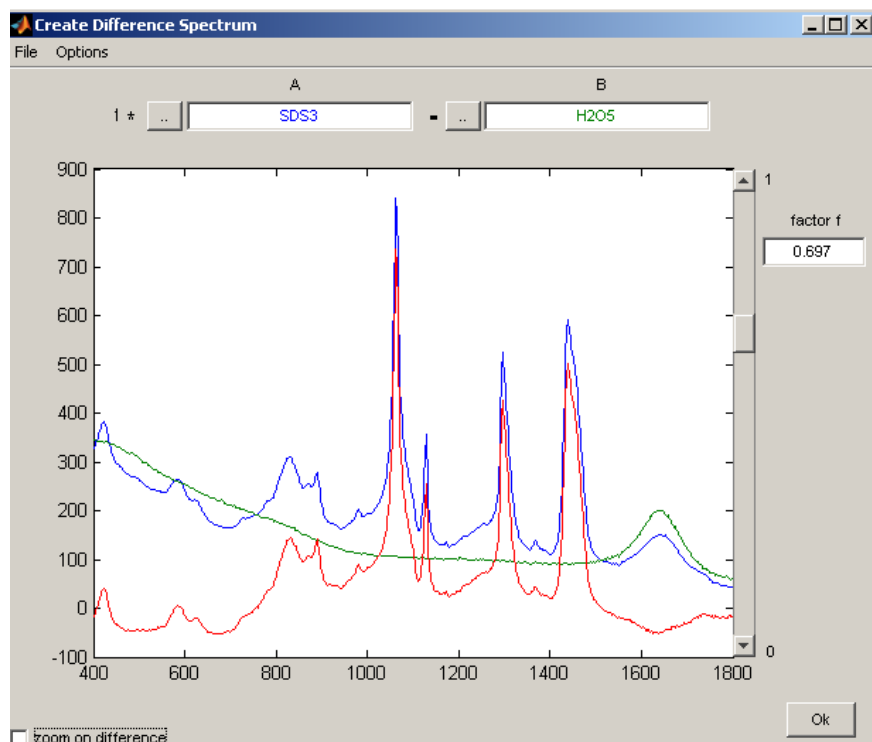


Abb. 35: Fertiges Differenzspektrum von 15%igem SDS in Wasser in SkinTools®

Das obere Spektrum (blau) ist das Spektrum des Reinsubstanz-Lösungsmittel-Gemisches. Das mittlere Spektrum (grün) ist das des Lösungsmittels und das untere (rot) ist jenes der Reinsubstanz.

Bis auf Sulfadiazin-Natrium wurden alle der unten gezeigten Substanzen für die Penetrationsuntersuchungen herangezogen.

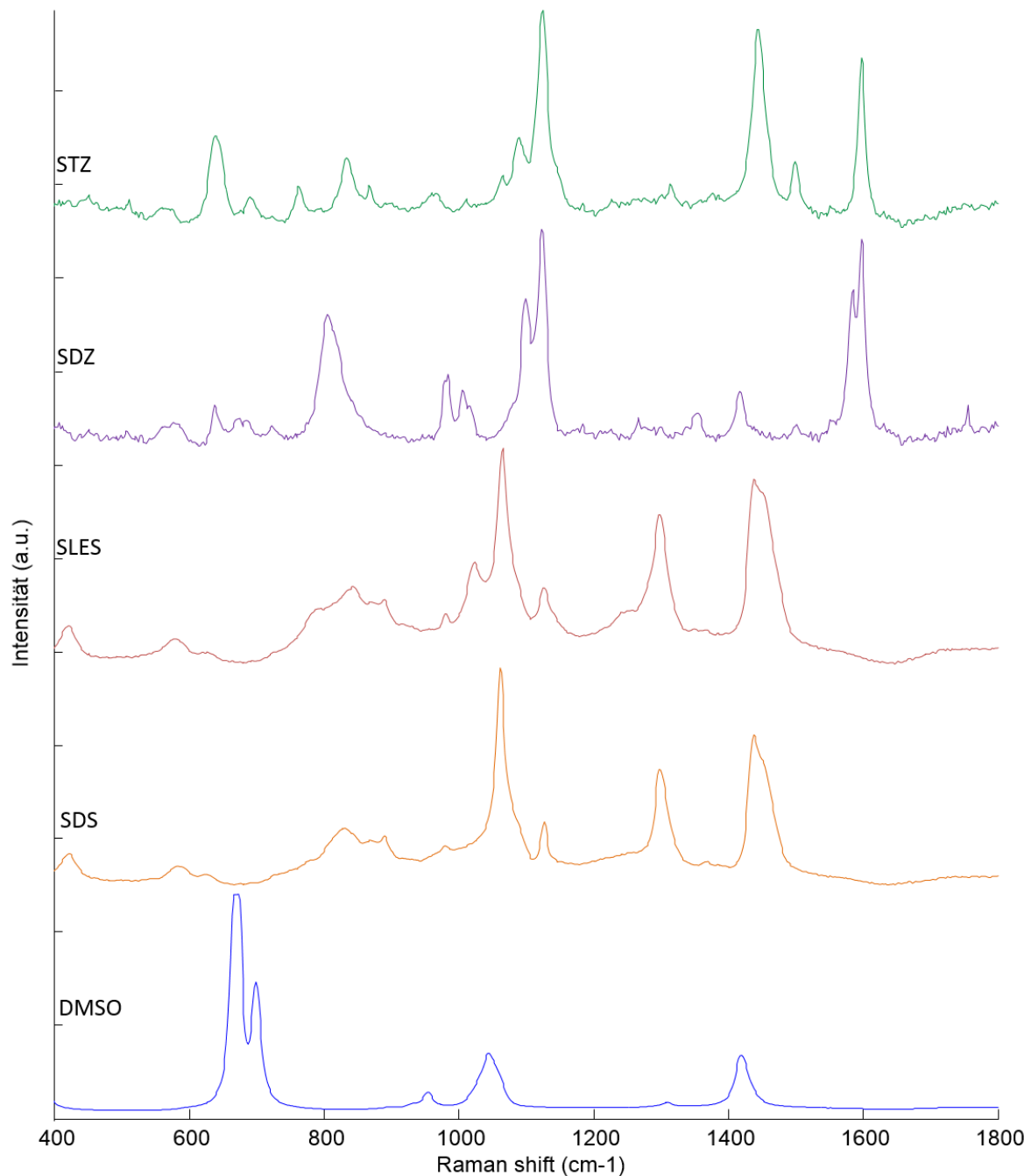


Abb. 36: Referenzspektren von Sulfathiazol (STZ), Sulfadiazin-Natrium (SDZ), Natriumlaurylersulfat (SLES), Natriumdodecylsulfat (SDS) und Dimethylsulfoxid (DMSO)

3.1.3 Vorbereitung der Haut

Da es schwierig ist humane Haut für Untersuchungen und Versuche zu erhalten, wurde im Zuge dieser Arbeit mit porciner Ohrhaut gearbeitet. Sie stellt eine qualitativ äquivalente Alternative zur menschlichen Haut dar, da sie im Hinblick auf Struktur und Permeabilität ähnlich ist. Auch die Haardichte stimmt mit der des Menschen weitgehend überein, da sich beim Menschen 14 bis 32 Haare/cm² befinden und beim Schweineohr 20 Haare/cm² [59, 60].

Zunächst wurde das gefrorene Schweineohr unter kaltem Wasser vorsichtig aufgetaut und mit Küchenpapier abgetrocknet. Danach wurde der Knorpel mit Hilfe eines Skalpells entfernt, um eine möglichst flache und gerade Auflagefläche zu erhalten. Unter Umgehung möglicher Beschädigungen (Verletzungen, Verfärbungen, Gefrierbrand) des Ohrs wurden nun die drei benötigten quadratischen Flächen (2x2cm) markiert. An dieser Stelle wurden die Haare vorsichtig, möglichst nah an der Oberfläche und ohne die Haut zu beschädigen, mit einer Schere gekürzt. Danach wurde mittels AquaFlux^{®7} der TEWL (Transepidermal Water Loss) gemessen, um die Unversehrtheit der Hautstellen zu überprüfen. Der optimale TEWL lag bei unter 20 g/m²/h, wobei Werte bis 25 g/ m²/h noch toleriert wurden.



Abb. 37: Für TEWL-Messung vorbereitetes Schweineohr

Es wurden je 3 Stellen pro Ohr ausgewählt, um einen Vergleich von mit Substanzlösung behandelter, mit Wasser behandelter und unbehandelter Haut zu ermöglichen. Auf einer der Stellen wurde nun entweder 28 µl einer 15%igen Lösung von SDS, SLES oder Sulfathiazol bzw. einer 80%igen DMSO-Lösung aufgetragen. Auf

⁷ Biox Aquaflux AF 200, UK

die zweite Stelle wurden 28 µl Aqua destillata (gereinigtes Wasser) aufgebracht. Danach wurden die Flächen mitsamt dem Knorpel mittels Skalpell aus dem Ohr herausgeschnitten und in einer Petrischale mit 3 ml Phosphatpuffer für eine Stunde im Wasserbad bei 32 °C inkubiert. Nach der Inkubationszeit wurde die Haut vorsichtig von dem Knorpel gelöst und am Raman-Spektrometer vermessen. Die dritte Stelle wurde ohne weitere Vorbehandlung sofort vom Knorpel getrennt und am Raman-Spektrometer als Vergleichsstelle vermessen.

3.1.4 Hautpenetrationsuntersuchungen von Natriumdodecylsulfat

Abbildung 38 zeigt die Penetrationsprofile von 15%iger SDS-Lösung. Zu Vergleichszwecken wurden die Werte normiert, indem der höchste gemessene Werte mit 1 gleichgesetzt wurde.

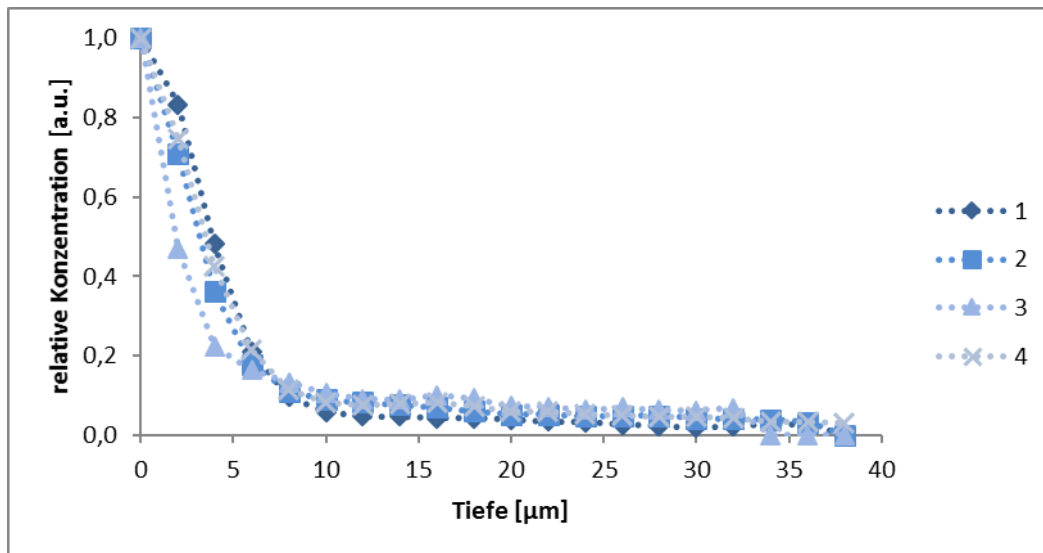


Abb. 38: Diagramm Penetration von SDS mit auf 1 normierter Konzentration

Mit einer Kombinationsmethode aus graphischen und mathematischen Verfahren wurde die Eindringtiefe bestimmt. Die Tiefe, an der die Konzentration einen gleichbleibenden Wert erreichte, begrenzt die maximale Penetrationstiefe. Für SDS wurde ein Wert von $16.0 \pm 4.62 \mu\text{m}$ errechnet.

3.1.5 Hautpenetrationsuntersuchungen von Natriumlaurylethersulfat

Die Ergebnisse der Untersuchungen der Penetrationstiefen von SLES wurden in der folgenden Abbildung, wie oben beschrieben, auf 1 normiert dargestellt.

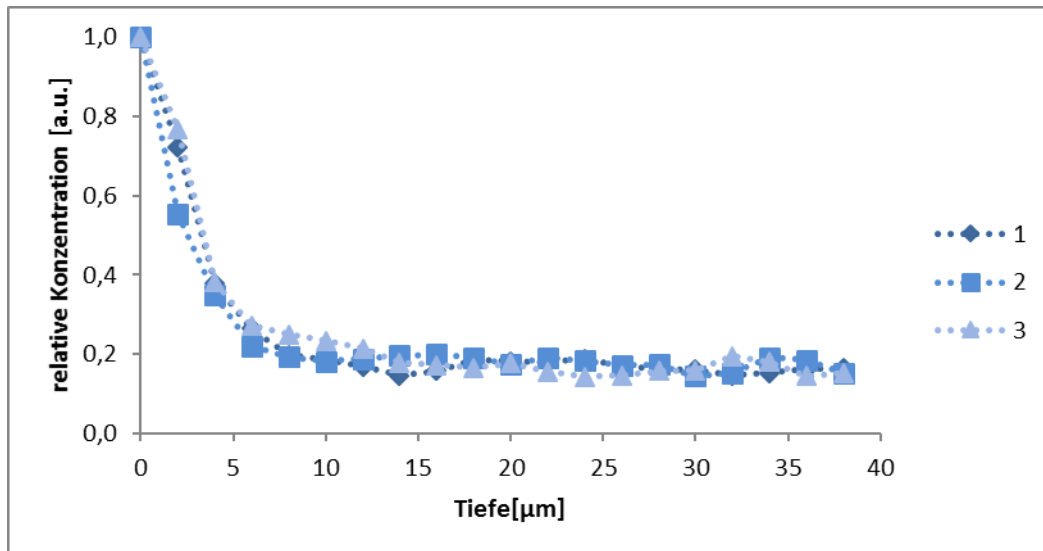


Abb. 39: Diagramm Penetration von SLES mit auf 1 normierter Konzentration

Für die Auswertung der SLES-Daten wurde die in Kapitel 3.1.4. beschriebene Vorgangsweise verwendet. Der Kurvenverlauf von SDS und SLES ähnelt sich sehr, doch die normierten Werte erreichen hier nicht 0, sondern bleiben konstant ab einem Wert von 0,2 a.u.. Dies kann durch das hohe Baseline-Signal der Haut erklärt werden, das eine Verschiebung der y-Achse verursacht. Für SLES wurde aus den Raman-Spektren eine Eindringtiefe von $14.0 \pm 4.00 \mu\text{m}$ errechnet.

3.1.6 Hautpenetrationsuntersuchung von Dimethylsulfoxid

Abbildung 40 zeigt die, wie in Kapitel 3.1.4 beschrieben, normierten Ergebnisse der Penetrationsuntersuchungen von DMSO.

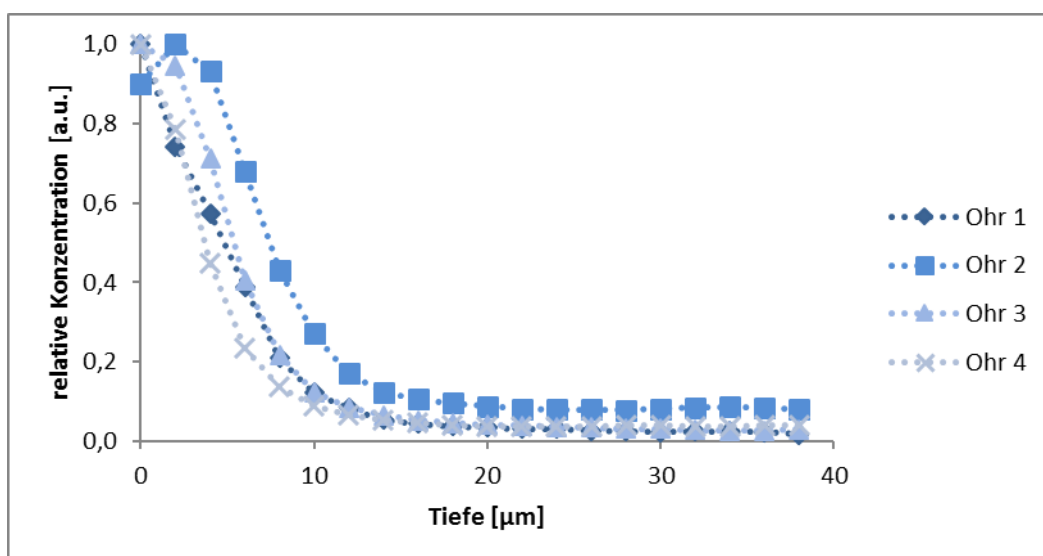


Abb. 40: Diagramm Penetration von DMSO mit auf 1 normierter Konzentration

Die Konzentrationskurve von DMSO unterschied sich deutlich von der der anderen Substanzen. Sie stieg anfangs an und sank danach kontinuierlich, aber deutlich langsamer als bei den anderen Substanzen. DMSO zeigte die tiefste Penetrationstiefe in die Haut. Diese liegt bei $21.5 \pm 1.91 \mu\text{m}$.

3.1.7 Hautpenetrationsuntersuchungen von Sulfathiazol

Abbildung 41 zeigt die, wie in Kapitel 3.1.4 beschrieben, normierten Ergebnisse der Penetrationsuntersuchungen von Sulfathiazol.

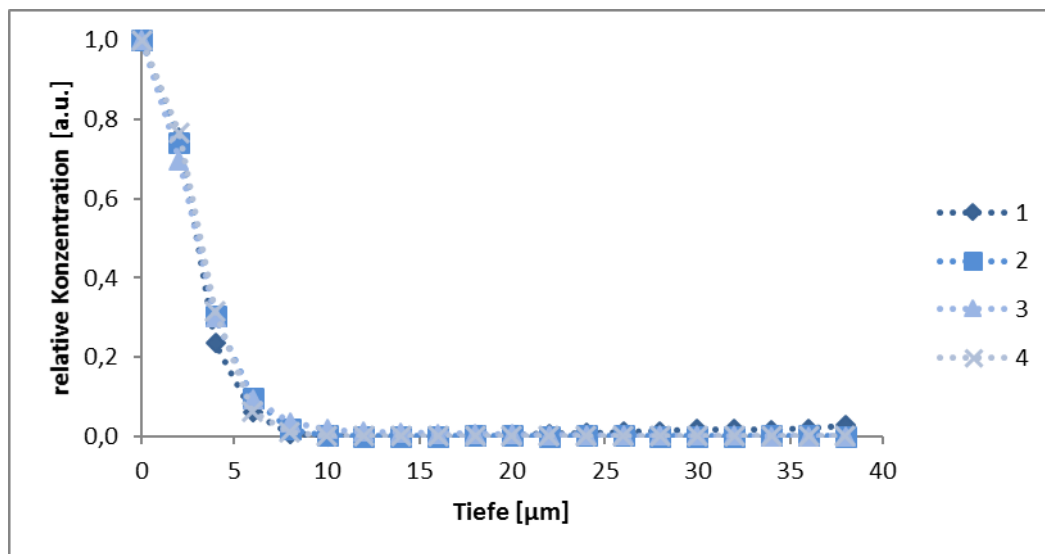


Abb. 41: Diagramm Penetration von Sulfathiazol mit auf 1 normierter Konzentration

Sulfathiazol zeigte erneut ein ähnliches Konzentrationsprofil wie SDS und SLES. Das Sulfonamid erreichte mit $12.0 \pm 2.83 \mu\text{m}$, von allen untersuchten Substanzen, die niedrigste Eindringtiefe in die Haut.

3.1.8 Wasserkonzentrationsprofil und SC-Dicke

Simultan zu den Untersuchungen der Penetrationstiefe wurden auch Wasserkonzentrationsprofile der mit dem Modellstoff behandelten Stelle, der mit destilliertem Wasser behandelten Stelle und der unbehandelten Stelle jeweils auf demselben Ohr aufgenommen.

An den unbehandelten Stellen wurde in den äußeren Hautschichten eine Wasserkonzentration von ca. 40% gemessen, die sich in den tieferen Zonen bis auf 60- 70% erhöhte.

Bei den hydrierten Stellen konnte eine erhöhte Wasserkonzentration in den äußeren Hautschichten gemessen werden. Sie lag an der Oberfläche bei ca. 57% und in

tieferen Schichten waren bis zu einer Tiefe von 6 bis 8 μm deutliche Unterschiede zu den unbehandelten Stellen zu erkennen.

SDS ist dafür bekannt eine dehydrierende Wirkung auf die Haut zu haben. Wie die folgende Abbildung jedoch zeigt, ist diese am Raman-Spektrum nicht sichtbar. Wahrscheinlich sorgte die Anwesenheit des destillierten Wassers in der 15%igen Lösung für eine Hydrierung, die den austrocknenden Effekt des SDS ausglich. Daher war hier kaum ein Unterschied zwischen der unbehandelten und der behandelten Haut zu sehen.

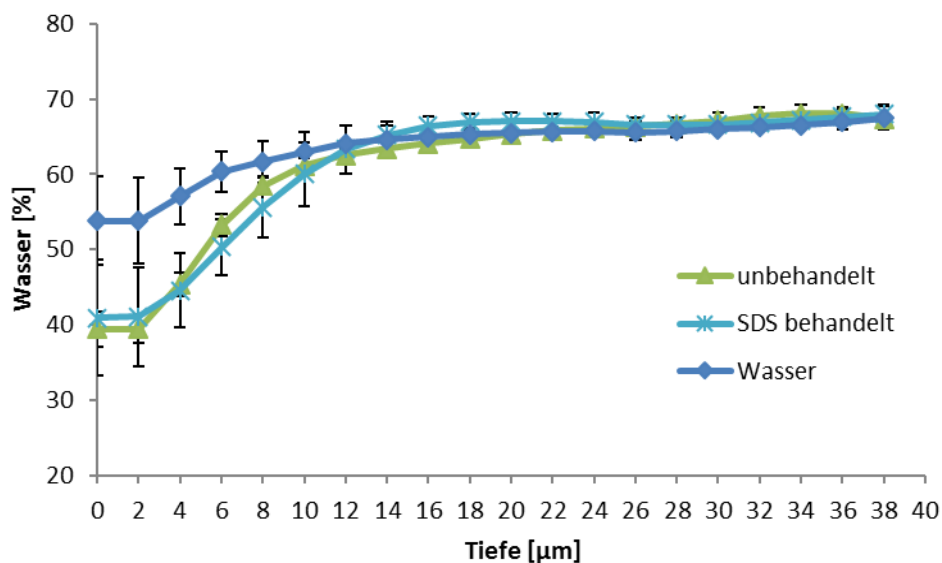


Abb. 42: Wasserkonzentrationsprofil der mit SDS behandelten Ohren

Bei den mit SLES behandelten Ohren zeigte sich ein leicht erhöhter Wassergehalt in den behandelten Stellen im Vergleich zu den unbehandelten. Bis in eine Tiefe von 10 μm war ein signifikanter Unterschied sichtbar. Das bewies ein geringeres Austrocknungspotential von SLES verglichen mit SDS.

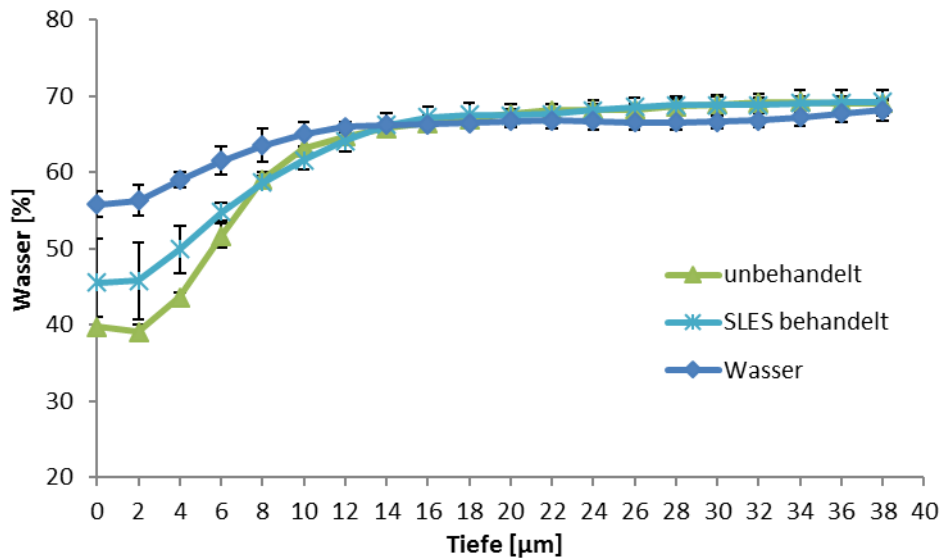


Abb. 43: Wasser Konzentrationsprofil der mit SLES behandelten Ohren

Bei den mit Sulfathiazol behandelten Ohren gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen behandelten, unbehandelten und hydrierten Stellen.

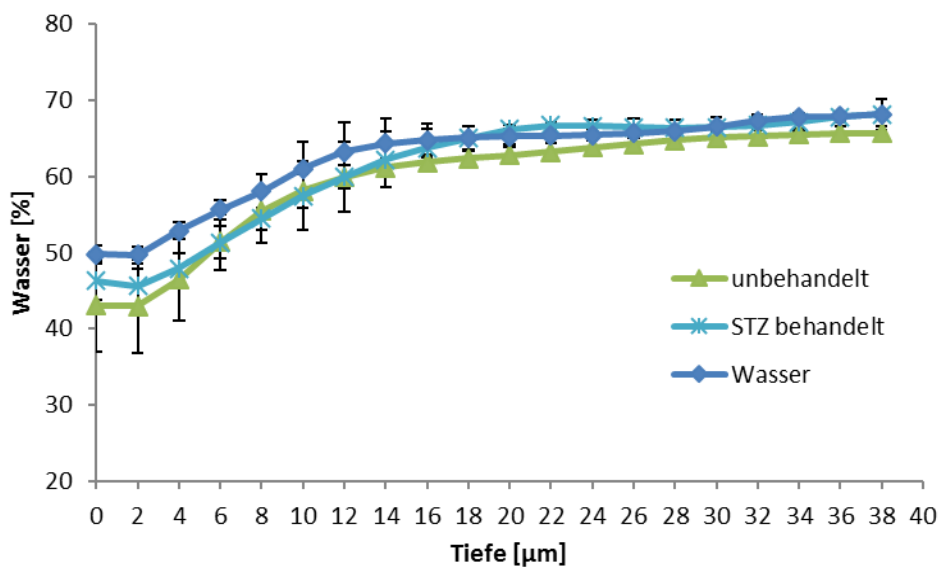


Abb. 44: Wasser Konzentrationsprofil der mit Sulfathiazol behandelten Ohren

Bei der Wasser Konzentrationskurve der mit DMSO behandelten Ohren zeigte sich die dehydrierende Wirkung von DMSO in höheren Konzentrationen. Die 80%ige DMSO-Lösung zeigte die größte dehydrierende Wirkung von allen untersuchten Substanzlösungen.

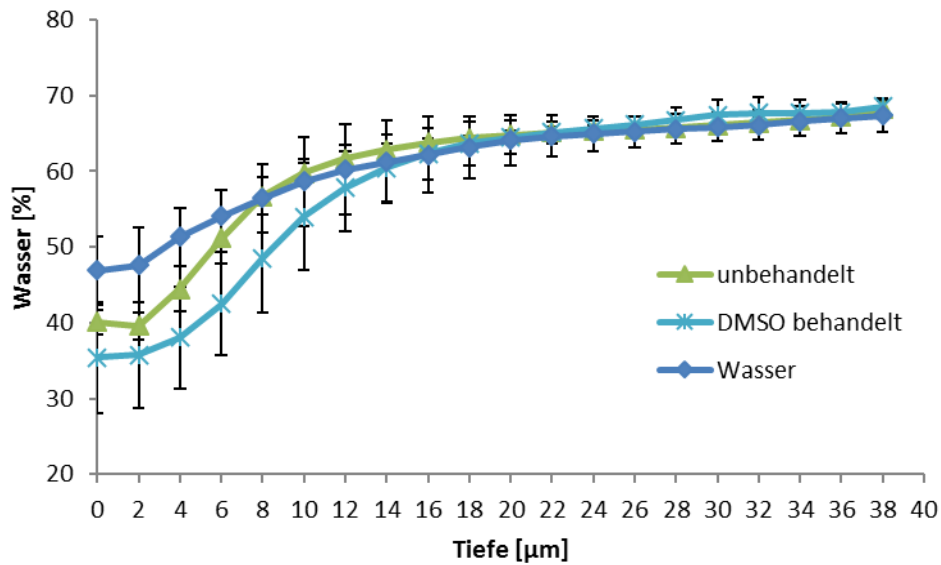


Abb. 45: Wasserkonzentrationsprofil der mit DMSO behandelten Ohren

Da die Wasserkonzentration der Korneozyten bekanntermaßen auch einen Einfluss auf die SC-Dicke hat, wurde auch diese, wie in Kapitel 2.3.4 beschrieben, berechnet. Die SC-Dicke war zwar an den, mit den Wasser-Substanz-Lösungen behandelten Stellen höher, es zeigte sich aber kein statistisch signifikanter Unterschied.

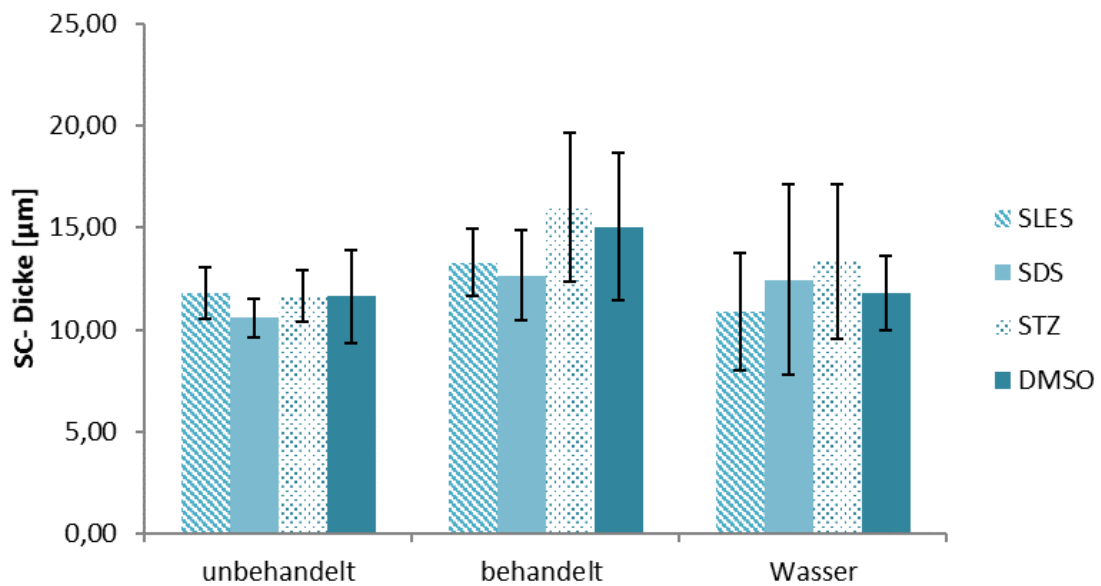


Abb. 46: Durchschnittliche SC-Dicke der unbehandelten, behandelten und hydrierten Stellen

3.2 Nanoemulsionen

3.2.1 Herstellung

Die Herstellung der Nanoemulsionen erfolgte in mehreren Arbeitsschritten. Zuerst wurde gereinigtes Wasser durch einen Membranfilter mit einer Porenweite von 22 μm filtriert, um einen höheren Reinheitsgrad zu gewährleisten. In diesem aufgereinigten Wasser wurden 0,2% Kaliumsorbat als Konservierungsmittel gelöst, um einen Schimmelpilzbefall zu verhindern. Danach wurde die abgewogene Menge an Lipoid S75 zugegeben. Diese Mischung wurde auf der Magnetrührplatte etwa 30 Minuten lang gerührt, bis sich Lipoid vollständig in der wässrigen Phase gelöst hatte. Anschließend wurde langsam die Ölphase, also F6H8, zugetropft um eine Phasentrennung zu verhindern. Nach etwa 10 Minuten wurde die Emulsion für 3 Minuten bei 10.000 rpm am Ultraturrax⁸ homogenisiert.

Mittels Hochdruckhomogenisator⁹ wurde die Tröpfchengröße der Emulsionen weiter verkleinert. Um dies zu erreichen wurden die Rohemulsionen bei 1000 bar für 10 Zyklen homogenisiert.



Abb. 47: Hochdruckhomogenisator

Nach der Herstellung wurden die Nanoemulsionen für die Dauer der Stabilitätsprüfung bei 4 °C im Kühlschrank gelagert.

⁸ Omni 5000, Omni International Kennesaw, USA

⁹ Emulsiflex-C3, Avestin, Mannheim, Germany

Die Blank-Nanoemulsionen bezeichnen jene Zubereitungen, die keinen Modellwirkstoff enthalten. Sie wurden jeweils im 3 fach Ansatz hergestellt.

Mischungsverhältnis in % (w/w)		
Inhaltsstoffe	S75_20/2	S75_40/2
S75	2	2
F6H8	20	40
Kaliumsorbat	0,2	0,2
Aqua dest.	77,8	57,8

Tab. 4: Bestandteile der Blank-Nanoemulsionen

Zu Vergleichszwecken wurde in einen weiteren 3 fach Ansatz der obigen Zubereitungen Diclofenac-Natrium eingearbeitet.

Mischungsverhältnis in % (w/w)		
Inhaltsstoffe	S75_20/2_Diclo	S75_40/2_Diclo
S75	2	2
F6H8	20	40
Kaliumsorbat	0,2	0,2
Diclofenac-Natrium	1	1
Aqua dest.	76,8	56,8

Tab. 5: Bestandteile der Nanoemulsionen mit Modellarzneistoff

3.2.2 Analytik mittels Tape-Stripping

Für die Analytik mittels Tape-Stripping wurden ebenfalls Schweineohren als Äquivalent zur menschlichen Haut verwendet. Hierfür wurde das Ohr wie in Kapitel 3.1.3 unter fließendem Wasser aufgetaut, abgetrocknet, der Knorpel entfernt und sorgfältig enthaart. Die benötigte Anzahl der Versuchsfelder mit Maßen von 2x2 cm wurden mittels Permanentmarker markiert. Durch eine TEWL-Messung mittels AquaFlux® wurde die Unversehrtheit der ausgewählten Stellen überprüft.

Anschließend wurde der Fingerling zum Auftragen der Formulierung auf die Haut mit einer kleinen Menge der Nanoemulsion vorgesättigt, um einem späteren Verlust durch das Auftragen entgegen zu wirken. Daraufhin wurden 40 µl der Zubereitung auf das Hautstück aufgetragen und mit dem gesättigten Fingerling eine Minute lang gleichmäßig verteilt und eingearbeitet. Anschließend wurde die Formulierung eine Stunde lang bei Raumtemperatur einwirken gelassen.

Nach Ablauf der Einwirkdauer wurde mögliche überschüssige Substanz leicht abgetupft und danach mittels Tape-Stripping-Verfahren schichtweise das Stratum corneum abgezogen. Dazu wurde ein ebenfalls 2x2 cm großer Tape-Strip¹⁰ auf die Haut aufgebracht und mit einem Druck von 5 kg mittels einer rollenden Daumenbewegung angedrückt. Der Anpressdruck wurde mit einer Waage überprüft. Danach wurde der Strip in einem Mal zügig abgezogen.

Es wurden pro Stelle 30 Strips abgezogen. Bei jedem Ohr wurden an einer Stelle mehr als 30 Strips gezogen, um das vollständige Stratum corneum zu entfernen und so seine Dicke zu bestimmen. Danach wurden an den Stellen erneut der TEWL gemessen. Der hierbei signifikant erhöhte Wasserverlust bestätigte einmal mehr die Wichtigkeit des Stratum corneum für die Hautbarriere.

3.2.2.1 NIR-Densitometrie

Die abgezogenen Strips wurden in vorbereitete Schablonen gelegt, um den Gehalt der darauf enthaltenen Korneozyten zu bestimmen. Dies erfolgte mittels NIR-Densitometer¹¹. Das Gerät misst bei einer Wellenlänge von 850 nm die Pseudoabsorption der in den Korneozyten enthaltenen Proteine. Der vom Gerät angezeigte Wert gibt die Pseudoabsorption (A) in % an, die nun in die Formel $m=A/0,224$ eingesetzt werden kann, um die Proteinmenge (m) zu bestimmen [60].



Abb. 48: NIR-Densitometer mit Schablone

Die NIR-Densitometrie stellt, neben der Raman-Spektrometrie, eine weitere Möglichkeit dar, um die Stratum corneum Dicke zu bestimmen.

¹⁰ Corneofix® Tape Strips, Ckelectronic Cologne, Germany

¹¹ SquameScan 850, Heiland electronic, Wetzlar, Germany

Nach der durchgeführten Messung, wurden die ersten 30 Strips jeder Stelle in 2 ml Eppendorfgefäße eingebracht. Für weitere Analysen mittels NMR-Spektroskopie und HPLC mussten die Strips eluiert werden. Dafür wurden jeweils die ersten 20 Strips mit 2 ml deuteriertem Methanol¹² versetzt. Die darauffolgenden Strips oder Strips, die nur für Messungen an der HPLC gedacht waren, wurden mit 2 ml Methanol versetzt.

Die Eppendorfgefäße wurden nach der Befüllung mit Methanol mitsamt der Probe für 12 Minuten am Ultraschallbad¹³ extrahiert. Danach erfolgte die Entfernung der Strips aus den Gefäßen. Anschließend wurde für 6 Minuten bei 12.500 U/min zentrifugiert. Die so behandelten Proben wurden schließlich entweder mittels NMR-Spektroskopie oder HPLC weiter analysiert.

3.2.2.2 HPLC und NMR

Für eine simultane Untersuchung der Penetrationstiefe der verschiedenen Inhaltsstoffe der Nanoemulsion wurden die Methoden der HPLC und des NMR herangezogen. Die Analytik wurde an der Zubereitung S75_20/2_Diclo durchgeführt.

Durch die HPLC erfolgte eine quantitative Bestimmung von Diclofenac-Natrium in der wässrigen Phase der Nanoemulsion. Durch den Probengehalt auf den abgezogenen Strips konnte so die Eindringtiefe in das Stratum corneum bestimmt werden.

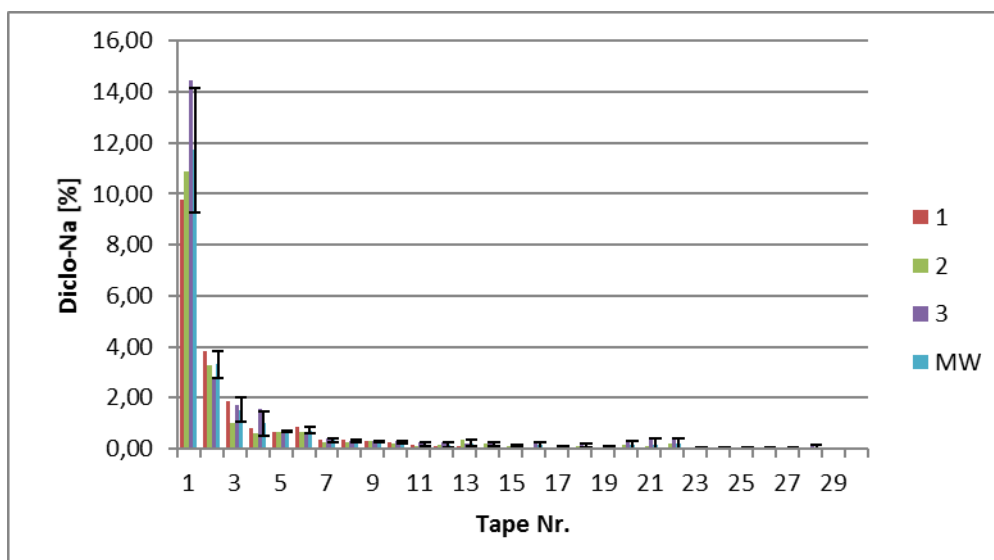


Abb. 49: Gehalt von Diclofenac-Natrium pro Tape-Strip in %

¹² Methanol OD, 99,00% D, Eurisotop®, St-Aubin Cedex, France

¹³ Starsonic 60, Liarre S.r.L., Casalfiumanese, Italy

Die ^{19}F -NMR-Analytik diente dazu die semifluorierten Alkane der Nanoemulsion in den Tape-Strips quantitativ zu erfassen. In einer Vorarbeit wurde die Reinsubstanz F6H8 auf seine Detektierbarkeit im ^{19}F -NMR-Spektroskop getestet. Dieses Verfahren wurde verwendet, um zu überprüfen, wie die Ölphase der Nanoemulsion in die Haut penetriert [61, 62].

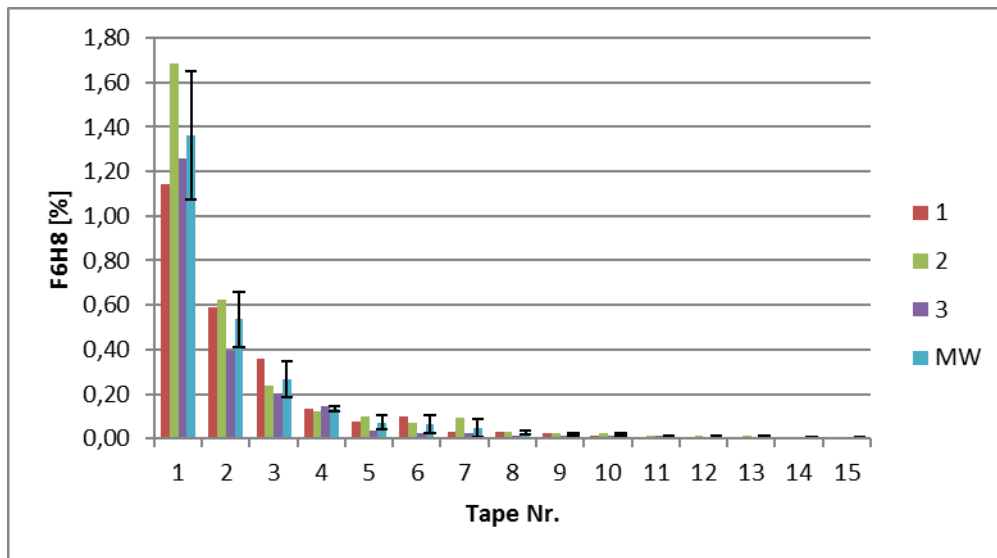


Abb. 50: Gehalt von F6H8 pro Tape-Strip in %

Anschließend an die Analytik der Strips wurde ein Vergleich der Penetrationstiefen der beiden Substanzen durchgeführt. Die folgenden Abbildungen 51 und 52 zeigen, dass Diclofenac-Natrium in einem größeren Ausmaß in die Haut penetriert, während F6H8 auf der Hautoberfläche verbleibt und nicht weit in die Haut eindringt.

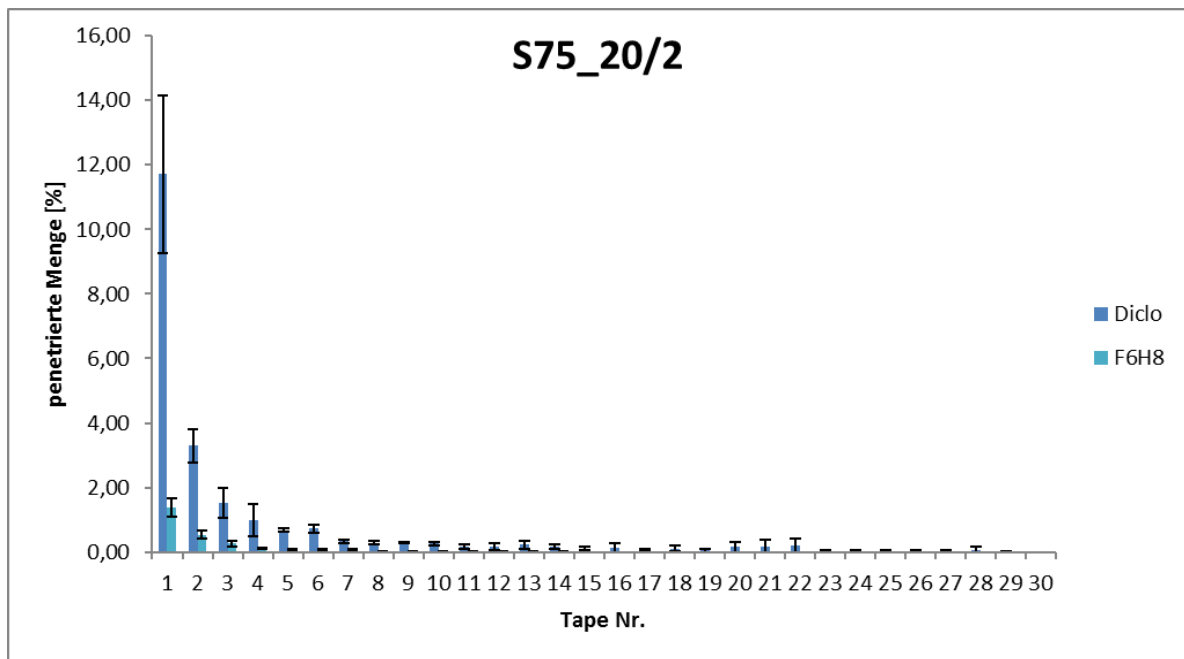


Abb. 51: Vergleich des Gehaltes von Diclofenac-Natrium und F6H8 pro Tape-Strip in %

Für eine bessere Darstellung wurden in der Abbildung 52 die Strips zu fünf in eine Gruppe zusammengefasst und deren Mittelwert dargestellt.

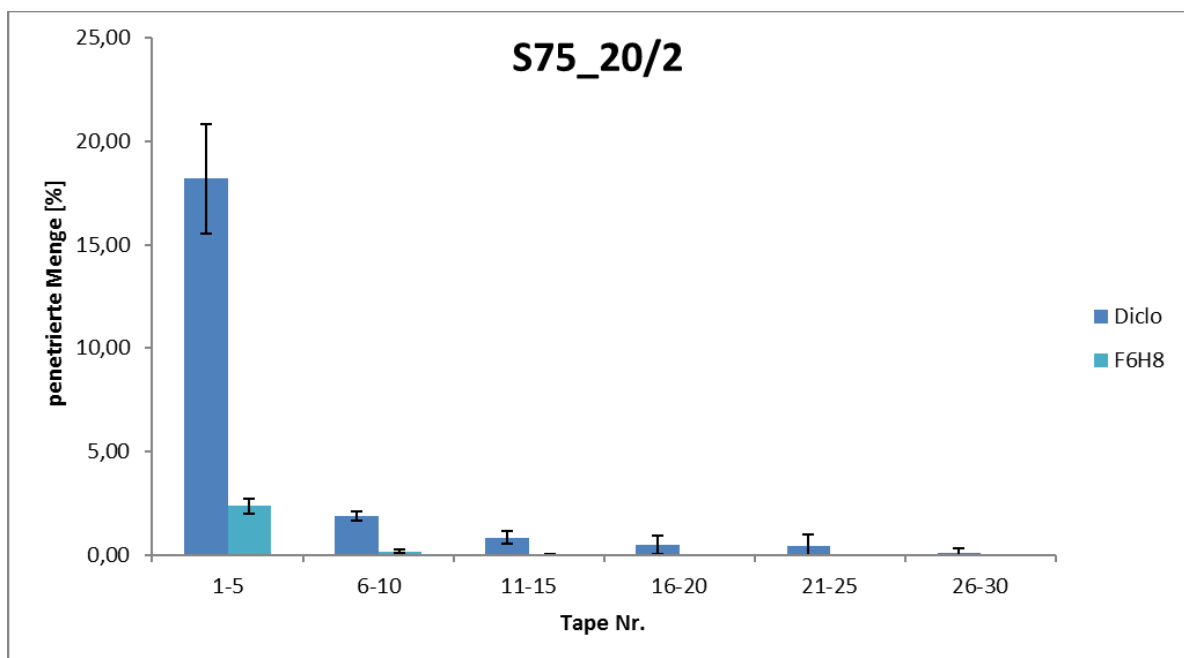


Abb. 52: Vergleich des Gehaltes von Diclofenac-Natrium und F6H8 pro 5 Tape-Strips in %

3.2.3 Stabilitätsuntersuchungen

Die Nanoemulsionen wurden über einen Zeitraum von 20 Wochen hinweg zuerst wöchentlich, dann ab Woche 12 alle zwei Wochen, im Hinblick auf ihre Stabilität untersucht. Am Tag der Herstellung erfolgten makroskopische, mikroskopische und rheologische Untersuchungen, sowie die Bestimmung des pH-Werts, der Partikelgröße, des Polydispersitätsindex und des Zetapotenzials. Die Messung der letzten drei Parameter erfolgte mittels Zetasizer¹⁴. Die Bestimmung des pH-Wertes und der rheologischen Eigenschaften, sowie die Charakterisierung mittels Zetasizer wurden auch in den folgenden Wochen durchgeführt.

3.2.3.1 Partikelgröße, PDI und Zetapotenzial

Für die Untersuchung mittels Zetasizer wurden 20 µl der Probe mit 1980 µl 0,01 mM NaCl-Lösung im Verhältnis 1:100 verdünnt. Danach wurde die Probe in eine geeignete Küvette pipettiert und vermessen.

Die Bestimmung der Partikelgröße erfolgte nach dem Prinzip der Lichtstreuung (dynamic light scattering = DLS). Aus einer Lichtquelle des Zetasizers durchwandert ein Lichtstrahl die in der Küvette enthaltene Probe und wird durch die Partikel gestreut. Dieses Streulicht wird von einem Detektor analysiert und mittels Auswertecomputer die Größe der streuenden Partikel errechnet [63].

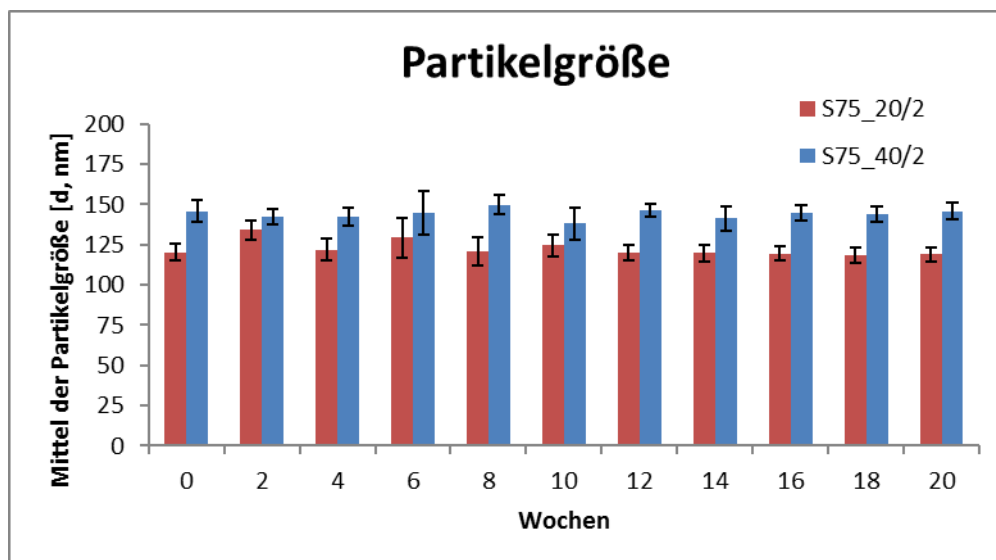


Abb. 53: Durchschnittliche Partikelgröße der Blank-Nanoemulsionen über 20 Wochen (n=3)

¹⁴ Malvern Zetasizer Nano ZS, Malvern, Worcestershire, UK

Die Abbildung 53 lässt erkennen, dass die Partikelgröße der Zubereitung S75_20/2 von Woche 0 mit 120,21 nm bis Woche 20 mit 118,97 nm konstant bleibt. Auch die zweite Blank-Zubereitung S75_40/2 blieb mit Werten von 145,88 nm in Woche 0 bis 145,84 nm in Woche 20 konstant in der Partikelgröße. Die wöchentlichen Werte sind im Anhang unter Kapitel 6.11. nachzulesen.

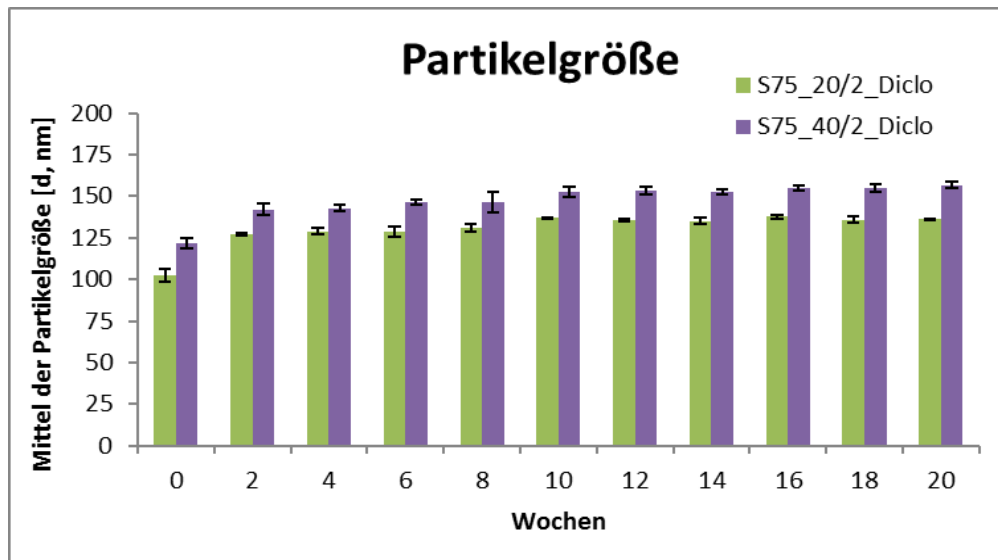


Abb. 54: Durchschnittliche Partikelgröße der Modellstoff-Nanoemulsionen über 20 Wochen (n=3)

In der Abbildung 54 zeigt sich, dass sowohl S75_20/2_Diclo (102,23 nm) als auch S75_40/2_Diclo (121,56 nm) von Woche 0 auf Woche 1 einen Anstieg der Partikelgröße aufwiesen. Danach blieben jedoch auch die Werte dieser Nanoemulsionen bis Woche 20 stabil. S75_20/2_Diclo wies eine Partikelgröße von 136,08nm und S75_40/2_Diclo von 156,74 nm auf.

Im direkten Vergleich lässt sich sagen, dass die Nanoemulsionen mit einem höheren Gehalt an F6H8 auch eine größere Partikelgröße aufwiesen.

Ob die vorher erfolgten Messungen der Partikelgröße einheitlich sind, beschreibt der Polydispersitätsindex (PDI). Bei einem PDI von 0, liegt eine monodisperse Verteilung vor. Das bedeutet, dass alle Partikel gleich groß sind. Der PDI einer Probe sollte daher immer so klein wie möglich sein. Auch die PDI-Bestimmung erfolgte mittels Zetasizer [63].

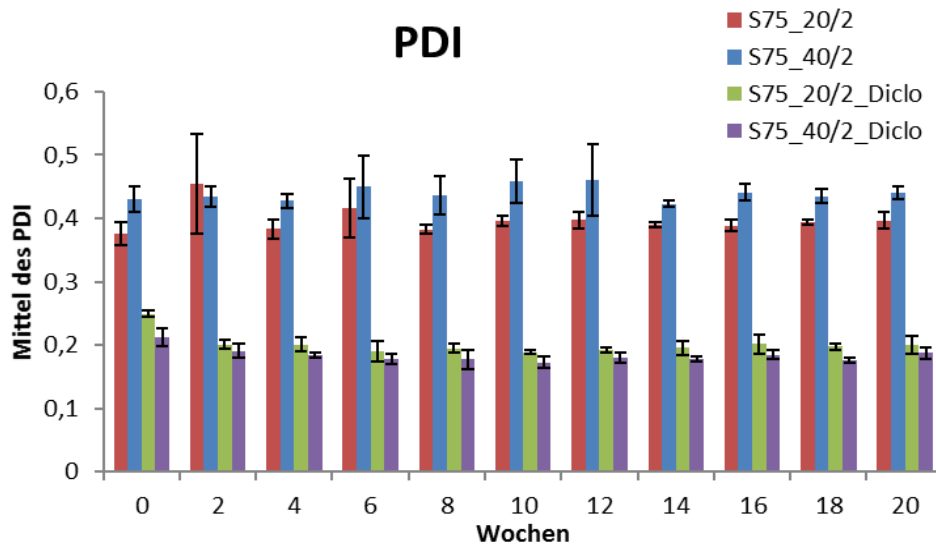


Abb. 55: Durchschnittlicher PDI der hergestellten Nanoemulsionen über 20 Wochen

Durch die obige Abbildung zeigt sich, dass der Polydispersitätsindex der Nanoemulsionen stark von der Formulierung abhängig war. Die Formulierungen mit Diclofenac-Natrium zeigten eine deutlich niedrigere Partikelgrößenverteilung bei ca. 0,2. Doch auch der PDI der Blank-Nanoemulsionen lag unter 0,5 und kann somit als ausreichend niedrig angesehen werden.

Eine weitere Eigenschaft der Nanoemulsionen, die mittels Zetasizer gemessen wurde, ist das Zetapotenzial. Es ist ein Maß der Größe der elektrostatischen Abstoßung bzw. der Anziehung zwischen den Partikeln in der Zubereitung und somit ein grundlegender Parameter, der die Stabilität beeinflusst. Diese erscheinen neutral, da sich an die negativ geladene Oberfläche positive Gegenionen der umgebenden Flüssigkeit anlagern. Für die Messung des Zetapotentials wird ein elektrisches Feld angelegt, was zur elektrophoretischen Bewegung und dadurch zur Ladungstrennung führt. Die so messbare Nettoladung an der Scherfläche wird als Zetapotenzial bestimmt. Ab einem Wert von -30 mV findet keine Aggregation mehr statt, daher können Zubereitungen mit -30 mV und darunter als stabil bezeichnet werden [63, 64].

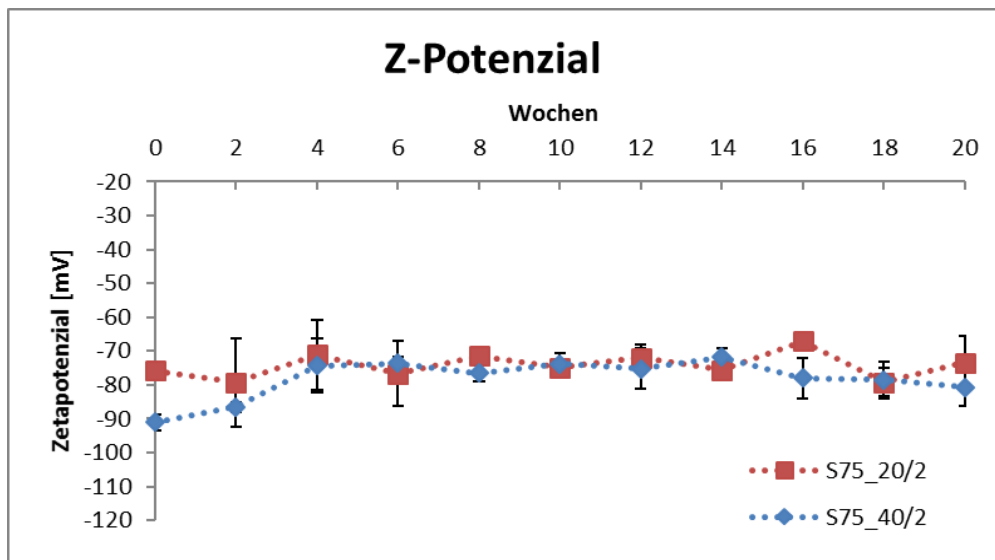


Abb. 56: Durchschnittliches Zetapotenzial der Blank-Nanoemulsionen (n=3)

Die Messwerte des Zetapotentials bei den beiden Blank-Nanoemulsionen ließen über 20 Wochen hinweg auf eine ausreichende Stabilität schließen. Die Werte von S75_20/2 betrugen bei Woche 0 -75,76 mV und bis Woche 20 -73,37 mV. Auch bei S75_40/2 blieb das Zetapotential mit Werten zwischen 91,09 mV und -80,67 mV über den gesamten Untersuchungszeitraum in einem ausreichend hohen Bereich.

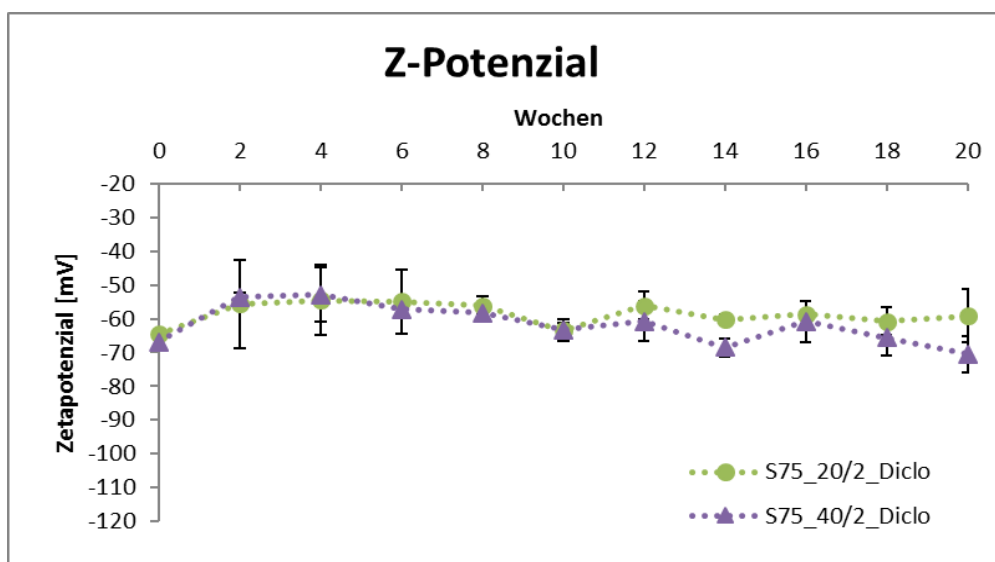


Abb. 57: Durchschnittliches Zetapotenzial der Modellstoff-Nanoemulsionen (n=3)

Die Abbildung 57 zeigt das Zetapotenzial der ebenfalls stabilen Nanoemulsionen mit Diclofenac-Natrium. Die in den ersten 10 Wochen sehr ähnlichen Werte zeigten schließlich gegen Ende der Untersuchungen erneut ein leicht sinkendes Zetapotenzial bei S75_40/2_Diclo. Bei S75_20/2_Diclo veränderte sich das Zetapotenzial von

-64,48 mV in Woche 0 auf -59,18 mV in Woche 20. Wie oben bereits erwähnt sanken die Werte bei S75_40/2_Diclo von -66,91 mV in Woche 0 auf -70,49 mV in Woche 20. Bei beiden Zubereitungen wurde damit die physikalische Stabilität bestätigt.

3.2.3.2 Rheologische Eigenschaften

Zusätzlich zu den Messungen am Zetasizer wurden auch die rheologischen Eigenschaften der Zubereitungen gemessen. Diese Untersuchungen wurden mittels Platte-Kegel-Verfahren¹⁵ an einem Rheometer¹⁶ durchgeführt. Als Rheologie bezeichnet man die Wissenschaft der Fließeigenschaften bzw. dem Fließverhalten von Flüssigkeiten und dem Deformationsverhalten von Feststoffen. Jede Flüssigkeit kann durch Krafteinwirkung verformt werden. Allerdings kann man unterscheiden, ob eine Flüssigkeit eine lineare (newtonsche Flüssigkeit) oder eine nicht lineare (nicht-newtonsche Flüssigkeit) Abhängigkeit zur Viskosität besitzt. [18, 24, 65].

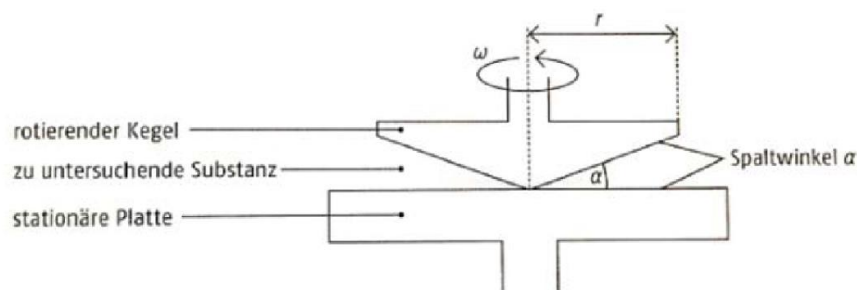


Abb. 58: Schematische Darstellung des Platte-Kegel-Verfahren [24]

Vor den Messungen wurde die Temperatur des Rheometers eingestellt und ein Motorabgleich auf den rotierenden Kegel durchgeführt. Um die Hauttemperatur zu simulieren, wurde die Platte auf 32 °C erhitzt. Die rheologischen Eigenschaften von Substanzen sind stark von der Temperatur abhängig. Für die Vergleichbarkeit der Messwerte muss diese immer exakt eingestellt sein. Danach wurde ein kleiner Teil der Zubereitungen, aufgrund ihrer geringen Viskosität, mittels Pipette auf die Platte aufgetragen. Durch Computersteuerung wurde nun der Messkegel auf die Probe herabgesenkt, sodass er vollständig mit der Probe in Kontakt kam. Eventuell darunter hervorquellende Reste wurden mit der Pipette entfernt.

¹⁵ CP25-2, Serial-No.: 26804, Anton Paar, Graz, Austria

¹⁶ Rheometer MCR 302, Anton Paar, Graz, Austria



Abb. 59: Rheometer ohne eingesetzten Kegel

Es folgte eine Bestimmung der Viskosität durch Messen der Fließkurve in drei Abschnitten. Im ersten wurde die Scherrate kontinuierlich von 1 s^{-1} auf 100 s^{-1} erhöht, womit sich auch die Schubspannung in der Probe erhöhte. Im zweiten Abschnitt wurden bei einer unveränderten Scherrate von 100 s^{-1} sechs Messungen durchgeführt. Im dritten Abschnitt wurde die Scherrate wieder auf 1 s^{-1} verringert. Die Viskosität der Proben ergab sich als Quotient von Scherrate und Schubspannung.

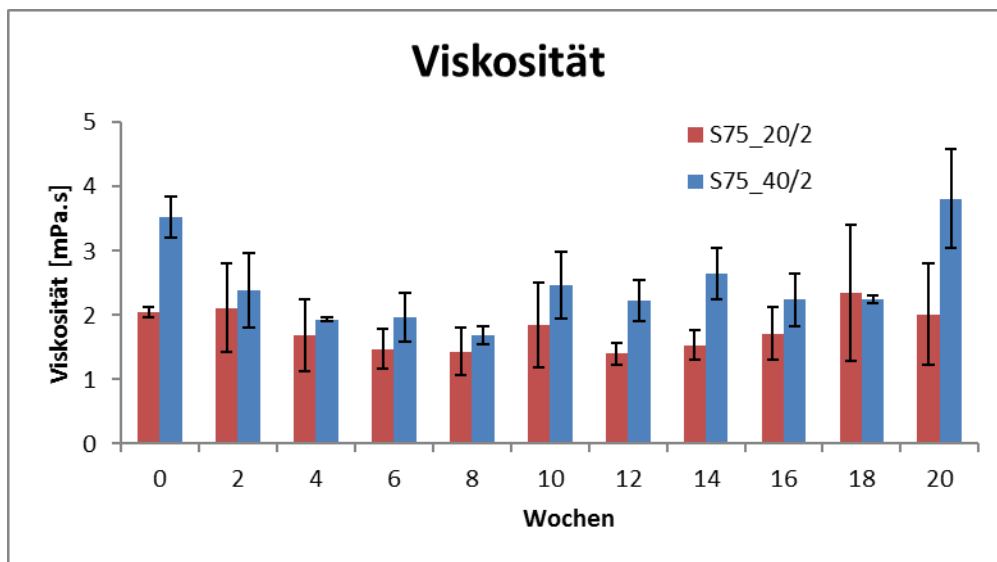


Abb. 60: Durchschnittliche Viskosität der Blank-Nanoemulsionen bei einer Scherrate von 10 s^{-1} über 20 Wochen ($n=3$)

Wie aus Abbildung 60 ablesbar, schwankten die Messwerte bei den Zubereitungen um $0,1 - 1 \text{ mPa.s}$ bei S75_20/2 und um $0,1 - 0,7 \text{ mPa.s}$ bei S75_40/2. Dies war durch die

sehr niedrige Viskosität der Nanoemulsionen zu erklären. Im direkten Vergleich betrachtet, war die Viskosität der Zubereitungen mit größerem F6H8 Anteil höher.

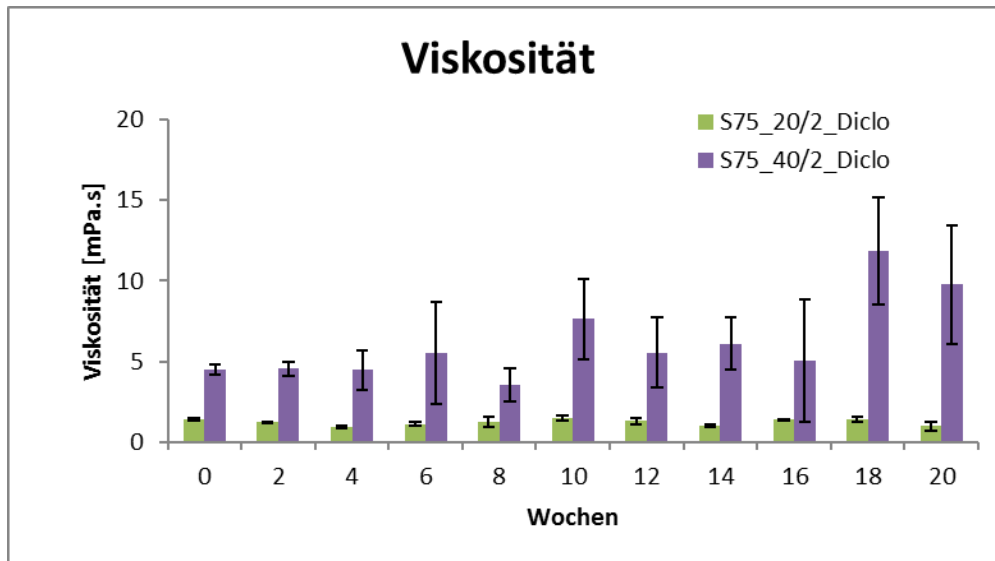


Abb. 61: Durchschnittliche Viskosität der Modellstoff-Nanoemulsionen bei einer Scherrate von 10 s^{-1} über 20 Wochen ($n=3$)

Die Viskosität der Nanoemulsionen mit Diclofenac-Natrium war mit Werten um 10 mPa.s etwas höher, als von Zubereitungen ohne Modellstoff. Auch hier konnten leichte Schwankungen durch die geringe Viskosität erklärt werden.

3.2.3.3 pH-Wert

Die Bestimmung des pH- Wertes ist eine weitere, im Laufe dieser Arbeit angewendete Methode zur Charakterisierung und Stabilitätsüberprüfung der Nanoemulsionen. Vor jeder Verwendung wurde das pH-Meter¹⁷ mit der dazugehörigen Pufferlösung¹⁸ kalibriert. Anschließend erfolgte die Messung des pH-Wertes bei Raumtemperatur.

¹⁷ Orion 420A Bartelt

¹⁸ Orion Application Solution pH 7,00 und pH 4,00, Thermo Fischer Scientific

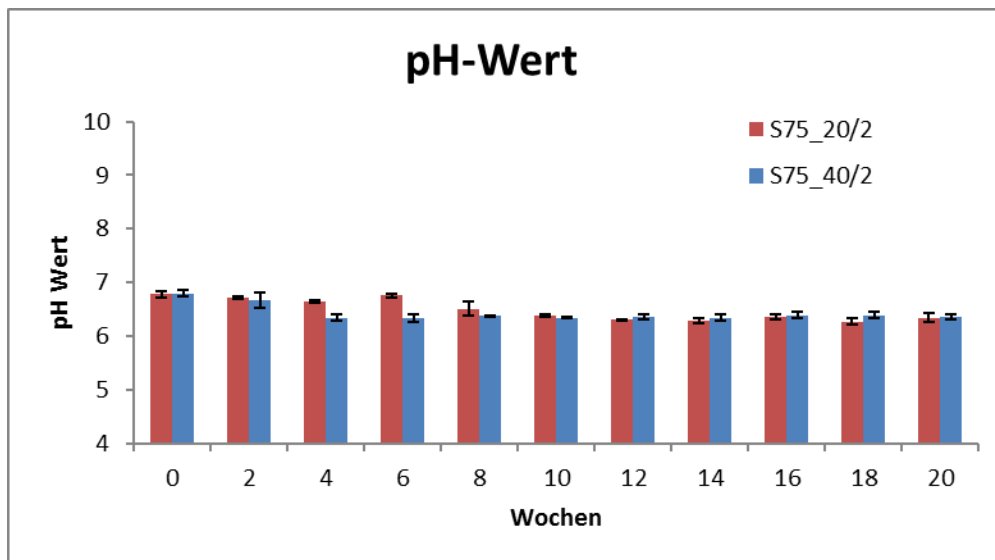


Abb. 62: Durchschnittlicher pH-Wert der Blank-Nanoemulsionen über 20 Wochen (n=3)

Der gemessene pH-Wert der Zubereitungen blieb wie aus Abbildung 62 ersichtlich eine Zeit lang nahezu konstant, bevor er leicht absank. Bei S75_20/2 hatte er einen Wert von 6,78 in Woche 0 und 6,34 in Woche 20. Bei der Formulierung S75_40/2 ergaben sich Werte von 6,79 in Woche 0 und 6,34 in Woche 20.

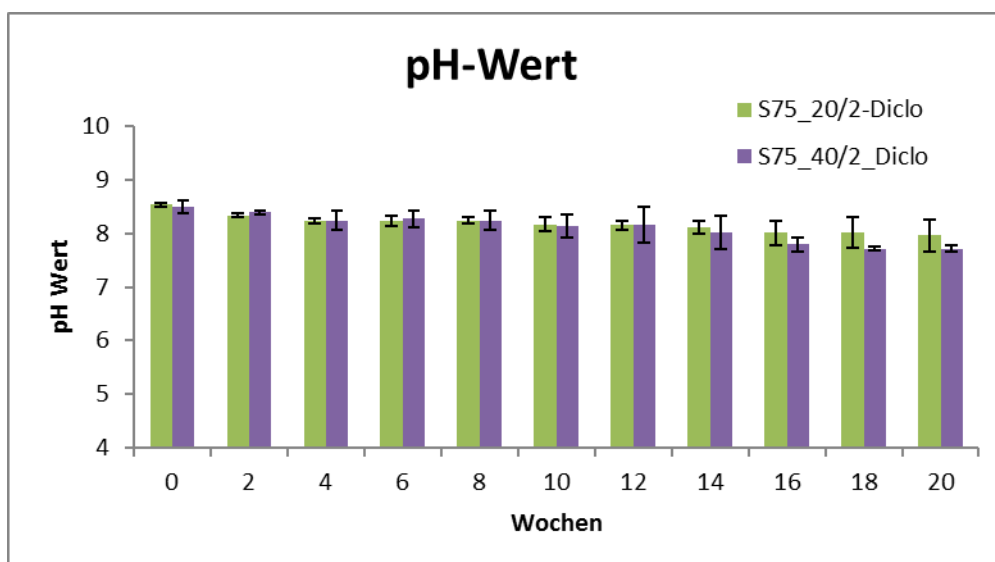


Abb. 63: Durchschnittlicher pH-Wert der Modellstoff-Nanoemulsionen über 20 Wochen (n=3)

Durch das Einarbeiten von Diclofenac-Natrium in die Nanoemulsion stieg der pH-Wert in Woche 0 bei der Formulierung S75_20/2_Diclo auf 8,54 und bei S75_40/2_Diclo auf 8,49. Über den Lauf der folgenden Wochen sank er auch hier ein wenig ab. In Woche 20 betrug der pH-Wert von S75_20/2_Diclo 7,96 und von S75_40/2_Diclo 7,72.

4 Diskussion

Im Zuge dieser Diplomarbeit wurde, mittels Raman-Spektroskopie, die Hautpenetration verschiedener Substanzen untersucht. Zur Bestimmung geeigneter Messparameter wurden Spektren mit unterschiedlicher Belichtungszeit (Exposure-Time) und in unterschiedlichen Abständen aufgenommen. Aufgrund der Ergebnisse dieser Versuche wurden für Messungen mit dem High-Wave-Number-Laser eine Exposure-Time von 2 Sekunden und für den Fingerprint-Laser von 5 Sekunden festgelegt. Bei den „Step“ Einstellungen wurden 2 μm festgelegt. Diese Parameter erschienen für die Messungen der Penetrationstiefe von Substanzen am Raman-Spektrometer optimal, da auch andere Studien ähnliche Einstellungen verwendeten [66].

Um eine Auswahl an Substanzen treffen zu können, wurden Vorversuche durchgeführt. Diese sollten zeigen, ob die Substanzen Peaks im Raman-Spektrum liefern, die nicht von den dominanten Hautpeaks überlagert werden. Solche charakteristischen Peaks, die eindeutig sichtbar waren, wiesen unter anderem SDS, SLES, DMSO und Sulfathiazol auf. Dies bestätigte die Eignung der ausgewählten Substanzen für die Untersuchungen am Raman-Spektrometer. Für die Erstellung der Spektren wurden jeweils 15%ige wässrige Lösungen von SDS, SLES und Sulfathiazol und eine 80%igen Lösung von DMSO hergestellt.

Im Laufe dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass mit Hilfe der neu etablierten Methode der Raman-Spektrometrie die Penetration von allen vier untersuchten Stoffen nachverfolgt werden kann. Es wurden Penetrationsprofile erstellt, um die Penetrationstiefen der einzelnen Substanzen zu bestimmen.

Die Hautpenetrationsuntersuchungen von SDS zeigten eine Eindringtiefe von $16.0 \pm 4.62 \mu\text{m}$. Die Abhängigkeit der Penetration, sowohl in vivo als auch in vitro, von der aufgetragenen Menge ist ebenfalls bekannt [67]. SDS ist häufig in Cremes zur Applikation bei trockener Haut und Ekzemen enthalten. Vorherige Studien zeigten jedoch, dass SDS, bei beschädigtem Stratum corneum, eine signifikant höhere Penetrationstiefe in die Haut aufweist. Dadurch konnte die irritierende Wirkung weiter verstärkt werden [68].

Die Untersuchungen der Auswirkungen von SLES auf die Haut ergaben ein ähnliches Penetrationsprofil wie bei SDS. Die Konzentrationsverläufe der zwei Tenside ähnelten

sich sehr. Die Eindringtiefe von SLES lag mit $14.0 \pm 4.00 \mu\text{m}$ etwas unter derjenigen von SDS.

Der Konzentrationsverlauf von DMSO in den Hautpenetrationsuntersuchungen unterschied sich grundlegend von dem der anderen Substanzen. Die Penetration von DMSO erfolgte in Schüben. Nach einer anfänglichen höheren Penetration nahm sie wieder deutlich ab. Dennoch war bis eine Tiefe von $21.5 \pm 1.91 \mu\text{m}$ DMSO nachweisbar. Damit wies DMSO die tiefste Hautpenetration von allen untersuchten Substanzen auf.

Sulfathiazol zeigte im Raman-Spektrometer die geringste Eindringtiefe mit $12.0 \pm 2.83 \mu\text{m}$. Der Konzentrationsverlauf ähnelte dem von SDS und SLES.

Neben der Untersuchung der Hautpenetration wurden simultan auch die Auswirkungen der Substanzlösungen auf den Wassergehalt der Haut mittels Raman-Spektrometrie untersucht. Da Wasser sich nicht störend auf die Aufnahme eines Raman-Spektrums auswirkt, konnten die Substanzlösungen problemlos mit dem HWVN-Laser vermessen werden [5]. Aus den erstellten Wasserkonzentrationsprofilen ließ sich neben dem Wassergehalt auch die Dicke des Stratum corneum, wie in Kapitel 2.3.4 beschrieben, ableiten.

Mittels Raman-Spektrometer konnte die austrocknende Wirkung von SDS auf das Stratum corneum nachgewiesen werden. Es zeigte sich jedoch auch, dass das Wasser in der 15%igen SDS-Lösung ausreichte um einen hydrierenden Effekt zu bewirken, der die Austrocknung durch SDS ausglich. Bei SLES-behandelten Stellen zeigte das Erstellen eines Wasserkonzentrationsprofils, dass sie einen etwas höheren Wassergehalt aufwiesen. Dies lässt auf das geringere Austrocknungspotential von SLES gegenüber SDS schließen.

Unter allen untersuchten Substanzlösungen wies die 80%ige DMSO-Lösung den größten dehydrierenden Effekt auf. Dieser kann auf den hohen Gehalt an DMSO in der Lösung zurückzuführen sein. Hohe Dosen von DMSO akkumulieren in den hydrophilen Kopfgruppen der Lipid-Doppelschicht und schwächen so die lateralen Bindungen zwischen den Ceramiden. So verflüssigt DMSO die Hautlipide und sorgt für eine verstärkte Penetration [69].

Sulfathiazol zählt nicht zu den Tensiden oder Penetrationsförderern wie die übrigen untersuchten Substanzen [25]. Das antibiotische Sulfonamid zeigte von allen Modellstoffen den geringsten Einfluss auf den Wassergehalt des Stratum corneum. Dies unterstreicht erneut die charakteristische, austrocknende Wirkung von Tensiden und Penetrationsförderern auf die menschliche Haut.

Eine simultan stattfindende Versuchsreihe am ATR-FTIR, mit den gleichen Stoffen im selben Lösungsverhältnis und gleicher Probenvorbereitung, zeigte die Vergleichbarkeit der Methode mit der Raman-Spektroskopie [70].

Der zweite Teil der Diplomarbeit befasste sich mit der Herstellung, dem Penetrationsverhalten und der Stabilitätsprüfung von Nanoemulsionen mit semifluorierten Alkanen. In Stabilitätsprüfungen wurden die rheologischen Eigenschaften, die Partikelgröße, der Polydispersitätsindex, das Zetapotenzial und der pH-Wert über 20 Wochen hinweg bestimmt. Die Messungen zeigten, dass die Zubereitungen, trotz einiger leichter Schwankungen, stabil waren. Jedoch wiesen die Zubereitungen mit dem Modellstoff Diclofenac-Natrium einen höheren pH-Wert bis über 8 auf. Da für Formulierungen zur dermalen Anwendung ein pH-Wert von ungefähr 5,5 wünschenswert ist, ist dieser erhöhte Wert nicht ideal und sollte in weiteren Untersuchungen berücksichtigt werden.

Die Verwendung von semifluorierten Alkanen, als Ölphase der Nanoemulsion, ermöglicht ihre Detektion mittels ^{19}F -NMR. Die simultane Analyse der abgezogenen Tape-Strips mittels HPLC und ^{19}F -NMR zeigte die unterschiedlichen Penetrationstiefen der Nanoemulsionskomponenten. Während Diclofenac-Natrium bis in die Tape-Strips 16-30 nachzuweisen war, blieb F6H8 an der Hautoberfläche und war in den Tape-Strips 11-15 nur mehr minimal nachweisbar. Bereits geringe Mengen F6H8 erhöhten die Eindringtiefe von Diclofenac-Natrium in die Haut. Die Ursache dieses Effekts sind wahrscheinlich die, von F6H8 geschaffenen, okklusiven Bedingungen auf der Hautoberfläche [55].

5 Zusammenfassung

Seit dem Einsatz der Lasertechnologie in der Raman-Spektroskopie, rückte diese Analyseverfahren immer mehr in den Vordergrund der pharmazeutischen Wissenschaften. Im ersten Teil dieser Diplomarbeit wurden verschiedene Substanzen auf ihre Penetrationsfähigkeit in die Haut mittels Raman-Spektroskopie vermessen.

Die optimalen Parameter für die Hautpenetrationsuntersuchungen wurden durch eine Reihe von Vorversuchen ermittelt. Aufgrund dieser Versuche wurden die Messungen mit dem High-Wave-Number-Laser bei einer Exposure-Time von 2 Sekunden und mit dem Fingerprint-Laser von 5 Sekunden durchgeführt. Es wurde ein Raman-Spektrometer vom Typ des gen2-SCA Skin Composition Analyzer der Firma RiverDiagnostics verwendet.

Als Modellsubstanzen für die Penetrationsuntersuchungen wurden SDS, SLES, DMSO und Sulfathiazol ausgewählt, da sie charakteristische Peaks aufwiesen, die klar von den dominanten Hautpeaks differenzierbar sind. Die ermittelten Penetrationstiefen waren für SDS $16.0 \pm 4.62 \mu\text{m}$, für SLES $14.0 \pm 4.00 \mu\text{m}$, für DMSO $21.5 \pm 1.91 \mu\text{m}$ und für Sulfathiazol $12.0 \pm 2.83 \mu\text{m}$. Weiters konnten die Untersuchungen bestätigen, dass der austrocknende Effekt der Tenside SDS und SLES auf die Haut, auch mittels Raman-Spektrometer erkennbar war. Zusätzlich dazu wurde bei DMSO, in höheren Konzentrationen, eine stark dehydrierende Wirkung auf die Haut festgestellt. Im Gegenteil dazu zeigte das Auftragen von Sulfathiazol keine Auswirkungen auf den Wassergehalt der Haut.

Die oberste Schicht der Haut, das Stratum corneum, ist für die Barrierefunktion dieses Organs essentiell. Seine Dicke verändert sich abhängig vom Wassergehalt seiner Zellen. Die Arbeit untersuchte, ob die, durch das Auftragen der Modellsubstanzen entstandenen, unterschiedlichen Hydrierungsgrade mittels Raman-Spektroskopie detektierbar sind. Die Messungen zeigten, dass in den obersten Hautschichten, bis etwa 6-10 μm Tiefe, statistisch signifikante Veränderungen sichtbar waren.

Der zweite Teil dieser Arbeit beschäftigte sich mit der Herstellung, dem Penetrationsvermögen und der Stabilitätsprüfung von Nano- oder Submikronemulsionen mit semifluorierten Alkanen. Hierfür wurden zwei Formulierungen ohne und zwei mit Modellarzneistoff jeweils in einem 3 fachen Ansatz hergestellt. Aufgrund der guten Wasserlöslichkeit wurde Diclofenac-Natrium

ausgewählt, das in die O/W-Nanoemulsionen eingearbeitet wurde. Die Herstellung erfolgte auf einer Magnetrührplatte, gefolgt von der Bearbeitung mittels Ultra-Turrax und mittels Hochdruckhomogenisator. Als semifluoriertes Alkan diente hier F6H8, das die Ölphase bildete.

Über einen Zeitraum von 20 Wochen wurde, zunächst wöchentlich und später alle zwei Wochen, die Stabilität der Zubereitungen überprüft. Dies erfolgte makroskopisch, und durch Bestimmung der Partikelgröße, des Polydispersitätsindex, des Zetapotenzials, der rheologischen Eigenschaften und des pH-Werts. Trotz kleinerer Schwankungen können alle Zubereitungen als stabil angesehen werden. Durch den Einsatz eines Konservierungsmittels kam es auch zu keiner mikrobiellen Kontamination.

Mit den frisch hergestellten Nanoemulsionen wurden Tape-Stripping-Versuche durchgeführt, die danach simultan mittels HPLC und ^{19}F -NMR analysiert wurden. Dieses Vorgehen diente dazu, die Eindringtiefen der Wasserphase und der Ölphase der Zubereitungen simultan zu untersuchen. Diclofenac-Natrium wurde mittels HPLC in tieferen Hautschichten nachgewiesen, während das durch die NMR-Analytik in den Strips quantifizierte F6H8 eher auf der Hautoberfläche verblieb.

6 Anhang

6.1 Hautpenetrationsuntersuchungen

Tiefe [µm]	Ohr 1 [a.u.]	Ohr 2 [a.u.]	Ohr 3 [a.u.]	Ohr 4 [a.u.]	MW	SD
0	3825,68	3947,83	2004,44	3707,11	3371,27	916,50
2	3185,60	2793,30	938,20	2769,91	2421,75	1007,25
4	1842,43	1429,55	449,78	1577,49	1324,81	607,84
6	809,24	705,74	328,26	793,79	659,26	225,32
8	369,39	434,04	267,60	428,78	374,95	77,34
10	222,66	351,14	210,46	307,94	273,05	67,75
12	182,56	327,17	183,44	278,69	242,96	72,01
14	177,91	303,38	180,23	287,44	237,24	67,49
16	163,15	272,80	201,64	299,19	234,20	62,77
18	161,33	236,43	186,33	271,26	213,84	49,40
20	148,92	204,72	147,29	224,86	181,45	39,38
22	131,39	203,06	142,70	218,24	173,85	43,19
24	123,58	186,36	125,85	197,27	158,27	39,01
26	100,26	191,99	138,58	185,42	154,06	43,04
28	89,46	192,11	128,14	166,00	143,93	44,81
30	68,49	170,11	125,03	171,23	133,72	48,52
32	87,36	159,87	136,77	161,28	136,32	34,52
34	98,48	151,21	0,00	123,01	93,18	65,75
36	100,73	127,38	0,00	123,90	88,00	59,85
38	0,00	0,00	0,00	114,03	28,51	57,01

Tab. 6: FP-Messwerte von SDS-behandelter Haut

Tiefe [µm]	Ohr 1	Ohr 2	Ohr 3	Ohr 4
0	1,00	1,00	1,00	1,00
2	0,83	0,71	0,47	0,75
4	0,48	0,36	0,22	0,43
6	0,21	0,18	0,16	0,21
8	0,10	0,11	0,13	0,12
10	0,06	0,09	0,10	0,08
12	0,05	0,08	0,09	0,08
14	0,05	0,08	0,09	0,08
16	0,04	0,07	0,10	0,08
18	0,04	0,06	0,09	0,07
20	0,04	0,05	0,07	0,06
22	0,03	0,05	0,07	0,06
24	0,03	0,05	0,06	0,05
26	0,03	0,05	0,07	0,05
28	0,02	0,05	0,06	0,04
30	0,02	0,04	0,06	0,05
32	0,02	0,04	0,07	0,04
34	0,03	0,04	0,00	0,03
36	0,03	0,03	0,00	0,03
38	0,00	0,00	0,00	0,03

Tab. 7: SDS-Messwerte auf 1 normiert

Tiefe [µm]	Ohr 1 [a.u.]	Ohr 2 [a.u.]	Ohr 3 [a.u.]	MW	SD
0	882,50	1025,66	1147,85	1018,67	132,81
2	636,40	566,43	879,51	694,11	164,33
4	333,29	357,77	436,56	375,87	53,96
6	233,72	226,28	312,51	257,50	47,78
8	174,84	198,08	286,33	219,75	58,82
10	162,55	186,76	268,87	206,06	55,72
12	149,07	193,48	244,89	195,81	47,95
14	129,57	201,66	204,37	178,53	42,43
16	138,39	204,68	197,80	180,29	36,45
18	165,29	196,03	189,38	183,57	16,17
20	160,82	178,63	202,31	180,59	20,81
22	159,04	195,89	179,22	178,05	18,45
24	165,99	188,04	164,73	172,92	13,11
26	148,99	176,91	168,05	164,65	14,26
28	143,15	178,33	179,79	167,09	20,75
30	141,79	148,65	181,61	157,35	21,29
32	129,47	156,04	223,18	169,56	48,30
34	134,48	195,60	207,32	179,13	39,11
36	143,38	189,71	166,18	166,42	23,16
38	145,08	154,57	175,83	158,49	15,74

Tab. 8: FP-Messwerte von SLES-behandelter Haut

Tiefe [µm]	Ohr 1	Ohr 2	Ohr 3
0	1,00	1,00	1,00
2	0,72	0,55	0,77
4	0,38	0,35	0,38
6	0,26	0,22	0,27
8	0,20	0,19	0,25
10	0,18	0,18	0,23
12	0,17	0,19	0,21
14	0,15	0,20	0,18
16	0,16	0,20	0,17
18	0,19	0,19	0,16
20	0,18	0,17	0,18
22	0,18	0,19	0,16
24	0,19	0,18	0,14
26	0,17	0,17	0,15
28	0,16	0,17	0,16
30	0,16	0,14	0,16
32	0,15	0,15	0,19
34	0,15	0,19	0,18
36	0,16	0,18	0,14
38	0,16	0,15	0,15

Tab. 9: SLES-Messwerte auf 1 normiert

Tiefe [µm]	Ohr 1 [a.u.]	Ohr 2 [a.u.]	Ohr 3 [a.u.]	Ohr 4 [a.u.]	MW	SD
0	840,06	395,41	312,54	205,22	438,31	278,92
2	623,29	439,09	295,97	161,05	379,85	198,06
4	481,65	409,21	222,46	92,26	301,40	177,09
6	327,29	298,63	126,75	48,41	200,27	134,51
8	176,25	189,64	67,90	28,32	115,53	79,69
10	101,77	118,90	38,45	18,35	69,37	48,52
12	69,57	74,51	26,26	13,34	45,92	30,68
14	45,72	53,84	20,15	10,77	32,62	20,45
16	36,63	46,31	16,32	9,56	27,21	17,16
18	31,76	41,86	14,27	8,46	24,09	15,44
20	28,64	38,25	12,83	7,69	21,85	14,11
22	26,62	35,71	12,22	7,57	20,53	12,97
24	25,42	34,85	11,31	7,67	19,81	12,61
26	22,57	34,78	10,47	7,83	18,91	12,37
28	20,34	34,42	9,74	8,47	18,24	12,03
30	19,68	35,81	9,87	8,39	18,44	12,62
32	20,77	37,25	8,82	7,64	18,62	13,76
34	20,28	38,05	8,34	7,55	18,56	14,24
36	19,37	37,32	8,23	8,11	18,26	13,76
38	13,43	35,21	9,05	8,43	16,53	12,65

Tab. 10: FP-Messwerte von DMSO-behandelter Haut

Tiefe [µm]	Ohr 1	Ohr 2	Ohr 3	Ohr 4
0	1,00	0,90	1,00	1,00
2	0,74	1,00	0,95	0,78
4	0,57	0,93	0,71	0,45
6	0,39	0,68	0,41	0,24
8	0,21	0,43	0,22	0,14
10	0,12	0,27	0,12	0,09
12	0,08	0,17	0,08	0,07
14	0,05	0,12	0,06	0,05
16	0,04	0,11	0,05	0,05
18	0,04	0,10	0,05	0,04
20	0,03	0,09	0,04	0,04
22	0,03	0,08	0,04	0,04
24	0,03	0,08	0,04	0,04
26	0,03	0,08	0,03	0,04
28	0,02	0,08	0,03	0,04
30	0,02	0,08	0,03	0,04
32	0,02	0,08	0,03	0,04
34	0,02	0,09	0,03	0,04
36	0,02	0,08	0,03	0,04
38	0,02	0,08	0,03	0,04

Tab. 11: DMSO-Messwerte auf 1 normiert

Tiefe [µm]	Ohr 1 [a.u.]	Ohr 2 [a.u.]	Ohr 3 [a.u.]	Ohr 4 [a.u.]	MW	SD
0	8672,27	12708,32	23811,26	10023,03	13803,72	6879,34
2	6533,93	9407,14	16582,70	7686,74	10052,63	4510,62
4	2033,17	3847,92	7156,19	3159,73	4049,25	2202,23
6	517,87	1233,84	2234,48	623,50	1152,42	787,38
8	57,43	234,85	851,03	101,41	311,18	367,72
10	0,00	33,20	448,93	8,61	122,69	217,95
12	0,00	7,36	286,67	0,00	73,51	142,15
14	0,90	0,20	226,10	0,00	56,80	112,87
16	7,78	5,28	175,76	0,00	47,21	85,76
18	19,52	22,22	142,59	0,93	46,32	64,88
20	25,63	13,54	106,48	2,58	37,06	47,23
22	56,66	1,92	79,16	0,00	34,44	39,74
24	71,01	14,96	75,99	0,00	40,49	38,66
26	96,61	13,19	56,18	0,12	41,53	43,84
28	116,92	3,34	43,84	0,35	41,11	54,29
30	158,81	6,61	46,92	1,89	53,56	73,02
32	161,83	6,74	29,75	2,30	50,16	75,42
34	148,48	19,58	16,51	0,00	46,14	68,76
36	170,22	15,49	1,46	0,00	46,79	82,58
38	244,44	0,00	0,00	0,00	61,11	122,22

Tab. 12: FP-Messwerte von Sulfathiazol-behandelter Haut

Tiefe [µm]	Ohr 1	Ohr 2	Ohr 3	Ohr 4
0	1,00	1,00	1,00	1,00
2	0,75	0,74	0,70	0,77
4	0,23	0,30	0,30	0,32
6	0,06	0,10	0,09	0,06
8	0,01	0,02	0,04	0,01
10	0,00	0,00	0,02	0,00
12	0,00	0,00	0,01	0,00
14	0,00	0,00	0,01	0,00
16	0,00	0,00	0,01	0,00
18	0,00	0,00	0,01	0,00
20	0,00	0,00	0,00	0,00
22	0,01	0,00	0,00	0,00
24	0,01	0,00	0,00	0,00
26	0,01	0,00	0,00	0,00
28	0,01	0,00	0,00	0,00
30	0,02	0,00	0,00	0,00
32	0,02	0,00	0,00	0,00
34	0,02	0,00	0,00	0,00
36	0,02	0,00	0,00	0,00
38	0,03	0,00	0,00	0,00

Tab. 13: Sulfathiazol-Messwerte auf 1 normiert

Mittelwerte der Eindringtiefen:

	SLES	SDS	STZ	DMSO
Einzelwerte	14,0	12,0	10,0	22,0
	10,0	20,0	10,0	24,0
	18,0	12,0	12,0	20,0
		20,0	16,0	20,0
Mean	14,0	16,0	12,0	21,5
SD	4,00	4,62	2,83	1,91

Tab. 14: Errechnete Eindringtiefen der einzelnen Substanzen

6.2 Wasserkonzentrationsprofile

Natriumdodecylsulfat:

Tiefe [µm]	Ohr 1 [%]	Ohr 2 [%]	Ohr 3 [%]	Ohr 4 [%]	MW	SD
0	39,15	42,09	31,92	50,54	40,93	7,70
2	38,46	41,88	34,19	49,72	41,06	6,57
4	41,27	45,53	40,38	51,06	44,56	4,88
6	46,54	50,89	48,66	55,17	50,31	3,69
8	50,33	56,26	55,77	60,17	55,63	4,05
10	53,95	61,19	61,26	63,75	60,04	4,23
12	58,51	64,82	64,31	65,59	63,30	3,24
14	62,77	66,86	65,22	66,12	65,24	1,78
16	65,03	67,92	65,97	66,68	66,40	1,22
18	65,95	68,25	66,14	67,34	66,92	1,08
20	65,58	68,13	66,32	68,02	67,01	1,27
22	65,55	67,67	67,26	67,62	67,03	1,00
24	65,32	67,17	68,11	67,29	66,97	1,18
26	65,27	66,84	67,44	67,00	66,64	0,95
28	65,60	66,74	67,09	66,83	66,56	0,66
30	66,04	66,57	67,14	66,65	66,60	0,45
32	66,55	66,87	67,37	66,60	66,85	0,38
34	66,56	67,42	67,55	67,18	67,18	0,44
36	66,35	67,98	67,67	68,52	67,63	0,92
38	66,30	68,24	67,85	69,44	67,96	1,30

Tab. 15: Wasserkonzentrationsprofil der SDS-behandelten Stellen

Tiefe [µm]	Ohr 1 [%]	Ohr 2 [%]	Ohr 3 [%]	Ohr 4 [%]	MW	SD
0	41,00	38,00	36,96	41,65	39,40	2,27
2	40,78	38,26	37,36	41,43	39,46	1,96
4	47,38	44,60	43,95	45,62	45,39	1,50
6	55,53	52,24	52,57	52,70	53,26	1,52
8	60,14	58,00	58,17	57,65	58,49	1,12
10	62,21	61,31	61,09	59,97	61,14	0,92
12	63,24	62,86	62,78	61,19	62,52	0,90
14	63,66	63,98	63,91	62,11	63,42	0,88
16	64,37	64,62	64,53	62,86	64,10	0,83
18	64,92	65,01	65,07	63,67	64,67	0,67
20	65,55	65,36	65,84	64,61	65,34	0,52
22	65,99	65,40	66,44	65,32	65,78	0,53
24	66,47	65,79	66,54	65,47	66,07	0,52
26	67,18	66,17	66,20	65,84	66,35	0,58
28	67,76	66,50	65,81	66,77	66,71	0,81
30	68,09	66,76	65,82	67,88	67,14	1,06
32	68,71	67,31	66,28	68,72	67,75	1,19
34	68,98	67,39	66,79	68,99	68,04	1,12
36	68,92	67,55	67,21	68,78	68,11	0,86
38	67,20		66,94	67,97	67,37	0,54

Tab. 16: Wasserkonzentrationsprofil der unbehandelten Stellen

Tiefe [µm]	Ohr 1 [%]	Ohr 2 [%]	Ohr 3 [%]	Ohr 4 [%]	MW	SD
0	56,95	49,68	48,20	60,51	53,83	5,87
2	56,60	49,74	48,40	60,48	53,80	5,72
4	58,05	53,52	54,94	61,88	57,09	3,71
6	59,40	57,01	61,67	63,28	60,34	2,73
8	59,30	59,52	65,26	62,54	61,65	2,82
10	60,03	62,02	66,25	63,75	63,01	2,64
12	61,36	63,41	66,79	64,87	64,11	2,30
14	62,31	64,27	66,92	64,96	64,62	1,90
16	63,19	64,98	66,79	64,95	64,98	1,47
18	64,24	65,35	66,16	65,34	65,27	0,79
20	65,04	65,50	65,82	65,60	65,49	0,33
22	65,52	65,28	66,02	65,85	65,67	0,33
24	65,48	64,70	66,21	66,61	65,75	0,84
26	65,15	64,42	65,87	66,89	65,58	1,06
28	65,49	64,82	65,80	66,87	65,75	0,86
30	66,00	65,47	66,07	66,31	65,96	0,36
32	66,45	66,05	66,48	66,02	66,25	0,25
34	66,21	66,70	66,41	66,91	66,56	0,31
36	65,93	67,13	66,44	68,47	66,99	1,10
38	66,23	67,17	66,76	69,79	67,49	1,58

Tab. 17: Wasserkonzentrationsprofil der hydrierten Stellen

Natriumlaurylethersulfat:

Tiefe [µm]	Ohr 1 [%]	Ohr 2 [%]	Ohr 3 [%]	MW	SD
0	52,05	43,16	41,32	45,51	5,74
2	51,53	43,70	42,14	45,79	5,03
4	53,44	48,43	47,76	49,88	3,11
6	56,14	54,11	54,05	54,77	1,19
8	58,47	59,54	57,85	58,62	0,85
10	60,39	62,87	61,49	61,58	1,24
12	62,74	65,58	63,92	64,08	1,43
14	65,38	67,94	65,34	66,22	1,49
16	66,74	68,80	66,10	67,21	1,41
18	66,83	69,31	66,43	67,52	1,56
20	66,70	69,12	66,67	67,50	1,40
22	66,97	69,13	66,91	67,67	1,27
24	67,51	69,62	67,23	68,12	1,30
26	68,06	69,99	67,70	68,59	1,23
28	68,23	70,10	68,11	68,81	1,12
30	67,98	69,98	68,53	68,83	1,03
32	67,80	69,81	68,86	68,82	1,01
34	68,13	70,03	68,99	69,05	0,95
36	68,65	69,98	68,82	69,15	0,72
38	69,25	69,53	68,94	69,24	0,29

Tab. 18: Wasserkonzentrationsprofil der SLES-behandelten Stellen

Tiefe [µm]	Ohr 1 [%]	Ohr 2 [%]	Ohr 3 [%]	MW	SD
0	40,02	40,87	38,38	39,76	1,27
2	39,67	39,62	37,85	39,05	1,04
4	44,23	43,32	43,19	43,58	0,57
6	52,71	49,79	52,44	51,65	1,61
8	59,78	58,10	59,43	59,10	0,89
10	62,91	63,23	63,33	63,16	0,22
12	64,18	64,82	65,19	64,73	0,51
14	64,89	65,42	67,02	65,78	1,11
16	65,76	65,93	67,66	66,45	1,05
18	66,96	66,37	67,65	67,00	0,64
20	68,21	66,95	67,75	67,64	0,64
22	68,98	67,32	68,21	68,17	0,83
24	68,78	67,30	68,54	68,21	0,79
26	68,85	67,46	68,24	68,19	0,69
28	69,55	67,47	68,81	68,61	1,06
30	69,72	67,62	69,43	68,92	1,14
32	69,47	67,89	70,14	69,17	1,15
34	68,99	67,89	70,83	69,24	1,49
36	68,71	67,59	70,88	69,06	1,67
38	68,80	67,63	70,87	69,10	1,64

Tab. 19: Wasserkonzentrationsprofil der unbehandelten Stellen

Tiefe [μm]	Ohr 1 [%]	Ohr 2 [%]	Ohr 3 [%]	MW	SD
0	56,83	56,74	53,85	55,80	1,69
2	57,31	57,64	53,94	56,29	2,05
4	60,05	58,10	58,68	58,94	1,00
6	61,26	59,83	63,48	61,52	1,84
8	62,20	62,36	66,01	63,52	2,16
10	64,32	63,97	66,89	65,06	1,59
12	65,87	65,40	66,55	65,94	0,58
14	66,46	66,25	65,90	66,20	0,28
16	66,75	66,50	65,67	66,31	0,57
18	67,13	66,28	66,04	66,49	0,57
20	67,39	65,99	66,66	66,68	0,70
22	67,57	65,48	67,40	66,82	1,16
24	67,63	65,40	67,08	66,71	1,16
26	67,36	65,38	66,98	66,57	1,05
28	67,11	65,38	67,13	66,54	1,00
30	67,11	65,64	67,09	66,62	0,84
32	67,49	65,84	67,16	66,83	0,87
34	68,07	65,99	67,53	67,20	1,08
36	68,43	66,47	68,20	67,70	1,07
38	68,84	66,50	68,96	68,10	1,39

Tab. 20: Wasserkonzentrationsprofil der hydrierten Stellen

Dimethylsulfoxid:

Tiefe [µm]	Ohr 1 [%]	Ohr 2 [%]	Ohr 3 [%]	Ohr 4 [%]	MW	SD
0	33,66	26,20	38,52	43,21	35,40	7,27
2	33,72	26,98	39,01	43,29	35,75	7,04
4	34,01	30,96	41,80	45,35	38,03	6,68
6	35,99	37,62	46,24	50,23	42,52	6,83
8	39,70	46,31	51,60	56,56	48,54	7,23
10	44,37	53,74	57,00	60,91	54,01	7,06
12	49,69	57,88	60,87	62,73	57,79	5,76
14	54,17	60,17	63,23	64,11	60,42	4,50
16	57,63	61,83	64,30	65,48	62,31	3,47
18	60,01	62,93	65,11	66,71	63,69	2,90
20	61,76	63,67	65,69	66,90	64,51	2,26
22	63,36	64,46	66,11	66,52	65,11	1,47
24	64,60	64,94	66,57	66,56	65,67	1,05
26	64,98	65,35	67,12	67,08	66,13	1,13
28	64,82	66,11	67,92	68,21	66,77	1,60
30	64,77	66,89	69,00	69,10	67,44	2,05
32	65,11	67,13	69,70	68,83	67,69	2,03
34	65,65	67,16	69,65	68,50	67,74	1,73
36	66,14	67,72	68,99	68,43	67,82	1,23
38	67,21	69,02	69,46	68,62	68,58	0,97

Tab. 21: Wasserkonzentrationsprofil der DMSO-behandelten Stellen

Tiefe [µm]	Ohr 1 [%]	Ohr 2 [%]	Ohr 3 [%]	Ohr 4 [%]	MW	SD
0	37,84	40,10	41,18	41,33	40,11	1,61
2	37,09	39,57	40,24	41,43	39,58	1,83
4	41,63	43,26	44,35	48,62	44,47	2,99
6	49,33	49,15	49,79	56,09	51,09	3,34
8	56,60	55,04	54,89	60,22	56,69	2,48
10	60,33	58,32	58,35	62,03	59,76	1,78
12	61,81	60,41	61,20	63,03	61,61	1,11
14	63,13	61,83	62,67	63,76	62,85	0,81
16	63,98	63,03	63,79	64,27	63,77	0,53
18	64,78	64,00	64,35	64,42	64,39	0,32
20	65,47	64,32	64,80	64,72	64,83	0,48
22	66,03	64,29	65,40	64,99	65,18	0,73
24	66,09	64,51	65,50	65,18	65,32	0,66
26	66,10	65,02	65,45	65,21	65,45	0,47
28	66,12	65,74	65,36	65,61	65,71	0,32
30	65,71	66,42	65,62	66,53	66,07	0,47
32	65,62	66,70	65,86	67,35	66,38	0,79
34	65,77	67,10	66,36	67,72	66,74	0,85
36	66,10	67,89	67,02	67,70	67,18	0,81
38	67,36	67,83	69,74	67,97	68,23	1,04

Tab. 22: Wasserkonzentrationsprofil der unbehandelten Stellen

Tiefe [µm]	Ohr 1 [%]	Ohr 2 [%]	Ohr 3 [%]	Ohr 4 [%]	MW	SD
0	46,60	53,31	44,26	43,35	46,88	4,50
2	47,09	54,71	44,72	44,05	47,64	4,89
4	49,45	57,14	49,64	49,06	51,32	3,89
6	50,13	58,52	53,43	54,20	54,07	3,45
8	49,81	59,85	57,11	58,99	56,44	4,57
10	50,05	61,85	60,16	62,47	58,63	5,80
12	51,39	63,31	62,37	63,91	60,25	5,94
14	53,04	64,34	63,26	64,43	61,27	5,51
16	54,77	65,08	63,88	64,99	62,18	4,97
18	57,06	65,81	64,33	65,44	63,16	4,12
20	59,16	66,49	64,80	65,97	64,11	3,37
22	60,60	66,24	65,45	66,31	64,65	2,73
24	61,57	65,98	66,17	66,26	65,00	2,29
26	62,15	65,74	66,70	66,30	65,22	2,09
28	62,74	65,87	66,88	66,85	65,59	1,95
30	63,03	66,44	66,58	67,21	65,82	1,89
32	63,24	67,08	67,02	67,07	66,10	1,91
34	63,65	67,64	67,71	67,52	66,63	1,99
36	64,13	67,44	68,27	68,16	67,00	1,95
38	64,22	67,45	68,90	68,79	67,34	2,18

Tab. 23: Wasserkonzentrationsprofil der hydrierten Stellen

Sulfathiazol:

Tiefe [µm]	Ohr 1 [%]	Ohr 2 [%]	Ohr 3 [%]	Ohr 4 [%]	MW	SD
0	46,31	48,94	46,77	43,07	46,27	2,42
2	45,94	48,29	45,36	42,74	45,58	2,28
4	48,49	49,90	47,99	45,15	47,88	1,99
6	51,87	52,35	52,74	48,16	51,28	2,11
8	54,32	55,92	57,61	49,99	54,46	3,27
10	56,39	59,47	62,10	51,62	57,40	4,50
12	58,77	62,34	64,46	54,08	59,91	4,54
14	61,74	63,82	65,88	57,38	62,21	3,63
16	64,24	64,08	66,31	60,30	63,73	2,50
18	65,91	64,44	66,46	63,13	64,99	1,50
20	66,68	65,64	66,69	65,54	66,14	0,63
22	67,15	66,41	66,73	66,36	66,66	0,36
24	67,64	66,18	66,70	65,79	66,58	0,80
26	67,97	65,78	66,42	65,51	66,42	1,10
28	67,93	65,42	66,25	65,65	66,31	1,13
30	68,26	65,28	66,22	65,80	66,39	1,30
32	68,75	65,60	66,43	66,03	66,70	1,41
34	68,78	66,18	66,86	66,53	67,09	1,16
36	68,73	67,21	67,86	67,20	67,75	0,72
38	69,61	65,41	69,81	67,71	68,14	2,05

Tab. 24: Wasserkonzentrationsprofil der Sulfathiazol-behandelten Stellen

Tiefe [µm]	Ohr 1 [%]	Ohr 2 [%]	Ohr 3 [%]	Ohr 4 [%]	MW	SD
0	49,21	45,51	42,36	35,09	43,04	6,00
2	49,47	45,63	41,73	35,13	42,99	6,12
4	51,88	49,25	45,11	39,60	46,46	5,36
6	53,99	53,81	51,24	46,30	51,34	3,58
8	55,77	57,68	56,33	51,93	55,43	2,47
10	57,49	60,48	58,95	55,38	58,08	2,17
12	59,28	61,60	60,52	58,12	59,88	1,51
14	60,58	62,54	61,49	59,95	61,14	1,13
16	61,21	63,03	62,25	60,91	61,85	0,97
18	61,58	63,57	62,72	61,39	62,32	1,02
20	62,27	64,11	63,04	61,66	62,77	1,06
22	62,96	64,61	63,34	61,96	63,22	1,10
24	63,69	64,94	64,02	62,38	63,76	1,06
26	64,35	65,32	64,57	62,79	64,26	1,06
28	65,05	65,52	65,16	63,16	64,72	1,06
30	65,24	65,95	65,42	63,64	65,06	1,00
32	65,35	66,14	65,20	64,28	65,24	0,76
34	65,83	66,35	65,01	64,74	65,48	0,74
36	66,44	66,54	64,96	64,69	65,66	0,97
38	66,11	66,80	64,91	64,66	65,62	1,01

Tab. 25: Wasserkonzentrationsprofil der unbehandelten Stellen

Tiefe [µm]	Ohr 1 [%]	Ohr 2 [%]	Ohr 3 [%]	Ohr 4 [%]	MW	SD
0	51,11	50,05	49,42	48,34	49,73	1,16
2	51,30	49,55	49,13	48,79	49,69	1,12
4	54,25	53,15	52,01	51,92	52,83	1,10
6	56,77	56,53	55,36	53,97	55,66	1,28
8	59,51	58,88	58,98	54,76	58,03	2,20
10	63,41	62,47	62,16	55,75	60,95	3,51
12	65,98	65,34	63,85	57,57	63,19	3,85
14	66,88	66,09	64,50	59,67	64,29	3,23
16	66,67	65,97	64,49	61,69	64,71	2,21
18	66,38	66,23	64,39	63,22	65,06	1,52
20	66,17	66,11	64,28	64,28	65,21	1,07
22	66,07	66,06	64,31	64,73	65,29	0,91
24	66,23	65,90	64,59	64,99	65,43	0,77
26	66,40	65,91	65,06	65,37	65,69	0,59
28	66,20	66,33	65,43	65,81	65,94	0,41
30	66,55	67,16	65,75	66,71	66,54	0,59
32	67,34	68,05	66,40	67,47	67,32	0,68
34	67,80	68,52	67,26	67,58	67,79	0,53
36	68,14	68,38	67,73	67,10	67,84	0,56
38	68,24	68,21	68,01	68,06	68,13	0,11

Tab. 26: Wasserkonzentrationsprofil der hydrierten Stellen

6.3 SC-Dicke

Natriumdodecylsulfat:

	unbehandelt	behandelt	Wasser
Einzelwerte	9,58	15,28	19,00
	11,28	13,59	10,89
	11,48	10,29	8,08
	9,97	11,52	11,83
Mean	10,58	12,67	12,45
SD	0,94	2,21	4,65

Tab. 27: SC-Dicke der SDS-Stellen

Natriumlaurylethersulfat:

	unbehandelt	behandelt	Wasser
Einzelwerte	13,17	15,13	12,64
	10,75	12,74	12,40
	11,42	11,95	7,56
Mean	11,78	13,27	10,87
SD	1,25	1,65	2,87

Tab. 28: SC-Dicke der SLES-Stellen

Dimethylsulfoxid:

	unbehandelt	behandelt	Wasser
Einzelwerte	11,82	20,09	28,22
	13,08	14,62	13,84
	13,23	13,87	11,06
	8,35	11,61	10,39
Mean	11,62	15,05	11,76
SD	2,27	3,60	1,83

Tab. 29: SC-Dicke der DMSO-Stellen

Sulfathiazol:

	unbehandelt	behandelt	Wasser
Einzelwerte	13,26	17,60	12,00
	10,56	13,69	11,76
	10,66	12,43	10,67
	12,12	20,35	18,96
Mean	11,65	16,02	13,35
SD	1,29	3,63	3,79

Tab. 30: SC-Dicke der Sulfathiazol-behandelten Stellen

6.4 Penetrationstiefe der Nanoemulsion

6.4.1 Diclofenac-Natrium mittels HPLC

Tape Nr.	1 [µg/ml]	2 [µg/ml]	3 [µg/ml]	MW	SD
1	9,73	10,84	14,41	11,66	2,45
2	3,81	3,28	2,77	3,29	0,52
3	1,86	0,98	1,71	1,52	0,47
4	0,78	0,62	1,53	0,98	0,49
5	0,63	0,67	0,72	0,67	0,05
6	0,85	0,64	0,66	0,72	0,12
7	0,33	0,27	0,39	0,33	0,06
8	0,34	0,23	0,28	0,29	0,05
9	0,30	0,28	0,32	0,30	0,02
10	0,25	0,21	0,31	0,26	0,05
11	0,14	0,12	0,23	0,17	0,06
12	0,09	0,14	0,27	0,17	0,09
13	0,11	0,36	0,19	0,22	0,13
14	0,07	0,22	0,22	0,17	0,09
15	0,07	0,09	0,16	0,11	0,05
16	0,04	0,05	0,28	0,12	0,14
17	0,06	0,04	0,08	0,06	0,02
18	0,03	0,10	0,19	0,11	0,08
19	0,00	0,04	0,11	0,05	0,05
20	0,00	0,15	0,31	0,15	0,16
21	0,00	0,09	0,40	0,16	0,21
22	0,00	0,19	0,41	0,20	0,20
23	0,00	0,03	0,06	0,03	0,03
24	0,00	0,00	0,08	0,03	0,05
25	0,00	0,00	0,07	0,02	0,04
26	0,00	0,00	0,06	0,02	0,04
27	0,00	0,00	0,08	0,03	0,04
28	0,00	0,00	0,17	0,06	0,10
29	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01
30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Summe	19,48	19,65	26,50		

Tab. 31: Gehalt an Diclofenac-Natrium pro Tape-Strip in µg/ml

Tape Nr.	1 [µg/ml]	2 [µg/ml]	3 [µg/ml]	MW	SD
1-5	16,81	16,39	21,15	18,12	2,63
6-10	2,07	1,64	1,96	1,89	0,23
11-15	0,48	0,93	1,07	0,83	0,31
16-20	0,13	0,38	0,97	0,50	0,43
21-25	0,00	0,31	1,02	0,44	0,52
26-30	0,00	0,00	0,33	0,11	0,19

Tab. 32: Gehalt an Diclofenac-Natrium pro 5 Tape-Strips in µg/ml

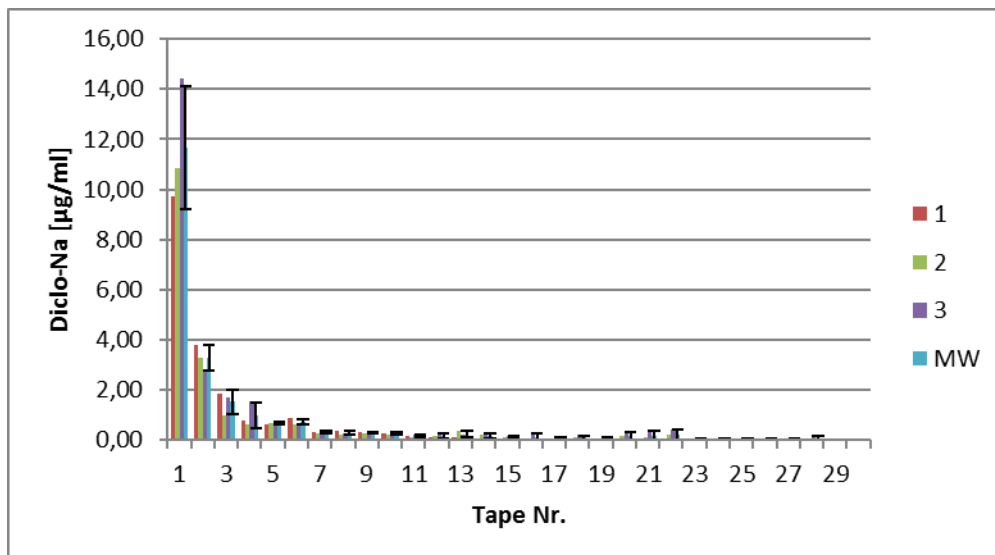


Abb. 64: Gehalt an Diclofenac-Natrium pro Tape-Strip in µg/ml

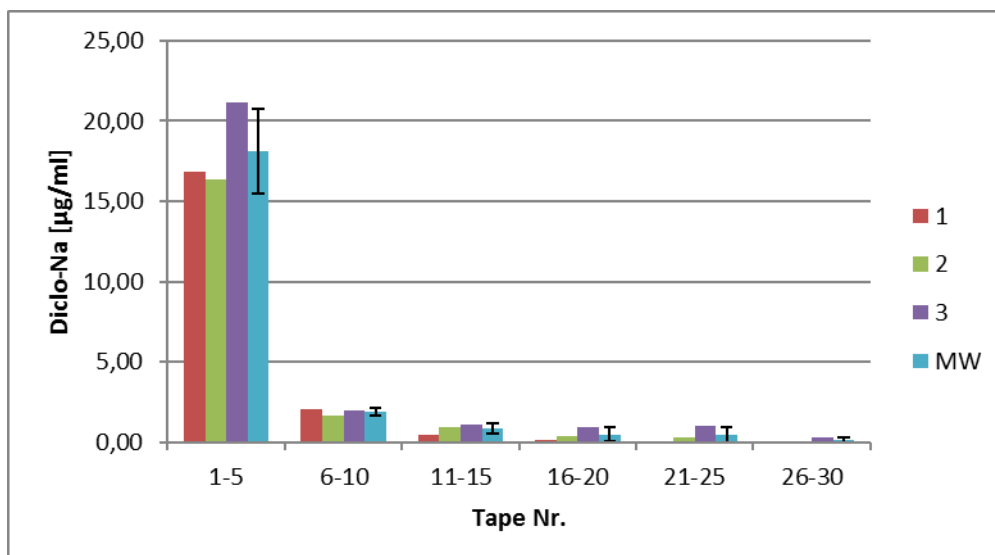


Abb. 65: Gehalt an Diclofenac-Natrium pro 5 Tape-Strips in µg/ml

Tape Nr.	1 [%]	2 [%]	3 [%]	MW	SD
1	9,77	10,88	14,47	11,71	2,46
2	3,82	3,29	2,78	3,30	0,52
3	1,87	0,99	1,72	1,52	0,47
4	0,78	0,62	1,54	0,98	0,49
5	0,63	0,68	0,73	0,68	0,05
6	0,85	0,65	0,66	0,72	0,12
7	0,34	0,27	0,39	0,33	0,06
8	0,34	0,24	0,28	0,29	0,06
9	0,30	0,28	0,32	0,30	0,02
10	0,25	0,21	0,32	0,26	0,05
11	0,14	0,12	0,24	0,17	0,06
12	0,09	0,14	0,27	0,17	0,09
13	0,11	0,37	0,19	0,22	0,13
14	0,07	0,22	0,22	0,17	0,09
15	0,07	0,09	0,16	0,11	0,05
16	0,04	0,05	0,29	0,13	0,14
17	0,06	0,04	0,09	0,06	0,02
18	0,03	0,10	0,19	0,11	0,08
19	0,00	0,04	0,11	0,05	0,05
20	0,00	0,15	0,31	0,15	0,16
21	0,00	0,09	0,41	0,17	0,21
22	0,00	0,19	0,41	0,20	0,21
23	0,00	0,03	0,06	0,03	0,03
24	0,00	0,00	0,08	0,03	0,05
25	0,00	0,00	0,07	0,02	0,04
26	0,00	0,00	0,06	0,02	0,04
27	0,00	0,00	0,08	0,03	0,04
28	0,00	0,00	0,17	0,06	0,10
29	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01
30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Summe	19,56	19,73	26,61		

Tab. 33: Gehalt an Diclofenac-Natrium pro Tape-Strip in %

Tape Nr.	1 [%]	2 [%]	3 [%]	MW	SD
1-5	16,88	16,46	21,24	18,19	2,65
6-10	2,08	1,64	1,97	1,90	0,23
11-15	0,48	0,94	1,08	0,83	0,31
16-20	0,13	0,38	0,98	0,50	0,44
21-25	0,00	0,31	1,02	0,44	0,52
26-30	0,00	0,00	0,33	0,11	0,19

Tab. 34: Gehalt an Diclofenac-Natrium pro 5 Tape-Strips in %

6.4.2 F6H8

Tape Nr.	1 [µg/ml/cm²]	2 [µg/ml/cm²]	3 [µg/ml/cm²]	MW	SD
1	22,89	33,72	25,13	27,24	5,72
2	11,82	12,43	7,90	10,72	2,46
3	7,21	4,76	4,04	5,34	1,66
4	2,63	2,39	2,85	2,62	0,23
5	1,57	2,00	0,76	1,44	0,63
6	2,01	1,37	0,45	1,28	0,78
7	0,58	1,85	0,46	0,96	0,77
8	0,64	0,61	0,28	0,51	0,20
9	0,46	0,44	0,25	0,38	0,12
10	0,25	0,45	0,27	0,32	0,11
11	0,16	0,25	0,20	0,20	0,04
12	0,15	0,27	0,18	0,20	0,06
13	0,15	0,22	0,11	0,16	0,06
14	0,11	0,15	0,13	0,13	0,02
15	0,00	0,00	0,09	0,03	0,05
16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Summe	50,62	60,90	43,11		

Tab. 35: Gehalt an F6H8 pro Tape-Strip in µg/ml/cm²

Tape Nr.	1 [µg/ml/cm²]	2 [µg/ml/cm²]	3 [µg/ml/cm²]	MW	SD
1-5	46,11	55,30	40,68	47,36	7,39
6-10	3,94	4,72	1,71	3,46	1,56
11-15	0,56	0,88	0,72	0,72	0,16

Tab. 36: Gehalt an F6H8 pro 5 Tape-Strips in µg/ml/cm²

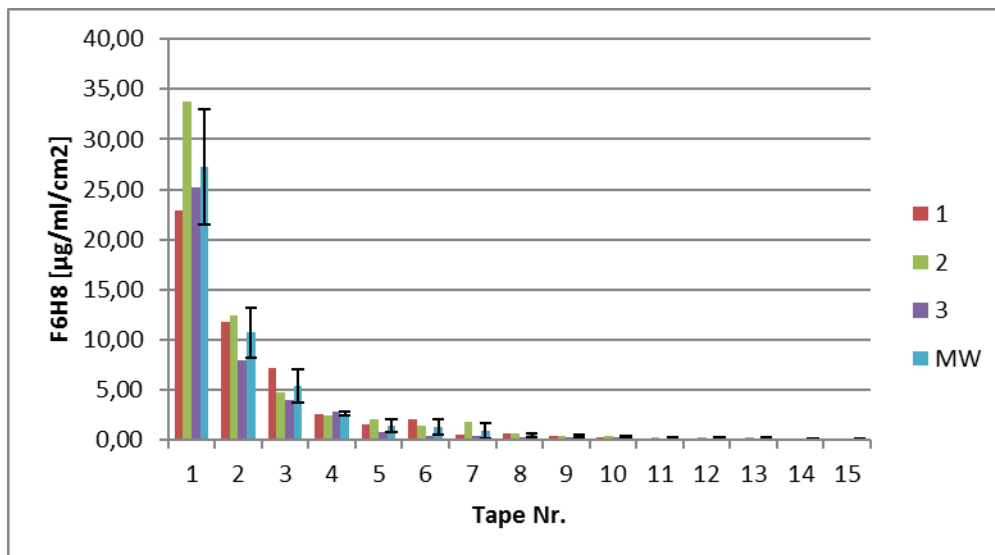


Abb. 66: Gehalt an F6H8 pro Tape-Strip in $\mu\text{g/ml/cm}^2$

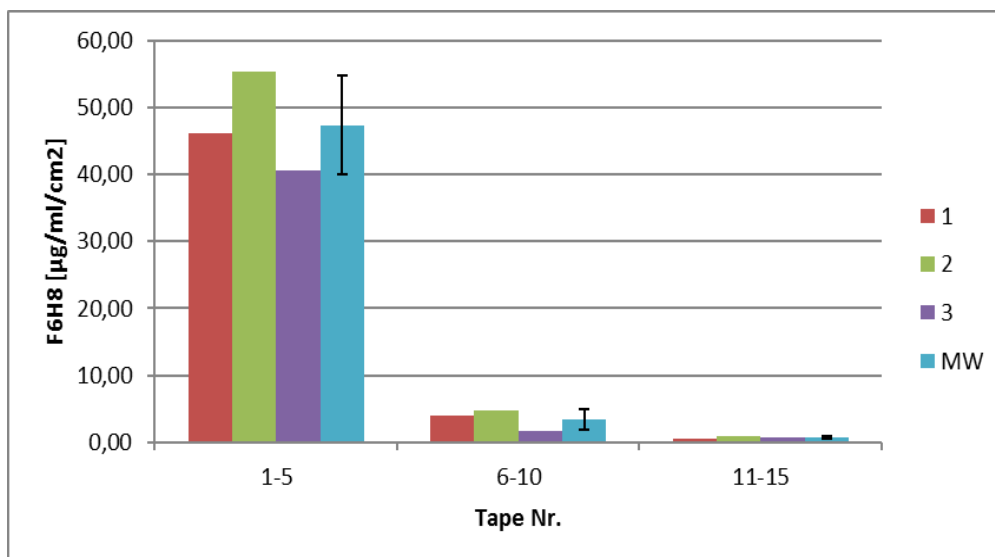


Abbildung 67: Gehalt an F6H8 pro 5 Tape-Strips in $\mu\text{g/ml/cm}^2$

Tape Nr.	1 [%]	2 [%]	3 [%]	MW	SD
1	1,14	1,69	1,26	1,36	0,29
2	0,59	0,62	0,40	0,54	0,12
3	0,36	0,24	0,20	0,27	0,08
4	0,13	0,12	0,14	0,13	0,01
5	0,08	0,10	0,04	0,07	0,03
6	0,10	0,07	0,02	0,06	0,04
7	0,03	0,09	0,02	0,05	0,04
8	0,03	0,03	0,01	0,03	0,01
9	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01
10	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01
11	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00
12	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00
13	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00
14	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00
15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Summe	2,53	3,05	2,16		

Tab. 37: Gehalt an F6H8 pro Tape-Strip in %

Tape Nr.	1 [%]	2 [%]	3 [%]	MW	SD
1-5	2,31	2,77	2,03	2,37	0,37
6-10	0,20	0,24	0,09	0,17	0,08
11-15	0,03	0,04	0,04	0,04	0,01

Tab. 38: Gehalt an F6H8 pro 5 Tape-Strips in %

6.5 Stabilitätsuntersuchungen

Woche	PDI	SD	Z-Average	SD	Z-Potential	SD	Viskosität	SD	pH-Wert	SD
W0	0,375667	0,017188	120,2111	4,983343	-75,75556	0,851361	0,00204	7,94E-05	6,776667	0,050332
W1	0,413	0,040337	128,7444	12,14433	-79,67778	4,220628	0,001883	0,000321	6,77	0,02
W2	0,454667	0,078926	134,1667	6,151694	-79,21111	13,06243	0,002113	0,000689	6,713333	0,025166
W3	0,399222	0,003405	123,9	6,709943	-73,5	4,741425	0,00175	0,000226	6,676667	0,015275
W4	0,383111	0,014516	121,8778	6,547717	-71,03333	10,34575	0,001687	0,000554	6,65	0,026458
W5	0,397222	0,010249	126,7556	9,28262	-76,84444	0,771962	0,00104	7,84E-05	6,67	0,01
W6	0,416111	0,045802	129,2333	12,29015	-76,68889	9,51924	0,001473	0,00031	6,753333	0,035119
W7	0,403222	0,003849	119,7	4,592385	-69,52222	5,768336	0,001363	0,000431	6,556667	0,080208
W8	0,382667	0,006566	121,1111	8,72941	-71,42222	2,640356	0,001435	0,000375	6,51	0,138924
W9	0,401111	0,029357	123,3444	6,835068	-75,66667	1,050397	0,00154	0,000191	6,406667	0,080208
W10	0,395333	0,008083	124,4778	6,919083	-74,9	2,177919	0,00185	0,000656	6,38	0,026458
W11	0,393333	0,01431	122,8556	4,16951	-77,02222	1,764569	0,00188	0,00072	6,306667	0,040415
W12	0,397444	0,013472	120,0111	4,846113	-72,06667	4,076082	0,001403	0,000167	6,306667	0,005774
W14	0,390444	0,004141	119,6556	4,946417	-75,62222	1,455004	0,001533	0,000225	6,293333	0,046188
W16	0,388667	0,009597	119,5444	4,382076	-67,08889	1,154861	0,00171	0,00041	6,356667	0,047258
W18	0,394667	0,003844	118,4222	4,774624	-79,16667	4,023818	0,002343	0,001063	6,266667	0,061101
W20	0,396556	0,012825	118,9667	4,561067	-73,36667	7,924926	0,00201	0,000792	6,34	0,08544

Tab. 39: Stabilitätsdaten von S75_20/2

Woche	PDI	SD	Z-Average	SD	Z-Potential	SD	Viskosität	SD	pH-Wert	SD
W0		0,43	145,8778	6,992085	-91,08889	2,36698	0,003527	0,000323	6,79	0,06
W1	0,422444	0,011042	144,4556	9,441418	-83,44444	4,112627	0,00232	0,00058	6,74	0,052915
W2	0,434889	0,015834	142,3111	4,669325	-86,57778	1,355783	0,002393	0,000581	6,656667	0,144684
W3	0,435889	0,008167	148,1667	2,053723	-74,16667	2,795433	0,002017	0,000384	6,556667	0,1823
W4	0,427222	0,011286	142,3	5,409559	-74,28889	7,987792	0,001937	2,52E-05	6,336667	0,061101
W5	0,477111	0,059279	148,9778	17,50119	-74,5	5,766281	0,00181	0,001162	6,333333	0,028868
W6	0,449889	0,0495	144,4778	13,57123	-73,63333	2,066398	0,00196	0,000377	6,333333	0,064291
W7	0,423222	0,013765	141,5444	7,278609	-76,22222	5,19084	0,00217	0,0004	6,343333	0,047258
W8	0,435556	0,030495	149,7222	5,818107	-76,51111	2,459976	0,00169	0,000141	6,37	0,02
W9	0,491111	0,072346	154,1222	7,772482	-82,24444	4,32375	0,00288	0,000488	6,35	0,017321
W10	0,458222	0,034191	137,9444	10,09721	-73,76667	3,196526	0,002467	0,000519	6,336667	0,015275
W11	0,442889	0,015809	148,3333	5,149218	-78,74444	8,550655	0,00227	0,000187	6,316667	0,020817
W12	0,460333	0,05577	146,3444	3,942973	-75,24444	5,911038	0,00227	0,000329	6,356667	0,045092
W14	0,422889	0,004426	141,1556	7,523617	-71,82222	2,675887	0,00265	0,000403	6,343333	0,061101
W16	0,441111	0,012299	144,7222	5,131854	-78,03333	6,053741	0,00224	0,00041	6,383333	0,056862
W18	0,435111	0,011182	143,9556	4,919387	-78,57778	5,3525	0,00225	5,66E-05	6,383333	0,056862
W20	0,439556	0,01009	145,8444	5,427331	-80,66667	5,385268	0,003815	0,000771	6,346667	0,049329

Tab. 40: Stabilitätsdaten von S75_40/2

Woche	PDI	SD	Z-Average	SD	Z-Potential	SD	Viskosität	SD	pH-Wert	SD
W0	0,249444	0,004599	102,2289	3,873823	-64,47778	8,057042	0,00144	8,544E-05	8,536667	0,040415
W1	0,219556	0,011649	121,7778	1,981115	-65,3	7,168527	0,00128	0,00012728	8,416667	0,023094
W2	0,201	0,007219	127,1333	0,800694	-55,58889	6,956878	0,001227	3,5119E-05	8,333333	0,037859
W3	0,202222	0,00872	124,0778	0,5295	-56,58889	4,326961	0,000748	0	8,34	0,060828
W4	0,200667	0,011348	128,8222	1,766771	-54,55556	4,638167	0,000954	9,1468E-05	8,226667	0,051316
W5	0,201778	0,012668	131,3556	3,77423	-56,74444	3,333722	0,001257	2,5166E-05	8,3	0,03
W6	0,189444	0,01628	128,7667	2,838623	-54,91111	4,919839	0,001107	0,00012608	8,233333	0,090738
W7	0,189222	0,007705	128,7778	2,164443	-57,5	4,392418	0,00104	0,00021213	8,253333	0,047258
W8	0,194667	0,006936	130,8889	2,266258	-56,17778	1,2633	0,001276	0,00031621	8,233333	0,060277
W9	0,191667	0,007623	132,0889	0,258915	-57,81111	0,818083	0,0012	0	8,22	0,081854
W10	0,188778	0,002524	136,7889	0,712845	-63,56667	0,166667	0,001505	0,00017678	8,17	0,130767
W11	0,194556	0,006619	132,8	0,98714	-58,11111	10,0302	0,000877	0,00028071	8,21	0,036056
W12	0,192333	0,004702	135,3444	0,822823	-56,13333	5,040613	0,001297	0,00019088	8,15	0,087178
W14	0,195333	0,010477	135,0667	1,985783	-60,27778	6,074202	0,001027	8,9803E-05	8,123333	0,120139
W16	0,201222	0,014938	137,7556	1,169204	-58,66667	2,738207	0,001413	3,2146E-05	8,006667	0,219393
W18	0,197556	0,00543	135,9556	1,792681	-60,72222	3,655488	0,0014	0,00014142	8,016667	0,277909
W20	0,2	0,013868	136,0778	0,47881	-59,17778	3,496082	0,000983	0,00026328	7,956667	0,295014

Tab. 41: Stabilitätsdaten von S75_20/2-Diclo

Woche	PDI	SD	Z-Average	SD	Z-Potential	SD	Viskosität	SD	pH-Wert	SD
W0	0,212111	0,013401	121,5556	3,230812	-66,91111	3,800926	0,004515	0,000304	8,49	0,121655
W1	0,193111	0,008878	134,3778	2,051106	-65,75556	1,852726	0,00405	0,000838	8,41	0,07
W2	0,190889	0,011087	142,1333	3,341324	-53,66667	3,611556	0,004555	0,000417	8,39	0,043589
W3	0,185889	0,002411	136,7222	1,203852	-60,78889	2,128206	0,002667	0,000504	8,393333	0,056862
W4	0,184556	0,004073	142,7556	1,849124	-52,84444	4,66623	0,004467	0,00125	8,243333	0,17673
W5	0,181222	0,005389	145,3556	0,462281	-56,97778	3,669141	0,006653	0,002731	8,256667	0,144684
W6	0,178556	0,008442	146,3111	1,759209	-57,22222	1,535264	0,00556	0,003168	8,27	0,147986
W7	0,174222	0,003595	144,7333	2,368075	-61,61111	3,91526	0,003777	0,001124	8,24	0,165227
W8	0,177444	0,014841	146,3556	6,410437	-58,33333	4,852949	0,00355	0,001064	8,24	0,174356
W9	0,170444	0,005505	149,8889	2,745569	-61,35556	2,438655	0,003863	0,001814	8,196667	0,20502
W10	0,172333	0,008888	152,6222	3,299888	-63,33333	6,232799	0,007633	0,002463	8,14	0,208087
W11	0,174444	0,010145	152,3667	1,4	-66,81111	1,983917	0,00657	0,002914	8,19	0,268887
W12	0,179778	0,007343	153,3444	2,079619	-60,74444	6,526981	0,005553	0,00216	8,16	0,330454
W14	0,177778	0,003272	152,8778	1,49307	-68,56667	4,808673	0,006113	0,001619	8,023333	0,307463
W16	0,184889	0,006915	154,7667	1,444914	-60,86667	5,575641	0,005043	0,00378	7,796667	0,135031
W18	0,176444	0,004526	155,1778	2,263069	-65,66667	0,929157	0,011853	0,003354	7,716667	0,030551
W20	0,187333	0,008838	156,7444	1,745576	-70,48889	0,4247	0,00977	0,003686	7,716667	0,050332

Tab. 42: Stabilitätsdaten von S75_40/2_Diclo

Literaturverzeichnis

- [1] H. A. E. Benson und A. C. Watkinson, Topical and Transdermal Drug Delivery: Principles and Practice, Hoboken: John Wiley & Sons, 2012.
- [2] I. Moll, Duale Reihe Dermatologie, 8.Auflage, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG, 2016.
- [3] E. Mutschler, G. Geisslinger, H. Kroemer, S. Menzel und P. Ruth, Mutschler Arzneimittelwirkungen, 10. Ausgabe, Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 2013.
- [4] P. J. Caspers, G. W. Lucassen, E. A. Carter, H. A. Bruining und G. J. Puppels, „In Vivo Confocal Raman Microspectroscopy of the Skin: Noninvasive Determination of Molecular Concentration Profiles,“ *Journal of Investigative Dermatology*, Nr. 116, pp. 434-442, 2001.
- [5] D. A. Skoog und J. J. Leary, Instrumentelle Analytik, Grundlagen Geräte Anwendungen, Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 1996.
- [6] R. Mateus, H. Abdalghafor, G. Oliveira, J. Hadgraft und M. E. Lane, „A new paradigm in dermatopharmacokinetics - Confocal Raman spectroscopy,“ *International Journal of Pharmaceutics*, Nr. 444, pp. 106-108, 2013.
- [7] W. Pschyrembel, Pschyrembel Klinisches Wörterbuch, 266. Auflage, Walter De Gruyter GmbH, 2014.
- [8] A. Kogan und N. Garti, „Microemulsions als transdermal drug delivery vehicles,“ *Advances in Colloid and Interface Science, Elsevier*, Nr. 123-126, pp. 369-385, 2006.
- [9] G. Rassner, Dermatologie Lehrbuch und Atlas, 9. Auflage, München: Elsevier Urban&Fischer, 2009.
- [10] J. Smolle und F. H. Mader, Beratungsproblem Haut, 2. Ausgabe, Heidelberg: Springer Medizin Verlag Heidelberg, 2005.

- [11] G. N. Stamatas und K. Martin, „Baby Skin vs. Adult Skin Structure, Function and Composition,“ *Cosmetics & Toiletries magazine*, Nr. 124, pp. 50-53, 2009.
- [12] S. Elsässer, Körperpflegekunde und Kosmetik, 2. Auflage, Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2008.
- [13] M. Trebsdorf, Biologie Anatomie Physiologie, 5. Auflage, Reinbek: Lau-Verlag GmbH, 2000.
- [14] R. H. H. Neubert und R. Wepf, „Pharmazeutische Zeitung online,“ 2007. [Online]. Available: <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=2957>. [Zugriff am 29 01 2018].
- [15] P. M. Elias und D. S. Friend, „The permeability barrier in mammalian epidermis,“ *Journal of Cell Biology*, Nr. 65, pp. 180-191, 1975.
- [16] M. A. Lampe, M. L. Williams und P. M. Elias, „Human epidermal lipids characterization and modulations during differentiation,“ *Journal of Lipid Research*, Nr. 24, pp. 131-140, 1983.
- [17] I. Moll, Duale Reihe: Dermatologie, 6. Auflage, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG, 2005.
- [18] R. Voigt und A. Fahr, Pharmazeutische Technologie für Studium und Beruf, 9. Auflage, Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, 2000.
- [19] R. H. H. Neubert, W. C. Marsch und W. A. Wohlrab, Dermatopharmazie: Vehikel- Wirkstoffe- Pharmakologie, Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 2001.
- [20] S. A. Krause, Entwicklung und Charakterisierung von Mikroemulsionen zur dermalen Applikation von Arzneistoffen, Halle (Saale): ULB Sachsen-Anhalt, 2001.
- [21] J. Hadgraft und M. E. Lane, „Skin: the ultimate interface,“ *Physical Chemistry Chemical Physics*, Nr. 13, pp. 5215- 5222, 2011.

- [22] M. Bultmann, Grundlagen der Arzneiformenlehre, 2. Auflage, Eppelheim: J.M.B. Verlag, 2003.
- [23] W. Weitschies, C. Schiller und U. Adams, „Pharmazeutische Zeitung Online "Einfluss der Galenik auf die Therapie von Hauterkrankungen",“ 2003. [Online]. Available: <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=25436>. [Zugriff am 31 01 2018].
- [24] K. H. Bauer, K. H. Frömming und C. Führer, Pharmazeutische Technologie, 9. Auflage, Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 2012.
- [25] H. P. Ammon und M. Schubert-Zsilavecz, Hunnius Pharmazeutisches Wörterbuch, 11. Auflage, Berlin/Boston: Walter de Gruyter GmbH, 2014.
- [26] S. Ghosh, D. Kim, P. So und D. Blankschtein, „Visualization and quantification of skin barrier perturbation induced by surfactant-humectant systems using two-photon fluorescence microscopy,“ *Journal of Cosmetic Science*, Nr. 59, pp. 263-269, 2008.
- [27] Europäisches Arzneibuch Bd. 8. Ausgabe, Stuttgart: Deutscher Apotheker Verlag, 2014.
- [28] C. AG, „Codecheck,“ 2017. [Online]. Available: <https://www.codecheck.info/product.search?q=Natriumlaurylethersulfat&p=2>. [Zugriff am 31 01 2018].
- [29] A. Mehling, C. Chkarnat, J. Degwert, J. Ennen, E. Fink, W. Matthies, R. Roethlisberger, U. Russow, J. Schnitker, H. Tronnier, W. Wigger-Alberti und K. P. Wilhelm, „ Interlaboratory studies with a proposed patch test design to evaluate the irritation potential of surfactans,“ *Contact Dermatitis*, Nr. 62, pp. 157-164, 2010.
- [30] L. Chemie, „LOBA Chemie, Laboratory reagents & fine chemicals,“ 2015- 2016. [Online]. Available: <https://www.lobachemie.com/Laboratory-Chemicals-05924/SODIUM-LAURYL-ETHER-SULFATE-SLES-CASNO-9004-82-4.aspx>. [Zugriff am 01 02 2018].

- [31] „Apotheke Aktuell,“ Juvalis Apotheke, [Online]. Available: <https://www.juvalis.de/apotheke/dmso-dimethylsulfoxid/>. [Zugriff am 01 02 2018].
- [32] S. W. Jakob, R. J. Herschler und H. Schmellenkamp, DMSO: Die Anwendung in der Medizin, The Use of DMSO in Medicine, Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 1985.
- [33] „Drugbank,“ 19 01 2018. [Online]. Available: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB06147>. [Zugriff am 01 02 2018].
- [34] S. Dammers und M. Doedt, „Universität Münster,“ 06 06 2015. [Online]. Available: http://www.uni-muenster.de/imperia/md/content/physikalische_chemie/praktikum/raman_dammers__doedt.pdf. [Zugriff am 02 02 2018].
- [35] M. H. Gey, Instrumentelle Analytik und Bioanalytik; Biosubstanzen Trennmethode Strukturanalytik Applikationen, 2. Auflage, Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 2008.
- [36] D. Meschede, Gerthsen Physik, 25. Auflage, Berlin Heidelberg: Springer Spektrum, Springer Verlag, 2015.
- [37] „Spektrum. de, Lexikon der Chemie: Raman-Spektroskopie,“ Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, 1998. [Online]. Available: <http://www.spektrum.de/lexikon/chemie/raman-spektroskopie/7804>. [Zugriff am 02 02 2018].
- [38] M. Hesse, H. Meier und B. Zeeh, Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie, 7. Auflage, Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG, 2005.
- [39] P. W. Atkins, Physikalische Chemie, 3. Auflage, Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, 2001.
- [40] RiverD International B. V. , gen2-SCA Skin Composition Analyzer Operator Manual, Rotterdam: RiverD International B. V. , 2014.

- [41] P. J. Caspers, G. W. Lucassen, H. A. Bruining und G. J. Puppels, „Automated depth-scanning confocal Raman microspectrometer for rapid in vivo determination of water concentration profiles in human skin,“ *Journal of Raman Spectroscopy*, Nr. 31, pp. 813-818, 2000.
- [42] RiverD International B. V., A Review of Stratum Corneum Thickness - Measurements by in Vivo Raman Spectroscopy, Rotterdam, 2007.
- [43] A. Sieg, J. Crowther, P. Blenkiron, C. Marcott und P. J. Matts, „Confocal Raman Microspectroscopy - Measuring the Effects of Topical Moisturisers on Stratum Corneum Water Gradient In Vivo,“ *Proceedings of SPIE*, Bd. Biomedical Vibrational Spectroscopy III: Advances in Research and Industry, Nr. 6093, 2006.
- [44] L. Binder, S. SheikhRezaei, A. Baierl, L. Gruber, M. Wolzt und C. Valenta, „Confocal Raman spectroscopy: In vivo measurement of physiological skin parameters - A pilot study,“ *Journal of Dermatological Science*, Bd. 88, Nr. 3, pp. 280- 288, 2017.
- [45] M. Robinson, W. Visscher, A. LaRuffa und R. Wichett, „Natural moisturizing factors (NMF) in the stratum corneum (S. C.). I. Effect of lipid extraction and soaking,“ *Journal of Cosmetic Science*, Nr. 61, pp. 13-22, 2010.
- [46] M. Egawa, J. Nomura und H. Iwaki, „The evaluation of the amount of cis- and trans-urocanic acid in the stratum corneum by Raman spectroscopy,“ *Photochemical & Photobiological Sciences*, Nr. 9, pp. 730-733, 2010.
- [47] J. M. Crowther, A. Sieg, P. Blenkiron, C. Marcott und P. J. Matts, „Measuring the effects of topical moisturizers on changes in stratum corneum thickness, water gradients and hydration in vivo,“ *British Journal of Dermatology*, Nr. 159, pp. 567-577, 2008.
- [48] D.-S. Mahrhauser, C. Nagelreiter, S. Gehrig, A. Geyer, K. K. M. Ogris und C. Valenta, „Assessment of Raman spectroscopy as a fast and non-invasive method for total stratum corneum thickness determination of pig skin,“ *International Journal of Pharmaceutics*, Nr. 495, pp. 482-484, 2015.

- [49] V. Klang und C. Valenta, „Lecithin-based nanoemulsions,“ *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, Bd. 1, Nr. 21, pp. 55-76, 2011.
- [50] G. Kutz und A. Wolff, *Pharmazeutische Produkte und Verfahren*, Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007.
- [51] T. F. Tadros, *Emulsion Science and Technology*, Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009.
- [52] V. Klang, N. Matska, K. Raupach, N. El-Hagin und C. Valenta, „Development of sucrose stearate-based nanoemulsions and optimisation through γ -cyclodextrin,“ *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Nr. 79, pp. 58-67, 2011.
- [53] M. Cortés-Munoz, D. Chevalier-Lucia und E. Dumay, „Characteristics of submicron emulsions prepared by ultra-high pressure homogenisation: Effect of chilled or frozen storage,“ *Food Hydrocolloids*, Nr. 23, pp. 640-654, 2009.
- [54] W. Weyenberg, P. Filev, D. V. d. Plas, J. Vandervoort, K. D. Smet, P. Sollie und A. Ludwig, „Cytotoxicity of submicron emulsions and solid lipid nanoparticles for dermal application,“ *International Journal of Pharmaceutics*, Nr. 337, pp. 291-298, 2007.
- [55] H. Hardung, *Semifluorierte und perfluorierte Verbindungen zur topischen und parenteralen Anwendung*, Freiburg i. Br. : Inauguraldissertation von H. Hardung, 2008.
- [56] F. G. Mayenfels, *Fluorcarbonhaltige Nanoemulsionen zur Anwendung in der $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ -Magnetresonanztomographie*, Freiburg i. Br.: Inauguraldissertation von F. G. Mayenfels, 2012.
- [57] D. Wong und N. Lois, „Perfluorocarbons and semifluorinated Alkanes,“ *Seminars in Ophthalmology*, Bd. 1, Nr. 15, pp. 25-35, 2000.

- [58] „Goplant.de,“ Organon Informationssysteme GmbH, 2018. [Online]. Available: <http://www.goplant.de/pflanzen/s/sojabohne-glycine-max/>. [Zugriff am 05 02 2018].
- [59] U. Jacobi, M. Kaiser, R. Toll, S. Mangelsdorf, H. Audrinf, N. Otberg, W. Sterry und J. Lademann, „Porcine ear skin: an in vitro model for human skin,“ *Skin Research and Technology*, Nr. 13, pp. 19-24, 2007.
- [60] V. Klang, M. Hoppel und C. Valenta, „Infrared densitometry for in vitro tape stripping: quantification of porcine corneocytes,“ in *Measuring the Skin*, Eds. Springer International Publishing, 2016, pp. 1-8.
- [61] M. Hoppel, Natürliche Mikroemulsionen zur dermalen Applkation: Entwicklung, Charakterisierung und Hautpenetration, Universität Wien: Diplomarbeit, 2012.
- [62] J. Jatschka, Entwicklung von silikonbasierten Formulierungen und Submikronemulsionen mit semifluorierten Alkanen und Untersuchungen der Hautpenetration mittels ATR-FTIR und NMR, Diplomarbeit: Universität Wien, 2017.
- [63] R. H. Müller und G. E. Hildebrand, Zetapotential und Partikelladung in der Laborpraxis, Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 1996.
- [64] Malvern Instruments Ltd., „ Zeta potential,“ 2018. [Online]. Available: <https://www.malvern.com/en/products/measurement-type/zeta-potential/index.html>. [Zugriff am 13 02 2018].
- [65] T. Mezger, Das Rheologie Handbuch, 4. Auflage, Hannover: Vincentz Network GmbH & Co KG, 2006.
- [66] C. Choe, J. Lademann und M. Darvin, „Analysis of Human and Porcine Skin in vivo/ex vivo for Penetration of Selected Oils by Confocal Raman Microscopy,“ *Skin Pharmacology and Physiology*, Bd. 28, Nr. 6, pp. 318-330, 2015.

- [67] S. Gosh und D. Blankschtein, „The role of sodium dodecyl sulfate (SDS) micelles in inducing skin barrier perturbation in the presence of glycerol,“ *Journal of cosmetic science* , Bd. 58, Nr. 2, pp. 109-133, 2007.
- [68] M. Hoppel, K. Kwizda, D. Baurecht, M. Caneri und C. Valenta, „The effect of a damaged skin barrier on percutaneous absorption of SDS and skin hydration investigation by confocal Raman-Spectroscopy,“ *Experimental Dermatology*, Bd. 25, Nr. 5, pp. 390-392, 2016.
- [69] R. Notman, W. D. Otter, M. Noro, W. Briels und J. Anwar, „The permeability enhancing mechanism of DMSO in ceramide bilayers simulated by molecular dynamics,“ *Biophysical Journal*, Bd. 93, Nr. 6, pp. 2056-2068, 2007.
- [70] J. Ruthofer, Untersuchung des Effekts verschiedener Haarentfernungsmethoden auf die Hautpenetration ausgewählter Modellsubstanzen mittels ATR-FTIR und Raman-Spektroskopie, Diplomarbeit: Universität Wien, 2018.

7 Abstract

7.1 Deutsch

Seit der erstmaligen Verwendung von Laserlicht in der Raman-Spektroskopie, etablierte sich diese Technik als eine der wichtigsten Methoden unter anderem zur Analyse von pharmazeutischen Zubereitungen auf der Haut. Der Hochleistungslaser bestrahlt die Haut, die das Licht in zwei unterschiedliche Strahlungen spaltet. Das Raman-Spektrometer detektiert dabei die so genannte Raman-Streuung und generiert ein Spektrum.

Im Zuge dieser Arbeit wurde die Raman-Spektroskopie zur Penetrationsanalyse von SDS, SLES, DMSO und Sulfathiazol an porciner Ohrhaut genutzt. Zusätzlich dazu wurde die Wasserkonzentration an behandelten, unbehandelten und hydrierten Hautstellen gemessen. Die mit den Modellsubstanzen behandelte Haut wies im Vergleich zu den unbehandelten Hautstellen einen statistisch signifikanten Unterschied im Wassergehalt auf. So wurde gezeigt, dass mit der Raman-Spektroskopie die Möglichkeit besteht den dehydrierenden Effekt von Substanzen nachzuweisen und die Dicke des Stratum corneum zu messen.

Der zweite Teil dieser Arbeit beschäftigte sich mit der Herstellung, der Hautpenetration und der Stabilität von Nanoemulsionen mit semifluorierten Alkanen. Aufgrund ihrer kleinen Partikelgröße haben Nanoemulsionen einen hohen Stellenwert als Vehikel für dermale Zubereitungen. Aus diesem Grund wurde im Laufe der Stabilitätsprüfungen sowohl die Partikelgröße, als auch der Polydispersitätsindex, das Zetapotenzial, die rheologischen Eigenschaften und der pH-Wert untersucht.

Zudem wurde die Hautpenetration von F6H8 und Diclofenac-Natrium mittels ^{19}F -NMR und HPLC untersucht.

7.2 Englisch

Since the use of laser technology for Raman spectroscopy, this technique has become one of the most important analytical measurement tools for pharmaceutical applications. The high power laser irradiates the skin samples, which scatter the light into two different radiances. The Raman spectrometer detects the so called Raman-scattering and generates a spectrum.

In the course of this study, the Raman-spectrometer was used to analyse the penetration depth of SDS, SLES, DMSO and sulfathiazole into porcine ear skin. In addition, the water concentration of treated, untreated and hydrated skin samples was measured. The skin being treated with the model substances caused a statistically significant difference in water content compared to untreated skin. Raman-Spectroscopy was able to detect the dehydrating effect of the applied substances and moreover measuring the stratum corneum thickness.

The second part of this work investigated the production, skin penetration and stability of nanoemulsions with semifluorinated alkanes. Because of their small particle size, nanoemulsions gained importance as vehicles for dermal formulations. Therefore the determination of the stability of the formulation's droplet size was confirmed by determination of polydispersity, zeta potential, rheological property and pH value.

Furthermore, the simultaneous penetration of F6H8 and diclofenac sodium into the skin was examined using ^{19}F -NMR and HPLC.