



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Selbstorganisierende Emulsionssysteme zur dermalen
Anwendung: Eignung als Abgabesystem für Arzneistoffe
und Einfluss der Formulierung auf unterschiedliche
Hautparameter *in vivo*“

verfasst von

Manuel Caneri

angestrebter akademischer Grad

Magister der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, Juli 2015

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt: Diplomstudium Pharmazie

Betreut von: Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Claudia Valenta

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Ao. Uni.-Prof. Mag. pharm. Dr. Claudia Valenta für die Möglichkeit in Ihrem Team mitwirken zu dürfen. Ich habe während dieser Zeit viel Neues gelernt und konnte sehr von den gemachten Erfahrungen profitieren.

O. Univ.-Prof. Mag. pharm. Dr. Helmut Viernstein danke ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes am Department für pharmazeutische Technologie und Biopharmazie.

Mag. pharm. Dr. Magdalena Hoppel danke ich von Herzen für die stets geduldige, freundliche, humorvolle und fürsorgliche Betreuung während der gesamten Diplomarbeit und darüber hinaus.

An Mag. pharm. Corinna Nagelreiter möchte ich ebenfalls ein großes Dankeschön richten, dafür dass sie jederzeit mit all Ihrer geballten Kompetenz für jeden von uns Diplomanden zur Verfügung stand.

Außerdem danke ich aufrichtig meiner Familie, meiner Freundin und meinen Freunden für die fortwährende, bedingungslose und für mich so wichtige Unterstützung während des gesamten Studiums.

INHALTSVERZEICHNIS

1 Einleitung.....	1
2 Allgemeiner Teil.....	3
2.1 Die Haut	3
2.1.1 Aufbau der Haut.....	3
2.1.2 Penetrationswege durch die Haut	5
2.1.3 Penetrationsfördernde Substanzen.....	7
2.1.4 Porzine Haut	8
2.2 Selbstorganisierende nanostrukturierte Emulsionen	8
2.2.1 Definition und Zusammensetzung.....	8
2.2.2. Interne Strukturen	9
2.2.3 Anwendung	10
2.3 Grundlagen Raman Spektroskopie	10
2.3.1 Theorie.....	11
2.3.2 Aufbau des Spektrometers.....	12
2.3.3 Fingerprint-Spektren	14
2.3.4 Wasser-Spektren	15
2.4. Grundlagen Derma Unit® und Aqua Flux®	16
2.4.1 Sebumeter®.....	18
2.4.2 Corneometer®	19
2.4.3 Skin-pH-Meter®	19
2.4.4 Transepidermaler Wasserverlust	20
2.5 Grundlagen der verwendeten Arzneistoffe	20
2.5.1 Flufenaminsäure	20
2.5.2 Diclofenac-Natrium.....	21
3 Methoden.....	22

3.1 Charakterisierung der untersuchten Formulierungen	22
3.2 <i>In Vitro</i> Hautstudien.....	22
3.2.1 Franz-Zell-Versuche.....	22
3.2.2 Tape-Stripping Versuche und NIR-Densitometrie	24
3.2.3 HPLC-Analyse.....	26
3.3. <i>In Vivo</i> Hautstudien	28
3.3.1 Individuelle Probanden- und Umgebungsparameter	28
3.3.2 Raman Messungen	29
3.3.2.1 Durchführung der Messungen.....	29
3.3.2.2 Auswertungen der Messungen.....	33
3.3.3 DermaUnit® und AquaFlux® Messungen	33
3.3.3.1 Sebumeter®.....	34
3.3.3.2 Corneometer®.....	34
3.3.3.3 Skin-pH-Meter®	34
3.3.3.4 Transepidermaler Wasserverlust	35
3.3.3.5 <i>In vivo</i> Messschema.....	35
4 Ergebnisse.....	36
4.1 <i>In vitro</i> Hautstudien	36
4.1.1 Franz-Zell-Versuche.....	36
4.1.2 Tape-Stripping Versuche	39
4.2 <i>In vivo</i> Hautstudien.....	40
4.2.1 Raman Messungen	41
4.2.1.1 Fingerprint Messungen	41
4.2.1.2 Messungen des Wassergehalts	42
4.2.2 Derma Unit® und Aqua Flux® Messungen	42
4.2.2.1 Sebumeter®.....	43
4.2.2.2 Corneometer®.....	44
4.2.2.3 Skin-pH-Meter®	44

4.2.2.4 Transepidermaler Wasserverlust	45
5 Diskussion	46
6 Zusammenfassung	49
7 Literaturverzeichnis	51
8 Anhang	57
8.1 Tabellen zu <i>in vitro</i> Hautstudien	57
8.1.1 Tabellen zu Franz-Zell-Versuchen	58
8.1.2 Tabellen zu Tape Stripping Versuchen	61
8.2 Tabellen zu <i>in vivo</i> Hautstudien.....	77
8.2.1 Tabellen zu Raman Messungen.....	77
8.2.2 Tabellen zu Derma Unit® und Aqua Flux® Messungen.....	78
9 Abstract	82
10 Lebenslauf	84

1 Einleitung

Die Haut ist das größte Sinnesorgan des Menschen. Mit einer Fläche von 1,5-2 m² und einem durchschnittlichen Gewicht von 11 kg schützt sie den Körper vor äußeren Einflüssen wie Hitze, Licht und übermäßigem Feuchtigkeitsverlust [1]. Aus pharmazeutischer Sicht stellt die Haut ein vielversprechendes Ziel für die Applikation von Arzneistoffen dar, da die unerwünschten Arzneimittelwirkungen bei lokaler, topischer Applikation weniger stark ausgeprägt sind, als bei systemischer Applikation. Allerdings ist die Wirkstoffkonzentration am Wirkort nach topischer Applikation wesentlich geringer als nach systemischer Applikation. In der Regel gelangen nur 1-2% der aufgetragenen Dosis in bzw. durch die Haut an den tatsächlichen Wirkort [2].

Demnach ist es ein nach wie vor aktuelles Ziel der pharmazeutischen Forschung, die physiologische Barrierefunktion der Haut zu senken, um eine gesteigerte Penetration und Permeation der Arzneistoffe durch die Haut zu bewirken. Dies ermöglichen unter anderem so genannte Penetrationsförderer, wie beispielsweise *R*-(+)-Limonen, Ölsäure oder SDS (*sodium dodecyl sulfate*) [3]. Diese Penetrationsförderer erleichtern zwar den Stofftransport durch die Haut, führen aber gleichzeitig zu einer Schädigung der Haut in deren Folge ein Feuchtigkeitsverlust und Erkrankungen wie Ekzeme und Psoriasis auftreten können [2]. Somit ist ein weiteres Ziel der Forschung definiert: die Förderung der Penetration und Permeation von Arzneistoffen durch die Haut, bei gleichzeitigem maximalen Schutz und Erhalt der Barrierefunktion. Zusammengefasst ist es das Ziel die Haut zu durchdringen, ohne sie zu schädigen.

Aktuell stehen selbstorganisierende nanostrukturierte Emulsionen im Fokus der Betrachtung. Sie bestehen unter anderem aus ambiphilen Monoglyzeriden, die sich spontan und selbstständig zu organisierten Nanostrukturen zusammensetzen. Diese Nanostrukturen können wiederum unter Energieaufwand zu Isosomen, wie z.B. Kubosomen, Hexasomen oder emulgierten Mikroemulsionen dispergiert werden [4]. Diese Nanopartikel finden bereits erfolgreich Anwendung im technischen Bereich und bringen mehrere positive Eigenschaften mit sich: sie besitzen eine große Oberfläche und eine hohe Aufnahmekapazität für hydrophile, hydrophobe und ambiphile Stoffe.

Die emulgierten Mikroemulsionen sind thermodynamisch stabile Systeme vom Typ Wasser-in-Öl-in-Wasser (W/O/W) und stellen optimale nanostrukturierte Vehikel für den Transport verschiedenster aktiver Bestandteile, wie z.B. Arzneistoffe dar [4, 5].

Gegenstand dieser Arbeit war daher die *in vitro* Untersuchung des Effekts der verschiedenen selbstorganisierenden, nanostrukturierten Partikel hinsichtlich ihrer Eignung als Abgabesystem für topisch applizierte Arzneistoffe. Wichtig war hierbei die Frage, ob die internen Strukturen Einfluss auf den Transport des Arzneistoffs zeigen. Als Modellwirkstoffe wurden die häufig angewendeten nicht steroidalen Antiphlogistika (*non steroidal anti inflammatory drugs, NSAID*) Diclofenac-Natrium und Flufenaminsäure ausgewählt. Die *in vitro* Methoden zur Charakterisierung der Eigenschaften als Abgabesystem für topisch applizierte Arzneiformen waren Franz-Zell- und Tape-Stripping-Versuche.

Des Weiteren wurde die Auswirkung einer ölreichen nanostrukturierten Formulierung auf die intakte Beschaffenheit der Haut *in vivo* untersucht, um zu klären ob die Applikation mit einer Schädigung oder Austrocknung der Haut einhergeht. Als Methoden wurden hierfür die konfokale Raman Spektroskopie in Kombination mit den Messgeräten Derma Unit® und Aquaflux® verwendet.

Insbesondere die Raman Spektroskopie als nicht-invasive, hochspezifische und gut reproduzierbare Methode eignet sich hervorragend zur Bestimmung der Beschaffenheit der Haut [6].

Ziel dieser Arbeit war es demnach sowohl die Eignung der selbstorganisierenden Emulsionssysteme für den Arzneistofftransport *in vitro*, als auch die Auswirkung der Anwendung solcher Systeme auf die Beschaffenheit der Haut *in vivo* zu untersuchen.

2 Allgemeiner Teil

2.1 Die Haut

Die Funktion der Haut ist es, den Körper vor schädlichen Umwelteinflüssen zu schützen und übermäßigen Feuchtigkeitsverlust zu verhindern [3, 7]. Zudem schützt die Haut vor mikrobiellem Befall [1]. Für diese Barrierefunktion ist vor allem die äußerste Hautschicht, das Stratum corneum (SC) verantwortlich [8]. Der Großteil der topisch applizierten Arzneistoffe kann das Stratum corneum nicht durchdringen und somit den Wirkort nicht erreichen [3]. Um die notwendigen Mechanismen zur Beeinträchtigung der Barrierefunktion des Stratum corneum und zur Steigerung der Penetration von Wirkstoffen in die Haut verständlich zu machen, ist die genaue Kenntnis des Aufbaus der Haut essentiell.

2.1.1 Aufbau der Haut

Der histologische Aufbau der menschlichen Haut umfasst mehrere Schichten. Von außen nach innen gliedert sie sich in Epidermis (Oberhaut), Dermis (Lederhaut, Cutis, Corium) und Subcutis (Unterhaut, Hypodermis) [1, 9].

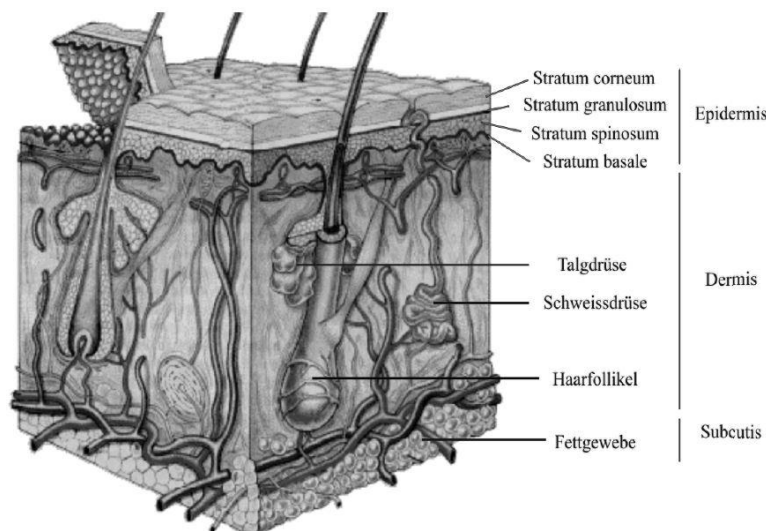


Abbildung 1: Schematische Darstellung der menschlichen Haut [10].

Die Subcutis besteht zum Großteil aus in Bindegewebe eingelagerten Fettzellen und trägt maßgeblich zur Isolation des Körpers gegen Kälte und Wärme bei. Zudem ist sie durch große Mengen an Fettzellen ein wichtiges Energiereservoir des Körpers [11]. Der Übergang von Subcutis zu Dermis ist nicht scharf abzugrenzen, sondern verläuft fließend [12].

Die Dermis wiederum besteht vor allem aus Kollagenfasern und Bindegewebe. Sie verleiht der Haut ihre Stabilität und Elastizität. In ihr befinden sich neben den Blut- und Lymphgefäßen die Hautanhangsgebilde der Haarfollikel, Talg- und Schweißdrüsen [13].

Die Epidermis setzt sich aus mehreren Unterschichten zusammen. Dazu gehören Stratum corneum (Hornschicht), Stratum lucidum (Glanzschicht), Stratum granulosum (Körnerschicht) und Stratum germinativum (Keimschicht). Das Stratum germinativum lässt sich wiederum in Stratum spinosum (Stachelzellschicht) und Stratum basale (Basalschicht) gliedern [1]. Die Epidermis besteht zu über 90% aus Keratinozyten [12, 14]. Diese werden im Stratum basale gebildet und gelangen dann mit zunehmender Differenzierung und Verhornung in Richtung des toten Stratum corneum, von wo sie als Hautschuppen abschilfern [12].

Die wichtigste Rolle für die Barrierefunktion der Haut spielt das Stratum corneum [15]. Es besteht aus ca. 20 Lagen toter Keratinozyten, mit einer jeweiligen Dicke von etwa 0,5 μm und einer Länge von etwa 30-40 μm [1]. Die effiziente Funktion erlangt das Stratum corneum durch seinen charakteristischen Aufbau, der sich vereinfacht durch das Ziegelstein-Mörtel-Prinzip nach Elias [16] darstellen lässt:

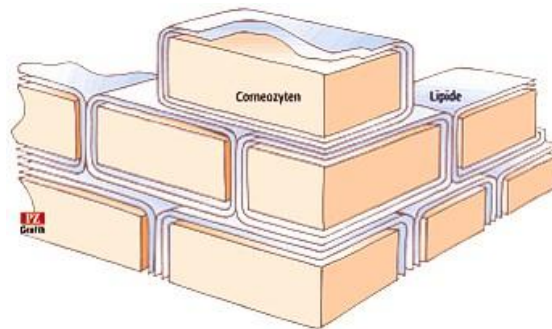


Abbildung 2: „Ziegelstein-Mörtel“ Modell nach Elias [16].

In diesem Modell stellen die abgestorbenen, verhornten und mit dem Stützprotein Keratin gefüllten Korneozyten die „Ziegelsteine“ dar. Diese dienen als physikalische Barriere [17]. Die interzellulären Lipide stellen den „Mörtel“ dar. Sie bestehen zum Großteil aus equimolaren Mengen von Ceramiden, Fettsäuren und Cholesterol [16].

Die enorme mechanische Stabilität erlangt das Stratum corneum vor allem durch 4 Faktoren: durch die hakenförmige Struktur der Korneozyten, durch die punktförmigen molekularen Verbindungsstellen zwischen den Zellen (*Corneodesmosomen*), durch die Doppelschichtstrukturen (*bilayer*) der Lipide des Stratum corneum, sowie durch die Schlussleisten (*tight junctions*) zwischen den lebenden und den toten Hautschichten [16]. Bemerkenswert ist zudem die Fähigkeit zur ständigen Selbsterhaltung des Stratum corneum durch konstante Selbsterneuerung seiner Bestandteile [17]. Das Stratum corneum ist im Gegensatz zu allen anderen biologischen Membranen frei von Phospholipiden [2].

2.1.2 Penetrationswege durch die Haut

Bei intakter Haut liegen prinzipiell drei Möglichkeiten der Penetration vor: transepidermal, transfollikulär oder transglandulär [1]. Der transglanduläre Weg beschreibt das Eindringen der Substanz über Drüsenausführgänge, der transfollikuläre über Haarschäfte [18]. Diese beiden Wege sind von untergeordneter, aber nicht ohne Bedeutung [19, 20]. Der transepidermale Weg lässt sich weiter differenzieren in die transzelluläre, die hydrophile und die hydrophobe Route. Während die transzelluläre Route umständlich erscheint, da der Weg der Penetration und Diffusion abwechselnd durch lipo- und hydrophile Strukturen verläuft, stehen vor allem der hydrophile Weg über corneodesmosomale Strukturen, sowie der lipophile Weg über Diffusion entlang der Kohlenwasserstoffketten der Stratum corneum Lipide im Fokus der Betrachtung [16].

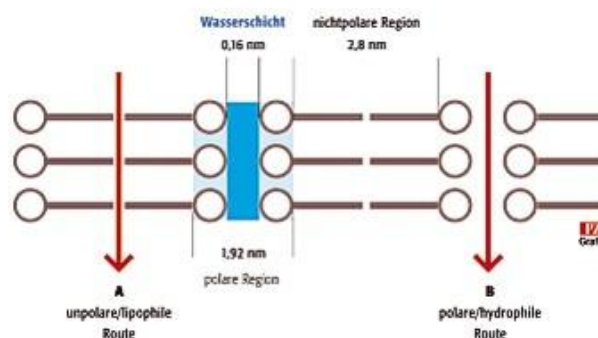


Abbildung 3: lipophile und hydrophile Route durch das Stratum corneum Bilayer [16].

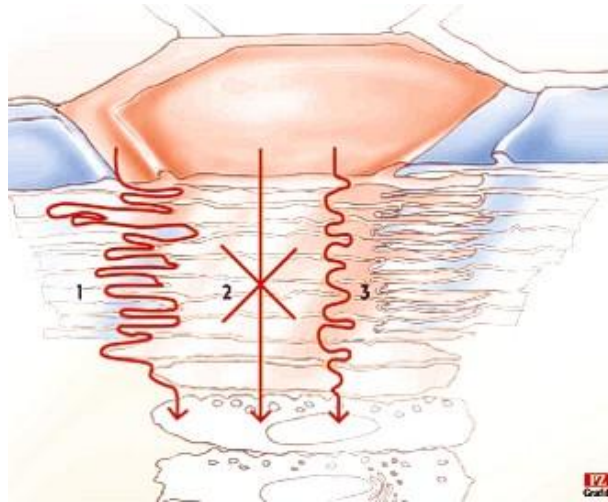


Abbildung 4: Transportwege durch das Stratum corneum; 1: interzellulärer Weg; 2: unwahrscheinlicher transzellulärer Weg; 3: corneodesmosomaler Weg [16].

Der passive transepidermale Transport gehorcht dem 1. Fick'schen Diffusionsgesetz: Demnach ist der Massenstrom (flux) J abhängig von der Masse M , die eine Fläche A pro Zeiteinheit durchwandert. Der Massenstrom J ist direkt proportional zum Konzentrationsgefälle dC entlang der Diffusionsstrecke x [21]. Je größer der Diffusionskoeffizient D , die Fläche A und die Konzentrationsdifferenz dC , desto schneller die Diffusion. Je weiter die Diffusionsstrecke x desto langsamer die Diffusion [12].

$$J = \frac{dM}{A \cdot dt} = -D \cdot \frac{dC}{dx}$$

Abbildung 5: Ficksches Diffusionsgesetz [21].

Anzumerken ist, dass die Diffusionsstrecke auf dem interzellulären Weg wesentlich länger ist als der direkte, transzelluläre Weg. Dieser würde der Dicke des Stratum corneum und damit etwa 20 μm entsprechen. Schätzungen zufolge kann sich die Diffusionsstrecke jedoch auf bis zu 300 μm und damit das Fünfzehnfache des transzellulären Weges erstrecken [2].

2.1.3 Penetrationsfördernde Substanzen

Je nach Penetrationstiefe der applizierten Substanzen werden epidermale, endodermale (*diadermale*) und transdermale Formulierungen unterschieden. Epidermale Substanzen verbleiben auf der Hautoberfläche, endodermale oder diadermale Formulierungen verbleiben in der Epidermis oder Dermis und transdermale Formulierungen gelangen bis in den systemischen Blutkreislauf [3].

Bereits seit Jahrzehnten werden Möglichkeiten untersucht um die Aufnahme von Arzneistoffen zur dermalen und transdermalen Therapie zu steigern, bzw. diese überhaupt erst zu ermöglichen [16].

Eine Steigerung der Penetration durch das Stratum corneum kann mit Hilfe verschiedener chemischer und physikalischer Maßnahmen erreicht werden [3]. Eine einfache physikalisch anzuwendende Maßnahme ist die Okklusion, also das Luft- und wasserundurchlässige Abdichten der Haut [1]. Durch Okklusion lässt sich der Wassergehalt des Stratum corneum von 5-10% auf bis zu 50% steigern, wodurch die Korneozyten anschwellen und die Penetration erleichtern [3]. Somit fungiert Wasser als Penetrationsförderer [3].

Als chemische Maßnahme stehen weitere Penetrationsförderer (*penetration enhancers*) zur Verfügung: Alkohol, DMSO (*Dimethylsulfoxid*), Azone, Pyrrolidone, Urea, Propylenglycol, Tenside, Terpene, Terpenoide, Fettsäuren, Ester und Cyclodextrine fördern die Penetration. Durch Interaktion mit den polaren Köpfen oder den apolaren Ketten der Lipide wird die dichte Bilayer-Struktur gestört und in Folge die Penetration verbessert [3].

Der ideale Penetrationsförderer sollte pharmakologisch inert, nicht toxisch und nicht allergen sein. Er sollte nicht reizen, jedoch schnell und lange wirken. Zudem sollte bei der Anwendung von Penetrationsförderern auf Inkompatibilitäten mit anderen Bestandteilen der jeweiligen Formulierung geachtet werden [2].

In den Formulierungen zu dieser Arbeit war das Terpen *R*-(+)-Limonen enthalten. Terpene sind lipophile, nichtaromatische Bestandteile ätherischer Öle, welche die hydrophobe Route (*vgl. 2.1.2*) positiv beeinflussen. Sie sind kaum irritierend für die Haut und erhielten von der FDA GRAS (*generally recognized as safe*) - Status [3].

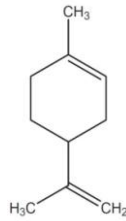


Abbildung 6: R-(+)-Limonen [22].

2.1.4 Porzine Haut

Zur Untersuchung der Penetration von Arzneistoffen eignet sich neben humaner Haut auch die Haut von hellhäutigen Schweinen [23, 24]. Dabei hat porzine Haut den Vorteil, dass keine Genehmigung einer Ethik-Kommission notwendig ist und, bedingt durch den hohen Schweinefleisch Konsum und die damit verbundenen Schlachtabfälle, reichlich preiswertes Ausgangsmaterial vorhanden ist [25, 26]. Insbesondere die dorsale Seite porziner Ohren hat sich als geeignet erwiesen: dort ist die Haut stabil, fein und der Struktur der menschlichen Haut sehr ähnlich [23, 24, 27]. Auch unter dem hochsensiblen Raman-Spektroskop konnte die porzine Haut dem direkten Vergleich mit menschlicher Haut Stand halten [26, 28].

2.2 Selbstorganisierende nanostrukturierte Emulsionen

2.2.1 Definition und Zusammensetzung

Für die vorliegende Arbeit wurden von der Arbeitsgruppe Otto Glatter (Technische Universität Graz) bereits genau charakterisierte Proben zur Verfügung gestellt.

Die Strukturen wurden von Glatter et al. nach Bestimmung mittels SAXS (*small angle x-ray scattering*) und Mikroskopie als bikontinuierlich-kubische, hexagonale und mizellar-kubische Phasen oder als Mikroemulsionen angegeben [61].

Bei den verwendeten Formulierungen handelt es sich um Monoglyzeride enthaltende Dispersionen, die sich in wässriger Phase spontan selbst organisieren.

Die entstehenden Nanostrukturen wurden unter Energieaufwand zu Isasomen dispergiert. Der Aufbau der Isasomen war abhängig vom *R-(+)*-Limonengehalt der Formulierung. Details hierzu unter 2.2.2 „Interne Strukturen“.

Die acht verwendeten Formulierungen bestanden jeweils zu 20% aus einer Ölphase aus Monoglyzeriden (62% Linoleate, 25% Oleate) mit 0-60% *R-(+)*-Limonen in der Ölphase, 1% Arzneistoff (Diclofenac-Natrium oder Flufenaminsäure) entsprechend 5% Arzneistoff in der Ölphase und 80% Wasser.

Die vier Formulierungen mit Diclofenac-Natrium unterschieden sich durch den *R-(+)*-Limonengehalt von jeweils 0%, 10%, 45% und 60% in der Ölphase. Die vier Formulierungen mit Flufenaminsäure unterschieden sich durch den *R-(+)*-Limonengehalt von jeweils 0%, 10%, 30% und 45% in der Ölphase.

2.2.2. Interne Strukturen

Durch die Variation des *R-(+)*-Limonengehalts bei der Herstellung der Formulierungen im Vorfeld dieser Arbeit wurden verschiedene nanostrukturierte selbstorganisierende wässrige Dispersionen mit unterschiedlichen internen Strukturen erhalten [4]. Es ergaben sich in Abhängigkeit vom *R-(+)*-Limonengehalt folgende Strukturen: 0% *R-(+)*-Limonengehalt ergab bikontinuierlich-kubische Strukturen, 10% *R-(+)*-Limonengehalt ergab hexagonale Strukturen, 30% *R-(+)*-Limonengehalt in Formulierungen mit Flufenaminsäure und 45% *R-(+)*-Limonengehalt in Formulierungen mit Diclofenac-Natrium ergaben mizellare kubische Phasen, 45% *R-(+)*-Limonengehalt in Formulierungen mit Flufenaminsäure und 60% *R-(+)*-Limonen in Formulierungen mit Diclofenac-Natrium ergaben emulgierte W/O/W Mikroemulsionen [29, 62].

2.2.3 Anwendung

Bisher fanden selbstorganisierende nanostrukturierte Dispersionen vor allem im technischen Bereich Anwendung. Sie sind sowohl in der Grundlagenforschung von großer Bedeutung, als auch in der praktische Anwendung. Diese den biologischen Membranen ähnlichen Phasen zeigten bereits großes Potential als Vehikel für verschiedene empfindliche Wirkstoffe, wie zum Beispiel Peptide [4].

2.3 Grundlagen Raman Spektroskopie

Die Raman-Spektroskopie ist eine auf Lichtstreuung basierende, zur IR-Spektroskopie komplementäre Analysenmethode [30]. Analog zur IR-Spektroskopie regt monochromatisches Licht Molekülgruppen zur Schwingung an, wodurch charakteristische Raman-Banden detektiert werden können. Benannt wurde die Raman-Spektroskopie nach dem indischen Physiker C. V. Raman. Der zugrunde liegende Effekt, auch „Smekal-Raman-Effekt“ genannt, wurde zudem nach dem österreichischen Physiker A. G. Smekal benannt [31]. Raman-Spektroskopie wird im europäischen Arzneibuch (EuAB) unter 2.2.48 [7.0/2.02.48.00] als Methode der Physik und der physikalischen Chemie beschrieben [30].

Aufgrund der besonderen Empfindlichkeit der Raman-Spektroskopie für unpolare Bindungen, wie z.B. C-C-Einfach- und vor allem Mehrfachbindungen und die daraus resultierende Unempfindlichkeit für polare Bindungen eignet sich die Raman-Spektroskopie hervorragend zur Analyse der Haut [6, 26, 30].

Während Wasser bei der IR-Spektroskopie intensive Spektren erzeugt, ist es für die Raman Spektroskopie durch die schwache Lichtstreuung unproblematisch [30]. Beachtet werden muss jedoch, dass die mit dem Raman-Spektrometer vermessenen Proben nicht fluoreszieren dürfen und auch keine fluoreszierenden Verunreinigungen enthalten dürfen [31]. (Siehe dazu auch 2.3.1)

Der technische Fortschritt und die Entwicklung von immer leistungsfähigeren Lasern und Detektoren wird die Raman-Spektroskopie in der Zukunft immer mehr an Bedeutung gewinnen lassen [32].

2.3.1 Theorie

Grundlage der Raman-Spektroskopie ist die unelastische Streuung von monochromatischem Licht (in der Regel Laser-Licht). Gemessen wird, nach der Bestrahlung mit dem Laser, die Frequenzverschiebung des an der untersuchten Substanz gestreuten Lichts [30, 31].

Unterschieden werden muss die Streuung des Lichts unter Änderung der Wellenzahl (*Raman-Streustrahlung, unelastische Streuung*) von der Streuung des Lichts in alle Raumrichtungen ohne Änderung der Wellenzahl (*Rayleigh-Streuung, elastische Streuung, Tyndall-Effekt*) [31, 33]. Denn trotz der Parallelen zur IR-Spektroskopie bestehen wesentliche Unterschiede: Nur ein geringer Teil (<1%) der Lichtquanten des Lasers gibt bei der Streuung einen Teil ihrer Energie an die Probenmoleküle ab. Die Probenmoleküle werden durch diese Energie zur Schwingung oder Rotation angeregt und die Lichtquanten treten, um den übertragenen Energiebetrag ärmer, wieder aus der Probe aus. Die Lichtquanten werden als Raman-Streustrahlung emittiert und die Verschiebung ihrer Wellenzahl kann detektiert werden. Die Differenz zwischen den Wellenzahlen der emittierten Raman-Streustrahlung und der des eingestrahnten Lasers entspricht exakt der Energie, die zur Anregung der Moleküle zur Schwingung notwendig war. Diese charakteristische Energiedifferenz wird photoelektronisch registriert und definierten Molekülschwingungen zugeordnet [31, 33]. Eine umgekehrte Übertragung der Energie ist ebenfalls möglich: trifft die Anregungsstrahlung auf bereits angeregte Moleküle, so geben diese einen Teil Ihrer Schwingungsenergie auf die eintreffende Strahlung aus und es treten energiereichere Quanten aus der Probe aus als hinein gestrahlt wurden.

Diese treten im Spektrum als „anti-Stokes-Linien“ auf, während die in den langwelligeren, also energetisch niedrigeren Bereich verschobenen Banden als „Stokes-Linien“ bezeichnet werden [33].

Um aktuelle Probleme, wie zum Beispiel die Analyse fluoreszierender Stoffe, besser handhaben zu können, kann ein Raman-Spektrometer auch in der Fourier-Transformations-Methode (*FT-Mode*) betrieben werden. Hierbei wird die Probe nicht mit monochromatischem Licht angeregt und die aus der Probe austretende Lichtintensität wird als Interferogramm registriert. Ein Interferogramm bezeichnet ein Intensität-pro-Zeit-Diagramm.

Statt der Funktion der Wellenzahl wird hier die Lichtintensität als Funktion der Zeit detektiert. So werden Wellenzahlgenauigkeit und Auflösung erhöht und die Störanfälligkeit durch Fluoreszenz vermindert [31, 32, 34].

Zu den großen Vorteilen der Raman-Spektroskopie zählen die unkomplizierte Probenvorbereitung, die genaue Erfassung unpolarer Substanzen und die Unempfindlichkeit gegenüber Wasser [33].

Für die Anwendung im Bereich der Dermatologie zeichnet sich die Raman-Spektroskopie sowohl durch die unkomplizierte, nichtinvasive Anwendung zur spezifischen Bestimmung von diversen Hautparametern *in vivo* aus, als auch durch die bisher einzigartige Möglichkeit der detaillierten und hochauflösenden Analyse der molekularen Zusammensetzung der Haut. Zudem können die mit dieser Technologie erfassten Parameter erstmals *in vivo* und nicht invasiv als Funktion der Konzentration in Relation zur Tiefe in der Haut dargestellt werden [6]. Für die Bestimmung der Dicke des Stratum corneum gilt die konfokale Raman Spektroskopie mittlerweile sogar als „Goldstandard“ [35].

2.3.2 Aufbau des Spektrometers

Grundvoraussetzung für ein funktionsfähiges Raman-Spektrometer und damit das Herzstück des Gerätes ist eine äußerst intensive Lichtquelle, da wie bereits beschrieben nur weniger als 1% der Anregungsstrahlung unelastisch gestreut und anschließend detektiert wird [31].

Speziell bei der Anwendung zur *in vivo* Bestimmung von Hautparametern muss jedoch darauf geachtet werden, dass die Laserpower nicht überdimensioniert ist und keine Verbrennungen der Probanden bewirkt werden [26].

Ein handelsübliches Raman-Spektrometer setzt sich zusammen aus einer monochromatischen Lichtquelle, einer geeigneten Optik zur Leitung der Strahlen, einer Vorrichtung zur spektralen Zerlegung und einem Mehrfachkanaldetektor. Angeschlossen wird das Spektrometer an eine Datenverarbeitungseinheit, in der Regel ein handelsüblicher Computer mit entsprechender Software [30].

Der Strahlenweg verläuft ausgehend von der monochromatischen Lichtquelle durch einen Filter zu einem Objektiv, das die Strahlen auf die Haut fokussiert. In der Haut kommt es zum beschriebenen Raman-Effekt. Das Raman-Streulicht wird vom selben Objektiv gebündelt und reflektiert bis es auf einen optischen Filter gelangt, von dem aus es in ein Mehrkanal Spektrometer mit einer CCD-Einheit (*charged coupled device*) geleitet wird [6].

Erfolgt der Aufbau in Kombination mit einem Konfokalmikroskop als fokussierende Optik, bezeichnet man die Apparatur als konfokales Raman-Spektroskop (*confocal Raman microscopy, CRM* bzw. *confocal Raman spectroscopy, CRS*) [26, 35].

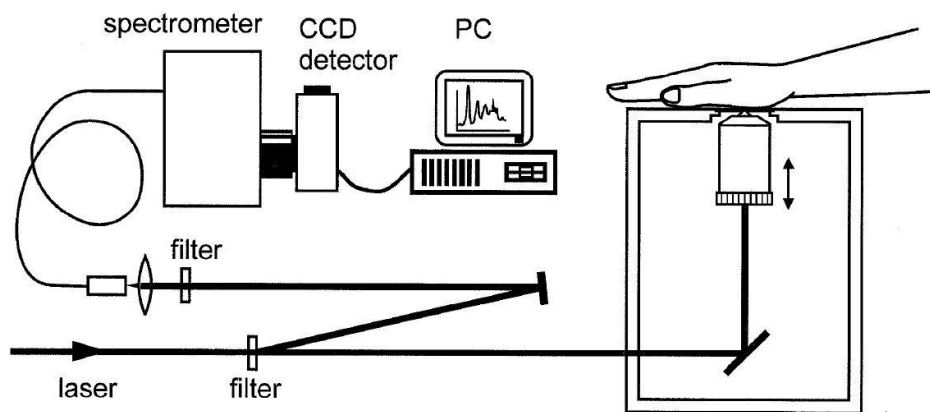


Abbildung 7: Schematischer Aufbau Raman-Spektrometer [6]

Für diese Arbeit wurde ein Raman-Spektrometer des Fabrikats *Skin Composition Analyzer gen2-SCA, River Diagnostics BV, Rotterdam, Niederlande* verwendet. Dies umfasste neben den zuvor bereits erwähnten Bestandteilen eine Power Supply Unit zur Energieversorgung der Komponenten. Die verwendete Software zur Steuerung des Spektrometers war die *River Icon® control-software*.

Zur Datenverarbeitung und Auswertung wurde das Programm *Skin Tools® 2.0*, sowie *Microsoft Excel 2007®* verwendet. Das *Skin Tools®* Programm stammt ebenfalls von *River Diagnostics BV, Niederlande*.

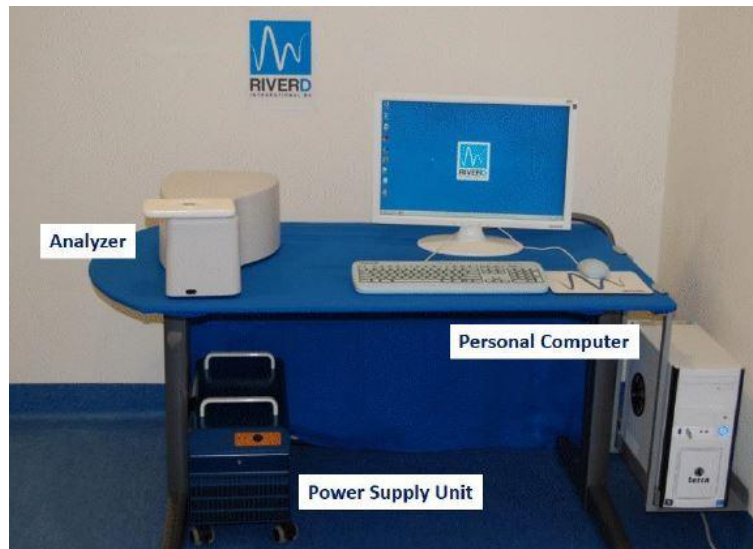


Abbildung 8: Komponenten des Skin Composition Analyzer gen2-SCA [36]

2.3.3 Fingerprint-Spektren

Raman-Spektren lassen sich in zwei charakteristische Regionen unterteilen: die Fingerprint-Region (*fp*) und die High-wavenumber-Region (*hwvn*, siehe 2.3.4). Die Fingerprint Region umfasst den Spektralbereich von $400\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ [36]. Anregung erfolgt hier über einen Laser mit einer Wellenlänge von 785 nm [35, 36]. Über das Fingerprint-Profil können diverse Parameter der Haut, wie beispielsweise der Natural Moisturizing Factor (NMF), semiquantitativ bestimmt werden. Der NMF umfasst die Konzentrationen von Serin, Glycin, Pyroglutaminsäure, Arginin, Ornithin, Citrullin, Alanin, Histidin und Urocaninsäure und ist ausschließlich im Stratum corneum zu finden [6, 37]. Neben dem NMF können bereits von Haus aus Keratin, Urea, Ceramide und Cholesterol quantifiziert werden. Des Weiteren kann jede beliebige exogene Substanz nach Aufnahme in die Haut bestimmt werden. Zur Erstellung eines Differentialspektrums muss zuvor lediglich die Reinsubstanz vermessen worden sein.

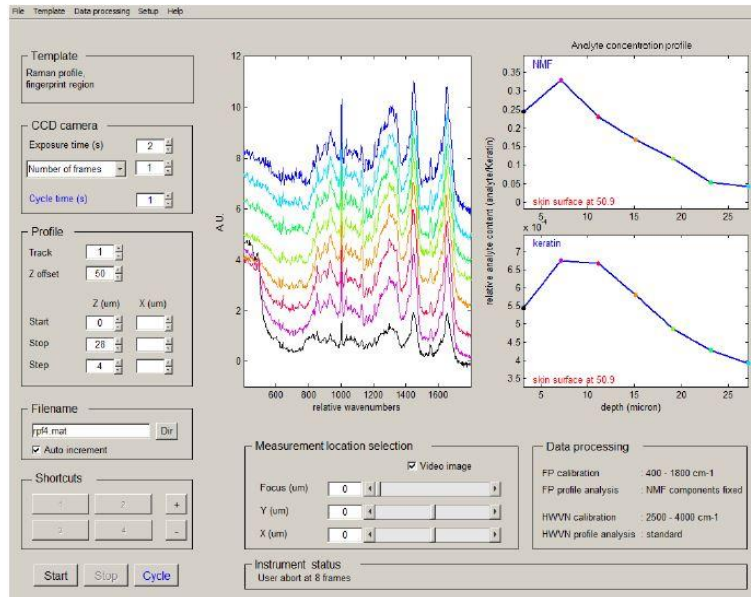


Abbildung 9: Beispielhaftes Ergebnis einer Messung des Stratum corneum unter Verwendung des Raman Profils „fingerprint template“, Screenshot aus River Icon® Software [36]

2.3.4 Wasser-Spektren

Die *high-wavenumber-region* (hwn) umfasst den Spektralbereich $2500\text{-}4100\text{ cm}^{-1}$ [36]. Die Anregung erfolgt hier über einen Laser mit einer Wellenlänge von 671 nm [35, 36]. Dadurch wird die Messung der Wasserkonzentration im Stratum corneum und die Darstellung der Konzentration als Funktion zur Entfernung von der Hautoberfläche möglich [6]. Die Quantifizierung wird über die Integration des Verhältnisses des Wasser-Peaks ($3350\text{-}3550\text{ cm}^{-1}$) zum Protein Peak ($2910\text{-}2965\text{ cm}^{-1}$) berechnet [35].

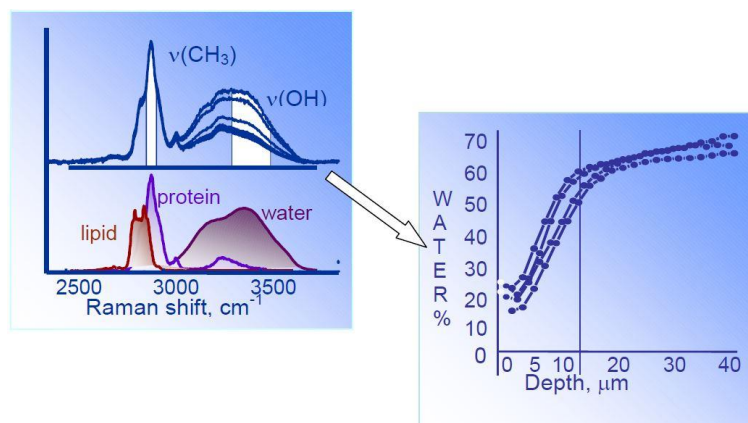


Abbildung 10: Bestimmung der Wasserkonzentration in der Haut [38]

Von Bedeutung ist der Feuchtigkeitsgehalt der Haut sowohl für die Bestimmung der Integrität der Haut, als auch für die Barrierefunktion der Haut, die wiederum maßgeblich die Penetration und Permeation von Arzneistoffen beeinflusst [26]. Durch ihre Zuverlässigkeit und Unkompliziertheit hat sich diese Methode zur nichtinvasiven Bestimmung des Feuchtigkeitsgehalts der Haut längst etabliert [26].

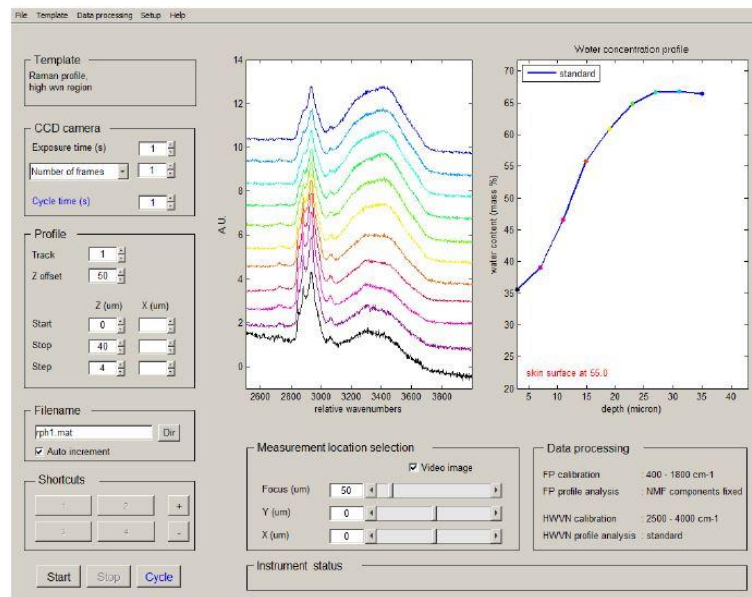


Abbildung 11: Beispielhaftes Ergebnis einer Messung des Stratum corneum unter Verwendung des Raman Profils „high wvn template“, Screenshot aus River Icon® Software [36]

2.4. Grundlagen Derma Unit® und Aqua Flux®

Für die nichtinvasive Untersuchung der physiologischen Hautparameter Feuchtigkeitsgehalt, Sebumgehalt, pH-Wert und des transepidermalen Wasserverlustes (*transepidermal water loss, TEWL*) sind die dermatologischen Messgeräte Derma Unit® und AquaFlux® von großer Bedeutung. Mit Hilfe dieser Messgeräte und der gewonnenen Daten lassen sich Aussagen über die Unversehrtheit und die Funktion der Haut treffen [39].

Die Derma Unit® (*Derma Unit SSC3, Courage + Khazaka Electronic GmbH, Köln, Deutschland*) ist ein Gerät, das mehrere Messinstrumente in einem Gehäuse vereint: Corneometer®, Sebumeter® und Skin-pH-Meter® [40].

Eine einfache Handhabung, sowie die zuverlässigen und akkuraten Messergebnisse mit einer Fehlerbreite von nur $\pm 5\%$ zeichnen dieses Gerät aus [41].



Abbildung 12: Derma Unit®

Der AquaFlux® (*Biox AquaFlux® AF200, Biox Ltd., Großbritannien*) ist ein Kondensator-Kammer-Gerät zur Messung des TEWL [42]. Das System basiert auf einer geschlossenen Kammer. Diese zylinderförmige Messkammer mit einem Durchmesser von etwa 1 cm ist am oberen Ende durch einen Kondensator verschlossen. Am unteren Ende ist die Kammer offen und wird durch aufpressen auf die zu messende Hautstelle zum geschlossenen System. Der Kondensator hält die Temperatur in der Kammer unter dem Gefrierpunkt und beseitigt so den von der Haut abgegebenen Wasserdampf. Dadurch entsteht ein Wasserdampfgradient der eine kontinuierliche Diffusion des Wasserdampfs von der Haut zum Kondensator hin bewirkt. Zudem hält der Kondensator die Luftfeuchtigkeit in der Kammer konstant und schützt vor externen Einflüssen wie Temperatur und Wind [42].

Beeinflusst werden die Messergebnisse von der Temperatur der Haut und der Umgebung, von der Transpiration des Probanden, der Luftfeuchtigkeit der Umgebung, der Lichteinstrahlung, der untersuchten Körperstelle, der Jahreszeit und des jeweiligen circadianen Rhythmus des Probanden [43].



Abbildung 13: BioX AquaFlux®

2.4.1 Sebumeter®

Mit dem Sebumeter® wird der Sebumgehalt an der Hautoberfläche und somit die Aktivität der Talgdrüsen bestimmt [39]. Wichtig ist die Sebumsekretion für die Ausbildung des „Säureschutzmantels“ der Haut und die Aufrechterhaltung des pH-Werts von 4,2-5,6 [1].

Richtwerte bei 20 °C und 40-60% Luftfeuchtigkeit werden vom Hersteller wie folgt angegeben [40]:

Tabelle 1: Richtwerte Sebumgehalt lt. Hersteller (in µg Sebum/cm²Haut)

Hautstatus	Kopfhaut, Stirn, T- Zone	Haare	Wange, Schläfe, Augenlid	Hals, Rücken, Oberkörper, Mundwinkel	Arme, Beine, Hand, Ellenbogen
trocken	< 100	< 40	< 70	< 55	0-6
normal	100-220	40-100	70-180	55-130	> 6
fettig	> 220	> 100	> 180	> 130	-

2.4.2 Corneometer®

Mit dem Corneometer® wird der Feuchtigkeitsgehalt der Haut über die Messung der Kapazität der Hautoberfläche bestimmt. Im Gegensatz zur Bestimmung über die Impedanz hat die Kapazitätsmessung den Vorteil, unabhängig vom Elektrolytgehalt zu verlaufen [44].

Richtwerte bei 20 °C und 40-60% Luftfeuchtigkeit werden vom Hersteller wiederum wie folgt angegeben [40]:

Tabelle 2: Richtwerte Feuchtigkeitsgehalt lt. Hersteller (rel. Werte 0-130)

Hautstatus	Unterarm (Innenseite)
sehr trocken	< 30
trocken	30-45
ausreichend feucht	> 45

2.4.3 Skin-pH-Meter®

Mit dem Skin-pH-Meter® wird der pH-Wert der Haut bestimmt. Dieser liegt im gesunden Zustand zwischen 4,2 und 5,6 [1]. Die Messung ist unabhängig von den Umgebungsparametern, kann jedoch durch übermäßiges Schwitzen oder die Anwendung von Kosmetika auf der zu messenden Stelle verfälscht werden [40]. Ein erhöhter pH-Wert lässt auf einen pathologischen Zustand der Haut schließen [2, 45].

Richtwerte bei 20 °C und 40-60% Luftfeuchtigkeit werden vom Hersteller wiederum wie folgt angegeben [40]:

Tabelle 3: Richtwerte Haut-pH lt. Hersteller

pH-Wert	< 3,5 - 4,0	4,3	4,5 - 5,5	5,7 - > 6,5
♂	saurer Bereich	normaler Bereich		basischer Bereich
♀	saurer Bereich		normaler Bereich	basischer Bereich

2.4.4 Transepidermaler Wasserverlust

Obwohl das Stratum corneum eine nur schwer zu durchdringende Barriere ist, findet ein konstanter transepidermaler Wasserverlust durch Verdunstung auf der Haut statt. Der TEWL beschreibt die Wassermenge in Gramm, die stündlich pro Quadratmeter Haut an die Umgebung abgegeben wird [46]. Als Normwerte gelten 10,00-13,16 g/m²/h [39]. Während niedrige TEWL-Werte eine intakte Hautbarriere und eine damit verbundene niedrige Permeation durch die Haut anzeigen, weisen erhöhte TEWL-Werte auf eine nicht mehr intakte Barrierefunktion der Haut hin [2].

Je nach gemessener Körperregion können die TEWL-Werte zum Teil erheblich voneinander abweichen [47]. Analog zur Wirkstoffaufnahme durch die Haut unterliegt die Wasserabgabe durch die Haut ebenfalls dem 1. Fick'schen Diffusionsgesetz [47].

2.5 Grundlagen der verwendeten Arzneistoffe

In die zu untersuchenden Formulierungen wurden die beiden nicht-steroidalen Entzündungshemmer (*non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAID*) Flufenaminsäure und Diclofenac-Natrium eingearbeitet. Während Diclofenac auch systemisch Anwendung findet, wird Flufenaminsäure nur mehr topisch angewandt [48].

2.5.1 Flufenaminsäure

Flufenaminsäure ist ein Anthranilsäurederivat. Der zugrundeliegende Wirkmechanismus ist, wie bei allen NSAIDs, die Hemmung der Cyclooxygenasen (COX) 1 und 2 [48, 49]

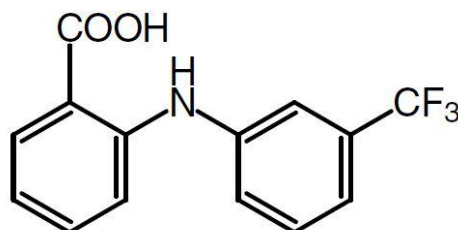


Abbildung 14: Flufenaminsäure [30]

Eigenschaften von Flufenaminsäure [30]:

2-[[3-(Trifluormethyl)phenyl]amino]benzoesäure mit der Summenformel $C_{14}H_{10}F_3NO_2$ ist ein schwach gelbes, kristallines Pulver oder Nadeln. Das Molgewicht beträgt 281,2 g/mol. Es ist praktisch unlöslich in Wasser und leicht löslich in Ethanol 96%. Die Schmelztemperatur beträgt 132-135 °C.

2.5.2 Diclofenac-Natrium

Diclofenac-Natrium ist ein saures (pK_a 3,5-5), antipyretisch und analgetisch wirkendes NSAID. Es handelt sich dabei um ein Arylessigsäurederivat. Der Wirkmechanismus ist analog zur Flufenaminsäure die unspezifische Hemmung der COX 1 und 2 [9, 50, 51].

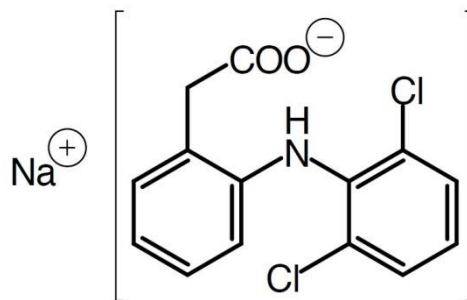


Abbildung 15: Diclofenac-Natrium [30]

Eigenschaften von Diclofenac-Natrium (*Diclofenacum natrium*) [30]:

Natrium[[2-[(2,6-dichlorphenyl)amino]phenyl]acetat] mit der Summenformel $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$ ist ein weißes bis schwach gelbliches kristallines Pulver. Das Molgewicht beträgt 318,1 g/mol. Es ist wenig löslich in Wasser, leicht löslich in Methanol, löslich in Ethanol 96% und schwer löslich in Aceton. Die Schmelztemperatur beträgt 280 °C unter Zersetzung.

3 Methoden

3.1 Charakterisierung der untersuchten Formulierungen

Die Charakterisierung der Nanostrukturen der untersuchten Formulierungen wurde zuvor extern von der Arbeitsgruppe Otto Glatter (Technische Universität Graz) mittels Kleinwinkel-Röntgenstreuung (*small angle x-ray scattering, SAXS*) und mikroskopischen Untersuchungen durchgeführt [4, 29].

3.2 In Vitro Hautstudien

Die in vitro Hautstudien umfassten sowohl Franz-Zell-, als auch Tape-Stripping-Versuche. Die Quantifizierung der Modellarzneistoffe erfolgte mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (*high performance liquid chromatography, HPLC*).

3.2.1 Franz-Zell-Versuche

Die Untersuchungen zur Permeation der Formulierungen mit Diclofenac-Natrium und Flufenaminsäure wurden mittels Diffusionszellen nach Franz durchgeführt. Diese Methode gilt als anerkanntes Modell zur Permeationsanalyse von Formulierungen zur topischen Applikation [52].

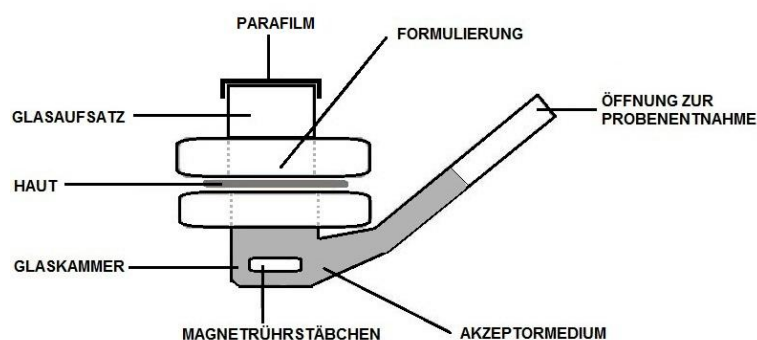


Abbildung 16: Schematische Darstellung Franz-Zelle

Die Diffusionszelle nach Franz ist ein, aus einer oberen Donorkammer und einer unteren Akzeptorkammer aufgebautes, Zwei-Kompartimentsystem. Im unteren Teil befand sich das Akzeptormedium mit Rührstäbchen, während im oberen Teil die topische Arzneiform aufgebracht wurde.

Zwischen Ober- und Unterteil wurde die Modellmembran, für die vorliegende Arbeit exzidierte porcine Abdominalhaut mit einer Dicke von 700 µm mit der epidermalen Seite nach oben hin eingespannt. Die Permeationsfläche der Haut betrug 0,95 cm². Fixiert wurden die beiden Teile mit einer Schraubzwinge. Um Verdunstung zu vermeiden, wurde die Oberseite möglichst luftdicht mit Parafilm® und Alufolie verschlossen. Die fertig zusammengesetzte Franz-Zelle wurde in einer extra dafür vorgesehenen Halterung auf einem Magnetrührer im Wasserbad bei 32 °C gerührt.

Pro Formulierung wurden jeweils sechs Franz-Diffusionszellen (n=6) angesetzt. Als Akzeptormedium wurde ein 0,012 M Phosphatpuffer mit pH 7,4 (1,70 g Kaliumdihydrogenphosphat, 1,78 g Dinatriumhydrogenphosphat, 4% bovines Serumalbumin (BSA) und destilliertes Wasser ad 1000) verwendet. Die verwendete porcine Abdominalhaut wurde zuvor mit einem Dermatome® (GB 228R, Aesculap) auf 700 µm Dicke zugeschnitten und zur besseren Haltbarkeit bei -18 °C tiefgefroren. Vor dem Einspannen in die Franz-Zelle wurde die Haut sorgfältig aufgetaut und in 1x1 cm große Stücke zurechtgeschnitten. Nach dem Zusammensetzen der Franz-Zellen wurden diese luftblasenfrei mit 2 ml Phosphatpuffer pH 7,4 befüllt und im Glaszylinder des Oberteils genau 500,0 mg Formulierung aufgebracht. Die Rührgeschwindigkeit des Magnetrührstäbchens im Wasserbad betrug rund 800 rpm.

Jeweils nach 2, 4, 6, 8 und 24 Stunden wurden über die dafür vorgesehene Öffnung aus jeder Franz-Zelle 2 ml Probe gezogen. Dazu wurde die Franz-Zelle aus dem Wasserbad genommen und das Akzeptormedium wurde in mit Pasteurpipetten in 2 ml Eppendorfgefäße pipettiert und durch frisches Medium ersetzt.

Die entnommenen Proben wurden 6 Minuten lang bei 12000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert (Hermle Z323K, Bartelt GmbH, Österreich) und anschließend wurde 1 ml der Probe in Glas HPLC-Vials überführt und verschlossen. Die Analyse erfolgte mittels HPLC (siehe 3.2.3).

Nach 24 Stunden erfolgte die Extraktion des im Hautstück verbliebenen Wirkstoffes folgendermaßen: die Franz-Zellen wurden geöffnet, die übrige Formulierung entfernt und jedes Hautstück eine Stunde lang mit 4 ml Methanol in Plastikeprouvetten stehen gelassen.

Nach 12 Minuten im Ultraschallbad (Star Sonic® 60, Liarre, Italien) wurden 2 ml entnommen, in 2 ml Eppendorfgefäße überführt und für 6 Minuten bei 12000 rpm zentrifugiert. Davon wurde wiederum 1 ml in Glas HPLC-Vials überführt und mittels HPLC analysiert (siehe 3.2.3).

3.2.2 Tape-Stripping Versuche und NIR-Densitometrie

Tape-Stripping gilt als einfache anzuwendende und effiziente Methode zur Bewertung von Qualität und Wirksamkeit von Formulierungen zur topischen Applikation [53].

Beim Tape Stripping werden, nach dem Auftragen der Formulierung und einer definierten Einwirkzeit, einzelne Zellschichten des Stratum corneum mittels Klebestreifen abgezogen und anschließend quantifiziert. Auf den Klebestreifen befinden sich nach dem Abziehen eine gewisse Menge an Korneozyten, sowie der entsprechende Gehalt an Formulierung [53].

Da jedoch die Menge an Korneozyten - und somit auch die enthaltene Menge an Formulierung - pro Klebestreifen variabel ist, darf nicht von der Anzahl an abgezogenen Klebestreifen auf die Anzahl an Korneozyten und damit auf die mögliche Penetrationstiefe der aufgetragenen Formulierung geschlossen werden. Denn in der Regel nimmt mit steigender Anzahl an abgezogenen Klebestreifen die Menge an Korneozyten pro Klebestreifen ab [53]. Daher wurde im Zuge dieser Arbeit die Menge an abgezogenen Korneozyten pro Klebestreifen mittels Nahfeld-Infrarot-Densitometrie (*near infrared densitometry, NIR*) unter Verwendung des Squame Scan® (Squame Scan® 850 A, Heiland Elektronik GmbH, Deutschland) quantifiziert: Da eine lineare Abhängigkeit von Korneozytenmasse zu Proteingehalt besteht [54], kann über einen Proportionalitätsfaktor auf die Dichte und somit auf die Penetrationstiefe geschlossen werden.

Die Methode des Tape-Strippings unterliegt zahlreichen Einflussfaktoren, wie zum Beispiel der aufgetragenen Formulierung, dem ausgeübten Druck beim Aufbringen der Klebestreifen, der Art an verwendeten Klebestreifen, der Abziehggeschwindigkeit der Streifen und dem Hautzustand.

Für die optimale Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist es daher wichtig, dass die Durchführung der Arbeiten stets von derselben Person, mit demselben Material und unter Einhaltung eines streng regulierten Arbeitsprotokolls erfolgt [53, 56].

Für diese Arbeit fanden Standard Corneofix® F 20 Klebestreifen (Courage + Khazaka GmbH, Köln, Deutschland) mit einer Klebefläche von ca. 4 cm² (1,9 cm x 2,0 cm) Verwendung. Als *in vitro* Modell wurden exzidierte Schweineohren (EU-Schlachthof Gantner, Hollabrunn, Österreich) verwendet, da diese sich als geeignetes Modell erwiesen haben [55]. Die gleichen Formulierungen wie in den Franz-Zell-Versuchen wurden auf die dorsale Seite der porzinen Ohren aufgetragen.

Die bei -18 °C tiefgefrorenen Ohren wurden vorsichtig unter kaltem Wasser abgespült, abgetrocknet und aufgetaut. Danach wurde der Knorpel entfernt. Anschließend wurden pro Ohr vier repräsentative Stellen á 9 cm² markiert und mit einer Schere von Haaren befreit. Dann wurden pro Feld 45 mg (entsprechend 5 mg pro cm²) Formulierung aufgetragen und 1 Stunde inkubiert. Daraufhin wurden jeweils 20 Klebestreifen pro Feld nacheinander mit einem Druck von ca. 10 kg auf die markierten Stellen aufgedrückt und gleichmäßig abgezogen. Zur Kontrolle des Drucks wurde eine Waage verwendet. Von jedem Streifen wurde danach sofort mittels NIR-Densitometrie die Pseudoabsorption bestimmt. Anschließend wurde jeder Klebestreifen mit 2 ml Methanol in ein 2 ml Eppendorfgefäß gegeben und für 12 min im Ultraschallbad behandelt. Danach wurde 6 min bei 12000 rpm zentrifugiert. 1 ml davon wurde schließlich in Glas HPLC-Vials überführt und mittels HPLC analysiert (siehe 3.2.3).

3.2.3 HPLC-Analyse

Die Analyse der beiden Modellwirkstoffe erfolgte mittels HPLC.

Apparatur: Perkin Elmer (US) mit Series 200 column oven und Series 200 lc pump

Detektor: Perkin Elmer Diode Array Detector 235 C dual channel 255/280 nm

Autosampler: Perkin Elmer ISS 200

Software: Totalchrom Navigator 6.2.0

Säule: EC 250/4 Nucleosil 100-5 C18 (Macherey Nagel, Deutschland)

Vorsäule: SS 8,0/4,0 mm (Macherey Nagel, Deutschland)

METHODEN FLUFENAMINSÄURE

Für die Analyse von Flufenaminsäure wurden folgende Parameter gewählt:

Mobile Phase: Methanol/Wasser/Eisessig (80/20/1) pH 3,5, entgast

Flussrate: 0,8 ml/min

Kalibrierung: externer Standard

Ofentemperatur: 50 °C

Injektionsvolumen: 20 µl

Wellenlänge: 245 nm

Es wurde eine Eichlösung in Methanol (1090 µg/ml) hergestellt und jeweils 1:2 verdünnt. Wie im Anhang in Abbildung A1 ersichtlich, ergab sich daraus eine lineare Abhängigkeit für den Konzentrationsbereich von 0,27-545,0 µg/ml.

METHODE DICLOFENAC-NATRIUM

Für die Analyse von Diclofenac-Natrium wurden folgende Parameter gewählt:

Mobile Phase: Methanol/Wasser (80/20)

Flussrate: 0,8 ml/min

Kalibrierung: externer Standard

Ofentemperatur: 50 °C

Injektionsvolumen: 20 µl

Wellenlänge: 245 nm

Es wurde eine Eichlösung in Methanol (980 µg/ml) hergestellt und jeweils 1:2 verdünnt. Wie im Anhang in Abbildung A2 ersichtlich, ergab sich daraus eine lineare Abhängigkeit für den Konzentrationsbereich von 0,12-490,0 µg/ml.

Die genauen Daten und Abbildungen zu den erstellten Eichgeraden finden sich im Anhang unter 8.1 „Tabellen zu in vitro Hautstudien“.

3.3. In Vivo Hautstudien

Für die *in vivo* Hautstudien wurde eine Formulierung verwendet, die nicht den *in vitro* untersuchten Formulierungen entsprach. Diese war zusammengesetzt aus 50% Ölphase, bestehend aus Monolinolein, Mandelöl und Benzylalkohol, sowie aus 50% Wasserphase, bestehend aus Wasser und 2% Agarose zur Stabilisierung.

3.3.1 Individuelle Probanden- und Umgebungsparameter

Für die *in vivo* Pilotstudie wurden sieben Probanden über einen Zeitraum von einer Woche untersucht. Zu Beginn des Tages trugen die Probanden jeweils 500,0 mg Formulierungen auf eine markierte Stelle auf der Innenseite des Unterarms auf. Bei Rechtshändern wurde auf den linken, bei Linkshändern auf den rechten Unterarm aufgetragen. Der markierte Bereich auf der Innenseite des Unterarms war ca. 50 cm² (10x5 cm) groß. Nach jeweils zwei und sechs Stunden wurden die Messungen mit DermaUnit® und AquaFlux® durchgeführt. Die Messungen mit dem Raman-Spektrometer erfolgten neben der Blank und der Recovery-Messung lediglich am ersten und am letzten Behandlungstag.

Die Messungen gliederten sich in die „Blank“-Messung am ersten Tag, wobei alle Parameter an beiden Arm bestimmt wurden, in vier Standard Messtage inklusive aufgetragener Formulierung nach zwei / sechs Stunden Einwirkzeit und schließlich, eine Woche nach Beendigung der Versuche, die „Recovery“-Messung. Gemessen wurde jeweils am behandelten Arm und am unbehandelten Arm. Jeder Parameter, mit Ausnahme des Sebumgehalts und der Raman-Messungen, wurde drei Mal bestimmt.

Die Probanden wurden darauf hingewiesen, an den für das Auftragen der Formulierung markierten Stellen keine Pflege- oder Kosmetikprodukte anzuwenden. Zudem wurden sie angewiesen nach dem Auftragen der Formulierung möglichst keine Kleidung über der behandelten Stelle zu tragen um Abrieb zu vermeiden. Vor den Messungen wurde auf eine ausreichende Akklimatisierung der Probanden geachtet, sodass die Werte nicht durch Stress oder Schweißproduktion beeinflusst wurden. Während der Messungen waren die Probanden angehalten worden möglichst still zu sitzen und nicht zu sprechen.

Durchgeführt wurde diese Pilotstudie zu Sommerbeginn im Mai 2015. Die Raumtemperatur betrug $23 \pm 2 \text{ °C}$, die Luftfeuchtigkeit etwa 20-40%. Bei den Probanden handelte es sich um fünf Frauen und zwei Männer, alle frei von Erkrankungen der Haut und alle im Alter zwischen 25 und 30 Jahren.

3.3.2 Raman Messungen

3.3.2.1 Durchführung der Messungen

Aufgrund der hohen intra- und interindividuellen Variabilität der vermessenen Stellen, bedingt durch die Komplexität des biologischen Hautgewebes, ist eine ausreichende Anzahl an Messungen für alle Hautstudien maßgeblich [26]. Daher wurden die Werte zur Bestimmung des NMF pro Proband und Arm je mindestens fünfmal und die Werte zur Bestimmung des Wassergehalts je mindestens dreimal gemessen.

Zur Messung mussten die Probanden lediglich den Arm mit der markierten behandelten Stelle auf das Objektiv des Raman-Spektrometers legen und möglichst still halten. Mit dem unbehandelten Arm wurde analog verfahren. Das weitere Geschehen fand ausschließlich innerhalb der RiverIcon®-Software am Computer statt. Vor Beginn der Messungen wurde auf eine ausreichende Akklimatisierungszeit der Probanden geachtet.



Abbildung 17: Positionierung Unterarm auf Objektiv des Raman-Spektrometers [36]

Die *fingerprint-Spektren* wurden zur Bestimmung des Gehalts an NMF am behandelten / unbehandelten Arm mit folgenden Parametern bei 785 nm gemessen:

CCD-Parameter:

Exposure Time (s): 5

Number of Frames: 1

Cycle Time (s): 1

Dabei legt die Exposure Time (0,1-60 sec) die Dauer der Signaldetektion während einer Belichtung fest. Die Number of Frames (1-999) legt die Anzahl an separaten Belichtungen pro Messposition fest. Die Cycle Time bezeichnet die Dauer der Signaldetektion im Cycle Mode [36].

Positions-Parameter:

Track: 1

Z Offset (μm): Focus - 1

Start (μm): 0

Stop (μm): 50

Step (μm): 4

Ein Track definiert unterschiedliche Belichtungszeiten für die unterschiedlichen Tiefenbereiche in der Haut. Dabei wird der Track für die jeweilige Tiefe in der Haut durch Start- und Stopposition, die Entfernung der Messpunkte zueinander und die Belichtungszeit definiert. Hintergrund ist, dass die Raman-Signalintensität mit zunehmender Messtiefe in der Haut abnimmt. Dem wird versucht über voreingestellte Tracks mit entsprechend angepassten Parametern entgegenzuwirken. Grundsätzlich gilt: je tiefer die Messung, desto sinnvoller ist eine verlängerte Belichtungszeit und eine Vergrößerung der Entfernung zwischen den einzelnen Messpunkten (Step \uparrow + Exposuretime \uparrow). Der Z Offset Wert legt den Startpunkt der Messung vor Beginn des Profils fest. Soll eine Messung beispielsweise bei 5 μm Hauttiefe beginnen wird der Z Offset Wert mit 4 μm oder weniger angegeben.

Dies erleichtert dem System das Auffinden der Hautoberfläche und garantiert, dass das volle Profil bereits vom ersten relevanten Wert (hier: 5 μm) an gemessen werden kann. Start, Stop und Step legen das Profil fest: Start legt fest ab welcher Tiefe das Messprofil begonnen wird, Stop legt das Ende der Messstrecke fest und Step legt den Abstand zwischen den einzelnen Messpunkten fest. So wären die Werte für ein Messprofil von 3-30 μm Hauttiefe in Messschritten von 4 μm der Start Wert 3, der Stop Wert 30 und der Step Wert 4 [36].

Die *high-wavenumber-Spektren (hwvn)* wurden zur Bestimmung des Gehalts an Wasser am behandelten / unbehandelten Arm mit folgenden Parametern bei 671 nm gemessen:

CCD-Parameter:

Exposure Time (s): 2

Number of Frames: 1

Cycle Time (s): 1

Positions-Parameter:

Track: 1

Z Offset (μm): Focus - 1

Start (μm): 0

Stop (μm): 40

Step (μm): 2

Die Auswahl der jeweiligen Parameter wurde im Zuge mehrerer, in dieser Arbeit nicht dokumentierter Vorversuche getroffen. Bei den Messungen erwies es sich als sinnvoll, die Z Offset Werte etwas niedriger als Focus-1 zu wählen und den Bereich des Messprofils etwas großzügiger zu wählen. Somit konnte garantiert werden, dass die relevanten Bereiche (0-15 μm , entsprechend der Dicke des Stratum corneum) für die Messungen des NMF- und Wassergehalts präzise erfasst wurden.

Vor Beginn der Messung wurden im Cycle Modus des RiverIcon® Programms eine geeignete Hautstelle gesucht und mit dem Focus so lange variiert, bis

- a) Im Falle der NMF-Messung das Quarzglas-Signal im Spektrum zu erkennen war
- b) Im Falle der Wasser-Messung die Intensität des Keratinpeaks im Spektrum etwa 200 Einheiten betrug.

Als geeignete Hautstelle erwiesen sich Stellen mit sattem Kontakt zwischen Haut und Objektiv. Diese stellten sich im Bild der CCD-Kamera dunkel dar. Die durch Reflektionen hell erscheinenden Stellen waren für eine präzise Messung ungeeignet.

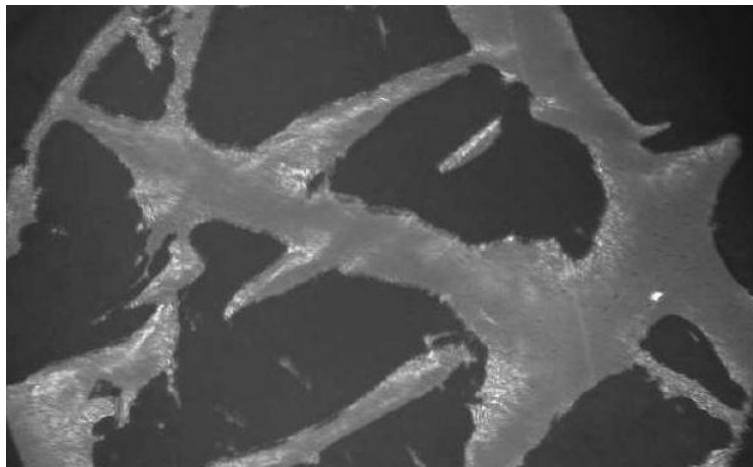


Abbildung 18: Hautbild der CCD-Kamera; deutlich zu sehen sind die dunklen, für die Messung geeigneten Stellen [36]

Nachdem eine vielversprechende Stelle gefunden wurde und mit dem Fokus auf das Quarzglas, bzw. auf die entsprechende Intensität des Keratin-Peaks fokussiert wurde, konnte der Cycle-Modus beendet und die Messung gestartet werden.

Zwischen den einzelnen Messungen wurden jeweils neue „dunkle Stellen“ im Cycle Modus ausgewählt. Dabei wurde darauf geachtet, ausreichend Abstand zum vorherigen Messpunkt einzuhalten um einen möglichst repräsentativen Querschnitt der gesamten behandelten Fläche zu erhalten. Nach Beendigung der Messungen und zwischen jedem Probanden wurde das Raman-Spektrometer gereinigt und mit Ethanol 96% desinfiziert.

3.3.2.2 Auswertungen der Messungen

Der erste Schritt der Auswertung war die Auswahl der Daten der einzelnen Messungen und die Darstellung im SkinTools® Programm. Dies war wichtig um zu überprüfen, ob alle Messungen erfolgreich waren und verwertbare Ergebnisse vorlagen. Nachdem dies überprüft war wurden die Daten im ASCII-Multi-Format als Textdatei exportiert und in Microsoft Excel® weiter verarbeitet. Das ASCII-Multi-Format umfasst alle gemessenen Ergebnisse, Spektren und Tiefenprofile, sortiert nach Bezeichnung und Analyt. Die tatsächliche Auswertung der Messergebnisse erfolgte in Microsoft Excel® 2007 über die Mittelwerte der fünf *fingerprint*-Messungen und der drei *hwvn*-Messungen.

3.3.3 DermaUnit® und AquaFlux® Messungen

Unter Verwendung der DermaUnit® und des AquaFlux® wurden der Feuchtigkeitsgehalt und der Haut-pH je drei Mal pro Arm bestimmt. Der TEWL wurde je zwei Mal pro Arm bestimmt und der Sebumgehalt wurde jeweils nur ein Mal pro Arm bestimmt. Die Messungen erfolgten an Tag eins bis vier, jeweils zwei und sechs Stunden nach dem Auftragen. Es wurde jeweils sowohl der behandelte Arm vermessen, als auch der Unbehandelte. Zu Beginn der Pilotstudie fand eine Blank-Messung statt. Eine Woche nach Beendigung der Studie fand eine Recovery-Messung statt.

3.3.3.1 Sebumeter®

Zur Messung des Sebumgehalts wurde die dafür vorgesehene Kassette aus der DermaUnit® entnommen, durch Zurückziehen des Schlittens ein neues Stück Messband über den Sensor gezogen und ein Nullabgleich vorgenommen. Dazu wurde die Kassette für etwa drei Sekunden in den dafür vorgesehenen Schacht im Gehäuse der DermaUnit® gepresst, bis das Gerät den Nullabgleich optisch und akustisch bestätigte. Anschließend wurde die Kassette mit dem Maßband für 30 Sekunden auf die behandelte Stelle am Unterarm der Probanden gepresst, um unmittelbar danach wieder in den Schacht am Gehäuse eingeführt zu werden. Dort wurde dann photometrisch die Zunahme der Transparenz des Messbands im Vergleich zum Nullwert gemessen und angezeigt. Während der Messung wurde auf ein gerades und gleichmäßiges Andrücken der Kassette geachtet. Analog wurde am unbehandelten Arm verfahren.

3.3.3.2 Corneometer®

Das Corneometer wurde zur Messung des Feuchtigkeitsgehalts über die Kapazitätsmethode aus der Halterung im Gehäuse der DermaUnit® genommen und gleichmäßig und gerade auf die behandelte Stelle am Unterarm der Probanden gepresst. Die Gleichmäßigkeit des Drucks wurde hierbei durch eine unter dem Messfeld platzierte Feder mit einer Kraft von ≤ 1 N unterstützt. Die erfolgreiche Messung wurde vom Gerät optisch und akustisch bestätigt. Um Okklusion zu vermeiden wurden die Messungen an jeweils verschiedenen Stellen innerhalb des markierten Bereichs vollzogen. Am unbehandelten Arm wurde jeweils analog verfahren.

3.3.3.3 Skin-pH-Meter®

Der pH-Wert der Haut wurde bestimmt, in dem die feuchte Messsonde auf die markierte behandelte Hautstelle der Probanden am Unterarm gepresst wurde und der Knopf am Griff der Sonde betätigt wurde. Der Knopf wurde solange gehalten, bis das Gerät die erfolgreiche Messung optisch und akustisch bestätigte.

Vor den Messungen wurde die Sonde in Pufferlösungen mit pH 7 und pH 4 kalibriert. Zwischen den Messungen wurde die pH-Sonde in destilliertem Wasser gelagert um eine Austrocknung zu verhindern. Am unbehandelten Arm wurde jeweils analog verfahren.

3.3.3.4 Transepidermaler Wasserverlust

Entsprechend den bisherigen Messvorgängen wurde auch der TEWL an der Innenseite des Unterarms im markierten und mit Formulierung behandelten Bereich, sowie am Referenzarm gemessen. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden jeweils zwei TEWL-Werte pro Unterarmseite bestimmt. Es wurde dabei darauf geachtet nicht auf Blutgefäßen zu messen, da dies die Messergebnisse verfälschen hätte können. Dazu wurde die Kammer der Messsonde möglichst senkrecht und gleichmäßig auf die Haut der Probanden aufgedrückt und die Messung durch Betätigung des roten Knopfs am Handteil gestartet. Diese Position wurde so lange gehalten, bis die Software AquaFlux® V6.2 am Computer die erfolgreiche Messung optisch bestätigte.

3.3.3.5 *In vivo* Messschema

Zur Verdeutlichung der einzelnen *in vivo* Messungen ist in der folgenden Tabelle das Messschema übersichtlich dargestellt:

Tabelle 4: Messschema der *in vivo* Messungen

	Blank ¹	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Recovery ²
<i>Raman</i>	x	o			o	x
<i>Sebumeter</i> ®	x	o	o	o	o	x
<i>Corneometer</i> ®	x	o	o	o	o	x
<i>Skin-pH-Meter</i> ®	x	o	o	o	o	x
<i>TEWL</i>	x	o	o	o	o	x

¹ **Blank** bezeichnet die Referenzmessung ohne Formulierung vor Beginn der Hautstudie (100%-Wert)

² **Recovery** bezeichnet die Messung ohne Formulierung eine Woche nach der letzten Applikation

X bezeichnet Messungen, die einmalig und ohne zuvor aufgetragene Formulierung durchgeführt wurden

O bezeichnet Messungen, die jeweils nach zwei und vier Stunden Einwirkzeit durchgeführt wurden

4 Ergebnisse

Die Ergebnisse sind als Mittelwerte \pm Standardabweichung von mindestens drei Experimenten angegeben. Die statistische Datenanalyse wurde mit dem Programm GraphPadPrism 3 (GraphPad Software, San Diego, USA) mit $p < 0,05$ als Signifikanzniveau durchgeführt. Parametrische Daten wurden mit dem Student's t-Test oder ANOVA mit post hoc Tukey Test analysiert. Der Mann-Whitney oder Kruskal-Wallis Test mit post hoc Dunn's Test wurde für die Analyse nicht-parametrischer Daten verwendet.

4.1 *In vitro* Hautstudien

Der jeweilige maximale *R*-(+)-Limonengehalt in der Ölphase der verschiedenen Formulierungen mit Arzneistoffen (60% bei Diclofenac-Natrium, 45% bei Flufenaminsäure) erklärt sich dadurch, dass die Formulierungen bei höheren Konzentrationen von *R*-(+)-Limonen und dem jeweiligen NSAID nicht mehr stabil waren.

Die den Abbildungen und Diagrammen im Ergebnisteil zu den *in vitro* Hautstudien zugrunde liegenden Daten finden sich im Anhang unter Kapitel 8.1.

4.1.1 Franz-Zell-Versuche

Es wurden pro Arzneistoff jeweils sechs Franz-Diffusionszellen mit abdominaler porziner Haut als Modellmembran angesetzt. Die Ergebnisse nach 24 Stunden zeigen den Trend, dass mit steigendem *R*-(+)-Limonengehalt der Formulierungen die Permeation ebenfalls zunimmt. Die Permeation von Formulierungen mit Diclofenac-Natrium war tendenziell höher als die Permeation der Formulierungen mit Flufenaminsäure. Die Permeation von Diclofenac-Natrium und Flufenaminsäure korreliert mit der internen Struktur der nanostrukturierten Emulsionen. Am höchsten war die Permeation der emulgierten W/O/W Mikroemulsionen, entsprechend einem *R*-(+)-Limonengehalt von 45% in den Formulierungen mit Flufenaminsäure, bzw. 60% in den Formulierungen mit Diclofenac-Natrium.

In absteigender Reihenfolge nach Permeation geordnet folgten danach die mizellar kubische Phasen mit einem *R*(+)-Limonengehalt von 30% (Flufenaminsäure), bzw. 45% *R*(+)-Limonen (Diclofenac-Natrium), die hexagonalen Dispersionen mit einem *R*(+)-Limonengehalt von 10% und schließlich die limonenfreien kubischen Dispersionen. Im Vergleich zwischen der limonenfreien Formulierung und der emulgierten W/O/W Mikroemulsion mit 60% *R*(+)-Limonengehalt hat sich die Permeation des Modellarzneistoffs Diclofenac-Natrium um den Faktor 5,3 gesteigert.

Je höher also der *R*(+)-Limonengehalt war, desto höher war auch die Permeation. Dies spiegelt sich auch in der Menge an Arzneistoff wieder, die nach 24 Stunden aus der Haut extrahiert werden konnte.

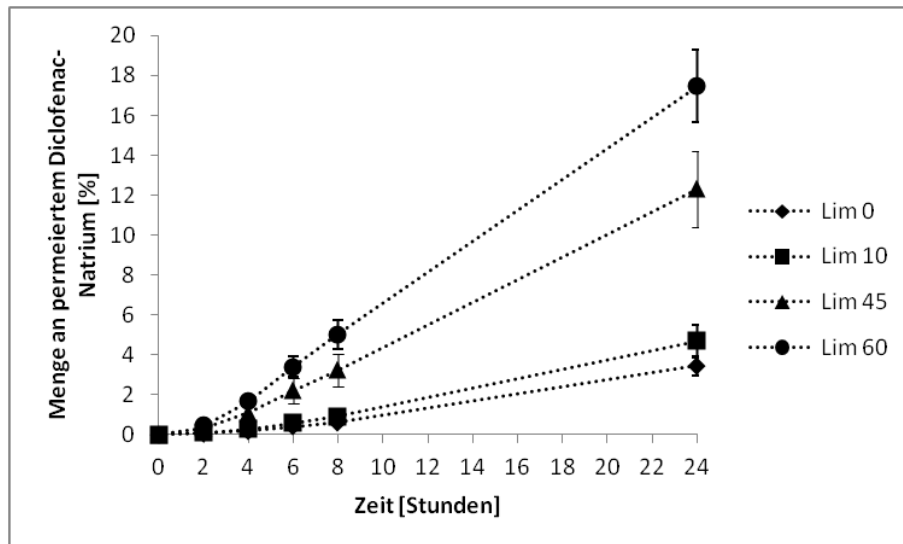


Abbildung 19: Permeation der Formulierungen unterschiedlichen *R*(+)-Limonengehalts mit Diclofenac-Natrium in Relation zur aufgetragenen Menge

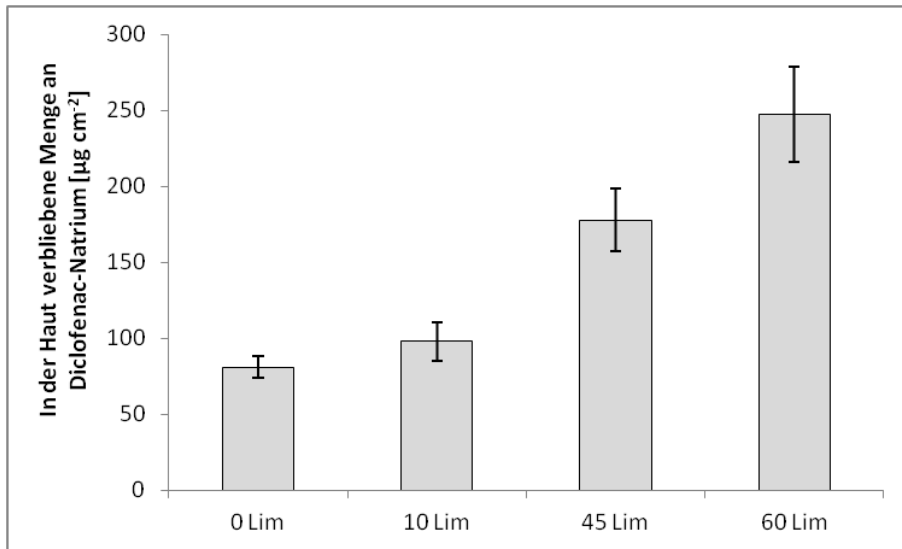


Abbildung 20: Menge an Diclofenac-Natrium, die aus den Hautproben nach 24 h extrahiert werden konnte

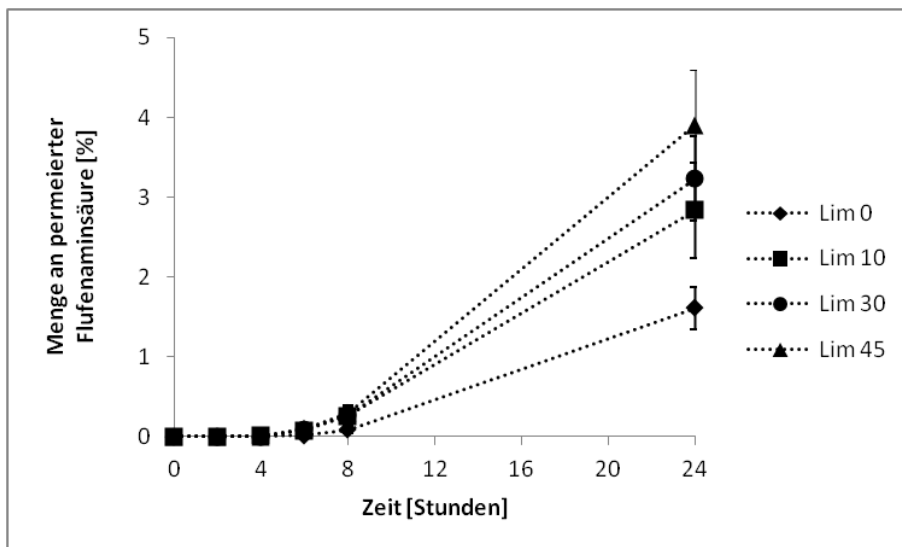


Abbildung 21: Permeation der Formulierungen unterschiedlichen *R*(+)-Limonengehalts mit Flufenaminsäure in Relation zur aufgetragenen Menge

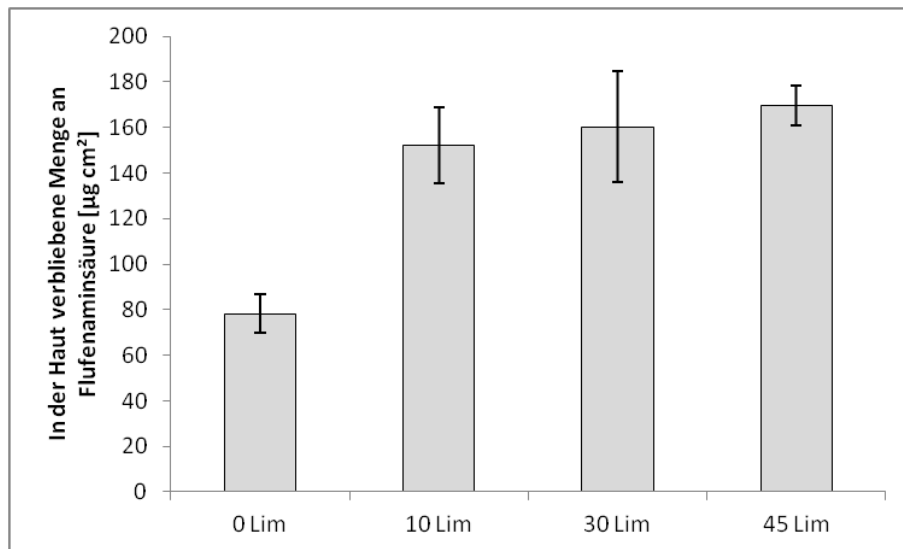


Abbildung 22: Menge an Flufenaminsäure, die aus den Hautproben nach 24 h extrahiert werden konnte

4.1.2 Tape-Stripping Versuche

Dieselben Formulierungen der Franz-Zell-Versuche wurden einer Analyse durch Tape-Stripping unterzogen. Für jede Formulierung wurden fünf repräsentative Stellen auf porziner Ohrhaut ausgewählt, von denen jeweils 20 Tape Strips abgezogen und mittels HPLC quantifiziert wurden. Die Korneozytenmenge wurde mittels NIR-Densitometrie zur Korrektur bestimmt.

Die Penetration der Diclofenac-Natrium- und der Flufenaminsäure-Formulierungen nahm analog zu den Franz-Zell-Versuchen mit steigendem *R*-(+)-Limonengehalt im Vergleich zur limonenfreien Formulierung signifikant zu. Die Penetration von Diclofenac-Natrium war der von Flufenaminsäure unterlegen.

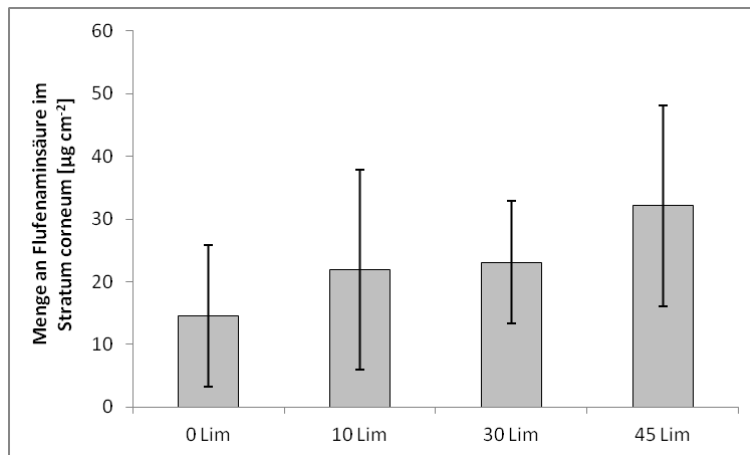


Abbildung 23: Permeation von Flufenaminsäure ins Stratum corneum

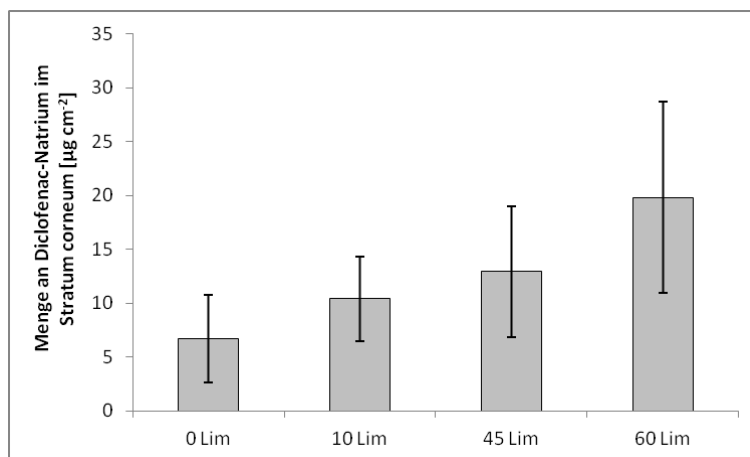


Abbildung 24: Permeation von Diclofenac-Natrium ins Stratum Corneum

4.2 *In vivo* Hautstudien

Die den Abbildungen und Diagrammen im Ergebnisteil zu den *in vivo* Hautstudien zugrunde liegenden Daten finden sich im Anhang unter Kapitel 8.2.

Die Werte der Messungen sind auf den Ausgangswert der unbehandelten Haut des jeweiligen Probanden bezogen, daher erfolgt die Angabe in Prozent. Insbesondere bei interindividuell stark abweichenden Parametern wie TEWL oder pH ist dieses Vorgehen sinnvoll. Lediglich der Sebumwert wird als Absolutwert angegeben (siehe dazu 4.2.2.1).

Der Ausgangswert wurde vor Beginn der Applikation des Produkts bei der so genannten „Blank-Messung“ erfasst. Eine Woche nach der letzten Applikation der Formulierung wurde in einer finalen Messung der „Recovery-Wert“ erfasst.

4.2.1 Raman Messungen

Die Ergebnisse der Raman Messungen unterteilen sich in die Ergebnisse der Messungen in der *fingerprint-region* und der *high-wavenumber-region*. Mit der Messung der *fingerprint-region* wurde der NMF Gehalt der Haut bestimmt. Mit der Messung der *high-wavenumber-region* wurde der Wassergehalt der Haut bestimmt.

4.2.1.1 Fingerprint Messungen

In Abbildung 25 sind die NMF-Werte aus den verschiedenen Raman-Messungen gegenübergestellt. Die jeweiligen Bezeichnungen sind in der Legende zu Tabelle 4 erklärt. Wie ersichtlich scheint der NMF-Wert im Vergleich zu der Blank-Messung vor Studienbeginn vor allem an der Hautoberfläche zwei Stunden nach Behandlung vermindert zu sein. Dies könnte auf Formulieringsreste an der Hautoberfläche zurückzuführen sein. Dem gegenüber zeigt der unbehandelte Arm konstante NMF-Werte bis 8 μm Hauttiefe. Die Abweichungen der Recovery Messung eine Woche nach der Behandlung zwischen behandeltem und unbehandeltem Arm sind nicht statistisch signifikant.

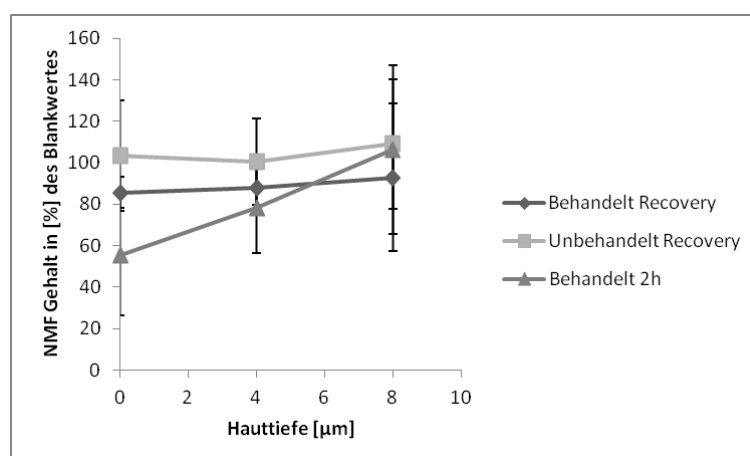


Abbildung 25: NMF Gehalt der Haut (n=7)

4.2.1.2 Messungen des Wassergehalts

Analog zum NMF-Wert ist in Abbildung 26 deutlich zu erkennen, dass der Wassergehalt an der Hautoberfläche der behandelten Haut zwei Stunden nach Applikation der Formulierung geringer ist, als jener an der Oberfläche der unbehandelten Haut bei der Blank-Messung. Eventuell ist auch dieser Sachverhalt auf lipophile Reste des Produktes auf der Haut zurückzuführen. Interessant ist, dass eine Woche nach Beendigung der Applikation eine Erhöhung des Wassergehaltes an der Hautoberfläche des behandelten Armes im Vergleich zum unbehandelten Arm nachgewiesen werden konnte, auch wenn diese statistisch nicht signifikant ist. Möglicherweise ist dies auf eine positive Beeinflussung durch das angewendete Produkt zurückzuführen.

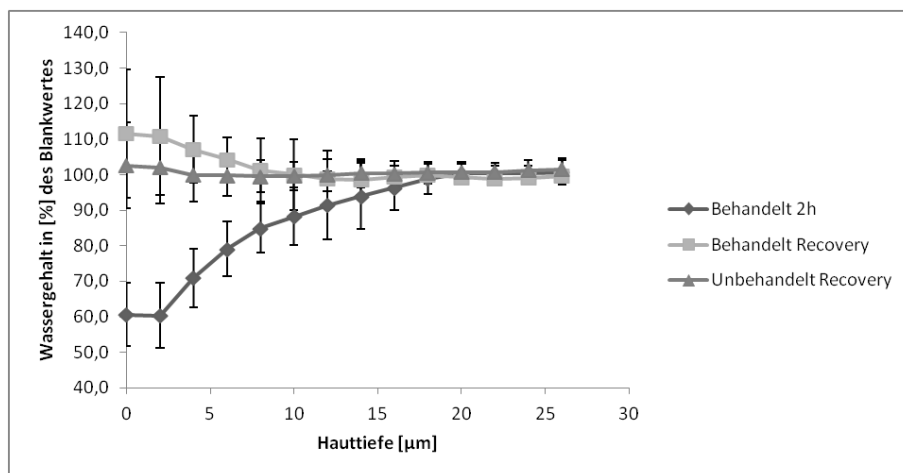


Abbildung 26: Wassergehalt der Haut (n=7)

4.2.2 Derma Unit® und Aqua Flux® Messungen

Die Ergebnisse der Messungen mit der Derma Unit® unterteilen sich in die Ergebnisse des Sebumeter®, Corneometer® und Skin-pH-Meter®. Die Ergebnisse der Messungen mit dem Aqua Flux® sind unter transepidermalen Wasserverlust (4.2.2.4) aufgeführt.

4.2.2.1 Sebumeter®

Als Ausnahme der *in vivo* Messungen beziehen sich die Werte des Sebumgehalts nicht auf den Ausgangswert des jeweiligen Probanden, sondern werden als Absolutwert in $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ angegeben. Anlass dafür ist die Tatsache, dass die Referenzwerte des unbehandelten Arms stets nur zwischen $0\text{-}1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ lagen und die Werte unmittelbar nach Auftragen der ölhaltigen Formulierung sehr hoch waren. Der niedrige Initialwert ist darauf zurückzuführen, dass im Bereich der Messungen am Unterarm die Anzahl an Talgdrüsen nur sehr gering ist [57].

In Abbildung 27 ist ersichtlich, dass der Fettgehalt auf der Hautoberfläche zwei Stunden nach dem Auftragen der Formulierung deutlich erhöht war. Sechs Stunden nach Applikation war der Sebumwert nur noch leicht erhöht. Eine Woche nach der letzten Applikation war der Sebumwert wieder auf dem ursprünglichen Niveau der Blank-Messung. Auch hier liegt der Schluss nahe, dass Formulierungsreste auf der Hautoberfläche für die Initiale Erhöhung verantwortlich waren.

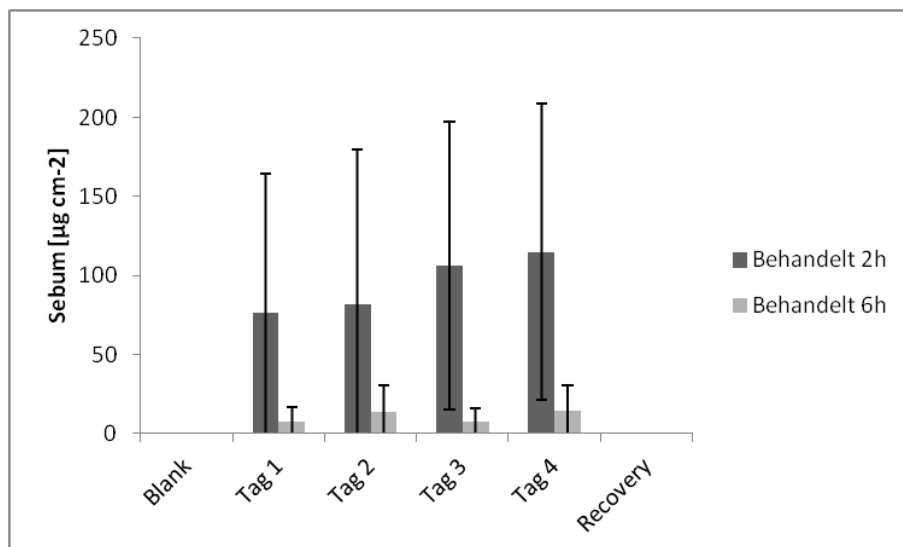


Abbildung 27: Sebumgehalt der Haut (n=7)

4.2.2.2 Corneometer®

Abbildung 28 zeigt eine positive Beeinflussung der Hautfeuchtigkeit zwei Stunden nach Applikation der Formulierung, die jedoch nicht statistisch signifikant ist. Dies bestätigt die Untersuchungen des NMF mittels Raman-Spektroskopie.

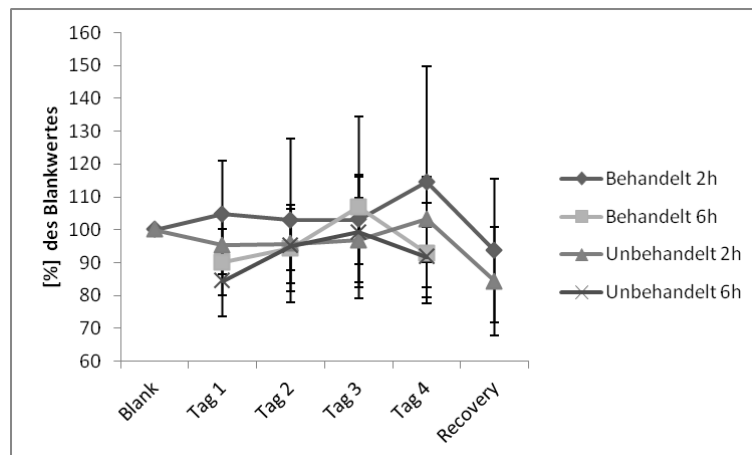


Abbildung 28: Feuchtigkeitsgehalt der Haut (n=7)

4.2.2.3 Skin-pH-Meter®

Die gemessenen pH-Werte erstreckten sich über einen physiologischen Bereich von pH 4 bis pH 6. Die Messungen auf der Hautoberfläche haben keine signifikanten Änderungen nach Auftragen der Formulierung aufgezeigt.

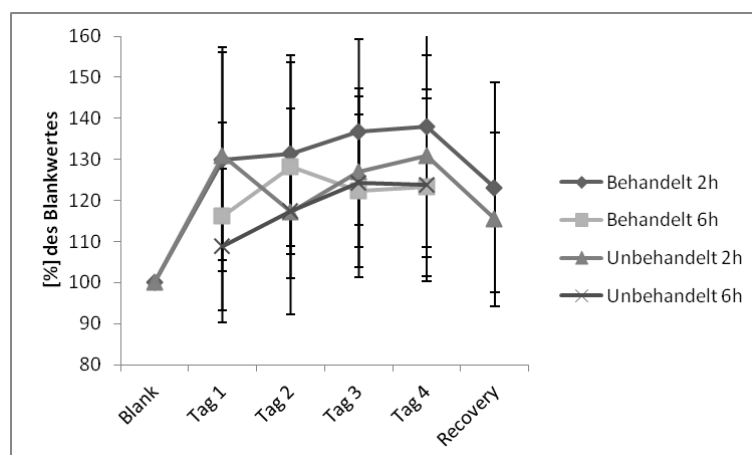


Abbildung 29: pH-Wert der Haut (n=7)

4.2.2.4 Transepidermaler Wasserverlust

Der mittels Aqua Flux® bestimmte transepidermale Wasserverlust war im Vergleich zur Referenz leicht erhöht, jedoch nicht signifikant.

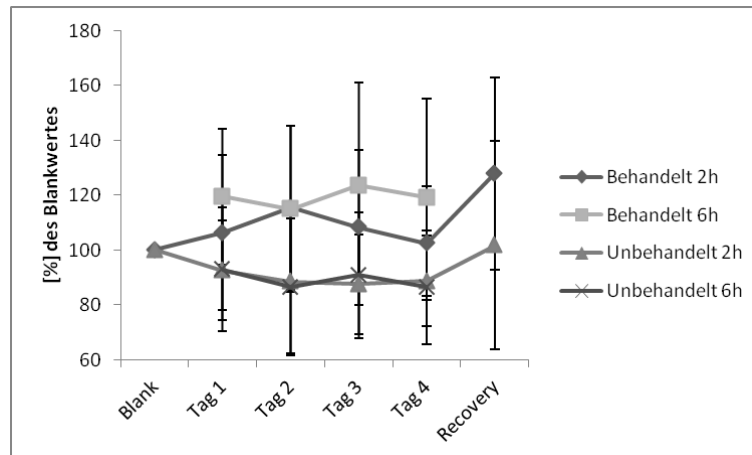


Abbildung 30: TEWL der Haut (n=7)

5 Diskussion

Die *in vitro* Franz-Zell- und Tape Stripping-Versuche konnten zeigen, dass ein enger Zusammenhang zwischen der internen Struktur der selbstorganisierenden nanostrukturierten Emulsionen und deren Potential als Vehikel zum Transport von Arzneistoffen besteht. Die Formulierungen mit einem *R*-(+)-Limonengehalt von mindestens 30% und den daraus entstehenden Mikroemulsionsstrukturen konnten die Barriere des Stratum Corneum am effektivsten überwinden. Verantwortlich dafür könnte sowohl die Vergrößerung der Oberfläche durch Ausbildung von Mikroemulsionsstrukturen sein, als auch der steigende Gehalt des Penetrationsförderers *R*-(+)-Limonen [3, 58]. Schließlich sind Mikroemulsionen äußerst vielversprechende Vehikel, mit hervorragenden Solubilisierungseigenschaften [59]. Die Kombination aus *R*-(+)-Limonen als Penetrationsförderer und Formulierungen auf Basis von emulgierten W/O/W Mikroemulsionen erscheint vielversprechend.

Die Formulierungen mit Diclofenac-Natrium waren jenen mit Flufenaminsäure bei den Franz-Zell-Versuchen überlegen. Die höhere Permeation von Diclofenac-Natrium aus den Formulierungen in das wässrige Akzeptormedium könnte sich durch zwei mögliche Ursachen erklären lassen: zum Einen die stärker ausgeprägte Hydrophilie von Diclofenac-Natrium im Vergleich zu Flufenaminsäure und zum anderen, dass die Barriere des Stratum corneum der verwendeten porzinen Abdominalhaut durch Hitzebehandlung nach der Schlachtung geschädigt wurde und somit hydrophile Stoffe leichter in das wässrige Akzeptormedium diffundieren könnten.

Analog dazu zeigten sich die Formulierungen mit Flufenaminsäure bei den Tape-Stripping Versuchen überlegen. Durch die höhere Lipophilie von Flufenaminsäure im Vergleich zu Diclofenac-Natrium ist es wahrscheinlich, dass Flufenaminsäure besser in das intakte lipophile Stratum corneum der porzinen Ohrhaut penetrieren kann. Denn die porzinen Ohren wurden nach der Schlachtung, im Gegensatz zur Abdominalhaut, nicht mit Hitze behandelt. Damit könnten sich die höhere Konzentration und tiefere durchschnittliche Eindringtiefe erklären lassen.

Eindeutig und unabhängig vom beigegebenen Arzneistoff ist jedoch der Trend zur zunehmenden Permeation und Penetration in Korrelation mit dem steigenden *R-(+)*-Limonengehalt und der damit einhergehenden Organisation der Formulierungen als Mikroemulsion.

Auf Grund der guten Ergebnisse der *in vitro* Versuche, bezüglich des Wirkstofftransports mit diesen neuen Formulierungen, wurde zusätzlich der Effekt von derartigen ölreichen, selbstorganisierenden nanostrukturierten Emulsionssystemen auf diverse Hautparameter *in vivo* mittels Raman-Spektroskopie bestimmt.

Die nichtinvasive *in vivo* Methode der Raman Spektroskopie lieferte aussagekräftige und statistisch relevante Daten von hoher Reproduzierbarkeit und Zuverlässigkeit. In diesem konkreten Fall wurden vor allem die Hautfeuchtigkeit, sowie der NMF-Wert als Parameter für den Zustand der Haut herangezogen. Jedoch stellen diese beiden Parameter nur einen kleinen Teil der mittels Raman Spektroskopie ermittelbaren Parameter dar. Zwar sind Auswertung und Interpretation der gewonnenen Daten zeitintensiv und setzen weitreichende Kenntnisse der Materie voraus, dafür sind die Möglichkeiten nahezu unbegrenzt, ohne dabei invasiv oder unter Anwendung von Färbe- oder Kontrastmitteln arbeiten zu müssen [6].

Sowohl bei der Messung des NMF, als auch bei der *high-wavenumber* Messung des Wassergehalts der Haut zeigte sich Initial eine leichte Abnahme, die jedoch eine Woche nach beendeter Anwendung bei der Recovery Messung nicht mehr signifikant war. Ursache dafür könnte der hohe Fettgehalt durch lipophile Formulierungsreste auf der Hautoberfläche sein. Eine positive Wirkung der Formulierung auf die Hautfeuchtigkeit war, wenn auch nicht statistisch signifikant, bei der Recovery-Messung eine Woche nach der letzten Applikation festzustellen: Es zeigte sich ein deutlicher Anstieg des Feuchtigkeitsgehaltes der Haut bis in eine Tiefe von 5 µm. Weiterführende Studien wären hier angebracht.

Der Initial stark erhöhte Sebumwert untermauert die Vermutung der Beeinflussung der Zwei-Stunden-Werte durch die lipophile Formulierung auf der Hautoberfläche. Aber auch hier konnte sich die anfängliche überproportionale Erhöhung nicht auf Dauer halten. Diese Ergebnisse stimmen mit vorangegangenen Arbeiten von Mahrhauser et al überein [60]. Auch dort waren die Sebumwerte Initial erhöht, bei nachfolgenden Messungen jedoch wieder auf das Ausgangsniveau gesunken.

Die hohen Standardabweichungen des Sebumgehalts auf der Hautoberfläche sind eventuell darauf zurückzuführen, dass einige der Probanden aus Unachtsamkeit die Stellen mit aufgetragener Formulierung mit Kleidung abgedeckt oder durch Aufstützen abgewischt haben.

Die Hautfeuchtigkeit und der pH-Wert der Haut veränderten sich nicht signifikant. Nach zwei Stunden Einwirkzeit ließ sich lediglich ein Trend zur leichten Erhöhung der Feuchtigkeit und des pH-Werts erkennen.

Der transepidermale Wasserverlust veränderte sich ebenfalls nicht signifikant. Tendenziell ließ sich eine leichte Erhöhung erkennen. Allerdings unterlag der TEWL-Wert interindividuellen und zum Teil erheblichen Schwankungen. Ursachen hierfür könnte die Nervosität von Probanden gewesen sein, obwohl auf ausreichende Akklimatisierung und Ruhe geachtet wurde. Schwankungen von Raumtemperatur und Luftfeuchtigkeit können ebenso Einfluss auf den TEWL-Wert haben [42].

Zusammenfassend lässt sich aus den *in vivo* Untersuchungen auf einen positiven, wenn auch nicht statistisch signifikanten Effekt der getesteten Formulierung schließen. Weiterführende Untersuchungen zur Ermittlung von Langzeittrends mit einer Anwendung über mehrere Wochen wären interessant.

Die untersuchten selbstorganisierenden nanostrukturierten Emulsionssysteme zeigen im Hinblick auf die Anwendung als Vehikel zur dermalen Applikation von Arzneistoffen großes Potential. Vor allem die Mikroemulsionsstrukturen sind in diesem Zusammenhang von Interesse, da in diesen Systemen nur geringe Emulgatorenkonzentrationen vorhanden sind [61]. Dies verspricht, wie die *in vivo* Versuche nahelegen, eine bessere Verträglichkeit für die Haut. Insbesondere in Kombination mit natürlichen, penetrationsfördernden Terpenen wie *R*-(+)-Limonen sind die Ergebnisse sehr vielversprechend und sollten Kernpunkt weiterführender und umfangreicher Studien mit anderen Wirkstoffen werden.

6 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung selbstorganisierender Dispersionen im Hinblick auf Ihre Fähigkeit als Abgabesystem für Arzneistoffe und die Auswirkung der Applikation dieser Formulierungen auf verschiedene Hautparameter. Dabei sollte analysiert werden, ob die Vehikel die Barrierefunktion des Stratum corneum soweit herabsetzen, dass eine Penetration der NSAIDs Diclofenac-Na und Flufenaminsäure möglich wurde. Gleichzeitig sollte untersucht werden, ob die Barriere des Stratum corneum durch Applikation einer lipophilen Dispersion intakt blieb, sodass die Haut nicht austrocknete oder beschädigt wurde.

Zur Untersuchung der Eignung als Abgabesystem für Arzneistoffe wurde die Penetration von Diclofenac-Natrium und Flufenaminsäure mit Franz-Zell- und Tape-Stripping-Versuchen analysiert. Im Zuge der Franz-Zell-Versuche erwies sich die Kombination aus Diclofenac-Natrium und einer Formulierung mit mindestens 45% *R*(+)-Limonen als vielversprechend. Mit steigendem *R*(+)-Limonengehalt war ein signifikanter Trend zur gesteigerten Penetration erkennbar. Die Diclofenac-Natrium enthaltenden Formulierungen konnten tendenziell in den Franz-Zell-Versuchen bessere Permeationswerte erzielen, als jene mit Flufenaminsäure. Die Tape-Stripping-Versuche konnten die Trends aus den Franz-Zell-Versuchen bestätigen, auch wenn sich hier die Flufenaminsäure und mindestens 30% *R*(+)-Limonen enthaltenden Formulierungen jenen mit Diclofenac-Natrium überlegen zeigten.

Zu den Formulierungen lässt sich sagen, dass sich ein klarer Trend abgezeichnet hat: je höher der *R*(+)-Limonengehalt, desto eher haben die Formulierungen die Nanostruktur einer Mikroemulsion eingenommen und desto effektiver wurde die Permeation und Penetration der Arzneistoffe gesteigert. Der Zusammenhang zwischen *R*(+)-Limonengehalt und selbstorganisierenden Strukturen wurde zuvor extern von der Arbeitsgruppe um Otto Glatter (Technische Universität Graz) bestimmt. Optimal erwies sich ein *R*(+)-Limonengehalt von 60% und Diclofenac, bzw. 40% und Flufenaminsäure und der damit verbundenen Selbstorganisation zu W/O/W-Mikroemulsionen. In Abhängigkeit von der Löslichkeit der Arzneistoffe zeigte sich bei Diclofenac-Natrium eine verbesserte Permeation in das Akzeptormedium während der Franz-Zell-Versuche und bei Flufenaminsäure eine verbesserte Penetration in das Stratum corneum während der Tape-Stripping-Versuche.

Ein Zusammenhang mit der jeweiligen Untersuchungsmethode und der Auswirkung der hydrophilen, bzw. hydrophoben Umgebungsparameter dabei ist hier wahrscheinlich.

Zur Untersuchung der Auswirkungen einer ölreichen, zur Hautpflege angedachten selbstorganisierenden Dispersion auf unterschiedliche Hautparameter wurden konfokale Raman Spektroskopie, DermaUnit® und AquaFlux® angewandt. Mittels Raman Spektroskopie wurde der NMF und der Feuchtigkeitsgehalt der Haut bestimmt. Bei der Analyse der *fingerprint-region* wurde Initial eine leichte, aber nicht signifikante Erniedrigung des NMF festgestellt. Analog verhielt es sich bei der Messung in der *high-wavenumber-region*. Dies könnte jedoch durch den überproportional hohen Fettgehalt aus Formulierungsresten an der Hautoberfläche bedingt sein. Bei späteren Messungen war keine Verminderung des Wassergehalts und des NMF mehr zur erkennen, sondern sogar eine leichte Erhöhung der Hautfeuchtigkeit im Vergleich zum ursprünglichen Wert vor Beginn der Studie.

Unter Verwendung der DermaUnit® wurden Sebumgehalt, Feuchtigkeitsgehalt und Haut-pH ermittelt. Es zeigte sich ein initialer Anstieg des Sebumgehalts bei der Messung nach zwei Stunden. Dies könnte ebenfalls durch die aufgetragene, fettreiche Formulierung zu erklären sein. Hautfeuchtigkeit und Haut-pH wurden durch die Anwendung der Formulierungen nicht signifikant beeinflusst. Mit der AquaFlux®-Technologie wurde der TEWL bestimmt. Auch dieser wurde durch die Applikation der Formulierungen nicht signifikant verändert.

Zusammengefasst lässt sich aus den Untersuchungen und deren Ergebnissen ein eindeutiger Trend erkennen: Mit Hilfe der selbstorganisierenden nanostrukturierten Emulsionen, insbesondere mit jenen mit hohem *R-(+)*-Limonengehalt und Mikroemulsionsstrukturen, lässt sich die Permeation und Penetration von Diclofenac-Natrium und Flufenaminsäure effektiv und signifikant steigern. Eine negative Beeinträchtigung der Barrierefunktion des Stratum corneum, wie zum Beispiel eine Reduktion der Hautfeuchtigkeit oder eine Abnahme des TEWLs durch eine ölreiche selbstorganisierende Dispersion konnte ausgeschlossen werden. Weitere Studien über einen längeren Zeitraum wären angebracht, um die Ergebnisse dieser Pilotstudie zu bestätigen.

7 Literaturverzeichnis

1. BAUER, K., K. FRÖMMING, und C. FÜHRER, *Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie*. 9. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 2012
2. Hadgraft, J. und M.E. Lane, *Skin: The Ultimate Interface*. Physical Chemistry Chemical Physics, 2011. 13(12): p. 5215-5222.
3. Trommer, H. und R. Neubert, *Overcoming the stratum corneum: the modulation of skin penetration*. Skin Pharmacology and Physiology, 2006. 19(2): p. 106-121.
4. Yaghmur, A. und O. Glatter, *Characterization and potential applications of nanostructured aqueous dispersions*. Advances in Colloid and Interface Science, 2009. 147: p. 333-342.
5. Salonen, A., S. Guillot, und O. Glatter, *Determination of water content in internally self-assembled monoglyceride-based dispersions from the bulk phase*. Langmuir, 2007. 23(18): p. 9151-9154.
6. Caspers, P.J., 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, 2001. 116(3): p. 434-442.
7. Hadgraft, J., *Skin, the final frontier*. International Journal of Pharmaceutics, 2001. 224(1): p. 1-18.
8. Wertz, P.W., *Lipids and barrier function of the skin*. Acta Dermato Venereologica-Supplement, 2000(208): p. 7-11.
9. Mutschler, E., *Mutschler Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*. 9. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 2008
10. Raudenkolb, S., *Untersuchungen zur strukturellen und physikochemischen Charakterisierung von Stratum corneum Lipiden und deren Mischsystemen Institute of Pharmacy, vol PhD*. Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle (Saale), 2002.

11. Heuschkel, S., *Untersuchungen zum Mechanismus der Penetrationserhöhung durch Mikroemulsionen und neue Enhancer bei der dermalen Applikation von Wirkstoffen*, Halle (Saale), Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Diss., 2009, (2009)
12. Thews, G., E. Mutschler, und P. Vaupel, *Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen*. 6. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 2007
13. Pschyrembel, *Pschyrembel Klinisches Wörterbuch*. 263. Auflage, De Gruyter Verlag, Berlin/Boston 2011
14. Machado, M., J. Hadgraft, und M. Lane, *Assessment of the variation of skin barrier function with anatomic site, age, gender and ethnicity*. International Journal of Cosmetic Science, 2010. 32(6): p. 397-409.
15. Hadgraft, J. und M.E. Lane, *Skin permeation: the years of enlightenment*. International Journal of Pharmaceutics, 2005. 305(1): p. 2-12.
16. Neubert, R.H. und R. Wepf, *Stratum corneum: Struktur und Morphologie einer Barriere*. Pharmazeutische Zeitung, 2007. Ausgabe 17, p. 14-21
17. Menon, G.K., G.W. Cleary, und M.E. Lane, *The structure and function of the stratum corneum*. International Journal of Pharmaceutics, 2012. 435(1): p. 3-9.
18. Lademann, J., N. Otberg, H. Richter, H.-J. Weigmann, U. Lindemann, H. Schaefer, und W. Sterry, *Investigation of follicular penetration of topically applied substances*. Skin Pharmacology and Physiology, 2001. 14(Suppl. 1): p. 17-22.
19. Neubert, R.H., W. Wohlrab, und W. Marsch, *Dermatopharmazie: Vehikel - Wirkstoffe -Pharmakologie*. 2001, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart.
20. Moser, K., K. Kriwet, A. Naik, Y.N. Kalia, und R.H. Guy, *Passive skin penetration enhancement and its quantification in vitro*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2001. 52(2): p. 103-112.
21. Köpper, D., *Struktur-und Stabilitätsuntersuchungen an neuartigen topischen Grundlagen aus Naturstoffen*. Taschenbuch 1. Auflage, Shaker Verlag, 2004

22. Lu, W.-C., B.-H. Chiang, D.-W. Huang, und P.-H. Li, *Skin permeation of D-limonene-based nanoemulsions as a transdermal carrier prepared by ultrasonic emulsification*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2014. 21(2): p. 826-832.
23. Kong, R. und R. Bhargava, *Characterization of porcine skin as a model for human skin studies using infrared spectroscopic imaging*. *Analyst*, 2011. 136(11): p. 2359-2366.
24. Sekkat, N., Y.N. Kalia, und R.H. Guy, *Biophysical study of porcine ear skin in vitro and its comparison to human skin in vivo*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2002. 91(11): p. 2376-2381.
25. Herkenne, C., A. Naik, Y.N. Kalia, J. Hadgraft, und R.H. Guy, *Pig ear skin ex vivo as a model for in vivo dermatopharmacokinetic studies in man*. *Pharmaceutical Research*, 2006. 23(8): p. 1850-1856.
26. Franzen, L. und M. Windbergs, *Applications of Raman spectroscopy in skin research - From skin physiology and diagnosis up to risk assessment and dermal drug delivery*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2015.
27. Jacobi, U., M. Kaiser, R. Toll, S. Mangelsdorf, H. Audring, N. Otberg, W. Sterry, und J. Lademann, *Porcine ear skin: an in vitro model for human skin*. *Skin Research and Technology*, 2007. 13(1): p. 19-24.
28. Tfaili, S., C. Gobinet, G. Josse, J.-F. Angiboust, M. Manfait, und O. Piot, *Confocal Raman microspectroscopy for skin characterization: a comparative study between human skin and pig skin*. *Analyst*, 2012. 137(16): p. 3673-3682.
29. Guillot, S., M. Tomšič, L. Sagalowicz, M.E. Leser, und O. Glatter, *Internally self-assembled particles entrapped in thermoreversible hydrogels*. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2009. 330(1): p. 175-179.
30. EMA, *Europäisches Arzneibuch*. 7. Ausgabe, Grundwerk 2011, inkl. 1. Bis 6. Nachtrag, Deutscher Apotheker Verlag, CD-Rom: Amtliche deutsche Ausgabe
31. Rücker, G., M. Neugebauer, und G. Willems, in *Instrumentelle pharmazeutische Analytik: Lehrbuch zu spektroskopischen, chromatographischen, elektrochemischen und thermischen Analysemethoden*. 2007, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH: Stuttgart.

32. Hesse, M., H. Meier, und B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*. 2005: Georg Thieme Verlag.
33. Günzler, H. und H.-U. Gremlich, *IR-Spektroskopie*. 2012: John Wiley & Sons.
34. Schulte, F., *Raman-Spektroskopie als Werkzeug für die Charakterisierung und Klassifizierung von Pollen*. Dissertation, BAM-Dissertationsreihe, Band 57, Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung, Berlin 2010
35. Mateus, R., H. Abdalghafor, G. Oliveira, J. Hadgraft, und M. Lane, *A new paradigm in dermatopharmacokinetics - Confocal Raman spectroscopy*. International Journal of Pharmaceutics, 2013. 444(1): p. 106-108.
36. River Diagnostics BV, R., *Operator Manual gen2-SCA and River Icon 3.2*. 2014.
37. Rawlings, A.V., I.R. Scott, C.R. Harding, und P.A. Bowser, *Stratum corneum moisturization at the molecular level*. Journal of Investigative Dermatology, 1994. 103(5): p. 731-740.
38. River Diagnostics BV, R., *River Diagnostics in vivo measurement applications note #1*. 1.
39. Kleesz, P., R. Darlenski, und J. Fluhr, *Full-body skin mapping for six biophysical parameters: baseline values at 16 anatomical sites in 125 human subjects*. Skin Pharmacology and Physiology, 2012. 25(1): p. 25-33.
40. Courage & Khazaka electronic GmbH, D., *Derma Unit (3er-Kombi) SSC 3*. 2008.
41. Bailey, S.H., G. Oni, S.A. Brown, N. Kashefi, S. Cheriyan, M. Maxted, C. Stewart, C. Jones, P. Maluso, und A.M. Kenkel, *The use of non-invasive instruments in characterizing human facial and abdominal skin*. Lasers in Surgery and Medicine, 2012. 44(2): p. 131-142.
42. Imhof, R., M. De Jesus, P. Xiao, L. Ciorte, und E. Berg, *Closed-chamber transepidermal water loss measurement: microclimate, calibration and performance*. International journal of cosmetic science, 2009. 31(2): p. 97-118.
43. Darlenski, R., S. Sassning, N. Tsankov, und J. Fluhr, *Non-invasive in vivo methods for investigation of the skin barrier physical properties*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2009. 72(2): p. 295-303.

44. Clarys, P., R. Clijssen, J. Taeymans, und A.O. Barel, *Hydration measurements of the stratum corneum: comparison between the capacitance method (digital version of the Corneometer CM 825®) and the impedance method (Skicon-200EX®)*. *Skin Research and Technology*, 2012. 18(3): p. 316-323.
45. Lambers, H., S. Piessens, A. Bloem, H. Pronk, und P. Finkel, *Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora*. *International Journal of Cosmetic Science*, 2006. 28(5): p. 359-370.
46. Wilhelm, K.-P., A.B. Cua, und H.I. Maibach, *Skin aging: effect on transepidermal water loss, stratum corneum hydration, skin surface pH, and casual sebum content*. *Archives of Dermatology*, 1991. 127(12): p. 1806-1809.
47. Machado, M., T.M. Salgado, J. Hadgraft, und M.E. Lane, *The relationship between transepidermal water loss and skin permeability*. *International Journal of Pharmaceutics*, 2010. 384(1): p. 73-77.
48. Blaschek, W., S. Ebel, U. Hilgenfeldt, U. Holzgrabe, J. Reichling, und V. Schulz, in *Hagers Enzyklopädie der Arzneistoffe und Drogen*. 2007, Springer Verlag: Berlin, Heidelberg, New York.
49. Braun, R., *Arzneistoff-Profil Basisinformation über arzneiliche Wirkstoffe*. Loseblattsammlung, alphabetisch geordnet, Govi- Verlag GmbH - Pharmazeutischer Verlag Frankfurt am Main, 2011
50. Aktories, K., U. Försterman, F. Hofmann, und K. Starke, *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. *Internistische Praxis*, 2011. 51(3): p. 653.
51. Goh, C.F. und M.E. Lane, *Formulation of diclofenac for dermal delivery*. *International Journal of Pharmaceutics*, 2014. 473(1): p. 607-616.
52. Cal, K. und K. Centkowska, *Use of cyclodextrins in topical formulations: practical aspects*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2008. 68(3): p. 467-478.
53. Lademann, J., U. Jacobi, C. Surber, H.-J. Weigmann, und J. Fluhr, *The tape stripping procedure—evaluation of some critical parameters*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2009. 72(2): p. 317-323.

54. Voegeli, R., J. Heiland, S. Doppler, A. Rawlings, und T. Schreier, *Efficient and simple quantification of stratum corneum proteins on tape strippings by infrared densitometry*. *Skin Research and Technology*, 2007. 13(3): p. 242-251.
55. Klang, V., M. Hoppel, und C. Valenta, *Infrared Denistometrie for In Vitro Tape Stripping: Quantification of porcine Corneocytes*, in *Measuring the Skin*, P. Humbert, Editor. 2014 *in press*, Springer Verlag
56. Nagelreiter, C., D. Mahrhauser, K. Wiatschka, S. Skipiol, und C. Valenta, *Importance of a suitable working protocol for tape stripping experiments on porcine ear skin: Influence of lipophilic formulations and strip adhesion impairment*. *International Journal of Pharmaceutics*, 2015. 491(1): p. 162-169.
57. Swatschek, D., W. Schatton, J. Kellermann, W.E. Müller, und J. Kreuter, *Marine sponge collagen: isolation, characterization and effects on the skin parameters surface-pH, moisture and sebum*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2002. 53(1): p. 107-113.
58. Sapra, B., S. Jain, und A. Tiwary, *Percutaneous permeation enhancement by terpenes: mechanistic view*. *The AAPS journal*, 2008. 10(1): p. 120-132.
59. Neubert, R.H., *Potentials of new nanocarriers for dermal and transdermal drug delivery*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2011. 77(1): p. 1-2.
60. Mahrhauser, D., Nagelreiter, C., Baierl, A., Skipiol, J. und Valenta, C., *Influence of a multiple emulsion, liposomes and a microemulsion gel on sebum, skin hydration and TEWL*. *International Journal of Cosmetic Science* 2015, 37: p. 181-186.
61. Yaghmur, A., Glatter, O. *Self-Assembly in Lipidic Particles*. In *Self-Assembled Supramolecular Architectures: Lyotropic Liquid Crystals*. Editors: Nissim Garti et al., John Wiley & Sons, Inc., 2012: p. 129.
62. Hoppel, M., Caneri, M., Glatter, O., Valenta, C., *Self-assembled nanostructured aqueous dispersions as dermal delivery systems*. Eingereicht bei *Int. J. Pharm.*, 2015

8 Anhang

8.1 Tabellen zu *in vitro* Hautstudien

Tabelle A1 und Abbildung A1: Eichgerade Flufenaminsäure in Methanol

		Menge [$\mu\text{g ml}^{-1}$]	
V0	Stammlösun	1090	
V1	1:2	545,00	13250287,3
V2	1:2	272,50	7410277,64
V3	1:2	136,25	3624990,8
V4	1:2	68,13	1936875,84
V5	1:2	34,06	903337,63
V6	1:2	17,03	507796,8
V7	1:2	8,52	252180,81
V8	1:2	4,26	125859,16
V9	1:2	2,13	59954,17
V10	1:2	1,06	30264,98
V11	1:2	0,53	12309,43
V12	1:2	0,27	7572,69

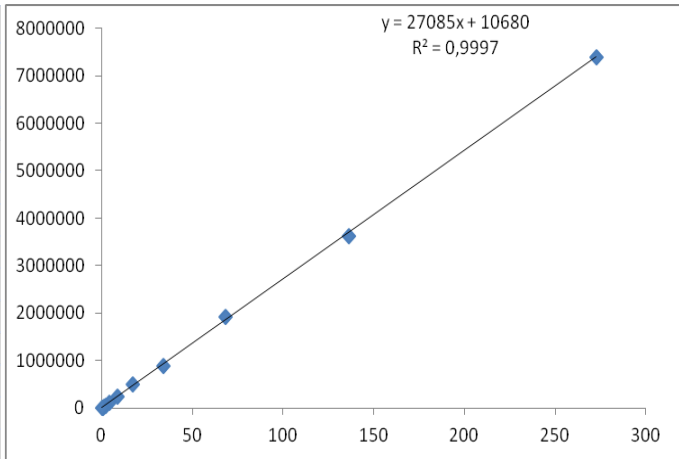
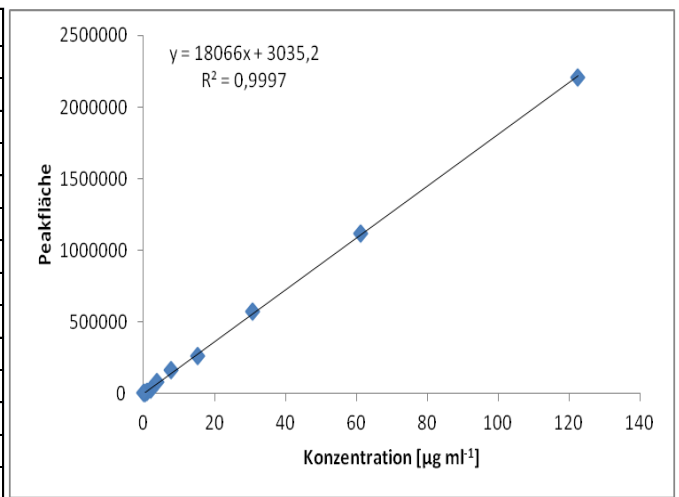


Tabelle A2 und Abbildung A2: Eichgerade Diclofenac-Natrium in Methanol

	Probe	Menge [$\mu\text{g ml}^{-1}$]	
V0	Stammlösun	980	
V1	1:2	490,00	7724825,92
V2	1:2	245,00	4102405,83
V3	1:2	122,50	2208973,15
V4	1:2	61,25	1117544,05
V5	1:2	30,63	573098,55
V6	1:2	15,31	260442,57
V7	1:2	7,66	162137,44
V8	1:2	3,83	81745,68
V9	1:2	1,91	29154,04
V10	1:2	0,96	11431,30
V11	1:2	0,48	7781,28
V12	1:2	0,24	3308,61
V13	1:2	0,12	1779,35



8.1.1 Tabellen zu Franz-Zell-Versuchen

Tabelle A3: Franz-Zellen zu Formulierung mit Flufenaminsäure + 0% *R*-(+)-Limonen

Zeit	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	Zelle 4	Zelle 5	Zelle 6	Mittelwert	SD
[Stunden]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]		
2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,00	0,00	0,00	2,29	2,43	0,00	0,79	1,22
8	3,58	3,38	2,83	6,12	6,64	1,19	3,96	2,06
24	78,08	72,57	63,00	94,62	97,45	78,88	80,77	13,14

Tabelle A4: Franz-Zellen zu Formulierung mit Flufenaminsäure + 10% *R*-(+)-Limonen

Zeit	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	Zelle 4	Zelle 5	Zelle 6	Zelle 7	Mittelwert	SD
[Stunden]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]		
2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	0,00	0,00	0,00	0,00	1,29	0,00	0,00	0,18	0,49
6	0,25	0,66	0,29	3,67	11,95	3,50	6,55	3,84	4,26
8	10,70	10,44	10,20	11,16	23,49	9,97	14,96	12,99	4,93
24	110,77	131,98	111,45	135,97	195,98	149,99	165,19	143,05	30,42

Tabelle A5: Franz-Zellen zu Formulierung mit Flufenaminsäure + 30% *R*-(+)-Limonen

Zeit	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	Zelle 4	Zelle 5	Zelle 6	Mittelwert	SD
[Stunden]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]		
2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	11,40	0,12	2,56	4,63	7,15	2,04	4,65	4,09
8	25,57	7,12	12,91	12,31	15,74	6,87	13,42	6,89
24	187,86	124,26	149,19	183,39	194,65	159,93	166,55	27,06

Tabelle A6: Franz-Zellen zu Formulierung mit Flufenaminsäure + 45% *R*-(+)-Limonen

Zeit	Zelle 1	Zelle 2	Zelle 3	Zelle 4	Zelle 5	Zelle 6	Mittelwert	SD
[Stunden]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]		
2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	2,11	1,58	4,04	7,47	6,31	7,13	4,77	2,57
8	12,00	11,10	11,80	18,73	16,42	18,64	14,78	3,56
24	158,00	154,80	182,97	222,10	230,67	223,40	195,32	34,47

Tabelle A7: Hautextraktion zu Formulierungen mit Flufenaminsäure

0 Lim		10 Lim		30 Lim		45 Lim	
	Flufenaminsäure [µg cm ⁻²]		Flufenaminsäure [µg cm ⁻²]		Flufenaminsäure [µg cm ⁻²]		Flufenaminsäure [µg cm ⁻²]
Zelle 1	69,70	Zelle 1	164,18	Zelle 1	161,35	Zelle 1	167,22
Zelle 2	68,74	Zelle 2	143,23	Zelle 2	180,37	Zelle 2	181,81
Zelle 3	91,58	Zelle 3	168,97	Zelle 3	162,70	Zelle 3	159,20
Zelle 4	77,08	Zelle 4	136,15	Zelle 4	155,00	Zelle 4	174,45
Zelle 5	82,36	Zelle 5	150,99	Zelle 5	126,98	Zelle 5	178,74
Zelle 6	80,04	Zelle 6	172,53	Zelle 6	198,89	Zelle 6	166,40
MW	78,25	Zelle 7	129,46	MW	164,22	MW	171,30
StAbw	8,52	MW	152,22	StAbw	24,27	StAbw	8,52
		StAbw	16,81				

Tabelle A8: Franz-Zellen zur Form. mit Diclofenac-Natrium + 0% R-(+)-Limonen

Zeit [Stunden]	Zelle 1 [µg cm ⁻²]	Zelle 2 [µg cm ⁻²]	Zelle 3 [µg cm ⁻²]	Zelle 4 [µg cm ⁻²]	Zelle 5 [µg cm ⁻²]	Zelle 6 [µg cm ⁻²]	Mittelwert	SD
2	2,2	1,7	4,1	n.d.	n.d.	n.d.	2,6	1,3
4	10,7	10,9	14,4	3,6	3,4	9,7	8,8	4,4
6	20,5	22,3	24,8	12,4	11,0	22,9	19,0	5,8
8	31,2	36,0	36,3	22,3	19,7	34,9	30,1	7,3
24	163,7	179,6	186,7	148,2	141,8	208,2	171,4	25,0

Tabelle A9: Franz-Zellen zur Form. mit Diclofenac-Natrium + 10% R-(+)-Limonen

Zeit [Stunden]	Zelle 1 [µg cm ⁻²]	Zelle 2 [µg cm ⁻²]	Zelle 3 [µg cm ⁻²]	Zelle 4 [µg cm ⁻²]	Zelle 5 [µg cm ⁻²]	Zelle 6 [µg cm ⁻²]	Zelle 7 [µg cm ⁻²]	Zelle 8 [µg cm ⁻²]	Mittelwert	SD
2	5,18	1,98	5,79	1,44	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3,60	2,21
4	18,02	12,21	20,61	9,93	5,83	13,53	15,98	7,85	13,00	5,08
6	33,70	27,74	40,39	24,20	16,57	32,82	38,75	21,02	29,40	8,48
8	50,62	41,66	58,15	36,12	28,06	53,05	61,35	37,13	45,77	11,78
24	256,59	220,94	265,35	192,26	178,43	274,59	290,73	206,97	235,73	41,52

Tabelle A10: Franz-Zellen zur Form. mit Diclofenac-Natrium + 45% R-(+)-Limonen

Zeit [Stunden]	Zelle 1 [µg cm ⁻²]	Zelle 2 [µg cm ⁻²]	Zelle 3 [µg cm ⁻²]	Zelle 4 [µg cm ⁻²]	Zelle 5 [µg cm ⁻²]	Zelle 6 [µg cm ⁻²]	Zelle 7 [µg cm ⁻²]	Zelle 8 [µg cm ⁻²]	Mittelwert	SD
2	14,7	7,7	14,3	32,9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	17,4	10,8
4	57,6	33,2	55,9	93,4	28,0	77,7	55,1	41,5	55,3	22,0
6	111,8	74,4	109,4	156,7	71,5	154,5	118,6	100,9	112,2	31,7
8	159,0	113,8	156,0	215,9	120,0	228,8	176,0	148,9	164,8	41,1
24	521,2	523,1	580,3	704,2	561,2	792,6	690,9	632,8	625,8	97,1

Tabelle A11: Franz-Zellen zur Form. mit Diclofenac-Natrium + 60% R-(+)-Limonen

Zeit [Stunden]	Zelle 1 [µg cm ⁻²]	Zelle 2 [µg cm ⁻²]	Zelle 3 [µg cm ⁻²]	Zelle 4 [µg cm ⁻²]	Zelle 5 [µg cm ⁻²]	Zelle 6 [µg cm ⁻²]	Zelle 7 [µg cm ⁻²]	Zelle 8 [µg cm ⁻²]	Mittelwert	SD
2	14,9	31,5	22,1	28,8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	24,3	7,4
4	74,3	101,3	74,5	88,5	85,2	97,5	71,4	90,5	85,4	11,2
6	147,0	199,9	146,0	164,7	192,0	213,6	152,4	189,7	175,7	26,3
8	218,0	276,5	219,3	240,4	288,4	317,7	234,5	281,9	259,6	36,5
24	843,8	942,6	787,5	859,4	942,7	1092,7	840,5	920,0	903,6	94,2

Tabelle A12: Hautextraktion zu Formulierungen mit Diclofenac-Natrium

0 Lim		10 Lim		45 Lim		60 Lim	
Diclofenac Natrium		Diclofenac Natrium		Diclofenac Natrium		Diclofenac Natrium	
	[$\mu\text{g cm}^{-2}$]		[$\mu\text{g cm}^{-2}$]		[$\mu\text{g cm}^{-2}$]		[$\mu\text{g cm}^{-2}$]
Zelle 1	90,91	Zelle 1	110,74	Zelle 1	197,61	Zelle 1	210,22
Zelle 2	71,70	Zelle 2	91,30	Zelle 2	166,49	Zelle 2	209,58
Zelle 3	n.d.	Zelle 3	81,58	Zelle 3	173,85	Zelle 3	273,62
Zelle 4	85,17	Zelle 4	114,32	Zelle 4	184,98	Zelle 4	222,36
Zelle 5	78,59	Zelle 5	96,57	Zelle 5	170,24	Zelle 5	268,01
Zelle 6	78,32	Zelle 6	106,24	Zelle 6	206,37	Zelle 6	240,23
MW	80,94	Zelle 7	81,41	Zelle 7	n.d.	Zelle 7	262,38
StAbw	7,33	Zelle 8	100,35	Zelle 8	144,72	Zelle 8	292,04
		MW	97,81	MW	177,75	MW	247,30
		StAbw	12,50	StAbw	20,64	StAbw	31,22

8.1.2 Tabellen zu Tape Stripping Versuchen

Tabelle A13: Strips der Formulierung mit Flufenaminsäure und 0% *R*-(+)-Limonen (HPLC)

Flufenaminsäure [$\mu\text{g cm}^{-2}$]							
Tape Nr.	1	2	3	4	5	Mean	SD
1	2,96	11,52	8,16	3,07	4,55	6,05	3,71
2	1,10	5,13	6,82	1,35	1,75	3,23	2,59
3	0,65	1,87	2,85	0,73	1,28	1,47	0,91
4	0,36	1,55	1,64	0,18	0,39	0,82	0,71
5	0,20	1,56	1,11	0,14	0,71	0,74	0,60
6	0,32	0,88	1,08	0,03	0,27	0,51	0,44
7	0,05	0,66	0,98	0,00	0,44	0,43	0,42
8	0,00	0,97	1,07	0,00	0,11	0,43	0,54
9	0,00	0,41	0,77	0,01	0,01	0,24	0,34
10	0,00	0,40	0,72	0,01	0,01	0,23	0,32
11	0,00	0,06	0,15	0,00	0,00	0,04	0,07
12	0,00	0,25	0,10	0,00	0,00	0,07	0,11
13	0,00	0,03	0,15	0,00	0,10	0,06	0,07
14	0,00	0,00	0,38	0,00	0,00	0,08	0,17
15	0,00	0,00	0,19	0,00	0,00	0,04	0,09
16	0,00	0,00	0,25	0,00	0,00	0,05	0,11
17	0,00	0,11	0,14	0,00	0,00	0,05	0,07
18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Summe	5,62	25,40	26,56	5,53	9,62	14,55	11,27

Tabelle A14: Korneozyten auf den Strips der Formulierung mit Flufenaminsäure und 0% R-(+)-Limonen (NIR-Densitometrie)

KORNEOZYTEN [$\mu\text{g cm}^{-2}$]							
Tape Nr.	1	2	3	4	5	Mean	SD
1	103,1	77,7	86,6	93,3	101,8	92,50	10,66
2	76,8	67,9	84,8	70,5	74,1	74,82	6,54
3	84,4	55,8	75,0	65,2	58,5	67,77	11,88
4	71,4	50,9	65,2	58,0	63,4	61,79	7,74
5	62,1	50,0	68,8	65,2	63,4	61,88	7,10
6	57,6	43,8	74,6	57,6	48,7	56,43	11,75
7	53,6	40,2	57,1	58,9	46,0	51,16	7,90
8	49,6	39,7	57,1	48,7	49,1	48,84	6,17
9	45,5	48,7	63,8	56,3	41,5	51,16	8,91
10	44,2	41,1	59,8	49,1	46,9	48,21	7,15
11	65,6	48,2	61,2	58,9	52,7	57,32	6,91
12	44,2	42,9	56,7	49,6	50,4	48,75	5,53
13	35,3	38,4	61,6	48,2	55,8	47,86	11,18
14	34,4	33,9	60,3	39,3	41,5	41,88	10,78
15	24,1	31,7	59,8	34,4	73,7	44,73	21,02
16	17,4	23,2	44,2	24,1	25,9	26,96	10,14
17	15,6	22,8	42,4	26,8	33,5	28,21	10,24
18	12,9	18,3	46,4	21,4	31,3	26,07	13,19
19	9,8	20,5	31,7	19,6	25,4	21,43	8,07
20	8,0	16,5	30,4	11,6	22,3	17,77	8,85
Summe	915,63	812,05	1187,50	956,70	1005,80	975,54	191,70

Tabelle A15: Strips der Formulierung mit Flufenaminsäure und 10% *R*-(+)-Limonen (HPLC)

Flufenaminsäure [$\mu\text{g cm}^{-2}$]							
Tape Nr.	1	2	3	4	5	Mean	SD
1	7,60	18,57	10,67	3,60	5,60	9,21	5,85
2	2,24	7,66	4,58	0,95	2,82	3,65	2,59
3	1,34	5,16	3,01	0,82	2,24	2,51	1,70
4	0,52	2,89	1,92	0,81	1,78	1,58	0,95
5	0,67	2,88	1,61	0,49	0,82	1,29	0,98
6	0,10	2,73	1,20	0,46	1,07	1,11	1,01
7	0,24	1,29	0,69	0,39	0,38	0,60	0,42
8	0,23	0,94	0,50	0,10	0,47	0,45	0,32
9	0,00	0,68	0,61	0,01	0,33	0,33	0,32
10	0,00	1,09	0,43	0,00	0,06	0,32	0,47
11	0,00	0,15	0,16	0,00	0,00	0,06	0,09
12	0,00	0,12	0,44	0,00	0,00	0,11	0,19
13	0,00	0,41	0,17	0,00	0,10	0,14	0,17
14	0,00	0,09	0,58	0,00	0,00	0,13	0,25
15	0,00	0,07	0,10	0,00	0,04	0,04	0,04
16	0,00	0,25	0,03	0,00	0,00	0,06	0,11
17	0,00	0,06	0,12	0,00	0,07	0,05	0,05
18	0,00	0,32	0,07	0,00	0,00	0,08	0,14
19	0,00	0,00	0,21	0,00	0,14	0,07	0,10
20	0,00	0,00	0,43	0,00	0,00	0,09	0,19
Summe	12,92	45,36	27,50	7,62	15,90	21,86	15,95

Tabelle A16: Korneozyten auf den Strips der Formulierung mit Flufenaminsäure und 10% R-(+)-Limonen (NIR-Densitometrie)

KORNEOZYTEN [$\mu\text{g cm}^{-2}$]							
Tape Nr.	1	2	3	4	5	Mean	SD
1	108,0	100,4	70,1	96,0	95,1	93,93	14,28
2	71,0	93,3	61,6	54,5	70,5	70,18	14,63
3	60,7	86,2	58,0	58,9	71,9	67,14	12,00
4	57,1	72,8	53,6	54,9	66,1	60,89	8,24
5	58,0	68,3	58,9	54,5	62,1	60,36	5,20
6	55,4	58,0	54,0	48,2	50,0	53,13	3,99
7	55,4	56,7	54,9	43,8	54,0	52,95	5,23
8	50,4	52,2	45,1	42,4	50,9	48,21	4,24
9	45,5	50,0	50,4	38,8	52,7	47,50	5,49
10	42,4	49,1	51,8	34,8	44,2	44,46	6,57
11	50,0	55,4	48,2	44,2	47,8	49,11	4,08
12	50,0	44,6	46,0	35,3	42,4	43,66	5,44
13	44,2	39,3	47,8	35,7	42,9	41,96	4,63
14	35,3	34,8	46,9	30,4	32,1	35,89	6,46
15	29,0	25,0	36,6	23,2	24,6	27,68	5,44
16	24,1	21,4	37,9	14,7	22,3	24,11	8,51
17	23,2	25,9	23,2	21,0	16,1	21,88	3,68
18	19,6	21,9	25,9	13,4	17,9	19,73	4,64
19	16,5	12,9	23,7	17,9	15,6	17,32	3,97
20	10,3	12,5	23,2	10,3	11,6	13,57	5,47
Summe	906,25	980,80	917,86	772,77	890,63	893,66	132,19

Tabelle A17: Strips der Formulierung mit Flufenaminsäure und 30% *R*-(+)-Limonen (HPLC)

Flufenaminsäure [$\mu\text{g cm}^{-2}$]							
Tape Nr.	1	2	3	4	5	Mean	SD
1	5,72	15,36	9,32	12,29	8,98	10,33	3,65
2	3,11	5,06	4,40	3,59	2,67	3,76	0,97
3	1,32	2,68	1,86	2,54	3,92	2,46	0,98
4	0,71	1,43	1,82	1,61	1,68	1,45	0,44
5	0,47	1,87	1,01	1,46	1,65	1,29	0,56
6	0,43	0,70	0,59	0,37	0,52	0,52	0,13
7	0,68	0,71	0,54	0,63	0,67	0,64	0,07
8	0,58	0,40	0,30	0,54	0,32	0,43	0,13
9	0,03	0,45	0,28	0,17	0,16	0,22	0,16
10	0,30	0,37	0,15	0,13	0,63	0,32	0,20
11	0,14	0,00	0,05	0,25	0,00	0,09	0,11
12	0,06	0,46	0,27	0,21	0,00	0,20	0,18
13	0,07	0,00	0,00	0,77	0,16	0,20	0,32
14	0,00	0,11	0,00	0,21	0,00	0,06	0,09
15	0,00	0,40	0,25	0,00	0,16	0,16	0,17
16	2,23	0,16	0,24	0,00	0,00	0,52	0,96
17	0,18	0,09	0,73	0,12	0,00	0,22	0,29
18	0,00	0,54	0,04	0,00	0,00	0,12	0,24
19	0,00	0,05	0,00	0,00	0,19	0,05	0,08
20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	0,03	0,07
Summe	16,01	30,82	21,85	24,89	21,87	23,09	9,80

Tabelle A18: Korneozyten auf den Strips der Formulierung mit Flufenaminsäure und 30% R-(+)-Limonen (NIR-Densitometrie)

KORNEOZYTEN [$\mu\text{g cm}^{-2}$]							
Tape Nr.	1	2	3	4	5	Mean	SD
1	92,4	89,7	62,9	72,8	100,4	83,66	15,35
2	71,0	59,8	41,1	51,8	79,0	60,54	15,06
3	63,8	56,3	39,7	61,6	86,6	61,61	16,86
4	63,4	47,3	32,6	49,6	55,8	49,73	11,44
5	60,3	44,6	34,8	40,6	72,3	50,54	15,40
6	57,6	43,8	30,4	44,2	62,1	47,59	12,57
7	54,9	55,8	42,4	42,4	65,2	52,14	9,75
8	51,8	48,7	34,4	33,0	55,4	44,64	10,27
9	45,5	48,2	29,5	46,4	50,0	43,93	8,27
10	45,1	47,3	35,7	42,9	39,7	42,14	4,56
11	42,9	51,3	38,8	52,2	55,4	48,13	6,95
12	41,5	47,8	33,9	47,8	37,9	41,79	6,09
13	32,1	48,2	35,3	34,4	29,0	35,80	7,35
14	31,3	40,6	34,4	33,9	18,3	31,70	8,24
15	31,7	43,8	32,1	24,1	20,1	30,36	9,07
16	28,1	42,9	29,0	15,6	12,1	25,54	12,24
17	18,8	36,2	27,7	19,6	8,5	22,14	10,39
18	13,8	25,4	19,6	18,8	7,6	17,05	6,71
19	14,7	19,6	18,3	13,4	6,7	14,55	5,08
20	12,9	19,6	16,5	13,8	6,3	13,84	4,98
Summe	873,66	916,96	669,20	758,93	868,30	817,41	196,61

Tabelle A19: Strips der Formulierung mit Flufenaminsäure und 45% *R*-(+)-Limonen (HPLC)

Flufenaminsäure [$\mu\text{g cm}^{-2}$]							
Tape Nr.	1	2	3	4	5	Mean	SD
1	7,76	23,12	14,78	6,80	12,53	13,00	6,55
2	4,40	8,70	6,07	4,32	3,59	5,42	2,05
3	4,09	4,75	2,98	2,52	1,29	3,13	1,36
4	2,29	1,90	2,40	1,59	1,18	1,87	0,50
5	1,34	2,27	1,31	1,82	0,84	1,52	0,54
6	1,19	1,31	1,26	1,20	0,45	1,08	0,36
7	1,08	0,81	1,29	1,17	0,38	0,95	0,36
8	1,88	0,67	0,61	0,89	0,30	0,87	0,60
9	1,31	0,50	0,75	0,63	0,64	0,77	0,32
10	1,46	0,26	0,98	0,32	0,36	0,67	0,52
11	0,24	0,87	0,29	0,35	0,09	0,37	0,30
12	0,31	0,50	0,17	1,03	0,07	0,42	0,38
13	0,91	0,02	0,14	0,78	0,00	0,37	0,44
14	0,60	0,01	0,31	0,39	0,25	0,31	0,22
15	0,25	0,06	0,00	0,52	0,00	0,17	0,22
16	0,72	0,09	0,21	0,66	0,00	0,34	0,33
17	0,05	0,25	0,18	0,68	0,00	0,23	0,27
18	0,70	0,12	0,10	0,55	0,02	0,30	0,31
19	0,02	0,08	0,10	0,30	0,05	0,11	0,11
20	0,20	0,46	0,02	0,51	0,00	0,24	0,24
Summe	30,81	46,76	33,95	27,04	22,04	32,12	15,99

Tabelle A20: Korneozyten auf den Strips der Formulierung mit Flufenaminsäure und 45% R-(+)-Limonen (NIR-Densitometrie)

KORNEOZYTEN [$\mu\text{g cm}^{-2}$]							
Tape Nr.	1	2	3	4	5	Mean	SD
1	83,0	102,7	70,5	99,6	100,4	91,25	13,97
2	71,0	99,1	40,2	78,1	75,0	72,68	21,17
3	72,8	83,0	34,4	67,0	57,1	62,86	18,48
4	57,1	75,4	33,9	56,7	63,8	57,41	15,15
5	62,5	69,2	34,4	56,3	50,4	54,55	13,27
6	59,4	68,8	29,9	57,1	46,4	52,32	14,83
7	57,1	77,2	36,2	49,6	54,0	54,82	14,87
8	54,0	67,0	26,3	44,2	50,9	48,48	14,89
9	50,9	61,2	33,0	45,1	61,6	50,36	11,95
10	46,9	60,7	31,7	46,9	57,1	48,66	11,31
11	60,7	61,2	24,1	50,9	56,3	50,63	15,39
12	46,9	54,0	25,9	45,5	65,2	47,50	14,37
13	44,6	52,2	30,4	53,6	46,4	45,45	9,24
14	37,5	36,6	23,2	44,2	47,3	37,77	9,30
15	28,1	41,1	24,6	43,8	40,6	35,63	8,65
16	20,1	30,4	25,0	41,5	29,5	29,29	7,96
17	19,6	27,7	21,9	37,1	23,7	25,98	6,85
18	16,1	23,7	25,9	32,6	18,8	23,39	6,44
19	15,6	26,3	21,4	32,1	14,3	21,96	7,45
20	12,9	20,1	21,9	27,7	12,9	19,11	6,28
Summe	916,96	1137,50	614,73	1009,38	971,88	930,09	241,85

Tabelle A21: Strips der Formulierung mit Diclofenac-Natrium und 0% *R*-(+)-Limonen (HPLC)

Diclofenac-Natrium [$\mu\text{g cm}^{-2}$]							
Tape Nr.	1	2	3	4	5	Mean	SD
1	3,18	4,86	2,90	3,01	1,22	3,03	1,29
2	1,33	2,59	1,68	1,60	0,43	1,52	0,78
3	0,48	1,50	0,52	0,61	0,14	0,65	0,51
4	0,22	0,66	0,59	0,35	0,03	0,37	0,26
5	0,18	0,45	0,79	0,20	0,02	0,33	0,30
6	0,16	0,42	0,65	0,09	0,01	0,27	0,26
7	0,11	0,35	0,28	0,04	0,00	0,16	0,15
8	0,02	0,22	0,11	0,10	0,00	0,09	0,09
9	0,03	0,18	0,09	0,00	0,04	0,07	0,07
10	0,07	0,03	0,09	0,01	0,00	0,04	0,04
11	0,00	0,30	0,02	0,00	0,00	0,06	0,13
12	0,00	0,13	0,01	0,00	0,00	0,03	0,06
13	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	0,03	0,06
14	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	0,02	0,04
15	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	0,02	0,03
16	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01
17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Summe	5,77	11,99	7,74	6,01	1,90	6,68	3,66

Tabelle A22: Korneozyten auf den Strips der Formulierung mit Diclofenac-Natrium und 0% R-(+)-Limonen (NIR-Densitometrie)

KORNEOZYTEN [$\mu\text{g cm}^{-2}$]							
Tape Nr.	1	2	3	4	5	Mean	SD
1	70,1	70,1	79,5	79,0	60,3	71,79	7,90
2	50,4	61,6	53,6	67,0	45,5	55,63	8,62
3	46,0	63,4	58,9	65,2	36,2	53,93	12,45
4	46,4	56,7	55,4	54,0	35,3	49,55	8,92
5	43,8	48,2	54,9	50,4	41,5	47,77	5,33
6	56,7	43,3	49,1	57,1	40,6	49,38	7,54
7	55,8	44,2	46,4	55,8	45,5	49,55	5,76
8	56,3	44,2	39,7	46,9	44,2	46,25	6,15
9	54,5	31,7	48,2	48,7	36,2	43,84	9,51
10	49,1	26,8	39,3	52,7	34,4	40,45	10,60
11	39,7	29,9	34,8	59,8	34,4	39,73	11,76
12	37,1	33,9	27,2	57,6	32,1	37,59	11,73
13	32,6	19,2	22,8	54,9	29,9	31,88	13,95
14	24,6	13,8	17,4	48,2	26,3	26,07	13,39
15	20,1	13,8	18,8	48,2	29,5	26,07	13,61
16	15,6	15,6	15,6	44,2	25,4	23,30	12,43
17	14,7	10,3	8,5	35,3	24,1	18,57	11,12
18	12,9	8,5	5,4	34,8	15,6	15,45	11,53
19	9,4	6,3	6,3	23,2	17,9	12,59	7,61
20	8,9	6,7	5,4	21,9	13,8	11,34	6,72
Summe	744,64	648,21	687,05	1004,91	668,75	750,71	196,63

Tabelle A23: Strips der Formulierung mit Diclofenac-Natrium und 10% *R*-(+)-Limonen (HPLC)

Diclofenac-Natrium [$\mu\text{g cm}^{-2}$]							
Tape Nr.	1	2	3	4	5	Mean	SD
1	5,29	4,68	6,71	3,87	3,34	4,78	1,31
2	2,70	2,00	3,25	2,08	1,47	2,30	0,69
3	1,26	1,07	2,12	1,61	0,62	1,34	0,57
4	0,68	0,84	0,98	1,22	0,34	0,81	0,33
5	0,43	0,23	0,77	0,48	0,20	0,42	0,23
6	0,13	0,11	0,50	0,27	0,07	0,22	0,18
7	0,15	0,10	0,33	0,26	0,09	0,19	0,11
8	0,06	0,00	0,25	0,11	0,05	0,09	0,09
9	0,01	0,00	0,14	0,16	0,05	0,07	0,07
10	0,03	0,00	0,13	0,43	0,00	0,12	0,18
11	0,01	0,00	0,12	0,08	0,00	0,04	0,06
12	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,01	0,02
13	0,04	0,00	0,02	0,00	0,00	0,01	0,02
14	0,00	0,00	0,02	0,03	0,00	0,01	0,01
15	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,01	0,03
16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Summe	10,78	9,04	15,45	10,59	6,23	10,42	3,35

Tabelle A24: Korneozyten auf den Strips der Formulierung mit Diclofenac-Natrium und 10% *R*-(+)-Limonen (NIR-Densitometrie)

KORNEOZYTEN [$\mu\text{g cm}^{-2}$]							
Tape Nr.	1	2	3	4	5	Mean	SD
1	92,9	77,2	74,6	85,3	95,1	85,00	9,13
2	71,4	70,1	70,5	71,4	70,5	70,80	0,60
3	69,6	63,4	60,7	72,3	71,9	67,59	5,24
4	64,3	55,8	59,4	65,6	66,1	62,23	4,47
5	65,6	52,2	57,6	54,5	62,1	58,39	5,47
6	66,1	46,4	45,1	52,2	50,0	51,96	8,38
7	62,9	37,9	51,3	55,8	54,0	52,41	9,16
8	58,0	34,8	50,0	52,2	50,9	49,20	8,62
9	54,9	35,3	45,5	59,8	52,7	49,64	9,54
10	44,2	27,7	45,5	56,7	44,2	43,66	10,36
11	41,1	27,2	48,2	69,2	47,8	46,70	15,17
12	40,2	20,5	46,4	54,5	42,4	40,80	12,57
13	39,3	15,6	44,2	62,5	42,9	40,89	16,75
14	28,1	14,7	37,1	51,3	32,1	32,68	13,33
15	22,8	12,5	37,5	42,9	24,6	28,04	12,15
16	21,0	6,3	29,0	36,6	22,3	23,04	11,25
17	16,1	11,2	21,4	26,3	16,1	18,21	5,82
18	13,4	7,6	18,8	21,9	17,9	15,89	5,55
19	9,8	6,3	15,6	13,8	15,6	12,23	4,10
20	9,4	4,0	14,7	11,6	11,6	10,27	3,98
Summe	891,07	626,79	873,21	1016,52	890,63	859,64	171,63

Tabelle A25: Strips der Formulierung mit Diclofenac-Natrium und 45% *R*(+)-Limonen (HPLC)

Diclofenac-Natrium [$\mu\text{g cm}^{-2}$]							
Tape Nr.	1	2	3	4	5	Mean	SD
1	6,04	7,64	4,62	4,02	3,68	5,20	1,64
2	2,26	4,72	3,62	2,54	1,23	2,88	1,34
3	1,22	2,71	1,86	1,67	0,74	1,64	0,74
4	0,72	1,83	1,11	0,61	0,37	0,93	0,57
5	0,58	0,94	0,45	0,65	0,15	0,55	0,29
6	0,57	0,99	0,35	0,28	0,07	0,45	0,35
7	0,26	0,78	0,25	0,37	0,07	0,35	0,26
8	0,16	0,70	0,29	0,41	0,01	0,31	0,26
9	0,29	0,22	0,17	0,10	0,00	0,16	0,11
10	0,28	0,28	0,17	0,05	0,00	0,16	0,13
11	0,02	0,14	0,03	0,10	0,00	0,06	0,06
12	0,05	0,11	0,06	0,03	0,00	0,05	0,04
13	0,11	0,20	0,02	0,08	0,00	0,08	0,08
14	0,00	0,12	0,01	0,04	0,00	0,03	0,05
15	0,00	0,06	0,00	0,01	0,00	0,01	0,03
16	0,00	0,10	0,01	0,02	0,00	0,03	0,04
17	0,00	0,03	0,00	0,06	0,00	0,02	0,03
18	0,00	0,03	0,00	0,02	0,00	0,01	0,01
19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,01	0,02
Summe	12,56	21,61	13,02	11,12	6,33	12,93	5,53

Tabelle A26: Korneozyten auf den Strips der Formulierung mit Diclofenac-Natrium und 45% R-(+)-Limonen (NIR-Densitometrie)

KORNEOZYTEN [$\mu\text{g cm}^{-2}$]							
Tape Nr.	1	2	3	4	5	Mean	SD
1	69,2	69,2	74,6	86,2	75,0	74,82	6,93
2	54,0	67,9	53,6	71,4	62,9	61,96	8,04
3	55,8	62,5	58,0	73,7	54,9	60,98	7,67
4	47,8	59,8	48,2	57,1	53,1	53,21	5,33
5	45,1	54,5	52,7	64,3	55,4	54,38	6,86
6	44,6	50,0	46,0	62,5	44,6	49,55	7,56
7	48,7	46,9	60,7	62,9	57,6	55,36	7,21
8	40,6	36,6	45,5	59,4	47,8	45,98	8,65
9	49,1	39,7	53,1	54,9	49,6	49,29	5,87
10	45,5	28,6	36,6	54,5	47,3	42,50	10,05
11	50,0	37,5	54,0	51,3	53,6	49,29	6,79
12	40,6	27,7	53,1	45,1	44,6	42,23	9,31
13	45,1	21,4	43,8	46,9	33,9	38,21	10,64
14	42,4	20,1	43,8	42,4	27,7	35,27	10,75
15	37,5	18,8	26,3	39,3	25,9	29,55	8,64
16	34,8	8,0	25,9	34,4	23,2	25,27	10,91
17	31,7	11,6	22,8	28,1	25,4	23,93	7,64
18	29,0	4,9	16,1	19,2	21,9	18,21	8,84
19	26,8	8,5	16,5	17,9	21,9	18,30	6,79
20	24,6	6,3	14,7	16,1	14,7	15,27	6,50
Summe	862,95	680,36	845,98	987,50	841,07	843,57	160,99

Tabelle A27: Strips der Formulierung mit Diclofenac-Natrium und 60% *R*(+)-Limonen (HPLC)

Diclofenac-Natrium [$\mu\text{g cm}^{-2}$]							
Tape Nr.	1	2	3	4	5	Mean	SD
1	13,40	10,02	10,20	6,91	6,63	9,43	2,78
2	6,07	3,12	4,67	2,02	3,42	3,86	1,56
3	3,40	1,56	2,13	1,07	1,23	1,88	0,94
4	2,78	1,00	1,68	1,06	0,69	1,44	0,83
5	1,71	0,44	1,10	0,39	0,29	0,79	0,61
6	1,06	1,00	0,39	0,50	0,28	0,65	0,36
7	0,73	0,51	0,29	0,13	0,35	0,40	0,23
8	0,55	0,46	0,29	0,13	0,20	0,32	0,18
9	0,92	0,24	0,16	0,18	0,05	0,31	0,35
10	0,38	0,13	0,06	0,10	0,00	0,13	0,15
11	0,28	0,13	0,00	0,07	0,00	0,10	0,12
12	0,07	0,12	0,24	0,00	0,00	0,09	0,10
13	0,04	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,02
14	0,24	0,00	0,02	0,00	0,00	0,05	0,11
15	0,25	0,00	0,02	0,07	0,06	0,08	0,10
16	0,18	0,01	0,00	0,02	0,00	0,04	0,08
17	0,08	0,00	0,00	0,08	0,00	0,03	0,05
18	0,07	0,00	0,00	0,64	0,00	0,14	0,28
19	0,07	0,00	0,00	0,11	0,00	0,04	0,05
20	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
Summe	32,31	18,74	21,25	13,48	13,21	19,80	7,80

Tabelle A28: Korneozyten auf den Strips der Formulierung mit Diclofenac-Natrium und 60% R-(+)-Limonen (NIR-Densitometrie)

KORNEOZYTEN [$\mu\text{g cm}^{-2}$]							
Tape Nr.	1	2	3	4	5	Mean	SD
1	71,0	80,4	79,0	73,2	86,6	78,04	6,18
2	69,6	47,8	57,1	71,9	76,8	64,64	11,89
3	71,9	51,8	52,7	69,6	71,9	63,57	10,40
4	68,8	50,4	52,2	62,1	67,4	60,18	8,47
5	65,2	44,2	57,6	64,7	64,7	59,29	9,01
6	63,8	39,7	46,9	63,8	65,2	55,89	11,78
7	74,1	50,9	53,6	58,0	57,1	58,75	9,05
8	57,6	37,5	51,3	49,6	57,1	50,63	8,14
9	61,2	42,4	51,8	51,3	57,1	52,77	7,07
10	52,2	33,9	46,0	51,3	53,1	47,32	7,99
11	62,1	40,6	61,6	52,7	57,6	54,91	8,83
12	55,4	29,9	47,3	52,2	53,1	47,59	10,31
13	28,6	22,3	42,0	36,2	51,3	36,07	11,33
14	27,7	22,8	29,5	26,3	48,7	30,98	10,18
15	37,1	21,0	26,8	21,9	47,8	30,89	11,39
16	33,0	15,6	31,7	17,9	35,7	26,79	9,32
17	33,5	10,3	20,1	18,3	33,9	23,21	10,27
18	24,6	12,5	17,9	13,8	28,1	19,38	6,77
19	28,6	7,6	16,5	11,2	20,5	16,88	8,20
20	18,8	6,7	12,5	5,8	24,1	13,57	7,85
Summe	1004,46	668,30	854,02	871,88	1058,04	891,34	184,43

8.2 Tabellen zu *in vivo* Hautstudien

8.2.1 Tabellen zu Raman Messungen

Tabelle A29: NMF-Werte aus Fingerprint-Messung (Auswertung Skin Tools®)

Alle Angaben in % vom Ausgangswert										
	Hauttiefe [µm]	M1	M2	W1	W2	W3	W4	W5	MW	StAbw
Behandelt 2h	0	88,1	x	50,0	77,3	47,5	14,0	x	55,4	28,98
	4	81,5	x	74,0	109,6	79,1	47,6	x	78,4	22,08
	8	97,0	x	71,3	176,2	98,4	87,6	x	106,1	40,67
Behandelt Recovery	0	79,4	91,4	95,4	x	88,3	75,6	84,1	85,7	7,43
	4	87,9	81,2	91,9	x	99,4	67,9	100,0	88,1	12,16
	8	118,3	53,1	110,5	x	127,8	43,5	104,6	93,0	35,61
Unbehandelt Recovery	0	90,1	x	147,9	x	83,3	87,3	108,8	103,5	26,69
	4	83,1	x	135,1	x	93,5	87,0	102,7	100,3	20,82
	8	73,6	x	155,4		105,3	120,6	90,3	109,0	31,25

Tabelle A30: Wasserprofile aus High-Wave-Messung (Auswertung Skin Tools®)

Alle Angaben in % vom Ausgangswert										
	Hauttiefe [µm]	M1	M2	W1	W2	W3	W4	W5	MW	StAbw
Behandelt 2h	0	72,9	x	66,8	51,9	57,4	54,2	x	60,6	8,9
	2	73,3	x	65,8	52,1	58,4	52,2	x	60,4	9,2
	4	78,8	x	80,2	62,6	69,2	63,7	x	70,9	8,3
	6	82,3	x	89,9	69,8	78,5	74,6	x	79,0	7,7
	8	86,6	x	93,8	75,0	86,8	82,3	x	84,9	6,9
	10	89,2	x	96,0	75,5	94,0	86,6	x	88,2	8,0
	12	94,4	x	100,0	75,9	97,2	89,1	x	91,3	9,5
	14	98,5	x	101,6	78,9	99,3	91,2	x	93,9	9,3
	16	99,5	x	102,1	86,4	99,5	93,9	x	96,3	6,3
	18	100,1	x	104,2	92,4	99,9	97,4	x	98,8	4,3
	20	101,0	x	105,2	96,4	98,9	100,2	x	100,3	3,2
	22	101,9	x	103,0	97,6	98,6	100,6	x	100,3	2,3
	24	101,4	x	101,0	97,1	101,5	101,3	x	100,5	1,9
26	100,3	x	100,8	95,3	104,3	102,4	x	100,6	3,4	
Behandelt Recovery	0	137,6	x	86,9	x	110,3	110,0	112,7	111,5	18,0
	2	135,4	x	88,4	x	111,1	108,3	111,0	110,8	16,7
	4	119,0	x	92,5	x	107,9	108,4	107,3	107,0	9,4
	6	104,5	x	95,9	x	103,1	113,3	104,5	104,3	6,2
	8	96,2	x	94,5	x	96,9	116,5	102,3	101,3	9,0
	10	94,2	x	95,2	x	94,0	117,3	99,5	100,0	9,9
	12	94,5	x	97,5	x	92,3	112,3	97,7	98,9	7,8
	14	94,9	x	99,2	x	94,2	107,2	97,7	98,6	5,2
	16	96,4	x	100,1	x	97,7	104,1	98,7	99,4	3,0
	18	98,1	x	100,8	x	99,2	101,6	99,6	99,9	1,4
	20	98,2	x	100,3	x	98,4	100,2	99,3	99,3	1,0
	22	99,2	x	99,4	x	96,8	99,2	99,3	98,8	1,1
	24	100,1	x	98,7	x	97,0	99,3	100,4	99,1	1,3
26	100,6	x	98,6	x	98,0	99,3	101,6	99,6	1,5	
Unbehandelt Recovery	0	113,0	x	93,4	x	88,4	102,1	116,2	102,6	12,1
	2	111,0	x	95,8	x	90,5	98,5	114,3	102,0	10,2
	4	104,7	x	96,6	x	93,5	94,0	111,0	100,0	7,6
	6	99,9	x	100,3	x	96,6	93,3	108,4	99,7	5,6
	8	97,9	x	99,2	x	99,5	94,2	106,7	99,5	4,6
	10	99,2	x	99,5	x	101,5	93,6	104,5	99,6	4,0
	12	101,2	x	98,6	x	103,2	92,7	103,8	99,9	4,5
	14	102,5	x	97,8	x	104,2	94,9	102,4	100,4	3,9
	16	101,9	x	96,8	x	105,2	96,5	100,9	100,3	3,6
	18	101,5	x	98,8	x	105,1	96,9	100,4	100,5	3,1
	20	101,1	x	100,8	x	104,3	98,4	99,1	100,8	2,3
	22	101,1	x	100,6	x	104,5	99,6	97,7	100,7	2,5
	24	101,0	x	99,7	x	105,8	101,2	98,5	101,2	2,8
26	100,3	x	98,7	x	106,6	101,9	100,1	101,5	3,1	

8.2.2 Tabellen zu Derma Unit® und Aqua Flux® Messungen

Tabelle A31: Messwerte männliche Person 1

M1																	
Datum	Messung	Arm	Sebum	Corneo 1	Corneo 2	Corneo 3	MW	StAbw	pH 1	pH 2	pH 3	MW	StAbw	TEWL 1	TEWL 2	MW	StAbw
Blank		R	0	39,4	45,4	43	42,6	3,0	3,9	4,2	4,3	4,13	0,21	11,21	10,55	10,88	0,47
		L	0	41,4	51,4	50,8	47,9	5,6	3,8	4,2	4,6	4,20	0,40	12,63	10,84	11,74	1,27
Tag 1	2h	R	21	37	33,7	40,8	37,2	3,6	5,2	4,1	4,3	4,53	0,59	10,38	11,38	10,88	0,71
		L	0	50,8	41,4	40,8	44,3	5,6	4,5	4,3	4,5	4,43	0,12	10,66	9,3	9,98	0,96
	6h	R	2	43,7	38,6	32,1	38,1	5,8	3,4	3,9	3,6	3,63	0,25	13,53	12,91	13,22	0,44
		L	0	45,1	46,9	41,1	44,4	3,0	3,7	3,7	4	3,80	0,17	10,11	10,81	10,46	0,49
Tag 2	2h	R	20	55	68,8	47,5	57,1	10,8	4,7	4,7	5	4,80	0,17	9,87	10,63	10,25	0,54
		L	0	48,7	43,2	41,8	44,6	3,6	4,6	4,3	4,6	4,50	0,17	7,55	9,08	8,32	1,08
	6h	R	1	44,2	40,2	38	40,8	3,1	4,1	3,9	4,2	4,07	0,15	10,44	10,91	10,68	0,33
		L	1	41,1	48,9	45,2	45,1	3,9	3,9	4,3	4,2	4,13	0,21	8,12	8,62	8,37	0,35
Tag 3	2h	R	22	39,2	47,9	47,7	44,9	5,0	4,7	5	5,2	4,97	0,25	13,05	12,68	12,87	0,26
		L	1	49,2	44,5	50,3	48,0	3,1	4,6	4,9	5	4,83	0,21	9,04	9,09	9,07	0,04
	6h	R	21	78,2	79,7	67,2	75,0	6,8	4,4	4,5	4,9	4,60	0,26	15,13	14,21	14,67	0,65
		L	3	55,1	52,2	59,7	55,7	3,8	3,9	5,1	4,9	4,63	0,64	10,65	10,02	10,34	0,45
Tag 4	2h	R	8	39,9	45,1	43,7	42,9	2,7	4,3	4,4	4,2	4,30	0,10	10,57	11,43	11,00	0,61
		L	0	52,6	37,9	43,2	44,6	7,4	4	4,5	4,7	4,40	0,36	8,43	8,91	8,67	0,34
	6h	R	17	46	43,3	48,3	45,9	2,5	4,2	4,3	4,7	4,40	0,26	12,12	15,07	13,60	2,09
		L	1	51,5	40,3	47,5	46,4	5,7	4	4,4	4,2	4,20	0,20	11,41	13,32	12,37	1,35
Recovery	R	0	42,9	45,7	47,5	45,4	2,3	3,3	3,6	3,9	3,60	0,30	20,41	22,89	21,65	1,75	
	L	1	46,2	50,2	43,8	46,7	3,2	3,6	3,6	3,6	3,60	0,00	11,09	9,45	10,27	1,16	

Tabelle A32: Messwerte männliche Person 2

M2																	
Datum	Messung	Arm	Sebum	Corneo 1	Corneo 2	Corneo 3	MW	StAbw	pH 1	pH 2	pH 3	MW	StAbw	TEWL 1	TEWL 2	MW	StAbw
Blank		R	x	x	x	x			x	x	x			x	x		
		L	0	45,3	47,1	43,5	45,3	1,8	4,7	5,2	5,2	5,0	0,3	9,82	9,13	9,5	0,5
Tag 1	2h	R	x	x	x	x			x	x	x			x	x		
		L	44	47,9	47,2	51	48,7	2,0	4,3	5,1	5,4	4,9	0,6	15,83	15,29	15,6	0,4
	6h	R	x	x	x	x			x	x	x			x	x		
		L	8	48,8	46,5	38,6	44,6	5,4	4,4	4,4	3,8	4,2	0,3	15,99	15,33	15,7	0,5
Tag 2	2h	R	x	x	x	x			x	x	x			x	x		
		L	280	62,7	62,8	65,9	63,8	1,8	4,4	4,7	4,8	4,6	0,2	16,59	15,54	16,1	0,7
	6h	R	x	x	x	x			x	x	x			x	x		
		L	34	44,5	43,7	47,9	45,4	2,2	4,3	5,2	4,8	4,8	0,5	14,09	17,19	15,6	2,2
Tag 3	2h	R	x	x	x	x			x	x	x			x	x		
		L	284	36,6	34,1	48,8	39,8	7,9	5	5,3	5,5	5,3	0,3	16,09	15,13	15,6	0,7
	6h	R	x	x	x	x			x	x	x			x	x		
		L	1	56,2	52,1	48,8	52,4	3,7	4,7	4,5	4,7	4,6	0,1	17,57	18,32	17,9	0,5
Tag 4	2h	R	x	x	x	x			x	x	x			x	x		
		L	242	38	50,4	55,7	48,0	9,1	5	5,5	5,6	5,4	0,3	13,27	13,77	13,5	0,4
	6h	R	x	x	x	x			x	x	x			x	x		
		L	3	46,8	45,6	45,8	46,1	0,6	5,3	5,3	5,1	5,2	0,1	17,22	18,4	17,8	0,8
Recovery	R	x	x	x	x			x	x	x			x	x			
	L	3	52,6	44	51,3	49,3	4,6	4,7	4,8	5,1	4,9	0,2	14,17	13,16	13,7	0,7	

Tabelle A33: Messwerte weibliche Person 1

W1																	
Datum	Messung	Arm	Sebum	Corneo 1	Corneo 2	Corneo 3	MW	StAbw	pH 1	pH 2	pH 3	MW	StAbw	TEWL 1	TEWL 2	MW	StAbw
Blank		R	0	51,2	48,1	55,1	51,5	3,5	4,4	4,4	4,2	4,3	0,1	18,5	16,2	17,3	1,6
		L	0	51,8	43,6	39	44,8	6,5	4,2	4,2	4,1	4,2	0,1	14,5	14,5	14,5	0,0
Tag 1	2h	R	0	45,7	46	47,7	46,5	1,1	4,9	4,7	4,5	4,7	0,2	12,2	12,2	12,2	0,0
		L	21	47,4	43,5	48,2	46,4	2,5	4,1	4,1	4,5	4,2	0,2	12,6	12,7	12,7	0,1
	6h	R	0	36,1	40,4	45	40,5	4,5	4,5	4,3	4,6	4,5	0,2	12,2	12,4	12,3	0,2
		L	2	45,3	48,9	42,9	45,7	3,0	4,6	5	4,9	4,8	0,2	13,5	14,2	13,8	0,5
Tag 2	2h	R	0	45,1	47,1	42,9	45,0	2,1	5,1	5	4,9	5,0	0,1	11,2	12,7	12,0	1,1
		L	36	46,6	52,6	49,2	49,5	3,0	5,1	5,3	5,3	5,2	0,1	12,3	13,8	13,1	1,0
	6h	R	0	48,2	42	45	45,1	3,1	4	4,5	4,3	4,3	0,3	10,7	12,8	11,7	1,5
		L	0	42,8	41,3	45,6	43,2	2,2	4,5	4,4	4,6	4,5	0,1	15,1	14,8	14,9	0,3
Tag 3	2h	R	0	52	51,3	46,9	50,1	2,8	4,8	4,7	4,9	4,8	0,1	10,8	10,0	10,4	0,6
		L	131	46,2	53,8	50,9	50,3	3,8	4,9	5,1	5,4	5,1	0,3	11,2	12,4	11,8	0,9
	6h	R	0	46	43,1	42,3	43,8	1,9	4,4	4,6	4,4	4,5	0,1	12,2	11,8	12,0	0,3
		L	5	40,2	39,9	43,6	41,2	2,1	4,8	4,4	4,3	4,5	0,3	14,8	15,6	15,2	0,6
Tag 4	2h	R	0	57,7	51,2	51,8	53,6	3,6	4,8	4,9	4,8	4,8	0,1	11,8	12,2	12,0	0,3
		L	39	55,2	55,7	52,9	54,6	1,5	4,4	4,5	4,8	4,6	0,2	12,4	12,8	12,6	0,3
	6h	R	0	44,9	43,5	38	42,1	3,6	4,8	4,9	4,9	4,9	0,1	11,8	11,2	11,5	0,5
		L	1	38	46,6	45,5	43,4	4,7	4,6	4,6	4,7	4,6	0,1	14,8	14,9	14,9	0,1
Recovery	R	0	43,6	40,1	41,4	41,7	1,8	4,8	4,8	4,7	4,8	0,1	11,7	10,7	11,2	0,7	
	L	0	32,7	30,4	33,6	32,2	1,7	4,9	4,7	4,6	4,7	0,2	13,8	13,0	13,4	0,6	

Tabelle A34: Messwerte weibliche Person 2

W2																	
Datum	Messung	Arm	Sebum	Corneo 1	Corneo 2	Corneo 3	MW	StAbw	pH 1	pH 2	pH 3	MW	StAbw	TEWL 1	TEWL 2	MW	StAbw
Blank		R	1	30,9	34,6	32,7	32,7	1,9	3,2	3,2	3	3,1	0,1	8,8	8,2	8,5	0,4
		L	0	25,5	26,2	30,4	27,4	2,7	3,3	3	3,1	3,1	0,2	8,9	11,0	9,9	1,5
Tag 1	2h	R	0	36,3	30	32,5	32,9	3,2	5,4	5,2	5,1	5,2	0,2	10,9	8,7	9,8	1,6
		L	131	31	38,7	37,6	35,8	4,2	5,2	5,1	5,2	5,2	0,1	9,9	9,3	9,6	0,4
	6h	R	1	24	24,6	26,9	25,2	1,5	4,2	4,1	4,4	4,2	0,2	10,8	11,2	11,0	0,3
		L	15	24,8	23,6	23,5	24,0	0,7	3,9	3,7	4,2	3,9	0,3	10,2	13,6	11,9	2,4
Tag 2	2h	R	1	35,5	35,8	27,1	32,8	4,9	3,9	4,2	4,5	4,2	0,3	12,5	9,9	11,2	1,8
		L	109	34,4	30,3	26	30,2	4,2	4,3	5,3	4,8	4,8	0,5	16,0	11,8	13,9	3,0
	6h	R	2	34,6	30,3	32,9	32,6	2,2	4,7	4,8	4,8	4,8	0,1	12,2	10,2	11,2	1,4
		L	29	34,7	32,6	31,3	32,9	1,7	4,4	4,6	5	4,7	0,3	8,8	8,5	8,7	0,2
Tag 3	2h	R	0	42,3	32,7	34,9	36,6	5,0	5,5	4,7	4,8	5,0	0,4	8,3	7,8	8,0	0,4
		L	95	35,3	36,9	30,3	34,2	3,4	4,9	5,3	5,6	5,3	0,4	7,6	10,3	9,0	1,9
	6h	R	0	30,7	29,1	36,1	32,0	3,7	3,6	4,6	4,6	4,3	0,6	7,9	9,3	8,6	1,0
		L	17	29,9	34,9	39	34,6	4,6	3,7	4,4	4,8	4,3	0,6	7,7	7,8	7,7	0,1
Tag 4	2h	R	0	44,9	41,7	33,3	40,0	6,0	5,6	5,2	5,2	5,3	0,2	8,1	9,3	8,7	0,8
		L	150	55,8	49,2	47,9	51,0	4,2	4,9	5,4	5,4	5,2	0,3	8,4	8,1	8,2	0,2
	6h	R	1	32,6	24,3	31,7	29,5	4,6	4,6	4,8	4,8	4,7	0,1	7,8	8,9	8,3	0,7
		L	42	29	33,9	25,8	29,6	4,1	4,2	5	5,2	4,8	0,5	8,5	7,9	8,2	0,4
Recovery	R	1	32,2	29	34,6	31,9	2,8	4,1	4,5	4,5	4,4	0,2	16,1	10,8	13,4	3,7	
	L	1	33,6	34,2	38	35,3	2,4	4,6	5	5,1	4,9	0,3	11,6	9,6	10,6	1,4	

Tabelle A35: Messwerte weibliche Person 3

W3																	
Datum	Messung	Arm	Sebum	Corneo 1	Corneo 2	Corneo 3	MW	StAbw	pH 1	pH 2	pH 3	MW	StAbw	TEWL 1	TEWL 2	MW	StAbw
Blank		R	1	58,7	60,7	65,5	61,6	3,5	4,3	4,7	4,6	4,5	0,2	16,1	25,0	20,5	6,3
		L	1	61,7	55,2	46,9	54,6	7,4	3,3	3,5	3,6	3,5	0,2	20,5	14,6	17,5	4,2
Tag 1	2h	R	0	56,6	54,4	46	52,3	5,6	5,2	5,6	5,4	5,4	0,2	17,5	13,6	15,5	2,8
		L	15	61,8	62	61,8	61,9	0,1	5	4,8	5,2	5,0	0,2	13,2	14,0	13,6	0,5
	6h	R	0	51,5	44,2	42,8	46,2	4,7	4,1	4	3,9	4,0	0,1	14,3	13,6	13,9	0,5
		L	2	43,9	42,4	43,1	43,1	0,8	3,8	4,2	4,5	4,2	0,4	16,5	15,7	16,1	0,6
Tag 2	2h	R	1	55,1	46,6	54,3	52,0	4,7	4,8	5	4,7	4,8	0,2	12,7	12,9	12,8	0,1
		L	6	42,8	49,6	47,8	46,7	3,5	4,9	4,8	4,6	4,8	0,2	17,0	15,7	16,3	0,9
	6h	R	0	48,4	43,7	48,4	46,8	2,7	4,1	4,4	4,3	4,3	0,2	10,2	16,7	13,5	4,6
		L	1	46,5	48,9	47,8	47,7	1,2	5,6	4,7	4,9	5,1	0,5	14,8	15,6	15,2	0,6
Tag 3	2h	R	1	56,9	49,1	56	54,0	4,3	5,7	5	5,6	5,4	0,4	20,9	25,8	23,4	3,5
		L	74	51,3	58	51,4	53,6	3,8	4,6	5,4	4,8	4,9	0,4	16,4	15,2	15,8	0,9
	6h	R	2	56,9	54	58,8	56,6	2,4	4,5	4,4	4,7	4,5	0,2	12,6	11,9	12,2	0,5
		L	6	47,5	43,5	46,1	45,7	2,0	4,3	4,8	4,6	4,6	0,3	16,5	14,5	15,5	1,4
Tag 4	2h	R	0	77,7	61,8	66,1	68,5	8,2	5,6	5,5	5,3	5,5	0,2	21,4	17,2	19,3	3,0
		L	169	62	73,1	67,4	67,5	5,6	5,2	5,7	5,8	5,6	0,3	15,6	14,9	15,2	0,5
	6h	R	0	52,8	58,1	55,9	55,6	2,7	4,3	4,7	4,8	4,6	0,3	10,5	12,6	11,5	1,5
		L	3	54,5	55,3	60,1	56,6	3,0	4,3	5	4,9	4,7	0,4	15,1	14,9	15,0	0,2
Recovery	R	0	39	39,3	29,9	36,1	5,3	4,7	4,5	4,3	4,5	0,2	15,8	14,4	15,1	1,0	
	L	1	36,6	38,3	35,4	36,8	1,5	4,3	4,3	4,3	4,3	0,0	23,2	17,6	20,4	4,0	

Tabelle A36: Messwerte weibliche Person 4

W4																	
Datum	Messung	Arm	Sebum	Corneo 1	Corneo 2	Corneo 3	MW	StAbw	pH 1	pH 2	pH 3	MW	StAbw	TEWL 1	TEWL 2	MW	StAbw
Blank		R	0	39	34,1	31,7	34,9	3,7	3,7	4,2	3,2	3,7	0,5	12,0	12,1	12,0	0,1
		L	0	39,8	40,6	38,5	39,6	1,1	3,2	3,4	3,2	3,3	0,1	9,7	9,5	9,6	0,2
Tag 1	2h	R	0	32,3	29,2	29,8	30,4	1,6	5,8	5,9	5,6	5,8	0,2	11,8	12,5	12,2	0,5
		L	254	34,9	40,2	49,7	41,6	7,5	4,9	5,2	5,4	5,2	0,3	11,2	11,2	11,2	0,0
	6h	R	0	32,2	29,2	31,3	30,9	1,5	3,4	4,3	4,7	4,1	0,7	11,9	11,9	11,9	0,0
		L	24	29,6	35,3	34,4	33,1	3,1	4,3	4,5	4,7	4,5	0,2	13,0	12,4	12,7	0,4
Tag 2	2h	R	0	38	32,5	34,3	34,9	2,8	4,5	4,4	4,3	4,4	0,1	12,7	11,5	12,1	0,8
		L	110	34,2	33,9	36,2	34,8	1,3	4,9	5,1	5,3	5,1	0,2	11,7	11,5	11,6	0,1
	6h	R	0	37,6	33,8	37,6	36,3	2,2	5,4	5,3	5,2	5,3	0,1	10,7	10,8	10,8	0,1
		L	31	34,8	35,1	37,3	35,7	1,4	5,3	5,3	5,2	5,3	0,1	14,1	13,7	13,9	0,3
Tag 3	2h	R	0	30,2	29,4	28,4	29,3	0,9	4,2	4,6	4,5	4,4	0,2	10,7	11,7	11,2	0,7
		L	126	32,1	36	40,9	36,3	4,4	4,9	5,3	5,5	5,2	0,3	10,9	11,2	11,0	0,2
	6h	R	0	32,3	30	29,1	30,5	1,7	5,5	5,9	5,9	5,8	0,2	11,6	14,9	13,2	2,3
		L	4	28,6	32,1	35	31,9	3,2	5	5,3	3,3	4,5	1,1	13,6	13,0	13,3	0,4
Tag 4	2h	R	0	32,3	29,9	31,4	31,2	1,2	4,8	4,9	4,7	4,8	0,1	8,7	10,9	9,8	1,6
		L	183	35,6	37,7	34,7	36,0	1,5	5,1	5,1	5,5	5,2	0,2	10,6	9,8	10,2	0,6
	6h	R	0	32,7	31,1	27,7	30,5	2,6	4,3	4,8	4,9	4,7	0,3	10,9	10,5	10,7	0,2
		L	31	26,9	25,4	26,1	26,1	0,8	3,5	3,1	3,6	3,4	0,3	12,9	12,6	12,8	0,2
Recovery	R	0	28,3	29,5	28,3	28,7	0,7	4,5	4,5	4,5	4,5	0,0	10,7	10,2	10,4	0,4	
	L	0	34,6	36,9	24,7	32,1	6,5	4,6	4,5	4,6	4,6	0,1	11,9	11,7	11,8	0,1	

Tabelle A37: Messwerte weibliche Person 5

W5																	
Datum	Messung	Arm	Sebum	Corneo 1	Corneo 2	Corneo 3	MW	StAbw	pH 1	pH 2	pH 3	MW	StAbw	TEWL 1	TEWL 2	MW	StAbw
Blank		R	0	44,4	43,2	46,8	44,8	1,8	3,6	3,7	3,7	3,7	0,1	12,9	12,6	12,7	0,2
		L	0	43,1	45	42,2	43,4	1,4	3,5	3,4	3,5	3,5	0,1	14,8	14,2	14,5	0,4
Tag 1	2h	R	0	46,1	45,4	48,9	46,8	1,9	5	4,7	4,5	4,7	0,3	13,8	13,6	13,7	0,1
		L	49	39,4	43,2	41,9	41,5	1,9	4,6	4,6	4,7	4,6	0,1	14,4	15,1	14,7	0,5
	6h	R	0	42,6	39,8	29,6	37,3	6,8	5,3	4	4,5	4,6	0,7	13,5	12,4	13,0	0,8
		L	0	41,9	45,8	43	43,6	2,0	4,5	5,6	4,7	4,9	0,6	15,8	16,3	16,0	0,4
Tag 2	2h	R	0	43,2	42,6	45,5	43,8	1,5	4,3	4,6	4,4	4,4	0,2	11,6	12,9	12,2	0,9
		L	9	27,3	31,3	27,1	28,6	2,4	4,7	4,7	5	4,8	0,2	14,4	14,7	14,6	0,2
	6h	R	1	45,3	46,1	39,7	43,7	3,5	3,8	4,7	4,5	4,3	0,5	12,0	11,9	11,9	0,1
		L	1	36,1	34,5	34,9	35,2	0,8	4,9	4,8	4,9	4,9	0,1	16,8	18,0	17,4	0,9
Tag 3	2h	R	0	37,6	38	41,8	39,1	2,3	5,1	4,9	5,1	5,0	0,1	10,9	11,1	11,0	0,1
		L	13	54,3	46	47,2	49,2	4,5	4,9	4,8	4,7	4,8	0,1	14,2	14,5	14,3	0,2
	6h	R	0	47,3	46,9	44,9	46,4	1,3	5	5,3	5,2	5,2	0,2	14,1	15,7	14,9	1,2
		L	1	38,6	43,5	39	40,4	2,7	4,7	4,7	4,9	4,8	0,1	20,1	18,0	19,0	1,4
Tag 4	2h	R	0	43,3	37,9	36,5	39,2	3,6	4,4	5,7	6,2	5,4	0,9	12,5	15,8	14,2	2,3
		L	13	37,4	33,8	38,3	36,5	2,4	5,4	5,2	5,8	5,5	0,3	16,7	15,3	16,0	1,0
	6h	R	0	40,6	44,3	38,3	41,1	3,0	5,3	5,5	5,9	5,6	0,3	13,5	13,0	13,2	0,4
		L	5	36,9	30,3	34,2	33,8	3,3	5,2	5,1	5	5,1	0,1	16,9	17,4	17,1	0,3
Recovery	R	0	36,8	37,6	32,7	35,7	2,6	5,2	5	4,8	5,0	0,2	16,7	19,0	17,8	1,7	
	L	0	43	43,4	43,7	43,4	0,4	4,3	4,2	6,5	5,0	1,3	17,7	15,3	16,5	1,7	

9 Abstract

Deutsch

Selbstorganisierende nanostrukturierte Dispersionen haben alle notwendigen Eigenschaften, um als vielversprechende potentielle Vehikel für verschiedenste Wirkstoffe eingesetzt zu werden. Bedingt durch ihre große Oberfläche und die Fähigkeit sowohl hydrophile, hydrophobe als auch amphiphile Stoffe aufnehmen zu können, stehen sie aktuell im Fokus der wissenschaftlichen Betrachtung.

Im Zuge dieser Arbeit wurde daher *in vitro* mittels Franz-Diffusionszellen und Tape-Stripping die Auswirkung der inneren Strukturen der selbstorganisierenden Formulierungen auf den Transport der NSAIDs Diclofenac-Natrium und Flufenaminsäure durch porcine Ohr- und Abdominalhaut untersucht. Die Strukturen der Formulierungen wurden bereits im Vorfeld dieser Arbeit mittels Kleinwinkel-Röntgenstreuung und Mikroskopie bestimmt. Es zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Hautpermeation und den ausgebildeten Strukturen: je höher der *R*-(+)-Limonengehalt einer Formulierung, desto eher organisierte sich die Formulierung zu einer Mikroemulsion und desto höher waren Penetration und Permeation der Wirkstoffe in, bzw. durch die Haut.

Um neben dem pharmazeutischen Aspekt der Anwendbarkeit von selbstorganisierenden nanostrukturierten Dispersionen auch den dermatologischen zu beachten, wurde in einer Pilot-Studie an sieben Probanden in sechs Tagen die Auswirkung der Applikation einer ölreichen Formulierung auf diverse Parameter, wie zum Beispiel den NMF- und den Wassergehalt der Haut mittels Raman-Spektroskopie, DermaUnit® und AquaFlux® bestimmt. Dabei blieb die Haut der Probanden in einem unverändert guten Zustand. Weder NMF- noch Wassergehalt veränderten sich statistisch signifikant.

Selbstorganisierende Mikroemulsionen stellen demnach, bedingt durch ihre erwiesene Eignung als Vehikel für Wirkstoffe, einen vielversprechenden Ansatz für die zukünftige Entwicklung dermalen Applikationssysteme dar.

Englisch

Self-assembled nanostructured dispersions offer all the required quality characteristics to be used as potential carriers for a variety of active ingredients on skin. Due to their large surface and the ability to solubilize hydrophobic, hydrophilic and amphiphilic substances, they are a current subject of scientific attention.

Therefore, the effect of the internal structure of the self-assembled nanostructured dispersions on dermal delivery of the NSAIDs diclofenac-sodium and flufenamic acid was investigated by *in vitro* Franz-type diffusion cells and tape stripping experiments. The different phases and configurations of the nanoparticles were characterized by small angle x-ray scattering and microscopy prior to the *in vitro* studies. A strong correlation between skin-permeation and the internal nanostructures was detected: the higher the amount of *R*-(+)-limonene within the formulation, the higher the dermal drug delivery of the incorporated actives.

In order to investigate the dermatological aspect of the application of self-assembling nanostructured dispersions, the impact on skin-NMF- and -water-concentration was investigated in an *in vivo* survey within six days on seven subjects by using Raman-spectroscopy, DermaUnit® and AquaFlux® technologies. No significant changes in NMF and water content indicated no harmful effects on skin condition.

Taken together, this thesis proved the suitability of self-assembled microemulsions as potential dermal drug delivery systems, being promising skin-friendly future vehicles for application on skin.

10 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Manuel Caneri
Nationalität: deutsch
Kontakt: m.caneri@web.de

Ausbildung

09.1993 – 06.1998 Theodor Heuss - Grundschule Rutesheim

09.1998 – 06. 2007 Gymnasium Rutesheim

Abschluss: Abitur

Seit 10. 2008 Diplomstudium Pharmazie
Fakultät für Lebenswissenschaften
Universität Wien

Sonstiges

08. 2007 – 04. 2008 Zivildienst beim Deutschen Roten Kreuz Leonberg

03.2015-07.2015 Tutorium im Praktikum *Magistrale Arzneimittelherstellung*
an der Fakultät für Lebenswissenschaften, Department für
Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie,
Universität Wien

Sprachen Deutsch (Muttersprache), Englisch, Spanisch