

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Medizinischen  
Fakultät der Charité - Universitätsmedizin Berlin

# Dissertation

## **Untersuchungen zur transdermalen Pharmakokinetik**

Transdermale Penetration topisch applizierter Fluoreszenzfarbstoffe  
mit und ohne Einwirkung von wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung

Zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité  
Universitätsmedizin Berlin

von  
Diego Grone  
aus San Diego / USA

2007

Gutachter:       1. Prof. Dr. Dr. Ing. J. Lademann  
                      2. Prof. Dr. Dr. h. c. R. Neubert  
                      3. Prof. Dr. J. Beuthan

Datum der Promotion: 7. Dezember 2007

### Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
h	Stunde
IR	Infrarotstrahlung
LM	Lichtmikroskop
LSM	Laser-Scan-Mikroskop
Min	Minute
N	Stichprobenumfang
Nr.	Nummer
SC	Stratum corneum
Tab.	Tabelle
TEWL	transepidermaler Wasserverlust
UV	Ultraviolettstrahlung
VIS	sichtbares Licht
w/o	Wasser in Öl
wIRA	wassergefilterte Infrarot A Strahlung

<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Aufbau der Haut</b>	<b>3</b>
1.1.1 Epidermis	4
1.1.2 Dermis	10
1.1.3 Subcutis	11
1.1.4 Hautanhangsgebilde	12
<b>1.2 Funktion der Haut</b>	<b>13</b>
<b>1.3 Barrierefunktion des Stratum corneum</b>	<b>14</b>
1.3.1 Geschichtliches zur Barrierefunktion	14
1.3.2 Konzepte des Stratum corneum im Laufe der Zeit	15
1.3.3 Lipide des Stratum corneum	16
1.3.4 Korneozyten	17
1.3.5 pH-Wert innerhalb des Stratum corneum	17
1.3.6 Reservoirfunktion des Stratum corneum	17
<b>1.4 Messmethode für die Barrierefunktion des Stratum corneum</b>	<b>18</b>
<b>1.5 Penetration</b>	<b>19</b>
1.5.1 Mögliche Penetrationswege	19
1.5.2 Meßmethoden der Penetrationskinetik	21
1.5.3 Penetrations-Verstärker	23
<b>1.6 Infrarot-Strahlung</b>	<b>28</b>
1.6.1 Elektromagnetische Strahlung	28
1.6.2 Infrarot-Strahlung	28
1.6.3 Wassergefilterte Infrarot-Strahlung	30
1.6.4 Wirkung von wIRA auf menschliches Gewebe	31
1.6.5 Klinische Anwendungen von wIRA	31
<b>Fragestellung</b>	<b>33</b>
<b>Material und Methodik</b>	<b>35</b>
<b>3.1 Testsubstanzen und Formulierungen</b>	<b>35</b>
3.1.1 Curcumin	35
3.1.2 Natriumfluoreszein	36
3.1.3 verwendete Formulierungen	36

<b>3.2</b>	<b>wassergefilterte Infrarot-A-Strahlung</b>	<b>37</b>
3.2.1	wassergefilterte Infrarotlicht-Lampe	37
3.2.2	Bestahlungsmessgerät	38
<b>3.3</b>	<b>Probandenkollektiv</b>	<b>38</b>
<b>3.4</b>	<b>Studiendesign</b>	<b>39</b>
3.4.1	Hautareale	39
3.4.2	Modus A ohne wIRA	40
3.4.3	Modus B - Vorbestrahlung mit wIRA	41
3.4.4	Modus C - zeitgleiche Bestrahlung mit wIRA	42
3.4.5	Randomisierung	43
<b>3.5</b>	<b>Abrissmethode in Kombination mit UV-VIS-Spektroskopie</b>	<b>44</b>
3.5.1	Entnahme der Klebestreifen	44
3.5.2	Bestimmung der Korneozytenmenge je Klebestreifen	45
3.5.3	Bestimmung der Farbstoffkonzentration je Klebestreifen	45
3.5.4	Erstellen eines Penetrationsprofil	46
3.5.5	Erstellen eines Penetrationsquotienten	47
<b>3.6</b>	<b>Messung der Hautparameter</b>	<b>47</b>
3.6.1	Korneometrie	47
3.6.2	Messung des transepidermalen Wasserverlustes	48
3.6.3	Temperaturmessung	49
<b>3.7</b>	<b>Konfokale Laser-Scan-Mikroskopie</b>	<b>49</b>
<b>3.8</b>	<b>Statistik</b>	<b>52</b>
<b>Ergebnisse</b>		<b>54</b>
<b>4.1</b>	<b>Penetration von Natriumfluoreszein</b>	<b>54</b>
4.1.1	Vergleich der Penetrationsprofile	54
4.1.2	Vergleich der Penetrationsquotienten	58
<b>4.2</b>	<b>Penetration von Curcumin</b>	<b>60</b>
4.2.1	Vergleich der Penetrationsprofile	60
4.2.2	Vergleich der Penetrationsquotienten	64
<b>4.3</b>	<b>Hautparameter</b>	<b>65</b>
4.3.1	Ergebnisse der Hauttemperaturmessung	65
4.3.2	Ergebnisse der Korneometrie	66
4.3.3	Ergebnisse der TEWL- Messung	66

## Inhaltsverzeichnis

---

<b>4.4</b>	<b>In vivo-Untersuchung mittels Laser - Scan - Mikroskopie</b>	<b>67</b>
4.4.1	Natriumfluoreszein-Formulierung	68
4.4.2	Curcumin-Formulierung	69
4.4.3	Fluoreszenzsignale in Hautspalten und Haarfollikeln	69
4.4.4	Messergebnisse mittels Laser-Scan-Mikroskopie	70
	<b>Diskussion</b>	<b>73</b>
<b>5.1</b>	<b>Penetrationsprofil und Penetrationsquotient</b>	<b>73</b>
5.1.1	Natriumfluoreszein	74
5.1.2	Curcumin	74
5.1.3	Schlussfolgerung	74
<b>5.2</b>	<b>Hautparameter unter wIRA</b>	<b>75</b>
5.2.1	Hauttemperatur	75
5.2.2	Hautfeuchte	75
5.2.3	Transepidermaler Wasserverlust	77
<b>5.3</b>	<b>Penetrationskinetik in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Bestrahlung</b>	<b>77</b>
5.3.1	Natriumfluoreszein	77
5.3.2	Curcumin	78
<b>5.4</b>	<b>Penetrationskinetik in Abhängigkeit von der Polarität</b>	<b>78</b>
5.4.1	Vergleich mit Hydratationsstudien	79
5.4.2	Vergleich mit weiteren wIRA-Studien	81
5.4.3	Polare Penetrationsrouten	82
<b>5.5</b>	<b>Reservoirfunktion</b>	<b>83</b>
<b>5.6</b>	<b>Laser-Scan- Mikroskopie versus Abrisstechnik</b>	<b>84</b>
	<b>Zusammenfassung</b>	<b>86</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>90</b>
	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>97</b>
	<b>Danksagung</b>	<b>99</b>
	<b>Lebenslauf</b>	<b>100</b>
	<b>Eidesstattliche Erklärung</b>	<b>101</b>

## Abbildungsverzeichnis

histologisches Bild der Haut	3
Skizze der Epidermis, nach [7]	5
epidermale Differenzierung	9
mögliche Penetrationswege durch die Haut	20
Skizze zur Mikrodialyse [58]	22
Skizze einer Franz-Zelle [115]	23
Beispiele chemischer Penetrations-Verbesserer, nach [115]	24
Skizze zur Funktionsweise von Mikronadeln, nach [115]	27
Absorption von Infrarotstrahlung	30
Absorptionsmaxima von Natriumfluoreszein und Curcumin	36
hydrosun®-Strahler 501 der Firma Hydrosun Medizintechnik GmbH, Müllheim	37
Spektrum des WIRA-Strahlers (Hydrosun® 501).	38
Beispiel des Vorgehens an einem Unterarm	40
Skizze: Unterschied Modus A, Modus B, Modus C	43
schematische Darstellung der Abrissmethode	44
Anrollen und Abriss des Klebestreifens	45
Erstellen eines Penetrationsprofils	46
Erstellung eines Penetrations-Quotienten	47
Skizze der Tewameter-Sonde	48
konfokales Laser-Scan-Mikroskops „Stratum“ (OptiScan Ltd., Melbourne, Australien)	50
schematische Darstellung der Funktionsweise des LSM	51
Gesamtprofil: Verteilung von Natriumfluoreszein / Modus A	55
Ausschnitt: Verteilung von Natriumfluoreszein / Modus A	55
Gesamtprofil: Verteilung von Natriumfluoreszein / Modus B	56
Ausschnitt: Verteilung von Natriumfluoreszein / Modus B	56
Gesamtprofil: Verteilung von Natriumfluoreszein / Modus C	57
Ausschnitt: Verteilung von Natriumfluoreszein / Modus C	57
Ratio der Menge an Natriumfluoreszein	59
Gesamtprofil: Verteilung von Curcumin / Modus A	61
Ausschnitt: Verteilung von Curcumin / Modus A	61
Gesamtprofil: Verteilung von Curcumin im Stratum corneum / Modus B	62
Ausschnitt: Verteilung von Curcumin im Stratum / Modus B	62
Gesamtprofil: Verteilung von Curcumin im Stratum corneum / Modus C	63

Ausschnitt: Verteilung von Curcumin im Stratum / Modus C	63
Ratio der Menge an Curcumin	64
Temperatur der Hautoberfläche	65
Hydratation der Haut (Korneometrie)	66
Transepidermaler Wasserverlust, TEWL	67
LSM - Verteilung von Natriumfluoreszein / Modus A	68
LSM - Verteilung von Natriumfluoreszein / Modus B	68
LSM - Verteilung von Natriumfluoreszein / Modus C	68
LSM - Verteilung von Curcumin / Modus C	69
LSM - Anreicherung der Fluoreszenzfarbstoffe innerhalb von Hautspalten	69
LSM - fluoreszierendes Haar	70
Tiefe des tiefsten Fluoreszenzsignal	71
Tiefe des tiefsten Fluoreszenzsignal	72
Skizze: Temperaturverlauf der 3 Modi	78
Perkutane Absorption von 4 Steroiden	80
durch Hydratation verursachte Wasserdomänen	83
Penetrationsquotienten von Natriumfluoreszein - Modus A / B / C	88
Penetrationsquotienten von Curcumin - Modus A / B / C	88



## Danksagung

Besonders herzlichen Dank möchte ich Herrn Prof. Dr. Dr. Ing. Lademann aussprechen, der mir das interessante Thema überließ. Er stand jederzeit mit freundlichem Rat an meiner Seite, vermittelte Zuversicht und gab jedwede vertrauensvolle Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. Sterry danke ich für die Möglichkeit an der dermatologischen Klinik der Charité zu promovieren.

Ebenfalls möchte ich mich bei Frau Dr. Otberg bedanken, die mich engagiert bei der Anfertigung des experimentellen Teils unterstützte. Frau Richter und Frau Schanzer gilt mein besonders herzlicher Dank für ihre technischen und praktischen Hilfestellungen.

Allen Mitarbeitern des Bereiches für Experimentelle und Angewandte Physiologie der Haut danke ich für die großartige Zusammenarbeit und die zahlreichen fröhlichen Momente.

Meinen Eltern möchte ich an dieser Stelle im Besonderen danken.

Auch meinem Bruder Max sowie meinen Freunden Iryna, Ola und Johannes danke ich von Herzen! Sie waren mir immer eine wichtige Stütze während der Anfertigung dieser Dissertation.

## Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

## Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Diego Grone, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Untersuchungen zur transdermalen Pharmakokinetik - Transdermale Penetration topisch applizierter Fluoreszenzfarbstoffe mit und ohne Einwirkung von wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe. Die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur sind vollständig angegeben.“

Berlin, den 20. Juni 2007