

**Entwicklung phytosphingosinhaltiger, positiv geladener Nanoemulsionen zur
dermalen Applikation**

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades des
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Erol Yilmaz
geboren in Berlin

Februar, 2005

1. Gutachter: Univ. Prof. Dr. H.-H. Borchert

2. Gutachter: Univ. Prof. Dr. R. Bodmeier

Disputation am: 15.4.2005

*Jeder Tag, an dem man nicht lacht, ist ein verlorener Tag.
[Charlie Chaplin]*

Den Flutopfern in Südostasien.

1	Einleitung und Zielstellung	9
2	Allgemeiner Teil	12
2.1	Die Haut.....	12
2.1.1	Funktion und Aufbau der menschlichen Haut	12
2.1.2	Hautfeuchtigkeit.....	18
2.1.3	Viskoelastizität der Haut.....	19
2.1.4	Grundlagen der dermalen Arzneistoffaufnahme	20
2.2	Nanoemulsionen als kolloidale Arzneistoffträgersysteme	22
2.2.1	Topische Anwendung	23
2.2.2	Parenterale Anwendung	26
2.2.3	Perorale Anwendung.....	28
2.2.4	Ophthalmologische Anwendung.....	29
2.3	Stabilität von Emulsionen.....	31
2.4	Ceramide	34
2.4.1	Biosynthese der Ceramide	34
2.4.2	Struktur und Nomenklatur der Ceramide.....	35
2.4.3	Physiologische Bedeutung der Ceramide.....	38
2.5	Azol-Antimykotika	39
2.5.1	Wirkmechanismus von Azol-Antimykotika	40
2.5.2	Miconazolnitrat	41
3	Untersuchungen, Ergebnisse und Diskussion	44
3.1	Entwicklung von Nanoemulsionen zur kosmetischen Anwendung	44
3.1.1	Optimierung der Prozessparameter	44
3.1.1.1	Homogenisationstemperatur.....	44
3.1.1.2	Homogenisationsdruck und -zyklenzahl.....	45
3.1.2	Optimierung der Formulierungsparameter.....	46
3.1.2.1	Auswahl der Ölphase	47
3.1.2.2	Auswahl des lipophilen Emulgators	51
3.1.2.3	Auswahl des hydrophilen Emulgators	56
3.1.2.4	pH-Wert	57
3.1.2.5	Phytosphingosin und Ceramide	58

3.1.2.6	Langzeitstabilität.....	62
3.1.3	Kryo-Elektronenmikroskopie.....	63
3.1.4	In-vivo-Hautstudie	64
3.1.4.1	Physikochemische Eigenschaften der Formulierungen	65
3.1.4.2	Compliance und Hautverträglichkeit.....	67
3.1.4.3	Studie 1	69
3.1.4.4	Studie 2	71
3.1.4.5	Studie 3	72
3.1.5	Zusammenfassung zur kosmetischen Anwendung von Nanoemulsionen	76
3.2	Entwicklung von Nanoemulsionen zur dermatologischen Anwendung.....	79
3.2.1	Optimierung der Prozessparameter	79
3.2.2	Optimierung der Formulierungsparameter.....	80
3.2.2.1	Emulgatoren Lipoid E-80 [®] und Tween 80 [®]	80
3.2.2.2	pH-Wert, Miconazolnitrat- und Phytosphingosin-Konzentration	80
3.2.2.3	Langzeitstabilität der Nanoemulsionen und des Miconazolnitrats.....	83
3.2.3	In-vitro-Wirksamkeitsnachweis	84
3.2.4	In-vitro-Verträglichkeitsnachweis	86
3.2.5	In-vitro-Freisetzung	90
3.2.5.1	Untersuchungen unter okklusiven Bedingungen	90
3.2.5.2	Untersuchungen unter nicht-okklusiven Bedingungen.....	91
3.2.6	Penetration und Permeation	92
3.2.6.1	Untersuchungen unter okklusiven Bedingungen	92
3.2.6.2	Untersuchungen unter nicht-okklusiven Bedingungen.....	97
3.2.7	Zusammenfassung zur dermatologischen Anwendung der Nanoemulsionen	100
3.3	Charakterisierung von Nanoemulsionen mit Hilfe der ESR.....	103
3.3.1	Physikochemische Charakterisierung der Nanoemulsionen	103
3.3.2	Penetration der Nitroxidspinsonden in die Haut via Nanoemulsionen	107
3.3.2.1	TEMPO-haltige Nanoemulsionen	108
3.3.2.2	TEMPOL-haltige Nanoemulsionen	112
3.3.3	Zusammenfassung der ESR-Untersuchungen.....	116
3.4	Zusammenfassung	118

3.5	Summary	122
4	Materialien.....	126
4.1	Kosmetische Öle	126
4.2	Emulgatoren.....	127
4.3	Stratum corneum Lipide.....	129
4.4	ESR-Spinsonden	129
4.5	Weitere Materialien.....	130
4.6	Verwendete Zubereitungen	131
4.6.1	Physiogel [®] -Creme	131
4.6.2	Ethanolhaltige Miconazolnitrat-Lösung	132
5	Methoden	132
5.1	Hochdruckhomogenisation.....	132
5.2	Herstellung der Ceramid-haltigen Nanoemulsionen und Cremes zur kosmetischen Anwendung	133
5.3	Herstellung der Miconazolnitrat-haltigen Nanoemulsionen zur dermatologischen Anwendung	135
5.4	Charakterisierung der Nanoemulsionen	136
5.4.1	Photonenkorrelationspektroskopie	136
5.4.2	Laserdiffraktometrie.....	137
5.4.3	Zetapotenzial	137
5.4.4	Kryo-Elektronenmikroskopie.....	138
5.4.5	DSC	139
5.4.6	Löslichkeit der Arzneistoffe in den Nanoemulsionen.....	139
5.4.6.1	Sphingolipide	139
5.4.6.2	Miconazolnitrat.....	139
5.4.7	Viskosität	140
5.4.8	Agar-Diffusionstest.....	140
5.4.9	Dermales Irritationsmodell	141
5.4.10	Phospholipidhaltiger Assoziatanteil.....	143
5.4.11	Verteilungskoeffizient von Miconazolnitrat in den Nanoemulsionen	144
5.4.12	Freisetzung.....	145

5.4.13	Penetration und Permeation	145
5.4.14	HPLC-Analytik	146
5.5	In-vivo-Hautstudie.....	147
5.5.1	Hautfeuchtigkeit (Corneometer® 825)	147
5.5.2	Hautelastizität (Cutometer® SEM 575).....	148
5.5.3	Hautrötung (Mexameter® 18) und Hautverträglichkeit.....	149
5.5.4	Studiendesign	149
5.5.5	Ex-vivo-Spreitfähigkeitsuntersuchungen.....	150
5.6	ESR-Untersuchungen.....	151
5.6.1	Grundlagen.....	151
5.6.2	Bestimmung der Mikroumgebung der ESR-aktiven Sonden.....	152
5.6.2.1	Bestimmung der Rotationskorrelationszeit.....	154
5.6.2.2	Bestimmung der Mikropolarität und der ESR-Aktivität	154
5.6.3	ESR-Tomografie	156
5.6.3.1	Durchführung der ESR-Untersuchungen.....	159
5.7	Statistische Auswertung.....	160
6	Literaturverzeichnis	161
7	Publikationsliste	181
8	Lebenslauf.....	183
9	Danksagung	184

Abkürzungsverzeichnis

a_N	Stickstoffhyperfeinkopplungskonstante
DMS	Derma-Membran-Struktur
DSC	Differential Scanning Calorimetry
ESR	Elektronenspinresonanz
HIE-Score	Human Irritancy Equivalent-Score
i.v.	intravenös
L- α -PC	L- α -Phosphatidylcholin
LD	Laserdiffraktometrie
MNNM	durch Myristinsäure negativ geladene Nanoemulsion mit Miconazolnitrat
MNNSC	durch Myristinsäure negativ geladene Nanoemulsion mit Stratum-corneum-Lipiden
OD ₄₅₀	optische Dichte gemessen bei 450 nm
O/W	Öl in Wasser
PCS	Photonenkorrelationspektroskopie
PI	Polydispersitätsindex
PPNM	durch Phytosphingosin positiv geladene Nanoemulsion mit Miconazolnitrat
PPNSC	durch Phytosphingosin positiv geladene Nanoemulsion mit Stratum-corneum-Lipiden
RES	retikuloendotheliales System
SEDD	selbstemulgierendes Arzneistoffträgersystem
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-oxyl
TEMPOL	4-Hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl
TEWL	transepidermaler Wasserverlust