

**Creme.** Für Penetrationsversuche wurde eine Vergleichszubereitung benötigt. Da keine halbfeste CPA-haltige Zubereitung zur topischen Applikation im Handel verfügbar ist, wurde eine 0,05 % CPA-haltige Creme aus einer Basiscreme DAC (Cremor basalis) hergestellt.

In Hautversuchen wurden 0,05 % CPA-haltige SLN-Zubereitungen mit 10 % Precirol<sup>®</sup>, NLC-O mit 10 % Precirol<sup>®</sup>/Ölsäure (8:2), NLC-M mit 10 % Precirol<sup>®</sup>/Miglyol 812 (8:2) und Mikropartikel mit 10 % Precirol<sup>®</sup> getestet, da die physikalisch stabil waren. Zusätzlich wurde die Nanoemulsion mit 10 % Miglyol und Creme als Vergleich eingesetzt. Alle Zubereitungen (bis auf Creme) wurden mit 2,5 % Poloxamer 188 stabilisiert.

### 3.5.2 Charakterisierung der partikulären Arzneistoffträgersystemen

**Gehaltsbestimmung.** Bei allen für Penetrationsversuche vorgesehenen Präparationen wurde der deklarierte Gehalt an CPA mittels HPLC überprüft. Abgesehen von der mikropartikulären Zubereitung lagen die CPA-Konzentrationen im Bereich von 99,75 ≤ 107,2 % (Tab. 9).

Präparation	Gefundene Menge (%)
Creme	106,7 ± 5,69
NE	99,5 ± 11,64
SLN	97,5 ± 11,32
NLC-O	102,7 ± 4,11
NLC-M	107,2 ± 5,06
MS	111,0 ± 2,58

Tab. 9: Gehaltsbestimmung (durchgeführt mit drei Chargen jeder Zubereitung, je n=3, Mittelwerte ± SD)

**Größe und Größenverteilung der Nanopartikel.** Alle nanopartikulären Zubereitungen (SLN, NLC-O, NLC-M, NE) zeigten Partikelgröße im Bereich zwischen 200-250 nm und einen Polydispersitätsindex zwischen 0,15 und 0,2. Bis zur Prüfung der Hautpenetration/-

permeation kam es zu keiner erkennbaren Veränderung der Partikelgröße durch Aggregation (Abb. 22).

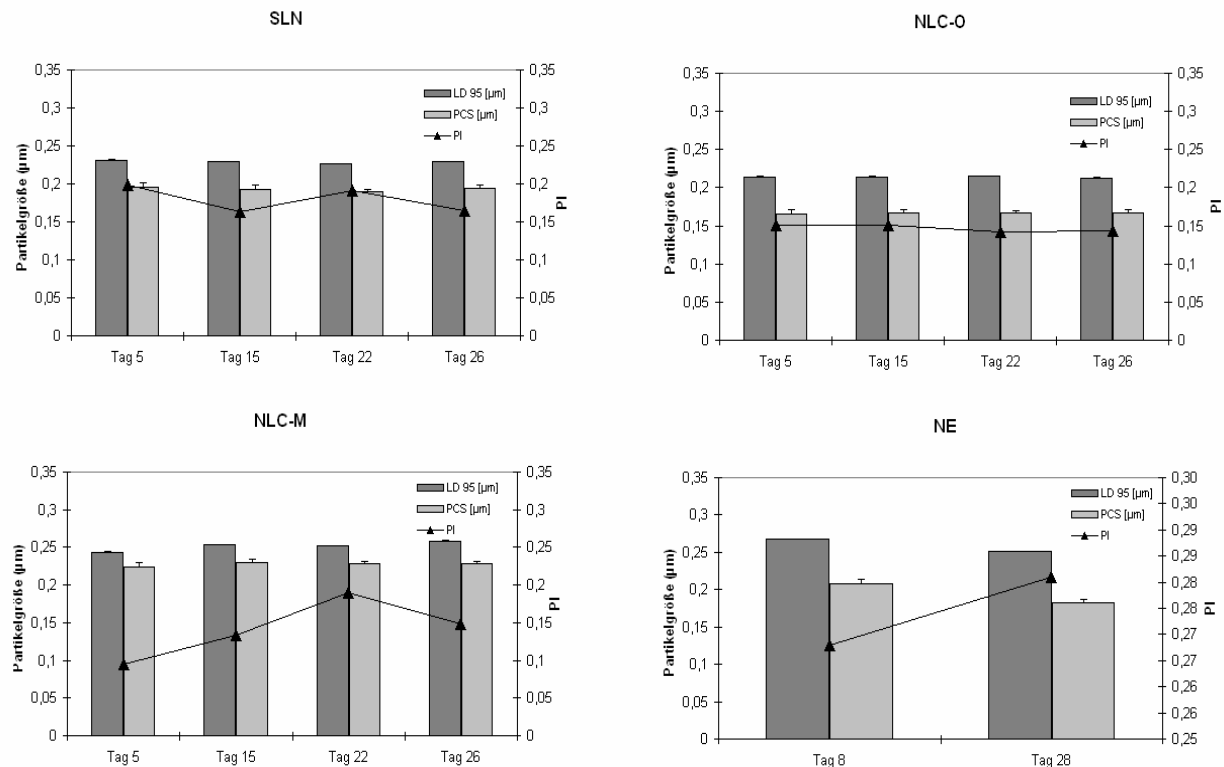


Abb. 22: Partikelgröße der Dispersionen, dargestellt ist der Partikeldurchmesser (PCS), Polydispersitätsindex (PI) und LD 95 % von jeweils einer Charge ( $\pm$  SD). Es wurden von jeder Zubereitung drei Chargen mit ähnlichen Ergebnissen untersucht

**Größe und Größenverteilung der Mikropartikeln.** Mikropartikel mit Precirol® zeigten eine Zeit- und Drehzahl-abhängige Partikelgröße (Abb. 23) mit einer unimodalen Partikelgrößenverteilung. Allerdings neigten Proben mit einer Partikelgröße ab 6 µm zu einer ausgeprägten Sedimentation und mussten daher vor jeder Messung kurz aufgeschüttelt werden. Zwei Wochen nach der Herstellung war die Partikelaggregation sehr stark ausgeprägt und die Partikelgröße lag zwischen 10 und 20 µm.

Mikropartikel-Dispersionen mit Zusatz von Ölsäure zeigten noch am Tag der Herstellung (oder 1 Tag danach) eine sehr dickflüssige Konsistenz und mussten bei der Messung mit destilliertem Wasser verdünnt werden. Die Partikelgröße war von der Zeit bzw. der Drehzahl unabhängig, die Partikelgrößenverteilung lag im Bereich von 0 bis 200 µm (Daten nicht gezeigt).

Für weitere Untersuchungen wurden Mikropartikel mit dem Durchmesser von 6-7  $\mu\text{m}$  (LD 95 %, 3 Min bei 8000 U/Min) mit 0,05 % CPA hergestellt (Zusammensetzung siehe Tab. 7).

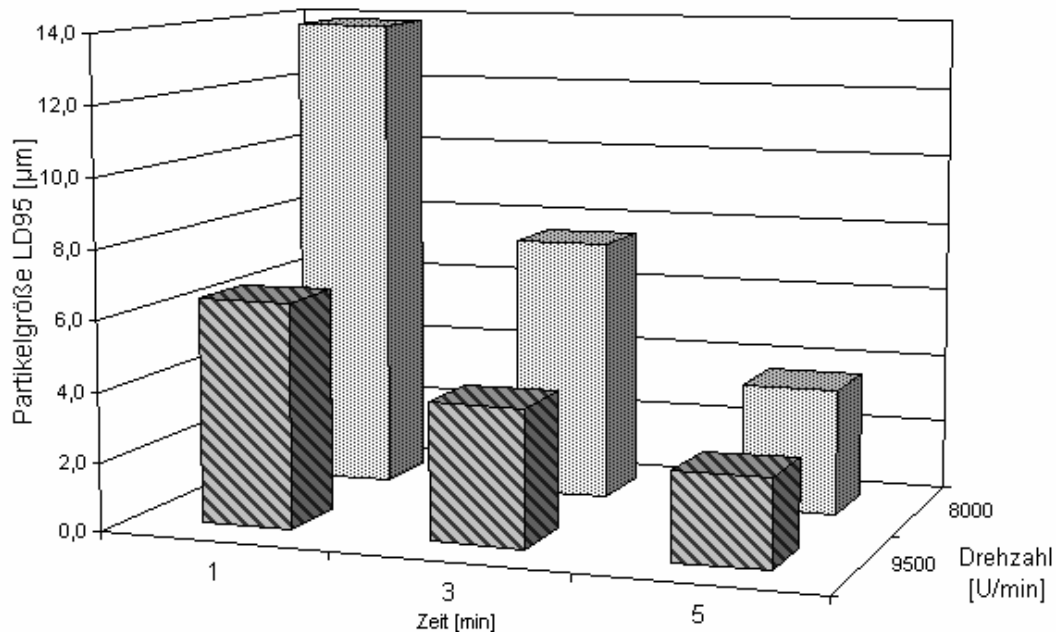


Abb. 23: Partikelgröße von wirkstofffreien Mikropartikeln mit 10 % Precirol<sup>®</sup> in Abhängigkeit von Zeit und Drehzahl 1 Tag nach der Herstellung ( $n=3$ ,  $SD \leq 1,76$ )

**Kristallinität.** In thermoanalytischen Diagrammen sowohl von wirkstoffbeladenen SLN, NLC, MS als auch in den entsprechenden wirkstofffreien Zubereitungen ist ein Schmelzpeak von Precirol<sup>®</sup> zu erkennen, wodurch belegt wird, dass in den Zubereitungen feste Lipidpartikel vorliegen (Abb. 24).

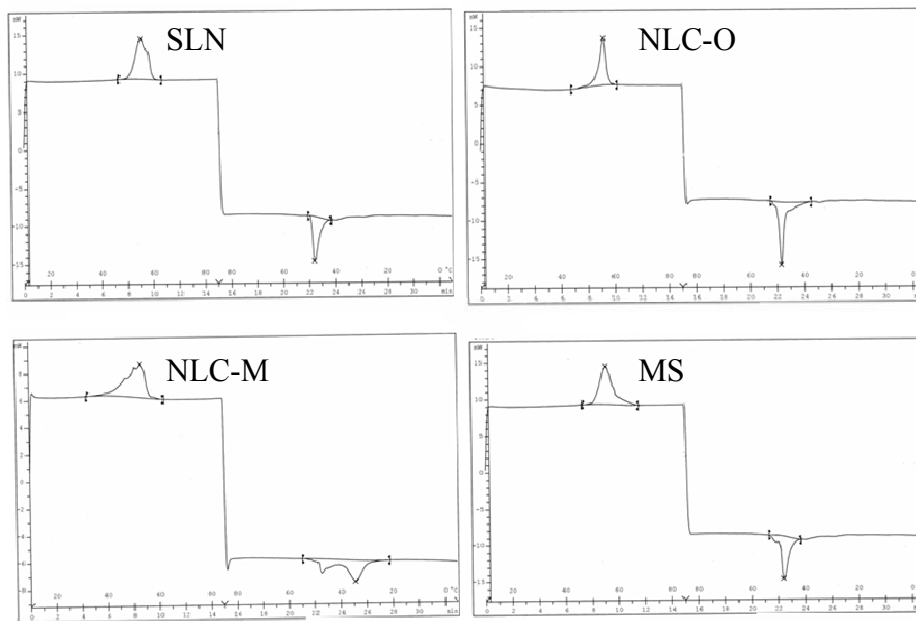


Abb. 24: DSC-Spektrum von precirolbasierten partikulären Zubereitungen beladen mit 0,05 % CPA

**Prüfung auf Kristallisation und Rekristallisation.** Lichtmikroskopische Bilder der SLN bzw. NLC-O Dispersion zeigten Rekristallisation des Wirkstoffes zwei bzw. vier Wochen nach der Herstellung, NLC-M waren bis zu acht Wochen nach der Herstellung kristallfrei. In der MS Zubereitung waren zwei Wochen nach der Herstellung keine CPA-Kristalle detektierbar, ab der zweiten Woche waren weitere Untersuchungen wegen einer starken Partikelaggregation nicht mehr möglich (Abb. 25).

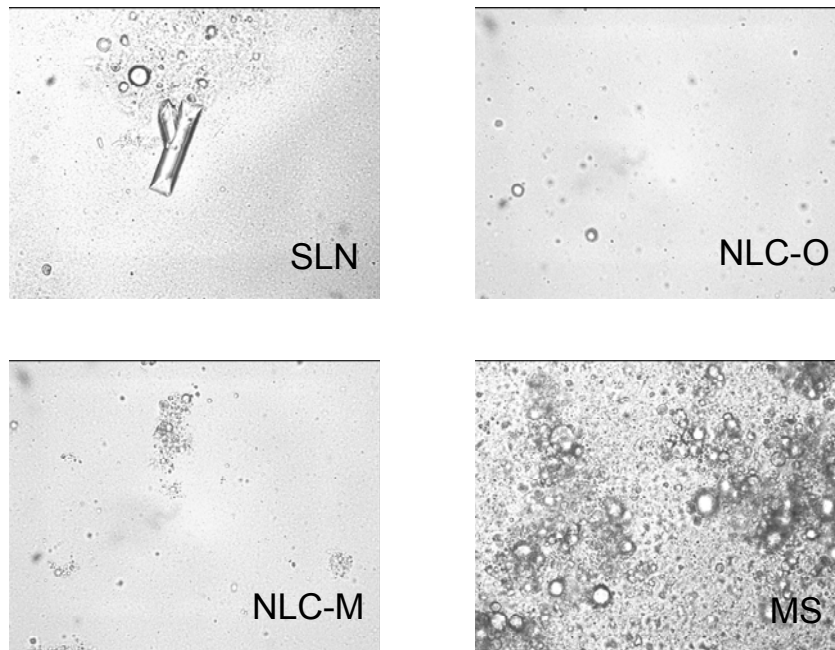


Abb. 25: Lichtmikroskopische Aufnahmen partikulären Zubereitungen (beladen mit 0,05 % CPA) 2 Wochen nach der Herstellung: SLN mit sichtbaren CPA-Kristallen, NLC-O, NLC-M und MS ohne Wirkstoffkristalle.

**Phasentrennung.** Um die Beladung der Lipidpartikel mit CPA zu untersuchen, wurden die festen Partikel von der Wasserphase mit einem Filter der Porenweite 0,22  $\mu\text{m}$  abgetrennt. Durchschnittlich 0,42 % der eingesetzten CPA- Menge wurden im wässrigen Filtrat gefunden (Tab. 10). Dies deutet auf eine sehr hohe Beladung (evtl. > 99 %) bei allen geprüften Systemen hin.

Präparation	Gefundene Menge (%)
NE	0,83 $\pm$ 0,27
SLN	0,52 $\pm$ 0,05
NLC-O	0,45 $\pm$ 0,08
NLC-M	0,20 $\pm$ 0,03
MS	0,12 $\pm$ 0,01

Tab. 10: CPA-Gehalt in der Wasserphase ermittelt bei jeweils drei Chargen ( $\pm$  SD) innerhalb von 7 Tagen nach der Herstellung

**Rasterelektronenmikroskopie.** Die REM-Aufnahmen zeigen die Struktur der NLC-O-Dispersion nach Entfernung des Wasseranteiles. Zu erkennen sind Partikel im Größenbereich von 300-600 nm (Abb. 26).

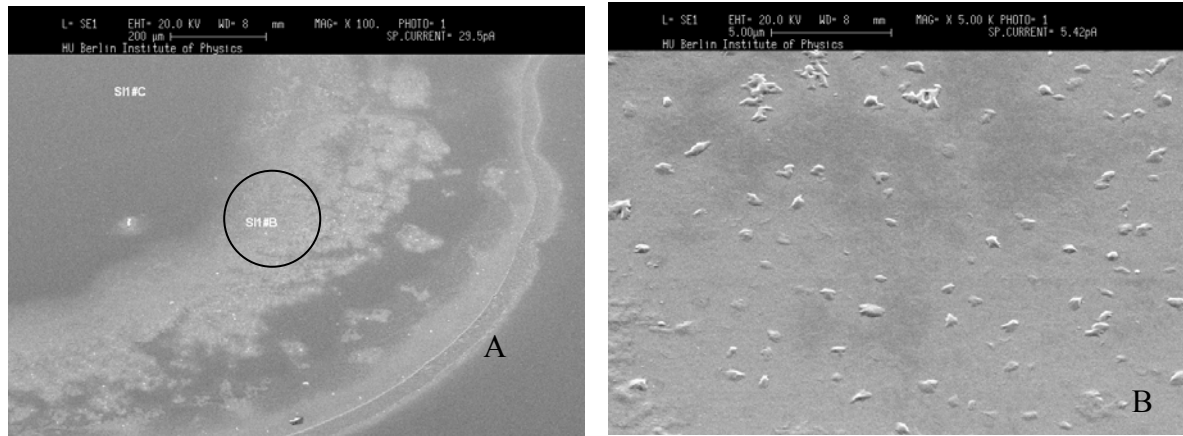


Abb. 26: REM Aufnahmen von NLC-O (Bild B zeigt den Ausschnitt aus dem Bild A)

**Parelelektrische Spektroskopie.** Die Interaktion zwischen dem Wirkstoff und den Partikeln wurde mittels Parelektrischer Spektroskopie untersucht. Es wurden vier partikuläre Systeme untersucht; SLN, NLC-O, NLC-M und MS. Innerhalb von zwei Jahren wurden bis zu drei Chargen pro Konzentration hergestellt und gemessen. Die konzentrationsabhängige Veränderung der Dipoldichte  $\Delta\epsilon$  (c) und Beweglichkeit  $f_0$  (c) ist in der Abb. 27 dargestellt. Niedrigere Werte der Beweglichkeit  $f_0$  resultieren in entsprechend erhöhten  $\Delta\epsilon$  Werte, daher kann Gleichartigkeit der Systeme als gegeben angesehen werden. Die leichte Abnahme der Beweglichkeit  $f_0$  (c) mit steigender CPA-Konzentration und keinem Maximum bei den MS und NLC (NLC-M und NLC-O) Zubereitungen weist deutlich auf eine Inkorporation des CPA in der Lipidmatrix hin. Dagegen wird bei beiden Serien von unabhängig hergestellten SLN Zubereitung ein Maximum bei der Konzentration von 0,05 % gemessen, das kann als Adsorption des CPA an die Partikeloberfläche interpretiert werden.

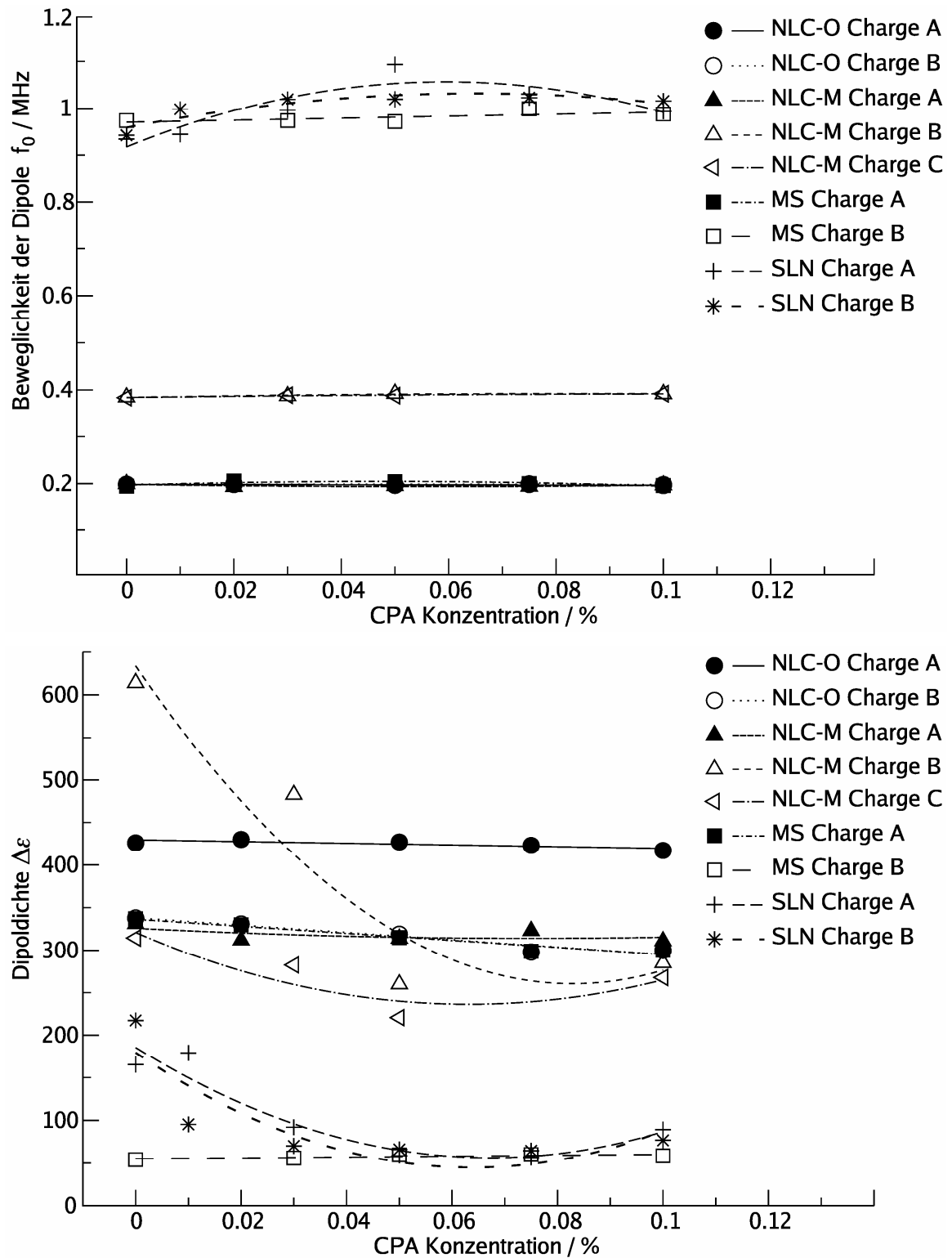


Abb. 27: Ergebnisse der Permittivitäts-Spektroskopie: Die von der CPA-Konzentration unbeeinflusste Dipolbeweglichkeit der NLC-O, NLC-M und MS Zubereitungen ist mit der Inkorporation von CPA in die Lipidmatrices erklärbar, parabolischer Verlauf der Kurven der SLN Präparation deutet auf Assoziation des CPA mit der Partikeloberfläche hin

### 3.6 Kutane Resorption

Das Antiandrogen CPA wird seit vielen Jahren in der systemischen Therapie der androgenetischen Alopezie und Akne der Frau eingesetzt. Unerwünschte Wirkungen schließen allerdings die Anwendung beim Mann aus, obgleich ein Antiandrogen vor allem beim Mann sehr gut wirksam sein sollte. Deshalb wäre es wünschenswert, eine topische Applikation zu entwickeln, die eine gute Aufnahme in die Haut bzw. in die Haarfollikel und in die Talgdrüse ermöglicht, ohne eine systemische Antiandrogenwirkung auszuüben.

Um die Beeinflussung der Hautpenetration/-permeation durch Trägersysteme mit unterschiedlicher Zusammensetzung und Partikelgröße zu untersuchen, wurden Versuche mit der Franz-Zell-Technik durchgeführt. Experimente mit CPA-beladenen Trägersystemen erfolgten an Humanhaut und vergleichende Tests mit Nilrotbeladenen Zubereitungen an der Haut des Schweineohrs (Lombardi Borgia et al., 2005).

Für diese Versuche wurden precirolhaltige SLN sowie NLC-Dispersionen mit Miglyol oder Ölsäure, eine Nanoemulsion und Mikropartikel ausgewählt. Die Zusammensetzung dieser Zubereitungen ist in Tab. 11 aufgeführt. Um den Einfluss der großen interindividuellen Variabilität der Hautaufnahme der einzelnen Spender zu verringern, wurde in jeder Versuchsserie gleichzeitig Basiscreme mit 0,05 % CPA als Standardzubereitung eingesetzt und die penetrierte Wirkstoffmenge aller Zubereitungen zu den mit der Basiscreme erhaltenen Ergebnissen ins Verhältnis gesetzt.

Zubereitung	Zusammensetzung
SLN	Precirol 10 % Poloxamer 188 2,5 %
NLC-O	Precirol 8 % Ölsäure 2 % Poloxamer 188 2,5 %
NLC-M	Precirol 8 % Miglyol 2 % Poloxamer 188 2,5 %
NE	Miglyol 10 % Poloxamer 188 2,5 %
MS	Precirol 10 % Poloxamer 188 2,5 %

Tab. 11: Zusammensetzung der SLN, NLC, NE und MS. Alle Zubereitungen enthalten 0,05 % CPA

### 3.6.1 Penetration und Permeation bei intakter Haut

Für in-vitro-Untersuchungen der kutanen Penetration und Permeation wird exzidierte Humanhaut bevorzugt, da die Barriere gegenüber der in vivo-Struktur prinzipiell gleich ist.

Erste Penetrationsversuche erfolgten an frischer Haut, die sofort nach der Operation für den Versuch eingesetzt wurde. So wurde nochmal überprüft, ob eine kutane Metabolisierung stattfindet, auch wenn diese in Untersuchungen an Zellkulturen nicht beobachtet wurde. Auch in frischer humaner Haut waren keine Spaltprodukte wie CP oder Oxidationsprodukte wie 15 $\beta$ -OH-CPA nachweisbar.

Deshalb wurden die weiteren Versuche mit kryokonservierter Humanhaut durchgeführt, die gleiche Penetrationseigenschaften wie frische Haut aufweist (Bronaugh et al., 1986; Schreiber et al., 2005). Nach dem Versuch wurde die oberste Schicht des Stratum corneums mittels fünf Klebefilm-Abrissen entfernt. Von der restlichen Haut wurden acht 50  $\mu$ m-Schnitte angefertigt und in diesen sowie in den Klebefilm-Abrissen die Menge des penetrierten CPA mit Hilfe der HPLC bestimmt.

Die Penetrationsversuche zeigten eine signifikante Anreicherung von CPA nach der Applikation der SLN (4fache Menge im Vergleich zur Creme), NLC-O (2,7fach), MS (2,6fach) und NLC-M (1,9fach) in den ersten 100  $\mu$ m der Haut, die im Wesentlichen das Stratum corneum und lebende Epidermis umfasst (Tab. 13). Die CPA-Konzentrationen in der ersten Hautschicht nach der Applikation der Nanoemulsion unterschieden sich nicht wesentlich von den nach Applikation der Creme (1,4fache Anstieg). SLN führten zur signifikant ( $p \leq 0,05$ ) höheren CPA-Konzentrationen relativ zur Creme im Vergleich zu allen anderen partikulären Zubereitungen mit Ausnahme der Mikropartikel. Ab der zweiten Schicht (100-200  $\mu$ m) sank die CPA-Menge bei allen untersuchten Präparationen. Eine bevorzugte Aufnahme in das Korium ist bei keiner Präparation erkennbar. Da der Lipidgehalt der partikulären Zubereitungen niedriger liegt als bei der Creme, die CPA-Penetration aus Creme und Nanoemulsion aber ähnlich verläuft, ist die bessere Aufnahme aus SLN und NLC, die den selben Lipidgehalt wie die NE aufwiesen, deren penetrationsfördernden Wirkung geschuldet. Die CPA-Konzentration in den obersten Schichten des Stratum corneum (bestimmt durch Extraktion der Klebefilm-Abrissen) nach der Applikation der NE und MS überstieg die CPA-Menge in der Schicht 0-100  $\mu$ m 2,8 bzw. 2,5mal. Dies deutet auf eine Wirkstoffdepotbildung in der obersten

Hornschicht hin. Nach der Applikation von Creme, SLN, NLC-O sowie NLC-M war die CPA-Menge in den Abrissen ebenso hoch wie in der Schicht 0-100  $\mu\text{m}$ , während bei der Nanoemulsion und bei den Mikropartikeln deutlich mehr Wirkstoff in den Abrissen gefunden wurde. Dies schließt eine Überschätzung der penetrationsfördernden Wirkung durch Verschleppung von CPA aus der obersten Hornschicht in die Tiefe von 0-100  $\mu\text{m}$  aus.

Die insgesamt penetrierten CPA-Mengen (bis in 300  $\mu\text{m}$ ) waren 1,56 % der applizierten Dosis bei SLN; 1,37 % bei NLC-O; 1,38 % bei NLC-M; 1,45 % bei NE; 1,02 % bei MS und 0,54 % bei der Creme (Tab. 12). Die CPA-Mengen in der Schicht 300-400  $\mu\text{m}$  lagen teilweise unterhalb der Bestimmungsgrenze.

Der Zusatz des Penetrationsverstärkers Ölsäure hat keinen penetrationsfördernden Effekt gegenüber Miglyol<sup>®</sup> 812-haltigen NLC gezeigt. Die CPA Mengen in der Haut lagen bei beiden NLCs tendenziell sogar noch unter denjenigen aus ausschließlich festen Lipid gebildeten Partikeln. Dies gilt für die erste Hautschicht wie für die Gesamtpenetration in die Haut.

Präparation	% der applizierten Menge					
	0-100 µm	100-200 µm	200-300 µm	300-400 µm	Abrisse	Σ 0-300 µm
<b>Creme</b>	0,18 ± 0,08	0,12 ± 0,08	0,05 ± 0,05	0,07 ± 0,09	0,18 ± 0,16	0,54
<b>NE</b>	0,34 ± 0,19	0,94 ± 0,05	0,05 ± 0,05	0,05 ± 0,05	0,96 ± 0,58	1,45
<b>SLN</b>	0,65 ± 0,35	0,16 ± 0,08	0,11 ± 0,06	0,08 ± 0,04	0,64 ± 0,46	1,56
<b>NLC-O</b>	0,55 ± 0,26	0,14 ± 0,07	0,13 ± 0,14	0,08 ± 0,04	0,53 ± 0,49	1,37
<b>NLC-M</b>	0,51 ± 0,18	0,18 ± 0,10	0,14 ± 0,06	0,19 ± 0,17	0,55 ± 0,16	1,38
<b>MS</b>	0,27 ± 0,07	0,05 ± 0,01	0,03 ± 0,01	n.u.	0,67 ± 0,36	1,02

Tab. 12: Absolute CPA-Penetration in die einzelnen Hautschichten, in den Klebefilm-Abrissen und gesamt bis in die Hauttiefe von 300 µm 6 h nach der Applikation von Creme, SLN, NLC-O, NLC-M und MS, (Mittelwert ± SD, Creme n=7, SLN n=7, NLC-O n=5, NLC-M n=3, NE n=3 und MS n=2 Spender, pro Spender wurden 2-4 Hautproben untersucht)

Präparation	CPA-Penetration im Verhältnis zur Creme				
	0-100 µm	100-200 µm	200-300µm	300-400 µm	Abrisse
<b>NE</b>	1,42 ± 0,63	0,72 ± 0,52	0,87 ± 0,37	0,54 ± 0,08	2,86 ± 1,57
<b>SLN</b>	4,01 ± 1,56	1,49 ± 0,68	0,59 ± 0,52	0,62 ± 0,32	3,36 ± 2,35
<b>NLC-O</b>	2,69 ± 1,01	0,66 ± 0,53	0,56 ± 0,12	0,28 ± 0,07	2,29 ± 1,39
<b>NLC-M</b>	1,90 ± 0,65	0,87 ± 0,90	0,79 ± 0,79	1,13 ± 1,36	1,84 ± 0,55
<b>MS</b>	2,62 ± 0,79	0,77 ± 0,52	0,75 ± 0,03	n.u.	5,34 ± 1,83

Tab. 13: CPA-Penetration in die einzelnen Hautschichten 6 h nach der Applikation von Lipiddispersionen im Verhältnis zur CPA-Penetration aus der Referenzcreme. Mittlere Verhältnisse (± SD) der Penetration aus den Lipiddispersionen relativ zum Mittelwert der Penetration aus der Creme in die Haut diesen Spenders (NE n=3, SLN n=7, NLC-O n=5, NLC-M n=3, MS n=2 Spender; pro Spender wurden 2-4 Hautproben untersucht).

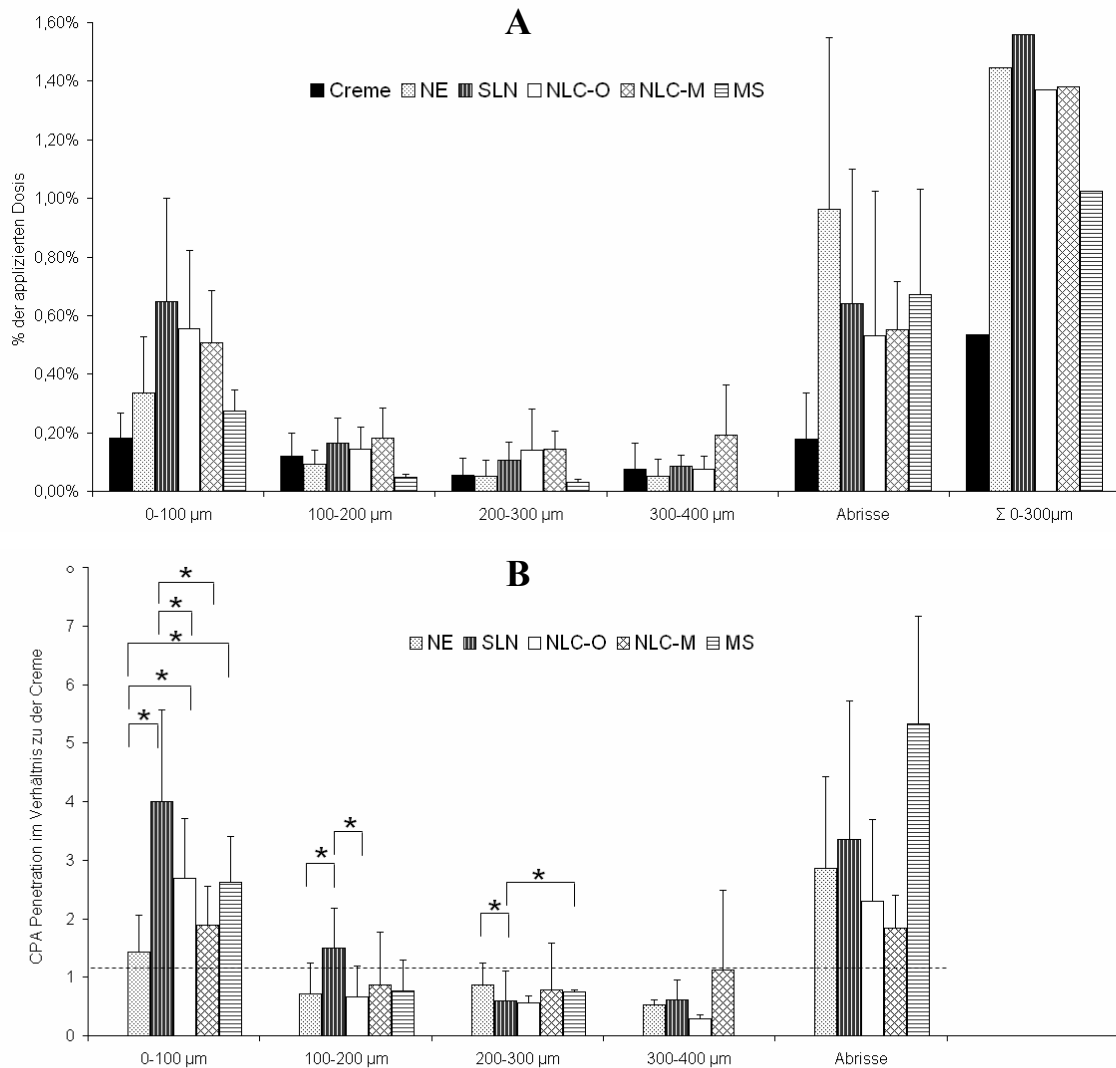


Abb. 28: CPA Penetration in humane Vollhaut 6 h nach der Applikation von SLN, NLC-O, NLC-M, MS und Creme. A: mittlere Penetration (% der applizierten Dosis,  $\pm$  SD) in den einzelnen Hautschichten, in 5 Klebefilmabrissen und gesamt bis 300  $\mu$ m Hauttiefe. B: mittlere Verhältnisse ( $\pm$  SD) der Penetration aus den Lipiddispersionen relativ zum Mittelwert der Penetration aus der Creme in jeweiligen parallelen Tests (Creme n=7, NE n=3, SLN n=7, NLC-O n=5, NLC-M n=3, MS n=2 Spender; pro Spender wurden 2-4 Hautproben untersucht). Signifikante Unterschiede der Penetrationsverhältnissen ( $p \leq 0,05$ ) zwischen der ersten und zweiten Schicht wurden für jede Zubereitung mit Ausnahme von NLC-M festgestellt, in der Schicht 0-100  $\mu$ m zeigte sich auch eine Signifikanz der SLN, NLC-O, NLC-M und MS im Vergleich zur Creme, \* signifikante Unterschiede der CPA-Verhältnissen relativ zur Creme zwischen den partikulären Zubereitungen innerhalb einer Hautschicht.

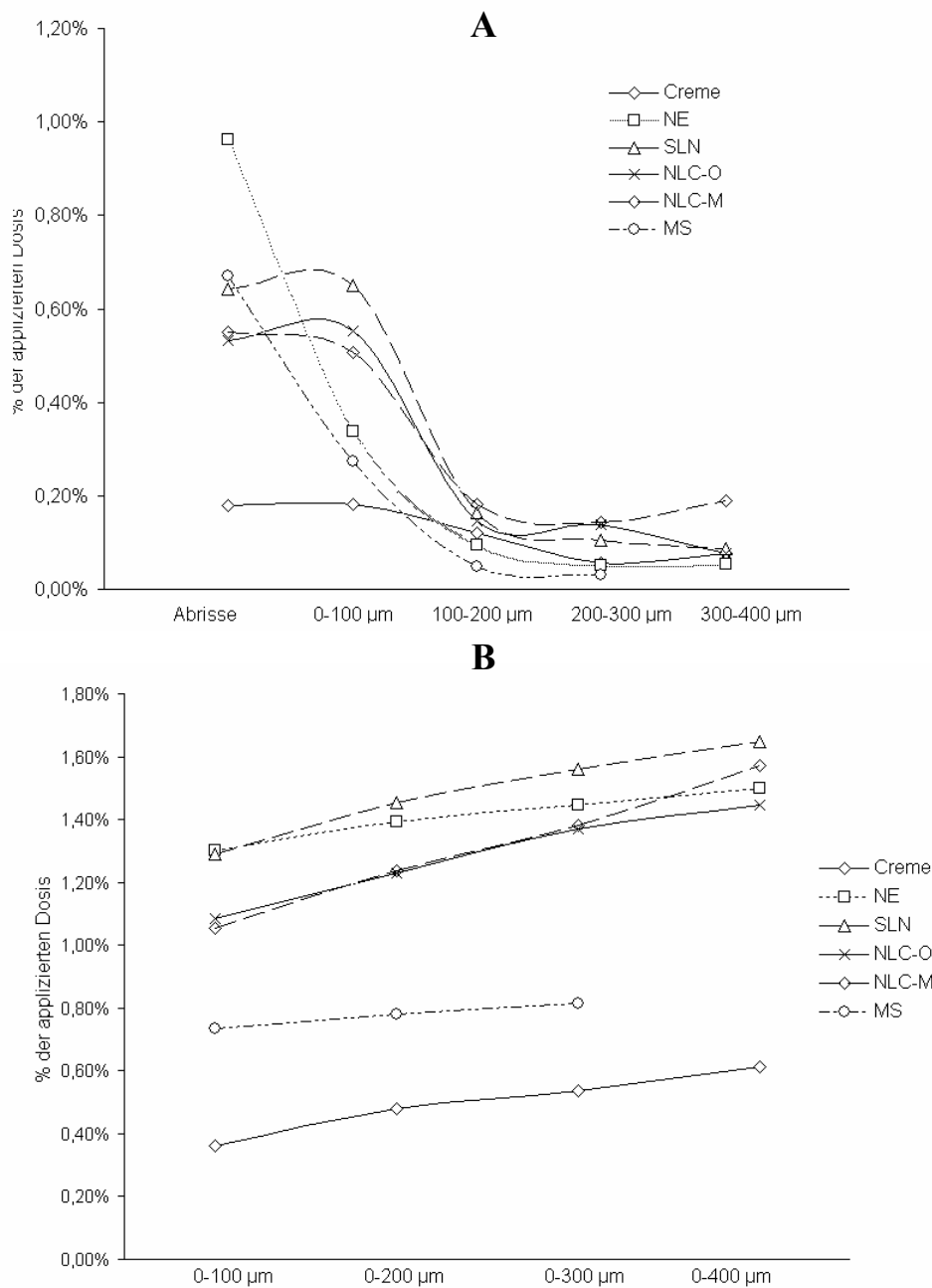


Abb. 29: CPA Penetration in humane Vollhaut 6 h nach der Applikation von SLN, NLC-O, NLC-M, MS und Creme. A: Penetrationsprofil, B: kumulative Darstellung

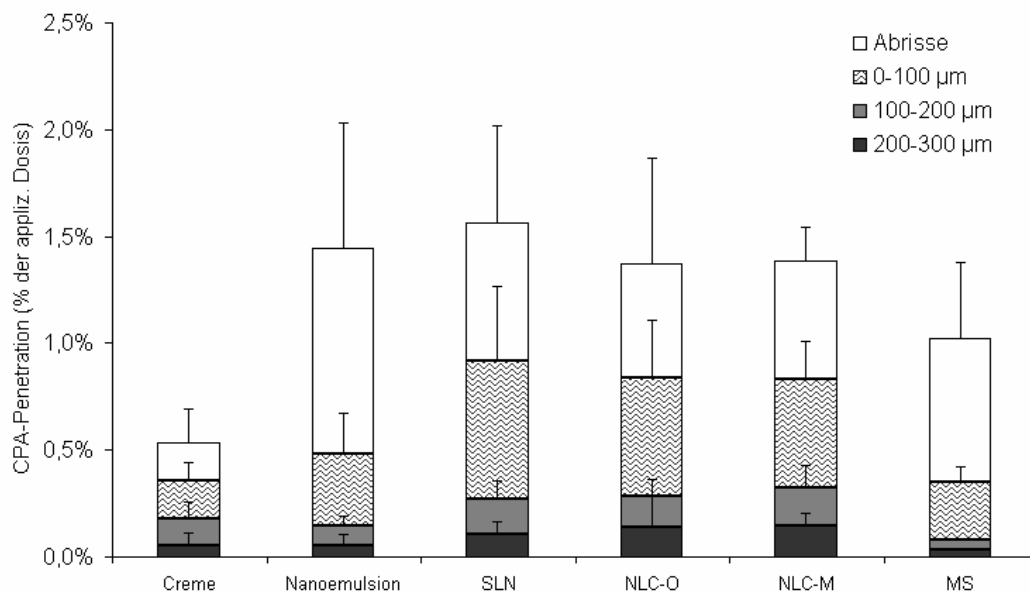


Abb. 30: CPA-Penetrationsprofile der einzelnen Zubereitungen 6 h nach der Applikation auf die Humanhaut.

Die Wirkstoffmenge, die durch die Epidermis hindurch zu dermalen Blutgefäßen und damit in die systemische Blutzirkulation gelangt, ist für das Auftreten möglicher systemischer Nebenwirkungen sehr bedeutsam. Um dieses Risiko bei einer topischen Therapie abzuschätzen, wurden Permeationsversuche mit Spalthaut durchgeführt. Kryokonservierte Humanhaut wurde mit einem Dermatom auf 500 µm geschnitten und für 24 h in einer Franz-Diffusionszelle gegenüber der Präparation exponiert. Anschließend wurde die Haut 5-mal gestrippt und im Akzeptormedium die Menge des permeierten CPA untersucht. Die CPA-Mengen im Akzeptormedium lagen bei SLN 6,6mal, NLC-M 3,4-mal, NLC-O 2,5mal, MS 2,2mal höher als bei Creme (Abb. 31). Bei der Nanoemulsion zeigte sich eine ähnliche Permeation wie bei der Creme. Die CPA Mengen im Akzeptormedium (12 ml) lagen zwischen 0,03 - 2,2 µg (entspricht 0,0025-0,183 µg/ml), also deutlich unter der Löslichkeitsgrenze für CPA (23,4 µg/ml), die Permeation wurde daher durch das Löslichkeitsvermögen des Wirkstoffes nicht beeinflusst.

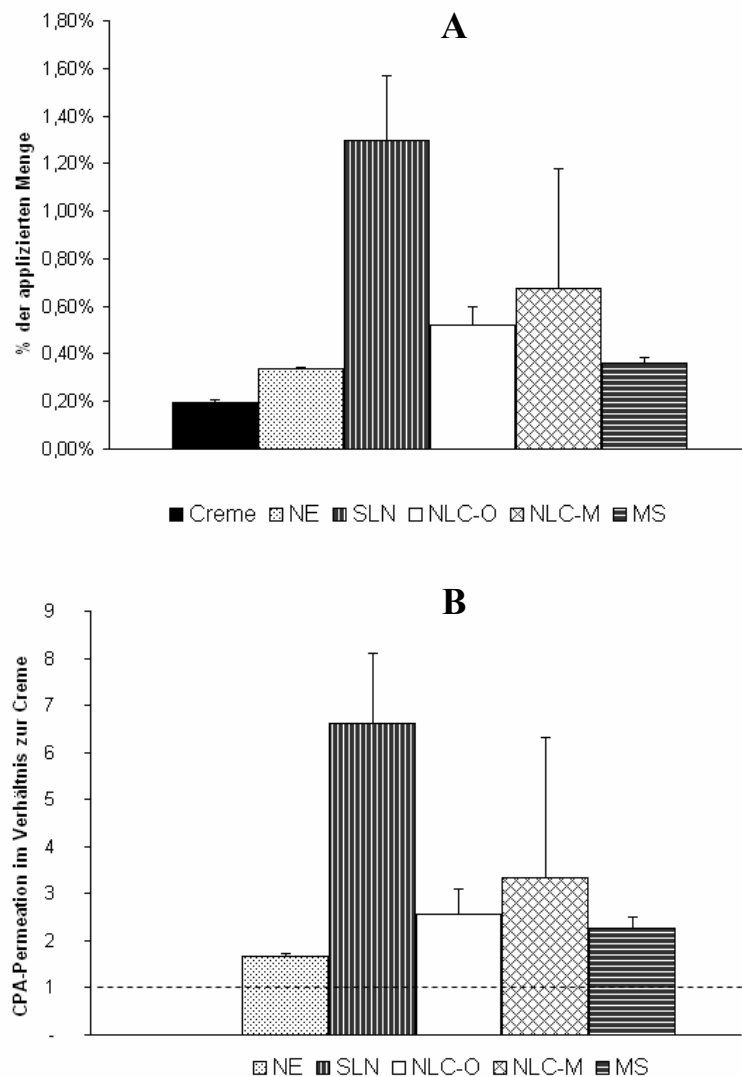


Abb. 31: CPA Permeation der humanen Spalthaut (500  $\mu\text{m}$ ) nach 24-stündiger Applikation von NE ( $n=2$ ), SLN ( $n=3$ ), NLC-O ( $n=2$ ), NLC-M ( $n=2$ ), MS ( $n=2$ ) und Creme ( $n=3$ ). A: mittlere Permeation ( $\pm$  SD), Abb. B: mittlere Verhältnisse ( $\pm$  SD) der Permeation aus den Lipiddispersionen relativ zum Mittelwert der Permeation aus der Referenzcreme über die Haut diesen Spenders (Creme, NE, NLC-O, NLC-M, MS  $n=2$ , SLN  $n=2$  Spender, pro Spender wurden 2-4 Hautproben untersucht).

Die Ergebnisse der Penetrations-/Permeationsuntersuchungen weisen darauf hin, dass Nanopartikel-Dispersionen, vor allem aber SLN, den Wirkstoff in großen Mengen in die Epidermis transportieren, wo sich ein Depot bildet. Aus diesem Depot wird der Wirkstoff langsam abgegeben, was zu höheren CPA-Mengen im Akzeptormedium führt. So steigen nach 24 h die Permeationsraten im Vergleich zur Penetration in die ersten 100  $\mu\text{m}$  nach 6

h bei SLN von 4 auf 6,6; bei NLC-M von 1,9 auf 3,4. Bei Mikropartikeln, NLC-O sowie bei der NE unterschieden sich Permeationsraten und Penetrationsraten weniger (von 2,7 auf 2,5 bzw. von 2,6 auf 2,8 und von 1,4 auf 1,6).

### 3.6.2 Penetration bei defekter Hornschicht

Die Gefahr einer systemischen Wirkstoffaufnahme kann bei kleineren Verletzungen der Hornschicht und Dermatosen steigen und dadurch negative Nebeneffekte einer Antiandrogentherapie verstärken. Bei schweren Hautverletzungen, die zu kompletter Entfernung der Stratum corneum führen, wie z.B. Hautverbrennungen mit Blasenbildungen, sollte man eine topische Applikation lipidhaltigen Zubereitungen meiden. In unseren in vitro Bedingungen wurden daher leichtere Defekte, die z.B. einer ekzematösen Entzündung ähneln oder durch z.B. Kratzen entstehen, simuliert. Dazu wurde die Haut vor dem Versuch 20-mal mit Klebefilm gestrippt. Mittels UV/VIS Spektrometrie wurde gezeigt, dass mit 20 Klebefilmabrissen etwa 66 % des Stratum corneum entfernt wurde (Jacobi et al., 2005). Als Kontrolle diente ungestrippte Haut derselben Spender. Eine signifikante Beeinflussung der Hautpenetration wurde in unserem Modell der defekten Hornschicht nicht festgestellt (Abb. 32). Alle applizierte Präparationen (Creme, SLN, NLC-O) zeigten eine annähernd gleiche Penetration in die defekte und intakte Haut. Dieser Befund schließt zudem eine erhebliche Speicherung von SLN in den äußeren Schichten des Stratum corneum aus.

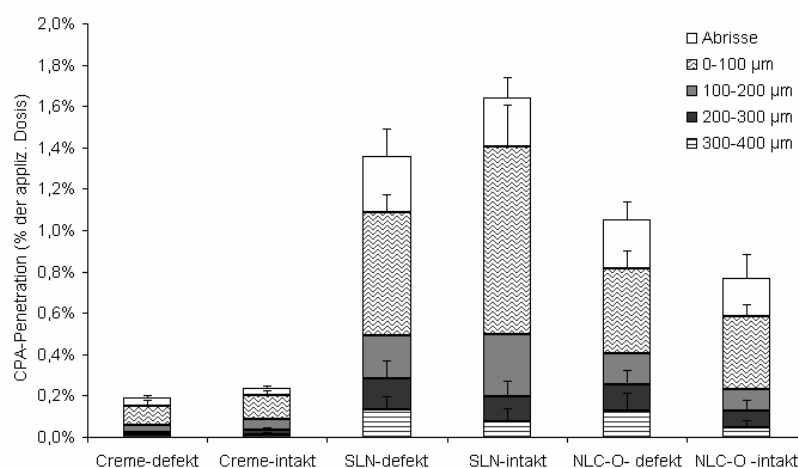
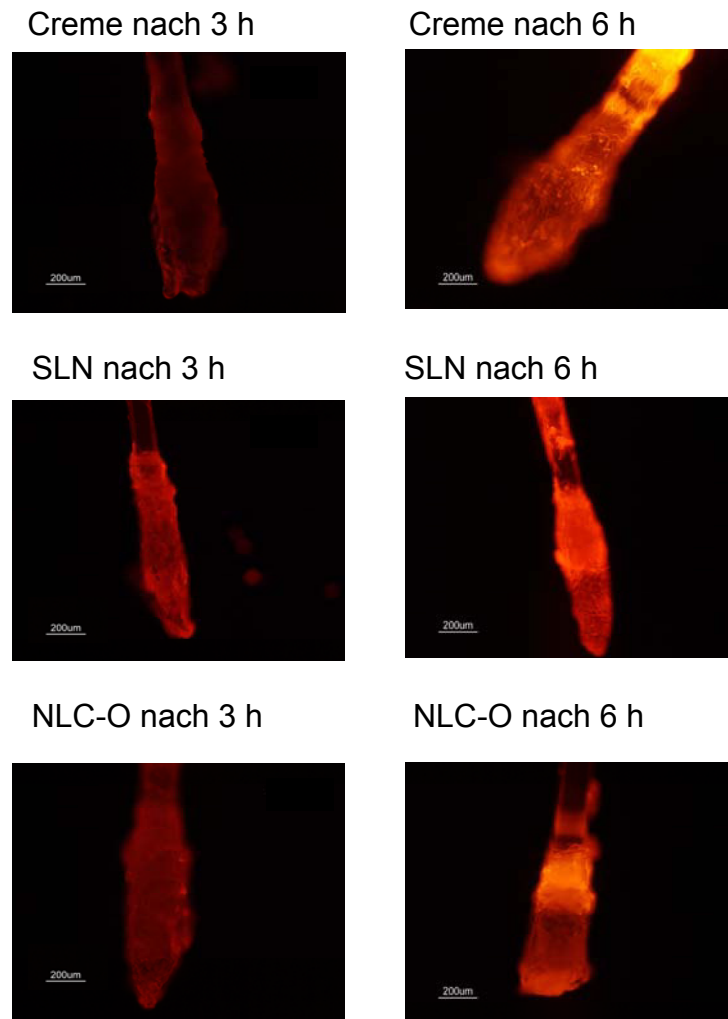


Abb. 32: Penetration bei defekter Hornschicht. CPA-Menge nach der 6 h Applikation der Creme, SLN und NLC-O auf gestrippte und ungestrippte Haut (n=3 Spender, pro Spender wurden 3 Hautproben untersucht, Mittelwert  $\pm$  SD)

### 3.6.3 Follikuläre Penetration

Die Penetration in die Haarfollikel wurde an Schweineohrenhaut untersucht, auf welche die Zubereitungen (Creme, SLN, NLC-O), beladen mit 0,004 % Nilrot, für 3 bzw. 6 Stunden aufgetragen wurden. Anschließend wurden die Haarfollikel mit der Cyanacrylatstripping-Technik entfernt. Unter einem Fluoreszenzmikroskop wurden jeweils 20 Haarfollikel betrachtet.

Bei allen Zubereitungen wurde eine starke Fluoreszenz beobachtet, die nach 6 h intensiver als nach 3 h war (Abb. 33). Dies weist darauf hin, dass der transfollikuläre Penetrationsweg für die kutane Aufnahme der untersuchten Zubereitungen eine bedeutsame Rolle spielt. Eine Quantifizierung der Intensität konnte aber nicht durchgeführt werden, da mit den entfernten Haarfollikeln im unterschiedlichen Ausmaß Teile der Haarwurzelscheide herausgerissen wurden und dadurch die Ergebnisse einer Nilrotdanalytik verfälscht worden wären.



*Abb. 33: Follikuläre Penetration nach 3- und 6- stündiger Applikation von nitrobeladener Creme, SLN und NLC-O-Dispersionen auf die Schweineohrenhaut (es wurde ein Versuch mit n=2 durchgeführt, aus jeder Hautprobe wurden 20 Haarfollikel entfernt und unter dem Fluoreszenzmikroskop untersucht, dargestellt sind jeweilsrepresentative Bilder).*