



universität
wien

MASTERARBEIT / MASTER'S THESIS

Titel der Masterarbeit / Title of the Master's Thesis

**Dermale Formulierungen mit Panax Ginseng-Extrakt:
Vergleich von unterschiedlich formulierten Hydrogelen in
Hinblick auf physikalisch-chemische Eigenschaften und
Hautpenetration und Vorversuche zur Hautpenetration
mittels konfokaler Raman-Spektroskopie**

verfasst von / submitted by

Verena Ina Walter, BSc

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

Wien, 2022 / Vienna 2022

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

UA 066 605

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

Masterstudium Pharmazie

Betreut von / Supervisor:

Ao. Univ-Prof. Mag. Dr. Michael Wirth

Mitbetreut von / Co-Supervisor:

Mag. Dr. Victoria Klang

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre eidesstattlich, dass ich diese Arbeit selbständig angefertigt, keine anderen Hilfsmittel als die angegebenen benutzt und alle aus ungedruckten Quellen gedruckte Literatur oder aus dem Internet im Wortlaut oder im wesentlichen Inhalt übernommenen Formulierungen durch Quellenangaben kenntlich gemacht habe und wo immer erforderlich so gut wie möglich die Erlaubnis zur Verwendung eingeholt habe.

Datum:

Unterschrift:

Danksagung

Zuallererst möchte ich mich bei Frau Mag. Dr. Victoria Klang für die Möglichkeit, die Masterarbeit unter ihrer Betreuung zu schreiben, bedanken. Unter ihrer Aufsicht habe ich mich niemals allein gelassen gefühlt und man konnte sie jederzeit für Fragen kontaktieren. Sie war immer offen für neue Vorschläge und ich habe das Vertrauen geschätzt, das mir bei meiner Arbeit entgegengebracht wurde.

Daneben gebührt Frau Mag. Eva-Maria Schweiger ein großer Dank. Sie hat mir geduldig alle Laborgeräte erklärt und war stets bemüht meine Arbeit zu unterstützen. Besonders bei der Auswertung der Proben war ihre Hilfe unentbehrlich.

Überaus wertvoll war auch die Unterstützung seitens Herrn Dr. Ammar Tahir, MSc von der Division Pharmakognosie, der sich für die Auswertung der Proben sehr viel Zeit genommen hat und mit Vorversuchen die beste Methode für die Analyse eruiert hat.

Ich möchte mich vielmals bei Herrn Univ.-Prof. Mag. Dr. Michael Wirth für die Möglichkeit bedanken am Department für Pharmazeutische Wissenschaften in der Division Pharmazeutische Technologie meine Masterarbeit schreiben zu können.

Eine Herzensangelegenheit ist es mich ausdrücklich bei meiner Masterarbeits-Kollegin Frau Mag. Simone Strohmaier zu bedanken. Durch unsere Zusammenarbeit und unsere wohlverdienten Kaffeekränzchen ist eine wunderbare Freundschaft entstanden, die ich davor nicht geahnt hätte.

Ein unaussprechlich großes Dankeschön gebührt meinen Eltern, die mich nicht nur überaus großzügig finanziell über die gesamte Studienzeit hinweg unterstützt haben, sondern mir auch jederzeit über teils schwere Zeiten während des Studiums mit aufbauenden Worten und Geduld geholfen haben. Ohne sie hätte ich ein Studium dieser Art wahrscheinlich nie realisieren und nicht diesen Lebensweg gehen können.

Ein sehr großes Dankeschön gebührt auch meinem langjährigen Partner Hüseyin, der mich in allen Dingen unterstützt hat. Auch wenn es nicht immer einfach war, hat er stets sein Bestes gegeben mich aus einem verzweifelten Moment herauszuziehen.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	3
1. Einleitung	6
2. Allgemeines	8
2.1. <i>Die Haut</i>	8
2.1.1. Funktion und Aufbau der Haut	8
2.1.2. Epidermis	9
2.1.3. Dermis	10
2.1.4. Subcutis.....	10
2.2. <i>Die Hautalterung</i>	11
2.3. <i>Permeation von Stoffen durch die Haut</i>	12
2.3.1. Erfahrungen mit Penetration von Naturstoffen	13
2.3.2. Verschiedene Vehikel und ihr Effekt auf die Haut	15
2.4. <i>Die porcine Haut</i>	17
2.5. <i>Ginseng in Dermatika und Kosmetika</i>	18
2.5.1. Herkunft der Pflanze.....	18
2.5.2. Inhaltsstoffe der Ginsengwurzel	20
2.5.3. Wirkung der Inhaltsstoffe.....	22
2.5.4. Ginseng auf der Haut	24
2.5.5. Stabilität der Ginsenoside	27
2.6. <i>Formulierungen</i>	27
2.6.1. Hydrogele	28
2.6.2. Gelbildner	28
2.7. <i>Rheologische Messungen</i>	30
2.8. <i>pH-Messungen</i>	32
2.9. <i>Konfokale Raman-Spektroskopie</i>	32
2.9.1. Aufbau eines Raman-Mikroskops	33
2.10. <i>Permeationsversuche</i>	34
2.10.1. Aufbau der Franz-Diffusionszelle	34
3. Material und Methoden	36
3.1. <i>Rezeptur und Herstellung der Hydrogele</i>	36
3.1.1. Hydrogele nach Hausrezeptur.....	36
3.1.2. Hydrogele nach NRF-Rezeptur	39
3.1.3. Hydrogele auf Basis von HEC	40
3.2. <i>Messung mit dem Rheometer</i>	43
3.2.1. Probenapplikation.....	43
3.2.2. Die Messung mit dem Rheometer	44
3.3. <i>pH-Messung</i>	44
3.4. <i>Messung eines Reinspektrums mit dem Raman-Spektroskop</i>	46
3.4.1. Herstellung der Extrakt-Lösung	47
3.4.2. Präparation des Schweinohrs	47
3.4.3. Praktische Messung und Erstellen eines Differenzspektrums	49

3.4.4. Erstellung eines Tiefenprofils	50
3.5. <i>Diffusionsstudien</i>	51
3.5.1. Herstellung der Dermatom-Schnitte	51
3.5.2. Vorbereitung der Diffusionszellen	53
3.5.3. Probennahme aus der Franz-Diffusionszelle	55
3.6. <i>Analyse der Diffusionsstudien</i>	55
3.6.1. Probenaufbereitung für UHPLC/MS	55
3.6.2. Erstellung von Kalibrierkurven.....	55
3.7. <i>Bestimmung des Gehaltes bzw. Stabilität der Ginsenoside</i>	56
3.7.1. Probenvorbereitung für UHPLC/MS	56
3.8. <i>Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)</i>	56
3.9. <i>Massenspektrometrie</i>	57
4. Ergebnisse	59
4.1. <i>Charakterisierung und Stabilität</i>	59
4.1.1. Bestimmung der Gelbildner-Konzentration	59
4.1.2. Stabilität der Ginsenoside in den Formulierungen.....	61
4.1.3. Rheologische Bestimmung.....	62
4.1.3.1. Gele nach Hausrezeptur	63
4.1.3.2. Gele nach NRF-Rezeptur	67
4.1.3.3. Gele nach HEC-Rezeptur	71
4.1.4. Ergebnisse der pH-Messungen	76
4.2. <i>Ergebnisse der Raman-Messungen</i>	79
4.3. <i>Ergebnisse zur Eindringtiefe des Ginsengextrakts im Schweineohr</i>	80
4.4. <i>Ergebnisse der Diffusionsstudien</i>	81
5. Diskussion	82
6. Zusammenfassung	84
7. Abstract	85
8. Quellenverzeichnis	86
9. Abbildungen und Genehmigungen.....	95
10. Anhang	96

1. Einleitung

Panax ginseng gehört zur Familie der Araliaceae und stammt aus Kulturen in Korea, China und Japan. Vereinzelt wird er auch in Mitteleuropa angebaut. Medizinisch verwendet wird zumeist die Ginsengwurzel [1]. Die Ginsengwurzel galt in Asien als Sinnbild für Gesundheit und langes Leben und durfte nur von Königen verwendet werden. Entsprechend war die Wurzel wertvoller als Gold. Ginseng radix ist bei uns als Pflanze mit „well established medicinal use“ zur Verwendung in Nahrungsergänzungsmitteln und Arzneimitteln zugelassen [2]. Ginseng ist auch in der Pharmakopöe in China, Japan, Deutschland, Frankreich, Österreich und in England integriert. In asiatischen Ländern und in Westeuropa wird er gerne als Bestandteil von over-the-counter Produkten verkauft [3].

Schon seit Tausenden von Jahren wird die Ginsengwurzel als Tonikum und zur Stärkung bei Müdigkeits- und Schwächegefühl eingesetzt [4]. Besonders im koreanischen Raum ist es ein beliebtes Mittel, um den Körper widerstandsfähiger gegen Krankheiten zu machen. Auch bei nachlassender Leistungsfähigkeit, Konzentrationsschwierigkeiten und bei Rekonvaleszenz ist er ein beliebtes Produkt. Neueste Studien bestätigen die immunmodulierende, antioxidative, neuro- und zytoprotektive, aber auch blutzuckersenkende und kardioprotektive Wirkung der Ginsengextrakte [1,5]. Auch zur Vorbeugung und als Zusatz-Behandlung von Krebs hat sich Ginseng in klinischen Studien als wirksam erwiesen [6-7]. All diese Effekte wurden für die orale Einnahme untersucht. Als Tagesdosis gelten 1-2 g Droge oder entsprechende Zubereitungen mit mindestens 15 mg Ginsenosidgehalt. Um die Wirkung entfalten zu können, sollte die Ginsengzubereitung über einen längeren Zeitraum eingenommen werden [8]. Zur Pharmakodynamik der Drogeninhaltsstoffe liegen zwar zahlreiche Untersuchungen vor. Die Aussagekraft vieler Arbeiten ist jedoch wegen unrealistisch hoher Dosierungen und intravenöser Applikation begrenzt [1,9].

In dermalen Zubereitungen ist *Panax ginseng* trotz seiner wertvollen Inhaltsstoffe – vor allem den Ginsenosiden – im europäischen Raum noch kein gängiger Inhaltsstoff. Die Ginsenoside sind Triterpensaponine, die als Dammaran-Derivate oder als pentazyklische Oleanolsäurederivate vorliegen. Weiters enthalten sind Polyine, die sogenannten Panaxane (Peptidoglykane), wenig ätherisches Öl und saure Polysaccharide [1]. Im asiatischen Raum wird Ginseng zwar schon seit Jahrhunderten auch zur Hautpflege verwendet. Im europäischen Raum fehlt für die dermale Anwendung noch das Grundlagenwissen.

Basierend auf den chemischen Strukturen der Aglyka werden die Ginsenoside hauptsächlich in zwei Typen eingeteilt: In den Protopanaxadiol (PPD) - Typ, zu dem auch das Ginsenosid Rb1 gehört, und den Protopanaxatriol (PPT) - Typ, zu dem das Ginsenosid Rg1 zählt [10]. Der strukturelle Hauptunterschied liegt in einer OH-Gruppe am Rest 1 anstatt einer Glykosylierung, welche die Wasserlöslichkeit der PPT erhöht [11].

Die Wirkung auf die Haut zeigt sich vor allem in der antioxidativen Kapazität der Inhaltsstoffe, die als Radikalfänger agieren und so unter anderem gegen Faltenbildung schützen. Gesellschaftlich ist es hoch angesehen der Hautalterung vorzubeugen, um ein jugendlich-attraktives Erscheinungsbild möglichst lange zu erhalten. *Panax ginseng* als Antioxidans kann die Bildung von reaktiver Sauerstoffspezies hemmen. Außerdem kann er durch die Hemmung der Aktivität der Matrix-Metalloproteasen den Abbau von Kollagen in der Haut vermindern und so zu einem frischeren und pralleren Erscheinungsbild der Haut beitragen [12].

In ersten Studien der Arbeitsgruppe wurde Ginseng in fluide Nanoemulsionen zur dermalen Applikation inkorporiert [13]. Die Nanoemulsionen wurden dann in einer weiteren Studie in ihren physikalisch - chemischen Eigenschaften verbessert. Als Vehikel wurden in dieser Forschung lezithin - basierte Formulierungen für den *Panax ginseng*-Trockenextrakt entwickelt [14]. Jedoch sollte auch erhoben werden, ob alkoholische Hydrogele als Vehikel für *Panax ginseng* - Extrakt geeignet sind.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war daher die Entwicklung eines stabilen Hydrogels mit Ginsengextrakt zur dermalen Applikation. Es wurden zwei unterschiedliche Gelbildner (Carbopol® und Hydroxyethylcellulose) verwendet. Ziel der Arbeit war es, den Einfluss von Ginsengextrakt auf die Lagerstabilität der Hydrogele sowie die Hautpermeation von Rg1 und Rb1 zu untersuchen. Daneben sollte auch erhoben werden, welcher pH-Wert bzw. welche Menge an Neutralisationsbase TRIS die besten Ergebnisse mit dem verwendeten Carbomer erzielen würde.

Die Gele wurden auf Lagerstabilität und pH-Veränderungen hin untersucht. Außerdem wurden sie rheologisch mit der Platte-Kegel-Methode auf ihre dynamische Viskosität untersucht und charakterisiert. Schlussendlich wurden die Gele auf die Hautpermeation der Ginsenoside Rb1 und Rg1 mittels Franz-Zellen untersucht. Die Versuche wurden ex vivo am Schweineohr durchgeführt. Die Auswertung der Proben der Stabilitätsversuche und Diffusionsstudien wurde freundlicherweise von Herrn Dr. Ammar Tahir, MSc., vom Fachbereich Pharmakognosie der Universität Wien durchgeführt. Dafür wurde die Methode der UHPLC-MS verwendet. Außerdem wurde der Versuch unternommen, ein Raman-Spektrum von *Panax ginseng* - Extrakt zu generieren und Vorversuche zur Eindringtiefe der Inhaltsstoffe ins Schweineohr wurden durchgeführt.

2. Allgemeines

2.1. Die Haut

2.1.1. Funktion und Aufbau der Haut

Die Haut ist das größte Organ des Menschen und schützt den Körper nach außen hin vor Kälte, Hitze, UV-Strahlung, Austrocknung sowie pathogenen Viren und Bakterien. Sie erfüllt also eine wichtige Barrierefunktion, die durch das perfekte Zusammenspiel der Hautschichten, deren Bestandteilen sowie der Drüsen erfüllt werden kann. Die Haut ist auch essentiell für den Abtransport von Schweiß und Abbauprodukten nach außen. Die Hautoberfläche von erwachsenen Menschen beträgt 1,5 – 2 m² [15].

Unsere Haut ist in drei große Schichten unterteilt (vgl. Abbildung 1): die Epidermis (= Oberhaut), die Dermis (oder auch Lederhaut) und die Subcutis (= das Unterhautfettgewebe), die alle eigene Aufgaben haben und in den folgenden Absätzen besprochen werden [15-16].

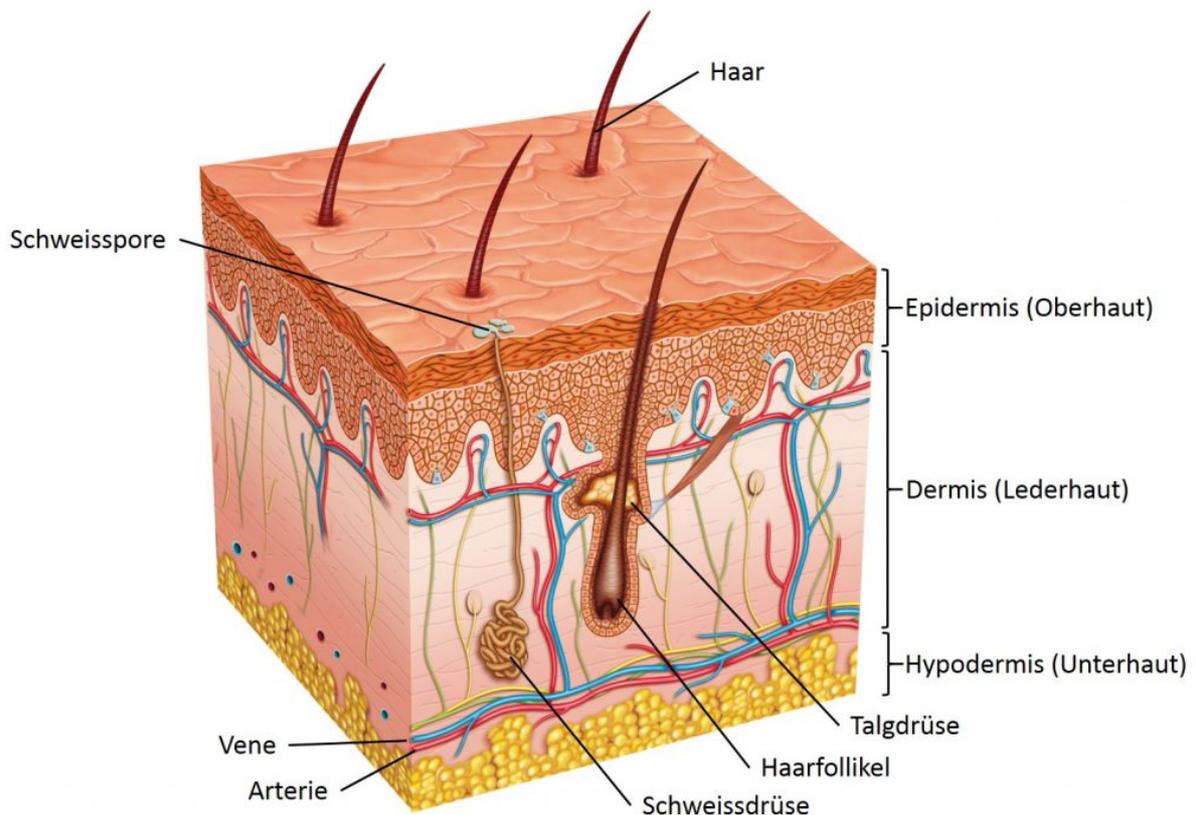


Abbildung 1: Aufbau der Haut mit ihren Schichten [17]

2.1.2. Epidermis

Die Oberhaut oder auch Epidermis ist mehrschichtig aufgebaut und weist an der Oberfläche eine Hornschicht (= Stratum Corneum) auf. Sie ist je nach Hautstelle zwischen 0,03 – 0,25 mm dick [18]. Die Epidermis ist meist nicht durchblutet [19].

Das Stratum Corneum ist von außen sichtbar und hat die Form eines verhornten Plattenepithels. Die Hornschicht wird gerne in einem Ziegel-Mörtel-Modell dargestellt (siehe Abbildung 2), das von Peter Elias zur vereinfachten Darstellung 1975 entwickelt wurde [20-21]. Sie besteht aus Keratinozyten, die verhornt und apoptotisch als Korneozyten vorliegen, keinen Zellkern besitzen und mit Keratin gefüllt sind [19]. Diese sind in eine Lipidmatrix eingebettet („Mörtel“).

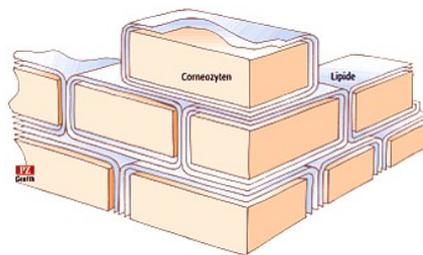


Abbildung 2: Das Ziegel-Mörtel-Modell des Stratum corneum (SC) [20]

Die Hornzellen werden regelmäßig abgeworfen. Täglich werden ein bis zwei Zelllagen abgestoßen. Dieser Prozess läuft unbemerkt ab. Eine sichtbare Abschuppung beruht auf dem Zusammenhalt von mehreren hundert Zellen. Abnorme Schuppen bestehen aus mehreren Tausenden zusammenhängenden Hornzellen [18].

Der „Mörtel“ besteht aus einer Lipidmatrix, die Ceramide, Cholesterin und freie Fettsäuren enthält, wobei diese in Phospholipid-Doppelschichten angeordnet sind. Die starke mechanische Resistenz der Epidermis kann mit dem einfachen Ziegel-Mörtel-Modell nicht erklärt werden. Daher zeigen neueste Untersuchungen mit elektronenmikroskopischen Techniken, dass die Barrierefunktion auf vier Ebenen beruht: den hakenähnlichen Strukturen der Korneozyten, den Corneodesmosomen, der Bilayer (= Lipiddoppelschicht) des Stratum Corneum und den Tight Junctions, also interzellulären Adhäsionskomplexen, die auch als Diffusionsbarriere dienen [20-21].

Unter der Hornschicht liegt die Verhornungszone der Epidermis, die die neuen Bausteine für die Oberhaut liefert. Sie wird eingeteilt in die Körnerschicht, Glanzschicht und die Stachelzellschicht. Von der darunter liegenden Basalzellschicht (Keimschicht) aus bilden sich aus den Stammzellen die neuen Keratinozyten, die nach und nach in die Stachelzellschicht einwandern und durch Bildung von Keratohyalin zunehmend verhornen. Im Zuge dieses Prozesses verlieren sie ihren Zellkern, werden flacher und entwickeln sich zur Hornzelle, die ganz außen liegt.

Außerdem befinden sich in der Basalzellschicht auch die Melanozyten, die für die Pigmentierung der Haut verantwortlich sind [15]. In der Stachelzellschicht findet man noch die Langerhans-Zellen. Sie bilden eine Untergruppe der dendritischen Zellen und dienen dem Immunsystem zur Überwachung DNA-geschädigter Hautzellen und eventueller Einleitung der Apoptose jener [22].

Unter der Hornschicht und über der Verhornungszone liegt noch eine Barrierezone, d. h. zwischen den bereits verhornten „toten“ Zellen und den im Verhornungsprozess befindlichen noch „lebenden“ Zellen [23]. Diese dient zum Schutz vor Feuchtigkeitsverlust und als Schutz vor dem Eindringen von Fremdstoffen. Auch dermale Formulierungen können diese Schicht häufig nicht durchdringen [18].

Die Hornhaut besitzt einen sogenannten Säureschutzmantel mit einem pH-Wert von circa 5,5, also ein Puffersystem, das die Haut vor dem Austrocknen und schädlichen Keimen schützt. Außerdem ist dieser pH-Wert ideal für das gesunde Mikrobiom der Haut [24-25]. Der pH-Wert der Haut liegt je nach Körperstelle zwischen 4,2 und 5,6 [26].

2.1.3. Dermis

Die Dermis, oder auch Lederhaut bzw. Corium genannt, befindet sich unter der Epidermis und ist bis zu 1 mm dick. Sie dient als Binde- und Stützgewebe und verleiht der Haut ihre Elastizität. Durch diese Eigenschaft ist sie besonders vom Alterungsprozess der Haut betroffen, da das enthaltene Kollagen und Elastin sich mit zunehmendem Alter verändern. Die Lederhaut ist gut durchblutet und man findet hier auch die Talg- und Schweißdrüsen, sowie Lymphgefäße. Auch die Haarfollikel sind hier eingebettet. Außerdem befinden sich hier zahlreiche Nervenfasern, die für die Wahrnehmung von Vibration und den Tastsinn verantwortlich sind. Die Spannung der Faserbündel bewirkt, dass die Haut bei Verletzung auseinanderklafft [27].

2.1.4. Subcutis

Die Unterhaut (= Subcutis oder Hypodermis) besteht aus lockerem Bindegewebe und eingelagerten Fettzellen. Sie wird deutlich vom Körper abgegrenzt von einer festen, kollagenhaltigen Faserschicht, der Faszie, die den gesamten Körper bedeckt. Die Subcutis hat eine Dicke von 0,5 bis 30 mm und ist wichtig für die Verschiebbarkeit der Haut auf der darunter liegenden Körperoberfläche, ohne dass sich die Leder- und Oberhaut von der Unterhaut lösen. Die Unterhaut ist mit Venen und Arterien durchzogen und beinhaltet Fettzellen (= Adipozyten), die dem Körper als Kälteschutz, als Energiespeicher und als Schutz zur Abfederung von Stößen dienen. Im Übrigen findet man in der Hypodermis die Vater-Pacini-Tastkörperchen, die als Rezeptoren mechanische Reize registrieren und diese ans Gehirn melden (Mechanorezeptoren). Die gute Durchblutung der Subcutis ist wichtig für die ausreichende Sauerstoffversorgung der darüber liegenden Hautschichten. Zusätzlich transportieren

die venösen Gefäße Kohlendioxid und andere Abfallstoffe ab. Nicht zu vergessen sind die in der Hypodermis enthaltenen Mechano- und Temperaturrezeptoren [28].

2.2. Die Hautalterung

Die Hautalterung wird durch eine Vielzahl von endogenen und exogenen Faktoren bestimmt. Endogene bzw. intrinsische Prozesse sind schwer zu beeinflussen. Sie sind genetisch festgelegt und können einen starken Basiseffekt haben [29].

Sie äußern sich in feiner Faltenbildung, einer Abnahme der Elastizität, einer reduzierten Synthese von Matrixproteinen und einer Zunahme an Matrix-abbauenden Enzymen. Die Matrix-Metalloproteasen (MMPs) spielen eine tragende Rolle beim Abbau von Kollagen in der extrazellulären Matrix (vgl. Abbildung 3) [30].

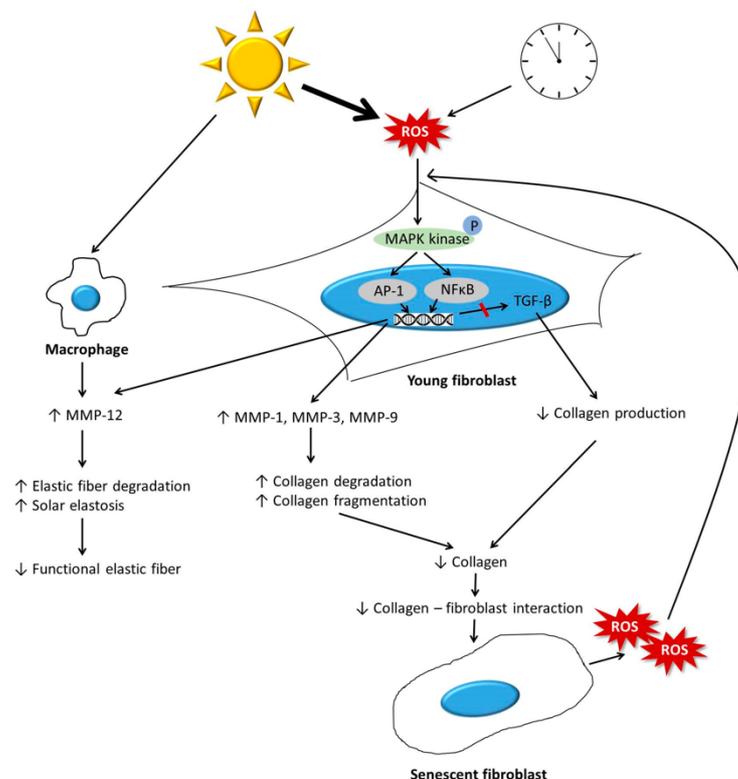


Abbildung 3: Mechanismen der Hautalterung und Einfluss der MMPs [31]

Exogene bzw. extrinsische Faktoren der Hautalterung kann man hingegen beeinflussen. Eine Rolle spielt zum Beispiel Rauchen (Nikotin), Alkohol und UV-Strahlung, wobei die Sonneneinstrahlung die schwerwiegendste und einflussreichste Komponente darstellt [32]. Das Photoaging (= Hautalterung durch Sonneneinwirkung) ist dabei ein kumulativer Prozess, der abhängig von der Intensität der Sonneneinstrahlung und dem Zustand der Hautpigmentierung ist [33].

Die UV-Strahlen induzieren die Matrix-Metalloproteasen (MMPs), die verantwortlich für die Regulation des Kollagenhaushaltes in der extrazellulären Matrix im Bindegewebe sind, wodurch eine Beeinträchtigung der Homöostase entsteht. Auf molekularer Ebene

schädigt die UV-Strahlung Keratinozyten und Fibroblasten, was eine Aktivierung von Zell-Oberflächenrezeptoren nach sich zieht. Diese Rezeptoren induzieren Signalkaskaden, die zu einem Zusammenbruch der Kollagenfasern führen und eine Behinderung für die Bildung von neuem Kollagen darstellen. Dabei bilden sich freie Radikale reaktiver Sauerstoffspezies (ROS); diese führen zur Oxidation von Zellbestandteilen wie DNA, Proteinen und Membranbestandteilen. Besonders UVA-Strahlung im Bereich von 320-400 nm ist für die Hautalterung und die Bildung von feinen Fältchen an der Oberfläche von großer Bedeutung [33].

2.3. Permeation von Stoffen durch die Haut

Die äußerste Hautschicht, auch Hornschicht genannt, bildet eine stabile Schutzschicht gegen Fremdstoffe von außen, aber auch gegen den ungewollten Austritt von Partikeln und Wasser von innen nach außen. Die Barriere ist so effektiv, dass viele Arzneistoffe bis heute nicht erfolgreich durch die Haut eindringen können. Wichtig für die Barrierefunktion ist der hohe Ordnungsgrad der Lipiddoppelschicht, die den „Mörtel“ im Ziegelstein-Mörtel-Modell (vgl. 2.1.2.) bildet.

Stoffe können grundsätzlich über drei Transportwege durch die Haut gelangen. Zum einen können Substanzen die Hornschicht zwischen den Zellen passieren (interzellulär). Dies geschieht besonders bei lipophilen Stoffen durch laterale Diffusion entlang der Lipidmatrix in der Hornschicht. Ebenfalls können die Stoffe durch die Zellen (transzellulär) passieren, was allerdings sehr unwahrscheinlich ist, weil die Stoffe dann amphiphil sein müssten, da sie abwechselnd eine lipophile und eine hydrophile Schicht durchqueren müssten. Zu guter Letzt können Stoffe einen sogenannten corneodesmosomalen Weg einnehmen. Dieser eignet sich besonders für hydrophile Substanzen [19].

Eine andere – untergeordnete – Möglichkeit wie Stoffe über die Haut aufgenommen werden können, wäre über die sogenannten Hautanhangsgebilde wie Haarfollikel, Schweißdrüsen und Talgdrüsen – also transfollikulär oder transglandulär. Diese Art des Transportes spielt aber keine große Rolle, da Haare, Talg- und Schweißdrüsen 0,1 bis maximal 1% unserer Hautoberfläche einnehmen [34].

Damit Stoffe durch die Haut gelangen können, bedarf es einer ausreichenden Lipophilie und idealerweise eines sehr geringen Molekulargewichts und/oder einer starken biologischen Aktivität. Es wird eifrig an Möglichkeiten geforscht, wie man hydrophile Stoffe und andere Substanzen, die nicht einfach durch die Hautbarriere diffundieren können, trotzdem für eine transdermale Applikation optimieren kann [19]. Einige Möglichkeiten werden in Abschnitt 2.3.2. in dieser Arbeit besprochen.

Die Aufnahme von Stoffen ist nicht nur von den chemisch-physikalischen Eigenschaften abhängig. Dazu gehören die oben erwähnte Lipophilie, aber auch die Molekülgröße, Haftung an der Hornschicht und die chemischen Bindungseigenschaften. Weiter bedeutsam ist aber auch die Hautstelle selbst, wobei sich die Hautdicke unterscheiden kann, die Stärke der Durchblutung, oder ob eine

krankhafte Veränderung vorliegt. An geschädigten Hautstellen wird meist mehr Wirkstoff aufgenommen als an gesunden Orten. An Stellen, bei denen die Hornschicht dicker ist, muss man mit einer verringerten Aufnahme des Stoffes rechnen. Darüber hinaus ist die Art des Angebots bedeutsam: So werden bestimmte Substanzen aus wässrigen Lösungen durch die Haut hindurch aufgenommen, während sie aus einer fetten Salbengrundlage nicht eindringen können oder umgekehrt [18].

2.3.1. Erfahrungen mit Penetration von Naturstoffen

Da Naturstoffe bedingt durch die Lebensbedingungen der Ursprungspflanze herausragende Inhaltsstoffe haben, versucht man diese auch für den Menschen nutzbar zu machen. Beispielweise enthalten Pflanzen Antioxidantien, um sich vor oxidativem Stress und dem Verderben zu schützen. Aufgrund ihrer besonderen Eigenschaften möchte man antioxidative Stoffe auch auf der Haut anwendbar machen. Es gibt bisher ein paar Substanzen, die für diese Anwendung erprobt wurden.

Curcumin aus der Kurkuma-Wurzel (*Curcuma longa*) ist eine davon. In durchgeführten Studien ergaben sich positive Effekte auf Akne, Alopecia, atopische Dermatitis, Photoaging, orales Lichen planus, Pruritus, Psoriasis, Radiodermatitis und Vitiligo [35]. In weiteren Studien stellte man eine signifikante Verbesserung der Hauterkrankung nach Applikation bzw. Einnahme eines Curcumin-Präparates fest. Die Applikation erfolgte hierbei via eines 5% Hexanextraktes von *Curcuma aeruginosa* oder es wurde ein Hydrogel bzw. eine Creme hergestellt. Erhältliche Spezialitäten mit Curcumin als Inhaltsstoff sind zum Beispiel die Herbavate® Creme (pflanzlicher Extrakt aus *Curcuma longa*, *Calotropis gigantea*, *Pongamia glabra*, und *Solanum xanthocarpum*) oder das Tricutan® Gel (eine Kombination aus pflanzlichen Extrakten des Rosmarin, Asiatischen Wassernabel und Kurkuma-Wurzel) in einer Formulierung mit Dimethylaminoethanol [35-36]. Curcumine haben in Kosmetika antioxidative, entzündungshemmende und hautaufhellende Eigenschaften. In-vitro inhibieren Curcumine die Kollagenase, Elastase und Hyaluronidase [37].

Curcumin-Gel hat in einer Studie gezeigt, dass es bei lichtgeschädigter Haut, wie zum Beispiel bei Pigmentveränderungen das Hautbild verbessern kann. Bei der Studie wurde der Kurkuma-Extrakt über 6 Monate angewendet. Der Effekt liegt womöglich an der Induktion der Apoptose von Zellen mit DNA-Schäden [38]. Topische Gel-Formulierungen mit einem Anteil an Curcumin von 1% inhibieren die Phosphorylase-kinase und verbessern die Läsionen bei chronischer Plaque-Psoriasis [39]. Curcumin bewirkt eine Upregulation von p53, was zu einer Apoptose der humanen Basalzellkarzinom-Zellen führt. Außerdem inhibiert es NF- κ B und induziert die Apoptose von menschlichen Melanomzellen [40-41].

Curcumin beschleunigt zudem die Wundheilung. Es inhibiert die Cyclooxygenase-2, Lipooxygenase und die Freisetzung von entzündungsfördernden Zytokinen von Makrophagen und Monozyten. Es unterstützt die Bildung von Granulationsgewebe,

Neovaskularisierung und verstärkt die Synthese von Bestandteilen der extrazellulären Matrix sowie von Kollagen [36,42].

Auch der Extrakt aus der Himbeere wird wegen seiner antioxidativen Eigenschaften für die topische Anwendung geschätzt. Die Forschung steckt hier zwar noch in den Kinderschuhen, aber das Protein-Profil und immunohistochemische Studien auf nackter Mäusehaut zeigen, dass der Extrakt der roten Himbeere die Haut vor UVB-induziertem Zelltod schützen kann und die Haut vor UVB-induzierten Schädigungen wie Falten, schuppige Haut und Wasserverlust bewahren kann. Außerdem schützt der Himbeerextrakt vor der Verdickung der Epidermis, die durch Sonnenschäden entsteht. Zusätzlich zeigte eine Studie, dass die dermale Anwendung des Himbeerextraktes eine effektive Eliminierung oxidativer Schäden der DNA bewirkt [43]. Die Art der Applikation bzw. die Formulierung erfolgte als ethanolischer Extrakt. Hierfür wurde ein getrockneter und pulverisierter Extrakt mit Ethanol vermischt und diese Mischung wurde dann so weit zur Trockene gebracht, dass sich ein brauner Sirup bildete. Der Sirup wurde filtriert und bei -80°C gelagert. Für die topische Anwendung wurde der Extrakt jeweils in Kochsalzlösung resuspendiert. Die Analyse des Extraktes erfolgte mit HPLC, gekoppelt mit einem Dioden-Array detector. Die Zellviabilität (Lebensfähigkeit) wurde spektrophotometrisch bestimmt und mit Western Blot analysiert [43].

Ein weiterer Stoff mit starken antioxidativen Eigenschaften ist der Traubenkern-Extrakt. In einer Formulierung kann Olivenöl als Penetrationsförderer eingesetzt werden. In einer Studie ergab sich durch den hohen Gehalt an Oleinsäure (65%-86%) im Olivenöl eine verbesserte Hautpenetration innerhalb des Stratum corneum und folglich eine höhere transdermale Absorption. Die Resultate dieser nicht-invasiven biophysikalischen Technik waren, dass ein hergestelltes Emulgel die Rauheit, Schuppigkeit, Falten und den Sebumgehalt der Haut um 23-55% verbesserte und die Elastizität und Feuchtigkeit um 32-50% stieg [44]. Eine Emulsion mit Traubenkernextrakt verbesserte in einer Studie die Rauheit, Schuppigkeit, Falten und den Sebumgehalt der Haut um ca. 13 - 26 %. Die Elastizität und Hautfeuchtigkeit stieg zwischen 30 und 45 % [44]. Die Formulierungen mindern wirkungsvoll die exogenen Faktoren des Alterns und den Einfluss von freien Radikalen und oxidativem Stress auf die Haut.

Emulgel ist eine Öl-in-Wasser oder Wasser-in-Öl Emulsion, die mit Gel vermischt wird. Der Öl-in-Wasser-Typ (O/W) wird für lipophile Wirkstoffe verwendet, während der Wasser-in-Öl-Typ (W/O) für hydrophile Stoffe verwendet wird. Emulgele haben mehrere Vorteile wie Thixotropie, eine einfache Anwendung, leicht zu entfernen und sie sind kosmetisch ansprechend durch ihre transparente Optik. Auch ihr gutes Hautpenetrationsvermögen und die lange Haltbarkeit überzeugen [45].

In anderen Studien untersuchte man den Effekt einer Wasser-in-Öl (W/O) Emulsion mit 2% Traubenkernextrakt auf menschlicher Wangenhaut. Man fand signifikante Unterschiede im Vergleich zu Placebo im Bereich Pigmentierung, Elastizität und

Sebumgehalt der Haut. Die entwickelte Gesichtscreme könnte eine effiziente und sichere Methode sein, um eine Vielzahl an Hautproblemen zu verbessern (z.B. Hyperpigmentierung, frühzeitige Hautalterung und Akne) [46].

2.3.2. Verschiedene Vehikel und ihr Effekt auf die Haut

Vehikel sind unerlässlich in jeder dermalen Formulierung. Als Vehikel wird eine Trägersubstanz oder ein Lösungsmittel bezeichnet, das dem Wirkstoff hilft, möglichst in der idealen Wirkform zum Zielort zu gelangen. Beliebte hydrophile Komponenten in dermalen Formulierungen sind Alkohol, Wasser, Propylenglycol und Glycerol. Natürlich gibt es auch lipophile Vehikel wie Triglyceride und Vaseline. Dazu können Enhancer wie Dimethylsulfoxid oder ein Tensid wie Cetylstearylalkohol kombiniert werden um die Wirkstoffaufnahme noch effektiver zu gestalten.

Wasser ist wohl das am weitesten verbreitete Lösungsmittel. Tatsächlich ist es aber ohne Hilfsstoffe nur für das Lösen von hydrophilen Wirkstoffen geeignet. Wasser bewirkt in der Haut einen erhöhten Feuchtigkeitsgehalt im Stratum corneum und der Hautoberfläche. Multiphotonen-Mikroskopie zeigte morphologische Veränderungen in den interzellulären Bereichen des Stratum corneum. Der Effekt von Wasser macht sich vor allem in den Korneozyten bemerkbar, da sich in dieser Schicht ein komplexes Gemisch von wasserlöslichen Bestandteilen mit hoher Affinität für Wasser (= NMF = natural moisturizing factor) befindet. Während die Lipidschicht größtenteils unberührt von der durch Wasser erzeugten Feuchtigkeit sind, werden Lacunae der Desmosomen mit Wasser befüllt, wenn genug/zu viel Feuchtigkeit da ist. Entstehende Wasserräume können die Arzneistoffaufnahme in die Haut erleichtern [47-48]. Wasser kann mithilfe von Gelbildnern in ein Hydrogel umgewandelt werden. Der Vorteil eines Hydrogels ist eine langsamere und konstantere Wirkstofffreisetzung gegenüber einer flüssigeren Zubereitung [49].

Alkohole als Lösungsmittel können einerseits bei ungenügender Löslichkeit der Stoffe in Wasser zugesetzt werden. Sie können aber auch, wie bei halbfesten Formulierungen häufig, die Wirkung des Arzneimittels selbst beeinflussen. Darüber hinaus kann Ethanol als Konservierungsmittel eingesetzt werden, wenn er in einer Konzentration von mindestens 10% in eine Formulierung eingearbeitet wird. Alkohol, als semipolares Lösungsmittel, kann Lipide aus dem Stratum corneum entfernen und kann gebundenes Wasser von den Kopfgruppen der Lipide entfernen, was dazu führt, dass die Hydrocarbon-Ketten sich verschränken. Die Wichtigkeit der geordneten Strukturen für eine funktionierende Hautbarriere wurde in Abschnitt 2.1. erwähnt. Alkohol kann auch die Verteilung des Wirkstoffes im Stratum corneum verbessern, da er die Löslichkeit verbessert [50-51]. Ethanol wird bei der Anwendung auf der Haut fast nicht resorbiert, sondern verdunstet, was einen kühlenden Effekt verursacht. Jedoch hinterlässt er eine trockenere Haut, die bei zu hoher Konzentration des Alkohols zu Schuppung und zu Irritationen neigt.

Propylenglycol wird häufig verwendet, wenn man mit Wasser den Stoff nicht ausreichend lösen kann. Zusätzlich dient es als Feuchthaltemittel und Weichmacher. Außerdem wirkt Propylenglycol konservierend, wenn es in einer Konzentration von 15 bis 20% eingesetzt wird. In der Haut kämpft es um die Bindungsstelle mit Wasser, löst Keratin und interkaliert selbst in den polaren Kopfgruppen der Lipiddoppelschicht. Studien zeigen, dass Propylenglycol die Penetration von jeglichen Substanzen fördert, besonders jene von Hydrophilen. Außerdem bewirkt es einen höheren Fettgehalt in tieferen Hautschichten und eine Umsortierung der Lipide in Richtung weniger strukturiert [48,52].

Glycerol wird in Rezepturen meist als polares Lösungsmittel oder Feuchthaltemittel eingesetzt. Es erzeugt auch in der Haut langanhaltende Feuchtigkeit, da es Wasser bindet und in der Haut hält. Glycerol kommt selbst als natürlicher Feuchtigkeitsfaktor im Stratum corneum vor. Es verbessert die Funktion der Hautbarriere und die mechanischen Eigenschaften der Haut. Es schützt die Haut vor irritierenden Stimuli und beschleunigt die Wundheilung. Sogar antimikrobielle Effekte wurden in Studien gezeigt. Die topische Anwendung von Produkten, die Glycerol enthalten, kann nachweislich den Hautzustand bei Trockenheit und geschädigter epidermaler Barrierefunktion (wie bei atopischer Dermatitis) verbessern [53-54].

Polare Enhancer wie Dimethylsulfoxid (DMSO) können Sphingolipide aus der Haut extrahieren und wirken als Penetrationsförderer. Dimethylsulfoxid hat zusätzlich analgetische und antiphlogistische Eigenschaften [55].

Lipophile Vehikel wie Triglyceride oder dünnflüssiges Paraffin können lipophile Wirkstoffe lösen und sie so für die dermale Anwendung geeignet machen. Nicht selten kommen diese Lösungsmittel auch als Vehikel oder Grundlagen in Rezepturen vor, in denen Wirkstoffe auch als Feststoffe suspendiert vorliegen. Ein Vorteil von Suspensionssalben ist, dass eine konstantere Penetrationsgeschwindigkeit erreicht werden kann [55]. Bei Verwendung von Paraffin als Vehikel weist die Haut für die hydrophilen Modellarzneistoffe eine höhere Permeabilität auf als für die lipophilen. Diese Ergebnisse werden auch in Studien von Blank, Lee et al. und Wenkers und Lippold bestätigt [56-57].

Manchmal werden auch organische Lösungsmittel eingesetzt, die als Gefahrenstoff klassifiziert sind und bei verstärkter Aufnahme ein Gesundheitsrisiko darstellen können. Dazu gehören Aceton, Butanol, Propanol und auch Ethanol. Werden solche Inhaltsstoffe aber den ICH-Richtlinien (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use) gemäß eingesetzt, sind sie nicht limitiert und meist in einer verträglichen Menge [55].

Lipophile Lösungsmittel wie n-Octanol, Laurocapram, Isopropyl-Myristat und Ölsäure interagieren mit den Lipiden des Stratum corneum und führen zu einer Dilatation der Hornzellen, was wiederum zu einer erleichterten Penetration von Stoffen führt. Genau dieser Effekt wurde bei einer Mischung aus Cyclohexan:Ethanol (4:1) beobachtet.

Laurocapram stört die Lipiddoppelschicht und erhöht die Fluidität und Permeation in die Lipidregionen der Haut. Es verflüssigt auch die hydrophoben Regionen der Lamellenstrukturen. Es wirkt penetrationsfördernd für lipophile sowie hydrophile Substanzen [58].

Ein beliebtes Mittel, um eine effektivere Wirkstoffaufnahme zu erreichen, ist auch die Verwendung von Vaseline. Das salbenartige Gemisch aus festen und flüssigen Kohlenwasserstoffen dringt nicht in die Haut ein, sondern bleibt auf der Hautoberfläche liegen. Dadurch wird ein sogenannter Okklusionseffekt erzeugt, was dazu führt, dass die darunterliegenden Poren aufquellen und Wirkstoff leichter in die Haut eindringen kann. Außerdem vermindert Vaseline den transepidermalen Wasserverlust um bis zu 90% [59].

Wenn ein Wirkstoff sehr schwer löslich ist, kann man auf die Zugabe von Tensiden zurückgreifen. Tenside verringern die Oberflächenspannung von Flüssigkeiten und so können sich eine lipophile und hydrophile Phase leichter vereinigen. Tenside beeinflussen jedoch besonders in hohen Konzentrationen angewandt das Gleichgewicht der Haut stark, da sie auch in die Haut penetrieren können. Je nach Tensid kann das zu Irritationen, Rötungen und Juckreiz führen [60].

2.4. Die porcine Haut

Möchte man ein Tierhautmodell für klinische Studien verwenden, so muss entweder die Absorptionsrate mit menschlicher Haut vergleichbar sein, oder es muss einen konstanten Umrechnungsfaktor zur menschlichen Haut geben [61]. Schweinehaut wird gerne als Modellhaut verwendet, da sie in ihren Eigenschaften der menschlichen Haut in Bezug auf die Permeabilität qualitativ und quantitativ sehr ähnlich ist [62-63].

In einer kürzlich veröffentlichten Studie wurde die Dicke von Human- und Schweinehaut erhoben. Die Dicke des Stratum corneum beim Schwein beträgt 17-28 μm und die Epidermis ist 60-85 μm dick. Zum Vergleich: Beim Menschen beträgt die durchschnittliche Dicke des Stratum corneum 18,3 μm am inneren Unterarm, 11,0 μm an der Schulter und 14,9 μm an der Gesäßbacke. Die korrelierende Dicke der Epidermis betrug 56,6 μm am inneren Unterarm, 70,3 μm an der Schulter und 81,5 μm an der Pobacke [64-65]. Somit beträgt die Dicke des menschlichen Stratum corneum im Durchschnitt 14,7 μm und die Dicke der Epidermis 69,5 μm und ist daher ideal vergleichbar mit der Schweinehaut. Hinzuzufügen ist, dass die Dicke der Hornhaut beim Menschen stark von Einflussfaktoren wie Rauchen, Pigmentierung und Beanspruchung der Hautstelle abhängig ist [65].

In Bezug auf die Behaarung gibt es deutliche Unterschiede zwischen Mensch und Schwein. Auf 1 cm^2 Haut werden beim Schwein zwischen 11 und 25 Haare gezählt, die im Durchschnitt eine Dicke von 58-97 μm und eine mittlere Eindringtiefe von

1,20 mm aufwiesen. Die Poren weisen einen Durchmesser von ungefähr 200 μm auf. Beim Menschen ragen Haare meist mehr als 3 mm in die Haut. Die durchschnittliche Porengröße beim Menschen beträgt 66 μm (Stirn) bis 78 μm (Unterarm), was einem Drittel der Schweinepore entspricht. Nur am menschlichen Unterschenkel lässt sich eine dem Schwein ähnliche Porengröße von 170 μm feststellen. Die Tiefe der Haarfollikel liegt beim Schwein sowie beim Menschen bei ungefähr 0,5 mm, was circa der Hälfte der in der Haut liegenden Haarlänge entspricht [66].

In einer Studie von Ute Jacobi vom Department of Dermatology an der Charité in Berlin zeigten Schweinohren speziell bei der Permeabilität von hydrophilen Substanzen eine starke Äquivalenz zur humanen Haut [64-66]. Diese Studie ist besonders bedeutsam, da es sich beim Ginsengextrakt um ein in Wasser lösliches Produkt handelt. Die Beteiligten an der Studie weisen aber ausdrücklich darauf hin, dass die Absorption besonders von der untersuchten Hautstelle abhängig ist [67].

2.5. Ginseng in Dermatika und Kosmetika

2.5.1. Herkunft der Pflanze

Die Wurzel (Abbildung 4) mit Stammpflanze *Panax ginseng* stammt ursprünglich aus den Bergregionen in Nordost- und Zentralchina sowie Nordkorea und wird seit vielen tausenden Jahren in der Pflanzenmedizin eingesetzt [10,68-69]. Die in Europa angebotene Handelsware kommt ausschließlich aus Kulturen. Der Hauptproduzent für Ginsengprodukte ist Südkorea. Daneben gibt es immer mehr Produkte, die aus China importiert werden [9].



Abbildung 4: Bild einer Wurzel von *Panax ginseng* [70]

Panax ginseng ist eine mehrjährige Staudenpflanze, die in den Bergwäldern der Mandschurei und Nordkoreas wild vorkommt. Sie wird circa 60 cm hoch und die grünlich-gelben Blüten bilden eine Dolde. Die Pflanzen gedeihen in natürlichen Vorkommen nur im Halbschatten und müssen daher in der Zucht künstlich beschattet werden. Die Wurzeln sind bei der Ernte zwischen 8 cm und 20 cm groß. Zur Gewinnung der Ganzdroge werden die dünneren Enden von Haupt- und Nebenwurzeln abgeschnitten. Die abgeschnittenen Teile bilden als „slender tails“ ein eigenes Handelsprodukt [9].

Die Ginseng Art kann in drei Typen unterteilt werden: Wenn er weniger als vier Jahre kultiviert und geerntet wurde, wird er als frischer Ginseng bezeichnet, weil er als Frischpflanze konsumiert wird. Wenn er zwischen vier bis sechs Jahre kultiviert und geerntet wird, wird er sofort nach der Ernte vom Periderm befreit und getrocknet. – Diese Zubereitung wird als Weißer Ginseng bezeichnet. Zu guter Letzt gibt es noch jenen Ginseng, der länger als sechs Jahre wachsen durfte. Er wird nach der Ernte bei etwa 100°C für zwei bis drei Stunden gedämpft. Danach wird er so lange getrocknet, bis nur mehr eine Restfeuchtigkeit von maximal 15% enthalten ist. Dieser Ginseng wird Roter Ginseng genannt [1,12].

Durch sein Aussehen wird die Ginsengwurzel häufig im anthroposophischen Glauben als menschenähnliche Gestalt wahrgenommen [71]. In Asien galt die Ginsengwurzel als Sinnbild für Gesundheit und ein langes Leben und war den Königen vorbehalten. Sie war daher wertvoller als Gold. Erst ab dem 17. Jahrhundert wurde sie in Europa populär. Seefahrer aus arabischen Ländern brachten die Wurzel mit nach Spanien. Dort wurde sie aber bald wieder vergessen. Erst seit dem 20. Jahrhundert wurde sie wiederentdeckt und man schätzt seither ihre vielfältigen Wirkungen [2].

Die erwähnten „slender tails“, also die Seitenwurzeln und Wurzelhaare, weisen einen besonders hohen Ginsenosidgehalt auf. Sie enthalten im Vergleich zur Hauptwurzel mehr Rindenparenchym, in dem die Ginsenoside enthalten sind. Seltsamerweise wird aber in der Traditionellen Chinesischen Medizin meist nur die Hauptwurzel verwendet. Dies liegt wahrscheinlich daran, dass sie der menschlichen Gestalt mehr ähnelt. Dennoch können die Seitenwurzeln zur Herstellung von Ginsengextrakt verwendet werden [9].

In dieser Arbeit wurde ein Extrakt vom Roten Ginseng (HWI development GmbH, Straßburgerstr. 77, 77767 Appenweier) verwendet, der freundlicherweise von Herrn Benno von Sobbe von der Firma KGV-Korea Ginseng Vertriebs GmbH in Arzneibuchqualität bereitgestellt wurde.

2.5.2. Inhaltsstoffe der Ginsengwurzel

Ginseng-Produkte werden heutzutage meist als sogenannte Tonics eingesetzt. Mit der Zeit wurde das Wort Tonic gegen die Bezeichnung „Adaptogen“ ersetzt, was so viel bedeutet wie „die Resistenz gegen physischen, chemischen und biologischen Stress erhöhend und die generelle Leistungsfähigkeit sowie die physische und mentale Kapazität verbessernd“ [4]. In der Traditionellen Chinesischen Medizin soll Ginseng Gifte austreiben, gestauten Schleim abfließen lassen und Verwirrung verhindern [2].

Die hauptsächlich wirksamen Inhaltsstoffe im Ginsengextrakt sind die Ginsenoside. Das sind Saponine, von denen nicht weniger als 4% in der Wurzel enthalten sein dürfen [72]. Genauer gesagt, handelt es sich um Triterpensaponine vorwiegend vom Dammaran-Typ (Abbildung 5), also sind sie tetrazyklisch und liegen vorwiegend bisdesmosidisch – also mit zwei Zuckerketten gebunden – vor (Steroidglykoside) [73-74]. Saponine sind glykosidische Pflanzeninhaltsstoffe mit einem Steroid- bzw. Triterpengrundgerüst, die aufgrund ihres amphiphilen Charakters eine Oberflächenaktivität aufweisen. Wenn man sie in Wasser löst, ergeben sie beim Schütteln einen haltbaren Schaum. Saponine gehen mit Cholesterol Komplexe ein und sie weisen eine hämolytische Aktivität auf. Die Zucker sind in ein bis drei Ketten über eine Hydroxylgruppe des Sapogenins oder esterglykosidisch an die OH-Gruppe eines Carboxyls verknüpft. Die Hämolysefähigkeit ist an das Aglykon gebunden und variiert stark in Abhängigkeit von der Struktur. Als wirksamkeitsbestimmende Inhaltsstoffe der Ginsengwurzel gelten in erster Linie die Ginsenoside. Es konnte aber gezeigt werden, dass auch andere Inhaltsstoffe (Polyacetylene und Polysaccharide) zur Gesamtwirkung beitragen [9].

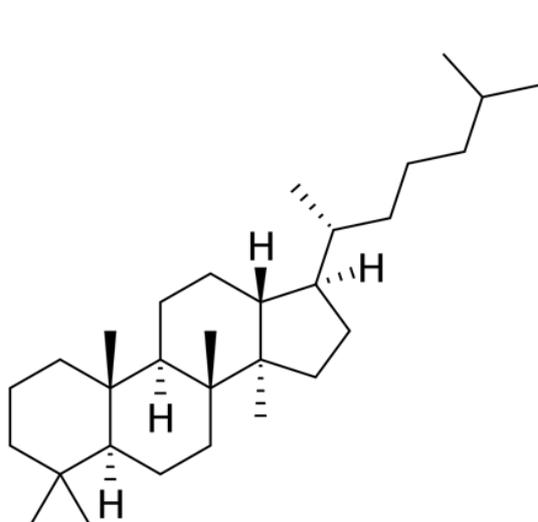


Abbildung 5: Dammaran-Typ der Triterpensaponine [74]

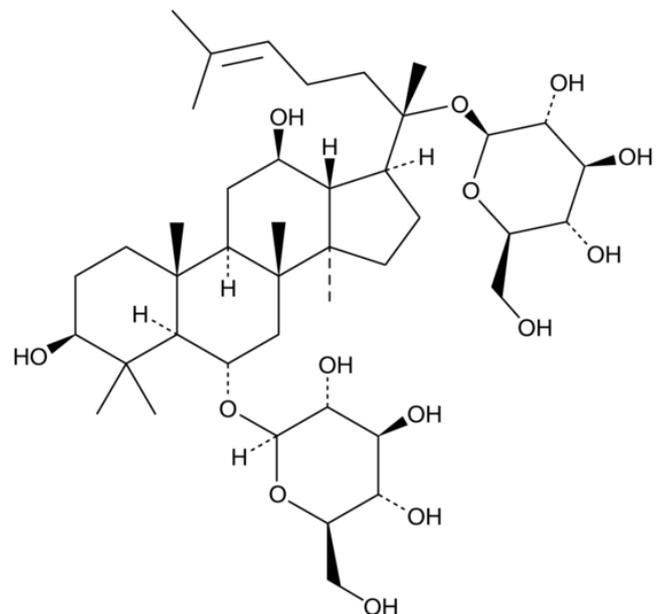


Abbildung 6: Das Ginsenosid Rg1 mit 2 Zuckern. Gut erkennbar ist das Dammaran-Grundgerüst [75]

Basierend auf den chemischen Strukturen der Aglyka werden die Dammaran - Ginsenoside (vgl. Abbildung 8) hauptsächlich in zwei Typen eingeteilt: In den Protopanaxadiol (PPD) - Typ, zu dem auch das Ginsenosid Rb1 gehört, und den Protopanaxatriol (PPT) - Typ, zu dem das Ginsenosid Rg1 (siehe Abbildung 6) zählt [10,75]. In Abbildung 7 sieht man eine Gegenüberstellung der zwei Typen.

Typischerweise enthalten die im Handel erhältlichen dermalen Produkte Ginsengextrakte, die auf 4% Ginsenoside standardisiert sind. Der Gehalt der einzelnen Ginsenoside (Rb1, Rg1) kann aber abhängig vom Extrakt stark schwanken [76-77].

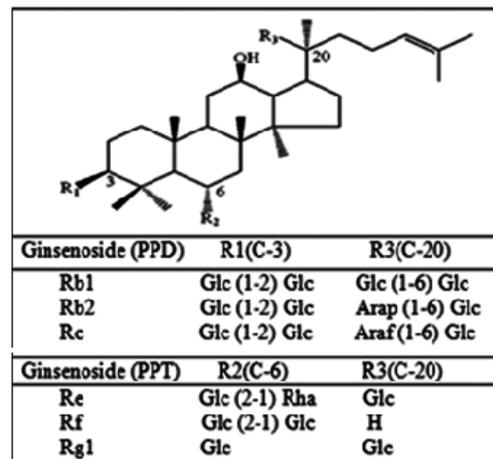
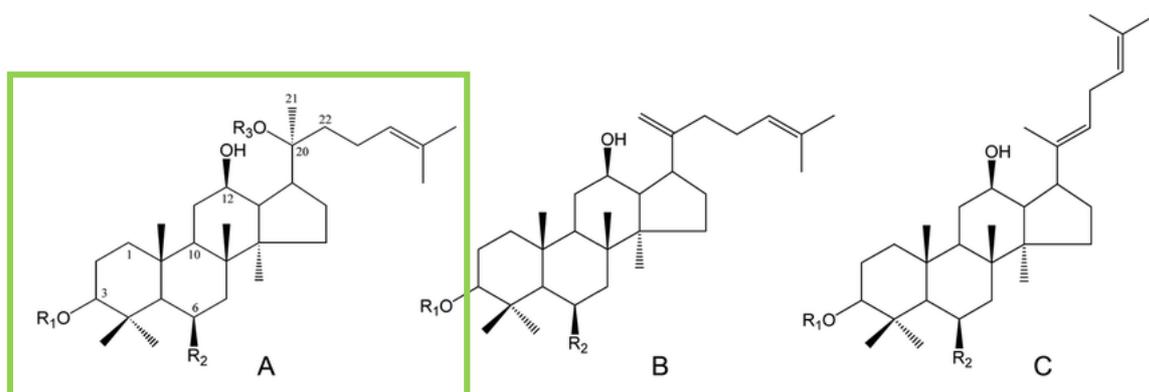


Abbildung 7: Chemische Strukturen von PPD- und PPT-Ginsenosiden und Rb1 und Rg1 im Vergleich. [78]



Structure	Group	Ginsenoside	R ₁	R ₂	R ₃
A	PPD	Rb ₁	Glc(2←1)Glc	H	Glc(6←1)Glc
		20(S,R)-Rg ₃	Glc(2←1)Glc	H	H
	PPT	Rg ₁	H	OGlc	Glc
		20(S,R)-Rh ₁	H	OGlc	H
B	DHPPD-I	Rk ₁	Glc(2←1)Glc	H	
	DHPPT-I	Rk ₃	H	OGlc	
C	DHPPD-II	Rg ₅	Glc(2←1)Glc	H	
	DHPPT-II	Rh ₄	H	OGlc	

Abbildung 8: Die chemische Struktur der Ginsenoside des Dammaran-Typs. PPD (Protopanaxadiol), PPT (Protopanaxatriol), DHPPD (Dehydroprotopanaxadiol), DHPPT (Dehydroprotopanaxatriol) [11]

Für eine längerfristige und vorbeugende Wirkung muss Ginseng je nach Studie mindestens 8 – 16 Wochen eingenommen werden [8]. In einer anderen Studie wurde

die Wirkung sogar erst nach vier Monaten konstanter Einnahme von zwei Kapseln pro Tag evaluiert [79]. Pharmakokinetik und Metabolismus der Saponine sind bisher nur sehr lückenhaft untersucht. Es gibt keine bis wenig Evidenz, dass Ginsenoside mit den CYP-Enzymen und deren Aktivität interagieren [80-81]. Ginsenoside werden fast nicht absorbiert, aber in der Mikroflora des Darms deglykosyliert. Die Metabolisierung führt zu einer besseren Bioverfügbarkeit, einer besseren Resorption und möglicherweise verbesserten biologischen Effekten als im unmetabolisierten Zustand [76,82]. Sowohl bei den Protopanaxadiol (PPD) als auch den Protopanaxatriol (PPT) - Ginsenosiden gelangen hauptsächlich monoglucosidierte Abbauprodukte zur Resorption und nicht die entsprechenden Aglyka. Sie können daher innerhalb der Ginsenoside als die eigentlichen Wirkstoffe angesehen werden. Die resorbierten Substanzen werden in der Leber mit Fettsäuren verestert, ähnlich wie im Cholesterinmetabolismus [83].

2.5.3. Wirkung der Inhaltsstoffe

Die möglichen Einsatzgebiete sind weit gefächert. Fest steht, dass *Panax ginseng* dezent den Blutzuckerspiegel senkt und somit den Effekt von herkömmlichen oralen Antidiabetika potenzieren könnte, wobei das noch in keiner Studie bestätigt wurde [84]. Eine Studie mit Ginseng bei nicht-Insulinabhängigem Diabetes konnte eine Aufhellung der Stimmung, eine Verbesserung der psychophysischen Performance, eine Verringerung des Nüchtern - Blutzuckers und eine Reduktion des Körpergewichts zeigen. Zusätzlich resultierte eine Verbesserung des HbA1c-Wertes [85].

Forschungen zeigen, dass der Extrakt von Ginseng möglicherweise einen Effekt auf die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse, kurz HPA-Achse, und das Immunsystem hat und dies für die Wirkung verantwortlich ist. Die HPA-Achse ist ein komplexes System neuroendokriner Signalwege und Feedback-Mechanismen, die mit Anpassung verschiedener physiologischer Prozesse auf Stressoren reagiert [86]. Außerdem soll Ginseng die Phagozytose der natürlichen Killerzellen verstärken, die Produktion von Interferonen fördern und die Resistenz gegen exogenen Stress erhöhen [87]. In einer Studie mit 227 gesunden Freiwilligen, die eine Influenza-Impfung erhalten hatten, konnte man durch die zusätzliche Gabe von Ginsengextrakt die Immunantwort verbessern. Dies resultierte darin, dass die PatientInnen, die die Impfung in Kombination mit Ginseng erhalten hatten, weniger häufig an Grippe und Erkältungen erkrankten [88].

In einer Studien aus den Jahren 2005 und 2008 konnte gezeigt werden, dass eine Einnahme von Ginseng über eine längere Zeit die Dauer und Häufigkeit von Erkältungen vermindert [8,79]. In einer anderen Studie konnte eine verstärkte Chemotaxis, Phagozytose und erhöhte Anzahl an Lymphozyten und T-Helferzellen festgestellt werden [89].

In einer Studie mit 112 gesunden Freiwilligen über 40 Jahre konnte man einen positiven Effekt auf die Reaktionsgeschwindigkeit und das abstrakte Denken nachweisen, jedoch keinen Effekt auf die Konzentrationsfähigkeit [90]. Zwei andere

kleinere Studien mit je 30 freiwilligen Probanden stellten eine Verbesserung psychomotorischer Fähigkeiten, sozialer Kompetenzen und der mentalen Gesundheit fest, wobei manche der Effekte acht Wochen nach Beendigung der Einnahme wieder verschwanden [91]. Seit 2016 weiß man über die neuroprotektiven Eigenschaften von Ginseng Bescheid, was ihn zu einem erwägenswerten Mittel in der Therapie von Alzheimer macht [5]. In einer Studie aus Schweden bekamen 384 zufällig ausgewählte Frauen in der Menopause über 16 Wochen entweder Placebo oder Ginsengextrakt und es wurde eine Verbesserung der Gesamtsymptomatik festgestellt. Jedoch konnte man keinen Effekt auf die hormonbedingten Symptome wie Hitzewallungen, Östrogen-Level etc. feststellen, wodurch man ausschließen konnte, dass die Wirkung des Ginseng auf hormonellen Veränderungen beruht [92].

Zu guter Letzt konnte eine Studie aus Korea zeigen, dass das Risiko an Krebs zu erkranken durch die Einnahme von Ginseng signifikant gesenkt werden kann [93]. Dabei gibt es eine Dosis-Wirkungsbeziehung, wobei das Risiko mit einer erhöhten Einnahme von Ginseng generell sinkt. Sollte ein Krebs aufgetreten sein, lindert Ginseng die Nebenwirkungen wie Müdigkeit während einer Krebstherapie [7,94]. Außerdem verbessert er die Chancen auf Therapieerfolg [3].

In manchen Arbeiten wurde gezeigt, dass die bei der Krebstherapie entstehende Mucositis durch Ginseng gelindert bzw. verhindert werden kann. Dies geschieht durch die Hemmung der HaCaT-Zell-Apoptose und die Inhibierung der Bildung von ROS, die durch die Strahlentherapie induziert werden [12]. Zudem stabilisiert der Ginsengextrakt das mitochondriale Membranpotential und macht die Expression des ataxia telangiectasia mutated Protein (ATM)-p53 und des c-Jun N-terminalen Kinase (JNK)-p38 Signalweg rückgängig, der durch die Strahlung signifikant erhöht wurde [95]. Positive Effekte werden besonders für die Einnahme von frischem Ginsengtrockenextrakt und flüssigem Ginsengextrakt festgestellt. Frischer Ginseng, Ginsengsaft und Ginsengtee zeigten keine vergleichbar starke Wirkung [6]. Als wirksames Arzneimittel wird immer der Gesamtextrakt betrachtet [1].

Einzelnen Ginseng-Inhaltsstoffen können bestimmte Wirkungen zugesprochen werden. Die Ginsenoside sind dabei am besten untersucht. Sie haben die Fähigkeit den Metabolismus von cAMP (cyclic adenosin monophosphat), Adrenalin und biogenen Aminen zu beeinflussen [1]. Ginsenosid Rg1 wirkt stimulierend und erhöht den Blutdruck. Ginsenosid Rg2 wirkt beruhigend und blutdrucksenkend. Somit bewirkt der Ginseng eine Regulierung des Blutdrucks und eine Steigerung der Herzkraft [2]. Rg1 stimuliert das ZNS, steigert die Protein-, DNA- und RNA-Synthese, während Rb1 beruhigende Wirkung auf das ZNS ausübt und zerebrale Funktionen des kognitiven Bereichs (Aufmerksamkeit, Konzentration, Merkfähigkeit, Gedächtnis) aktiviert [9].

Polysaccharide des Ginseng sind immunmodulierend, zytoprotektiv, zytotoxisch und wirksam bei einer *Helicobacter pylori* Infektion [96]. Die Immunmodulation kommt durch die gesteigerte Aktivität natürlicher Killerzellen, eine vermehrte Interferon- und Komplementproduktion, eine Zunahme der Phagozytoseaktivität des

retikuloendothelialen Systems sowie eine Hemmung der alkalischen Phosphatase zustande [9].

Polyacetylene des Ginseng zeigten *in vitro* eine zytotoxische, entzündungshemmende und blutplättchenaggregationshemmende Wirkung [9]. Bei operativen Eingriffen sollte Ginseng mindestens sieben Tage davor abgesetzt werden, da er die Blutgerinnung beeinflusst.

2.5.4. Ginseng auf der Haut

Ginseng wird in Bezug auf die Haut eine positive Wirkung gegen lichtbedingte vorzeitige Hautalterung, Faltenbildung und Melanogenese zugeschrieben [12]. Die hauptsächlich wirkungsbestimmenden Substanzen sind auch hier die Ginsenoside, die aufgrund der Anti-Falten-Wirkung und hautaufhellenden Wirkung einen „Anti-Aging-Effekt“ erzielen können [97]. Zu den durch UVB-Strahlung induzierten Alterungsprozessen der Haut gehört die Verdickung der Haut, die Reduktion der Hautelastizität und die Bildung von Falten. UVB-induzierte ROS-Produktion bedingt eine Up-Regulation von MMP-1 und einen Abbau von Kollagen. Ginseng kurbelt die Kollagensynthese an und hemmt die Expression von Matrix-Metalloproteasen in dermalen Fibroblasten. Daraus resultieren eine verbesserte Elastizität und eine verringerte Faltenbildung [98-99]. Ginseng steigert die Enzymaktivität antioxidativer Enzyme, ebenso wird der Wassergehalt der Haut verbessert. Der Anti-Aging-Effekt gelingt auch durch die Hemmung der 11β -Hydrosteroid-Dehydrogenase Typ 1, das inaktives Cortison in aktives Cortisol umwandelt und deren Expression und Aktivität durch Sonneneinstrahlung gefördert wird, wodurch die Haut schneller altert (Photaging) [98]. *Panax ginseng* wird nachgesagt, dass er die Produktion von VEGF und $TNF-\alpha$ inhibiert, die durch UVB-Strahlung via NFAT-Signalweg induziert werden. Genau das könnte vor UVB-induzierten Hautschäden schützen [100].

Ginsenosid Rb3 kann die erhöhte Aktivität von Pro-Matrix Metalloproteinase-2 und -9 (proMMP-2 und -9) hemmen sowie die Glutathion- und Superoxid-Dismutase-Spiegel verbessern, die beide durch UVB unterdrückt werden, und somit die verstärkte Bildung von ROS inhibieren. Daher kann man statuieren, dass das Ginsenosid Rb3 als potenter antioxidativer Stoff in Bezug auf lichtbedingte Hautschäden agiert [101]. Auch das Ginsenosid Rg3, das man in hohen Konzentrationen in rotem Ginseng findet, zeigt einen signifikanten Schutz vor DNA-Schäden durch UV- und Infrarot – Strahlung [98].

Darüber hinaus hat Ginseng einen entzündungshemmenden Effekt bei atopischer Dermatitis. Zu diesem Resultat kam eine Studie, die zeigte, dass die Stimulation humaner Keratinozyten (Abbildung 9) mit dem Extrakt aus rotem Ginseng in einer LPS-induzierten Zytokinsekretion resultierten, wobei eine erhöhte immunsuppressive Antwort festgestellt wurde. Dadurch wurden die entzündungsfördernden Zytokine $TNF-\alpha$ und IL-8 in ihrer Produktion gehemmt [102]. Zusätzlich wurde die Aktivität freier Radikale und von Superoxid-Dismutase in dermalen Fibroblasten reguliert und

vermindert [12,35,103]. Ginseng kann die Expression von proinflammatorischen Regulatoren wie Chemokinen und Cytokinen des MAP-Kinase Signalweges (mitogen activated protein kinase) unterdrücken. Durch die Erhöhung von Filaggrin-Protein- und Capsase-14-Level, die die Bildung von verhornten Zellen verstärken, kann die Hautbarriere geschützt werden [104].

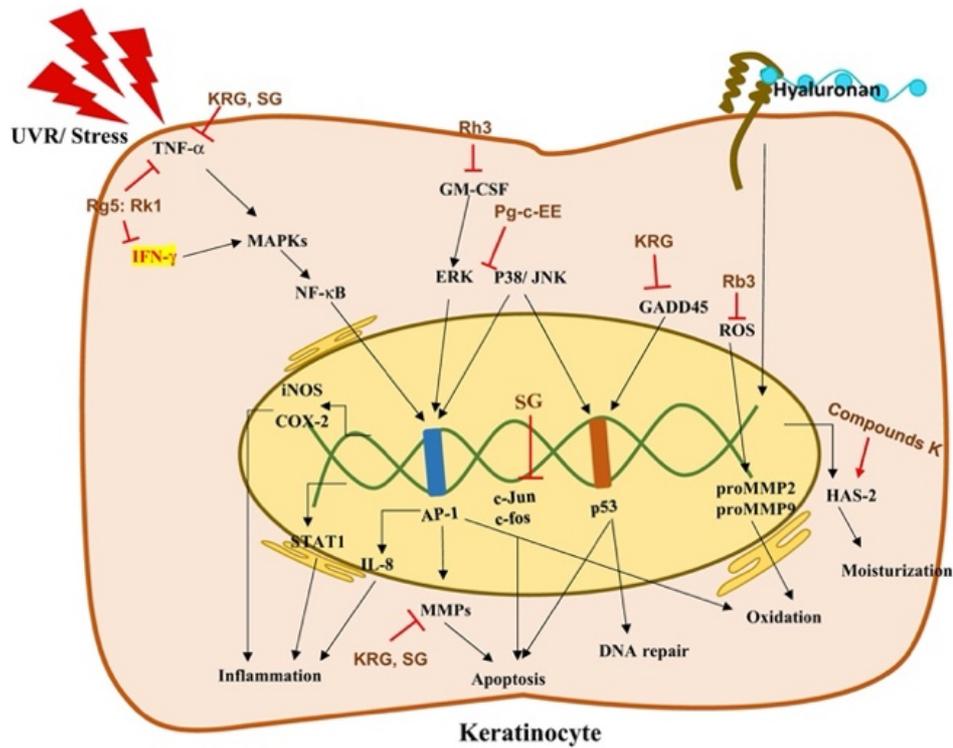


Abbildung 9: Effekt von koreanischem Ginseng auf Keratinozyten [12]

Koreanischer Roter Ginseng kann die Zellen vor DNA-Schäden durch eine erhöhte Lebensdauer der Zellen und die Modulation des p53-Signalwegs schützen [105]. Fibroblasten (Abbildung 10) sind die Hauptzellen des Bindegewebes. Sie synthetisieren die Bestandteile der Zwischenzellsubstanz, der extrazellulären Matrix und Fasern, wie Kollagen.

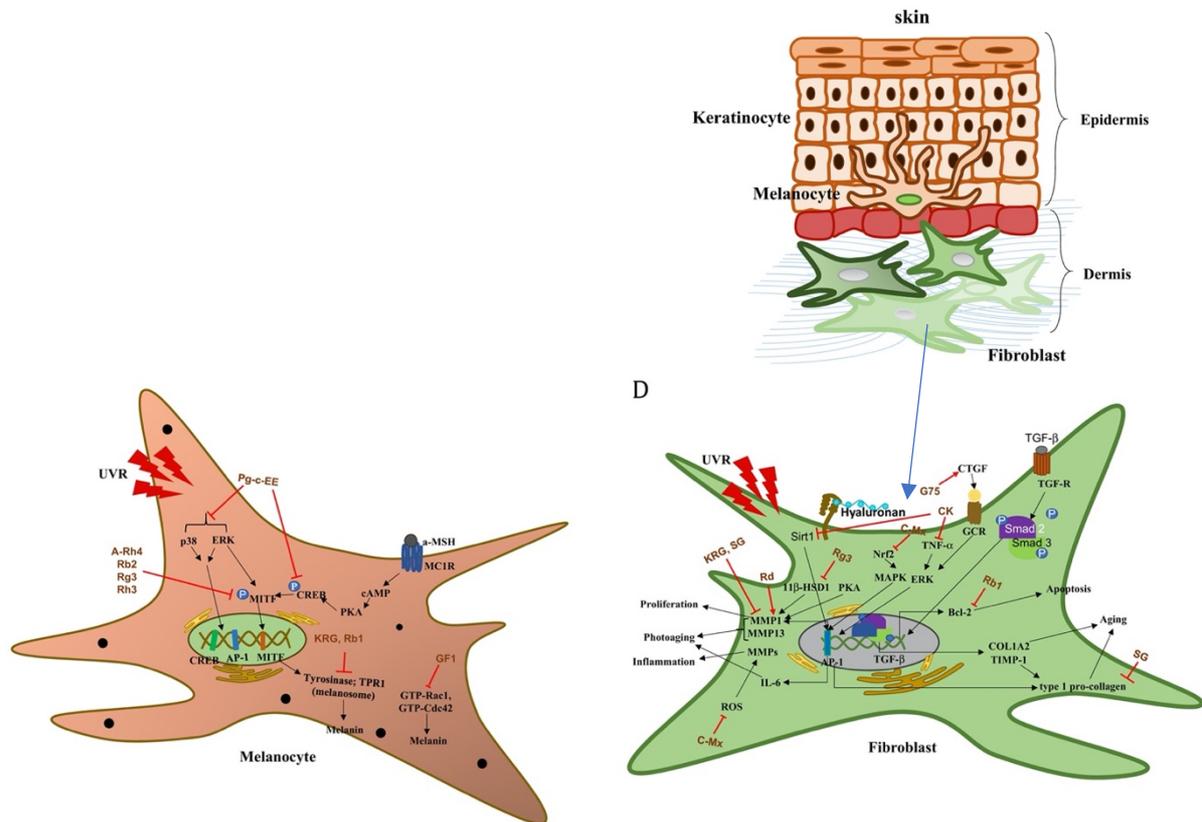


Abbildung 10: Einfluss von koreanischem Ginseng auf Melanozyten und Fibroblasten bildlich dargestellt [12]

Die Hauptfunktion der Melanozyten ist die Produktion von Melanin und Melanosomen, wodurch die Hautfarbe entsteht, die in weiterer Folge für die Resistenz gegen Sonneneinstrahlung und die Melanogenese verantwortlich sind [106]. Durch Hemmung der Tyrosinase wird die Melaninsynthese unterdrückt [107]. Ginseng inhibiert auch jene Transkriptionsfaktoren bzw. Signalwege, die für die Bildung von Melanin zuständig sind und schützt Fibroblasten und Keratinozyten. Daraus resultiert der hautaufhellende Effekt [97]. Den genauen Reaktionsweg kann man mithilfe von Abbildung 9 nachvollziehen.

Frucuts *Panax ginseng*-Extrakt kann auch die Anaphase des Zellzyklus bzw. Haarzyklus verlängern, sodass er in vivo gegen Haarverlust wirkt und die Haar-Regeneration unterstützt [108].

2.5.5. Stabilität der Ginsenoside

In dieser Arbeit wollte man die Stabilität der Ginsenoside in Hydrogelen überprüfen. In früheren Studien wurden Stabilitätsuntersuchungen mit anderen Formulierungen unternommen. In einer Studie waren die Ginsenosid-Standards für Rg1 und Rb2 im Rohzustand über das Temperaturspektrum 25, 30 und 40°C (jeweils rel. Luftfeuchtigkeit: 75%) instabil. Ginsenosid Rg1 unterlag einer Zersetzung von 4,67%, 6,1% und 6,98% und Ginsenosid Rb1 verlor ungefähr 3,63%, 6,45% und 9,96% über einen Beobachtungszeitraum von 6 Monaten (an CH1, CH2 und CH3). Der Zerfall vervielfachte sich aber bei der Beobachtung über 24 Monate. Zum Ende der Studie erreichte der Abbau 15,8%, 21,6% und 26,5% bei Ginsenosid Rg1 bzw. 15,25%, 20,51% und 26,25% bei Ginsenosid Rb1. Das entspricht einer Zerfalls-Kinetik erster Ordnung. Die Daten können mithilfe von Abbildung 11 nachvollzogen werden.

Table 3. Assay percentage results of ginsenoside Rg1 and ginsenoside Rb1 standard materials at different time intervals and temperatures

Time	Ginsenoside Rg1			Ginsenoside Rb1		
	CH1	CH2	CH3	CH1	CH2	CH3
0	100.1	100.1	100.1	100	100	100
6	95.33	93.90	93.02	99.83	99.33	98.53
12	91.37	88.81	85.54	93.55	88.73	84.18
18	87.03	83.82	78.86	89.21	84.03	79.74
24	84.10	78.37	72.31	84.75	79.49	73.75

Abbildung 11: Genaue Daten zur Zerfallskinetik der Ginsenoside Rg1 und Rb1 [112]

Es wurde festgestellt, dass eine saure Hydrolyse des Ginsengs durch eine Epimerisation, Zyklisierung und Hydrierung von 20S-Protopanaxadiol und 20S-Protopanaxatriol charakterisiert ist. Im Alkalischen und in Phosphatpuffer pH 7,4 ist Ginseng stabil. Diese Ergebnisse decken sich auch mit den Studien von Yu et al. aus dem Jahr 2007 [109-110]. Ginsenoside sind über 24 h in Methanol stabil [111].

In einer weiteren Studie blieben Ginsenoside in Wasser gelöst bei neutralem pH-Werten über 40 h bei 37 °C stabil. In einer Protonen-katalysierten Reaktion war ihre Halbwertszeit jedoch nur bei 30 Minuten. Daraus kann man schließen, dass die chemische Zersetzung der Ginsenoside bei sauren pH-Werten wie beispielsweise im Magen recht schnell einsetzt. Die Zersetzung im Darm ist jedoch vernachlässigbar gering [112].

2.6. Formulierungen

In der vorliegenden Arbeit wurden Hydrogele mit Ginsengextrakt (DEV 3-4:1, extraction agent ethanol 60% v/v, ginsenoside content 14-16% w/w nach DAB, Ext.Ch.- B. 25005/01, KGV Korea Ginseng Vertriebs GmbH, Lohmar, DE) als wirksamen Inhaltsstoff formuliert. Es wurden zwei verschiedene Gele mit Carbopol® (Carbopol 980, Polyacrylsäure, Carbomer 50.000, CAS: 9003-01-4) als Gelbildner hergestellt, wobei die Base TRIS (Trometamol, TRIS buffer, CAS: 77-86-1, Caesar & Loretz GmbH, Hilden, DE) jeweils in zwei unterschiedlichen Konzentrationen

eingearbeitet wurde. Die dritte Variante der Rezeptur beinhaltete Hydroxyethylcellulose (HEC, Hydroxyethylcellulosum 250G, CAS: 9004-62-0, Herba Chemosan Apotheker-AG, Wien, Austria) als Gelbildner.

2.6.1. Hydrogele

Hydrogele sind halbfeste Zubereitungen zur kutanen Anwendung. Gele bestehen aus gelierten Flüssigkeiten [113]. Sie sind einphasige Systeme und haben als Gel-bildende Flüssigkeit Wasser. Zu unterscheiden gibt es noch die Oleogele, die als gelbildende Flüssigkeit Öl haben [114]. Die Grundlage von Hydrogelen besteht meist aus Wasser, Glycerol oder Propylenglykol. Um das Hydrogel nun halbfest zu machen, benötigt man sogenannte Gelbildner [115]. Diese quellen auf und sorgen dafür, dass das Wasser gebunden wird (Hydratwasser). Je nachdem welche Konzentration der kettenförmigen hydrophilen makromolekularen Verbindungen verwendet wird, entsteht ein Gel mit anderer Strukturviskosität. Wenn das Gel längerfristig gelagert wird, kann man häufig das Phänomen der Synärese beobachten. Dabei wird ein Teil der Flüssigkeit vom Gel abgeschieden, weil die Kapillarität des Gelgerüsts abnimmt. Dieser Vorgang ist meist reversibel, indem man das Gel leicht erwärmt und wieder verrührt [114].

Weil die wasserhaltigen Gele leicht verderben und austrocknen können, sollten sie immer konserviert werden und nach Möglichkeit in Tuben abgefüllt werden. Es gilt: Je stärker die Hydratation des Gelbildners, umso geringer ist seine Tendenz zur Assoziation. Das bedeutet, dass das Gel umso stabiler ist, desto feingliedriger das Netzwerk des Gelgerüsts ist [114].

2.6.2. Gelbildner

Je nach Anforderung an das Hydrogel können unterschiedliche Gelbildner verwendet werden. In dieser Arbeit wurde vor allem mit HEC (= Hydroxyethylcellulose) und Carbopol® in Kombination mit der Base TRIS (Trometamol) gearbeitet.

HEC ist eines der bekanntesten Zellulosederivate und die Abkürzung steht für Hydroxyethylcellulose. Es handelt sich um einen nicht-ionischen Celluloseether, eine partiell hydroxylierte Cellulose, mit einer mittleren Molekülmasse von etwa 30.000 – 300.000. Die Hydroxyethylcellulosen sind einfach zu handhaben und wurden in dieser Arbeit in warmem Wasser aufgelöst. Es ist aber auch ein Auflösen in kaltem Wasser möglich [114]. Ihre Eigenschaften sind im Wesentlichen abhängig vom mittleren Substitutionsgrad und der Kettenlänge des Moleküls [116]. HEC wird auch in Augen-Zubereitungen verwendet, um die Kontaktzeit des Auges mit der Wirkstofflösung durch Viskositäts-erhöhung zu verlängern [117-118]. Für gewöhnlich verwendet man eine Konzentration von ca. 2,5%. Es entsteht ein thixotropes Gel, wobei die Quellung bei niedrigen Temperaturen begünstigt ist [119].

Eine Studie aus dem Jahr 2019 zur Untersuchung der Hautpenetration von Stoffen, die in HEC-Gelen eingearbeitet wurden, hat herausgefunden, dass mit einer höheren

Konzentration von HEC die Tiefe, in die ein Stoff in die Haut eindringen kann durch die höhere Dichte des Gel-Netzwerkes minimal vermindert wird. Wobei zu erwähnen ist, dass die Menge an Stoff, die in die Haut geht, aber anhaltend konstant bleibt [49].

Beim Auftragen bilden die Gele nach dem Verdunsten des Wassers einen weißlichen, transparenten Film. Dieser kann als störend wahrgenommen werden, da er sich durch Reibung von der Haut ablöst und optisch mit Schuppung verwechselt werden kann. Aufgrund ihres nicht-ionogenen Charakters sind die HEC-Gele mit vielen Arzneistoffen unterschiedlicher pH-Werte verträglich [119].

Die zweite Art wie in dieser Arbeit Gele hergestellt wurden, ist mithilfe von Carbomer als Gelbildner. Carbomer ist ein quer vernetztes Polymer der Acrylsäure (vgl. Abbildung 12) [117,120].

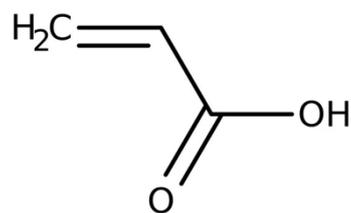


Abbildung 12: Struktur einer reinen Acrylsäure [120]

Carbomer wird unter dem Markennamen Carbopol® verkauft. Alle Polyacrylsäuren am Markt müssen der Arzneibuchmonographie Carbomere entsprechen. In Verwendung sind üblicherweise zwei Sorten: Carbopol® 980, das für halbfeste Zubereitungen verwendet wird, die nicht für Schleimhäute gedacht sind. Des Weiteren Carbopol® 974P, das für Formulierungen verwendet wird, die auch auf Schleimhäuten angewendet werden [121].

Die Carbopole® unterscheiden sich in ihrem Polymerisationsgrad und somit ihrer Molmasse (vgl. Abbildung 13) und dementsprechend in der Viskosität des Gels [122].

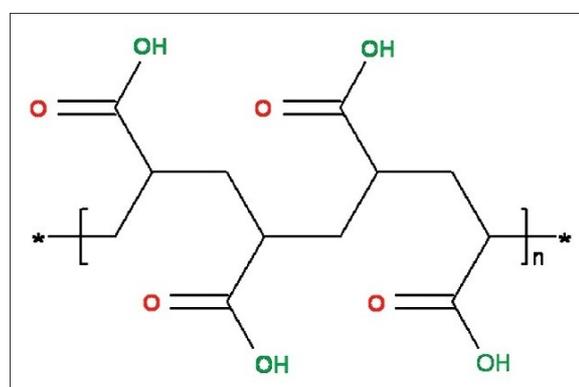


Abbildung 13: Chemische Struktur eines Carbopol®-Polymers [122]

Für die Herstellung benötigt man immer eine Base, da eine Suspension der Substanz einen pH-Wert von 3 aufweist, man diese neutralisieren muss und die Gelbildung erst dann funktionieren kann [123].

Beim Lösen des Gelbildners in Wasser oder Lösungsmittel sind die geknäulten Polymerketten nur leicht gelockert. Durch Zugabe der Base werden die Carboxygruppen deprotoniert und stoßen sich ab. So wird aus den einst geknäulten Polymerketten durch die möglichst weit voneinander entfernte Anordnung der abstoßenden Ladungen eine gestreckte Polymerkette, die Wasser einlagert. Es bildet sich ein Linearkolloidgerüst. Dieses Linearkolloidgerüst wird sichtbar in der Quellung des Gels [119,124]. In dieser Arbeit wurde die Base TRIS (Trometamol, CAS: 77-86-1 | 108307, Caesar & Loretz GmbH, Hilden, Deutschland) verwendet. Andere mögliche Alkalien sind Natronlauge oder Triethanolamin. Nach Zusatz dieser basischen Substanzen kommt es zur Verdickung. Bereits bei einer Konzentration von 0,5% kann man die Gelbildung beobachten [114]. Kationen können zur Verflüssigung des Gels führen [124].

2.7. Rheologische Messungen

Die Rheologie ist definiert als Wissenschaft über die Deformation und Fließeigenschaften der Materie und beschreibt den Zusammenhang zwischen Kraft, Deformation und Zeit [125].

Die klinische Anwendung von halbfesten Zubereitungen wird stark von ihren rheologischen Eigenschaften beeinflusst. Die Effizienz einer Formulierung zur topischen Anwendung ist abhängig von den Freisetzungseigenschaften des Vehikels und der Pharmakokinetik des Wirkstoffes, da er durch die Haut diffundieren muss. Unterschiedliche Vehikel resultieren in unterschiedlichen Konzentrationen des Wirkstoffs an der Hautoberfläche [126]. David S. Jones fand in einer Studie mit bioadhäsiven Gelen heraus, dass mit erhöhter Konzentration eines Gelbildners die Elastizität sinkt, aber die Viskosität steigt. Diese Ergebnisse beziehen sich auf thixotrope Formulierungen mit pseudoplastischem Fließverhalten [127]. Daher ist es wichtig, bei der Formulierungsentwicklung auch die Viskosität zu messen.

Die Viskosität beschreibt das physikalische Verhalten einer Flüssigkeit während sie geschoben wird, d.h. wenn sie als Folge einer Schubspannung eine entsprechende Fließgeschwindigkeit annimmt. Für die grafische Darstellung des Fließverhaltens werden sogenannte Fließkurven verwendet. Die Fließkurve stellt die Schubspannung als Funktion der Schergeschwindigkeit dar, während die Viskositätskurve die Viskosität als Funktion der Schergeschwindigkeit zeigt. Die dynamische Viskosität ist ein beliebter Parameter, um einzelne Punkte der Fließkurve miteinander zu vergleichen. Sie ist als Quotient von Schubspannung und Scherrate definiert. Die Einheit der Viskosität wird üblicherweise in Pascalsekunden [Pas] angegeben. Für niederviskose Flüssigkeiten kann auch die Einheit Millipascalsekunde [mPas] verwendet werden.

Das rheologische Verhalten ist abhängig von der Temperatur und den chemisch-physikalischen Eigenschaften der Formulierung. In manchen Fällen kann auch der Druck eine Rolle spielen [119]. Weitere Charakteristika sind die Scherrate, bei der gemessen wird und in manchen Fällen die Zeit bzw. Dauer, da beispielsweise bei halbfesten Zubereitungen mit hohem Flüssigkeitsgehalt während der Messung Flüssigkeit oder flüchtige Substanzen verdunsten können und dies die Viskosität beeinflusst.

Für die Messungen wurde die Kegel-Platte-Methode verwendet. Mit dem Kegel-Platte-Viskosimeter kann die dynamische Viskosität η von Fluiden bestimmt werden. Die halbfesten Zubereitungen werden in den Spalt zwischen Kegel und Platte eingebracht. Das durch die Wandschubspannung erzeugte Bremsmoment (Drehmoment) ist dabei ein Maß für die dynamische Viskosität η . Für die Messung der dynamischen Viskosität müssen dann bei konstanter Temperatur nur die Winkelgeschwindigkeit (Umdrehungszahl) und das Bremsmoment bestimmt werden. Die Ergebnisse der Untersuchungen mit dem Kegel-Platte-Viskosimeter können von einigen Faktoren beeinflusst werden. Es ist zu beachten, dass insbesondere bei hohen Schergeschwindigkeiten durch Fliehkräfte, Temperaturanstieg infolge Schererwärmung und Schrägstellen oder Aufsitzen des Kegels die Messwerte verfälscht werden können [128].

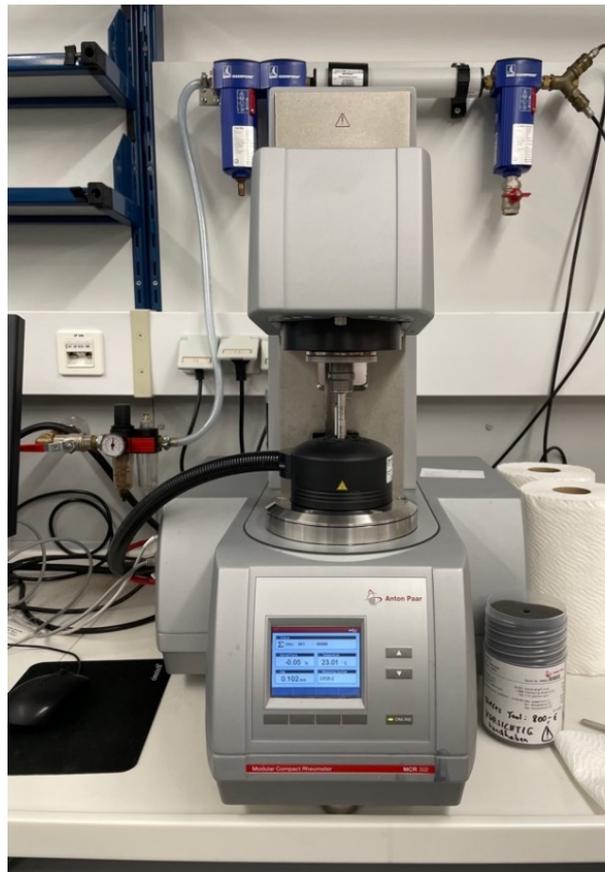


Abbildung 14: Das verwendete Rotations-Viskosimeter der Firma Anton Paar

In dieser Arbeit wurde das Rheometer der Firma Anton Paar vom Typ H-PTD200 (modular compact rheometer MCR 302 with viscotherm VT 2 thermostatic control system und RheoPlus®-Software, Anton Paar GmbH, Austria) (Abbildung 14) verwendet. Die Temperatur wurde konstant auf 23°C gehalten und die Schergeschwindigkeit lag bei 10 m/s.

Die dynamische Viskosität wurde in Abhängigkeit der Scherrate von 1 bis 100 s⁻¹ bei konstanten 23°C gemessen. Das Kegel-Platte-Messsystem war CP-25 mit einem Durchmesser von 25 mm und einem Winkel von 2°. Alle Gele wurden je dreimal vermessen (n=3) und die Messungen wurden in gleichmäßigen Abständen über 12 Wochen wiederholt. Von den Hydrogelen wurden je Messung ungefähr 1,0 g Probe

entnommen. Viskositätskurven wurden erstellt, indem man die dynamische Viskosität η gegen die Scherrate $\dot{\gamma}$ auftrug. Um die dynamische Viskosität der unterschiedlichen Formulierungen zu vergleichen, zog man die Interpolation bei 10 s^{-1} als Referenz heran.

2.8. pH-Messungen

Der pH-Wert wurde ermittelt, da sich Gelbildner und Gele bei unterschiedlichen pH-Werten in ihren Fließeigenschaften, Hautverträglichkeit und Lagerungsmöglichkeiten unterscheiden. Die Gelbildner sind nur in einem gewissen pH-Bereich stabil. Wird dieser pH-Bereich unter- oder überschritten, verflüssigt sich das Gel. Wenn man bestimmte Substanzen in Gele einarbeitet, können diese den pH so weit beeinflussen, dass während der Lagerung das Gel instabil wird und nicht mehr anwendbar ist.

Der pH-Wert ist als negativer Logarithmus der Aktivität von Hydroxonium-Ionen definiert. Um den pH-Wert einheitlich zu definieren, wird eine Skala von 0-14 verwendet. Ein pH-Wert von 0-6 gilt dabei als sauer, ein pH-Wert von 7 ist neutral und ein pH-Wert über 7 gilt als basisch [129]. Diese Konzentration kann durch mehrere Faktoren beeinflusst werden, die auch zur Destabilisierung des Gels führen können. Zuerst spielt die Temperatur bei der Messung eine Rolle. Bei steigender Temperatur nimmt die Dissoziation der Säure zu und der pH-Wert ab. Der pH einer Formulierung kann sich verändern, wenn darin befindliche Stoffe sich zersetzen und mit anderen Stoffen interagieren. Dies kann auch durch Licht induziert werden. In so einem Fall kann sich die Aktivität der Hydroxonium-Ionen ändern und folglich der pH-Wert.

Da in dieser Arbeit Formulierungen zur dermalen Anwendung hergestellt wurden, ist es wichtig den pH in einem gewissen Bereich von 4,5 – 6,5 zu halten um die Mikroflora der Haut nicht zu schädigen und keine Irritationen durch pH-Veränderungen auszulösen. Dies könnte Hauterkrankungen wie Akne durch erleichtertes Bakterienwachstum fördern [130]. In dieser Arbeit wurde das pH-Meter SevenCompact™ der Firma Mettler-Toledo (Ohio, US) für die pH-Messungen verwendet.

2.9. Konfokale Raman-Spektroskopie

Die Raman-Spektroskopie oder confocal Raman spectroscopy (CRS) ist eine bewährte nicht-invasive Methode für Analysen der Haut. Man kann damit sowohl den Cholesterin-Gehalt und den Feuchtigkeitsgehalt der Haut bestimmen, aber auch die Eindringtiefe von bestimmten Stoffen [131-132]. In dieser Arbeit wurde das Raman-Spektrometer der Firma RiverD Internation B.V. (gen2-SCA, RiverD, Rotterdam, Niederlande) verwendet.

2.9.1. Aufbau eines Raman-Mikroskops

Das Raman-Spektroskop braucht zuallererst eine Lichtquelle. Wegen des Funktionsprinzips ist unbedingt ein Laser mit monochromatischem Licht notwendig. Der Laser kann Edelgase wie eine He-Ne-Mischung oder Ar enthalten, aber auch ein Farblaser ist möglich. Es können sowohl feste, flüssige als auch gasförmige Stoffe vermessen werden.

Das Licht muss durch einen Monochromator bzw. Notch Filter geleitet werden. Ein Monochromator ist ein einfaches Gitter, während ein Notch Filter die gewünschte Laserfrequenz reflektiert und anderes Licht ungehindert durchgelassen wird. Zum Schluss wird das Licht von einem Detektor empfangen, der über einen großen Frequenzbereich Strahlung detektieren kann. Die auf dem Photomultiplier auftreffenden Strahlen werden dann in elektrische Signale umgewandelt, die dann als Bild mit einem Analyse-Programm dargestellt werden. Beim Photomultiplier handelt es sich um einen CCD-Sensor (engl. „charge-coupled-device“). Diese Kamera unterteilt das einfallende Licht in die drei Bereiche grün, blau und rot. Diese drei Signale werden verstärkt und dann im Fall dieser Arbeit im Analyse-Tool RiverIcon als Grafik abgebildet.

Die Methode beruht auf der unelastischen Streuung von Licht. Wenn man eine Probe mit monochromatischem Licht bestreut, wird ein Teil davon in seiner Wellenlänge verändert. Dies nennt man auch den „Raman-Effekt“. Der Raman-Effekt beschreibt genau das Gegenteil der normalerweise auftretenden „Rayleigh-Streuung“. Bei der Rayleigh-Streuung bleibt Licht in seiner Wellenlänge und somit Farbe unverändert, wenn es auf einen Gegenstand trifft. Beim Raman-Effekt hingegen ändert das Licht seine Wellenlänge teilweise. Dieses sogenannte Streulicht wird dann mit einem Spektrographen analysiert, nachdem es durch einen optischen Filter von der Anregungswellenlänge geleitet wurde. In Abbildung 15 werden der schematische Aufbau und die einzelnen Streuungen gezeigt.

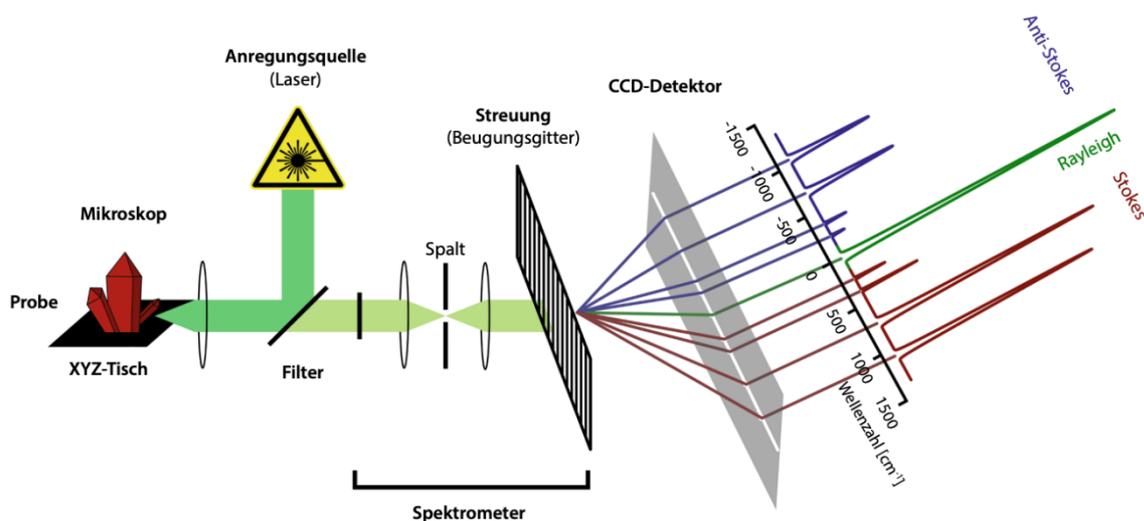


Abbildung 15: Schematischer Aufbau eines Raman-Spektrometers [133]

Das erhaltene Raman-Spektrum zeigt dann bestimmte Banden, die für die Analyse des Stoffes zu Hilfe genommen werden. Auf einem optischen Gitter werden die gestreuten Teile des Lichts nebeneinander abgebildet. Wir erhalten ein Spektrum, das uns Informationen zur chemischen Zusammensetzung, der Kristallinität oder auch zu Temperaturänderungen preisgibt. Viele Substanzen weisen charakteristische Raman-Spektren auf, sodass die Raman-Spektroskopie eine der effektivsten Analysemethoden ist. Ein zusätzlicher Vorteil ist, dass man meist keine aufwändige Probenvorbereitung für die Vermessung braucht [133]. Eine Limitation der Raman-Spektroskopie liegt darin, dass die Probe keine Fluoreszenz gegenüber der Anregungswellenlänge besitzen darf, denn dann würde die Fluoreszenz den Raman-Effekt überdecken [134].

2.10. Permeationsversuche

Die Franz-Diffusionszelle ist ein beliebter Versuchsaufbau um die Permeation von Wirkstoffen durch eine beliebige Membran zu untersuchen. Die Zellen bestehen aus Borsilikatglas und dienen der in-vivo Betrachtung von meist halbfesten Formulierungen.

2.10.1. Aufbau der Franz-Diffusionszelle

Die Franz-Zelle besteht (wie in Abbildung 16 gezeigt) aus einer Donorkammer und einer Akzeptorkammer. Die Probe wird in der Donorkammer eingewogen und die Bestandteile bzw. Wirkstoffe der halbfesten Formulierung werden dann auf ihre Diffusionseigenschaften durch die Membran untersucht.

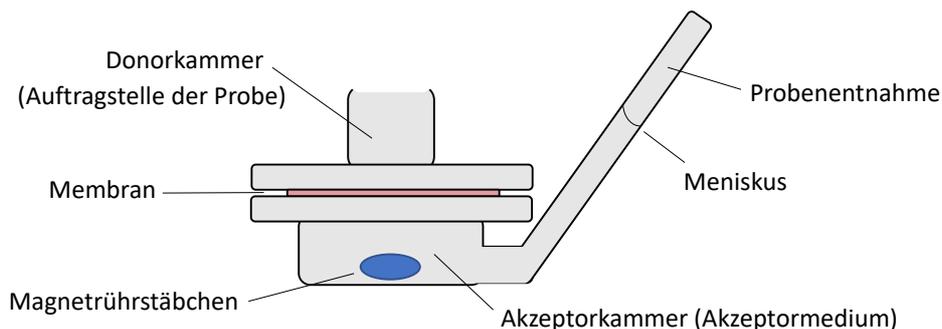


Abbildung 16: Schema des Aufbaus einer Franz-Zelle (Typ PermeGear, USA)

In dieser Arbeit bestand die Membran aus einer porzinen Haut des Ohrs. Dabei wurde die dorsale Seite verwendet. Schweinehaut ist besonders gut geeignet, da sie sehr ähnliche Eigenschaften wie die menschliche Haut besitzt (siehe 2.4. in dieser Arbeit). Falls keine tierischen Häute verfügbar sind, können auch synthetische Membranen, beispielsweise aus Polymethylsiloxan, verwendet werden [135].

Während des Versuchs wird das Akzeptormedium ständig durch das Magnetrührstäbchen gerührt, damit sich keine Sättigung unter der Membran einstellt bzw. die Entstehung von Diffusionsschichten vermieden wird. Das bedeutet, dass unter Sink-Bedingungen gearbeitet wurde, also resorbierter Stoff ständig abtransportiert wurde. So kann weiterhin Wirkstoff durch die Membran diffundieren und im gesamten Medium herrscht eine gleichmäßige Konzentration. In regelmäßigen Abständen wird eine Probe (in dieser Arbeit 200 µl) aus der Akzeptorkammer entnommen, um die Konzentration an Wirkstoff zu bestimmen. Dieselbe Menge (200 µl) wurde dann als frisches Medium wieder ergänzt. Die Akzeptorkammer ist mit einem Akzeptormedium befüllt. Dabei handelt es sich meist um einen Phosphatpuffer mit einem pH-Wert von 7,4, um die physiologischen Konditionen im Körper nachzuahmen. In dieser Arbeit wurde mit der Infinite dose-Technik gearbeitet. Das bedeutet, dass das Permeationsprofil eine Kumulation des Wirkstoffs zeigen wird, der mit der Zeit durch die Membran diffundiert ist. Die gegenteilige Variante wäre eine Finite dose-Technik, wobei eine bestimmte Menge x an Wirkstoff appliziert wird und nur für eine bestimmte Zeit permeieren kann. So könnte man klinische Situationen besser nachahmen, in denen meist nur eine begrenzte Menge Produkt auf die Haut aufgetragen wird [136]. Jedoch wollte man sich in dieser Arbeit auf die Permeationsfähigkeit des Ginsengextraktes konzentrieren. Dafür wurde die Franz-Diffusionszelle des Typs PermeGear (USA, Permeationsfläche 0.95 cm²) verwendet.

3. Material und Methoden

3.1. Rezeptur und Herstellung der Hydrogele

Die Carbopol-Hydrogele wurden einmal nach Hausrezeptur (auf regionalspezifischen Erfahrungswerten beruhend, 0,325% m/m TRIS) und einmal nach NRF¹-Rezeptur (1% m/m TRIS) hergestellt. Die Hausrezeptur verwendet im Gegensatz zur NRF-Rezeptur also viel weniger Base TRIS (CAS: 1185-53-1) zur Neutralisation des Carbopol® (CAS: 9063-87-0). Im NRF beträgt das Verhältnis Carbopol®:TRIS = 1:1 [119]. Als drittes Gel wurde ein Hydrogel auf der Basis von Hydroxyethylcellulose (=HEC) (CAS: 9004-62-0) hergestellt. Von jedem Gel wurden drei (n=3) Proben mit und drei Proben ohne Ginsengextrakt hergestellt.

Ziel der Arbeit war es dann neben der Untersuchung des Einflusses von Ginseng auch den Einfluss der Menge an Base TRIS zu beobachten. Die Menge an verwendetem Ginsengextrakt betrug immer 2% m/m.

Das Ergebnis waren klare Gele mit einer honiggelben bis bernsteinartig-hellen Farbe. Die Gele besaßen einen leichten Geruch nach pflanzlichem Material.

3.1.1. Hydrogele nach Hausrezeptur

Vorversuche zum Hydrogel auf Basis von Carbopol®:

Inhaltsstoffe:

	[g]	[% m/m]
Carbopol®	0,2	1,0
TRIS (1:10 SL)	0,2	1,0
Ginsengextrakt	0,4	2,0
EtOH 96%	4,0	20,0
Aqua dest. ad 20,0g		

Vorgangsweise: Zuerst wurde die 10%ige Stammlösung (SL) von Trometamol (TRIS) hergestellt, indem 1,0 g TRIS (CAS: 1185-53-1) mit 9 g Aqua dest. vermengt wurde und das TRIS durch Umschwenken in Aqua dest. gelöst wurde. Dann wurden 0,2 g Carbopol® 980 (CAS: 9063-87-0) vorgelegt und etwas vom vorbereiteten Aqua dest. hinzugefügt. Nun wurde mit einem Pistill gerührt und es bildete sich ein Gel. Nach kurzer Zeit wurden 0,2 g der hergestellten 10%igen Stammlösung von TRIS hinzugefügt. Der pH-Wert wurde mit einem pH-Streifen grob überprüft und lag bei ca. 5 (Abbildung 17).

¹ Das NRF (= Neues Rezeptur-Formularium) ist ein Sammelwerk an Rezepturen, das von der ABDA – Bundesvereinigung Deutscher Apothekerverbände herausgegeben wurde und dient zur Qualitätssicherung von Magistralrezepturen.

Dann wurde das restliche Aqua dest. (insgesamt 15,2 g) hinzugefügt. Im Anschluss wurde der Ginsengextrakt dazugegeben, was zu einer Verflüssigung des Gels führte (Abbildung 18). Zu guter Letzt wurde EtOH 96% (CAS: 67-17-5) eingerührt. Das Resultat war ein eher fluides Gel. Der pH betrug dann ca. 6. Die genauen pH-Werte sind Tabelle 15 im Anhang zu entnehmen und ihre Entwicklung über den Zeitraum der Beobachtung kann man im Abschnitt 4.1.4. in dieser Arbeit nachlesen.

Um aus dem Fluid erneut ein Gel zu erzeugen, wurden nach und nach insgesamt 9 Tropfen der TRIS-Stammlösung hinzugegeben (Abbildung 19). Das Gel wurde in einen Tiegel gefüllt und zur Beobachtung der Stabilität bei Raumtemperatur gelagert.



Abbildung 17: Erster Schritt der Gelherstellung: Carbopol® + 0,2g TRIS-Stammlösung (10%ig)



Abbildung 18: Sichtbare Verflüssigung des Gels nach Zugabe des Ginsengextrakt



Abbildung 19: Erneute Gelbildung nach Zugabe von weiteren 9 Tropfen TRIS-Stammlösung. Nun waren insgesamt 0,65g TRIS-Stammlösung enthalten.

Herstellung des Hydrogels auf Basis von Carbopol® nach Hausrezeptur

Da das Gel am nächsten Tag noch stabil war, wurden nun n=3 Proben hergestellt, um sie auf Stabilität, pH-Wert und Rheologie zu untersuchen. Der Formulierung wurde die Bezeichnung „Hausrezeptur“ zugeteilt.

Die Bestandteile waren wie folgt:

Inhaltsstoffe:	[g]	[% m/m]
Carbopol®	0,4	1,0
TRIS (1:10 SL)	1,3	3,25
Ginsengextrakt	0,8	2,0
EtOH 96% unvergällt	8,0	20,0
Aqua dest. ad 40,0g	29,5	



Abbildung 20: Endprodukt des wirkstoffhaltigen Carbopol®-Gels mit Ginsengextrakt nach Herstellung nach Hausrezeptur mit 3,25 % TRIS-Stammlösung bzw. 0,325 g TRIS effektiv.

Zuerst wurde Aqua dest. eingewogen. Dann wurden 0,4 g Carbopol® (CAS: 9063-87-0) mit einem Teil des Aqua dest. angerieben. Es durfte nicht zu schnell gearbeitet werden, da sich sonst Pulvernester nicht mehr auflösen ließen. Aus diesem Grund wurde zuerst Carbopol® in die Patene gegeben mit etwa 5 ml des eingewogenen Aqua dest. verrührt. Dies wurde kurz stehen gelassen. Es wurde erneut verrührt und wieder kurz (20-30 Sekunden) stehen gelassen. Nach der Zugabe von TRIS (CAS: 1185-53-1) wurde noch einmal sorgfältig für eine längere Zeit durchgerührt, damit im Endprodukt keine Carbopol®-Knöllchen vorhanden waren. In weiterer Folge wurde das restliche Aqua dest. nach und nach eingearbeitet. Dann wurden 0,8 g des Ginsengextraktes hinzugegeben und eingerührt und danach wurden 8,0 g des EtOH 96% unvergällt (CAS: 67-17-5) beigemischt. Der pH-Wert wurde zum Schluss wieder mit dem pH-Streifen gemessen und lag bei 6-7. Das Endergebnis sieht man in Abbildung 20.

Nach diesem Rezept wurden jeweils 3 Gele angefertigt und in eine Tube abgefüllt. Sie wurden unter Lichtschutz unter dem Abzug bei Raumtemperatur gelagert.

Zum Vergleich wurden 3 Gele (n=3) ohne Ginsengextrakt nach dem folgenden Rezept hergestellt:

Inhaltsstoffe:		
	[g]	[% m/m]
Carbopol®	0,4	1,0
TRIS (1:10 SL)	1,3	3,25
EtOH 96% unvergällt	8,0	20,0
Aqua dest. ad 40,0g	30,3	



Abbildung 21: Endprodukt des wirkstofffreien Carbomer-Gels nach Hausrezeptur mit 0,3 % TRIS bzw. 3,25 % TRIS-Stammlösung (0,325 g TRIS effektiv)

Wieder wurde Carbopol® zuerst in etwas Aqua dest. angerieben, TRIS - Stammlösung (CAS: 1185-53-1) zur Neutralisation hinzugefügt, restliches Aqua dest. hinzugefügt und verrührt und Ginsengextrakt eingearbeitet. Zum Schluss wurde EtOH 96% unvergällt eingerührt. Die Gele sahen aus wie das Beispiel in Abbildung 21.

Diese wirkstofffreie Charge diente zur Blindkontrolle. Sie wurde wie die anderen 3 Gele in Tuben unter Lichtausschluss bei Raumtemperatur gelagert.

3.1.2. Hydrogele nach NRF-Rezeptur

Dem NRF zufolge werden Carbopol® (Carbomer 50.000, CAS: 9003-01-4, Caesar & Loretz GmbH, Hilden, DE) und TRIS (Trometamol, TRIS buffer, CAS: 77-86-1, Caesar & Loretz GmbH, Hilden, DE) im Verhältnis 1:1 verwendet [137].

Für die Gele mit Ginsengextrakt galten folgende Mengenangaben:

Inhaltsstoffe:	[g]	[% m/m]
Carbopol®	0,4	1,0
TRIS (1:10 SL)	4,0	10,0
Ginsengextrakt	0,8	2,0
EtOH 96% unvergällt	8,0	20,0
Aqua dest. ad 40,0g	26,8	



Abbildung 22: Endprodukt des Ginseng-hältigen Carbomer-Gels nach NRF-Rezeptur mit 1,0 % TRIS bzw. 10,0 % TRIS-Stammlösung (0,4 g TRIS effektiv)

Es wurde Carbopol® mit etwas Aqua dest. angerührt und mit 4,0 g TRIS-Stammlösung (SL) neutralisiert. Wieder wurde der Vorgang „verrühren – warten – verrühren – warten“ beachtet. Dann wurde das restliche Aqua dest. eingearbeitet und der Ginsengextrakt hinzugefügt. Zum Schluss wurde EtOH 96% unvergällt eingearbeitet, wobei es auffällig war, dass sich der Alkohol mit der erhöhten Menge an TRIS viel leichter einarbeiten lies. Der pH- Wert betrug 6-7. In Abbildung 22 kann man das Endergebnis der Herstellung sehen.

Zum Vergleich wurden abermals drei Gele ohne Ginsengextrakt mit nachfolgender Rezeptur hergestellt.

Inhaltsstoffe:	[g]	[% m/m]
Carbopol®	0,4	1,0
TRIS (1:10 SL)	4,0	10,0
EtOH 96% unvergällt	8,0	20,0
Aqua dest. ad 40,0g	27,6	



Abbildung 23: Endprodukt des wirkstofffreien Carbopol®-Gels nach NRF-Rezeptur mit 10,0 % TRIS-Stammlösung bzw. 1 % TRIS (0,4 g TRIS effektiv)

Die TRIS-Stammlösung wurde hergestellt, indem 3,0 g Trometamol in 27,0 g Aqua dest. gelöst wurden. Für die Herstellung der Gele wurden insgesamt etwa 24 g der TRIS-Stammlösung benötigt und daher wurden 30,0 g hergestellt.

Es wurde Carbopol® mit etwas Aqua dest. angerührt und mit 4,0 g TRIS neutralisiert. Wieder wurde der Vorgang „verrühren – warten – verrühren – warten“ beachtet. Dann wurde das restliche Aqua dest. eingearbeitet. Zum Schluss wurde EtOH 96% unvergällt eingearbeitet, wobei es auffällig war, dass sich der Alkohol mit der erhöhten Menge an TRIS viel leichter einarbeiten ließ. Der pH betrug 6-7. Die Optik der Gele entsprach der Abbildung 23.

Es wurden je 3 Gele (n=3) à 40 g hergestellt und in eine Tube gefüllt. Diese wurden unter Lichtausschluss bei Raumtemperatur gelagert.

3.1.3. Hydrogele auf Basis von HEC

Für die Herstellung wurde HEC 250G mit normaler Viskosität von 250 mPas benutzt. Die Typenbezeichnung gibt die scheinbare Viskosität einer 2%igen wässrigen Lösung wieder, wenn sie bei Arzneibuch-Bedingungen vermessen wird. Für halb feste Hydrogele wird eine Menge von 7% G/G empfohlen [138]. Laut DAC NRF gibt es HEC 250, 5000 und 10000. In dieser Arbeit wurde somit das „schwächste“ Polymer verwendet. Für zähflüssige Lösungen werden 5% HEC empfohlen und mit 8% HEC erhält man plastische Gele [139].

Vorversuche für die Herstellung des HEC-Gels

Inhaltsstoffe:		
	[g]	[% m/m]
HEC	1,2	6,0
Ginsengextrakt	0,4	2,0
EtOH 96% unvergällt	4,0	20,0
Aqua dest. ad 100%	14,4	



Abbildung 24: Endprodukt des HEC-Gels mit 6% HEC vor der Lagerung

Aqua dest. wurde auf einer Heizplatte erwärmt und nach Erreichen von ca. 60 °C zu 14,4 g in eine Patene eingewogen. Dann wurden 1,2 g HEC (CAS: 9004-62-0) aufgestreut und verrührt. Die Pulvernester wurden gänzlich aufgelöst. Der pH lag zu diesem Zeitpunkt bei 7-8. Man ließ das Gel 20 Minuten lang aufquellen. Dann wurden 0,4 g Ginsengextrakt eingearbeitet. Die Einarbeitung stellte kein Problem dar und das Gel blieb stabil. Bei der folgenden pH-Messung mit dem pH-Teststreifen betrug der pH

6-7. Zuletzt wurde der 96%igen EtOH unvergällt (CAS: 67-17-5) eingerührt. Hierbei verflüssigte sich das Gel leicht, was sich aber nach einer Zeit des Rührens wieder änderte, sodass der gesamte EtOH 96% einarbeitet werden konnte. Das stabile Gel wurde in einen Tiegel abgefüllt und wird zur Überprüfung der Stabilität gelagert.

Einen Unterschied in der Konsistenz der Gele gab es: Während das Carbopol®-Gel eher kompakt war, sodass man das Pistill ohne weiteres aus der Patene nehmen konnte, zog man beim Abheben des Pistills aus der Patene mit dem HEC-Gel immer eine deutliche Menge Gel mit, sodass sich ein Gel-Kegel unten am Pistill bildete. – es war also „zäher“.

Da die Stabilität des Gels mit 6% HEC (Abbildung 24) bei der Überprüfung am nächsten Tag nicht gegeben war, wurden erneut Probe-Gele zu je 20 g hergestellt, aber diesmal mit 10% HEC. Das Ergebnis war ein sehr krümeliges Gel (siehe Abbildung 25 und 26).

Inhaltsstoffe (ohne Ginsengextrakt):

	[g]	[% m/m]
HEC	2,0	10,0
EtOH 96%	4,0	20,0
Aqua dest. ad 100%	14,0	

Inhaltsstoffe (mit Ginsengextrakt):

	[g]	[% m/m]
HEC	2,0	10,0
Ginsengextrakt	0,4	2,0
EtOH 96%	4,0	20,0
Aqua dest. ad 100%	13,6	



Abbildung 25: Krümeliges HEC-Gel mit 10% HEC ohne Ginsengextrakt - Vorversuch



Abbildung 26: Krümeliges Gel mit 10% HEC mit Ginsengextrakt - Vorversuch

Herstellung des HEC-Gels

Da diese Rezeptur nach 24 Stunden bessere Eigenschaften aufwies, wurde die Rezeptur beibehalten. Es wurden insgesamt 6 Gele à 40g mit HEC 10% (drei mit Ginsengextrakt und drei ohne Ginsengextrakt, n= 3) hergestellt.

Inhaltsstoffe:		
	[g]	[% m/m]
HEC	4,0	10,0
EtOH 96%	8,0	20,0
Aqua dest. ad 100%	28,0	



Abbildung 27: Fertiges wirkstofffreies HEC-Gel mit 10% HEC

Es wurde zuerst HEC eingewogen, dann auf 60°C erwärmtes Aqua dest. hinzugefügt, umgerührt und 20 min stehen gelassen. Zum Schluss wurde EtOH 96% unvergällt eingearbeitet. Das Ergebnis war ein sehr krümeliges Gel, das sich nur schwer in eine Tube einfüllen ließ (siehe Abbildung 27). Nach einer kurzen Equilibrationszeit wurde das Gel glatter und konnte problemlos abgefüllt werden.

Inhaltsstoffe:		
	[g]	[% m/m]
HEC	4,0	10,0
Ginsengextrakt	0,8	2,0
EtOH 96%	8,0	20,0
Aqua dest. ad 100%	27,2	



Abbildung 28: HEC-Gel mit 10% HEC mit Ginsengextrakt

Es wurde HEC eingewogen und auf 60°C erwärmtes Aqua dest. hinzugefügt. Nach 20 Minuten Quellzeit wurde der Ginsengextrakt und anschließend EtOH 96% v/V eingearbeitet. Das Gel mit Ginseng war nicht so zäh und klebrig wie das ohne Ginseng (siehe Abbildung 28), war jedoch auch schwierig abzufüllen. Der pH des Gels lag mit der pH-Streifenmethode bei 6-7.

3.2. Messung mit dem Rheometer

Die Gele wurden für die rheologische Bestimmung mit dem Rheometer (Firma Anton Paar, MCR302) vermessen. Für die Messungen wurde die sogenannte Kegel-Platte-Methode verwendet, bei der der Rotationskörper die Form eines stumpfen Kegels hat [128]. Für die Messungen war ein Probenvolumen von mindestens 0,14 ml notwendig. Das verwendete Messsystem trug den Namen CP25-2 und die Seriennummer 84832. Die Messungen wurden mit einer kontrollierten Schergeschwindigkeit von 10 m/s durchgeführt. Die somit erhaltenen Werte werden als Fließkurven oder Viskositätskurven aufgezeichnet. Man erhält Informationen über die Viskosität einer Substanz bei verschiedenen Schergeschwindigkeiten und über den rheologischen Charakter [140].

Die Resultate findet man in Abschnitt 4.1.3. bei den Ergebnissen in dieser Arbeit. Die Gele wurden alle kurz nach der Herstellung (= Woche 0), eine Woche danach (Woche 1) und dann in Woche 2, 4, 6, 8 und in Woche 12 vermessen.

3.2.1. Probenapplikation

Eine erbsengroße Menge der Probe wurde auf die Peltier-Platte aufgetragen (siehe Abbildung 29). Der Stab wurde gesenkt und das überschüssige Gel wurde im 90°-Winkel mit einem Spatel getrimmt. Die Peltier-Haube wurde gesenkt und es wurde für 4 Minuten gewartet, damit die Scherwirkung der Gelentnahme aus der Tube das Messergebnis nicht beeinflusst (vgl. Abschnitt 2.6. Beeinflussung der Ergebnisse). Dann wurde 1 Minute gewartet, damit das Gerät auf die richtige Temperatur temperiert wurde (RT bzw. 23 °C; +/- 0,01°C). Insgesamt wurden also 5 Minuten abgewartet, bevor man mit der Messung begann.



Abbildung 29: Erbsengroße Menge eines wirkstofffreien Gels aufgetragen auf der Peltier-Platte, bevor der Stift sich senkt und getrimmt wird.

3.2.2. Die Messung mit dem Rheometer

Gemessen wurde mit der Kegel-Platte-Methode. Die Messung startete nach dem Ablauf der Temperierungszeit automatisch. Am Bildschirm konnte man die Darstellung der Fließkurve beobachten. Sobald die Messung beendet war, wurde die Haube mit dem Stift automatisch hochgefahren und man konnte ein Muster des Gels (Abbildung 30) auf der Platte sehen, das zum Teil charakteristisch für das Gel war. Die Platte und der Stab wurden mit Ethanol sanft gereinigt und eine neue Probe konnte aufgetragen werden.

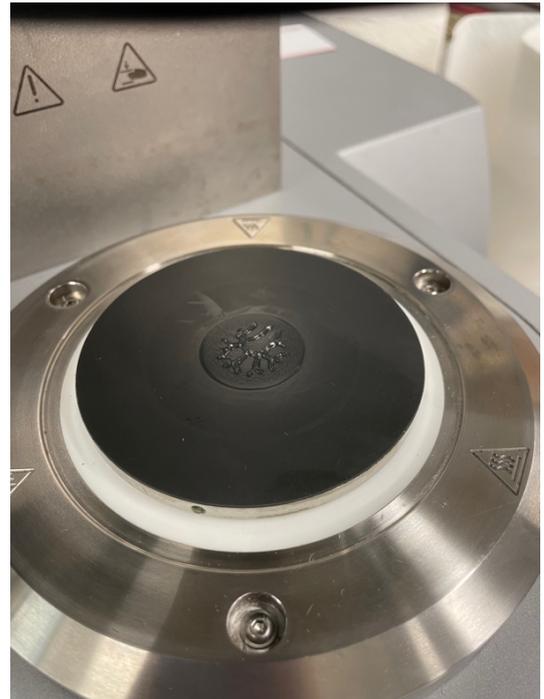


Abbildung 30: Rückstand des Gels, nachdem der Stift hochgefahren ist. Die entstandenen Muster waren teilweise charakteristisch für die Gele.

3.3. pH-Messung

Für die Messung des pH wurden nochmals 20 g der Gele nach den bewährten Rezepturen hergestellt. Jeweils 6 Gele nach der HEC-Rezeptur, 6 Gele nach NRF-Rezeptur und 6 Gele nach der Hausrezeptur (jeweils $n=3$ mit und ohne Ginsengextrakt) (vgl. Seiten 36-42). Die Gele wurden über 12 Wochen jeweils auf ihren pH-Wert mittels pH-Meter (Mettler Toledo AG, Seven Compact) (Abbildung 31) überprüft. Die Messung erfolgte direkt nach der Herstellung (= Woche 0), eine Woche danach (= Woche 1) und weiter in Woche 2, 4, 6, 8 und in Woche 12. Die Ergebnisse der pH-Messungen findet man in Abschnitt 4.1.4. in dieser Arbeit.



Abbildung 31: Das pH-Meter der Firma Mettler Toledo

Vor einer Messung wurde das Messgerät mit Aqua dest. gereinigt. Dann wurde mit zwei Puffer-Lösungen kalibriert. Die rosa Kalibrierlösung wies einen pH von 4,0 die gelbe Kalibrierlösung einen pH von 7,0 auf. Beide Kalibrierlösungen stammten von der Firma Thermo Fisher Scientific (Chelmsford, Ohio) und wurden jeweils zur Kalibrierung vor der Messung der Proben herangezogen (siehe Abbildung 32) [141-142].



Abbildung 32: Kalibrierung mit der rosa Kalibrierlösung mit pH-Wert 4,01

Tabelle 1: Zusammensetzung der Kalibrierlösung mit pH 4,01. Die genaue Zusammensetzung unterliegt dem Geschäftsgeheimnis und wurde daher nicht angegeben.

Kalibrierlösung mit pH 4,01		
Wasser	CAS: 7732-18-5	90-100%
Kaliumhydrogenphthalat	CAS: 877-24-7	0-10%
Kaliumhydroxid	CAS: 1310-58-3	0-10%
Amaranth	CAS: 915-67-3	0-10%

Tabelle 2: Zusammensetzung der Kalibrierlösung mit pH 7,00. Die genaue Zusammensetzung unterliegt dem Geschäftsgeheimnis und wurde daher nicht angegeben.

Kalibrierlösung mit pH 7,00		
Wasser	CAS: 7732-18-5	90-100%
Dinatriumhydrogenphosphat	CAS: 7558-79-4	0-10%
Kaliumhydrogenorthophosphat	CAS: 7778-77-0	0-10%
5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan	CAS: 30007-47-7	0-10%
Trinatrium-5-hydroxy-1-(4-sulfophenyl)-4-(4-sulphophenylazo)pyrazol-3-carboxylat	CAS: 1934-21-0	0-10%

Die Kalibrierung war immer dann abgeschlossen, sobald ein „Dach“ über dem A erschien und ein Signalton erklang (siehe Abbildung 33). Zwischen den Kalibrierlösungen wurde mit Aqua dest. gespült und gereinigt und im Anschluss wurde mit einer Küchenrolle vorsichtig die Messelektrode abgetupft. Es durfte auf keinen Fall mit EtOH gereinigt werden, da dies dem Messgerät geschadet hätte. Um die Proben zu vermessen, wurden die Gele jeweils in ein Eppendorf®-Tube abgefüllt und die Elektrode in das Gel gesteckt (Abbildung 34). Mit dem Drücken der Taste „Read“, wurde die Messung des Gels gestartet. Während der Messung wurde darauf geachtet, dass die Elektrode stets inmitten des Gels war und nicht den Rand berührte, da sonst die Messergebnisse verfälscht worden wären. Sobald ein „Dach“ über dem M erschien, wurde der angezeigte

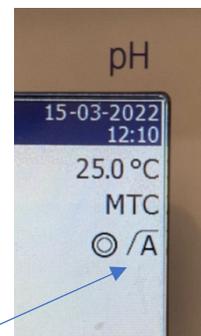


Abbildung 33: Erstellung des automatischen Modus für die Kalibrierung

pH-Wert notiert. Nach jeder Messung wurde mit Aqua dest. gereinigt und mit einem Küchentuch getrocknet. Zum Schluss wurde die Messelektrode mit der Kappe, die eine Lagerflüssigkeit enthielt, verschlossen, weil die Elektrode immer feucht gehalten werden muss.

Tabelle 3: Zusammensetzung der Lagerflüssigkeit für das pH-Meter.

Lagerflüssigkeit		
Kaliumchlorid 3 mol/l	CAS: 7447-40-7	10-20%
Deionisiertes Wasser	CAS: 7732-18-5	75-90%



Abbildung 34: Vermessung eines HEC-Gels mit Ginseng in einem Eppendorf®-Tube

3.4. Messung eines Reinspektrums mit dem Raman-Spektroskop

In dieser Arbeit wurde das Raman-Spektroskop gen2-SCA der Firma RIVERD verwendet (siehe Abbildung 35).



Abbildung 35: Das verwendete Raman-Spektroskop gen2-SCA der Firma RIVERD

Zur Auswertung der Daten wurde die von derselben Firma bereitgestellte Software SkinTool benutzt [143]. Um die Daten zu erheben, wurde mit dem Programm RiverIcon gearbeitet.

3.4.1. Herstellung der Extrakt-Lösung

Das Ziel war es, ein Reinspektrum von Ginseng zu erzeugen. Beim verwendeten Ginsengextrakt handelt es sich um einen Pflanzenextrakt mit vielen einzelnen Komponenten und nicht um einen reinen Wirkstoff. Daher gestaltete sich die Aufnahme eines Raman-Spektrums anspruchsvoll. In einem Vorversuch mit einer 2%igen Lösung (m/m) aus 0,020 g Ginseng (20 mg) und 1 ml Aqua dest. wurde festgestellt, dass man kein eindeutiges Spektrum erzeugen konnte.

In einem erneuten Versuch wurde eine 20%ige Lösung mit einem frischen Ginsengextrakt (erneute Lieferung desselben Herstellers) verwendet. Nach Rücksprache mit den Fachleuten von RIVERD entspricht das einer normalen Konzentration eines pflanzlichen Extraktes für eine Vermessung mit dem Raman-Spektroskop. Es wurden 0,200 g (200 mg) Ginsengextrakt eingewogen und mit 1 ml Aqua dest. in einem Eppendorf®-Tube aufgefüllt. Dann wurden die Proben 18 h lang am Schüttler (Eppendorf, Thermomixer 5436) bei 26 °C auf Stufe 6 homogenisiert. Anschließend wurde 6 Minuten lang bei 12.000 rpm zentrifugiert (Zentrifuge Z 323 K, Hermle Labortechnik GmbH, Wehingen, DE), um Schwebstoffe aus der Lösung zu eliminieren.

3.4.2. Präparation des Schweineohrs

Das Schweineohr wurde aus dem Gefrierschrank entnommen, für eine Stunde im Kühlschrank und danach 30 Minuten bei Raumtemperatur akklimatisiert.

Dann wurde das Ohr auf der dorsalen Seite mit lauwarmem Wasser abgewaschen. Zur Vorbereitung auf die Vermessung wurde ein Rechteck in der Größe 7 x 3 cm markiert und aus dem Schweineohr mithilfe eines Skalpells ausgeschnitten. Das markierte Ohr kann man in Abbildung 36 sehen.

Es handelte sich jeweils um unbehandelte Ohren, was durch die Bestimmung des TEWLs (= Transepidermaler Wasserverlust) überprüft wurde. Die Bestimmung des TEWLs wird in Abschnitt 3.5.2. in dieser Arbeit genau erklärt.



Abbildung 36: Vorzeichnen des zukünftigen Rechtecks. Man erkennt die punktförmigen Markierungen, an denen entlang das Rechteck ausgeschnitten wurde.

Die Haut des ausgeschnittenen Rechteckes wurde nun vorsichtig unter Zuhilfenahme des Skalpells vom Knorpel abgetrennt. Das erhaltene Hautstück wurde über den Zeigefinger gelegt und mit einer Nagelschere wurden die Haare bis zum Schaft gekürzt. Danach wurde die Haut mittels Stecknadeln auf einem vorbereiteten Styroporplättchen mit denselben Maßen (7 x 3 cm) befestigt (Abbildung 37). Wichtig zu beachten war, die Vermeidung einer Faltenbildung, da sonst die Messung beeinträchtigt gewesen wäre.

Es wurde eine Petrischale mit 3 ml Aqua dest. vorbereitet, wobei eine zweite, größere Petrischale zur Abdeckung diente, damit eine gesättigte Atmosphäre erzeugt werden konnte, in die das präparierte Schweineohr während der Einwirkzeit der Probe gelegt wurde. Dies diente dazu ein Austrocknen des Ohres zu verhindern.

Nachdem noch etwaige Haare vom Schweineohr entfernt wurden, applizierte man 147 μl Flüssigkeit mit einer Mikroliter-Pipette. Das entspricht einer Menge von 7 μl pro cm^2 . Die Menge ergibt sich aus vorherigen Versuchen der Arbeitsgruppe in Bezug auf die Aufnahmefähigkeit der Haut. Die Probe wurde punktförmig auf der gesamten Fläche verteilt (siehe Abbildung 38).

Daneben wurde ein Uhrglas mit einer kleinen Menge Probe befüllt und der Finger mit dem Nitril-Handschuh darin eingetaucht. Der feuchte Finger wurde am Rand des Uhrglases abgestreift. Das Ziel war den Finger „abzusättigen“. Dies diente dazu, dass der Finger nicht unabsichtlich Probe vom Schweineohr absorbierte, aber auch nicht zusätzlich Probe appliziert wurde. Anschließend wurde mit dem Finger die Probe gleichmäßig auf dem Schweineohr verstrichen und leicht eingeklopft.



Abbildung 37: Aufgespanntes Rechteck des Schweineohrs auf dem Styropor-Plättchen. Das Ohr ist bereit für das Auftragen der Probe. Die Haare wurden bis zum Schaft gekürzt.



Abbildung 38: Punktförmiges Auftragen der 20% igen Ginseng-Lösung auf der Schweinehaut

Dann wurde das Schweineohr in die vorbereitete Petrischale mit der gesättigten Atmosphäre gelegt und mit der zweiten Petrischale bedeckt (Abbildung 39). Nun ließ man die Substanz für 1 Stunde einwirken.



Abbildung 39: Abgedecktes Schweineohr während der 1-stündigen Einwirkzeit

3.4.3. Praktische Messung und Erstellen eines Differenzspektrums

Bevor die Penetrationsstudie mit dem Schweineohr durchgeführt werden konnte, wurde ein Differenzspektrum des Ginsengextrakts aufgenommen. Es wurde die hergestellte 20%ige Lösung mit frischem Ginsengextrakt verwendet (siehe 3.4.1.). Zuerst wurde das Aqua dest. und danach die Ginseng-Lösung vermessen. Von jeder Lösung trug wurden genau drei Tropfen mithilfe einer Pasteurpipette auf den Laser aufgetragen. Nach dem Auftragen wurde die Abdeckungskappe auf das Messfenster gesetzt. Dies diente zur Verminderung des Verdunstungsverlustes, aber ist auch aus Personenschutzgründen notwendig, da der Laser das Auge schädigen könnte. Vom Spektrum der Ginseng-Lösung wurde dann das Spektrum des Aqua dest. mit der Software von RiverD subtrahiert. Das Ziel war ein Differenzspektrum, also das Reinspektrum des Ginsengextraktes, zu erhalten. Es wurde hier mit der Einstellung „Raman experiment“ gearbeitet, wobei 240 Frames gemessen wurden, die jeweils eine Exposure time von 5 Sekunden hatten. Die genauen Messparameter sind noch einmal in Tabelle 4 übersichtlich dargestellt.

Tabelle 4: Die eingestellten Messparameter für die Aufnahme des Spektrums des Ginsengextraktes

Raman experiment	
Exposure time	5 sec.
Number of frames	240
Cycle time	1 sec.

Das erzeugte Spektrum war eine Mischung aus spektralen Anteilen des Ginsengextrakts und des gereinigten Wassers. Daher wurde mithilfe der SkinTools

Software ein Differenzspektrum erstellt, in dem nur mehr die spektralen Anteile des Ginsengextrakts zu sehen waren. Mit diesem wurde die „Methode Ginseng“ erstellt.

3.4.4. Erstellung eines Tiefenprofils

Das Schweineohr wurde nach Ablauf der Einwirkzeit von einer Stunde aus der Petrischale entnommen und mit einem Kosmetiktuch wurde überschüssige Probe von der Oberfläche vorsichtig abgetupft. Dieser Vorgang durfte nicht zu lange dauern und man durfte nicht zu stark drücken, da sonst die Gefahr bestünde, wertvolle Probe zu entnehmen. Danach wurde das Schweineohr mit der Probenseite nach unten auf das Raman-Spektroskop gelegt. Darauf wurde ein zusammengefaltetes Kosmetiktuch platziert, um etwaige ausfließende Flüssigkeit aufzunehmen. Es wurde mit einem Block, der 296,3 g wog, beschwert (Abbildung 40). Der Block sorgte dafür, dass die Probe gleichmäßig beschwert wurde und mit konstantem Druck und eben auf dem Messfenster auflag.



Abbildung 40: Aufbau des Schweineohrs während der Vermessung mit dem Raman-Spektroskop. Der Block beschwert die Probe, damit ein konstanter Druck auf der Probe herrscht und die Probe eben auf dem Messfenster liegt.

Die Messung wurde dann im Fingerprint-Modus durchgeführt. Die Einstellungen (siehe Tabelle 5) für die Messungen waren wie folgt:

Tabelle 5: Genaue Einstellungen für die Probenmessungen des Schweineohrs

Profile:	
Track	1
Z offset	41 bis 44
Start	0
Stop	30
Step	2

Anm.: Z offset entspricht dem Nullpunkt des Lasers und wurde vor jeder Messung individuell eingestellt.

Für die Messungen wurde mithilfe des Softwareprogramms immer eine Stelle gesucht, an der die Haut besonders gut auflag. Dies erkannte man daran, dass die aufliegenden Stellen dunkler waren als andere. Es wurden insgesamt 13 Messungen durchgeführt, wobei ca. 5 Messungen jeweils an einem Ort gemacht wurden. Dazwischen wurde das Schweinohr verschoben und immer eine neue Messstelle gesucht, um möglichst aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

3.5. Diffusionsstudien

Um herauszufinden, wie viel Wirkstoff aus den Formulierungen durch die Haut dringen konnte, wurden Diffusionsstudien mittels Franz-Zellen durchgeführt (vgl. Abschnitt 2.10.).

3.5.1. Herstellung der Dermatom-Schnitte

Für die Herstellung der Dermatom-Schnitte wurde ein noch gefrorenes Schweineohr verwendet, das frisch aus dem Tiefkühler entnommen wurde. Um jegliche Kontamination zu vermeiden, wurden Nitril-Handschuhe getragen. Das Ohr wurde leicht mit kühlem Wasser abgewaschen und durch Abtupfen mit einer Küchenrolle getrocknet. Dann wurde das Ohr auf ein vorbereitetes Brett (Abbildung 43, nächste Seite) gelegt und es wurden mit dem Skalpell auf der ventralen Seite des Ohrs die hervorstehenden Knorpel abgeschnitten, sodass das Ohr nach dem Umdrehen zum Dermatomisieren auf der dorsalen Seite eben auf der Schneidefläche liegen konnte. Dann schnitt man mithilfe eines Skalpells aus dem Ohr einen möglichst geraden Streifen mit einer Breite von ungefähr 5 cm heraus. Der Streifen wurde von einer Kollegin am Ende des Brettes mithilfe einer Pinzette festgehalten und es wurde mit dem Akku-Dermatom GA 630 von der Firma Aesculap® (Tuttlingen, DE, Abbildung 41) und etwas Druck ein Hautstück in einer Dicke von 0,4 cm abgeschnitten. In Abbildung 42 (nächste Seite) sieht man, wie das Akku-Dermatom am Ohr angelegt wurde.

Es wurde versucht, möglichst großflächige Hautstücke zu erhalten, da für die Franz-Zellen eine Mindestgröße von 1x1 cm benötigt wurde. Die erhaltenen intakten Hautstücke wurden in Alufolie gebettet und über Nacht im Tiefkühlschrank (-18°C) aufbewahrt.

Abbildung 41: AKKU-Dermatom GA 630, AESCULAP®



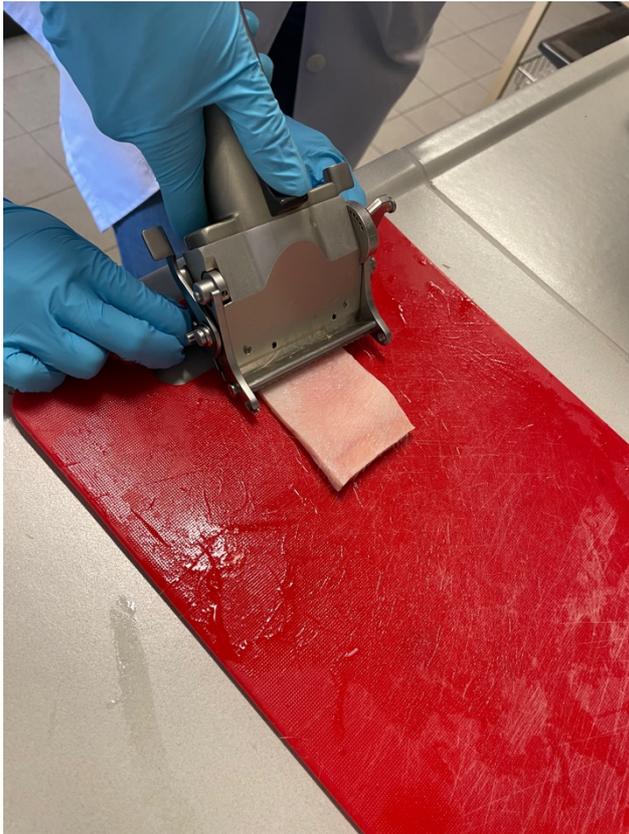


Abbildung 43: Dermatomisieren mit dem Akku-Dermatom.



Abbildung 42: Vorbereiteter Arbeitsplatz für das Dermatomisieren

3.5.2. Vorbereitung der Diffusionszellen

Die dermatomisierten Hautstücke wurden aus dem Gefrierschrank entnommen. Mittels Skalpell wurde ein ca. 1x1cm großes Stück zurechtgeschnitten. Dabei wurde beachtet, dass die eingetrockneten Ränder entfernt wurden, das Hautstück eine möglichst gleichmäßige Dicke aufwies und keine Löcher oder Verletzungen hatte. In den unteren Teil der Franz-Zelle wurde ein Magnetrührstäbchen eingelegt. Anschließend wurde das Stück sorgfältig auf die Öffnung der Franz-Zelle gespannt (Abbildung 44), sodass die komplette Öffnung abgedeckt war. Darauf wurde die Donorkammer gesetzt und die beiden Teile wurden mit einer Klammer aneinander befestigt. Nun wurde der untere Teil mit Akzeptormedium (Phosphatpuffer pH 7,45, siehe Tabelle 6) befüllt und die Öffnung mit einem Alufolie-Hütchen bedeckt.

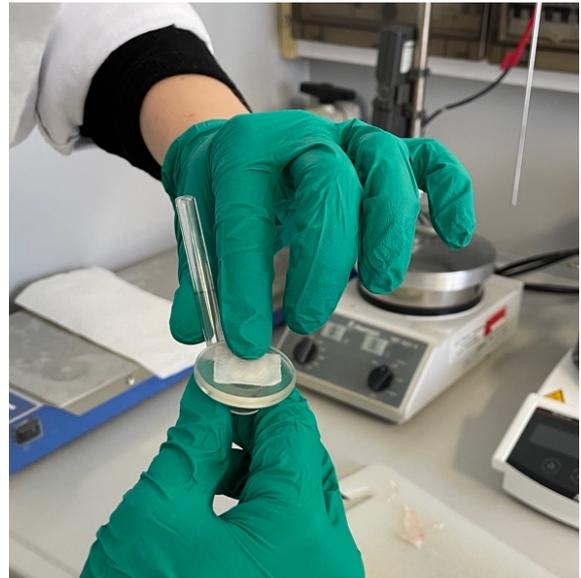


Abbildung 44: Präparation der Franz-Zellen: Auflegen des zurechtgeschnittenen Vierecks aus Schweinhaut auf die Akzeptorkammer. Darunter befindet sich das Magnetrührstäbchen.

Bei jeweils sechs ausgesuchten Franz-Zellen wurde pro Durchgang der Transepidermale Wasserverlust (TEWL= trans epidermal water loss) ermittelt. Die Aqua Flux™ AF200-Messsonde wurde auf den Rand der Franz-Zelle gesteckt (Abbildung 45) und der TEWL-Wert auf dem Bildschirm angezeigt. Dabei zeigte sich, ob die Haut eine intakte, einheitliche Membran darstellte. Werte bis 20 g/m²/h wurden als geeignet gewertet, bei höheren Werten wurde ein neues Hautstück zurechtgeschnitten und getestet. Die genauen TEWL-Werte sind in Tabelle 17 im Anhang zu finden.



Abbildung 45: Messung des TEWL durch Aufsetzen auf die Franz-Zelle mittels Adapter

Tabelle 6: Genaue Zusammensetzung des Phosphatpuffers bzw. des Akzeptormediums

Menge	Substanz	Firma	CAS-Nummer
0,19 g	Kaliumdihydrogenphosphat	Fluka™, Sigma-Aldrich	CAS: 7778770
2,38 g	Dinatriumhydrogenphosphat mit 12 x H ₂ O	Fluka™, Sigma-Aldrich	CAS: 10039324
8,00 g	Natriumchlorid	ACM Herba Chemosan, Wien	CAS: 7647145

Die Franz-Zelle wurde auf der Haut mit 0,5 g Probe befüllt. Dabei wurden jeweils vier Proben mit Gel eingewogen, als Kontrolle dienten drei Franz-Zellen, die mit einer 2%igen wässrigen Lösung von Ginsengextrakt befüllt wurden. Je nach Versuch wurde beim ersten Durchgang Gel 1 ein zweites Mal aufgetragen (H*, R*, E*), beim zweiten Durchgang Gel 2 ein zweites Mal aufgetragen und beim dritten Durchgang Gel 3 ein zweites Mal aufgetragen. Man wählte dieses Schema, da die Zahl der Plätze für die Franz-Zellen auf 15 beschränkt war. Das Schema kann man mithilfe von Tabelle 7 nachvollziehen. Die Proben wurden zuerst mit Parafilm und dann zusätzlich mit Alufolie abgedeckt. Das verhinderte ein Auslaufen und Verflüchtigen von Probe. Nun wurden die befüllten Franz-Zellen (PermeGear, USA, Permeationsfläche 0.95 cm²) nach dem geplanten Schema (Tabelle 7) ins Schüttel-Wasserbad (Müller-Scherr, GFL 1092) gestellt (Abbildung 46). Die Magnetrührstäbchen wurden mit einer Geschwindigkeit von 800 Umdrehungen pro Minute gedreht. Während des Versuchs musste darauf geachtet werden, dass sich die Magnetrührstäbchen ständig drehen, um Sink-Bedingungen zu erfüllen.

Tabelle 7: Genaues Schema für das Auftragen der Gele auf die Franz-Zellen.

Hausrezeptur	H1	H2	H3	H*	Wässrige Lösung 2 % Ginseng X
NRF-Gele	R1	R2	R3	R*	Wässrige Lösung 2 % Ginseng Y
HEC-Gele	R1	R2	R3	E*	Wässrige Lösung 2 % Ginseng Z

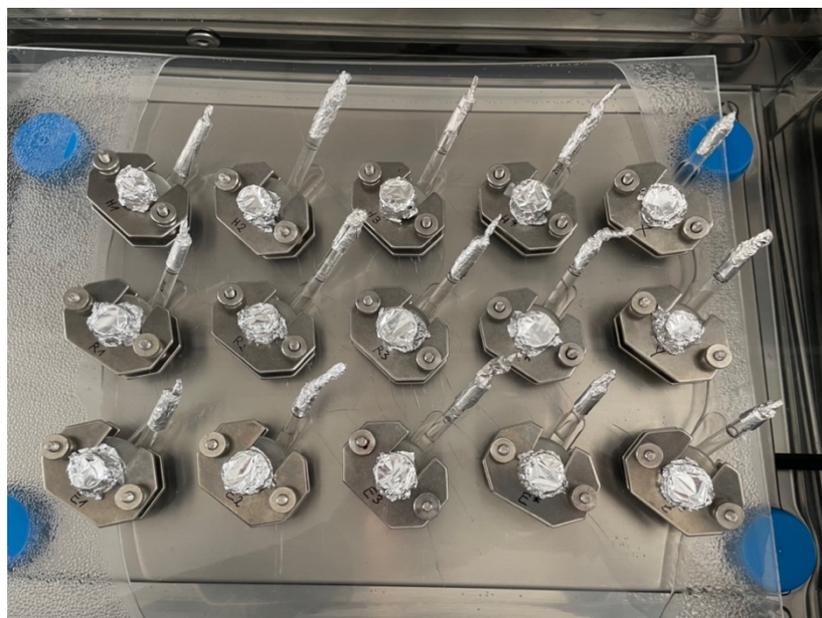


Abbildung 46: Aufstellung der Franz-Zellen im Schüttel-Wasserbad

3.5.3. Probenahme aus der Franz-Diffusionszelle

Die Probenentnahme folgte immer demselben Ablauf. Zur vorgeschriebenen Zeit wurde das Akzeptormedium mit einer Pasteur-Pipette vollständig entnommen und in ein Eppendorf®-Tube übergeführt. Daraus wurden mithilfe einer Eppendorf®-Pipette 200 µl Akzeptormedium (Phosphatpuffer) entnommen und in ein separates, vorbeschriftetes Eppendorf®-Tube eingebracht. Beim zuvor entnommenen Akzeptormedium wurden 200 µl Akzeptormedium ergänzt und die gesamte Menge wurde wieder zurück in die Franz-Zelle gefüllt. Das Akzeptormedium bestand aus Kaliumdihydrogenphosphat (Fluka™, Sigma-Aldrich, CAS: 7778770), Dinatriumhydrogenphosphat mit 12 x H₂O (Fluka™, Sigma-Aldrich, CAS: 10039324) und Natriumchlorid (ACM Herba Chemosan, Wien, CAS: 7647145). Die genaue Zusammensetzung findet sich in Abschnitt 3.5.2. Die Franz-Zelle wurde für den weiteren Versuch zurück ins Wasserbad gestellt. Die Entnahmezeiten waren jeweils nach 2h, 4h, 6h, 8h, 24h und 28h. Die Proben wurden bis zur Analyse in Eppendorf®-Tubes im Gefrierschrank bei -20°C gelagert.

3.6. Analyse der Diffusionsstudien

3.6.1. Probenaufbereitung für UHPLC/MS

Für die Analyse wurden die Proben bei Raumtemperatur (25 °C) für ca. 60 Minuten aufgetaut. Von der Probe wurden dann 200 µl entnommen und mit 100 µl Methanol (VWR® Radnor, US, CAS: 67-56-1) in einem neuen Eppendorf®-Tube vermengt. Dadurch ergab sich eine Verdünnung von 1:3.

Im Anschluss wurden die Proben wenige Sekunden mithilfe des Vortexmischers REAX 2000 (Heidolph Instruments, Schwabach, DE) geschüttelt und homogenisiert. Dann wurden die Proben für 30 Minuten in den Tiefkühler bei -18 bis -20 °C gegeben. Danach wurden die Proben für 6 Minuten bei 12.000 rpm (rounds per minute = Umdrehungen pro Minute) bei Raumtemperatur (25 °C) zentrifugiert (Zentrifuge Z 323 K, Hermle Labortechnik GmbH, Wehingen, DE). Nach dieser Vorbereitung wurden von jeder Probe 200 µl in eine 96-Well-Platte pipettiert. Die Well-Platte wurde im Anschluss an Herrn Dr. Ammar Tahir, MSc., von der Division für Pharmakognosie an der Universität Wien zur Analyse übergeben.

3.6.2. Erstellung von Kalibrierkurven

Die Analyse der Ginsenoside wurde mit Hilfe eines UHPLC-Geräts und anschließender LTQ-XL™-Massenspektrometrie durchgeführt. Als Standards wurden die Ginsenoside Rb1 und Rg1 verwendet, die mit 1 ml Methanol als Lösungsmittel in einer Konzentration von 1 mg/ml vermessen wurden. Mit den Ergebnissen dieser Messungen konnte man dann die Retentionszeiten sowie die molaren Massen (in

g/mol) von Rb1 und Rg1 bestimmen. Diese dienen dann zum Vergleich mit den erhaltenen Ergebnissen aus den Vermessungen der Proben.

Als weitere Standardlösungen fertigte man aus den Ginsenosid-Lösungen Verdünnungsreihen an, mit denen dann eine Kalibrierkurve erstellt werden konnte. Die erhaltene Kalibrierkurve konnte man dann zum Vergleich der Ergebnisse der Gehaltsbestimmungen sowie der Diffusionsstudien zu Hilfe nehmen.

3.7. Bestimmung des Gehaltes bzw. Stabilität der Ginsenoside

3.7.1. Probenvorbereitung für UHPLC/MS

Von jedem Gel mit Ginsengextrakt wurden ca. 10 mg Probe entnommen und in ein Eppendorf®-Tube gegeben. Dann wurde mit einer Eppendorf®-Pipette genau 1 ml MeOH (CAS: 67-56-1) dazugegeben. Das Ganze wurde auf dem Schüttler (Eppendorf, Thermomixer 5436) für 10 min bei Raumtemperatur geschüttelt. Danach wurden die Proben im Gefrierschrank bei – 20 °C bis zur Analyse gelagert.

Für die Analyse wurden die Eppendorf®-Tubes für ca. 60 Minuten bei Raumtemperatur (25 °C) zum Auftauen stehen gelassen. Danach wurden sie für 6 Minuten bei 12.000 rpm in der Zentrifuge Z 323 K (Hermle Labortechnik GmbH, Wehingen, DE) zentrifugiert. Anschließend wurden von diesem Proben-Methanol-Gemisch 200 µl mit einer Eppendorf®-Pipette in eine 96-Well-Platte pipettiert. Diese 96-Well-Platte wurde an Herrn Dr. Ammar Tahir, MSc., von der Division für Pharmakognosie an der Universität Wien zur Analyse übergeben.

Zur Analyse wurde das Verfahren der UHPLC-Methode mit dem UHPLC-Gerät Dionex Ultimate 3000 (Dionex, Sunnyvale, US) verwendet. Eingesetzt wurde die Säule Phenomenex™ Omega™ C18, 120 A, 2,1 x 150 mm. Zur Auswertung nahm man die Methode der Massenspektrometrie mit dem Detektor LTQ-XL™ (= linear ion trap mass spectrometer) der Firma Thermo Fisher Scientific (Chelmsford, US). Die genaue Methode und die Erstellung der Kalibrierkurve sind in Kapitel 3.5.2. (Methode für die Evaluierung der Kalibrierkurve für die Analyse) erklärt.

3.8. Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die Abkürzung HPLC steht für „High Performance Liquid Chromatography“ und beschreibt eine Methode zur chromatographischen Analyse von verschiedenen Gemischen. Mithilfe der Chromatographie kann man Stoffgemische in ihre einzelnen Bestandteile aufteilen. Die Trennung erfolgt dabei mittels einer mobilen und einer stationären Phase. Die einzelnen Bestandteile der mobilen Phase treten dabei mit der stationären Phase während ihrer Wanderung in Wechselwirkung. Die Auftrennung erfolgt dabei entlang eines Konzentrationsgradienten, der die Substanzen in polare

und unpolare aufteilt. Eine beliebte mobile Phase ist zum Beispiel Acetonitril-Methanol-Wasser und eine beliebte stationäre Phase ist Kieselgel RP-18. Bei Kieselgel C18 (auch RP-18 genannt) sind die –OH Gruppen der Silanolgruppen mit Silylalkanen verethert. Aus einer polaren stationären Phase wird eine apolare, wodurch neue Möglichkeiten zur Auftrennung geschaffen werden.

Ein Vorteil der HPLC-Analyse ist ihre gute Auflösung und die schnelle Analyse. Im Übrigen können sehr viel Substanzen analysiert werden, auch thermolabile Stoffe. Ein Nachteil ist eine nicht ganz so gute Trennleistung wie etwa bei einer Gaschromatographie. Außerdem muss die Säule dicht gepackt sein und darf keine Lufträume haben, da sonst die Analyse nicht funktioniert. Es muss ein hoher Druck herrschen, da die Säule meist nur wenige Millimeter im Durchmesser ist. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, muss immer dasselbe Volumen an Probe eingespritzt werden. Um die Proben im Anschluss identifizieren zu können, benötigt man einen internen oder externen Standard. Der interne Standard wird zur Probenlösung dazu gemischt, während man für den externen Standard eine Eichgerade anfertigen muss.

Bei der gewöhnlichen HPLC-Säule befinden sich in der stationären Phase Partikel mit einer Teilchengröße von 3 bis etwa 10 μm . Für die Probenanalyse in dieser Arbeit wurde in der Division of Pharmacognosy die Methode der UHPLC in Kombination mit der Massenspektrometrie gewählt. Das „U“ steht dabei für „Ultra“ und bedeutet, dass sich in der Säule noch kleinere Teilchen in einer Größenordnung von 1 bis 3 μm befinden. Daraus resultiert eine bessere Trennleistung und einer Verkürzung der Analysezeiten [144].

Das verwendete Gerät war das UHPLC Dionex Ultimate 3000 von der Firma Dionex (Sunnyvale, US) und wurde mit der Säule Phenomenex™ Omega™ C18, 120 Å, 2,1 x 150 mm beladen [145]. Die Ergebnisse findet man in Abschnitt 4.1.3. Stabilität der Ginsenoside und 4.4. Ergebnisse der Diffusionsstudien.

3.9. Massenspektrometrie

Um die mit der HPLC-Säule aufgetrennten Substanzen zu analysieren, benötigt man einen Detektor. Im Fall dieser Arbeit wurde der Massendetektor LTQ-XL™ (=linear ion trap mass spectrometer) von der Firma Thermo Fisher Scientific (Chelmsford, US) verwendet. Mit der Massenspektrometrie, kurz MS, kann man exakte Protein- und Peptidmassen bestimmen, aber auch molekulare Strukturen aufklären und auch quantitative Bestimmungen durchführen [146]. Für die Analyse müssen die Substanzen ionisiert werden. Dies kann mittels Elektronenspray-Methode oder der MALDI-Technik (= matrix-assisted laser desorption ionisation, matrixunterstützte Laserdesorption/Ionisierung) geschehen. Nach der Ionisierung erfolgt die Bestimmung der Teilchenmassen. Eine häufig eingesetzte Methode ist das Flugzeit-Massenspektrometer (TOF-MS, engl. time of flight). Dabei befindet sich gegenüber

dem Probenhalter eine Elektrode, die die erzeugten Ionen beschleunigt. Die Ionen werden dann nach ihrem Masse/Ladungs-Verhältnis aufgetrennt und es wird die Zeit gemessen, wie lange die Ionen von der Ionenquelle bis zum Detektor benötigen. Kleinere Teilchen haben eine kürzere Flugzeit als Große. Durch den Vergleich von Referenzmolekülen mit bekannten Massen, kann man die Masse der untersuchten Moleküle ableiten [147].

4. Ergebnisse

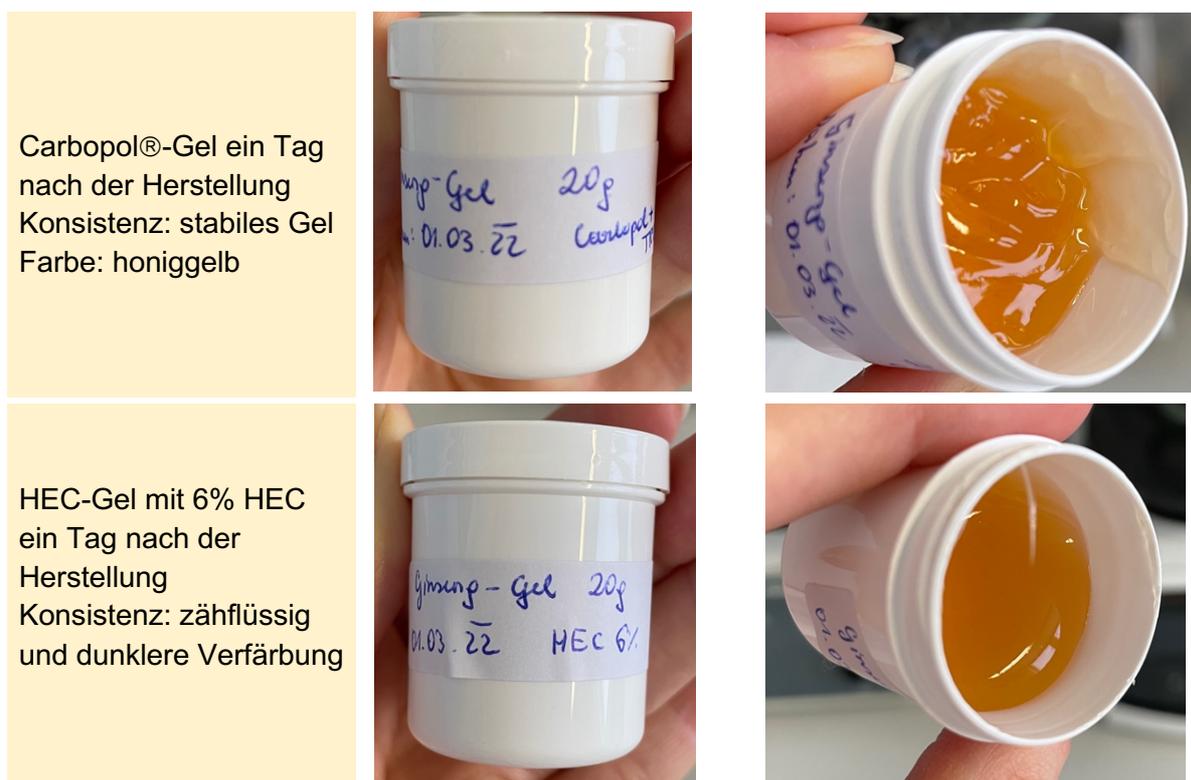
4.1. Charakterisierung und Stabilität

Die hergestellten Gele wurden über zwölf Wochen in luftdichten Tuben gelagert. Von jedem Gel wurden für die rheologischen Messungen je 40 g hergestellt. Für die Messungen des pH-Wertes wurden nochmals extra Gele derselben Rezeptur (siehe Abschnitt 3.1. bei Material und Methoden), aber zu 20 g je Gel hergestellt. Die Raumtemperatur betrug durchschnittlich 25 °C. Der Zeitraum der Beobachtung und Vermessung betrug drei Monate. Die Gele wurden jeweils direkt nach der Herstellung (= Woche 0), eine Woche danach (= Woche 1) und weiter in Woche 2, Woche 4, Woche 6, Woche 8 und in Woche 12 vermessen.

4.1.1. Bestimmung der Gelbildner-Konzentration

Für die Entwicklung der richtigen Rezeptur wurden die Gele zuerst in Tiegel hergestellt. Ein Tag nach der Herstellung hatten sich die Gele in ihrer Konsistenz verändert (vgl. Tabelle 8). Während das mit Carbopol® + TRIS (Hausrezeptur) hergestellte Gel noch immer stabil und halbfest war, wies das HEC-Gel beim Kippen des Tiegels ein zähes Fließverhalten auf. So wurde die Rezeptur des HEC-Gels modifiziert. In Tabelle 9, 10 und 11 (siehe unten) sind die endgültigen Rezepturen bzw. Mengen der eingesetzten Materialien zu sehen.

Tabelle 8: Vergleich der drei Gele nach drei verschiedenen Herstellungsarten an Tag 1 nach der Herstellung



HEC-Gel mit 10% HEC
ein Tag nach der
Herstellung
sehr zähflüssig, bildet
eine leichte Zunge,
dunklere Verfärbung
Farbe: heller Bernstein

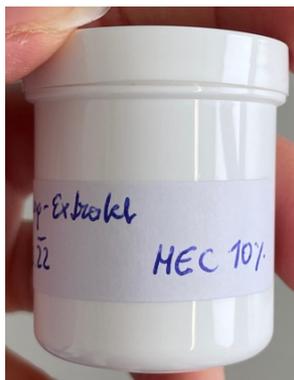


Tabelle 9: Genaue Rezepturangaben für die Hausrezeptur-Gele mit und ohne Ginsengextrakt

Hausrezeptur ohne Ginsengextrakt			Hausrezeptur mit Ginsengextrakt		
Carbopol®	0,4 g	1,0%	Carbopol®	0,4 g	1,0%
TRIS (1:10 SL)	1,3 g	0,33%	TRIS (1:10 SL)	1,3 g	0,33%
-	-	-	Ginsengextrakt	0,8 g	2,0%
EtOH 96% unvergällt	8,0 g	20,0%	EtOH 96% unvergällt	8,0 g	20,0%
Aqua dest. ad 40,0 g	30,0 g		Aqua dest. ad 40,0 g	29,5 g	

Tabelle 10: Genaue Rezepturangaben für die NRF-Gele mit und ohne Ginsengextrakt

NRF-Rezeptur ohne Ginsengextrakt			NRF-Rezeptur mit Ginsengextrakt		
Carbopol®	0,4 g	1,0%	Carbopol®	0,4 g	1,0%
TRIS (1:10 SL)	4,0 g	1,0%	TRIS (1:10 SL)	4,0 g	1,0%
-	-	-	Ginsengextrakt	0,8 g	2,0%
EtOH 96% unvergällt	8,0 g	20,0%	EtOH 96% unvergällt	8,0 g	20,0%
Aqua dest. ad 40,0 g	27,6 g		Aqua dest. ad 40,0 g	26,8 g	

Tabelle 11: Genaue Rezepturangaben für die HEC-Gele mit und ohne Ginsengextrakt

HEC-Gel ohne Ginsengextrakt			HEC-Gel mit Ginsengextrakt		
HEC	4,0 g	10,0%	HEC	4,0 g	10,0%
-	-	-	Ginsengextrakt	0,8 g	2,0%
EtOH 96% unvergällt	8,0 g	20,0%	EtOH 96% unvergällt	8,0 g	20,0%
Aqua dest. ad 100%	28,0 g		Aqua dest. ad 40,0 g	27,2 g	

Der Gehalt an Ginsengextrakt betrug immer 2% (m/m). An den Rezepturen ist der Unterschied zwischen Hausrezeptur und NRF-Rezeptur gut erkennbar. Während in der NRF-Rezeptur gleiche Mengen an Carbopol® und TRIS eingesetzt werden, ist es in der Hausrezeptur nur ein Drittel des TRIS. Ethanol in der eingearbeiteten Menge fungiert als Lösungsmittel und Konservierungsstoff.

Die Carbopol®-Gele waren honigfarben, während die HEC-Gele eher einem hellen Bernstein glichen. Alle Gele mit Ginseng waren recht farbintensiv. Die olfaktorische Analyse ergab einen leichten Geruch nach pflanzlichem Material, der auch während

der Lagerung erhalten blieb. Die Gele waren alle klar und besonders bei den Carbopol®-Gelen konnte man keine Klumpen feststellen.

4.1.2. Stabilität der Ginsenoside in den Formulierungen

Die Ermittlung der Stabilität der Ginsenoside erfolgte wie vorne beschrieben (Abschnitt 3.7.). Die Ergebnisse sind in Abbildung 47 dargestellt. Als Marker für den Gehalt an Ginsenosiden verwendete man die Ginsenoside Rg1 und Rb1, die kommerziell erhältlich sind. Die Standards wurden mit Methanol als Lösungsmittel bei einer Konzentration von 1 mg/ml vermessen. Die Ergebnisse der Proben und der anschließende Vergleich mit den Standards ließen Rückschlüsse auf das Vorhandensein der Ginsenoside ziehen. Die genauen Werte kann man Tabelle 18 entnehmen, die im Anhang zu finden ist.

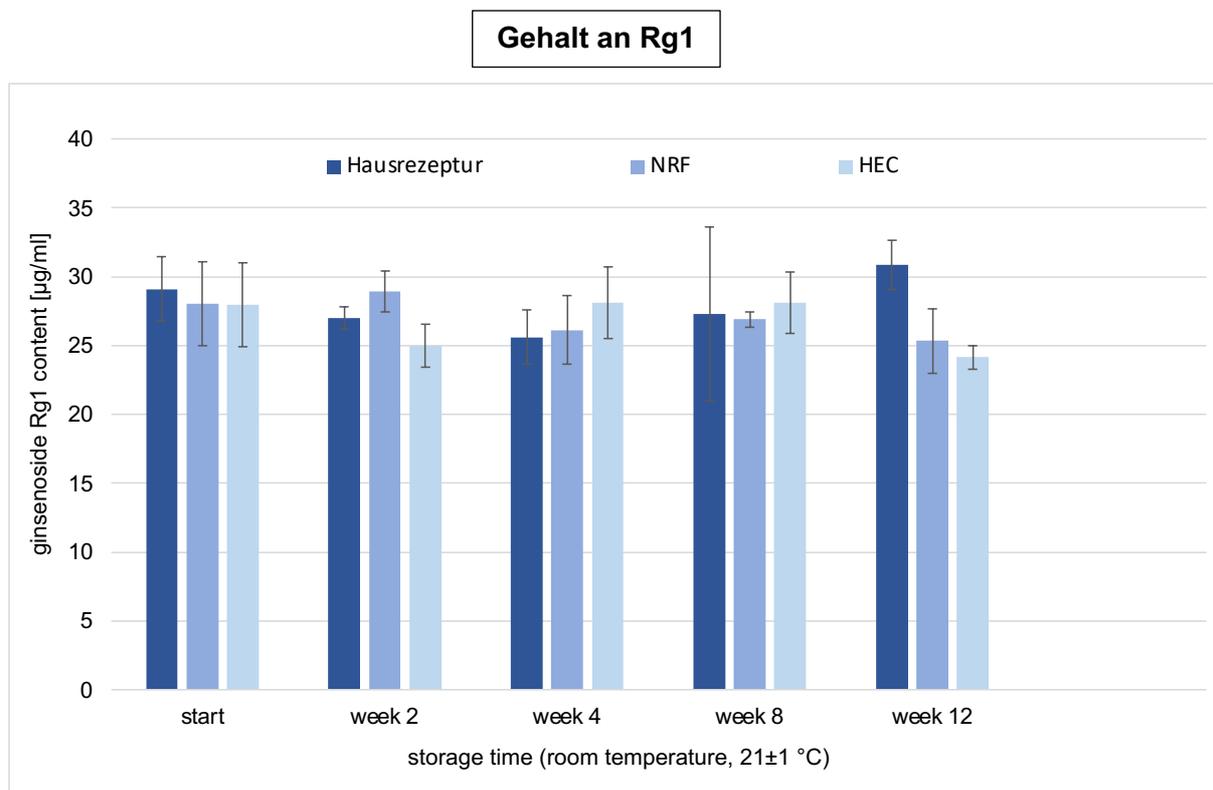


Abbildung 47: Gehalt an Rg1 in den verschiedenen Gel-Typen über den Lagerungszeitraum (MW ± STABW, n=3)

Um die Stabilität der Ginsenoside zu ermitteln, wurde das Ginsenosid Rg1 als Leitsubstanz genommen. Nach der Einarbeitung des Ginsengextraktes waren die hergestellten Gele vergleichbar; der Rg1-Gehalt unterschied sich nicht maßgeblich und blieb auch während der Lagerung stabil.

4.1.3. Rheologische Bestimmung

Die Gele wurden sofort nach der Herstellung (Woche 0), eine Woche danach (Woche 1) und folgend nach 2, 4, 6, 8 und 12 Wochen rheologisch vermessen. Für die Messungen wurde das Modular Compact Rheometer MCR 302 (Firma Anton Paar GmbH Graz, AT) verwendet. Es wurde die Kegel-Platte-Methode verwendet. Für die Messung waren mindestens 0,14 ml notwendig. Die dazugehörige Software stammte auch von der Firma Anton Paar und trug den Namen „RheoCompass“. Die Temperatur während der Messung wurde auf konstante 23 °C eingestellt.

Die Ergebnisse und die Entwicklung der Viskositätskurven über die Zeit werden in den folgenden Abschnitten besprochen. Abbildung 48 zeigt die Fließkurven direkt nach der Herstellung. Auffällig ist, dass die Viskosität des HEC-Gels mit Ginseng und die Viskosität des HEC-Gels ohne Ginseng mit Abstand am höchsten sind. Diese Tatsache kann auch durch die makroskopische Beobachtung bestätigt werden. Weiter kann man feststellen, dass die Hausrezeptur ohne Ginseng weitaus viskoser ist als die Hausrezeptur mit Ginseng. Auch bei den NRF-Rezepturen setzt sich dieser Trend fort.

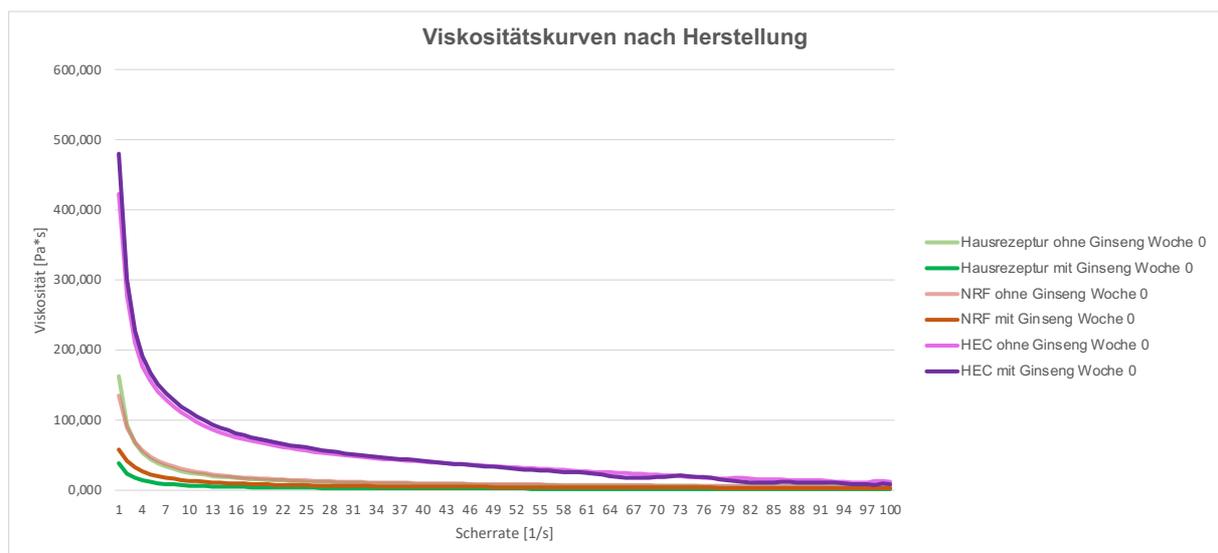


Abbildung 48: Viskositätskurven aller Gele direkt nach Herstellung (MW, n=3)

Die Schubspannung nimmt mit zunehmender Scherrate ab, was einem scherverdünnendem Fließverhalten entspricht. Für den Vergleich der einzelnen Gele wurde eine konstante Scherrate von 10 m/s ausgewählt.

4.1.3.1. Gele nach Hausrezeptur

Die Viskosität der Gele nach Hausrezeptur ohne Ginseng blieb über 12 Wochen weitgehend stabil (Abbildungen 49 und 50).



Abbildung 49: Viskositätskurven über 12 Wochen, Hausrezeptur (MW, n=3)

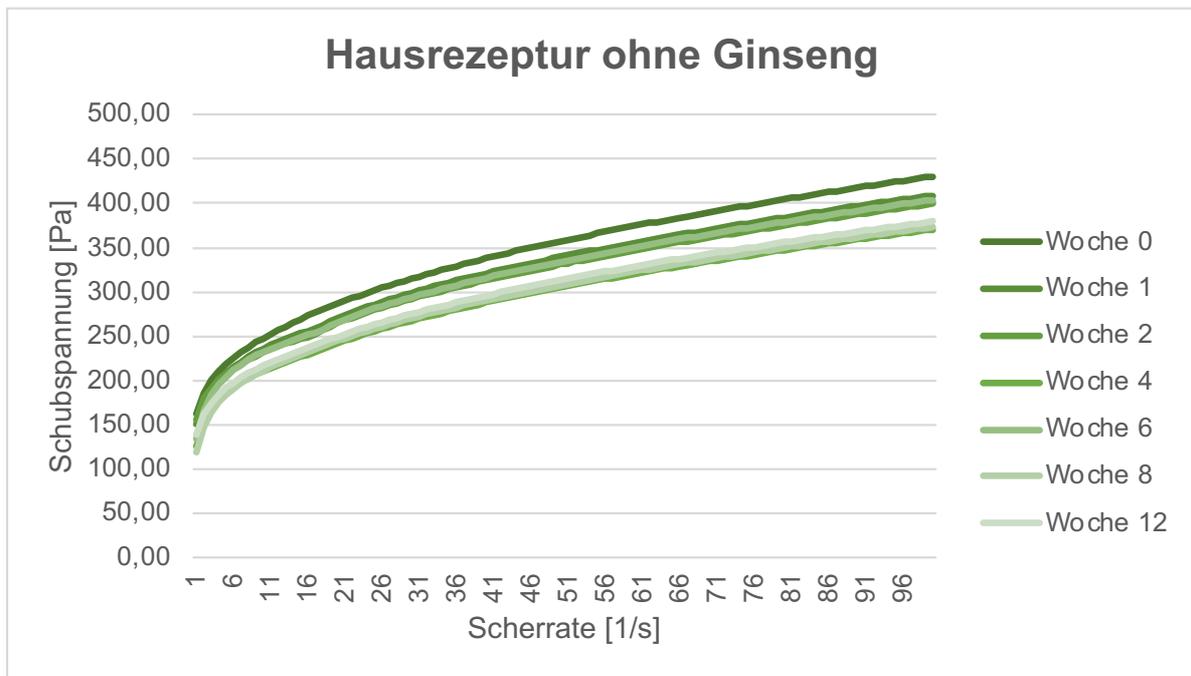


Abbildung 50: Fließkurven über 12 Wochen, Hausrezeptur (MW, n=3)

Bei den Gelen nach Hausrezeptur mit Ginseng (Abbildung 51 und 52) kann man eine stärkere Abnahme der Viskosität während der Lagerung beobachten.

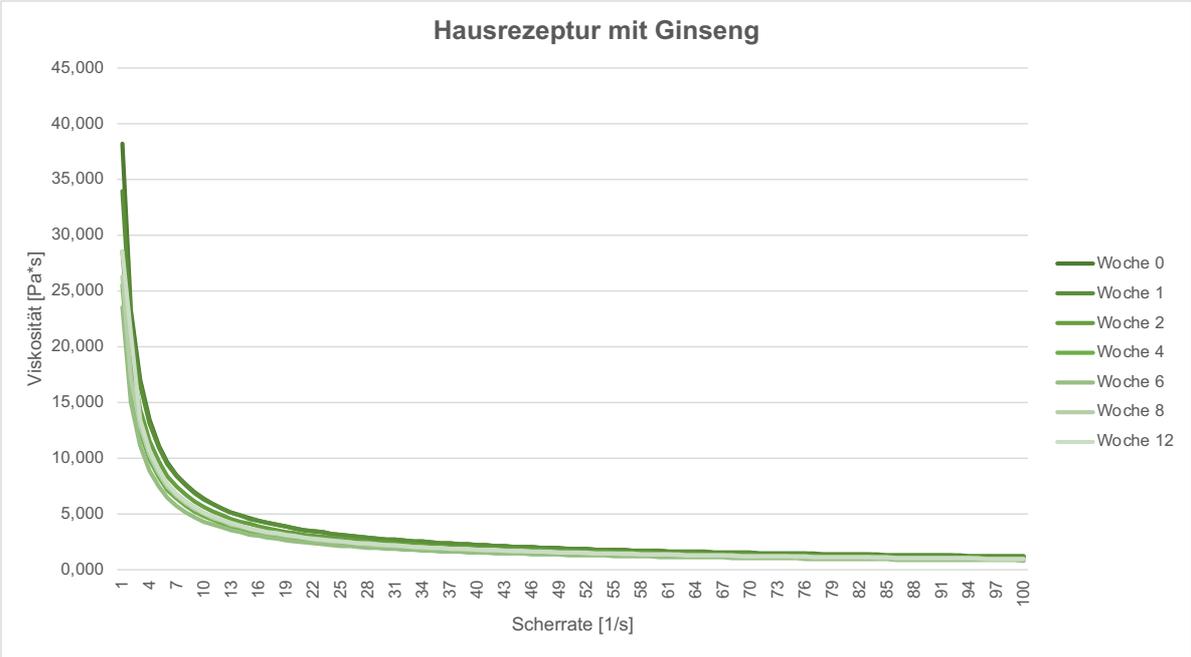


Abbildung 51: Viskositätskurven über 12 Wochen, Hausrezeptur mit Ginseng (MW, n=3)

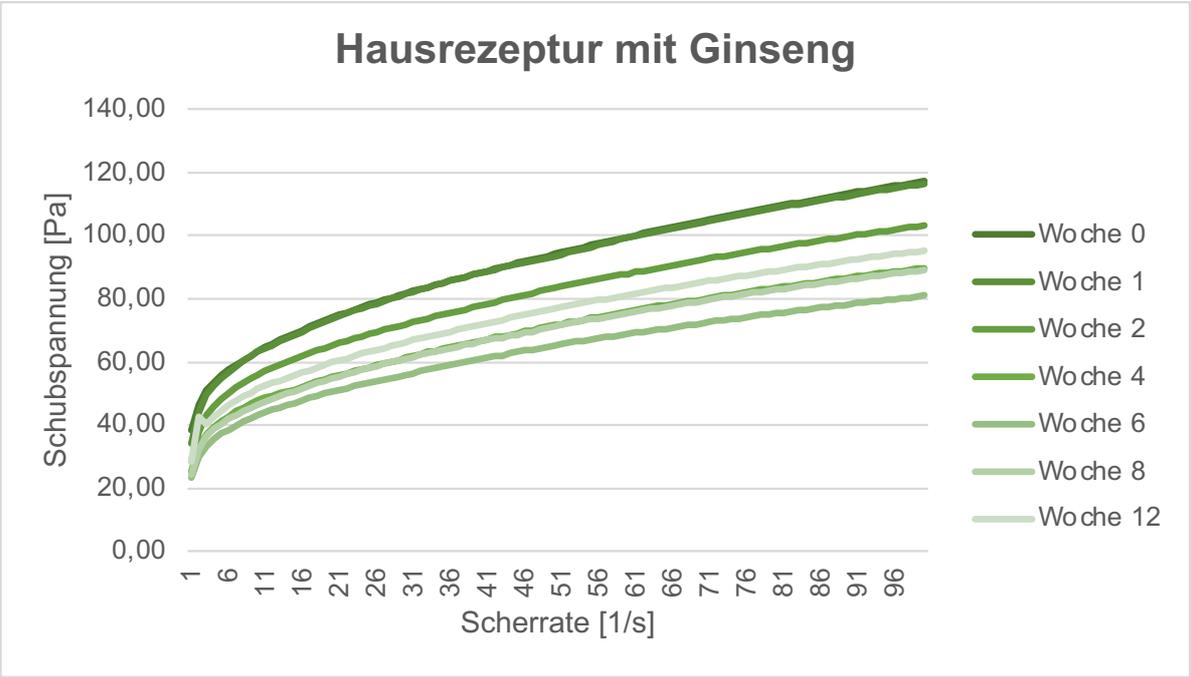


Abbildung 52: Fließkurven über 12 Wochen, Hausrezeptur mit Ginseng (MW, n=3)

Um die Kurven vor allem zu Beginn ganz genau zu beobachten, wurden mit dem Programm RheoCompass (Firma Anton Paar, Graz, AT) extra Fließkurven in Woche 0 angefertigt (Abbildung 53 und 54). Die Hausrezeptur-Gele mit Ginseng weisen ein leicht variables Fließverhalten auf als die Gele ohne Ginseng. Außerdem erkennt man hier die höhere Viskosität der Gele ohne Ginseng noch einmal deutlicher, von der bei Abbildung 48 gesprochen wurde.

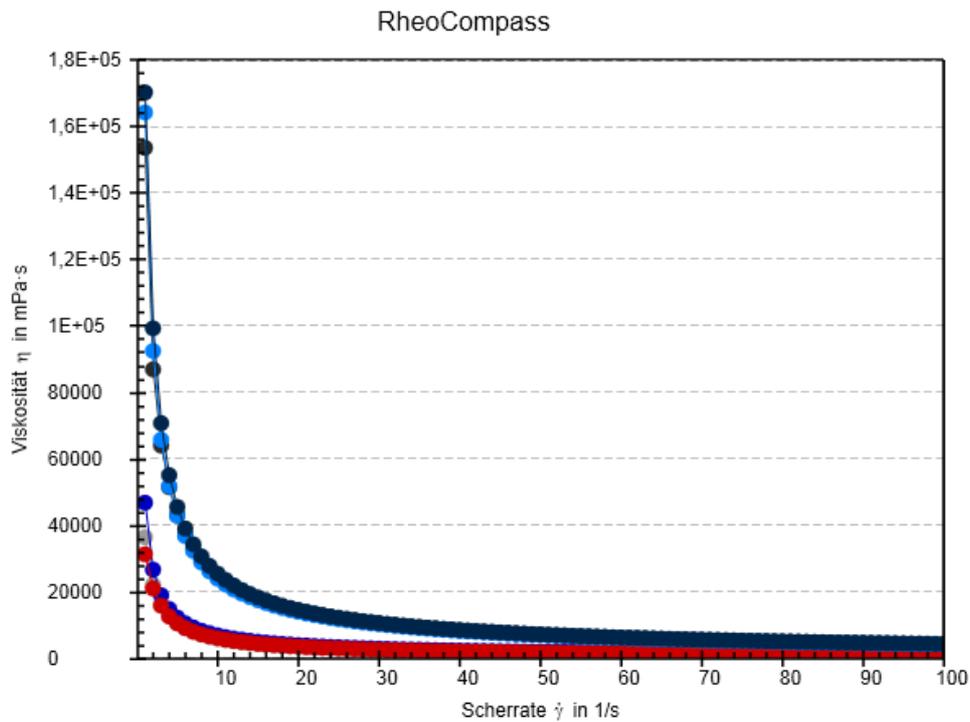
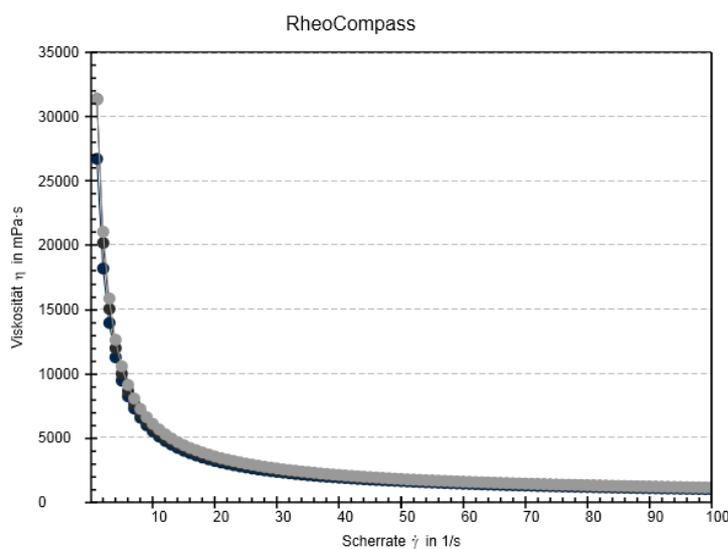


Abbildung 53: Viskositätskurven Woche 0 im Vergleich: Hausrezeptur mit Ginseng (untere Viskositätskurven in rot, grau, dunkelblau) im Vergleich zu den Fließkurven des Carbopol®-Gels ohne Ginseng (darüber, blau, dunkelblau, schwarz)



Hausrezeptur-Gel 3 mit Ginseng (Abbildung 54): Woche 0 in grau, Woche 1 in schwarz und Woche 2 in schwarz. Sichtbar ist eine minimal steilere Kurve. Die Abweichung ist jedoch nicht signifikant.

Abbildung 54: Die Entwicklung der Hausrezeptur mit Ginseng über einen Zeitraum von 2 Wochen; exemplarisch an Gel 3

Die Abbildung 55 zeigt die Interpolation der Formulierungen mit und ohne Ginseng bei dem Messwert 10 /s. Es ist in der Abbildung 55 deutlich die unterschiedliche Viskosität der Hausrezeptur-Gele mit und ohne Ginseng zu erkennen. Die dynamische Viskosität der Hausgele ohne Ginseng ist ungefähr vier Mal höher als die der Gele mit Ginseng. Bei beiden Gelen sinkt die dynamische Viskosität mit der Zeit leicht. Prozentuell ist die Abnahme der Viskosität bei den Gelen mit Ginseng (ca. 20%) höher als bei den Gelen ohne Ginseng (ca. 13%). Jedoch können beide Gele über den Lagerzeitraum von 12 Wochen als stabil angesehen werden. Bei den Vermessungen der Gele nach Hausrezeptur fiel die recht flüssige Konsistenz auf.

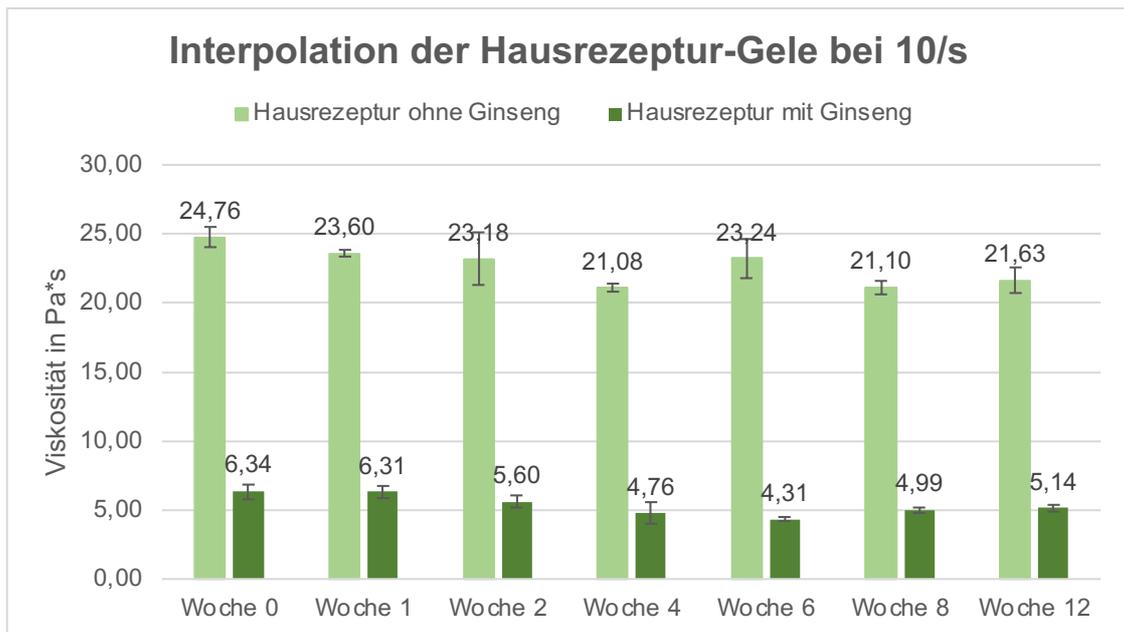


Abbildung 55: Veränderung der dynamischen Viskosität der Hausrezeptur-Gele bei einer Scherrate 10/s über 12 Wochen (MW ± STABW, n=3)

4.1.3.2. Gele nach NRF-Rezeptur

Die rheologische Bestimmung der Gele nach NRF-Rezeptur war unkompliziert. Das NRF-Gel ohne Ginseng war bzgl. der Viskosität äußerst lagerstabil (Abbildung 56). Genau zum selben Ergebnis kommt man bei der Analyse der NRF-Gele mit Ginseng (Abbildung 58).

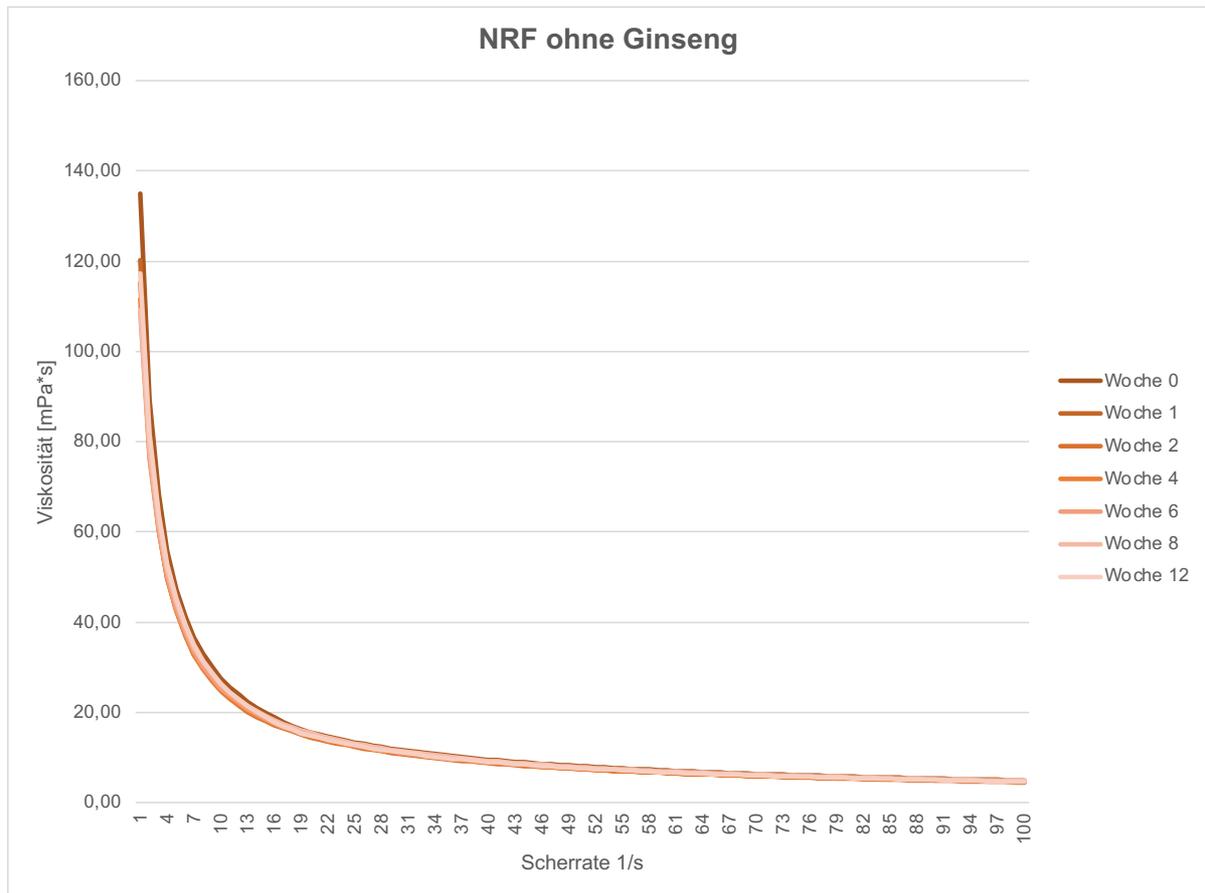


Abbildung 56: Viskositätskurven über 12 Wochen, NRF-Rezeptur (MW, n=3)

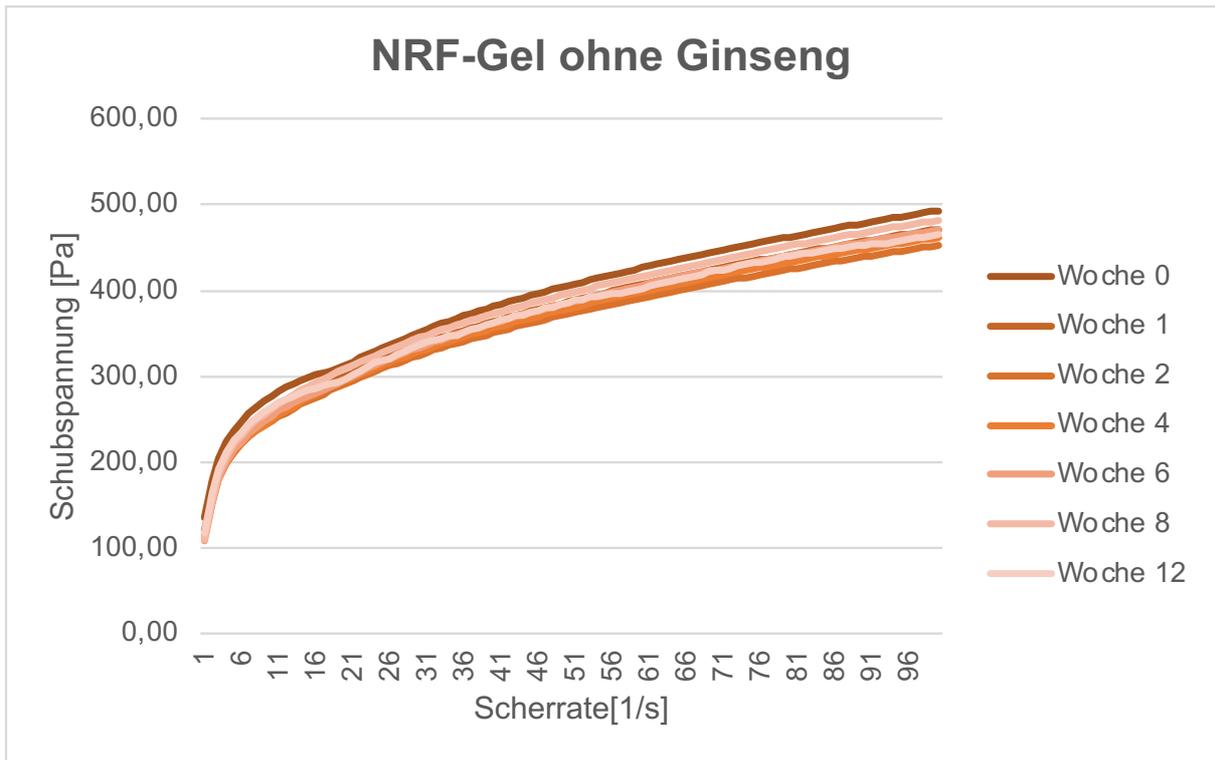


Abbildung 57: Fließkurven über 12 Wochen, NRF-Rezeptur (MW, n=3)

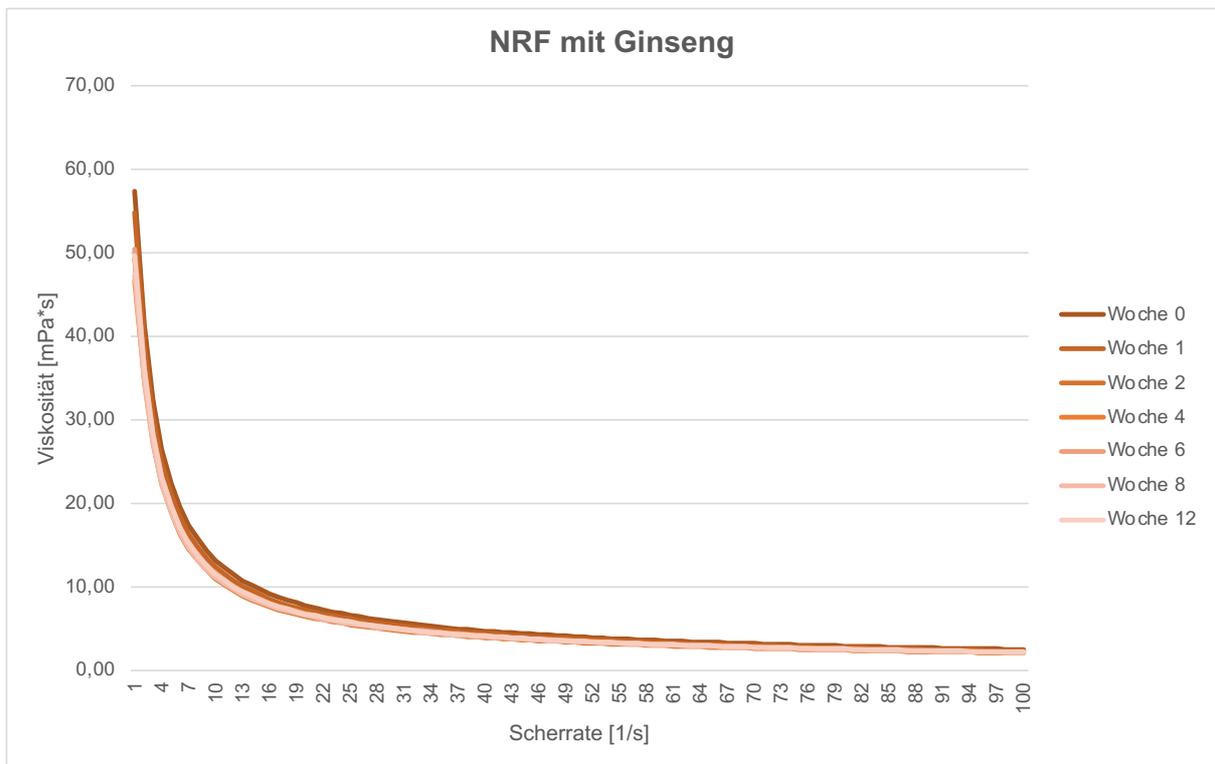


Abbildung 58: Viskositätskurven über 12 Wochen, NRF-Gel mit Ginseng (MW, n=3)

Die Viskosität der NRF-Gele mit Ginseng kann man in Abbildung 59 und 60 sehen. Sie nimmt mit der Zeit leicht ab; in Woche 8 war ein Ausreißer zu verzeichnen.

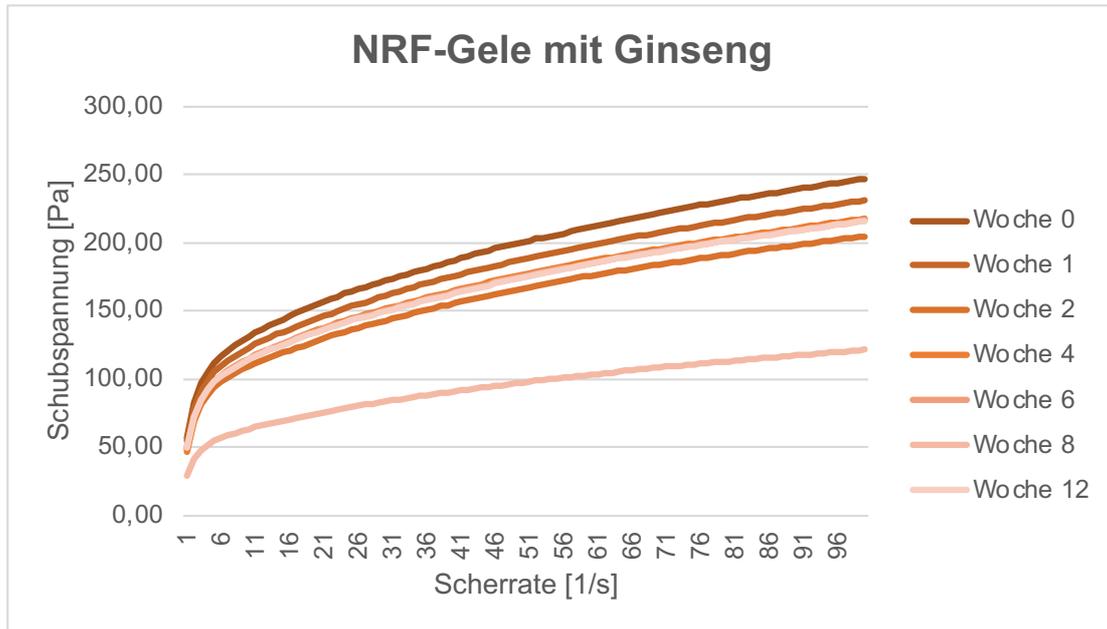


Abbildung 59: Fließkurven über 12 Wochen, NRF-Rezeptur mit Ginseng (MW, n=3)

Abbildung 60 zeigt die Interpolation der Formulierungen mit und ohne Ginseng beim Messwert 10 /s. Die dynamische Viskosität der NRF-Gele ohne Ginseng ist ungefähr doppelt so hoch wie die der Gele mit Ginseng. Die Gele können als stabil angesehen werden.

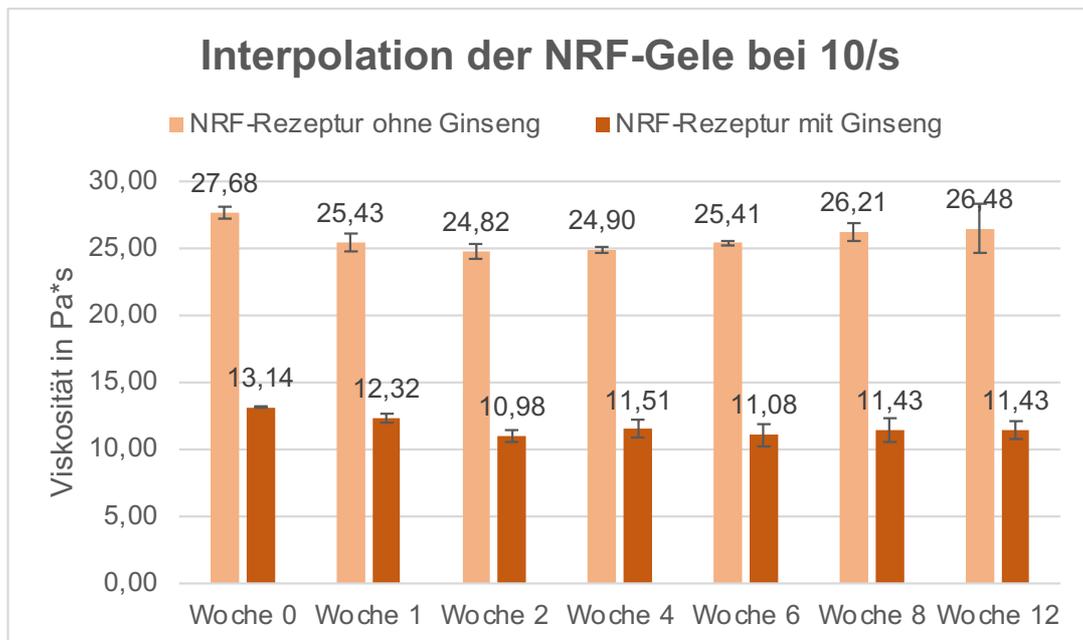


Abbildung 60: Veränderung der dynamischen Viskosität der NRF-Gele bei 10/s über 12 Wochen (MW ± STABW, n=3)

Auch im Fall der NRF-Gele wurden separat Viskositätskurven mit dem Programm RheoCompass (Firma Anton Paar, Graz, AT) erstellt, damit man etwaige starke Änderungen in der Viskosität zu Beginn der Beobachtungszeit gezielt feststellen konnte. Die Viskositätskurven unterscheiden sich fast nicht. In Woche 0 besitzen alle Gele der Sorte mit und ohne Ginseng jeweils sehr ähnliche Fließeigenschaften (Abbildung 61).

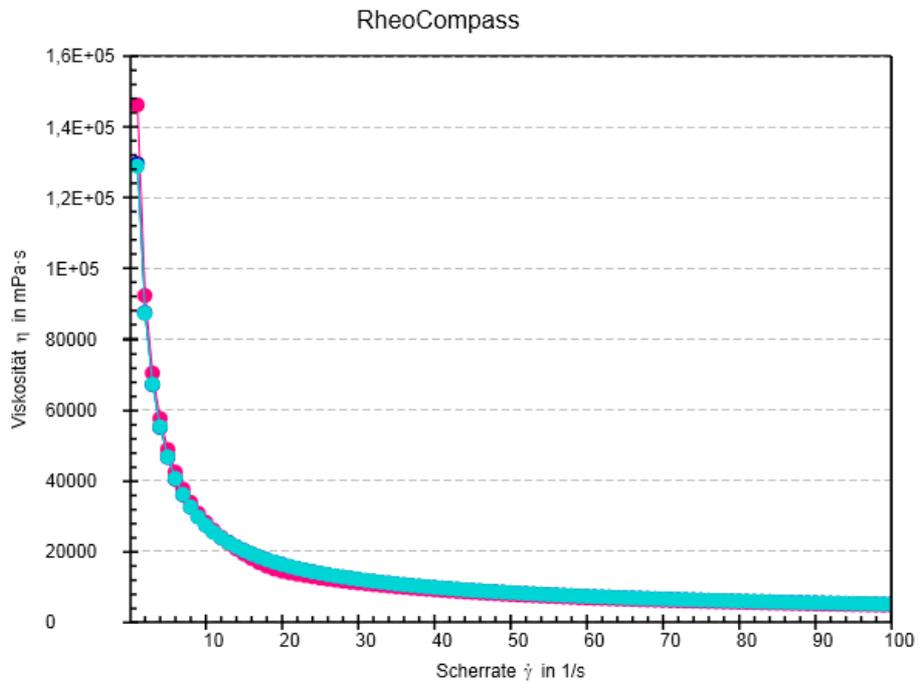


Abbildung 61: Viskositätskurven in Woche 0 von einem NRF-Gel mit (türkis) und einem NRF-Gel ohne Ginseng (rosa)

4.1.3.3. Gele nach HEC-Rezeptur

Die Viskositätskurven in Abbildung 62 verändern sich über den Zeitraum der Beobachtung nur marginal, was auf ein stabiles Gel schließen lässt.

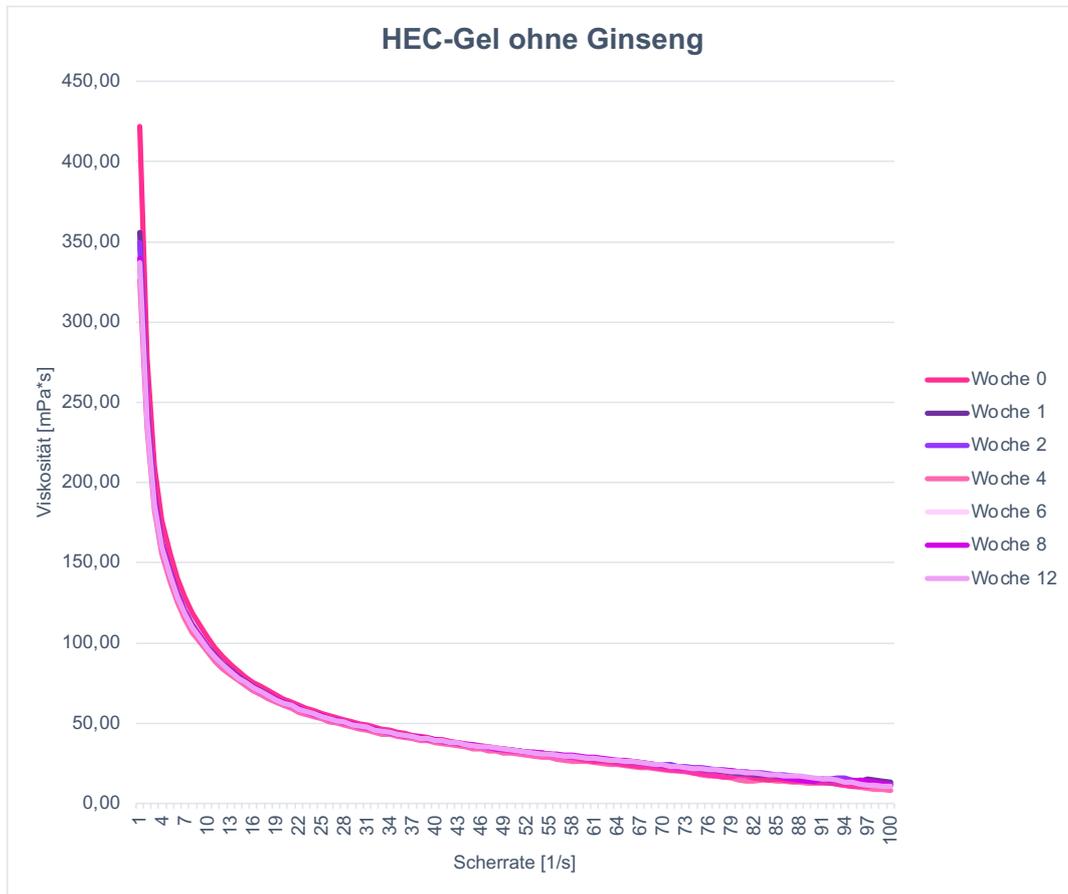


Abbildung 62: Viskositätskurven über 12 Wochen, HEC-Gel (MW, n=3)

In Abbildung 63 erkennt man deutlich, dass die Schubspannung bei hohen Scherraten großen Schwankungen unterliegt. Dies könnte daran liegen, dass sich zu viel HEC in den Formulierungen befindet und dadurch die Fließeigenschaften bei hohen Scherraten beeinträchtigt wurden (Verklumpung).

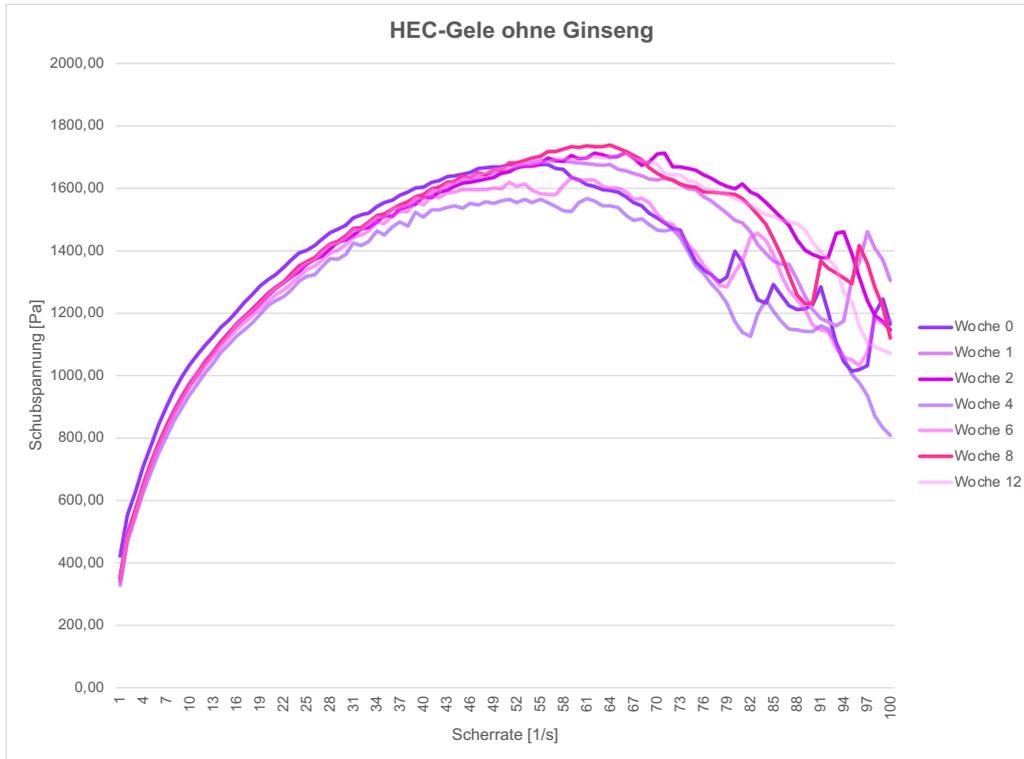


Abbildung 63: Fließkurven über 12 Wochen, HEC-Gel mit Ginseng (MW, n=3)

Die HEC-Gele mit Ginseng weisen eine Abnahme der Viskosität mit der Zeit auf (Abbildung 64 und 65).

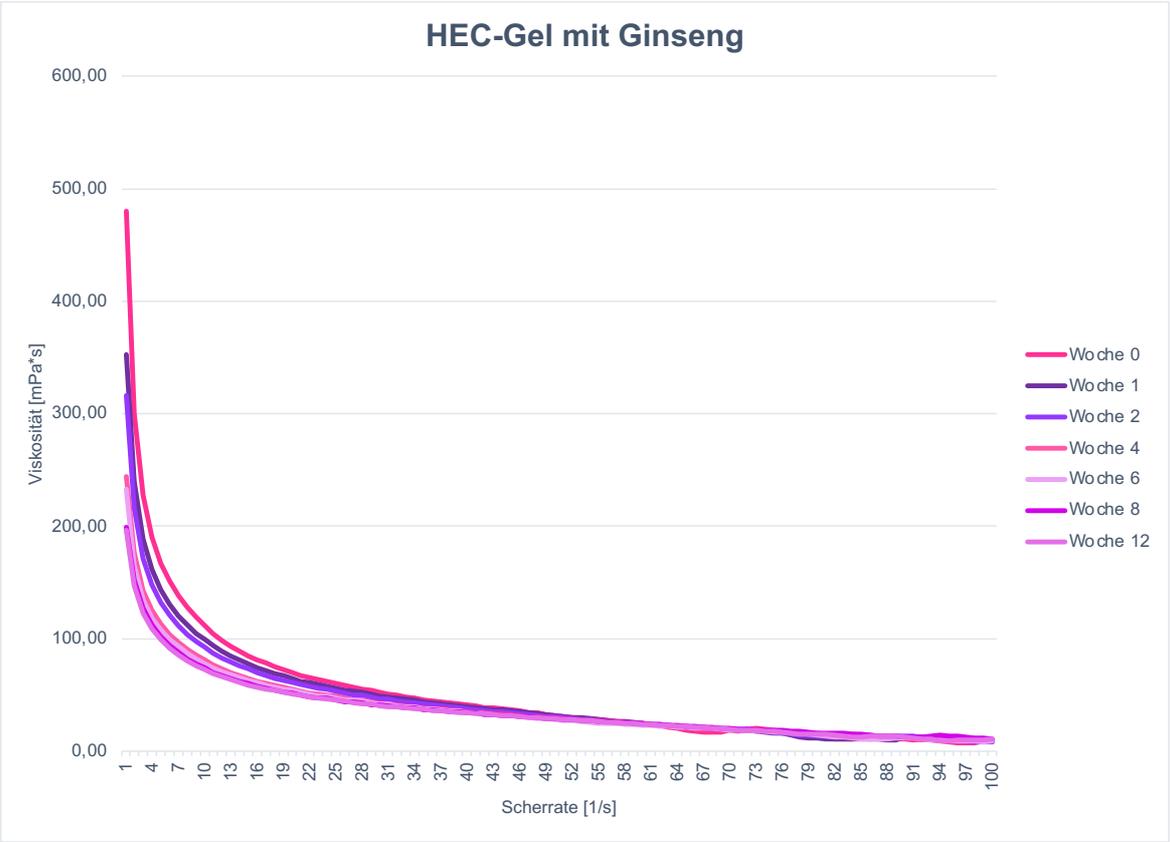


Abbildung 64: Viskositätskurven über 12 Wochen, HEC-Gel mit Ginseng (MW, n=3)

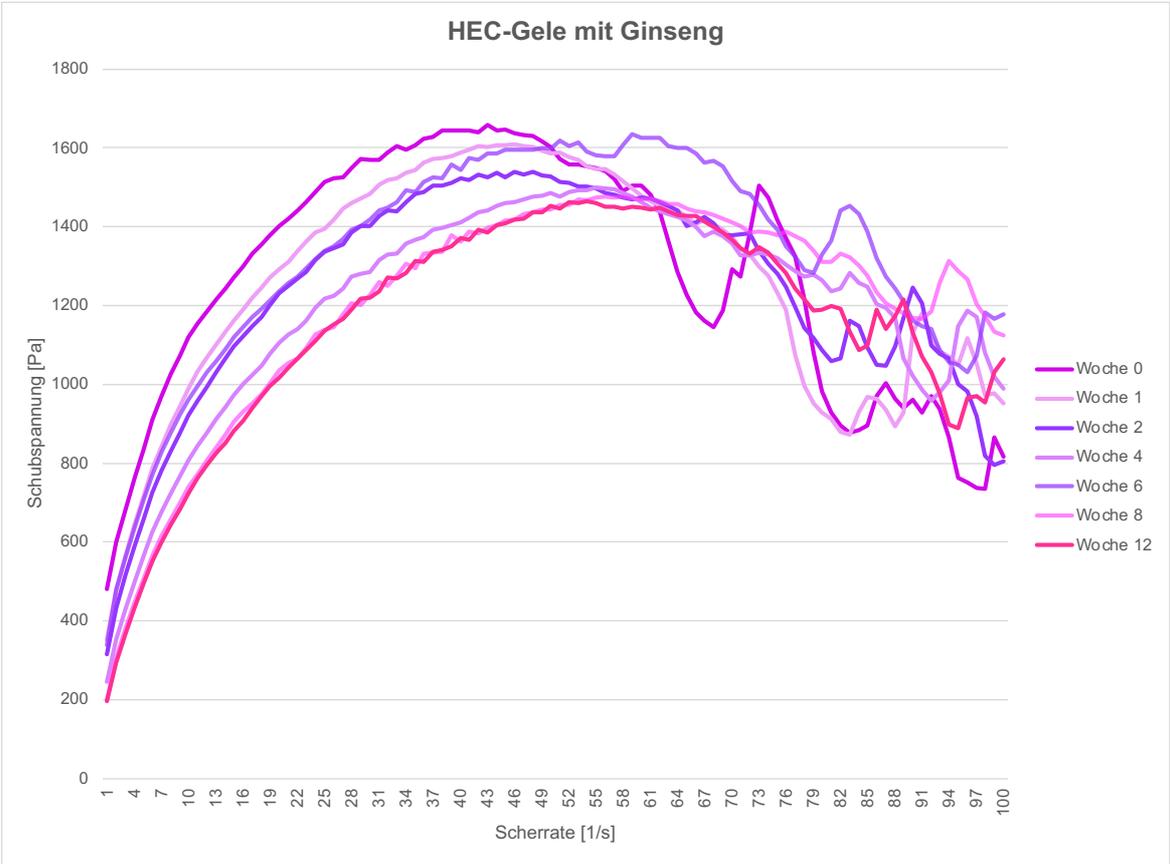


Abbildung 65: Fließkurven über 12 Wochen, HEC-Gel mit Ginseng (MW, n=3)

Die Annahme, dass die Viskosität der HEC-Gele mit Ginseng über den Zeitraum der Beobachtungen stark abnimmt, bestätigt sich auch in Abbildung 66. Die Interpolation der HEC-Gele mit Ginseng nimmt über den gesamten Zeitraum von 12 Wochen um ca. 35% ab. Die HEC-Gele ohne Ginseng zeigten stabilere Werte.

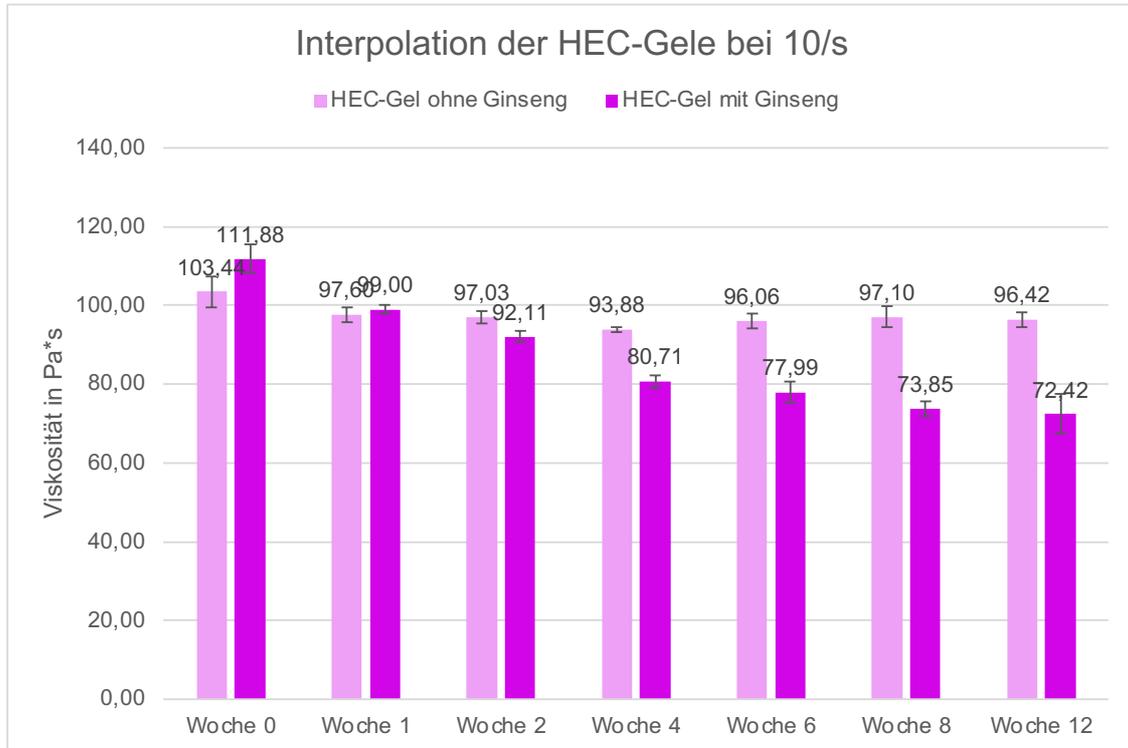


Abbildung 66: Veränderung der dynamischen Viskosität der HEC-Gele bei 10/s über 12 Wochen (MW ± STABW, n=3)

Die rheologische Bestimmung der HEC-Gele funktionierte einwandfrei. Das Gel war leicht zu trimmen. Durch die Kompaktheit des Gels wurde aber die Fließkurve zum Ende hin sehr unregelmäßig. Es wurde vermutet, dass der Gehalt an Flüssigkeit im Vergleich zur HEC-Menge zu gering war. Man kann in Abbildung 67 (aus Woche 0) erkennen, dass dieses Phänomen sowohl bei den Gelen mit als auch bei denen ohne Ginseng zu beobachten war.

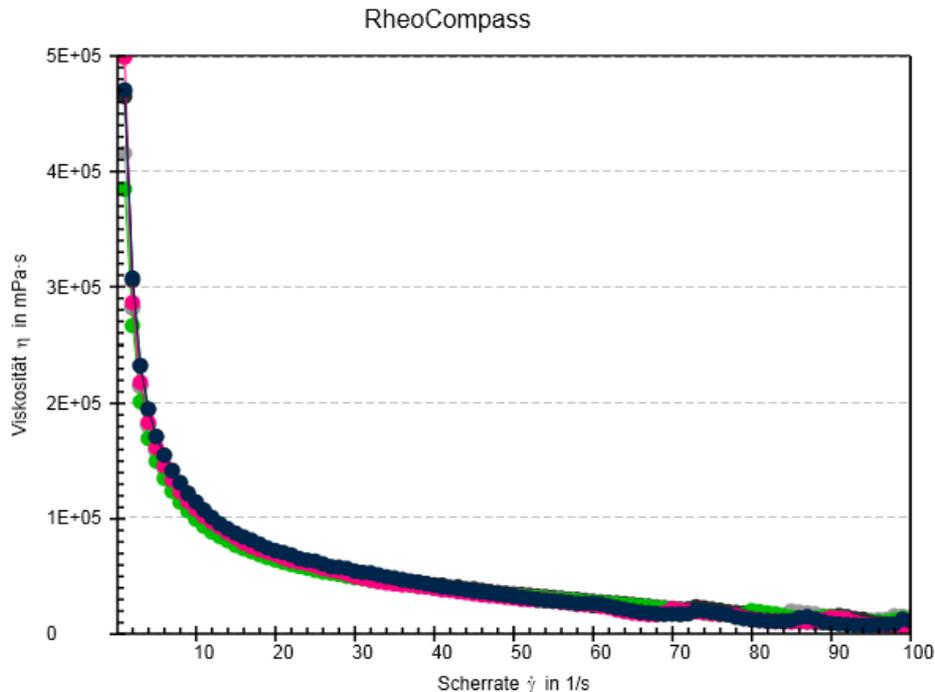


Abbildung 67: HEC-Gele mit (grün, pink) und ohne (schwarz, grau) Ginseng in Woche 0. Viskositätskurven erstellt mit RheoCompass. Man erkennt deutlich die starke Viskosität und dadurch vermindertes Fließvermögen gegen Ende der Messung.

Nach jeder Messung konnte man einen Ring von eingetrocknetem Gel rund um den Stempel erkennen, der sich nur durch festeres Wischen mit Küchenrolle und Ethanol 96% entfernen ließ. Dies deutete darauf hin, dass der Feuchtigkeitsgehalt des Gels sehr niedrig bzw. zu niedrig war bzw. der Gehalt an HEC zu hoch. Diese Tatsache konnte auch im Fließverhalten des Gels belegt werden (vgl. zuvor Abbildung 63 und 65). Der gebildete Ring (Abbildung 68) rund um den Messstab könnte die Erklärung für die ungenügenden Fließeigenschaften des Gels sein.

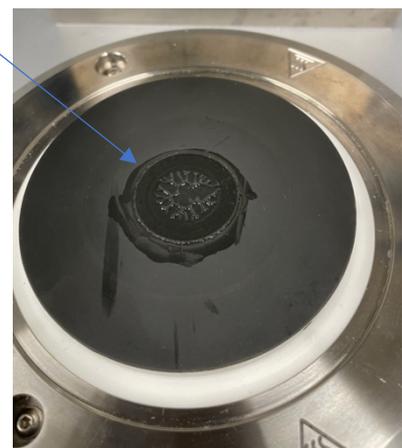


Abbildung 68: Eintrockneter Ring des HEC-Gels. Möglicherweise wurden die Fließeigenschaften durch den Rand beeinflusst.

Eine Auffälligkeit gilt es zu bemerken:

Aus Versehen wurde ein Carbopol®-Gel mit Ginseng in Woche 2 länger als 4 Minuten auf der Platte mit Haube gelassen, aber dennoch vermessen. Die Viskositätskurve, die sich ergab, kann man in Abbildung 69 sehen.

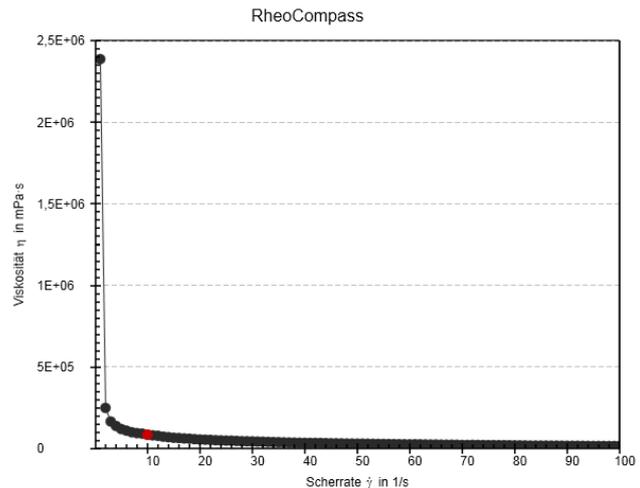


Abbildung 69: Viskositätskurve eines Gels, das zu lange auf der Platte blieb, bevor es vermessen wurde.

Zusammenfassend lassen sich folgende Beobachtungen aufstellen:

1. Die Carbopol-Gele sind jeweils relativ stabil, jedoch zeigt die NRF-Rezeptur bessere Stabilität als die Hausrezeptur (höhere Viskosität). Die Einarbeitung von Ginsengextrakt senkt den pH-Wert und somit die Gelbildung durch Carbopol, was vom NRF-Gel besser abgefedert wird. Eine Nachjustierung des anfänglichen pH-Werts wäre günstig.
2. Die pH-unabhängigen HEC-Gele werden durch den Einbau des Extrakts in Bezug auf die Viskosität kaum beeinflusst, jedoch nimmt die Viskosität innerhalb der Lagerzeit in Gegenwart des Extrakts stärker ab.

4.1.4. Ergebnisse der pH-Messungen

Die Gele wurden jeweils über 12 Wochen hinweg vermessen. Die genauen Ergebnisse der pH-Messungen findet man im Anhang (Tabelle 15). In Abbildung 70 kann man die pH-Werte der unterschiedlichen Gel-Formulierungen im Vergleich sehen. Die beiden Gele nach Hausrezeptur unterscheiden sich wenig in ihrem pH-Wert. Auch bei den Gelen nach NRF-Rezeptur kann man keinen großen Unterschied feststellen. Nur bei den Gelen mit Hydroxyethylcellulose weist das Gel ohne Ginseng einen deutlich höheren pH als das Gel ohne Ginseng auf. Die Standardabweichungen bewegen sich über alle Gele hinweg in einem Bereich von 0,03 bis maximal 0,08.

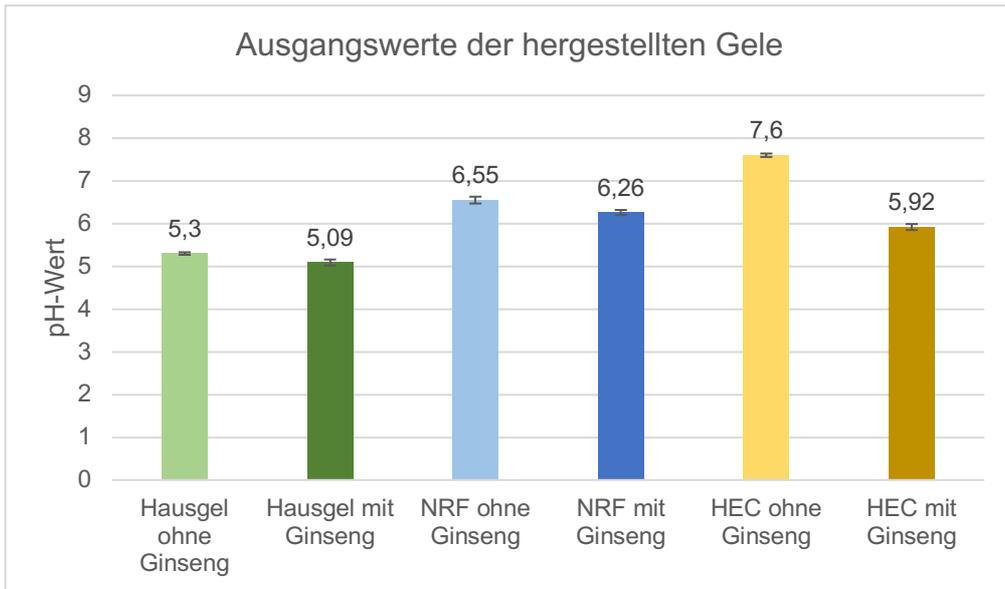


Abbildung 70: pH-Wert der Gele nach Herstellung (MW \pm STABW, n=3)

In Abbildung 71 kann man die Veränderungen des pH-Wertes der Gele nach Hausrezeptur über den Beobachtungszeitraum sehen. Sowohl beim Gel mit als auch beim Gel ohne Ginseng kann man keine signifikante Veränderung des pH-Wertes feststellen. Die pH-Werte der Gele mit und ohne Ginsengextrakt unterscheiden sich im Durchschnitt um 0,25 pH-Einheiten. Die Standardabweichungen bewegen sich immer im Bereich von 0,01 bis 0,13 und es zeigen sich daher sehr stabile Werte.

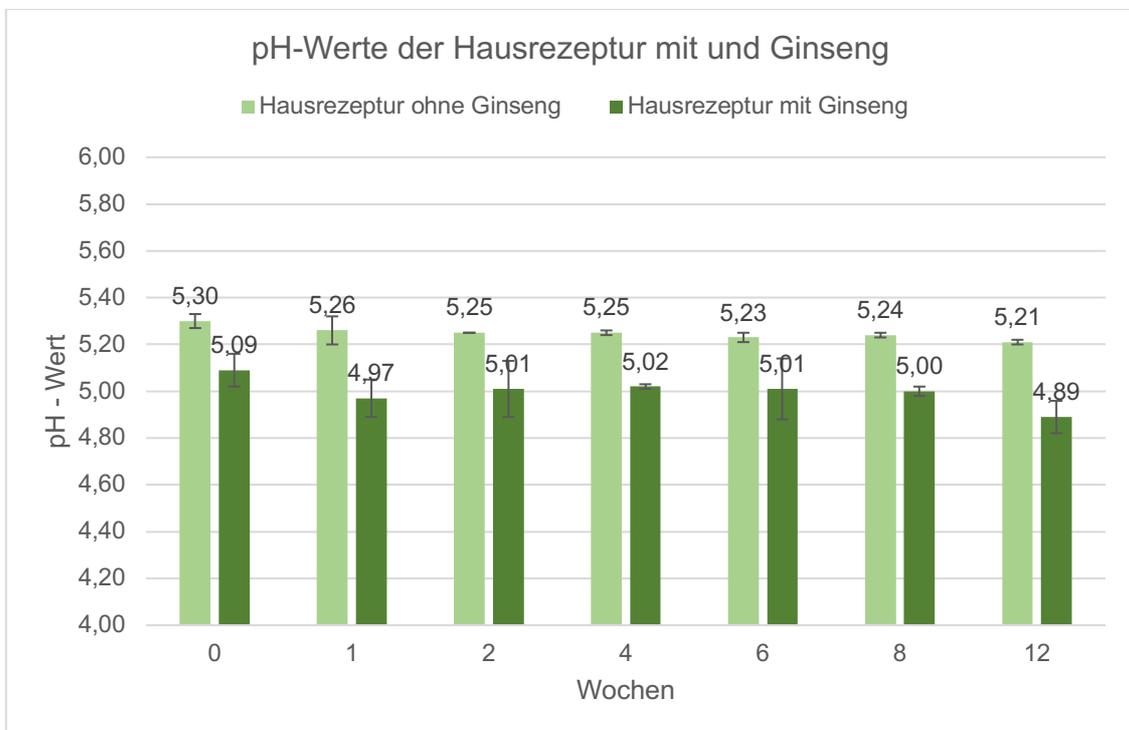


Abbildung 71: pH-Entwicklung der Hausrezeptur-Gele über 12 Wochen (Mittelwert \pm STABW, n=3)

In Abbildung 72 kann man die pH-Veränderungen der Gele nach NRF-Rezeptur erkennen. Die Gele bleiben über den gesamten Zeitraum der Beobachtung sehr stabil in ihrem pH-Wert und zeigen keine signifikanten Veränderungen. Die pH-Werte zwischen den Gelen mit und ohne Ginseng unterscheiden sich im Durchschnitt um 0,41 pH-Einheiten. Die Standardabweichungen bewegen sich immer im Bereich von 0,02 bis 0,1.

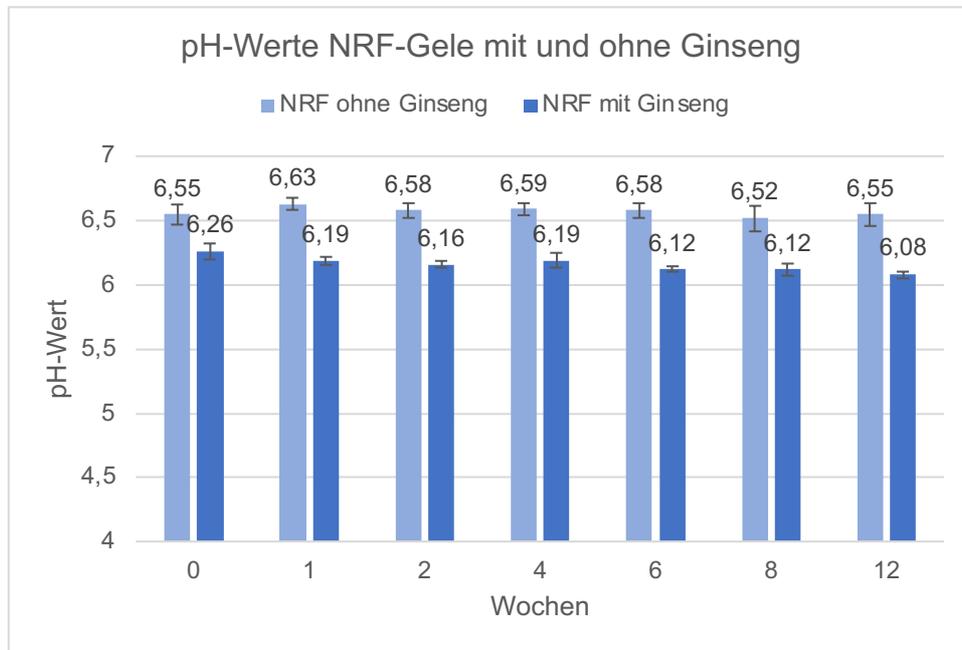


Abbildung 72: pH-Entwicklung der NRF-Gele über 12 Wochen (MW \pm STABW, n=3)

Die pH-Werte der HEC-Gele (siehe Abbildung 73) ändern sich über den gesamten Zeitraum wie bei den anderen zwei Gelen nicht signifikant. In Bezug auf den pH ist auch dieses Gel stabil. Der durchschnittliche Unterschied der Gele mit und ohne Ginseng beträgt 1,67 pH-Einheiten, was im Vergleich zu den anderen Gelen sehr viel ist. Die Standardabweichungen bewegen sich über alle HEC-Gele hinweg in einem Bereich von 0,02 bis 0,07.

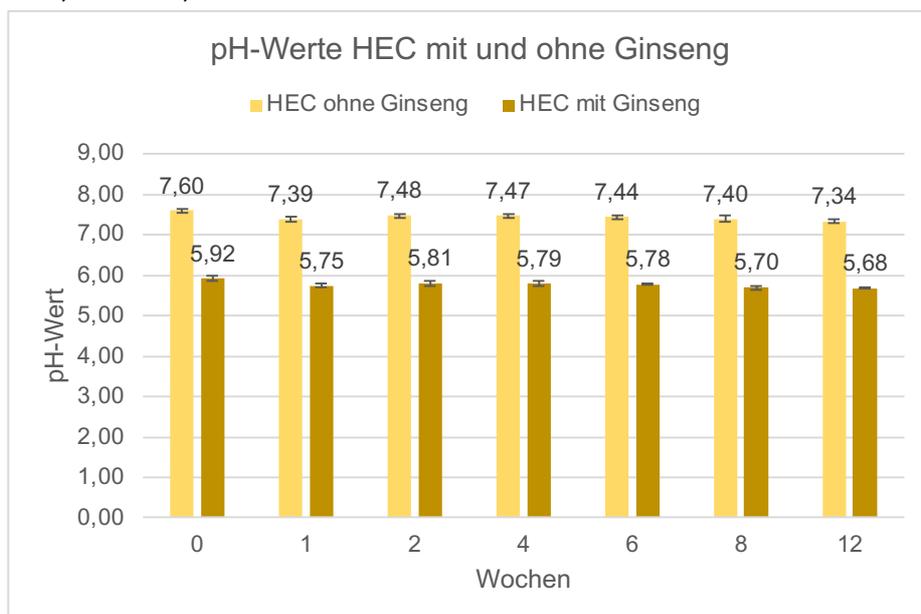


Abbildung 73: pH-Entwicklung der HEC-Gele (MW \pm STABW, n=3)

Zusammenfassend lassen sich folgende Beobachtungen aufstellen:

1. Der anfängliche pH-Wert der Gele war je nach Rezeptur unterschiedlich (HEC > NRF-Gel > Hausrezeptur). Der Einbau des Ginsengextrakts führte stets zu einer Absenkung des pH-Werts.
2. Nach zwölf Wochen Lagerungszeit wies das NRF-Gel mit und ohne Ginsengextrakt die beste pH-Stabilität auf.

4.2. Ergebnisse der Raman-Messungen

Reinspektrum des Ginsengextrakts (Abbildung 74): Das Spektrum wurde durch die Vermessung des 20%igen Ginsengextraktes und anschließendem Abziehen des Spektrums von Aqua dest. gewonnen. Da es sich beim Ginsengextrakt um ein Vielstoffgemisch handelt, ist es recht schwer das Spektrum zu interpretieren. Leider gibt es auch erst wenige Versuche, bei denen der Ginsengextrakt oder andere pflanzliche Extrakte mit der Raman-Spektrometrie kombiniert wurde.

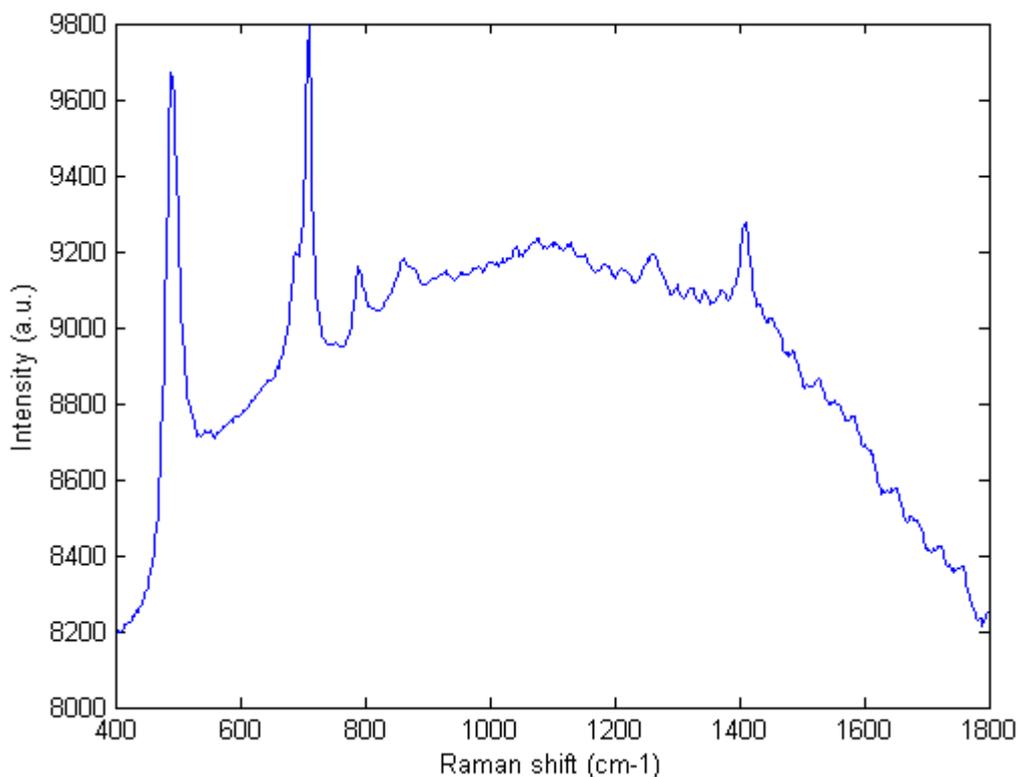


Abbildung 74: Reinspektrum des Ginsengextraktes

Eine starke Bande bei 995 cm^{-1} soll auf den Saponin-Gehalt des Extraktes hinweisen. Bei einer Wellenlänge von 1026 cm^{-1} sieht man die enthaltene Stärke. Zur Interpretation wurde eine Studie aus dem Jahr 2005 zu Hilfe genommen, in der Möglichkeiten der qualitativen und quantitativen Analyse von Stärke und Ginsenosiden in pharmazeutisch verwendetem Ginseng mithilfe von Raman-Spektroskopie untersucht wurden [148]. Laut einer Studie aus 2007 könnte ein Peak bei ca. 519 cm^{-1}

¹ auf die Herkunft des Ginsengs hinweisen [149]. Um eine Wellenlänge von ca. 1450 cm^{-1} kann man Ringe des Dammaran-Grundgerüsts erkennen [149].

Beim Raman-Spektrum ist es leider nicht einfach möglich einzelne Ginsenoside zu identifizieren, da sich die verschiedenen Ginsenoside aus dem Ginsengextrakt im Raman-Spektrum überlagern. Für eine genaue Identifikation müsste man einzelne Ginsenoside isolieren und mit dem Raman-Spektroskop vermessen und dann mit dem Gesamtextrakt in Relation setzen.

4.3. Ergebnisse zur Eindringtiefe des Ginsengextrakts im Schweineohr

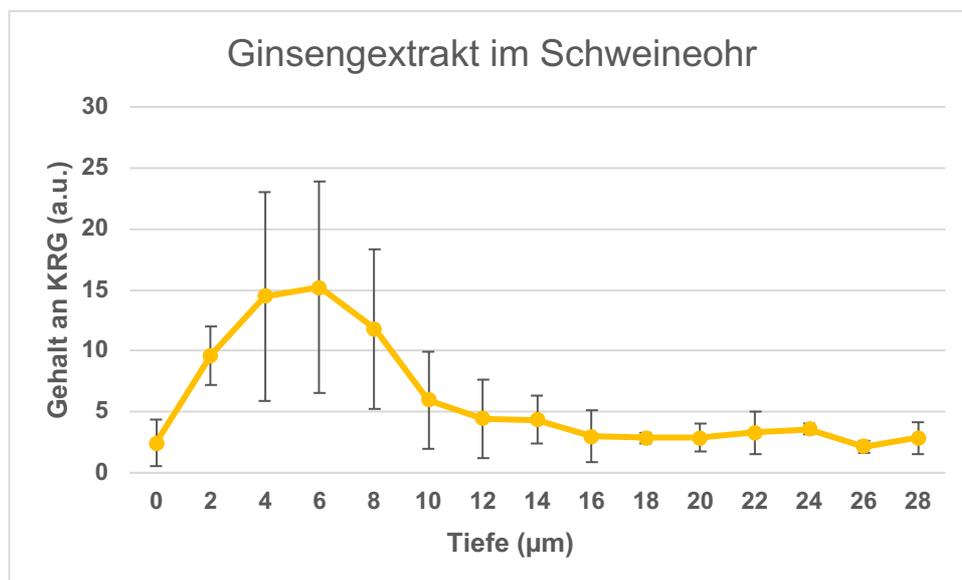


Abbildung 75: Penetrationsprofil des Ginsengextrakts, gemessen mit konfokaler Raman-Spektroskopie (MW \pm STABW, n=3)

Mit dem Raman-Spektroskop versuchte man die Eindringtiefe des Ginsengextraktes in ein Schweineohr zu vermessen (Abbildung 75, Tabelle 19 im Anhang). Auf der x-Achse sieht man den Gehalt an Ginsengextrakt im Schweineohr und auf der y-Achse sieht man die Eindringtiefe in μm . Aus dem Spektrum kann man gut erkennen, dass ein gewisser Anteil des Ginsengextraktes in die Haut des Schweineohrs eingedrungen ist. Bis zu einer Tiefe von ungefähr $16\ \mu\text{m}$ lassen sich Spuren von Ginseng feststellen.

4.4. Ergebnisse der Diffusionsstudien

Die Diffusionsstudien wurden mit der infinite-dose Methode durchgeführt. Die Analyse der Ginsenoside wurde mittels UHPLC und einem LTQ-XLTM-Massenspektrometer durchgeführt. Als Standards dienten die Ginsenoside Rb1 und Rg1, die man aus vorherigen Versuchen der Forschungsgruppe zur Verfügung hatte. Die Standards wurden mit Methanol als Lösungsmittel bei einer Konzentration von 1 mg/ml vermessen. Die Proben wurden dann mit den Standards in Bezug auf ihre molare Masse verglichen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 76 festgehalten.

Man kann gut erkennen, dass eine nennenswerte Konzentration an Ginsenosiden erst ab Stunde 8 erreicht wurde. Wichtig zu erwähnen ist, dass das größere und hydrophile Ginsenosid Rb1 nicht durch die Membran permeieren konnte. Das kleinere und lipophilere Ginsenosid Rg1 konnte aus allen drei Arten von Gelen gut freigesetzt werden, wobei die beiden Carbopol®-Gele deutlich höhere Werte erreichten als das HEC-Gel. Aus der wässrigen Kontroll-Lösung konnte das Ginsenosid ebenfalls gut freigesetzt werden, wobei ein leichtes Abflachen der Kurve beobachtet wurde.

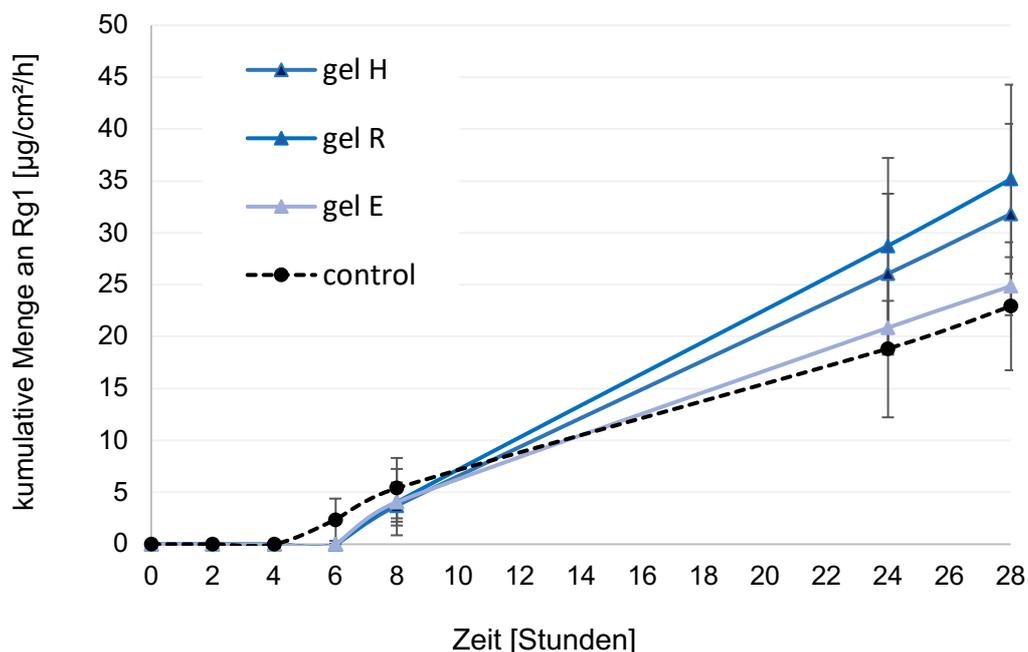


Abbildung 76: Freisetzung von Ginsenosid Rg1 aus den verschiedenen Hydrogel-Typen (MW ± STABW, n=12)

In der Forschungsgruppe wurden von Frau Mag. Simone Strohmaier Emulsionen mit Ginsengextrakt mit demselben Versuchsaufbau vermessen, die etwas niedrigere Werte als die Kontrolllösung und die Gele erreichten [14]. Dies könnte auf die relativ milden Eigenschaften der Nanoemulsionen im Vergleich zu den Gelen zurückzuführen sein, die Ethanol als Enhancer enthalten.

5. Diskussion

Ginseng in Dermatika ist seit Jahren im asiatischen Raum verbreitet, aber in Österreich noch keine gängige Komponente in halbfesten Dermatika. Man findet vereinzelt Tonika oder Kapseln mit Ginseng in der Apotheke, aber in dermalen Formulierungen hat Ginseng keinen hohen Stellenwert. Daher sollte der Effekt der Einarbeitung von Ginsengextrakt in Hydrogele untersucht werden.

Der Ginsengextrakt ließ sich gut in die Hydrogele einarbeiten, führte jedoch bei Carbopol-haltigen Gelen zur Absenkung des pH-Werts und damit der Viskosität. Der Rg1-Gehalt blieb während der Lagerung relativ stabil.

Weitere Studien zur Formulierungsentwicklung wären von Interesse. Man könnte man den Extrakt möglicherweise in lipophile Nanopartikel einbringen, oder mittels einer pH-unabhängigen Creme-Grundlage verarbeiten. Hierbei löst man zuerst den Ginsengextrakt in einem wässrigen Medium auf und arbeitet ihn dann in die wasseraufnehmende Creme ein.

Ein weiterer Punkt, den es zu beachten gilt, ist, dass ein Hydrogel gerade für ältere oder strapazierte Haut keine langfristige Pflege darstellt. Der hohe Alkoholgehalt (20%) in den Hydrogelen könnte sich nachteilig auf die strapazierte Haut auswirken, da er austrocknend wirkt und die Haut dann zur Faltenbildung neigt. Besser wäre eine rückfettende Substanz, damit die Haut weniger austrocknet und bedürfnisorientiert versorgt wird. Die Wirkungen des Ginsengs sind besonders für Personen interessant, die mit ersten Anzeichen der Hautalterung wie leichten Fältchen oder Pigmentflecken konfrontiert sind. Beanspruchte, eventuell trockene Haut braucht eine rückfettende Pflege, was auch für eine lipophilere Formulierung spricht. Ginseng wirkt als Antioxidans und hemmt den Abbau von Kollagen. Somit müsste die Formulierung die Dermis erreichen, damit der Ginseng seine volle Wirkung entfalten kann. Vielleicht wäre auch die Einarbeitung des Ginsengs in ein Emulgel als leichtere Formulierung eine Alternative.

Die Beschaffenheit der HEC-Gele ist für eine dermale Zubereitung zur angenehmen Anwendung nicht gut geeignet, da die krümelige Konsistenz sich nicht gut verstreichen lässt. Zusätzlich ist der Feuchtigkeitsgehalt zu gering, sodass sich während der rheologischen Vermessung ein dicker Gel-Ring am Rande des Stempels bildete. Bei einer dermalen Anwendung würde sich schnell ein weißer Film auf der Haut bilden, der dann wie Schuppen von der Haut fällt. Außerdem war das Gel nur mit Kraftaufwand aus der Tube zu bekommen, was die Anwenderfreundlichkeit erheblich einschränkte. Dagegen ist die Formulierung der Hausrezeptur zu flüssig und instabil. Deshalb empfiehlt es sich, bei der Formulierung in Bezug auf die Konsistenz die NRF-Rezeptur zu verwenden.

Die pH-Werte der Gele waren anfänglich vor allem bei Carbopol-Gelen in einem physiologisch günstigen Bereich. Die Einarbeitung des Extrakts bewirkte ein Absinken des pH-Werts, was sich generell ungünstig auf die Stabilität auswirkte. Eine

Anpassung während der Herstellung könnte helfen, die Viskositätsveränderungen bei Carbopol-Gelen abzufedern.

Bezüglich der Viskosität wiesen die Hausrezeptur-Gele mit Ginseng ein leicht variables Fließverhalten auf als die Gele ohne Ginseng, was am niedrigeren pH-Wert liegen könnte. Jedoch sind die beiden Gele, die mit Carbopol® als Gelbildner hergestellt wurden, relativ lagerstabil. Die HEC-Gele sind keine gute Formulierung, um Ginseng dermal anzuwenden. Die Schubspannung zum Ende der Messung schwankt stark, was für ungenügende Fließeigenschaften bei hohen Scherraten wie beim Auftragen auf die Haut spricht. In weiteren Studien sollte abgeklärt werden, welche Konzentration an HEC geeignet wäre, damit die Fließeigenschaften denen der Carbopol®-Gele ähneln. Außerdem sollten alle Gele in einer Follow-Up Studie auf ihre elastischen und viskosen Anteile in oszillatorischen Messungen genauer untersucht werden, um eine optimierte Formulierung für den Ginsengextrakt zu finden. Auch die Carbopol-Gele sollten in dieser Hinsicht noch systematisch charakterisiert werden.

Um das Raman-Spektrum des Ginsengextraktes genauer zu analysieren sind weitere Untersuchungen notwendig, um die einzelnen Peaks zu interpretieren. In vorherigen Studien hat man sich auf das Gesamtprofil von unterschiedlichen Ginseng-Arten konzentriert, um sie einer bestimmten Herkunft zuzuordnen. Beim Raman-Spektrum in dieser Arbeit war es noch nicht möglich, einzelne Ginsenoside zu identifizieren, da sich die verschiedenen Ginsenoside aus dem Ginsengextrakt im Spektrum überlagerten. Für eine genaue Identifikation müsste man einzelne Ginsenoside isolieren, mit dem Raman-Spektroskop vermessen und dann mit dem Gesamtextrakt in Relation setzen.

Die Eindringtiefe des Ginsengextraktes konnte mithilfe der Raman-Messung relativ gut ermittelt werden, jedoch kann man auch hier nicht auf spezifische Inhaltsstoffe rückschließen. Wenn man die Ergebnisse der Diffusionsstudien miteinbezieht, gibt es aber klare Hinweise darauf, dass zumindest ein Teil der Ginsenoside in die Haut eingedrungen ist. In weiteren Untersuchungen wäre es interessant, festzustellen, welche Ginsenoside in die Haut eingedrungen sind, um Rückschlüsse auf den biologischen Effekt zu ziehen.

Wichtig zu erwähnen ist, dass das größere und hydrophile Ginsenosid Rb1 nicht wie das kleinere und lipophilere Rg1 durch die Membran permeieren konnte. Daraus leitet sich die Annahme ab, dass Rb1 nicht durch ein intaktes Stratum corneum permeieren kann. Dies deckt sich auch mit den Ergebnissen von Mag. Simone Strohmaier, die für ihre Masterarbeit ähnliche Versuche mit Nanoemulsionen durchgeführt hat. Das Ginsenosid Rg1 konnte aus allen drei Arten von Gelen freigesetzt werden. Das könnte an Ethanol als Penetrations-Enhancer liegen.

Bei den Stabilitätsuntersuchungen der Hydrogele zeigte sich keine starke Abnahme des Ginsenosidgehaltes. Das bedeutet, dass die Hydrogele in Bezug auf den Ginsenosidgehalt unabhängig von der Art des Gelbildners stabil waren. Das bestätigt auch die Hypothese der bisherigen Literatur, dass Ginsenoside in neutralem bis

alkalischem Milieu stabil sind und erweitert das Spektrum so weit, dass man sagen kann, dass die Ginsenoside auch bei einem leicht sauren pH wie 5,5 zumindest über 12 Wochen ausreichend stabil sind.

6. Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung eines stabilen Hydrogels mit Ginsengextrakt zur dermalen Applikation. Dieses Vorhaben konnte mit zwei unterschiedlichen Gelbildnern (Carbopol® und Hydroxyethylcellulose) realisiert werden. Die Arbeit mit Hydroxyethylcellulose als Gelbildner war nicht nur wegen der notwendigen Erwärmung aufwändig, sondern die Verarbeitung des Gels war aufgrund seiner Zähigkeit schwieriger als die Herstellung der Gele mit Carbopol®. Ziel der Arbeit war es neben der Untersuchung des Einflusses von Ginseng auch den Einfluss der Menge an Base TRIS zu beobachten, weshalb hierbei zwei unterschiedliche Konzentrationen für die Carbopol-Gele eingesetzt wurden. Hier kam man zu dem Schluss, dass die geringere Menge an TRIS für die Hautverträglichkeit aufgrund des pH-Wertes um 5,5 am idealsten ist.

Die Gele wurden auf Lagerstabilität und pH-Veränderungen untersucht. Die Stabilität der HEC-Gele war leider nicht gegeben, was neben der aufwändigen Zubereitung ein weiterer Ausschlussgrund für eine Formulierung mit Ginseng darstellt. Was die beiden Carbopol®-Gele betrifft, gibt es an ihrer Stabilität nichts auszusetzen. Außerdem wurden sie rheologisch mit der Platte-Kegel-Methode charakterisiert. Dieser Versuchsaufbau funktionierte problemlos und konnte wertvolle Hinweise für die Fließigenschaften der Gele geben. Schlussendlich wurden die Gele auf die Hautpermeation der Ginsenoside Rb1 und Rg1 mittels Franz-Zellen untersucht. Die Auswertung der generierten Proben der Stabilitätsversuche und Diffusionsstudien wurde freundlicherweise Department-übergreifend von Herrn Dr. Ammar Tahir, MSc. vom Fachbereich Pharmakognosie der Universität Wien durchgeführt. Dafür wurde die Methode der UHPLC-MS verwendet. Man konnte herausfinden, dass nur das lipophilere Ginsenosid Rg1 die Fähigkeit besitzt durch ein intaktes Stratum corneum eines Schweineohrs zu permeieren. Rb1 konnte nur im Akzeptormedium nachgewiesen werden. Aus den weniger viskosen Carbopol-Gelen wurde etwas mehr Rg1 freigesetzt als aus dem HEC-Gel.

Außerdem wurde der Versuch unternommen ein Raman-Spektrum von *Panax ginseng* zu generieren und Vorversuche zur Eindringtiefe der Ginsenoside ins Schweineohr wurden durchgeführt. Da man noch wenig über das Raman-Spektrum von einzelnen Ginsenosiden weiß, konnte man hier lediglich einzelne Korrelationen erkennen, aber nicht das gesamte Spektrum entziffern. Hier sind weitere Versuche mit isolierten Ginsenosiden notwendig um aufschlussreiche Analysen des Raman-Spektrums durchführen zu können. Dennoch konnte man in den Raman-Spektren, die vom Schweineohr gemacht wurden feststellen, dass Ginsengextrakt in die Haut

eingedrungen ist. Interessant wäre in weiterer Folge herauszufinden, welche Ginsenoside genau in die Haut permeiert sind um dann Rückschlüsse auf ihre Wirkung auf der Haut zu ziehen.

Weiterfolgende Untersuchungen wären besonders im in vitro-Bereich wertvoll. Hierbei könnte man Versuche mittels Zellkultur durchführen. Damit könnte man den antioxidativen Effekt der entwickelten Formulierungen untersuchen. Das endgültige Ziel wäre die Anwendung in in-vivo Anwendungsstudien. Damit könnte man zeigen, inwieweit ein klinisch relevanter antioxidativer Effekt nachweisbar ist.

7. Abstract

Panax ginseng is a widely used plant in the Asian cosmetic culture. It is well-known for its anti-aging properties and for the ability to help cure severe diseases. In European countries, the use of *Panax ginseng* in dermatological formulations is still in its infancy. The aim of this master thesis is to evaluate the effect of ginseng extract in different formulations. Three kinds of hydrogels have been produced, in which two contained carbopol® as the gelling agent and one contained hydroxyethylcellulose (HEC). The amount of TRIS used in the carbopol® formulations was different to investigate the effect of ginseng on the dermal formulation. Each formulation contained an amount of 2% of ginseng extract. All formulations were examined over a period of 12 weeks. To produce meaningful data, formulations were examined on their pH-value, the stability of ginsenoside Rg1 in the formulations and on their rheological properties. Rg1 content was investigated using UHPLC-MS.

Furthermore, the permeation of ginsenosides, which are the efficacy-determining substance in *Panax ginseng* was examined in an experimental setup using Franz-cells. Additionally, there was the attempt to create a Raman spectrum of ginseng extract and to investigate the penetration depth of *Panax ginseng* extract into porcine ear skin.

Results showed that the gel containing ginseng extract produced with hydroxycellulose as the gelling agent changed in viscosity over the period of 12 weeks. Hydrogels with carbopol® as the gelling agent however were stable for the entire period. Furthermore results of permeation studies indicate that Rg1 can pass through intact stratum corneum of porcine ear skin, but not Rb1. Hydrogels as formulations are perfect regarding the delayed release of active agents. Ginsenosides were stable over the whole period and the content of ginsenosides did not decrease significantly over time. PH-levels were over all acceptable for dermal application.

A Raman spectrum of ginseng extract was taken but could not be decoded completely. It was found that ginseng extract could penetrate into the skin of the porcine ear. Further investigations are needed to determine the antioxidative properties of the ginseng extract in in-vitro and in-vivo studies.

8. Quellenverzeichnis

- [1] Prof. Dr. Dietrich Frohne, *Heilpflanzenlexikon - Ein Leitfaden auf wissenschaftlicher Grundlage*, 9. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 2021.
- [2] Birgit Frohn, *Lexikon der Heilpflanzen und ihrer Wirkstoffe, Das Standardwerk zur Pflanzenheilkunde*. Nikol-Verlag, 2021.
- [3] S. Chen u. a., „Ginseng and Anticancer Drug Combination to Improve Cancer Chemotherapy: A Critical Review“, *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, Bd. 2014, S. 1–13, 2014, doi: 10.1155/2014/168940.
- [4] D. S. Kiefer und T. Pantuso, „Panax ginseng“, *Am. Fam. Physician*, Bd. 68, Nr. 8, S. 1539–1542, Okt. 2003.
- [5] S. Wei, „Potential therapeutic action of natural products from traditional Chinese medicine on Alzheimer’s disease animal models targeting neurotrophic factors“, *Fundam. Clin. Pharmacol.*, Bd. 30, Nr. 6, S. 490–501, Dez. 2016, doi: 10.1111/fcp.12222.
- [6] T. K. Yun, S. Y. Choi, und H. Y. Yun, „Epidemiological study on cancer prevention by ginseng: are all kinds of cancers preventable by ginseng?“, *J. Korean Med. Sci.*, Bd. 16 Suppl, S. S19-27, Dez. 2001, doi: 10.3346/jkms.2001.16.S.S19.
- [7] S. Yennurajalingam u. a., „High-Dose Asian Ginseng (Panax Ginseng) for Cancer-Related Fatigue: A Preliminary Report“, *Integr. Cancer Ther.*, Bd. 14, Nr. 5, S. 419–427, Sep. 2015, doi: 10.1177/1534735415580676.
- [8] J. K. Seida, T. Durec, und S. Kuhle, „North American (Panax quinquefolius) and Asian Ginseng (Panax ginseng) Preparations for Prevention of the Common Cold in Healthy Adults: A Systematic Review“, *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, Bd. 2011, S. enep068, Feb. 2011, doi: 10.1093/ecam/nep068.
- [9] O. Sticher, „24 Triterpene einschließlich Steroide“, S. 106.
- [10] „Changes of Ginsenoside Composition in the - ProQuest“. <https://www.proquest.com/docview/2416042683> (zugegriffen 11. April 2022).
- [11] „Fig. 2. The chemical structure of ginsenosides. PPD, protopanaxadiol;...“, *ResearchGate*. https://www.researchgate.net/figure/The-chemical-structure-of-ginsenosides-PPD-protopanaxadiol-PPT-protopanaxatriol_fig2_258221103 (zugegriffen 1. September 2022).
- [12] L. You und J. Y. Cho, „The regulatory role of Korean ginseng in skin cells“, *J. Ginseng Res.*, Bd. 45, Nr. 3, S. 363–370, Mai 2021, doi: 10.1016/j.jgr.2020.08.004.
- [13] Z. Dekic, „Entwicklung einer hautfreundlichen Formulierung mit Panax-Ginseng-Extrakt, Masterarbeit“, Universität Wien, Wien, 2021.
- [14] Simone Strohmaier, „Entwicklung lezithin-basierter Nanoemulsionen mit Ginseng-Trockenextrakt: Herstellung, Charakterisierung und Stabilitätskontrolle“, Universität Wien, Wien, 2022.
- [15] „Die Haut: Aufbau, Funktion und Krankheiten“, *springerpflege.de*, 27. September 2017. <https://www.springerpflege.de/hautpflege/hauterkrankungen/haut-aufbau-funktion-und-krankheiten/15089698> (zugegriffen 25. Februar 2022).
- [16] C. Breu, „Klinische Vergleichsstudie zur Effektivität einer Behandlung mittels gütegeschaltetem Rubin vs. Pikosekundenlaser zur Entfernung von Schmucktätowierungen“, phd, 2022. Zugegriffen: 12. September 2022. [Online]. Verfügbar unter: <https://epub.uni-regensburg.de/51578/>
- [17] „Lederhaut (Dermis, Corium) || Med-koM“. <https://www.medizin-kompakt.de/lederhaut-dermis-> (zugegriffen 5. September 2022).
- [18] Wolfgang Raab, *Hautfibel*, 4. Aufl. Govi-Verlag Pharmazeutischer Verlag GmbH, Eschborn, 2010.
- [19] Reinhard H.H. Neubert und Roger Wepf, „Das Stratum Corneum“, *medicos 4*, S. 8, 2008.

- [20] A.-M. D. A. GmbH, „Stratum corneum: Struktur und Morphologie einer Barriere“, *Pharmazeutische Zeitung online*. <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/ausgabe-172007/stratum-corneum-struktur-und-morphologie-einer-barriere/> (zugegriffen 25. Februar 2022).
- [21] C. Zihni, C. Mills, K. Matter, und M. S. Balda, „Tight junctions: from simple barriers to multifunctional molecular gates“, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, Bd. 17, Nr. 9, Art. Nr. 9, Sep. 2016, doi: 10.1038/nrm.2016.80.
- [22] „Langerhanszellen und ihre Rolle in der Immunüberwachung der Haut - myPoint“. <https://www.i-med.ac.at/mypoint/news/705031.html> (zugegriffen 25. Februar 2022).
- [23] Bundesamt für Strahlenschutz, *UV-Fibel Geprüftes Sonnenstudio, Zertifizierungskriterien des Bundesamts für Strahlenschutz*, 2. überarbeitete Auflage. braunschweig-druck GmbH, Braunschweig, 2007. [Online]. Verfügbar unter: https://doris.bfs.de/jspui/bitstream/urn:nbn:de:0221-201012164217/3/BfS_2007_UV_Fibel.pdf
- [24] haut.de, „Der Schutzmantel der Haut“, *haut.de*, 12. April 2018. <https://www.haut.de/der-schutzmantel-der-haut/> (zugegriffen 25. Februar 2022).
- [25] „Puffersystem Haut“, *haut.de*, 13. September 2018. <https://www.haut.de/puffersystem-haut/> (zugegriffen 25. Februar 2022).
- [26] K. H. Bauer, K.-H. Frömming, und C. Führer, *Pharmazeutische Technologie, 9th edition*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 2012.
- [27] „Dermis“, *Wikipedia*. 13. März 2021. Zugegriffen: 25. Februar 2022. [Online]. Verfügbar unter: <https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Dermis&oldid=209761804>
- [28] „Unterhaut - Aufbau, Funktion & Krankheiten | MedLexi.de“. <https://medlexi.de/Unterhaut> (zugegriffen 25. Februar 2022).
- [29] E. Makrantonaki, G. P. Pfeifer, und C. C. Zouboulis, „Endogene Faktoren, Gene und Hautalterung“, *Hautarzt*, Bd. 67, Nr. 2, S. 103–106, Feb. 2016, doi: 10.1007/s00105-015-3746-2.
- [30] A. Jabłońska-Trypuć, M. Matejczyk, und S. Rosochacki, „Matrix metalloproteinases (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs“, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, Bd. 31, Nr. sup1, S. 177–183, 2016, doi: 10.3109/14756366.2016.1161620.
- [31] J.-W. Shin *u. a.*, „Molecular Mechanisms of Dermal Aging and Antiaging Approaches“, *Int. J. Mol. Sci.*, Bd. 20, Nr. 9, Art. Nr. 9, Jan. 2019, doi: 10.3390/ijms20092126.
- [32] J. Khavkin und D. A. F. Ellis, „Aging skin: histology, physiology, and pathology“, *Facial Plast. Surg. Clin. N. Am.*, Bd. 19, Nr. 2, S. 229–234, Mai 2011, doi: 10.1016/j.fsc.2011.04.003.
- [33] G. J. Fisher, „The pathophysiology of photoaging of the skin“, *Cutis*, Bd. 75, Nr. 2 Suppl, S. 5–8; discussion 8-9, Feb. 2005.
- [34] H. Uni, „Die menschliche Haut als Transportorgan für Arzneistoffe“, S. 10.
- [35] A. R. Vaughn, A. Branum, und R. K. Sivamani, „Effects of Turmeric (*Curcuma longa*) on Skin Health: A Systematic Review of the Clinical Evidence“, *Phytother. Res. PTR*, Bd. 30, Nr. 8, S. 1243–1264, Aug. 2016, doi: 10.1002/ptr.5640.
- [36] H. Gopinath und K. Karthikeyan, „Turmeric: A condiment, cosmetic and cure“, *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 20188416-21, Dez. 2017, doi: 10.4103/ijdvl.IJDVL_1143_16.
- [37] C. E. M. Griffiths, J. Barker, T. O. Bleiker, R. Chalmers, und D. Creamer, *Rook's Textbook of Dermatology, 4 Volume Set*. John Wiley & Sons, 2016.
- [38] M. C. Y. Heng, „Curcumin targeted signaling pathways: basis for anti-photoaging and anti-carcinogenic therapy“, *Int. J. Dermatol.*, Bd. 49, Nr. 6, S. 608–622, 2010, doi: 10.1111/j.1365-4632.2010.04468.x.
- [39] M. c. y. Heng, M. k. Song, J. Harker, und M. k. Heng, „Drug-induced suppression of

- phosphorylase kinase activity correlates with resolution of psoriasis as assessed by clinical, histological and immunohistochemical parameters“, *Br. J. Dermatol.*, Bd. 143, Nr. 5, S. 937–949, 2000, doi: 10.1046/j.1365-2133.2000.03767.x.
- [40] S.-H. Jee, S.-C. Shen, M.-L. Kuo, C.-R. Tseng, und H.-C. Chiu, „Curcumin Induces a p53-Dependent Apoptosis in Human Basal Cell Carcinoma Cells“, *J. Invest. Dermatol.*, Bd. 111, Nr. 4, S. 656–661, Okt. 1998, doi: 10.1046/j.1523-1747.1998.00352.x.
- [41] D. R. Siwak, S. Shishodia, B. B. Aggarwal, und R. Kurzrock, „Curcumin-induced antiproliferative and proapoptotic effects in melanoma cells are associated with suppression of IκB kinase and nuclear factor κB activity and are independent of the B-Raf/mitogen-activated/extracellular signal-regulated protein kinase pathway and the Akt pathway“, *Cancer*, Bd. 104, Nr. 4, S. 879–890, 2005, doi: 10.1002/cncr.21216.
- [42] J. G. Merrell, S. W. McLaughlin, L. Tie, C. T. Laurencin, A. F. Chen, und L. S. Nair, „Curcumin Loaded Poly(ε-Caprolactone) Nanofibers: Diabetic Wound Dressing with Antioxidant and Anti-inflammatory Properties“, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, Bd. 36, Nr. 12, S. 1149–1156, Dez. 2009, doi: 10.1111/j.1440-1681.2009.05216.x.
- [43] P.-W. Wang *u. a.*, „Red Raspberry Extract Protects the Skin against UVB-Induced Damage with Antioxidative and Anti-inflammatory Properties“, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, Bd. 2019, S. 9529676, 2019, doi: 10.1155/2019/9529676.
- [44] V. Sreevidya, „An Overview on Emulgel“, *Int. J. Pharm. Phytopharm. Res. EIJPPR 2019*, Bd. eIJPPR 2019; 9(1), S. 92–97, Feb. 2019.
- [45] B. Preeti, „EMULGELS: A NOVEL FORMULATION APPROACH FOR TOPICAL DELIVERY OF HYDROPHOBIC DRUGS“, 2013.
<https://www.semanticscholar.org/paper/EMULGELS%3A-A-NOVEL-FORMULATION-APPROACH-FOR-TOPICAL-Preeti/88778f82308ea73b303d05f2d293f8929c8772dc>
(zugegriffen 31. Juli 2022).
- [46] A. Sharif *u. a.*, „Formulation and evaluation on human skin of a water-in-oil emulsion containing Muscat hamburg black grape seed extract“, *Int. J. Cosmet. Sci.*, Bd. 37, Nr. 2, S. 253–258, Apr. 2015, doi: 10.1111/ics.12184.
- [47] C. Ogawa-Fuse *u. a.*, „Impact of water exposure on skin barrier permeability and ultrastructure“, *Contact Dermatitis*, Bd. 80, Nr. 4, S. 228–233, Apr. 2019, doi: 10.1111/cod.13174.
- [48] M. Roberts, G. A. J. Riviere, und N. Monteiro-Riviere, „Solvent and Vehicle Effects on the Skin“, in *Dermal Absorption and Toxicity Assessment*, 2008, S. 433–447.
- [49] L. Binder, J. Mazál, R. Petz, V. Klang, und C. Valenta, „The role of viscosity on skin penetration from cellulose ether-based hydrogels“, *Skin Res. Technol. Off. J. Int. Soc. Bioeng. Skin ISBS Int. Soc. Digit. Imaging Skin ISDIS Int. Soc. Skin Imaging ISSI*, Bd. 25, Nr. 5, S. 725–734, Sep. 2019, doi: 10.1111/srt.12709.
- [50] H. Trommer und R. H. H. Neubert, „Overcoming the stratum corneum: the modulation of skin penetration. A review“, *Skin Pharmacol. Physiol.*, Bd. 19, Nr. 2, S. 106–121, 2006, doi: 10.1159/000091978.
- [51] „Assessing vehicle effects on skin absorption using artificial membrane assays“, *Eur. J. Pharm. Sci.*, Bd. 50, Nr. 5, S. 569–576, Dez. 2013, doi: 10.1016/j.ejps.2013.02.020.
- [52] V. Carrer *u. a.*, „Effect of propylene glycol on the skin penetration of drugs“, *Arch. Dermatol. Res.*, Bd. 312, Nr. 5, S. 337–352, Juli 2020, doi: 10.1007/s00403-019-02017-5.
- [53] S. Verdier-Sévrain und F. Bonté, „Skin hydration: a review on its molecular mechanisms“, *J. Cosmet. Dermatol.*, Bd. 6, Nr. 2, S. 75–82, Juni 2007, doi: 10.1111/j.1473-2165.2007.00300.x.
- [54] J. W. Fluhr, R. Darlenski, und C. Surber, „Glycerol and the skin: holistic approach to its origin and functions“, *Br. J. Dermatol.*, Bd. 159, Nr. 1, S. 23–34, Juli 2008, doi: 10.1111/j.1365-2133.2008.08643.x.
- [55] „In Lösung bringen“, *DAZ.online*, 6. Oktober 2016. <https://www.deutsche-apotheker->

- zeitung.de/daz-az/2016/daz-40-2016/in-loesung-bringen (zugegriffen 31. Juli 2022).
- [56] I. H. Blank, „PENETRATION OF LOW-MOLECULAR-WEIGHT ALCOHOLS INTO SKIN. I. EFFECT OF CONCENTRATION OF ALCOHOL AND TYPE OF VEHICLE“, *J. Invest. Dermatol.*, Bd. 43, S. 415–420, Nov. 1964, doi: 10.1038/jid.1964.174.
- [57] „Skin penetration of nonsteroidal antiinflammatory drugs out of a lipophilic vehicle: Influence of the viable epidermis - ScienceDirect“, <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022354915330124> (zugegriffen 31. Juli 2022).
- [58] „Laurocapram - an overview | ScienceDirect Topics“, <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/laurocapram> (zugegriffen 31. Juli 2022).
- [59] H. Hamishehkar u. a., „A comparative histological study on the skin occlusion performance of a cream made of solid lipid nanoparticles and Vaseline“, *Res. Pharm. Sci.*, Bd. 10, Nr. 5, S. 378–387, 2015.
- [60] L. Liu, „Penetration of Surfactants into Skin“, *J. Cosmet. Sci.*, Bd. 71, Nr. 2, S. 91–109, Feb. 2020.
- [61] H. Taube, „Die Reservoirkapazität des Stratum corneum – ein Vergleich von vier Methoden in vitro“, Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin, Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin, 2011.
- [62] F. P. Schmook, J. G. Meingassner, und A. Billich, „Comparison of human skin or epidermis models with human and animal skin in in-vitro percutaneous absorption“, *Int. J. Pharm.*, Bd. 215, Nr. 1–2, S. 51–56, März 2001, doi: 10.1016/s0378-5173(00)00665-7.
- [63] G. A. Simon und H. I. Maibach, „The pig as an experimental animal model of percutaneous permeation in man: qualitative and quantitative observations--an overview“, *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.*, Bd. 13, Nr. 5, S. 229–234, Okt. 2000, doi: 10.1159/000029928.
- [64] U. Jacobi u. a., „Porcine ear skin: an in vitro model for human skin“, *Skin Res. Technol.*, Bd. 13, Nr. 1, S. 19–24, 2007, doi: 10.1111/j.1600-0846.2006.00179.x.
- [65] „Epidermal Thickness at Different Body Sites: Relationship to Age, Gender, Pigmentation, Blood Content, Skin Type and Smoking Habits“, <http://www.medicaljournals.se/acta/content/abstract/10.1080/00015550310015419> (zugegriffen 30. März 2022).
- [66] H. Schaefer und T. E. Redelmeier, *Skin barrier: principles of percutaneous absorption*. Basel; New York: Karger, 1996.
- [67] R. J. Feldmann und H. I. Maibach, „Regional Variation in Percutaneous Penetration of ¹⁴C Cortisol in Man**From the Division of Dermatology, Department of Medicine, University of California School of Medicine, San Francisco, California 94122.“, *J. Invest. Dermatol.*, Bd. 48, Nr. 2, S. 181–183, Feb. 1967, doi: 10.1038/jid.1967.29.
- [68] I.-H. Baeg und S.-H. So, „The world ginseng market and the ginseng (Korea)“, *J. Ginseng Res.*, Bd. 37, Nr. 1, S. 1–7, März 2013, doi: 10.5142/jgr.2013.37.1.
- [69] T. K. Yun, „Brief Introduction of Panax ginseng C.A. Meyer“, *J. Korean Med. Sci.*, Bd. 16, Nr. Suppl, S. S3–S5, Juni 2009, doi: 10.3346/jkms.2001.16.S.S3.
- [70] William E. Court, *Ginseng The Genus Panax*. harwood academix publishers.
- [71] O. Durant, *A World of Similarity: The Doctrine of Signatures and its application in medicinal plant identification*. 2014.
- [72] „Europäisches Arzneibuch 10. Ausgabe, Grundwerk 2020 - Shop | Deutscher Apotheker Verlag“, <https://www.deutscher-apotheker-verlag.de/shop/produkt/9783769275155/europaeisches-arzneibuch-10-ausgabe-grundwerk-2020> (zugegriffen 2. September 2022).
- [73] O. World Health, Hrsg., *WHO monographs on selected medicinal plants*. Geneva:

World Health Organization, 1999.

[74] „Dammaran“, *Wikipedia*. 26. Juli 2022. Zugegriffen: 5. September 2022. [Online]. Verfügbar unter: <https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Dammaran&oldid=224847262>

[75] „Ginsenoside Rg1“, *Biomol GmbH - Life Science Shop*.

<https://www.biomol.com/de/produkte/chemikalien/biochemikalien/ginsenoside-rg1-cay15315-1> (zugegriffen 31. Juli 2022).

[76] A. Hume und K. K. Orr, *Principles and Practice of Botanicals as an Integrative Therapy*. CRC Press, 2019.

[77] M. R. Harkey, G. L. Henderson, M. E. Gershwin, J. S. Stern, und R. M. Hackman, „Variability in commercial ginseng products: an analysis of 25 preparations“, *Am. J. Clin. Nutr.*, Bd. 73, Nr. 6, S. 1101–1106, Juni 2001, doi: 10.1093/ajcn/73.6.1101.

[78] M. Huq, Y.-J. Kim, J.-W. Min, K. Bae, und D.-C. Yang, „Use of *Lactobacillus rossiae* DC05 for bioconversion of the major ginsenosides Rb1 and Re into the pharmacologically active ginsenosides C-K and Rg2“, *Food Sci. Biotechnol.*, Bd. 23, S. 1561–1567, Okt. 2014, doi: 10.1007/s10068-014-0212-3.

[79] G. N. Predy, V. Goel, R. Lovlin, A. Donner, L. Stitt, und T. K. Basu, „Efficacy of an extract of North American ginseng containing poly-furanosyl-pyranosyl-saccharides for preventing upper respiratory tract infections: a randomized controlled trial“, *CMAJ Can. Med. Assoc. J. J. Assoc. Medicale Can.*, Bd. 173, Nr. 9, S. 1043–1048, Okt. 2005, doi: 10.1503/cmaj.1041470.

[80] C.-S. Yuan *u. a.*, „Brief communication: American ginseng reduces warfarin’s effect in healthy patients: a randomized, controlled Trial“, *Ann. Intern. Med.*, Bd. 141, Nr. 1, S. 23–27, Juli 2004, doi: 10.7326/0003-4819-141-1-200407060-00011.

[81] „PRIME PubMed | Possible influences of ginseng on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of warfarin in rats“.

https://neuro.unboundmedicine.com/medline/citation/10217316/Possible_influences_of_ginseng_on_the_pharmacokinetics_and_pharmacodynamics_of_warfarin_in_rats_ (zugegriffen 22. März 2022).

[82] K. W. Leung und A. S.-T. Wong, „Pharmacology of ginsenosides: a literature review“, *Chin. Med.*, Bd. 5, S. 20, Juni 2010, doi: 10.1186/1749-8546-5-20.

[83] Dong-Kwon Rhee, Jong Dae Park, und You Hui Lee, „Biological Activities and Chemistry of Saponins from *Panax ginseng* C. A. Meyer“, Jan. 2005, doi: 10.1007/s11101-005-2835-8.

[84] Elizabeth Williamson, Samuel Driver, und Karen Baxter, *Stockley’s Herbal Medicines Interactions*, 2. Aufl. The Pharmaceutical Press, 2013.

[85] E. A. Sotaniemi, E. Haapakoski, und A. Rautio, „Ginseng therapy in non-insulin-dependent diabetic patients“, *Diabetes Care*, Bd. 18, Nr. 10, S. 1373–1375, Okt. 1995, doi: 10.2337/diacare.18.10.1373.

[86] J. A. Sheng *u. a.*, „The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis: Development, Programming Actions of Hormones, and Maternal-Fetal Interactions“, *Front. Behav. Neurosci.*, Bd. 0, 2021, doi: 10.3389/fnbeh.2020.601939.

[87] B. K. Vogler, M. H. Pittler, und E. Ernst, „The efficacy of ginseng. A systematic review of randomised clinical trials“, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, Bd. 55, Nr. 8, S. 567–575, Okt. 1999, doi: 10.1007/s002280050674.

[88] F. Scaglione, G. Cattaneo, M. Alessandria, und R. Cogo, „Efficacy and safety of the standardised Ginseng extract G115 for potentiating vaccination against the influenza syndrome and protection against the common cold [corrected]“, *Drugs Exp. Clin. Res.*, Bd. 22, Nr. 2, S. 65–72, 1996.

[89] F. Scaglione, F. Ferrara, S. Dugnani, M. Falchi, G. Santoro, und F. Fraschini, „Immunomodulatory effects of two extracts of *Panax ginseng* C.A. Meyer“, *Drugs Exp. Clin. Res.*, Bd. 16, Nr. 10, S. 537–542, 1990.

- [90] S. H und J. Sonne, „A Double-Masked Study of the Effects of Ginseng on Cognitive Functions“, https://chiro.org/nutrition/ABSTRACTS/Effects_of_Ginseng_on_Cognitive_Functions.shtml (zugegriffen 8. März 2022).
- [91] J. M. Ellis und P. Reddy, „Effects of Panax ginseng on quality of life“, *Ann. Pharmacother.*, Bd. 36, Nr. 3, S. 375–379, März 2002, doi: 10.1345/aph.1A245.
- [92] I. K. Wiklund, L. A. Mattsson, R. Lindgren, und C. Limoni, „Effects of a standardized ginseng extract on quality of life and physiological parameters in symptomatic postmenopausal women: a double-blind, placebo-controlled trial. Swedish Alternative Medicine Group“, *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.*, Bd. 19, Nr. 3, S. 89–99, 1999.
- [93] T. K. Yun und S. Y. Choi, „Non-organ specific cancer prevention of ginseng: a prospective study in Korea“, *Int. J. Epidemiol.*, Bd. 27, Nr. 3, S. 359–364, Juni 1998, doi: 10.1093/ije/27.3.359.
- [94] A. Unlu, E. Nayir, O. Kirca, H. Ay, und M. Ozdogan, „Ginseng and cancer“, *J. BUON Off. J. Balk. Union Oncol.*, Bd. 21, Nr. 6, S. 1383–1387, Dez. 2016.
- [95] J. W. Chang, K. H. Park, H. S. HWANG, Y. S. Shin, Y.-T. Oh, und C.-H. Kim, „Protective effects of Korean red ginseng against radiation-induced apoptosis in human HaCaT keratinocytes“, *J. Radiat. Res. (Tokyo)*, Bd. 55, Nr. 2, S. 245–256, März 2014, doi: 10.1093/jrr/rrt109.
- [96] M. Bae u. a., „Protective effect of Korean Red Ginseng extract against Helicobacter pylori-induced gastric inflammation in Mongolian gerbils“, *J. Ginseng Res.*, Bd. 38, Nr. 1, S. 8–15, Jan. 2014, doi: 10.1016/j.jgr.2013.11.005.
- [97] Xin-Ke liu Msc Meng H, Liu X-K, Li J-R, Bao T, Yi F., „Bibliometric analysis of the effects of ginseng on skin“, *J. Cosmet. Dermatol.*, 2022, doi: 10.1111/jocd.14450.
- [98] J.-J. Nam, J.-E. Min, M.-H. Son, J.-H. Oh, und S. Kang, „Ultraviolet- and infrared-induced 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activating skin photoaging is inhibited by red ginseng extract containing high concentration of ginsenoside Rg3(S)“, *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.*, Bd. 33, Nr. 6, S. 311–320, Nov. 2017, doi: 10.1111/phpp.12337.
- [99] Y. G. Kim, M. Sumiyoshi, M. Sakanaka, und Y. Kimura, „Effects of ginseng saponins isolated from red ginseng on ultraviolet B-induced skin aging in hairless mice“, *Eur. J. Pharmacol.*, Bd. 602, Nr. 1, S. 148–156, Jan. 2009, doi: 10.1016/j.ejphar.2008.11.021.
- [100] X. Liu, Y.-K. Xiao, E. Hwang, J. J. Haeng, und T.-H. Yi, „Antiphotaging and Antimelanogenesis Properties of Ginsenoside C-Y, a Ginsenoside Rb2 Metabolite from American Ginseng PDD-ginsenoside“, *Photochem. Photobiol.*, Bd. 95, Nr. 6, S. 1412–1423, 2019, doi: 10.1111/php.13116.
- [101] S.-J. Oh, Y. Oh, I. W. Ryu, K. Kim, und C.-J. Lim, „Protective properties of ginsenoside Rb3 against UV-B radiation-induced oxidative stress in HaCaT keratinocytes“, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Bd. 80, Nr. 1, S. 95–103, Jan. 2016, doi: 10.1080/09168451.2015.1075862.
- [102] C.-E. Hong und S.-Y. Lyu, „Anti-inflammatory and Anti-oxidative Effects of Korean Red Ginseng Extract in Human Keratinocytes“, *Immune Netw.*, Bd. 11, Nr. 1, S. 42–49, Feb. 2011, doi: 10.4110/in.2011.11.1.42.
- [103] M. L. Giustizieri u. a., „Keratinocytes from patients with atopic dermatitis and psoriasis show a distinct chemokine production profile in response to T cell-derived cytokines“, *J. Allergy Clin. Immunol.*, Bd. 107, Nr. 5, S. 871–877, Mai 2001, doi: 10.1067/mai.2001.114707.
- [104] Y. Oh, H.-W. Lim, K. Kim, und C.-J. Lim, „Ginsenoside Re improves skin barrier function in HaCaT keratinocytes under normal growth conditions“, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Bd. 80, Nr. 11, S. 2165–2167, Nov. 2016, doi: 10.1080/09168451.2016.1206808.
- [105] H.-D. Kim, S.-E. Ha, J.-R. Kang, und J.-K. Park, „Effect of Korean Red Ginseng Extract on Cell Death Responses in Peroxynitrite-Treated Keratinocytes“, *J. Ginseng Res.*,

- Bd. 34, Nr. 3, S. 205–211, 2010, doi: 10.5142/jgr.2010.34.3.205.
- [106] „The Reciprocal Relationship between Melanization and Tyrosinase Activity in Melanosomes (Melanin Granules)“.
https://www.jstage.jst.go.jp/article/biochemistry1922/49/6/49_6_700/_article/-char/ja/
(zugegriffen 10. März 2022).
- [107] E. Saba u. a., „Korean Red Ginseng extract ameliorates melanogenesis in humans and induces anti-photoaging effects in ultraviolet B-irradiated hairless mice“, *J. Ginseng Res.*, Bd. 44, Nr. 3, S. 496–505, Mai 2020, doi: 10.1016/j.jgr.2019.05.003.
- [108] S. Park, W.-S. Shin, und J. Ho, „Fructus panax ginseng extract promotes hair regeneration in C57BL/6 mice“, *J. Ethnopharmacol.*, Bd. 138, Nr. 2, S. 340–344, Nov. 2011, doi: 10.1016/j.jep.2011.08.013.
- [109] S. H. Eom u. a., „Changes of Protopanaxadiol Ginsenosides in Ginseng Leaves by Far Infrared and Steaming Heat Treatments“, S. 5.
- [110] L.-W. Qi, C.-Z. Wang, und C.-S. Yuan, „Ginsenosides from American ginseng: Chemical and pharmacological diversity“, *Phytochemistry*, Bd. 72, Nr. 8, S. 689–699, Juni 2011, doi: 10.1016/j.phytochem.2011.02.012.
- [111] E. Pichler, „Simultaneous determination of five ginsenosides in Panax Ginseng Radix et Rhizoma Rubra (Red Ginseng) (红参中五种皂苷类成分的含量测定研究)“, S. 57.
- [112] E. Miyamoto, S. Odashima, I. Kitagawa, und A. Tsuji, „Stability Kinetics of Ginsenosides in Aqueous Solution“, *J. Pharm. Sci.*, Bd. 73, Nr. 3, S. 409–410, März 1984, doi: 10.1002/jps.2600730334.
- [113] Europäische Arzneibuchkommission, *Europäisches Arzneibuch, Gele*, Bd. 1.
- [114] Bernhard C. Lippold, Christel Müller-Goymann, und Rolf Schubert, *Bauer/Frömming/Führer Pharmazeutische Technologie - Mit Einführung in die Biopharmazie*, 9. Aufl. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart.
- [115] „Arzneibuch“. https://arzneibuch.at/uaccess.univie.ac.at/arzneibuch/arzneibuch/start.xav?lang=at#_arzneibuch_%2F%2F*%5B%40attr_id%3D%27eab_mono-0132%27%5D__1646140261881 (zugegriffen 1. März 2022).
- [116] Burger/Wachter, *Hunnius Pharmazeutisches Wörterbuch*, 8. Auflage. de Gruyter, 1998.
- [117] Europäische Arzneibuchkommission, *Europäisches Arzneibuch, 10. Auflage Band IV*, Bd. 1. Verlag Österreich.
- [118] P.-L. Destruel u. a., „Novel in situ gelling ophthalmic drug delivery system based on gellan gum and hydroxyethylcellulose: Innovative rheological characterization, in vitro and in vivo evidence of a sustained precorneal retention time“, *Int. J. Pharm.*, Bd. 574, S. 118734, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.ijpharm.2019.118734.
- [119] Rudolf Voigt, *Pharmazeutische Technologie Für Studium und Beruf*, 11. Aufl. Deutscher Apotheker Verlag, 2010.
- [120] „Acrylsäure, 98%, reinst, stabilisiert, Thermo Scientific® - Acrylsäure, 98%, reinst, stabilisiert, Thermo Scientific® Acrylic acids“.
<https://www.fishersci.de/shop/products/acrylic-acid-98-extra-pure-stabilized-thermo-scientific/10488720> (zugegriffen 28. März 2022).
- [121] J. Kołodziejska, „Carbopol 974P in the prescription of dental anti-inflammatory hydrogels“, *Polim. Med.*, Bd. 38, Nr. 1, S. 27–38, 2008.
- [122] „Chemical structure of carbopol polymer“, *ResearchGate*.
https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-carbopol-polymer_fig2_51881426
(zugegriffen 28. März 2022).
- [123] Ph. Eur. Europäisches Arzneibuch, *EuAB Monographie Carbomer R*, Bd. 1. Verlag Österreich.
- [124] D. G. Beranek, „Polyacrylsäure | Carbomer | Rezepturhinweise | Apothekenwiki“, 12.

April 2015. <https://apothekenwiki.com/enzyklopaedie/polyacrylsaeure/> (zugegriffen 28. März 2022).

[125] Z. Daniel und D. Nico, „Rheologie Praktikum“, S. 69.

[126] K. Welin-Berger, J. Neelissen, und B. Bergenstahl, „In vitro permeation profile of a local anaesthetic compound from topical formulations with different rheological behaviour--verified by in vivo efficacy data“, *Eur. J. Pharm. Sci. Off. J. Eur. Fed. Pharm. Sci.*, Bd. 14, Nr. 3, S. 229–236, Okt. 2001, doi: 10.1016/s0928-0987(01)00181-6.

[127] D. S. Jones, A. F. Brown, und A. D. Woolfson, „Rheological characterization of bioadhesive, antimicrobial, semisolids designed for the treatment of periodontal diseases: Transient and dynamic viscoelastic and continuous shear analysis“, *J. Pharm. Sci.*, Bd. 90, Nr. 12, S. 1978–1990, Dez. 2001, doi: 10.1002/jps.1149.

[128] „Kegel-Platte-Viskosimeter - Chemgapedia“.

http://www.chemgapedia.de/vsengine/glossary/de/kegel_00045platte_00045viskosimeter.glos.html (zugegriffen 18. März 2022).

[129] „pH Messen unter Beachtung der Temperatur“, *industry-press.com*, 26. August 2019. <https://www.industry-press.com/ph-messen/> (zugegriffen 14. Juni 2022).

[130] „Skin pH: From Basic Science to Basic Skin Care“.

<http://www.medicaljournals.se/acta/content/html/10.2340/00015555-1531> (zugegriffen 31. Juli 2022).

[131] L. Binder *u. a.*, „Penetration monitoring of drugs and additives by ATR-FTIR spectroscopy/tape stripping and confocal Raman spectroscopy - A comparative study“, *Eur. J. Pharm. Biopharm. Off. J. Arbeitsgemeinschaft Pharm. Verfahrenstechnik EV*, Bd. 130, S. 214–223, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.ejpb.2018.07.007.

[132] L. Binder, S. SheikhRezaei, A. Baierl, L. Gruber, M. Wolzt, und C. Valenta, „Confocal Raman spectroscopy: In vivo measurement of physiological skin parameters - A pilot study“, *J. Dermatol. Sci.*, Bd. 88, Nr. 3, S. 280–288, Dez. 2017, doi: 10.1016/j.jdermsci.2017.08.002.

[133] H. J. Butler *u. a.*, „Using Raman spectroscopy to characterize biological materials“, *Nat. Protoc.*, Bd. 11, Nr. 4, S. 664–687, Apr. 2016, doi: 10.1038/nprot.2016.036.

[134] „Grundlager der Raman-Spektroskopie“. <https://www.bruker.com/de/products-and-solutions/infrared-and-raman/raman-spectrometers/what-is-raman-spectroscopy.html> (zugegriffen 28. Februar 2022).

[135] S.-F. Ng, J. Rouse, D. Sanderson, und G. Eccleston, „A Comparative Study of Transmembrane Diffusion and Permeation of Ibuprofen across Synthetic Membranes Using Franz Diffusion Cells“, *Pharmaceutics*, Bd. 2, Nr. 2, S. 209–223, Mai 2010, doi: 10.3390/pharmaceutics2020209.

[136] W. M. Lau und K. W. Ng, „Finite and Infinite Dosing“, in *Percutaneous Penetration Enhancers Drug Penetration Into/Through the Skin: Methodology and General Considerations*, 2017, S. 35–44. doi: 10.1007/978-3-662-53270-6_3.

[137] Avoxa-Mediengruppe Deutscher Apotheker GmbH, *DAC/NRF-Rezepturhinweise*. DAC/NRF Pharmazeutische Zeitung.

[138] „Halbfeste Zubereitungen I - Rezeptur Hypromellose 400-Gel Herstellungsdatum 04. Darreichungsform Gel“, *StuDocu*. <https://www.studocu.com/de/document/heinrich-heine-universitat-dusseldorf/grundlagen-der-arzneiformenlehre/halbfeste-zubereitungen-i/30594367> (zugegriffen 9. August 2022).

[139] „DAC/NRF: Rezepturhinweise-Datenbank“. <https://dacnrf.pharmazeutische-zeitung.de/dac/nrf-wissen/rezepturhinweise/offen/einzelansicht/1401>, (zugegriffen 9. August 2022).

[140] Herbstsreith & Fox Unternehmensgruppe, „Messarten von Rotationsrheometern“.

[141] Thermo Fisher, „Sicherheitsdatenblatt pH 4.01 Buffer Thermo Fisher“. [Online]. Verfügbar unter: <https://www.thermofisher.com/document-connect/document->

- connect.html?url=https%3A%2F%2Fassets.thermofisher.com%2FTFS-Assets%2FLPD%2FSDS%2F910104-EU_DE.pdf
- [142] Thermo Fisher, „Sicherheitsdatenblatt pH 7.00 Buffer Thermo Fisher“. Zugegriffen: 30. März 2022. [Online]. Verfügbar unter: https://www.thermofisher.com/document-connect/document-connect.html?url=https%3A%2F%2Fassets.thermofisher.com%2FTFS-Assets%2FLPD%2FSDS%2F910107-EU_DE.pdf
- [143] „SkinTools 3“, *RiverD*. <http://riverd.com/skin-analysis-with-the-gen2-sca/products/skintools-3/> (zugegriffen 28. Februar 2022).
- [144] „HPLC und UHPLC - MZ-Analysentechnik GmbH“. <https://mz-at.de/chromatographie/fluessigchromatographie/partikeltechnologien/hplc-und-uhplc/> (zugegriffen 1. August 2022).
- [145] „Luna Omega PS C18 HPLC Columns: Phenomenex“. <https://dev.phenpreview2.com/Products/Luna-Omega-hplc-column/Luna-Omega-PS-C18> (zugegriffen 1. August 2022).
- [146] M. Király, B. Dalmadiné Kiss, K. Vékey, I. Antal, und K. Ludányi, „[Mass spectrometry: past and present]“, *Acta Pharm. Hung.*, Bd. 86, Nr. 1, S. 3–11, 2016.
- [147] Werner Müller-Esterl, *Biochemie - Eine Einführung für Mediziner und Naturwissenschaftler*, 2. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, 2011.
- [148] S. Cavalu und S. Pînzaru, „Qualitative and quantitative aspects in analysis of ginseng pharmaceuticals using vibrational spectroscopy“, Bd. 15, S. 61–66, Jan. 2005.
- [149] H. G. M. Edwards, T. Munshi, und K. Page, „Analytical discrimination between sources of ginseng using Raman spectroscopy“, *Anal. Bioanal. Chem.*, Bd. 389, Nr. 7–8, S. 2203–2215, Nov. 2007, doi: 10.1007/s00216-007-1605-4.

9. Abbildungen und Genehmigungen

Abbildung	Seite	Genehmigung
Abb.1: Aufbau der Haut mit ihren Schichten	8	Entnommen aus: KLINISCHE VERGLEICHsstUDIE ZUR EFFEKTIVITÄT EINER BEHANDLUNG MITTELS GÜTEGESCHALTETEM RUBIN VS. PIKOSEKUNDENLASER ZUR ENTFERNUNG VON SCHMUCKTÄTOWIERUNGEN [16] Original nicht mehr verfügbar (Quelle [17])
Abb. 2: Das Ziegel-Mörtel-Modell des Stratum corneum (SC)	9	[20], öffentliches Gut und Teilen erwünscht
Abb. 3: Mechanismen der Hautalterung und Einfluss der MMPs	11	open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license [31]
Abb. 4: Bild einer Wurzel von <i>Panax ginseng</i>	18	Genehmigung angefordert, aber Autor nicht erreichbar [70]
Abb. 5: Dammaran-Typ der Triterpensaponine	20	Open to public [74]
Abb. 6: Das Ginsenosid Rg1 mit 2 Zuckern	20	Abbildung aus Katalog
Abb. 7: Chemische Strukturen von PPD- und PPT-Ginsenosiden	21	Selbst zusammengesucht mithilfe von [78]
Abb. 8: Die chemische Struktur der Ginsenoside des Dammaran-Typs	21	Erlaubnis eingeholt (Sprachbarriere) [11]
Abb. 9: Effekt von koreanischem Ginseng auf Keratinozyten	25	open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license [12]
Abb. 10: Der Einfluss von koreanischem Ginseng auf Melanoyzten und Fibroblasten bildlich dargestellt	26	open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license [12]
Abb. 11: Genaue Daten zur Zerfallskinetik der Ginsenoside Rg1 und Rb1	27	Lizenz erworben: [112] License Number: 5382471322915 License date: Sep 05, 2022
Abb. 12: Struktur einer reinen Acrylsäure	29	Bild aus Katalog [120]
Abb. 13: Chemische Struktur eines Carbopol®-Polymers	29	open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license [122]
Abb. 15: Schematischer Aufbau eines Raman-Spektrometers	33	Nicht mehr verfügbar, Zugriff März 2022, zuvor [133]
Alle anderen Abbildungen wurden von mir selbst erstellt.		

10. Anhang

Genauere Einwaagen der Gele in die Eppendorf®-Tubes für die HPLC-Bestimmung:

Tabelle 12: Genauere Einwaagen der Carbopol®-Gele nach Hausrezeptur und NRF-Rezeptur für die Analyse

Bezeichnung	Einwaage W0	Einwaage W1	Einwaage W2	Einwaage W4	Einwaage W6	Einwaage W8	Einwaage W12
Gel 1 Hausrezeptur	EW = 0,0103g	EW = 0,0118g	EW = 0,0107g	EW = 0,0106g	EW = 0,0108g	EW = 0,0106g	EW = 0,0109g
Gel 2 Hausrezeptur	EW = 0,0108g	EW = 0,0101g	EW = 0,0102g	EW = 0,0106g	EW = 0,0108g	EW = 0,0107g	EW = 0,0105g
Gel 3 Hausrezeptur	EW = 0,0102g	EW = 0,0101g	EW = 0,0107g	EW = 0,0103g	EW = 0,0104g	EW = 0,0103g	EW = 0,0107g
Gel 1: NRF-Rezeptur	EW = 0,0113g	EW = 0,0105g	EW = 0,0106g	EW = 0,0106g	EW = 0,0108g	EW = 0,0107g	EW = 0,0106g
Gel 2: NRF-Rezeptur	EW = 0,0099g	EW = 0,0103g	EW = 0,0107g	EW = 0,0103g	EW = 0,0106g	EW = 0,0105g	EW = 0,0102g
Gel 3: NRF-Rezeptur	EW = 0,0105g	EW = 0,0110g	EW = 0,0105g	EW = 0,0107g	EW = 0,0107g	EW = 0,0104g	EW = 0,0109g

Tabelle 13: Genauere Einwaagen der HEC-Gele für die Analyse

Bezeichnung	Einwaage W0	Einwaage W1	Einwaage W2	Einwaage W4	Einwaage W6	Einwaage W8	Einwaage W12
Gel 1 HEC 10%	EW = 0,0102g	EW = 0,0103g	EW = 0,0104g	EW = 0,0102g	EW = 0,0108g	EW = 0,0107g	EW = 0,0105g
Gel 2 HEC 10%	EW = 0,0104g	EW = 0,0111g	EW = 0,0106g	EW = 0,0102g	EW = 0,0100g	EW = 0,0103g	EW = 0,0106g
Gel 3 HEC 10%	EW = 0,0111g	EW = 0,0103g	EW = 0,0104g	EW = 0,0104g	EW = 0,0104g	EW = 0,0105g	EW = 0,0102g

Genauer Gehalt der Ginsenoside in den eingewogenen Proben, Ermittlung der Lagerstabilität:

Tabelle 14: Genauere Werte von Ginsenosid Rg1 in [µg/ml]

Woche	Hausrezeptur MW [µg/mL]	Hausrezeptur STABW [µg/mL]	NRF MW [µg/mL]	NRF STABW [µg/mL]	HEC MW [µg/mL]	HEC STABW [µg/mL]
0	29,09	2,35	28,05	3,05	27,97	3,02
2	26,99	0,82	28,92	1,47	25,00	1,54
4	25,61	1,95	26,13	2,49	28,11	2,60
8	27,29	6,30	26,89	0,57	28,12	2,21
12	30,87	1,77	25,35	2,32	24,16	0,86

Genauere pH-Ergebnisse der Gele über die Wochen:

Tabelle 15: Genauere pH-Werte der einzelnen Gele über 12 Wochen

	Woche 0	Woche 1	Woche 2	Woche 4	Woche 6	Woche 8	Woche 12
1. Carbopol-Gel Hausrezeptur ohne Ginseng	pH = 5,30	pH = 5,19	pH = 5,25	pH = 5,24	pH = 5,21	pH = 5,23	pH = 5,21
2. Carbopol-Gel Hausrezeptur ohne Ginseng	pH = 5,27	pH = 5,28	pH = 5,25	pH = 5,26	pH = 5,24	pH = 5,24	pH = 5,22

3. Carbopol-Gel Hausrezeptur ohne Ginseng	pH = 5,32	pH = 5,30	pH = 5,25	pH = 5,25	pH = 5,23	pH = 5,25	pH = 5,20
1. Carbopol-Gel Hausrezeptur mit Ginseng	pH = 5,03	pH = 4,97	pH = 4,90	pH = 5,03	pH = 4,99	pH = 5,02	pH = 4,85
2. Carbopol-Gel Hausrezeptur mit Ginseng	pH = 5,16	pH = 5,04	pH = 5,14	pH = 5,01	pH = 5,14	pH = 5,01 bzw. 5,13	pH = 4,97
3. Carbopol-Gel Hausrezeptur mit Ginseng	pH = 5,07	pH = 4,89	pH = 4,99	pH = 5,01	pH = 4,89	pH = 4,98	pH = 4,85
1. Carbopol-Gel NRF-Rezeptur ohne Ginseng	pH = 6,48	pH = 6,55	pH = 6,51	pH = 6,53	pH = 6,51	pH = 6,41	pH = 6,45
2. Carbopol-Gel NRF-Rezeptur ohne Ginseng	pH = 6,55	pH = 6,65	pH = 6,61	pH = 6,61	pH = 6,60	pH = 6,58	pH = 6,62
3. Carbopol-Gel NRF-Rezeptur ohne Ginseng	pH = 6,63	pH = 6,61	pH = 6,61	pH = 6,63	pH = 6,62	pH = 6,58	pH = 6,58
1. Carbopol-Gel NRF-Rezeptur mit Ginseng	pH = 6,30	pH = 6,19	pH = 6,17	pH = 6,14	pH = 6,10	pH = 6,11	pH = 6,09
2. Carbopol-Gel NRF-Rezeptur mit Ginseng	pH = 6,28	pH = 6,21	pH = 6,18	pH = 6,26	pH = 6,14	pH = 6,17	pH = 6,10
3. Carbopol-Gel NRF-Rezeptur mit Ginseng	pH = 6,19	pH = 6,16	pH = 6,12	pH = 6,17	pH = 6,11	pH = 6,08	pH = 6,05
1. HEC-Gel ohne Ginseng	pH = 7,57	pH = 7,32	pH = 7,44	pH = 7,42	pH = 7,39	pH = 7,34	pH = 7,31
2. HEC-Gel ohne Ginseng	pH = 7,65	pH = 7,41	pH = 7,53	pH = 7,52	pH = 7,49	pH = 7,48	pH = 7,38
3. HEC-Gel ohne Ginseng	pH = 7,58	pH = 7,44	pH = 7,48	pH = 7,46	pH = 7,43	pH = 7,37	pH = 7,33
1. HEC-Gel mit Ginseng	pH = 6,00	pH = 5,81	pH = 5,88	pH = 5,85	pH = 5,80	pH = 5,76	pH = 5,71
2. HEC-Gel mit Ginseng	pH = 5,88	pH = 5,72	pH = 5,76	pH = 5,73	pH = 5,76	pH = 5,69	pH = 5,67
3. HEC-Gel mit Ginseng	pH = 5,89	pH = 5,73	pH = 5,78	pH = 5,80	pH = 5,78	pH = 5,66	pH = 5,67

Genauere Einwaage der Proben in die Franz-Zellen

Tabelle 16: Genauere Einwaagen der Proben für die Franz-Zellen

Franz-Zellen	Einwaagen Durchgang 1	Einwaagen Durchgang 2	Einwaagen Durchgang 3
Hausgel 1 (H1)	0,5030g	0,5038g	0,5005g
Hausgel 2 (H2)	0,5010g	0,5037g	0,5024g
Hausgel 3 (H3)	0,5014g	0,5004g	0,5005g
Hausgel 1 (H*)	0,5000g	-	-
Hausgel 2	-	0,5043g	-
Hausgel 3	-	-	0,5034g
NRF-Gel 1 (R1)	0,5000g	0,5041g	0,5015g
NRF-Gel 2 (R2)	0,5002g	0,5037g	0,5030g
NRF-Gel 3 (R3)	0,5016g	0,5044g	0,5023g
NRF-Gel 1 (R*)	0,5030g	-	-
NRF-Gel 2	-	0,5043g	-
NRF-Gel 3	-	-	0,5011g
HEC-Gel 1 (E1)	0,5063g	0,5011g	0,5016g
HEC-Gel 2 (E2)	0,5045g	0,5013g	0,5025g

HEC-Gel 3 (E3)	0,5020g	0,5035g	0,5031g
HEC-Gel 1 (E*)	0,5006g	-	-
HEC-Gel 2	-	0,5006g	-
HEC-Gel 3	-	-	0,5040g
Wässr. Lösung X (X)	0,5072g	0,5052g	0,5080g
Wässr. Lösung Y (Y)	0,5030g	0,5031g	0,5030g
Wässr. Lösung Z (Z)	0,5062g	0,5079g	0,5042g

TEWL-Werte:

Tabelle 17: Genaue TEWL-Werte, die vor dem Franz-Zellen-Versuch ermittelt wurden

	TEWL Durchgang 1 (04.05.22)	TEWL Durchgang 2 (09.05.2022)	TEWL Durchgang 3 (18.05.2022)
Membran 1	Bei Zelle H1 TEWL = 14,241	Bei Zelle H1 TEWL = 14,896	Bei Zelle H1 TEWL = 13,382
Membran 2	Bei Zelle R1 TEWL = 10,298	Bei Zelle H2 TEWL = 14,74	Bei Zelle H2 TEWL = 18,157
Membran 3	Bei Zelle R2 TEWL = 14,372	Bei Zelle R1 TEWL = 12,139	Bei Zelle R1 TEWL = 15,54
Membran 4	Bei Zelle E1 TEWL = 11,135	Bei Zelle R2 TEWL = 12,033	Bei Zelle E1 TEWL = 17,205
Membran 5	Bei Zelle E2 TEWL = 14,404	Bei Zelle E1 TEWL = 12,873	Bei Zelle E2 TEWL = 14,541
Membran 6	Bei Zelle X TEWL = 13,232	Bei Zelle Y TEWL = 13,851	Bei Zelle Z TEWL = 17,4

Genauere Werte der Ginsenosid-Konzentrationen aus den entnommenen Proben der Franz-Zellen:

Tabelle 18: Genaue Werte des Ginsenosids Rg1 in den Proben, ausgewertet von Herrn Dr. Ammar Tahir, MSc, Division of Pharmacognosy Universität Wien

Gele	B1 [µg/mL]	B2 [µg/mL]	B3 [µg/mL]	Mittelwert	Standard- abweichung
H1 - 8h	1,1	2,5	1,1	1,57	0,65
H1 - 24h	3,6	12,7	9,8	8,70	3,77
H1 - 28h	5,2	13,9	10,8	9,98	3,62
H2 - 8h	1,0	1,3	2,2	1,51	0,53
H2 - 24h	9,6	9,5	9,0	9,39	0,28
H2 - 28h	11,8	10,5	10,4	10,86	0,63
H3 - 8h	0,8	1,2	0,2	0,75	0,43
H3 - 24h	9,6	6,5	5,7	7,28	1,69
H3 - 28h	10,9	6,1	7,3	8,11	2,05
H* - 8h	1,1	0,6	0,9	0,88	0,21
H* - 24h	9,4	6,3	5,8	7,17	1,56
H* - 28h	9,8	7,6	6,8	8,05	1,29
R1 - 8h	2,1	0,1	1,0	1,05	0,80
R1 - 24h	10,7	7,1	8,7	8,85	1,46

R1 - 28h	11,5	8,5	9,8	9,94	1,24
R2 - 8h	3,4	1,6	1,5	2,17	0,89
R2 - 24h	12,6	10,2	7,2	10,01	2,21
R2 - 28h	14,5	11,4	8,4	11,44	2,50
R3 - 8h	2,2	2,0	0,1	1,42	0,94
R3 - 24h	12,7	10,0	4,9	9,21	3,24
R3 - 28h	14,3	11,1	6,0	10,45	3,43
R* - 8h	0,1	0,1	1,3	0,51	0,57
R* - 24h	11,4	4,9	7,2	7,84	2,68
R* - 28h	12,2	7,0	8,1	9,07	2,23
E1 - 8h	0,7	0,8	1,5	1,01	0,34
E1 - 24h	7,4	6,1	7,0	6,83	0,54
E1 - 28h	8,2	7,0	8,2	7,79	0,56
E2 - 8h	1,7	0,7	2,3	1,58	0,65
E2 - 24h	8,5	6,0	7,7	7,40	1,06
E2 - 28h	9,4	6,7	8,4	8,16	1,13
E3 - 8h	0,1	1,1	2,5	1,22	0,98
E3 - 24h	6,7	6,8	7,4	6,96	0,35
E3 - 28h	7,4	7,7	7,7	7,62	0,15
E* - 8h	0,6	0,4	2,1	1,02	0,76
E* - 24h	5,7	5,8	6,8	6,07	0,50
E* - 28h	6,3	6,6	7,5	6,80	0,52
Aqu 2% 1 - 8h	6,6	9,4	23,9	13,30	7,61
Aqu 2% 1 - 24h	9,9	12,3	21,9	14,69	5,18
Aqu 2% 1 - 28h	10,5	12,4	21,3	14,73	4,69
Aqu 2% 2 - 8h	45,1	2,8	8,0	18,64	18,85
Aqu 2% 2 - 24h	46,7	4,4	10,1	20,42	18,72
Aqu 2% 2 - 28h	40,2	6,2	9,9	18,76	15,26
Aqu 2% 3 - 8h	3,4	19,0	1,3	7,88	7,89
Aqu 2% 3 - 24h	8,4	20,3	6,7	11,79	6,03
Aqu 2% 3 - 28h	6,7	18,8	7,5	11,01	5,54

Genauere Werte der Messungen der Schweinohren mit dem Raman-Spektroskop:

Tabelle 19: Genauere Werte der Raman-Messungen des Schweineohrs mit appliziertem Ginsengextrakt. Jedes Ohr wurde wie in 3.4. beschrieben behandelt und vermessen.

Depth [μm]	Ohr 1	Ohr 2	Ohr 3	Mittelwert	Standardabweichung
0	2,99	4,03	0,28	2,43	1,93
2	10,76	11,26	6,88	9,64	2,40
4	5,71	22,83	14,97	14,51	8,57
6	6,27	23,62	15,67	15,19	8,68
8	4,27	16,09	15,06	11,80	6,55
10	1,84	6,34	9,78	5,99	3,98
12	1,77	3,56	8,03	4,45	3,23
14	2,93	3,53	6,60	4,36	1,97
16	1,06	2,71	5,21	2,99	2,09
18	2,35	3,21	3,05	2,87	0,46
20	2,34	4,18	2,10	2,88	1,14
22	4,29	1,29	4,36	3,31	1,75
24	3,78	3,05	3,92	3,58	0,47
26	1,63	2,62	2,18	2,14	0,49
28	4,31	2,04	2,19	2,85	1,27