

QUANTITATIVE MESSUNG EINES RÜCKFETTERS AUF HUMAN- UND SCHWEINEEPIDERMIS

Horst Hermsdorf*
Martin G. Peter**

Synopsis

Quantitative Evaluation of a Lipidizing Agent on Human and Pig Epidermis

A method for the determination of the relipidizing properties of an ethoxylated partial glyceride is described. For this purpose, a tritiated test mixture of a bubble bath preparation was compounded. The concentrations of the components corresponded to those customarily used during bathing. Human and pig epidermis was treated with this incubating solution, and the deposited lipidizing agent was determined by measuring the radioactivity remaining in the epidermis. The results show that, on the average, human epidermis absorbed 0.047 mg/dm² and pig epidermis 0.14 mg/dm² of the lipidizing agent.

Tenside haben neben ihrer reinigenden auch eine mehr oder weniger stark entfettende Wirkung auf die Haut. Da die natürliche Lipidregeneration aber erst innerhalb 4–5 Stunden erfolgt (1), stellt die Entfettung der Haut durch Badezusätze ein bedeutsames Problem in der Dermatologie dar. Es hat deshalb nicht an Versuchen gefehlt, durch Lipidzusätze eine Rückfettung der Haut zu erwirken.

Die klassischen Überfettungsmittel wie Lanolin, Lecithin, Fettalkohole, deren Ester u. a. erwiesen sich wegen ihrer geringen Wasserlöslichkeit als ungeeignet.

Brauchbarer schien (2) aethoxylierte Fettalkohole, aethoxylierte Partialglyceride, Fettsäurealkylamide u. a. zu sein.

Obwohl der Effekt der Rückfettung subjektiv durch das Gefühl auf der Haut recht gut feststellbar ist, bereitet die quantitative Bestimmung der auf die Haut aufgezogenen Menge an rückfettender Substanz doch erhebliche Schwierigkeiten.

* DYNAMIT NOBEL AG, Werk Witten

** Institut für Organische Chemie und Biochemie Universität Bonn

So erfaßt man bei der klassischen Methode der Sebometrie (3, 4, 5) und der Sebographie (6, 7, 8, 9) stets die Summe von verbliebenem Hautfett und Rückfettungsmittel. Die Extraktion der Haut mit Lösungsmitteln (10, 11) und anschließende Dünnschichtchromatographie der Lipide ist sehr zeitaufwendig und oft schwierig, da durch Überlappungen der einzelnen Produkt-Flecke eine Identifizierung nicht immer möglich ist. Zudem ist die quantitative Bestimmung der einzelnen Lipide recht ungenau.

Um diese Schwierigkeiten auszuschließen und den auf die Haut aufgezogenen Rückfetter quantitativ möglichst genau zu bestimmen, verwendeten wir ein [³H]-markiertes Gemisch aethoxylierter Partialglyceride von Fettsäuren mittlerer Kettenlängen.

Das Produkt* enthält ca. 45 % Monoglyceride, ca. 45 % Diglyceride und ca. 10 % Triglyceride von Fettsäuren der Kettenlänge C₈–C₁₀. Die freien OH-Gruppen der Mono- und Diglyceride sind mit 6 Mol Aethylenoxid veräthert.

Solche aethoxylierten Partialglyceride eignen sich als Rückfetter neben ihrer guten Hautverträglichkeit und Hautaffinität vor allem deshalb, weil sie im Konzentrationsbereich von ca. 0,05–1,0 % in Wasser eine Mischungslücke aufweisen (9, 12).

Die Markierung der Testsubstanz erfolgte nach der Methode von Wilzbach (13, 14) mit ³H.

Labiles Tritium wurde durch Nachbehandlung mit Alkoholen entfernt (15).

UNTERSUCHUNGEN UND ERGEBNISSE

Die Versuche wurden an Schweinehaut und Humanhaut durchgeführt, wobei die Schweinehaut von der Innenseite des Unterschenkels, die Humanhaut von der Oberschenkelinnenseite einer 60jährigen Frau stammte. Die Hautoberflächen wurden mit einer wässrigen Lösung von Natriumlaurylathersulfat fettfrei gewaschen, mit klarem Wasser gespült und mit Zellstoff abgetupft.

Nimmt man an, daß für ein Vollbad 150 l Wasser und 20 ml Schaumbadzusatz verwendet werden und die Konzentration an Rückfetter im Schaumbadzusatz 20 % beträgt, so ist die Konzentration an Rückfetter in dem Badewasser $2.67 \cdot 10^{-3}$ ml/V%.

Man stellte zur Simulierung des Badewassers Inkubationslösungen folgender Zusammensetzung her:

a) Blindwert (Kontrolle):

Produkt So	0,0289 mg/ml
Natriumlaurylathersulfat	0,1055 mg/ml
ca. 28%ig	

b) Radioaktive Probe

[³ H]-Produkt So	0,0256 mg/ml; $5,036 \times 10^5$ dpm/ml
Natriumlaurylathersulfat	
ca. 28%ig	0,1043 mg/ml

* Softigen® 767 Warenzeichen der DYNAMIT NOBEL AG, im folgenden Produkt So genannt

Ergebnisse der Radioaktivitätsmessungen (Human-Epidermis):

Probe	cpm	dpm
BW 1	8	27
BW 2	30	101
Ep 1	2659	8940
Ep 2	2816	9470

Aus der spezifischen Aktivität des [^3H]-Produkts So ($1,967 \times 10^7$ dpm/mg) errechnet sich, daß die Epidermisproben $4,545 \times 10^{-4}$ mg bzw. $4,814 \times 10^{-4}$ mg ^3H -Produkt So aufgenommen hatten, entsprechend $0,047$ mg/dm 2 . Da die Konzentration des ^3H -Produkts So in der Inkubationslösung $0,0256$ mg/ml betrug, entspricht die aufgenommene Menge derjenigen, die in einem Wasservolumen von ca. 1,8 ml enthalten war. Da aufgrund der Versuchsdurchführung der Wassergehalt der Haut vor und nach der Inkubation durch die [^3H]-markierte Produkt So-Waschlösung gleich war, ist die nachgewiesene Menge durch Absorption und nicht durch Quellung auf der Haut verblieben.

In einer analogen Versuchsdurchführung unter Verwendung von Schweineepidermis wurde eine Aufnahme von $0,138$ – $0,157$ mg Produkt So pro dm 2 gefunden. Das korrespondierte Volumen der Inkubationslösung wurde mit $5,20$ – $5,92$ ml/dm 2 berechnet. Hier ist die Aufnahme des Produkts So durch die Haut aus dem Inkubationswasser noch deutlicher zu erkennen.

DISKUSSION:

Wie die Versuchsergebnisse zeigen, ist mit Hilfe von [^3H]-markierten Testsubstanzen eine recht genaue Bestimmung der rückfettenden Eigenschaften von Badezusätzen möglich. Die dennoch auftretenden Schwankungsbreiten, vor allem bei den Versuchen an der Schweineepidermis, sind in erster Linie durch die Tatsache bedingt, daß mittels eines Korkbohrers nicht immer exakt gleich große Hautareale ausgestanzt werden können. Hier würde eine die Vorschriften beim Arbeiten mit radioaktiven Substanzen berücksichtigende, geeignete Methode sicher besser übereinstimmende Ergebnisse liefern.

Die bei der Schweineepidermis im Vergleich zur Humanhaut gefundenen höheren Absorptionswerte erklären sich einmal aus der unterschiedlichen Permeabilität von Human- und Schweinehaut und zum anderen aus dem unterschiedlichen Vergleichsalter der Versuchsobjekte (17, 18, 3). Ferner ist zu berücksichtigen, daß auch die einzelnen Hautareale eines Individuums sehr unterschiedliche Absorption zeigen können (2). Betrachtet man all diese Fakten, so zeigen die Meßwerte, daß mittels [^3H]-markierter Testsubstanzen eine quantitative Aussage über deren rückfettende Wirkung möglich ist.

SD = Standardabweichung

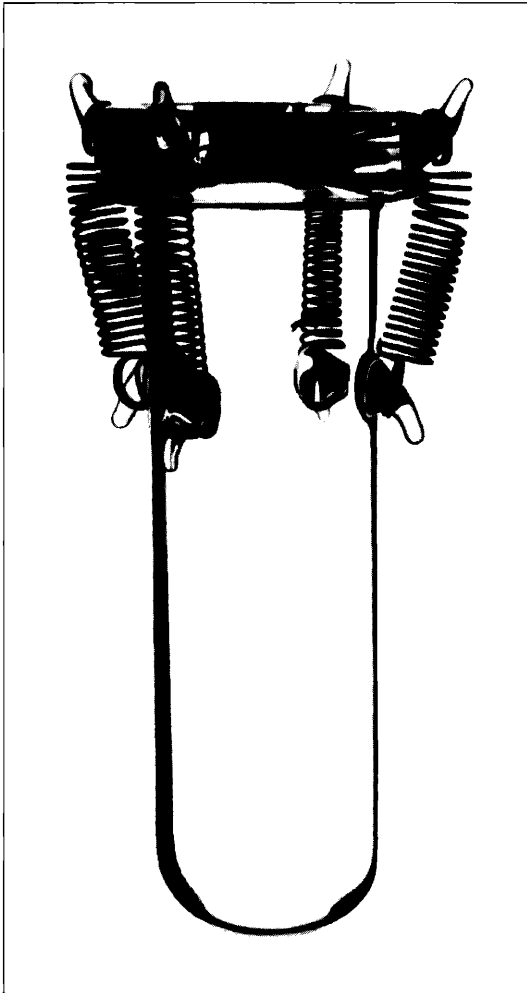
2σ = Vertrauensbereich (95 %)

BW = Blindwert

cpm = counts per minute

dpm = disintegrations per minute

Ep = Epidermis



Die Inkubation erfolgte in dem in der Abbildung gezeigten Gefäß, in dessen unteren Teil jeweils 30 ml Inkubationslösung eingebracht waren. Die kurz zuvor mit Natriumlauryl-ethersulfat-Lösung fettfrei gewaschenen und mit Zellstoff abgetupften Epidermisproben wurden eingespannt und die beiden Teile des Gefäßes mit Spannfedern zusammengehalten. Unter gelegentlichem Umschütteln wurde das Gefäß so aufgestellt, daß die Epidermis mit der Inkubationslösung in Kontakt blieb. Die Inkubationszeit betrug 20 Minuten. Danach wurde die Hautprobe entnommen, mit Zellstoff abgetupft und mit einem Korkbohrer von 11 mm Ø Rondellen ausgestanzt. Diese wurden in einer Mischung von 0,2 ml Perchlorsäure (60%ig) und 0,4 ml Wasserstoffperoxid (30%ig) bei 60 °C während 2,5 Stunden im Schüttelwasserbad aufgelöst (16). Darauf wurden die Proben auf 0 °C abgekühlt und mit jeweils 4 x 4 ml Aquasol-2 *) Flüssigkeitsszintillationslösung in ein Szintillationsgefäß gespült.

Die Radioaktivitätsmessungen wurden in einem Flüssigkeitsszintillationszähler ** durchgeführt. Messungen der Proben nach 0 und 6 Stunden zeigten eine Abnahme der Zählraten, die auf geringe, im Verlauf von 2 Tagen abgeklungene Chemilumineszenz zurückzuführen war. Es erfolgten deshalb alle 24 Stunden erneute Messungen, bis die Zählraten mindestens drei aufeinanderfolgende konstante Werte ergaben.

Zur Ermittlung der Zählrausbeute wurden 210 700 dpm einer [³H]-markierten internen Standards hinzugefügt und die Messungen wiederholt, wobei mindestens drei konstante Werte je Probe bestimmt wurden.

Es ergab sich eine Zählrausbeute von $29,7 \pm 1,2$ % (\pm SD; 4 Epidermisproben). Grundsätzlich wurden die Proben mit einem statistischen Fehler von $\pm 0,6$ % (2σ) ausgezählt. Die Resultate sind im einzelnen in nachfolgender Tabelle aufgeführt:

*) NEN-Chemicals, D-6072 Dreieich

** Modell BF 820 der Fa. Laboratorium Prof. Dr. Berthold

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine Methode zur Messung der rückfettenden Eigenschaften oxaethylierter Partialglyceride beschrieben.

Hierzu wurde aus einem [^3H]-markierten Testsubstanzgemisch eine Schaumbadzubereitung hergestellt. Die Konzentrationen der Komponenten entsprachen den üblicherweise im Badewasser verwendeten. Mit dieser Inkubationslösung wurden Human- und Schweineepidermis behandelt und durch Messung der Radioaktivität die Menge des in die Epidermis eingezogenen Rückfetters bestimmt. Die Ergebnisse zeigen, daß pro dm^2 Humanepidermis im Mittel 0,047 mg und pro dm^2 Schweineepidermis 0,14 mg Rückfetter absorbiert wurden.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Eberhardt, H.: Zur Regulation der Hautfettung.
Kosmetologie, 3, 93–95 (1974)
2. Braig, S.; H. Tronnier, G. Meinhard, M. Teupel, Ch. Gloxhuber: Rückfettung der Haut durch spezielle Badezusätze.
Kosmetologie, 3, 85–89 (1974)
3. Haensch, R.; W. Bläich: Methodischer Beitrag zur Bestimmung der Hauptlipide unter Berücksichtigung des Spreitestes und die Beeinflussung der Lipoid-Regeneration durch therap. Maßnahmen.
Fette – Seifen – Anstrichmittel 62, 417–421 (1960)
4. Schaefer, H.; H. Kuhn-Bussius: Methodik zur quantitativen Bestimmung der menschlichen Talgsekretion.
Arch. klin. exp. Derm. 238, 429–435 (1970)
5. Kuhn-Bussius, H.: Messungen von Regeneration und jahreszeitlichen Schwankungen des Hautfettes beim Menschen.
Kosmetologie 3, 96–99 (1974)
6. Röth, K.: Über ein neues Meßverfahren der Haut-Spreitaktivität.
Naturwissenschaften 43, 512 (1956)
7. Röth, K.: Untersuchungen zur Hauttalgsekretion mit einem neuen Hautspreitverfahren.
Derm. Wschr. 138, 901 (1958)
8. Kleine-Natrop, H. E.: Benetzbarkeit und Spreitbarkeit des Lipoidfilms der Oberhaut.
Arch. klin. exp. Derm. Bd. 219, 807–818 (1964)
9. Neuwald, F.; H. Fischer: Eigenschaften des Rückfettens oxäthylierter fetter Öle.
Parfümerie und Kosmetik 50, 53–54 (1969)
10. Gloor, M.; W. J. Döring, D. Kumpel: Über den Einfluß synth. Tenside auf die Zusammensetzung der Hautoberflächenlipide.
Fette – Seifen – Anstrichmittel 78, 40–43 (1976)
11. Lincke, H.: Beiträge zur Chemie und Biologie des Hautoberflächenfetts.
Archiv für Dermatologie und Syphilis, Bd. 188, S. 453–481 (1949)
12. Schrümpf, E.; R. Tuma: Einsatzmöglichkeiten wasserlöslicher Partialester mittelkettiger Fettsäuren.
Parfümerie und Kosmetik 50, 55–58 (1969)
13. Wilzbach, K. E.: Tritium-labelling by exposure of organic compounds to tritium gas.
J. Am. Chem. Soc. Vol. 79 p. 1013 (1957)
14. Evans, E. A.: Tritium and its Compounds.
London, Butterworths, 2nd edition (1974)
15. Bayly, R. J.; E. A. Evans: Storage and stability of compounds labelled with radioisotopes.
Review 7, The Radiochemical Centre Amersham, March 1968, 79 pp.
16. Mahin, D. T.; R. T. Lofberg: Anal. Biochem 16, 500 (1966)
17. Bartek, M. J.; J. A. La Budde, H. J. Maibach: Skin permeability in vivo: comparison in rat, rabbit, pig and man.
J. Invest. Dermatol. 58, 114–123 (1972)
18. Wester, R. C.; H. J. Maibach: Percutaneous absorption in man and animal: a perspective in V Drill and P. Lazar „Cutaneous Toxicity“.
Academic Press, Inc.: New York, NY, 1977 pp 111–126