

1. Einleitung

Die humane Haut besitzt neben ihrer Funktion als Grenzflächenorgan des menschlichen Organismus auch als Arzneistoffapplikationsort eine große Bedeutung (Barry 1983, Kydonieus et al. 2000, Franz und Lehman 2000). Eine dermale Anwendung eines Arzneistoffes erfolgt unter verschiedenen Intentionen. Der Arzneistoff soll entweder auf der Hautfläche verbleiben (epidermale Zubereitung), in die Haut oder tiefere Gewebe eindringen (endoderme und diaderme Zubereitung) oder mittels einer transdermalen Applikation eine systemische Wirkung entfalten (Lippold 1984). In allen Fällen ist die Kenntnis des Prozesses der Wirkstoffaufnahme durch die oberste Hautschicht entscheidend. Selbst bei epidermalen Zubereitungen ist dies zur Klärung der Fragestellung maßgeblich, ob ein Anteil der Substanz in den Organismus übergeht und unerwünschte Wirkungen verursacht. Arzneistoffe aus endodermen und diadermen Zubereitungen können ebenfalls bis in den systemischen Blutkreislauf gelangen. Hierbei stellt sich insbesondere im Hinblick auf Nebenwirkungen, neben dem Ausmaß der Arzneistoffresorption, die Frage, mit welcher Geschwindigkeit dies vor sich geht. Limitierend für die Aufnahme exogener Substanzen in die Haut ist das Stratum corneum (Winsor und Burch 1944), weshalb die Kenntnis von Diffusionskoeffizienten dermal applizierter Arzneistoffe in dieser Hautschicht enormes Interesse im Hinblick auf die Überwindung dieser Barriere besitzt. Seitens der Industrie ist, angeregt durch den Zuwachs der Bedeutung dermal applizierter Formulierungen, die Entwicklung und Optimierung entsprechender Arzneiformen von großem Interesse. Hierbei ist ein besseres Verständnis der Prozesse der Wirkstoffaufnahme durch die Haut, im speziellen die Kenntnis der Diffusionsgeschwindigkeiten von Arzneistoffen in der äußeren Hautschicht, wichtig. Diesbezügliche Erfahrungen sind zum Teil jedoch noch sehr unzureichend. Dies betrifft überraschender Weise auch das Diffusionsverhalten des topisch äußerst relevanten Arzneistoffes Harnstoff. An dieser Stelle geben Experimente Aufschluss über bisher offene Fragen.

Das Stratum corneum unterliegt hinsichtlich seiner komplexen Zusammensetzung und seiner Eigenschaften großen intra- und interindividuellen Schwankungen. Aus diesem Grund werden vielfach einfach zusammengesetzte künstliche Membranen eingesetzt, um Diffusionsprozesse zu simulieren. Künstliche Membranen eignen sich des Weiteren zur Entwicklung neuer Methodiken, da sie einheitlich aufgebaut sind und somit Permeabilitätsunterschiede, wie sie an der Haut auftreten, entfallen. Diese Membranen müssen nicht eine Kopie biologischer Membranen sein, sondern sollen Prinzipien der Teilprozesse biologischer Membranen, wie eine einfache Stoffdiffusion, widerspiegeln (Richter 1985). Bisher existiert eine Vielzahl künstlicher Akzeptormembranen für Penetrationsstudien lipophiler Substanzen. Gegenteilig verhält es sich mit Membranen zur Charakterisierung hydrophiler Diffusionsprozesse. Eine Akzeptormembran für die

Experimente in dieser Arbeit soll dabei stabil, einfach zusammengesetzt und für die Charakterisierung hydrophiler Diffusionsprozesse mit der ATR-Technik geeignet sein. Die zur Verfügung stehenden Membranmodelle sollen zunächst auf ihre Eignung zur Charakterisierung hydrophiler Diffusionsprozesse mit der ATR-Technik getestet und daraufhin das beste Membranmodell ausgewählt werden. Hierzu zählen die bereits mehrfach angewandte hydrophile Glycerol-Collodiummatrixmembran und das in dieser Arbeit entwickelte Membranmodell der Silikon-Polyethylenglykol (Silikon-PEG)-Membran.

Mit Hilfe eines entsprechenden mathematischen Modells besteht die Möglichkeit, den Diffusionskoeffizienten aus den experimentellen Daten zu berechnen. Der Diffusionskoeffizient ist ein direktes Maß, mit welchem sich die Geschwindigkeit des Arzneistoffdurchganges durch eine Membran quantifizieren lässt. Entsprechend können Diffusionsprozesse bei bekannten Parametern simuliert werden. Mit Hilfe eines mathematischen Modells lässt sich das Verhältnis zwischen lokaler und systemischer Wirkung einer topischen Formulierung abschätzen (Guy und Hadgraft 1984). Bisherige Methoden, wie die Franz-Zelle oder das Mehrschichtmembranmodellsystem (MSMS), lassen die Bestimmung notwendiger Parameter nur mit großem Aufwand zu. Mit diesen Verfahren ist nur eine begrenzte Anzahl an Messpunkten erfassbar, die auch erst nach Bestimmung des Diffusanten im Akzeptor mit Referenzmethoden erhalten werden und ferner ist die Genauigkeit der Methoden für das mathematische Modell unzureichend. Die Forschungstätigkeit in dieser Richtung intendiert dahin, bessere Methodiken zu entwickeln, mit denen sich Kinetiken an biologisch relevanten Membranen genau und einfach bestimmen lassen. Diesbezügliche Arbeiten sind jedoch nur mit modernen analytischen Verfahren zu bewerkstelligen. An dieser Stelle eröffnet die abgeschwächte Totalreflexion (ATR) - Spektroskopie neue Möglichkeiten (Barry et al. 1992). Diese nichtinvasive Methodik wurde bereits in mehreren Penetrationsuntersuchungen genutzt. Nur mit Hilfe der ATR-Spektroskopie kann ein Diffusionsprozess in Realzeit direkt detektiert, eine Vielzahl von Messpunkten in kurzer Zeit erfasst und ein Wirkstoffzuwachs im Akzeptor zeitgleich im Spektrum verfolgt werden. Jedoch weist auch die Franz-Zelle Vorteile gegenüber der Standard ATR-Technik auf. Hierzu zählen unter anderem ein gleichmäßig hydratisierter Zustand der Membran während eines Experimentes, ein konstanter vollständiger Kontakt zwischen dem flüssigen Akzeptorkompartiment und der unteren Membranoberfläche sowie ein gleichmäßiger Diffusionsstrom am unteren Membranrand.

Bei der ATR-Technik existieren ebenfalls mehrere Messanordnungen, einerseits die bisher für Penetrationsuntersuchungen verwendete ATR-Anordnung und andererseits die in dieser Arbeit neu entwickelte Methodik der ATR-Diffusionszelle. Mit beiden ATR-Techniken sollen Diffusionsexperimente durchgeführt, daraus Vor- und Nachteile analysiert und die Vorzüge der Entwicklung der ATR-Diffusionszelle aufgezeigt werden. Die Kombination beider Methoden, sowohl der herkömmlichen ATR-Technik

als auch der Diffusionszelle zu einem neuen Analyseverfahren, erhöht die Potenz der spektroskopischen Methode zur Charakterisierung von Diffusionsprozessen erheblich. Hierbei können auch verbesserte Aussagen zu Diffusionsprozessen in biologischen Membranen getroffen und somit auch pharmakokinetische Kenntnisse von Arzneistoffen erhöht werden.

Es ergeben sich schwerpunktmäßig folgende Aufgaben:

- Entwicklung einer ATR-Methodik für Diffusionsuntersuchungen mit verbesserten Eigenschaften gegenüber der bisherigen ATR-Technik.
- Entwicklung und Auswahl einer einfach zusammengesetzten, künstlichen Modellmembran für Diffusionsuntersuchungen mit der ATR-Technik
- Entwicklung eines mathematischen Modells zur Beschreibung der Wirkstoffdiffusion in Membranen
- Einsatz der Modelle zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten von Harnstoff im humanen Stratum corneum
- Aufzeigen weiterer Einsatzmöglichkeiten der ATR-Methodik anhand von Harnstoffdiffusionsuntersuchungen an biologischen Modellmembranen aus Rinderhuf. Vergleich der Diffusionsgeschwindigkeiten des hydrophilen Arzneistoffes in dieser Nagelmodellmembran und dem Stratum corneum.