

8. Zusammenfassung und Ausblick

Die Methode der ATR-Technik für Penetrationsexperimente ermöglicht die nichtinvasive Realzeitdetektion von Wirkstoffpenetrationen mit einer geringen Probenvorbereitung. Der Einsatzbereich der bisherigen ATR-Anordnung für Diffusionsstudien ist jedoch begrenzt, da vielfach ein notwendiger enger, gleichmäßiger optischer Kontakt zwischen einer Probe und dem ATR-Kristall im Verlauf eines Experimentes nicht einzuhalten ist. Zielstellung dieser Arbeit war es, hydrophile Diffusionsprozesse mit Hilfe einer wässrigen Harnstofflösung durch Modellmembranen und durch isoliertes humanes Stratum corneum nichtinvasiv mit der ATR-Technik zu charakterisieren. Die Ergebnisse sind im Folgenden zusammengefasst.

1. Da die humane Haut in ihren Diffusionseigenschaften großen intra- und interindividuellen Schwankungen unterliegt und sich am isolierten humanen Stratum corneum mit der bisherigen ATR-Anordnung keine Diffusionsstudien mit der wässrigen Harnstofflösung aufgrund einsetzender Filmbildung im Detektierbereich durchführen ließen, musste eine Modellmembran ausgewählt werden. Hierbei konnte in Diffusionsexperimenten mit der Glycerol beladenen Collodiummatrixmembran nachgewiesen werden, dass diese vielfach verwendete Membran für Diffusionsstudien mit wässrigen Formulierungen nicht eingesetzt werden sollte. In diesen Fällen findet ein ausgeprägtes Auswaschen des Glycerols aus der Collodiummatrix statt. Aufgrund der mit dieser Membran erhaltenen Ergebnisse wurde ein neues Membranmodell entwickelt.

2. Es gelang, mit der Silikon-PEG-Membran eine künstliche Modellmembran herzustellen, welche gegenüber der verwendeten wässrigen Formulierung hinsichtlich ihrer Schichtdicke und der Inkorporierung des Polyethylenglykols in der Matrix stabil ist. Sie eignet sich aufgrund ihrer beschriebenen Eigenschaften, im Gegensatz zu den anderen getesteten Membranmodellen, neben dem Einsatz mit der entwickelten Diffusionszelle, auch für Diffusionsstudien mit einer wässrigen Harnstofflösung und der herkömmlichen ATR-Anordnung. Beide ATR-Anordnungen konnten am Beispiel der Wasserdiffusionsexperimente verglichen werden.

3. Anhand der Diffusionsstudien mit der herkömmlichen ATR-Technik wurden die Nachteile dieser Technik aufgezeigt. Sie resultieren hauptsächlich in einem während der Experimente mit wässrigen Formulierungen nicht konstant bleibendem Kontakt zwischen einer Membran und dem ATR-Kristall. Dies ist aufgrund der geringen Eindringtiefe des IR-Strahles in die Probe besonders kritisch zu betrachten. Bei den durchgeführten ATR-spektroskopischen Experimenten wurden die aufgetretenen

spektralen Veränderungen erklärt. Durch Rasterkraftmikroskopieexperimente ließen sich die bei der Silikon-PEG-Membran aus den spektroskopischen Ergebnissen festgestellte minimale Anreicherung des PEGs an der Membranoberfläche bestätigen. Diese Anreicherung verursacht geringfügige spektrale Veränderungen, die in diesem Fall nicht Diffusionsprozessen durch die Membran entsprechen. Der Füllstoff verbleibt jedoch in der Membranmatrix. Die Diffusionsexperimente mit einer Lösung von deuteriertem Harnstoff in Deuteriumoxid weichen nicht von den Ergebnissen, die mit undeuterierten Verbindungen erzielt wurden, ab.

4. Mit der Entwicklung der ATR-Diffusionszelle gelang es, die Vorzüge sowohl der ATR-Technik als auch der Franz'schen Diffusionszelle in einer neuen Methodik zu kombinieren. Die Messbedingungen sind bei der ATR-Diffusionszelle im Gegensatz zur herkömmlichen ATR-Anordnung sicher und genau definiert. Kontaktprobleme, wie sie bei der bisherigen ATR-Anordnung zwischen Probe und ATR-Kristall auftreten können, kommen bei dieser neuen Methodik aufgrund einer optimalen Verbindung des flüssigen Akzeptors zum Messkristall nicht vor. Die gleichmäßige Hydratation biologischer Membranen während eines Diffusionsexperimentes wird in der ATR-Diffusionszelle durch deren beidseitige vollständige Benetzung mit Wasser gewährleistet.

5. Das entwickelte mathematische Modell ermöglichte es, bei den Diffusionsexperimenten die jeweiligen Diffusionskoeffizienten in den Membranen zu berechnen. Hiermit kann auch ein zusätzlicher Akzeptor zwischen Membran und Kristall in die Berechnung der Diffusionskoeffizienten einbezogen werden, in dem an der Membranunterseite eine dynamische Randbedingung berücksichtigt wird. Mit Hilfe dieses Modells gelang es, die Diffusionskoeffizienten in Membranen anhand der experimentellen Daten, die sowohl mit der herkömmlichen ATR-Anordnung als auch mit der entwickelten ATR-Diffusionszelle ermittelt wurden, zu berechnen.

6. Der Diffusionskoeffizient für Harnstoff, ein für die dermale Applikation relevanter Arzneistoff, konnte erstmals im humanen Stratum corneum bestimmt werden. Dies ließ sich durch in vitro Experimente nichtinvasiv durch Realzeitmessung mit Hilfe der entwickelten ATR-Diffusionszelle realisieren. Diffusionsgeschwindigkeiten von topisch relevanten Arzneistoffen in der äußeren Hautschicht können als Anhaltspunkt für die Entwicklung und Verbesserung von dermalen Arzneiformungen dienen.

7. Es konnte gezeigt werden, dass sich die ATR-Diffusionszelle auch für den Einsatz mit weiteren Membranen eignet. Sie ließ sich für zusätzliche Harnstoffdiffusionsexperimente an den biologischen Rinderhufmembranen einsetzen. Diffusionskoeffizienten in diesen Membranen, die auch als Modell für Nagelplatten

dienen, wurden durch nichtinvasive Realzeitmessungen bestimmt. Die Diffusionsgeschwindigkeit des Harnstoffs ist in der Rinderhufmembran *in vitro* etwa 1000fach schneller als im isolierten Stratum corneum. Die hohe Permeabilität der Rinderhufmembranen für gut wasserlösliche Arzneistoffe konnte am Beispiel des Harnstoffs mit der ATR-Diffusionszelle bestätigt werden.

Die Untersuchungen lieferten eine Vielzahl von Ergebnissen und warfen gleichzeitig neue Fragen auf, deren Beantwortung den Rahmen der vorliegenden Arbeit deutlich überschritten hätte und von denen nur einige repräsentative Punkte erwähnt seien. Dabei wäre von Interesse zu analysieren, inwieweit die Barriere Stratum corneum für hydrophile Stoffe über den Weg der Nagelplatte umgangen werden kann. Des Weiteren könnten in nachfolgenden Arbeiten Diffusionsprozesse in Membranen, die sich in ihren Eigenschaften, wie z.B. in ihrer Schichtdicke, im Verlauf des Experimentes verändern, untersucht werden. Dies erfordert jedoch die Entwicklung eines anderen mathematischen Modells, welches von einem veränderlichen Diffusionskoeffizienten ausgeht. Hierfür müssten ebenfalls weitere Größen, wie die zeitabhängige Quellung der Membran, detektiert werden. Die Rinderhufmembranen sollten auf ihre Eignung als universelle biologische hydrophile Modellmembranen weiteren Untersuchungen unterzogen werden. Ferner könnte auch neben reinen Arzneistoffen die Charakterisierung zusätzlicher Stoffe, denen die Haut ausgesetzt ist, wie dermal applizierte Formulierungen und deren Einzelbestandteile, Kosmetika und Umweltsubstanzen, auf ihr Diffusionsverhalten durch die äußere Hautschicht von Bedeutung sein. Die in den umfangreichen Untersuchungen gelieferten Ergebnisse zeigen, dass die entwickelte Methodik der ATR-Diffusionszelle weitere vielfältige neue Möglichkeiten eröffnet, die lohnenswert erscheinen, Gegenstand weiterer Forschungen zu sein.