

Anwendung von nicht-invasiven spektroskopischen Methoden zur Optimierung
der Wirkstoffpenetration aus Suspensionen



Dissertation

zu Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt der

Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät
(mathematisch-naturwissenschaftlicher Bereich)
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Herrn Bui Duc Hanh

geb. am: 19. September 1972 in: Hanamninh, Vietnam

Gutachterin und Gutachter:

1. Prof. Dr. R. Neubert
2. Prof. Dr. S. Wartewig
3. Prof. Dr. C. Leopold

Halle (Saale), 19.12.2001 (Datum der Verteidigung)

urn:nbn:de:gbv:3-000002917

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000002917>]

Inhaltsverzeichnis

1. EINFÜHRUNG.....	6
2. STRATEGIEN ZUR OPTIMIERUNG VON SUSPENSIONEN ZUR TOPISCHEN ANWENDUNG.....	8
2.1. BEEINFLUSSUNG DES FREISETZUNGSPROZESSES IM DONATOR.....	8
2.2. BEEINFLUSSUNG DES PENETRATIONSPROZESSES IM AKZEPTOR.....	9
2.3. ZUR ROLLE DES MATHEMATISCHEN MODELLS UND DER SIMULATION DES PENETRATIONSPROZESSES....	10
3. METHODEN DER IR-SPEKTROSKOPIE FÜR PENETRATIONSUNTERSUCHUNGEN.....	11
3.1. FTIR ABGESCHWÄCHTE TOTALREFLEXION-SPEKTROSKOPIE.....	11
3.2. FTIR PHOTOAKUSTISCHE SPEKTROSKOPIE.....	13
3.2.1. <i>Modell A zur quantitativen Auswertung der Spektraldaten.....</i>	<i>15</i>
3.2.2. <i>Modell B zur quantitativen Auswertung der Spektraldaten.....</i>	<i>16</i>
3.2.2.1. Die Absorption des IR-Strahls im Akzeptor.....	17
3.2.2.2. Der thermische Diffusionsprozess in der Probe.....	18
3.3. KOMBINATION VON ATR UND PAS.....	20
4. MATHEMATISCHES MODELL ZUR PENETRATION AUS SUSPENSIONEN....	24
4.1. MODELLIERUNG VON DIFFUSIONS- UND VERTEILUNGSPROZESSEN AUS SUSPENSIONEN.....	24
4.2. EINFLUSS VON ENHANCER.....	27
4.3. DIFFUSION IM HETEROGENEN AKZEPTOR.....	29
5. EXPERIMENTELLER TEIL.....	31
5.1. VERWENDETE CHEMIEKALIEN.....	31
5.2. PRÄPARATIONSMETHODEN.....	31
5.2.1. <i>Wahl des Akzeptors.....</i>	<i>31</i>
5.2.2. <i>Herstellung der DDC-Membranen.....</i>	<i>32</i>
5.2.3. <i>Präparation von Stratum corneum.....</i>	<i>32</i>
5.2.4. <i>Herstellung der Suspensionen.....</i>	<i>32</i>
5.3. MESSMETHODEN.....	32
5.3.1. <i>Freisetzungs- und Penetrationsuntersuchungen mit der ATR-Technik.....</i>	<i>33</i>
5.3.2. <i>Penetrationsuntersuchungen mit der PAS-Technik.....</i>	<i>36</i>
5.3.3. <i>Penetrationsuntersuchungen an humanem Stratum corneum.....</i>	<i>39</i>
5.3.4. <i>Quantitative Auswertung der Spektren.....</i>	<i>40</i>
5.4. CHARAKTERISIERUNG DER MODELLSYSTEME.....	44
5.4.1. <i>Schichtdickenbestimmung.....</i>	<i>44</i>
5.4.2. <i>Bestimmung des Diffusionskoeffizienten in der Membran.....</i>	<i>44</i>
5.4.2.1. Bestimmung des Diffusionskoeffizienten mit Hilfe eines modifizierten Liberationsmodells.....	44
5.4.2.2. Bestimmung des Diffusionskoeffizienten mit der ATR-Technik.....	45
5.4.3. <i>Bestimmung des Diffusionskoeffizienten in flüssigen und halbfesten Medien.....</i>	<i>47</i>
5.4.4. <i>Bestimmung der Löslichkeit und des Verteilungskoeffizienten.....</i>	<i>50</i>
5.4.5. <i>Bestimmung der Enhancer-Einfluss auf den Diffusions- und den Verteilungskoeffizienten.....</i>	<i>51</i>
5.4.6. <i>Thermische, optische und weitere Parameter des Akzeptors.....</i>	<i>51</i>
5.5. NUMERISCHE LÖSUNG DES DIFFERENTIALGLEICHUNGSSYSTEMS.....	52

6. RESULTATE UND DISKUSIONEN.....	54
6.1. PENETRATIONSUNTERSUCHUNG AN DER KÜNSTLICHEN MEMBRAN.....	55
6.1.1. Penetration von Wirkstoffen aus Vaseline-Suspensionen.....	55
6.1.2. Freisetzung und Penetration von Wirkstoffen aus Vaseline-Suspensionen unter Zusatz vom dünnflüssigen Paraffin.....	64
6.1.3. Penetration von Propylenglykol aus Vaseline-Suspensionen.....	69
6.1.4. Penetration von Wirkstoffen aus Vaseline-Suspensionen unter Zusatz von Propylenglykol.....	70
6.1.5. Simulation der Wirkstoffpenetration aus Suspensionen unter in-vitro und in-vivo Bedingungen.....	75
6.2. PENETRATIONSUNTERSUCHUNG AN HUMANEM STRATUM CORNEUM.....	83
7. ZUSAMMENFASSUNG.....	85
A. ANHANG.....	86
IMPLEMENTIERUNG ZUR NUMERISCHEN LÖSUNG DES 2. FICK'SCHEN DIFFUSIONSGESETZES.....	86
B. LITERATURVERZEICHNIS.....	88
C. PUBLIKATIONSLISTE.....	101

Symbolverzeichnis

a_{ATR}	Einfallswinkel des IR-Strahls
a_D	thermische Diffusivität des Donators
a_G	thermische Diffusivität des Gases
a_M	thermische Diffusivität der Membran
ATR	Abgeschwächte Totalreflexion
b_A	optischer Absorptionskoeffizient des Akzeptors
b_M	optischer Absorptionskoeffizient der Membran
c	Konzentration
c_A	Konzentrationen im Akzeptor
c_{AGG}	Konzentration im Akzeptor im Gleichgewichtszustand
c_{A-PG}	PG-Konzentration im Akzeptor
c_D	Konzentration im Donator
c_{D-PG}	PG-Konzentration im Donator
c_E	Enhancer-Konzentration
c_{K0}	Konzentration der Wirkstoffkristalle in der Suspension bei $t = 0$
c_{PG0}	PG-Konzentration im Donator bei $t = 0$
c_{SA}	Sättigungskonzentration des Wirkstoffs im enhancer-freien Akzeptor
c_{SAe}	Sättigungskonzentration des Wirkstoffs im enhancer-haltigen Akzeptor
c_{Sf}	Sättigungskonzentration im flüssigen Anteil von Vaseline
c_{Sv}	effektive Sättigungskonzentration in Vaseline
c_W	Wirkstoffkonzentration
C_M	spezifische Wärme der Membran
D_A	Wirkstoffdiffusionskoeffizient im enhancer-freien Akzeptor
D_{Ae}	Wirkstoffdiffusionskoeffizient im enhancer-haltigen Akzeptor
D_{A-PG}	PG-Diffusionskoeffizient im Akzeptor
D_f	Diffusionskoeffizient im flüssigen Anteil von Vaseline
D_s	Diffusionskoeffizient im festen Anteil von Vaseline
D_v	effektiver Diffusionskoeffizient in Vaseline
DDC	Dodecanol-Collodium
e_E	Extinktionskoeffizient des Enhancer in der Membran
e_w	Extinktionskoeffizient des Wirkstoffs in der Membran
f	Modulationsfrequenz
FTIR	Fourier-Transformation Infrarot
I	Intensität des IR-Strahls
I_0	Intensität des Einfallstrahls
IR	Infrarot
k_{ce}, k_{De}	Konstante der Enhancer-Wirkung
K_L	Auflösungskoeffizient
k_{PAS}, k_T	systemspezifische Konstante

k_D	thermische Leitfähigkeit des Donators
k_G	thermische Leitfähigkeit des Gases
k_M	thermische Leitfähigkeit der Membran
l_A	Akzeptordicke
l_{ATR}	ATR-Eindringtiefe
l_D	Donatordicke
l_{DA}	gesamte Dicke von Donator und Akzeptor
l_G	Länge des Gasraums
l_{PAS}	optische Diffusionslänge
l_G	thermische Wellenlänge im Helium-Gas
λ_{HeNe}	Wellenlänge der HeNe-Laser
λ_{IR}	Wellenlänge des IR-Strahls
m_f	flüssiger Anteil in der Suspension
m_{dP}	Anteil am dünnflüssigen Paraffin-Zusatz in der Suspension
m_{PG}	PG-Anteil in der Suspension
μ_G	thermische Diffusionslänge im Helium-Gas
μ_{PAS}	thermische Diffusionslänge
MSMS	Mehrschichtmembransystem
n	Brechungsindex
P_0	Anfangsdruck im Gasraum
PAS	Photoakustische Spektroskopie
PG	Propylenglykol
r	Dichte
r_M	Dichte der Membran
r_W	Wirkstoffdichte
r_W	Radius des Wirkstoffkristalls
r_{W0}	Radius des Wirkstoffkristalls bei $t = 0$
SC	Stratum corneum
t	Zeit
T_0	Umgebungstemperatur
U_{bA}	Temperatur im bestrahlten Bereich des Akzeptors
U_D	Temperatur im Donator
U_G	Temperatur im Gasraum
U_{nA}	Temperatur im nicht-bestrahlten Bereich des Akzeptors
\bar{U}_{tG}	mittlere Temperatur in der thermischen Diffusionsschicht
v_f	Volumenfraktion des flüssigen Anteils von Vaseline
v_s	Volumenfraktion des festen Anteils von Vaseline
v_W	Wirkstoff-Volumenfraktion
v_{W0}	Wirkstoff-Volumenfraktion bei $t = 0$
x	Weg

1. Einführung

In der pharmazeutischen Industrie steigt die Bedeutung der topischen Formulierungen stetig an. Um deren Verwendungen zu erweitern, müssen die Formulierungen ständig weiter optimiert werden. Dafür ist es notwendig, die Penetrationsmechanismen besser zu verstehen [2, 18]. Die Entwicklung leistungsfähiger Messmethoden und die Anwendung von Simulationen bieten dafür neue Möglichkeiten.

Da der Penetrationsprozess durch die Haut sehr komplex und von vielen Faktoren abhängig ist [14, 25, 61, 78, 97], ist der Zusammenhang zwischen den Systemparametern und dem Penetrationsverhalten vom Wirkstoff nur schwer überschaubar. Der Weg zum Herausfinden der geeigneten Rezeptur der Formulierung mit Hilfe einer statistischen Versuchplanung ist dadurch besonders aufwendig. Erst mit Hilfe eines mathematischen Modells können Antworten auf Fragen nach dem komplexen Einfluss der Formulierungskomponente auf den Penetrationsprozess gegeben werden. Aus diesem Grund wird der Einsatz mathematisch-physikalischer Simulations- und Berechnungsmodelle in der pharmazeutischen Forschung immer umfangreicher.

Bereits ein einfaches Modell mit wenigen Parametern zeigt eine gute Übereinstimmung zwischen dem theoretischen Modell und den experimentellen Daten [104]. Mit Hilfe eines mathematischen Modells kann die Abhängigkeit zwischen verschiedenen Parametern und dem Penetrationsverhalten vom Wirkstoff quantitativ charakterisiert werden [66].

Zu den gängigen Modellen zur Beschreibung der Penetration in die Haut zählt das Kompartiment- und Diffusionsmodell. Beide Modelle ermöglichen eine Quantifizierung des Penetrationsprozesses durch dieselben Parameter wie „lag-time“ oder der Wirkstofffluss in den Akzeptor im Fließgleichgewicht „steady-state“ [52, 53]. Das Kompartimentmodell liefert nur wenige Informationen über den Penetrationsprozess. Wegen der Einfachheit erlaubt es aber eine Schätzung des Penetrationsverhaltens von sehr komplexem Prozess. Zur Charakterisierung der Wirkstoffkinetik in der Haut und im Plasma wurde meistens das Kompartimentmodell herangezogen. Ein solches Modell umfasst mehrere Unterprozesse wie die Penetration durch die Haut, die Diffusion in der Epidermis, den Retard-Effekt im Stratum corneum (SC) sowie die Absorption im Blutkreislauf und die Eliminierung aus dem Körper. Mit Hilfe des Modells kann das Verhältnis zwischen der lokalen und systemischen Wirkung einer topischen Formulierung abgeschätzt werden [34].

Das Diffusionsmodell ermöglicht einen umfangreichen Einblick in die Penetrationsmechanismen, da die einzelnen Unterprozesse mathematisch beschrieben werden. Gerade aus diesem Grund steigt die Komplexität des Modells mit zunehmender Anzahl der Unterprozesse sehr schnell. Nur für einen Vorgang mit wenigen Unterprozessen kann ein noch überschaubares Diffusionsmodell entwickelt werden.

Das Optimierungsverfahren mit Hilfe eines mathematischen Modells stellt wesentlich höhere Forderungen an Parametern als die bisherige Optimierungsmethode. Das mathematische Modell kann nur praktische Bedeutung gewinnen, wenn die im Modell vorhandenen Parameter experimentell zugänglich sind, sonst bleibt das Modell nur eine Spekulation. Mit den bisherigen Untersuchungsmethoden wie z.B. die Franz-Zelle oder das Mehrschichtmembranmodellsystem (MSMS) können die benötigten Parameter nur mit einem sehr großen Aufwand bestimmt werden. Die Genauigkeit der Methoden ist zudem für das mathematische Modell nicht ausreichend. Hier bieten die spektroskopischen Methoden neue Ansätze [9, 103, 120]. Von den nicht-invasiven Methoden gewinnen die abgeschwächte Totalreflexion (ATR) und die photoakustische Spektroskopie (PAS) immer mehr an Bedeutung. Besonders die ATR-Technik wurde bereits in mehreren Penetrationsuntersuchungen genutzt [13, 41, 63, 64, 68]. Auch die PAS-Technik wird

Einführung

zunehmend in biologischen Untersuchungen verwendet, da sie mehrere Vorteile gegenüber der ATR-Technik besitzt [16, 31, 55, 84].

Ziel der vorliegenden Arbeit ist:

- ein mathematisch-physikalisches Modell zur Beschreibung der Wirkstoffpenetration aus einer Suspension zu entwickeln,
- die Einflüsse der Suspensionskomponente auf den Freisetzungs- und Penetrationsprozess vom Wirkstoff zu charakterisieren,
- die Enhancer-Einflüsse auf das Freisetzungs- und Penetrationsverhalten vom Wirkstoff im Modell zu berücksichtigen,
- die spektroskopischen Methoden, wie die ATR- und PAS-Technik, für die Freisetzungs- und Penetrationsuntersuchung anzupassen
- und Suspensionen durch Simulationen des Freisetzungs- und Penetrationsprozesses zu optimieren.

Teile dieser Arbeit wurden bereits publiziert [37-40, 96].

2. Strategien zur Optimierung von Suspensionen zur topischen Anwendung

Die Forderungen an topischen Formulierungen sind sehr unterschiedlich. Aus manchen Formulierungen soll der Wirkstoff schnell in die Haut penetrieren, aus anderen jedoch nur langsam. Für jedes gewünschte Konzentration-Zeit-Profil kann die Zusammensetzung aus einer Anzahl üblicher Rezepturen ausgewählt werden [21]. Weiterhin kann das Penetrationsverhalten durch Zugabe von Bestandteilen mit typischen Eigenschaften (z.B. Enhancer) beeinflusst werden. Um Formulierungen gezielt zu entwickeln, sind Kenntnisse über quantitative Abhängigkeiten zwischen verschiedenen Faktoren und dem Penetrationsverhalten vom Wirkstoff sehr hilfreich. Die fortschreitende rechnergestützte Simulation eröffnet zunehmend neue Möglichkeiten, diesen Zusammenhang zu klären und dadurch die topische Formulierung schneller und einfacher zu optimieren.

Der Penetrationsprozess in der topischen Anwendung erfolgt in zwei Kompartimente mit sehr unterschiedlichen Diffusionseigenschaften: im Donator (Formulierung) und im Akzeptor (Haut). Es existieren zwei Ansätze, um die Wirkstoffpenetration in der topischen Anwendung zu beeinflussen. Durch die Änderung der Zusammensetzung des Donators bzw. des Akzeptors kann das Diffusionsverhalten in den beiden Bereichen beeinflusst werden. Wichtigste Parameter sind die Freisetzungsrates im Donator, der Verteilungskoeffizient zwischen dem Donator und dem Akzeptor sowie die Diffusion im Akzeptor [25, 58, 112]. Testreihen unter einer Variation des Anteils einzelner Komponente ermöglichen, den Zusammenhang zwischen der Änderung des Diffusionsverhaltens und dem Anteil einzelner Bestandteile aufzuzeigen.

Mit Hilfe eines mathematischen Modells ist es weiterhin möglich, den Einfluss einzelner Bestandteile auf den Freisetzungs- und Penetrationsprozess zu parametrisieren und quantitativ zu charakterisieren. Dadurch kann der Penetrationsprozess aus Formulierungen mit jeder möglichen Zusammensetzung simuliert werden. Durch die Auswertung der Simulationsergebnisse kann eine Vorhersage über die optimale Zusammensetzung der Suspension mit einem geeigneten Penetrationsverhalten getroffen werden.

2.1. Beeinflussung des Freisetzungsprozesses im Donator

Bei den meisten topischen Formulierungen besteht der Donator aus zwei Teilen: ein Wirkstoffreservoir und eine Formulierungsgrundlage (s. Abbildung 1). Das Reservoir kann z.B. wie in Suspensionen aus ungelösten Wirkstoffpartikeln bestehen. Infolge der Wirkstoffpenetration in den Akzeptor wird der Wirkstoff aus dem Reservoir allmählich langsam freigesetzt. Im allgemeinen enthält das Reservoir den größten Anteil der Wirkstoffmenge.

Die Grundlage enthält immer mindestens eine flüssige Komponente, in der der Wirkstoff aus dem Reservoir durch die Grundlage zum Akzeptor diffundiert. Sie stellt demnach eine Verbindung zwischen dem Wirkstoffreservoir und dem Akzeptor dar. In vielen Formulierungen enthält die Grundlage außerdem noch eine feste Komponente, die maßgeblich für die Konsistenz (d.h. die Streichfähigkeit) der Formulierung ist, z.B. im Fall der Vaseline-Suspension ist sie der Teil der langkettigen Kohlenwasserstoffe. Durch die feste Komponente kann der Wirkstoff nicht diffundieren, demzufolge beeinflusst dieser Anteil die Freisetzung aus dem Reservoir und die Diffusion im Donator negativ.

Um den Freisetzungsprozess im Donator zu beschleunigen, kann entweder die Freisetzung aus dem Reservoir und/oder die Diffusion im Donator verstärkt werden. Für den ersten gibt es mehrere Möglichkeiten, z.B. eine Vergrößerung der Freisetzungsoberfläche (u.a. eine

Strategien zur Optimierung von Suspensionen zur topischen Anwendung

Steigerung der realen Freisetzungsoberflächen durch Verringerung des Anteils an der festen Komponente oder eine Verkleinerung des Wirkstoffkristalldurchmessers). Effektiver ist jedoch eine Erhöhung des Freisetzungskoeffizienten. Weiterhin kann der Freisetzungsprozess durch eine Änderung der Umgebungseigenschaft um die Reservoirpartikel (u.a. durch eine Steigerung der Sättigungskonzentration im flüssigen Teil der Formulierung) beschleunigt werden.

Die Diffusion in der Grundlage kann durch eine Änderung des effektiven Diffusionskoeffizienten (u.a. durch eine Verringerung des Anteils an der festen Komponente oder eine Steigerung des Diffusionskoeffizienten im flüssigen Teil) beeinflusst werden.

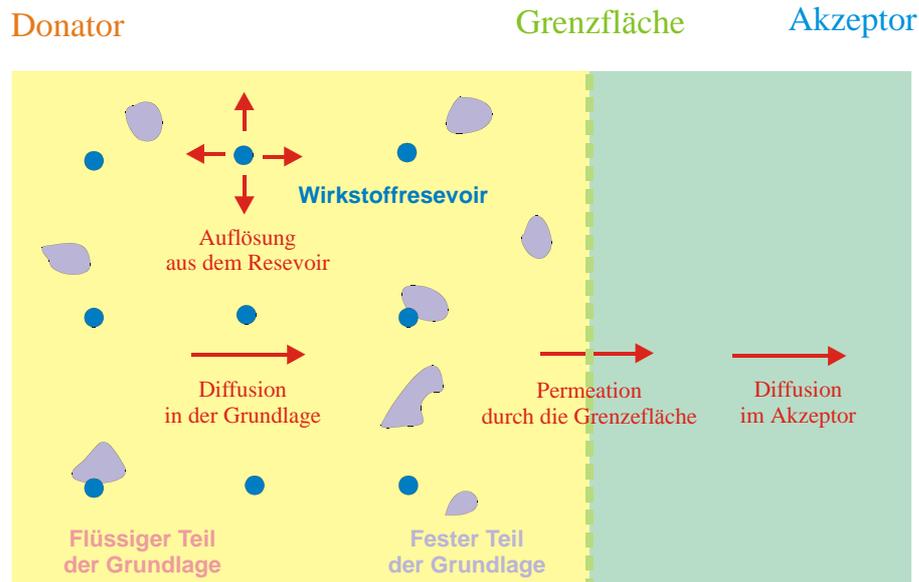


Abbildung 1: Freisetzungsprozesse im Donator und Penetrationsprozess im Akzeptor bei der Anwendung einer topischen Formulierung

2.2. Beeinflussung des Penetrationsprozesses im Akzeptor

Im Akzeptor finden zwei Schritte statt: die Wirkstoffverteilung an der Grenzfläche zwischen dem Donator und dem Akzeptor sowie die Diffusion im Akzeptor. Der erste Schritt hängt wesentlich vom Verteilungskoeffizienten zwischen dem Donator und dem Akzeptor ab. Der Verteilungskoeffizient charakterisiert das Verhältnis der Wirkstofflöslichkeiten in den beiden Medien. Eine Beschleunigung des Verteilungsprozesses kann entweder durch eine Steigerung der Sättigungskonzentration im Akzeptor oder durch eine Verringerung der Sättigungskonzentration im flüssigen Teil der Formulierungsgrundlage erreicht werden. Die zweite Möglichkeit bewirkt jedoch eine Verlangsamung der Auflösung der Reservoirpartikeln (s.o.). Wie die Änderungen dieses Parameters letztendlich den Gesamtprozess beeinflussen, kann nur durch ein mathematisches Modell ermittelt werden.

Die Steigerung der Diffusion im Akzeptor kann durch Zugabe von einem Enhancer in die Formulierung erreicht werden [109]. Der Enhancer penetriert aus der Formulierung in den Akzeptor und bewirkt dort eine Lockerung der molekularen Anordnung im Akzeptor und damit eine Änderung des Diffusionskoeffizienten. Als Folge der Umbildung der Solubilisierungshülle um die Wirkstoffmoleküle ändert sich weiterhin die Wirkstofflöslichkeit im Akzeptor. Diese beiden Effekte treten immer zusammen auf. Welcher Effekt jedoch überwiegt, hängt von den einzelnen Eigenschaften der Enhancer ab.

2.3. Zur Rolle des mathematischen Modells und der Simulation des Penetrationsprozesses

Die Betrachtung der Freisetzung im Donator und der Penetration im Akzeptor zeigt, dass jeder Bestandteil der Formulierung den Gesamtprozess sehr komplex beeinflusst. So führt eine Vergrößerung des flüssigen Anteils der Grundlage bzw. eine Verringerung des Anteils der festen Komponente der Grundlage zu einer Steigerung der realen Freisetzungsoberfläche, d.h. zur Erhöhung der Freisetzung. Weiterhin bewirkt dies eine Steigerung des effektiven Diffusionskoeffizienten in der Grundlage und damit eine Beschleunigung des Freisetzungsprozesses im Donator. Gleichzeitig steigt die Wirkstofflöslichkeit im Donator und verursacht eine Verringerung des Verteilungskoeffizienten zwischen dem Donator und dem Akzeptor. Dies führt zur Verringerung der Diffusion durch die Grenzfläche zum Akzeptor. Somit ist die Penetrationsgeschwindigkeit in den Akzeptor verringert. Damit liegt ein Schwellenwert für den flüssigen Anteil der Grundlage vor. Welcher Effekt letztendlich überwiegt, ist abhängig davon, ob der flüssiger Anteil oberhalb oder unterhalb dieses Schwellenwertes liegt.

Die Entwicklung eines mathematischen Modells zur Optimierung der topischen Formulierung umfasst drei wesentliche Schritte. Zuerst wird ein physikochemisches Modell für den Freisetzungs- und Penetrationsprozess aufgestellt, in dem der komplexe Gesamtprozess in mehrere einfache Einzelprozesse aufgeteilt wird. Anschließend werden diese elementare Unterprozesse mit Hilfe eines Differentialgleichungssystems quantitativ beschrieben. Dadurch sollen alle Einflüsse auf den Gesamtprozess durch Systemparameter charakterisiert werden. Die Aufgabe des nächsten Schrittes besteht darin, diese Parameter experimentell zu bestimmen. Mehrere Parameter können direkt gemessen werden. Manche sind jedoch nur durch eine Kurvenanpassung ermittelbar. Hierfür wird ein entsprechendes mathematisches Modell benötigt. Im letzten Schritt wird der Gesamtprozess mit Hilfe der bekannten Systemparameter simuliert. Durch eine Variation der Formulierungszusammensetzung können die Einflüsse der Komponenten auf den Gesamtprozess erfasst werden. Die Simulationsergebnisse sollen das Herausfinden der optimalen Zusammensetzung der Formulierung erleichtern.

Ein mathematisches Modell erweist sich in der Praxis als ein gutes Instrument für das Risiko-Management. Ein Beispiel hierfür ist die Untersuchung von Watkinson [127]. In dieser Arbeit wurde die Absorption von Sonnenschutzmitteln aus topischen Formulierungen im Blutkreislauf mit Hilfe eines mathematischen Modells abgeschätzt. Es zeigte, dass eine erhebliche Menge vom Wirkstoff in den Kreislauf gelangen kann und ein enger Zusammenhang zwischen der absorbierten Menge und der applizierten Fläche vorliegt.

Das Optimierungsverfahren der topischen Formulierung durch eine rechnergestützte Simulation bewährt sich auch in der Praxis wie z.B. Untersuchungen von Tojo zeigten [117]. In der Arbeit wurde die Abhängigkeit der Freisetzungsrates von der Membrandicke eines transdermalen therapeutischen Systems quantitativ charakterisiert. Anhand der Simulationsdaten kann eine optimale Membrandicke vorhergesagt werden .

3. Methoden der IR-Spektroskopie für Penetrationsuntersuchungen

Ein wesentlicher Schritt zur Optimierung von topischen Formulierungen ist die Bestimmung der Systemparameter. Gängigen Methoden zur Diffusions- oder Penetrationsuntersuchung haben eine Gemeinsamkeit: die Wirkstoffkonzentration im Akzeptor kann erst nach der Beendigung der Experimente bestimmt werden, indem das Donatormedium von dem Akzeptormedium entfernt, der Wirkstoff aus dem Akzeptor extrahiert und anschließend die Wirkstoffkonzentration u.a. mit HPLC, GC oder HPLC-MS bestimmt wird [17, 27, 88]. Ein systematischer Messfehler ist durch den Rest des Donators sowie durch den Extraktionsschritt meist nicht vermeidbar. Aufgrund der geringen Menge des Donators ist weiterhin eine genaue Bestimmung der Konzentration im Donator mit diesen Methoden relativ schwierig. Die Methode ist im wesentlichen nur für die Charakterisierung des Akzeptors geeignet. Alternativ kann ein radioaktiver Wirkstoff verwendet werden [94]. Dies vereinfacht den Wirkstoffanalyseprozess. Da die entsprechenden radioaktiven Wirkstoffe vielfach nicht ausreichend verfügbar sind, ist die Anwendbarkeit dieser Methode auf wenige Wirkstoffe begrenzt. Um das Profil der Wirkstoffkonzentration im Akzeptor zu charakterisieren, wird die „tape stripping“ Methode oft verwendet. Wegen der variierenden Dicke der einzelnen Schichten ist jedoch ein sehr genaues Ergebnis nicht zu erwarten [93].

Die oben genannten Methoden können nur offline durchgeführt werden. Ein Konzentration-Zeit-Profil kann nur mit einem erheblichen Aufwand erstellt werden, da für jeden Zeitpunkt ein Experiment benötigt wird. Die nicht-invasiven Messmethoden ermöglichen, die zeitabhängige Wirkstoffkonzentration im Donator oder Akzeptor relativ einfach zu verfolgen, da die Wirkstoffkonzentration während des Penetrationsprozesses online bestimmt werden kann. Spektroskopische Methoden, insbesondere die abgeschwächte Totalreflexion Spektroskopie und die photoakustische Spektroskopie, wurden aus diesem Grund immer häufiger in Penetrationsuntersuchungen verwendet [120]. In einem solchen Verfahren entfallen die Schritte zur Trennung des Donators und des Akzeptors sowie der Schritt zur Wirkstoffextraktion aus dem Akzeptor. Dadurch wird der systematische Fehler verringert.

Neben den Vorteilen eines geringeren Vorbereitungsaufwands und einer höheren Genauigkeit ermöglichen die spektroskopischen Methoden auch eine gleichzeitige Verfolgung der Diffusion von zwei Substanzen (z.B. Wirkstoff und Enhancer oder Wirkstoff und Komponente der Grundlagen oder zwei Wirkstoffe in einer Kombination-Formulierung), weil jede einzelne Substanz typische Absorptionsbanden aufweist [32].

Da eine enge Verbindung zwischen der Lage oder der Intensität der Absorptionsbanden und der Akzeptorstruktur besteht, ist es in manchen Fällen weiterhin möglich die Strukturänderung des Akzeptors während des Diffusionsprozesses zu verfolgen. In mehreren Untersuchungen wurde die Änderung der SC-Struktur durch Enhancer mit Hilfe der FTIR-ATR Spektroskopie charakterisiert [19, 63, 115, 133, 134, 116].

3.1. FTIR Abgeschwächte Totalreflexion-Spektroskopie

Für Penetrationsuntersuchungen gehört die FTIR-ATR Spektroskopie seit längerer Zeit zu den Standardmesstechniken [79, 80, 83, 89, 129]. Bei dieser Technik wird die Totalreflexion an der Grenzfläche zweier optisch verschieden dichter Medien ausgenutzt. Trifft der IR-Strahl in einem ATR-Kristall mit einem hohen Brechungsindex n_1 schräg auf die Grenzfläche zum optisch dünneren Medium (n_2), so wird der IR-Strahl in den Kristall zurückreflektiert, wenn der Einfallswinkel α_{ATR} den Grenzwinkel der Totalreflexion übersteigt. Das optisch dünnere Medium ist die zu untersuchende Probe. Ein Teil der elektromagnetischen Energie dringt ein

wenig in die Probe ein. Wird der eingedrungene IR-Strahl von der Probe absorbiert, ergeben sich eine ähnliche spektrale Abhängigkeit wie bei Transmissionspektren (s. Abbildung 2). Die Eindringtiefe ist abhängig von dem Einfallswinkel des IR-Strahls und von dem Brechungsindex der Probe [68]:

$$l_{ATR} = \frac{I_{IR}}{2pn_1 \sqrt{\sin^2 a_{ATR} - \left(\frac{n_2}{n_1}\right)^2}}, \quad (3.1.1)$$

dabei ist l_{ATR} die Eindringtiefe und λ_{IR} die Wellenlänge des IR-Strahls.

In den meisten ATR-Messeinheiten wird ein ZnSe-Kristall mit einem Einfallswinkel von 45° oder 60° verwendet. ZnSe hat einen hohen Brechungsindex, ist relativ kostengünstig und besonders gut für Untersuchungen an biologischen Systemen geeignet, weil ZnSe im biologisch relevanten Spektralbereich zwischen 4000 und 600 cm^{-1} keine Eigenabsorption besitzt. Für eine quantitative Untersuchung ist der auswertbare Bereich auf 1900 cm^{-1} bis 750 cm^{-1} begrenzt. Das entspricht einer Eindringtiefe zwischen $0,7$ - $2,1 \text{ }\mu\text{m}$.

Durch eine Änderung des Einfallswinkels sowie eine Verwendung anderer Kristallmaterialien kann die ATR-Eindringtiefe geringfügig verändert werden. In der Untersuchung von Snieder bei 1650 cm^{-1} entspricht die Eindringtiefe in SC mit einem ZnSe-Kristall bei 45° $0,9 \text{ }\mu\text{m}$, bei 60° $0,7 \text{ }\mu\text{m}$ und mit einem Ge-Kristall bei 45° $0,3 \text{ }\mu\text{m}$ [111]. In anderen Untersuchungen wurde die ATR-Spektroskopie mit der „tape stripping“ Technik kombiniert, um das Konzentrationsprofil in SC zu untersuchen [13, 42].

Aufgrund der Abhängigkeit der Eindringtiefe von der Wellenlänge des IR-Strahls benötigen die gemessenen ATR-Spektren vor der Auswertung eine Korrektur. Dabei wird die Spektralabsorption durch die Wellenlänge dividiert. Die neuen ATR-Spektren sind auf eine konstante Eindringtiefe normiert.

Der Weg d_{ATR} , den die Strahlung in der Probe zurücklegt, wird aus der Eindringtiefe l_{ATR} (mit einem Einfallswinkel von 45°) berechnet:

$$d_{ATR} = AB + BC = 2\sqrt{2}l_{ATR}. \quad (3.1.2)$$

Zur quantitativen Auswertung der Spektraldaten wird das Lambert-Beersche Gesetz verwendet [99]. Für eine wirkstoffhaltige Membran gilt (s. Abbildung 2, 3):

$$I = I_0 \quad \text{für } x = 0, \quad (3.1.3)$$

$$\frac{\partial I}{\partial x} = -b_A I \quad \text{für } 0 < x < d_{ATR}, \quad (3.1.4)$$

dabei ist I_0 die Intensität des Einfallstrahls, I die Intensität des IR-Strahls im Akzeptor und b_A der optische Absorptionskoeffizient der wirkstoffhaltigen Membran. Dieser ist wiederum von der Wirkstoffkonzentration c_W abhängig.

$$b_A = b_M + e_W c_W, \quad (3.1.5)$$

dabei ist β_M der Absorptionskoeffizient der wirkstofffreien Membran und e_W der Extinktionskoeffizient des Wirkstoffes in der Membran. Für einen Spektralbereich, indem das Akzeptormedium keine IR-Absorption besitzt, d.h. $\beta_M = 0$, ist der Absorptionskoeffizient des Akzeptors β_A direkt proportional zur Wirkstoffkonzentration c_W .

Für die Lösung des Differentialgleichungssystems ist zu beachten, dass die Wirkstoffkonzentration im Bereich BC das Spiegelbild der Wirkstoffkonzentration im Bereich AB entspricht (s. Abbildung 3).

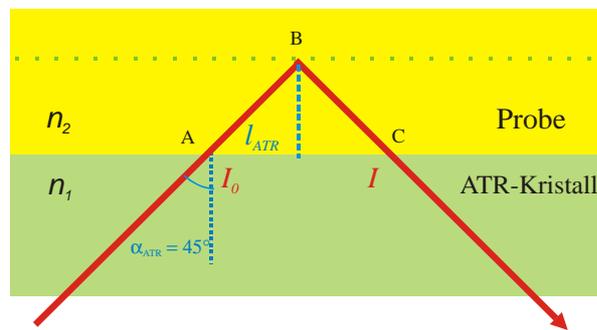


Abbildung 2: Prinzip der ATR-Messtechnik

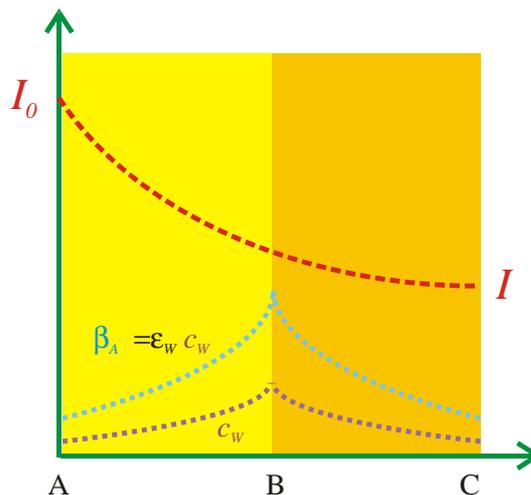


Abbildung 3: Abhängigkeit der IR-Absorption von der Wirkstoffkonzentration bei der ATR-Messtechnik

3.2. FTIR Photoakustische Spektroskopie

Anders als bei der FTIR-ATR Messtechnik basiert die FTIR photoakustische Spektroskopie sowohl auf spektroskopischen als auch thermischen Effekten [4, 91, 99]. Das Messprinzip basiert auf der Bestrahlung der Probe mit einem in seiner Intensität modulierten IR-Strahl. Die Moleküle in der Probe absorbieren die Energie des IR-Strahls und geben sie als Wärmeenergie wieder ab. Da die anregende Strahlung intensitätsmoduliert ist, verläuft auch die resultierende Wärmeproduktion entsprechend periodisch. Die erzeugte Wärmewelle wandert zur Probeoberfläche. Dort wird die Wärmeenergie weiter an das Gasvolumen abgegeben, wodurch Volumenänderungen und Druckwellen (Schallwellen) im Gasraum erzeugt werden. Diese lassen sich von einem empfindlichen Mikrophon erfassen. Alternativ zum IR-Strahl kann auch ein UV-Strahl verwendet werden. Da der UV-Strahl tiefer als der IR-Strahl in die Probe eindringen kann, ist es möglich, einen größeren Bereich der Probe abzutasten. Auf Grund der sehr breiten UV-Banden sind diese Spektraldaten jedoch schwer quantitativ auszuwerten.

Zur Verbesserung der quantitativen Anwendungen der PAS-Technik werden die Spektren im so genannten „step-scan“-Modus mit der Phasenmodulation registriert [110]. Im Unterschied zum „rapid-scan“ Modus durchläuft der bewegliche Spiegel im Interferometer nicht mit konstanter Geschwindigkeit den Scan-Bereich, sondern springt schrittweise von einer Stelle zur nächsten Stelle, an jedem Punkt schwingt er mit einer bestimmten Modulationsfrequenz. Der Punktabstand ist abhängig u.a. von der gewählten spektralen Auflösung. Je höher die Auflösung ist, desto mehr Punkte werden benötigt. Die Anzahl der Schwingungen pro Stellen,

die sogenannten Koadditionen können gewählt werden. Durch eine größere Anzahl der Koadditionen kann ein besseres Signal/Rausch-Verhältnis erreicht werden

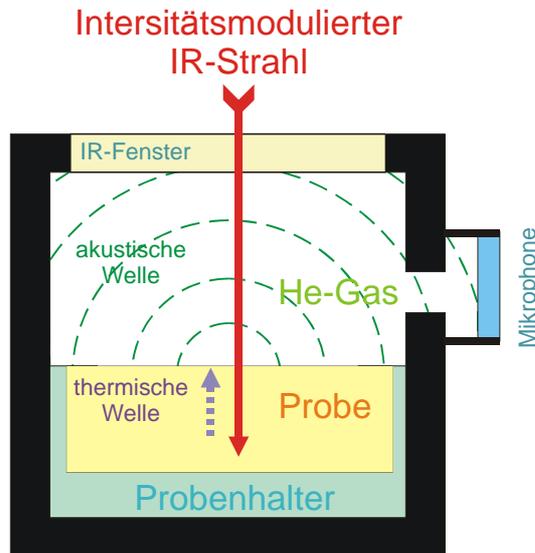


Abbildung 4: Prinzip der PAS-Messtechnik

Eine Messung im „step-scan“ Modus mit einer Phasenmodulation braucht eine längere Messzeit als im „rapid-scan“ Modus, jedoch wird durch die phasenempfindliche Detektion das Signal-Rausch Verhältnis wesentlich erhöht. Ein weiterer entscheidender Vorteil ist, dass für alle Wellenzahl dieselbe Eindringtiefe gegeben ist.

Mit Hilfe eines phasenempfindlichen Verstärkers wird der „in-phase“ und „in-quadratur“ Teil des Signals, R bzw. I , simultan registriert. Aus diesen beiden Spektrum-Teilen wird das „Magnitude“-Spektrum M berechnet [23]:

$$M = \sqrt{R^2 + I^2} \quad (3.2.1)$$

Neben dem „Magnitude“-Spektrum kann das PA-Spektrum M_f für jede Phase ϕ aus den beiden Signalteilen R und I berechnet werden:

$$M_f = R \cos f + I \sin f \quad (3.2.2)$$

Da die Phase die Abtasttiefe widerspiegelt, ist es möglich den Ursprung des Spektrums zu lokalisieren. Dadurch ist das Tiefenprofil der Probe zugänglich. Die Methode findet breite Anwendung bei der Untersuchung von Polymerschichtsystemen [47, 48]. Ein Modell zur quantitativen Auswertung des Tiefenprofils einer solchen Membran wurde in der Arbeit von Jiang vorgeschlagen [46]. Die Voraussetzung für das Modell ist, dass jede Schicht mindestens eine spezifische Absorptionsbande aufweist. Für Penetrationsuntersuchungen ist das Modell nicht geeignet, da sich die Spektren nur in Intensitätsverhältnissen, jedoch nicht in Bandenpositionen unterscheiden. In der vorliegenden Arbeit wurde die Charakterisierung des Tiefenprofils im Akzeptor durch eine Variation der Modulationfrequenz erreicht (s. 3.2.1).

Zur quantitativen Auswertung der Spektraldaten wird ein Modell für die Abhängigkeit der Signalintensität von der Substanzkonzentration benötigt. Der komplexe Vorgang bei der PAS-Technik erfordert eine umfangreichere mathematische Beschreibung als bei der ATR-Technik.

Eine Möglichkeit zur Auswertung der Spektraldaten ist die Anwendung eines einfacheren Modells: das Modell A. Es basiert auf der Annahme, dass die Signalintensität proportional zu der Substanzmenge im erfassten Bereich ist.

Eine weitere Möglichkeit basiert auf einem ausführlichen mathematischen Modell. Dabei

werden die einzelnen Unterprozesse, die IR-Absorption und die Wärmediffusion sowie die Bildung des akustischen Signals, mathematisch beschrieben. Dieses wurde als Modell **B** bezeichnet. Abhängig von den zugänglichen Parametern sowie dem Untersuchungsziel wird das entsprechende Modell im einzelnen Fall ausgewählt.

3.2.1. Modell A zur quantitativen Auswertung der Spektraldaten

Die Wärmediffusion wird durch die Gleichung:

$$\frac{\partial^2 U}{\partial x^2} = \frac{Cr}{k} \left(\frac{\partial U}{\partial t} \right) \quad (3.2.3)$$

beschrieben, dabei ist U die Temperatur, C die spezifische Wärme, r die Dichte und k die Wärmeleitfähigkeit.

Daraus folgt nach Rose für die Temperatur einer periodisch schwingenden Wärmewelle [90]:

$$U = k_T e^{-x\sqrt{\frac{pCr f}{k}}} e^{-ix\sqrt{\frac{pCr f}{k}}} e^{i\omega t}, \quad (3.2.4)$$

dabei ist k_T eine systemspezifische Konstante, f die Modulationsfrequenz und $\omega = 2\pi f$. Die

sehr schnell gedämpfte Amplitude der Schwingung wird durch $k_T e^{-x\sqrt{\frac{pCr f}{k}}}$ ausgedrückt,

$e^{-ix\sqrt{\frac{pCr f}{k}}}$ ist der oszillierende Teil im Raum und $e^{i\omega t}$ der oszillierende Teil in der Zeit. Die Wellenlänge einer thermischen Schwingung ist demnach $\lambda = 2\pi\sqrt{k/pCr f}$. Die Amplitude der thermischen Welle nach einer Wellenlänge beträgt nur noch 1/535 der Anfangsamplitude. Häufig wird der Begriff die thermische Diffusionslänge μ_{PAS} eingeführt [23]

$$\mu_{PAS} = \sqrt{\frac{k}{pCr f}}. \quad (3.2.5)$$

Sie ist also umgekehrt proportional zur Wurzel aus der Modulationfrequenz. Nach einer thermischen Diffusionslänge ist die Amplitude des IR-Strahls nur noch Ke^{-1} , also ca. 37% der Anfangsamplitude.

Die Grundlage des Modells **A** ist die Annahme, dass die Wärmewellen, die im Bereich tief in der Probe erzeugt werden, nicht zur Bildung des akustischen Signals beitragen können, da ihre Amplitude schnell abgedämpft wird. Nur die Wärmewellen, die im oberen Bereich der Probe erzeugt werden, können sich noch bis zur Probeoberfläche ausbreiten und bewirken eine Druckwelle im Gasraum. Als Grenze zwischen den beiden Bereichen wird die thermische Diffusionslänge μ_{PAS} verwendet. Sie wird auch als Abtasttiefe von PAS betrachtet. Diese Abtasttiefe ist durch die Wahl der Modulationsfrequenzen steuerbar, dadurch ist eine Tiefenprofil-Untersuchung möglich [22].

Bei einer Messung mit einer zu niedrigen Modulationsfrequenz entsteht oft der Sättigungseffekt. Die Bandenintensität ist dann nur noch von der Intensität des IR-Strahls abhängig. In der Messung mit einer zu hohen Modulationsfrequenz ist die Signalintensität so schwach, dass sie sich kaum vom Grundrauschen unterscheidet. Mit der momentan verfügbaren Technik des Spektrometers IFS 28 liegt der akzeptable Bereich zwischen 10 und 500 Hz. Das entspricht eine Abtasttiefe in der Haut (SC, Epidermis) von 100 bis 5 μm . Dem gegenüber beträgt die Eindringtiefe der ATR nur 0,7-2,1 μm .

Für eine wirkstoffhaltige Membran wird im Modell **A** angenommen, dass eine lineare Abhängigkeit zwischen der Intensität der Spektralbanden und der erfassten Wirkstoffmasse im Bereich der Abtasttiefe vorliegt (s. Abbildung 5). Bei einer kleinen Abtasttiefe, einer geringen Substanzkonzentration und in einem begrenzten Konzentrationsbereich ist diese

Annahme akzeptabel.

Für zwei Modulationsfrequenzen f_0 und $4f_0$ mit der entsprechenden Abtasttiefe μ_0 und $2\mu_0$ gilt für die Signalintensität S_{AC} für den Bereich AC und S_{AB} für den Bereich AB:

$$S_{AC} = S_{AC(M)} + k_{PAS} \int_0^{2\mu_0} c_W(x) dx \quad \text{und} \quad S_{AB} = S_{AB(M)} + k_{PAS} \int_0^{\mu_0} c_W(x) dx, \quad (3.2.6)$$

dabei ist $S_{AC(M)}$ und $S_{AB(M)}$ das Grundsignal der Membran im Bereich AC bzw. AB und k_{PAS} eine systemspezifische Konstante.

Es folgt:

$$S_{AC} - S_{AC(M)} = k_{PAS} \int_0^{2\mu_0} c_W(x) dx \quad \text{und} \quad S_{AB} - S_{AB(M)} = k_{PAS} \int_0^{\mu_0} c_W(x) dx, \quad (3.2.7)$$

Die Zunahme der Signalintensität ist somit direkt proportional zum Integral der ortsabhängigen Wirkstoffkonzentration des erfassten Bereichs.

Im Modell A wurden einzelne Vorgänge der Signalbildung nicht genauer beschrieben. Es hat jedoch den Vorteil, dass zur Auswertung keine weiteren Parameter benötigt werden. Mit diesem Modell ist es möglich, das Tiefenprofil der Wirkstoffkonzentration im Akzeptor zu charakterisieren. Das Modell ist für die Auswertung der Experimente mit dem humanen Stratum corneum gut geeignet. Mit seiner Hilfe ist es möglich, den ortsabhängigen Diffusionskoeffizienten im SC zu bestimmen. Im Experiment wurde das SC simultan bei 5 verschiedenen Modulationsfrequenzen registriert. Zur Auswertung wurde das SC virtuell in 5 Schichten entsprechend geteilt. Aus den experimentellen Daten wurde der Diffusionskoeffizient in den einzelnen SC-Schichten berechnet.

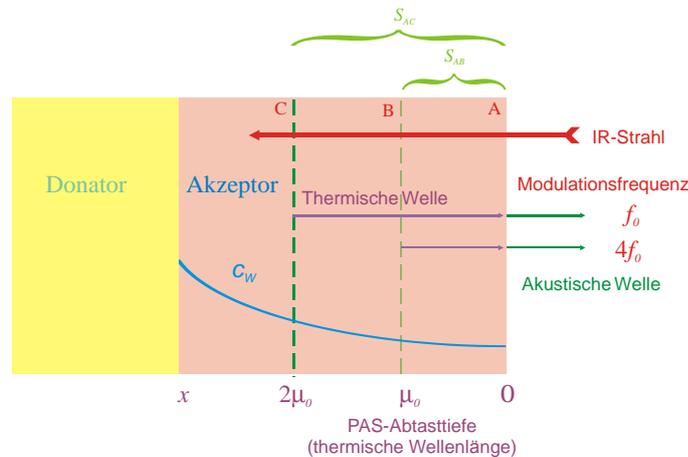


Abbildung 5: Modell A für die quantitative Auswertung der PAS-Daten

3.2.2. Modell B zur quantitativen Auswertung der Spektraldaten

Ein genaueres Modell zur Signalbildung geht auf Rosencwaig-Gersho zurück (RG-Theorie) [92]. In diesem Modell wird die zeitliche und räumliche Veränderung der Temperatur durch eine Wärmediffusionsgleichung beschrieben (s. Abbildung 6) [90].

Der IR-Strahl dringt in die Probe ein und wird absorbiert. Die Abschwächung der Strahlenintensität wird durch das Lambert-Beersche Gesetz beschrieben. Es wird angenommen, dass die absorbierte Lichtenergie vollständig in die Wärmeenergie umgewandelt wird. Die entstehende Wärmewelle breitet sich in der Probe aus und dringt in die Formulierung sowie in den Gasraum ein. Durch die periodische Temperaturänderung in der thermischen Diffusionsschicht des Gasraums entsteht eine periodische Druckänderung. Sie erzeugt eine akustische Welle im Gasraum.

Der Diffusionsprozess wurde in allen Gebieten durch die Wärmediffusionsgleichung beschrieben. Für die Diffusion durch die Grenze zwischen der Membran und der Formulierung sowie zwischen der Membran und dem Gasraum gilt das Prinzip des kontinuierlichen Wärmeflusses. Als Anfangsbedingung gilt, dass die Temperatur bei $t = 0$ überall gleich ist und der Raumtemperatur entspricht. Die Temperatur an den beiden äußeren Grenzen, einerseits zwischen der Formulierung und dem Probenhalter, andererseits zwischen dem Gasraum und dem IR-Fenster, wird als Randbedingung angenommen. Diese Temperatur ist konstant und entspricht der Raumtemperatur.

Nach diesem Modell kann das System in fünf Gebiete unterteilt werden (s. Abbildung 6). Dabei wird Wärmeenergie nur im bestrahlten Bereich der Membran erzeugt. Die Dicke dieser Schicht entspricht der optischen Diffusionslänge des IR-Strahls in der Membran. Im tieferen Bereich der Membran kann die Intensität des IR-Strahls vernachlässigt werden.

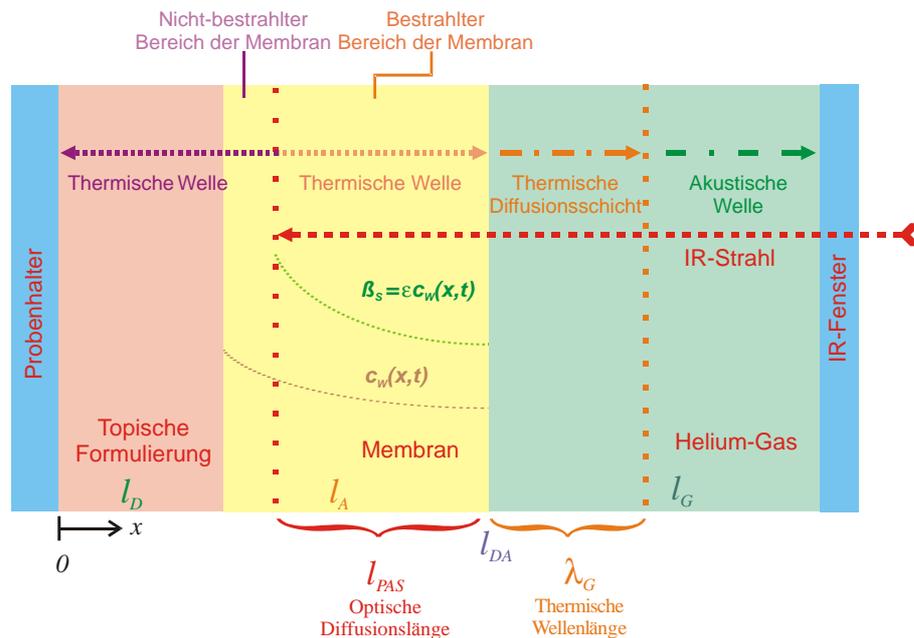


Abbildung 6: Modell B für die quantitative Auswertung der PAS-Daten

Die durch die Absorption von Lichtenergie entstehende Wärmewelle breitet sich in zwei Richtungen aus. Sie dringt sowohl in den nicht-bestrahlten Bereich der Membran und dann in die Formulierung als auch in den Gasraum ein. Die Wärmewelle wird im Gasraum rasch gedämpft. Außerhalb der thermischen Diffusionsschicht, deren Dicke einer Wärmewellenlänge im Gas entspricht, gibt es praktisch keine Wärmewelle mehr. Nach Rosencwaig entsteht die Druckwelle hauptsächlich in dieser Diffusionsschicht.

Die Rosencwaig-Theorie wurde für ein optisch homogenes Medium entwickelt. Die Homogenität der Probe ermöglicht eine einfache mathematische Beschreibung der IR-Absorption nach dem Lambert-Beerschen Gesetz. In unserem Fall ist der optische Absorptionskoeffizient von der Substanzkonzentration (Wirkstoff oder Enhancer) in der Membran abhängig (s. Kapitel 3.1.).

3.2.2.1. Die Absorption des IR-Strahls im Akzeptor

Für die Intensität des IR-Strahls am rechten Rand des Akzeptors gilt:

$$I(l_{DA}) = \frac{1}{2} I_0 (1 + \cos wt) \quad , \quad (3.2.8)$$

dabei ist I_0 die Amplitude des Einfallstrahls und l_{DA} die gesamte Dicke vom Donator und Akzeptor.

Nach dem Lambert-Beerschen Gesetz gilt für die optische Absorption im Akzeptor:

$$\frac{\partial I}{\partial x} = -b_A I \quad \text{für } l_{DA} - l_{PAS} < x < l_{DA}. \quad (3.2.9)$$

dabei ist l_{PAS} die optische Diffusionslänge des IR-Strahls.

Es wird angenommen, dass die absorbierte IR-Energie vollständig in Wärmeenergie umgewandelt wird. Daraus folgt für die entstehende Wärmeenergie H :

$$H = b_A I = -\frac{\partial I}{\partial x}. \quad (3.2.10)$$

Für den optischen Absorptionskoeffizienten wird eine lineare Abhängigkeit von der Konzentration der Komponente (Wirkstoff und/oder Enhancer) angenommen,

$$b_A = b_M + e_W c_W + e_E c_E. \quad (3.2.11)$$

Der Absorptionskoeffizient der reinen Membran entspricht b_M . Die Konzentrationen von Wirkstoff bzw. Enhancer sind c_W und c_E . Die entsprechenden Extinktionskoeffizienten für den Wirkstoff bzw. den Enhancer in der Membran werden durch e_W und e_E dargestellt.

3.2.2.2. Der thermische Diffusionsprozess in der Probe

Zum Zeitpunkt $t=0$ ist die Temperatur U überall gleich und entspricht der Umgebungstemperatur T_0

$$U(x,0) = T_0. \quad (3.2.12)$$

Für die Temperatur im bestrahlten Bereich des Akzeptors U_{bA} gilt:

$$\frac{\partial U_{bA}}{\partial t} = a_M \frac{\partial^2 U_{bA}}{\partial x^2} + \frac{H}{r_M C_M} \quad \text{für } l_{DA} - l_{PAS} \leq x \leq l_{DA}. \quad (3.2.13)$$

Die thermische Diffusivität a_M wird durch die Dichte r_M , die spezifische Wärme C_M und die thermische Leitfähigkeit k_M der Membran ausgedrückt:

$$a_M = \frac{k_M}{r_M C_M}. \quad (3.2.14)$$

Da die Wirkstoffkonzentration in der Membran sehr gering ist, entsprechen die thermischen Eigenschaften der wirkstoffhaltigen Membran weitgehend denen der reinen Membran.

Aus Gleichungen (3.2.10) und (3.2.13) folgt:

$$\frac{\partial U_{bA}}{\partial t} = a_M \frac{\partial^2 U_{bA}}{\partial x^2} + \frac{b_A I}{r_M C_M} \quad \text{für } l_{DA} - l_{PAS} \leq x \leq l_{DA}. \quad (3.2.15)$$

Der erste Term der rechten Seite der Gleichung beschreibt die Wärmediffusion, der zweite Term den Einfluss der internen Wärmequelle.

Für die Temperatur im nicht-bestrahlten Bereich des Akzeptors U_{nA} gilt:

$$\frac{\partial U_{nA}}{\partial t} = a_M \frac{\partial^2 U_{nA}}{\partial x^2} \quad \text{für } l_D \leq x < l_{DA} - l_{PAS}. \quad (3.2.16)$$

An der Grenzfläche zwischen dem bestrahlten und dem nicht-bestrahlten Bereich des Akzeptors gilt:

$$U_{nA}(l_{DA} - l_{PAS}, t) = U_{bA}(l_{DA} - l_{PAS}, t). \quad (3.2.17)$$

Für die Temperatur im Donator U_D gilt:

$$\frac{\partial U_D}{\partial t} = a_D \frac{\partial^2 U_D}{\partial x^2} \quad \text{für } 0 < x < l_D, \quad (3.2.18)$$

dabei ist a_D die thermische Diffusivität der Formulierung.

Für die Grenzfläche zwischen dem Akzeptor und dem Donator gilt das Prinzip des kontinuierlichen Wärmeflusses:

$$U_D(x,t) = U_{nA}(x,t) \quad , \quad (3.2.19)$$

$$k_D \frac{\partial U_D(l_D,t)}{\partial x} = k_M \frac{\partial U_{nA}(l_D,t)}{\partial x} \quad . \quad (3.2.20)$$

Die Wärmeleitfähigkeit des Donators wird durch k_D ausgedrückt.

Die Temperatur am linken Donatorrand bleibt zeitlich konstant

$$U_D(0,t) = T_0 \quad . \quad (3.2.21)$$

Für die Temperatur im Gasraum U_G gilt:

$$\frac{\partial U_G}{\partial t} = a_G \frac{\partial^2 U_G}{\partial x^2}, \quad l_{DA} < x < l_{DA} + l_G \quad (3.2.22)$$

dabei ist a_G die thermische Diffusivität des Gases und l_G die Länge des Gasraums.

Für die Grenzfläche zwischen dem Akzeptor und dem Gasraum gilt das Prinzip des kontinuierlichen Wärmeflusses:

$$U_{bA}(x,t) = U_G(x,t) \quad , \quad (3.2.23)$$

$$k_G \frac{\partial U_G(l_{DA},t)}{\partial x} = k_M \frac{\partial U_{bA}(l_{DA},t)}{\partial x} \quad , \quad (3.2.24)$$

dabei ist k_G die Wärmeleitfähigkeit des Gases.

Die Temperatur am rechten Rand des Gasraums bleibt zeitlich konstant

$$U_G(l_{DA} + l_G, t) = T_0 \quad . \quad (3.2.25)$$

Aus dem Differentialgleichungssystem (3.2.8) – (3.2.25) kann die oszillierende Temperatur an der Phasengrenze zwischen der Membran und dem Gasraum berechnet werden.

Die Bildung des akustischen Signals wird in der RG-Theorie mit Hilfe eines thermischen „Piston“-Modells beschrieben [90]. In diesem Modell wird der Gasraum in zwei Volumina und zwar in die thermische Diffusionsschicht und in den Rest des Gasraums geteilt (s. Abbildung 6). Die Dicke der Diffusionsschicht entspricht einer thermischen Wellenlänge im Helium-Gas $l_G = 2pm_G$. Jeder Teil des Gasraums besitzt einen eigenen Druck und eine eigene Temperatur sowie ein eigenes Volumen. Das Gesamtvolumen der beiden Teile entspricht immer dem Gesamthalt des Gasraums. Es wird weiterhin angenommen, dass sowohl der Druck in der thermischen Diffusionsschicht als auch die Temperatur in dem restlichen Volumen konstant bleiben.

Die Temperatur der thermischen Diffusionsschicht ändert sich unter dem Einfluss der Wärmewellen aus der Membran periodisch. Infolge dessen ändert sich auch das Volumen der thermischen Diffusionsschicht. Es führt zu einer periodischen Änderung des Volumens vom Restteil. Auf Grund der konstanten Temperatur ändert sich der Druck in diesem Volumenteil. Nach Rosencwaig kann diese Druckänderung aus der mittleren Temperatur in der

thermischen Diffusionsschicht $\bar{U}_{tG}(t)$ berechnet werden:

$$\frac{\partial P(t)}{P_0} = \frac{l_G}{l_G - l_G} \frac{\bar{U}_{tG}(t)}{T_0} \quad , \quad (3.2.26)$$

dabei ist P_0 der Anfangdruck im Gasraum.

Für die mittlere Temperatur in der Diffusionsschicht gilt:

$$\bar{U}_{tG}(t) \approx \frac{1}{2\sqrt{2p}} U_G(l_{AD}, t) e^{i\left(\omega t - \frac{p}{4}\right)} \quad . \quad (3.2.27)$$

Daraus folgt für die Druckänderung im Gasraum:

$$\partial P(t) \approx \frac{\mu_G}{l_G - 2p\mu_G} \frac{P_0}{\sqrt{2T_0}} U_G(l_{DA}, t) e^{i\left(\frac{\omega t - p}{4}\right)}, \quad (3.2.28)$$

dabei ist μ_G die thermische Diffusionslänge im Helium-Gas.

Nach Rosenzweig ist jedoch für das akustische Signal am Mikrofon nur der reale Teil „Re“ von $\partial P(t)$ relevant:

$$\partial P(t) \approx \frac{\mu_G}{l_G - 2p\mu_G} \frac{P_0}{\sqrt{2T_0}} \operatorname{Re} \left[U(l_{DA}, t) e^{i\left(\frac{\omega t - p}{4}\right)} \right]. \quad (3.2.29)$$

3.3. Kombination von ATR und PAS

Die ATR- und die PAS-Technik ergänzen sich hervorragend. Die Kombination der beiden Techniken ermöglicht es, das Penetrationsverhalten umfassend zu charakterisieren. Auf Grund der geringen Eindringtiefe ist die ATR-Technik für Permeationsuntersuchungen geeignet, während die PAS-Technik gut für Penetrationsuntersuchungen ist.

Die ATR-Technik zeichnet sich durch sehr kurze Messzeiten von ca. 15-90 s pro Spektrum aus und ist damit vorteilhaft für die Verfolgung schnell verlaufender Penetrationsprozesse. Für solche Prozesse findet die PAS-Technik weniger Anwendung, da bei dieser Technik die Messzeit 3-5 min beträgt.

Die Kombination der beiden Techniken, der ATR mit der Eindringtiefe bis zu 2 μm und der PAS mit der Abtasttiefe zwischen 5-100 μm ermöglicht die Verfolgung der Wirkstoffpenetration im gesamten SC (ca. 30 μm dick) sowie in einem Teil der Epidermis.

Infolge der geringeren Eindringtiefe kann die ATR-Technik für Freisetzungsuntersuchungen aus dem Donator eingesetzt werden. Durch die Unebenheiten der Formulierungsschicht ist der Einsatz der PAS-Technik für diesen Zweck ungeeignet. Andererseits gestattet die PAS-Technik mit ihrer Tiefenprofilierung, Aussagen über die Wirkstoffverteilung im Akzeptor während des Penetrationsprozesses zu treffen.

Um die Effektivität der spektroskopischen Methoden einschätzen zu können, wurde der Diffusionskoeffizient in einer Membran mit Hilfe der ATR-Technik, der PAS-Technik (Online-Technik) und eines Mehrschichtmembranmodellsystems (Offline-Technik) bestimmt. In der ersten Studie wurde die Clotrimazol-Penetration in eine Dodecanol-Collodium-Membran (DDC-Membran) mit der PAS-Technik und mit dem MSMS untersucht [95]. Die Ergebnisse der ersten Studie zeigten, dass das spektroskopische Verfahren der konventionellen Methode überlegen ist. Bei der PAS-Technik ist das Vertrauensintervall mehr als dreifacher kleiner als bei dem MSMS (s. Abbildung 7).

In einer zweiten Studie wurde die Dithranol-Penetration in der DDC-Membran sowohl mit der ATR-Technik als auch mit der IR-PAS sowie UV-PAS-Technik charakterisiert [39]. Während die PAS-Methode den tiefenabhängigen Diffusionskoeffizienten liefert, wird mit der ATR-Methode und dem Liberationsmodell den mittleren Diffusionskoeffizienten der Membran bestimmt. Die zweite Studie zeigte, dass von den spektroskopischen Methoden die ATR-Technik die höchste Genauigkeit aufweist. Dies ist an der Streuung der Messdaten um die theoretische Penetrationskurve (s. Abbildung 8) gut erkennbar.

Die unterschiedlichen Genauigkeiten von der ATR- und der IR-PAS-Technik sind durch die unterschiedlichen Prinzipien der beiden Methoden bedingt. Die ATR-Technik basiert nur auf dem optischen Absorptionsprozess, während bei der IR-PAS-Technik die optische Absorption mit der thermischen Diffusion und der Bildung der akustischen Welle verknüpft ist. Die möglichen Fehlerquellen wie Umgebungsgeräusche, Erschütterungen, Abhängigkeit der thermischen Eigenschaft von der Feuchtigkeit der Probe sind bei IR-PAS-Technik größer als bei der ATR-Technik. Weiterhin sind die IR-Banden bei unveränderten Bandenposition in PA

Methoden der IR-Spektroskopie für Penetrationsuntersuchungen

Spektren auf Grund der thermischen Ausbereitung wesentlich breiter als bei ATR-Messungen. Weiterhin ist eine starke Überlagerung der Absorptionsanden bei der IR-PAS-Technik in den meisten Fällen nicht zu vermeiden. Dies erschwert eine quantitative Auswertung der Spektren.

Es ist daher empfehlenswert, zuerst eine Voruntersuchung mit der ATR-Technik durchzuführen und anschließend das Tiefenprofil der Wirkstoffpenetration mit der PAS-Technik zu bestimmen. Anhand der ATR-Spektren sind die spektralen Bereiche einfach zu bestimmen, die die deutlichsten Änderungen infolge der Wirkstoffpenetration aufweisen. Dies erleichtert die Suche nach den auswertbaren Bereichen in PA-Spektren.

Die UV-PAS-Technik weist eine zu der ATR-Technik vergleichbare Genauigkeit auf. Der durch UV-PAS bestimmte Diffusionskoeffizient weist im Vergleich zu dem mittels ATR- oder IR-PAS-Technik ermittelten Diffusionskoeffizienten wesentlich geringere Werte auf. Eine Erklärung hierfür liefert die mögliche Degradation von Dithranol während des Versuchs durch die starke UV-Bestrahlung. Eine andere Ursache kann der Sättigungseffekt infolge der sehr großen UV-Abtasttiefe sein.

Die ATR-Technik wird nicht nur für in-vitro, sondern auch für in-vivo Untersuchungen [49, 63, 83, 105] genutzt. In diesen Untersuchungen wurde nach dem Entfernen der Formulierung von der Hautoberfläche die Konzentration der untersuchten Substanz mit der ATR-Technik bestimmt. Neuere Entwicklungen ermöglichen, die photoakustische Spektroskopie für in-vivo Untersuchungen zu nutzen. Jedoch gegenwärtig sind nur UV-PAS [98] oder Laser-PAS [114] Technik möglich.

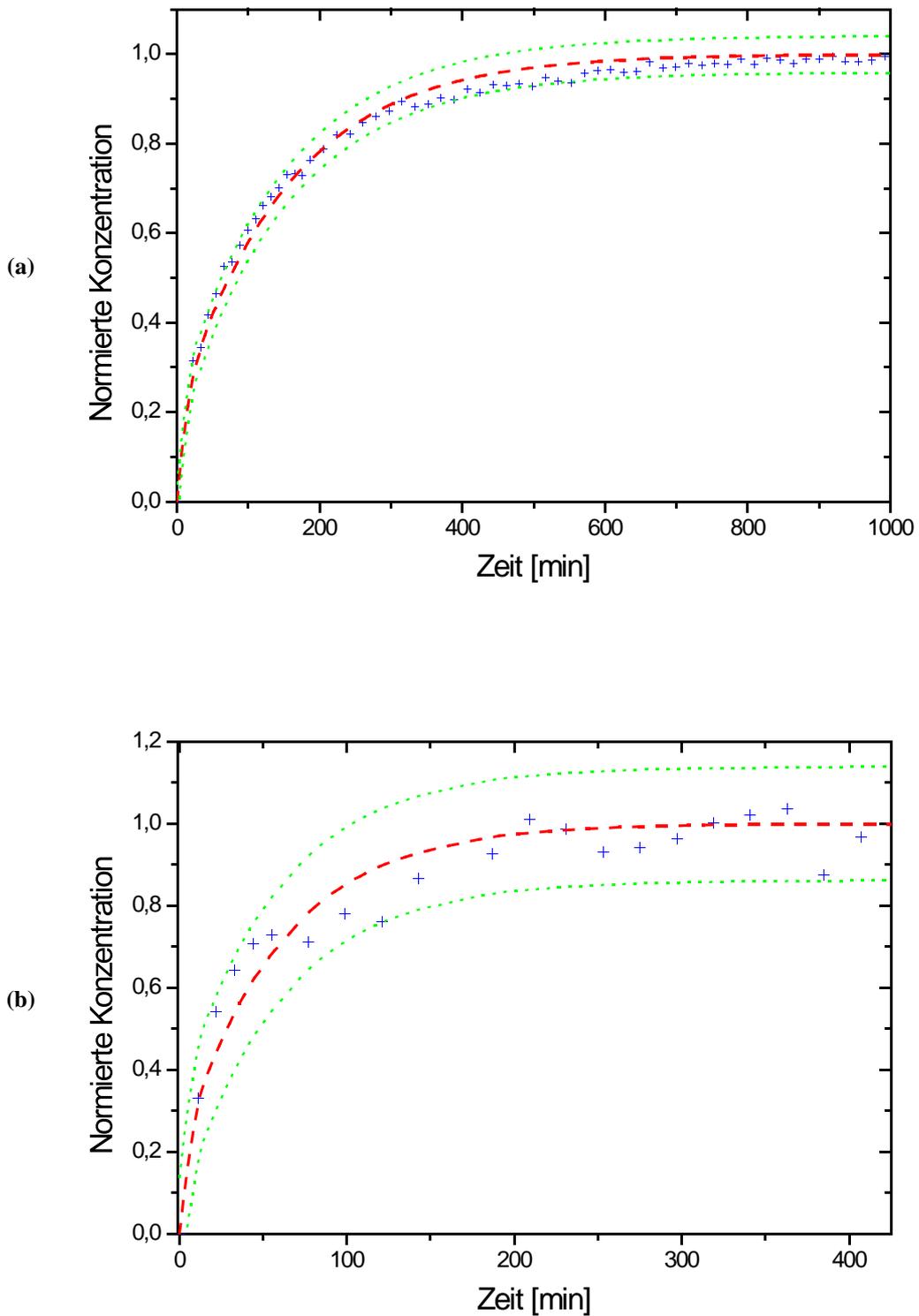


Abbildung 7: Zunahme der normierten Konzentration von Clotrimazol während der Penetration aus einer 10% Vaseline-Suspension bestimmt durch PAS (a) und Mehrschichtmembransystem (b)

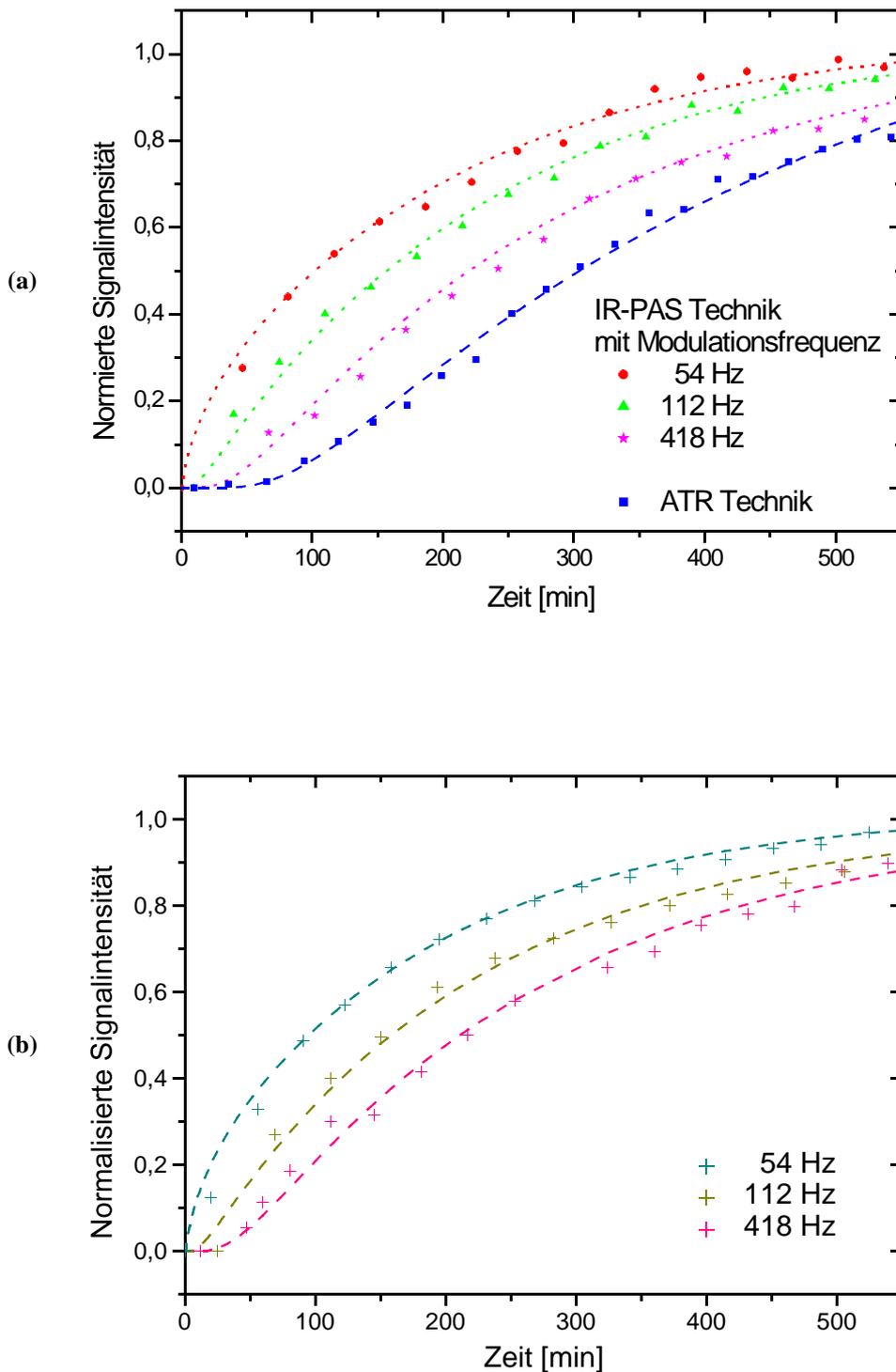


Abbildung 8: Zunahme der normierten Signalintensität von Dithranol während der Penetration aus einer 10% Vaseline-Suspension bestimmt durch IR-ATR/IR-PAS (a) und UV-PAS (b) bei verschiedenen Modulationsfrequenzen

4. Mathematisches Modell zur Penetration aus Suspensionen

Das Anliegen der mathematischen Modellierung von Freisetzungs- und Penetrationsprozessen besteht darin, experimentelle Daten mit physikochemischen Parametern zu verknüpfen. Dadurch sollen die physikochemisch-biopharmazeutischen Hintergründe der Penetration aufgeklärt werden. Das Ziel ist, den Penetrationsprozess zu kontrollieren und das Penetrationsverhalten von topisch applizierten Arzneistoffen anhand von Kenngrößen vorherzusagen.

Die mathematischen Modelle basieren auf dem physikochemischen Verhalten der Stoffe in den gegebenen Donator- und Akzeptormedien. Die thermodynamischen Ursachen, d.h. die treibenden Kräfte der Stoffdiffusion, werden den Modellgleichungen zugrunde gelegt. Für die Penetration aus topischen Arzneiformen sind besonders die Gesetzmäßigkeit der Diffusion und der Verteilung relevant. Wesentlich ist die Bestimmung des geschwindigkeitsbestimmenden Schrittes, da nach dessen Kenntnis andere Prozesse vernachlässigt werden können. Es ist nicht möglich sämtliche involvierte Prozesse im Modell zu berücksichtigen bzw. alle Parameter zu ermitteln.

Im folgenden werden die mathematischen Modelle zur Penetration vom Arzneistoff aus Suspensionen und zur Enhancer-Wirkung auf die Wirkstoffpenetration vorgestellt. Als Grundlage dieser Modelle dient die mathematische Behandlung von Crank [20].

4.1. Modellierung von Diffusions- und Verteilungsprozessen aus Suspensionen

Die Wirkstoffpenetration aus einer Suspension in und durch die Haut umfasst im wesentlichen in fünf Schritte:

- Auflösung des Arzneistoffes im Donator (Suspension),
- Diffusion im Donator,
- Verteilung an der Grenzfläche Donator-Akzeptor,
- Diffusion im Akzeptor (Membran oder SC/Epidermis) und
- Diffusion aus dem Akzeptor.

Damit sind noch nicht alle ablaufenden Prozesse erfasst. So wäre in einer Suspension neben der Auflösung der Wirkstoffkristalle auch die Rekristallisation zu betrachten. Auch der Arzneistoffmetabolismus wurde vernachlässigt.

Solche Vereinfachungen sind jedoch notwendig, um das mathematische Modell überschaubar zu gestalten. Es besteht zwar die Möglichkeiten immer umfangreichere Modelle zu konstruieren, diese bleiben jedoch weitestgehend ein Feld der Spekulation, wenn die notwendigen Grunddaten nicht vorhanden sind oder nur mit einem großen Aufwand zu ermitteln sind. Weiterhin führt die Parameterschätzung mit einer großen Anzahl von unbekanntem Größen aufgrund der Unterbestimmtheit des mathematischen Systems zu singulären Lösungen mit großen Konfidenzintervallen.

Um den Überblick im Modell zu bewahren, wurde die heterogene Formulierungsgrundlage aus flüssigen und festen Teilen durch ein fiktives homogenes Medium ersetzt. Dieses Medium wurde durch den effektiven Diffusionskoeffizienten und die effektive Sättigungskonzentration (Löslichkeit) charakterisiert. Diese effektiven Parameter wurden aus den entsprechenden Parametern, den einzelnen Komponenten der Formulierungsgrundlage sowie deren Anteilen berechnet.

In der vorliegenden Arbeit wurde Vaseline als Formulierungsgrundlage verwendet. Bekanntlich ist Vaseline ein heterogenes Medium und besteht aus einem festen und einem

flüssigen Teil. Der feste Teil besteht aus langkettigen Kohlenwasserstoffen, der flüssige aus kurzkettigen. Nach Crank kann der effektive Diffusionskoeffizient D_D in solchem zweiphasigen Medium wie folgt berechnet werden [20]:

$$\frac{1}{D_D} = \frac{2}{\sqrt{EF}} \tan^{-1} \left\{ \frac{B}{2} \sqrt{\frac{E}{F}} \right\} + \frac{1-B}{D_f}, \quad (4.1.1)$$

dabei ist D_f der Diffusionskoeffizient im flüssigen Teil und

$$B = \sqrt{\frac{3v_s}{2}}, \quad C = -\frac{4}{B}, \quad E = D_f - B(D_s - D_f) \text{ und } F = C(D_s - D_f), \quad (4.1.2)$$

dabei ist D_s der Diffusionskoeffizient im festen Teil, v_s die Volumenfraktion des festen Teils. Da der Wirkstoff nicht durch den festen Teil von Vaseline diffundieren kann, ist D_s gleich Null, daraus folgt für den effektiven Diffusionskoeffizient in Vaseline D_D [37]:

$$\frac{1}{D_D} = \frac{1}{D_f} \left(1 - \sqrt{\frac{3v_s}{2}} + \frac{1}{\sqrt{1 + \sqrt{\frac{2}{3v_s}}}} \tan^{-1} \left(\frac{1}{\sqrt{1 + \sqrt{\frac{2}{3v_s}}}} \right) \right). \quad (4.1.3)$$

Der flüssige Teil von Vaseline entspricht etwa dünnflüssigem Paraffin [123, 124]. Aus diesem Grund wird für D_f der Diffusionskoeffizient im dünnflüssigen Paraffin eingesetzt, da dieser einfacher zu bestimmen ist. Mit der Gleichung 4.1.3 kann der Diffusionskoeffizient in Vaseline-Suspensionen mit unterschiedlichen Anteilen an fester Komponente berechnet werden (s. Abbildung 9).

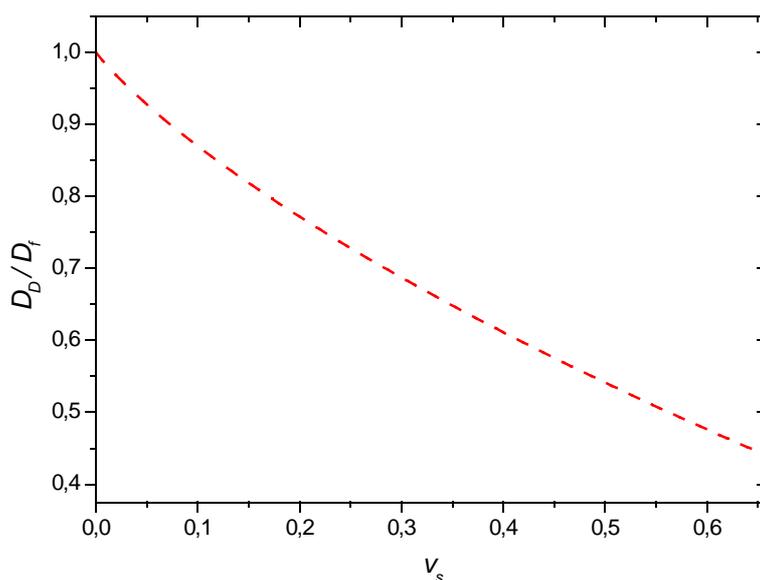


Abbildung 9: Abhängigkeit des effektiven Diffusionskoeffizienten in Vaseline von der Volumenfraktion der festen Komponente v_s

Zur Beschreibung des Auflösungsprozesses existieren mehrere Formeln. Die meisten basieren auf der Noyes-Whitney Gleichung und gilt nur unter bestimmten Bedingungen. Außerdem

wurde damit nur ein unabhängiger Auflösungsprozess charakterisiert [25, 50]. Eine von einem anschließenden Diffusionsprozess abhängige Auflösung, wie in Suspensionen der Fall ist, fordert eine Erweiterung der Noyes-Whitney Gleichung.

In der Arbeit von Ayres wurde die Auflösung und die Diffusion in einer Suspension beschrieben [6, 113, 135]:

$$\frac{\partial c_D}{\partial t} = D_D \frac{\partial^2 c_D}{\partial x^2} + k_{FV} K_L v_{W0}^{2/3} (c_{Sv} - c_D), \quad (4.1.4)$$

dabei sind K_L der Auflösungskoeffizient, k_{FV} das Verhältnis zwischen der Oberfläche und dem Volumen des Wirkstoffpartikels, v_{W0} der Volumenanteil der Wirkstoffkristalle in der Suspension bei $t = 0$, c_{Sv} die Sättigungskonzentration in der Suspension, c_D die Konzentration in der Suspension. Im unseren Modell wurde angenommen, dass alle Wirkstoffpartikel kugelförmig, gleichförmig und gleichmäßig in der Suspension verteilt sind. Daraus folgt:

$$\frac{\partial c_D}{\partial t} = D_D \frac{\partial^2 c_D}{\partial x^2} + \frac{3K_L v_{W0}^{2/3}}{r_W} (c_{Sv} - c_D), \quad (4.1.5)$$

Der erste Term charakterisiert die Wirkstoffdiffusion im Donator, der zweite die Auflösung der Wirkstoffkristalle. Die Gleichung zeigt, dass der Prozess im Donator sowohl über die Auflösung als auch die Diffusion gesteuert werden kann. Durch Zugabe vom dünnflüssigen Paraffin wird die effektive Sättigungskonzentration in der Formulierungsgrundlage und demzufolge die Auflösung wird beschleunigt. Weiterhin steigen der effektive Diffusionskoeffizient und die effektive Freisetzungsoberfläche auf Grund der Verringerung des festen Anteils in der Grundlage.

Da sich die Wirkstoffkristalle stetig auflösen, nimmt deren Radius r_W mit der Zeit ab. Diese Abnahme wird charakterisiert durch [6]:

$$\frac{r_W}{r_{W0}} = \sqrt[3]{\frac{v_W}{v_{W0}}} = 1 - \frac{K_L}{r_{W0} r_W v_{W0}^{1/3}} \int_0^t [c_{Sv} - c_D(x, t)] dt, \quad (4.1.6)$$

dabei ist v_W der Volumenanteil der Wirkstoffkristalle in der Suspension und r_{W0} der Radius der Wirkstoffkristalle bei $t = 0$.

Für den linken Rand der Formulierung gilt die Nullstrom-Bedingung:

$$\frac{\partial c_D(0, t)}{\partial x} = 0, \quad (4.1.7)$$

d.h. an diesem Rand fließt kein Wirkstoff in das System.

Werden Vehikel, SC und die weiteren Hautschichten jeweils als homogenes Medium betrachtet, geht man innerhalb der jeweiliger Schicht von einem Diffusionsprozess aus. Der Gesamtprozess nach der topischen Applikation vollzieht sich jedoch nicht nur innerhalb einer Schicht, sondern schließt auch der Wirkstoffdiffusion zwischen den Schichten ein. Am Übergang ist nicht allein das Konzentrationsgefälle die treibende Kraft. Der Verteilungsprozess an der Grenzfläche ist vielmehr die Konsequenz der unterschiedlichen chemischen Potentiale des Stoffes in den angrenzenden Schichten. Zur mathematischen Implementierung dieses Gradienten der chemischen Potentiale werden Kopplungsbedingungen, die das Verhalten des Arzneistoffes in Grenzflächennähe charakterisieren, benötigt. Als einfachste Kopplungsbedingung wird angenommen, dass das Verhalten an der Grenzfläche durch den Verteilungskoeffizient bestimmt wird, so gilt für die Grenzfläche zwischen dem Donator und dem Akzeptor [106]:

$$c_A(l_D, t) = Q c_D(l_D, t), \quad (4.1.8)$$

wobei c_A die Konzentration im Akzeptor, Q der Verteilungskoeffizient zwischen dem Donator

und dem Akzeptor ist. Der Verteilungskoeffizient entspricht dem Verhältnis der effektiven Sättigungskonzentrationen im Donator und Akzeptor. Da der Wirkstoff nur im flüssigen Teil des Donators löslich ist, ist die effektive Sättigungskonzentration im Donator direkt proportional zum flüssigen Anteil im Donator

$$c_{sv} = c_{sf} v_f, \quad (4.1.9)$$

dabei ist c_{sv} die effektive Sättigungskonzentration im Donator und c_{sf} die Sättigungskonzentration im flüssigen Teil des Donators und v_f der flüssige Anteil des Donators.

Aus mathematischer Sicht ist diese Kopplungsbedingung problematisch, da an einer Stelle zwei verschiedene Konzentrationen auftreten und somit eine Unstetigkeit existiert. Durch die Formulierung eines Fließgleichgewichtes ist dies überwindbar:

$$D_A \frac{\partial c_A(l_D, t)}{\partial x} = D_D \frac{\partial c_D(l_D, t)}{\partial x}, \quad (4.1.10)$$

dabei ist D_A der Diffusionskoeffizient im Akzeptor.

Diese Gleichung liefert eine ausreichende Beschreibung der Verhältnisse an der Grenzfläche. Sie ist aufgrund ihrer Einfachheit die am häufigsten anzutreffende Kopplungsbedingung.

Für die Wirkstoffdiffusion im Akzeptor gilt

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D_A \frac{\partial^2 c}{\partial x^2}. \quad (4.1.11)$$

Für den rechten Rand des Akzeptors gelten abhängig vom jeweiligen System unterschiedliche Randbedingungen.

Für ein geschlossenes System (also im in-vitro Experiment) gilt, ähnlich wie am linken Rand des Donators die Nullstrom-Bedingung:

$$\frac{\partial c_A(l_{DA}, t)}{\partial x} = 0, \quad (4.1.12)$$

d.h. der Wirkstoff fließt nicht aus dem System.

Für ein offenes System (also unter in-vivo Bedingungen) gilt jedoch für den rechten Rand des Akzeptors die sink-Bedingung [33]:

$$c_A(l_{DA}, t) = 0. \quad (4.1.13)$$

Es wird angenommen, dass der Wirkstoff am rechten Rand des Akzeptors so schnell aus dem System diffundiert wird, dass die Wirkstoffkonzentration hier gleich Null gesetzt werden kann [118].

Das Modell zeigt, dass durch eine Änderung des flüssigen Anteils vom Donator mehrere Penetrationsschritte beeinflusst werden. Einerseits ist eine Zunahme des Auflösungskoeffizienten und des Diffusionskoeffizienten im Donator zu erwarten, andererseits sinkt der Verteilungskoeffizient zwischen dem Akzeptor und dem Donator.

4.2. Einfluss von Enhancer

Im folgenden Abschnitt werden die Einflüsse von Enhancer auf die Wirkstoffpenetration charakterisiert. Im SC bewirkt Enhancer u.a. einer Auflockerung der Keratinstruktur und eine Veränderung der wasserstoffbrückenabhängigen Proteinstruktur [8, 61, 66, 70, 73]. Dadurch ändert sich einerseits des Diffusionskoeffizienten und andererseits die Löslichkeit im SC [109]. Ein Zusammenhang zwischen den beiden Effekten wurden bei mehreren Enhancern beobachtet [75]. In den meisten Modells zur quantitativen Charakterisierung der Enhancer-Effekte wurde die Abhängigkeit des Wirkstoffflusses (Flux) durch SC oder des Permeationskoeffizienten von der Enhancer-Konzentration bestimmt [7, 35, 36, 69, 132]. Diese Parameter umfassen beide Effekte von Enhancer. Eine genauere Differenzierung der Wirkung des einzelnen Effektes ist damit nicht möglich.

In der vorliegenden Arbeit soll Propylenglykol (PG) als Enhancer betrachtet werden. In mehreren Arbeiten wurde die Enhancer-Wirkung von PG experimentell bewiesen [5, 26, 65, 67]. In niedriger Konzentration wirkt PG wie ein typisches Enhancer, d.h. PG beeinflusst die Wirkstoffpenetration hauptsächlich durch eine Änderung der Wirkstofflöslichkeit und des Wirkstoffdiffusionskoeffizienten im Akzeptor. In höherer Konzentration (ab 40 %) wird zusätzlich die Eigenschaft des Donators erheblich beeinflusst. Durch die Abnahme der PG-Konzentration im Donator infolge der PG-Penetration in den Akzeptor entsteht während des Penetrationsprozesses eine übersättigte Lösung. Dadurch wird die Wirkstoffpenetration in den Akzeptor begünstigt. Weiterhin besitzt in diesem Fall auch die Co-Penetration durch PG einen größeren Einfluss. Durch den massiven PG-Strom vom Donator zum Akzeptor diffundiert ein großer Teil des im PG gelösten Wirkstoffes in den Akzeptor („solvent drag“-Mechanismus) [11]. Dieser Effekt wird auch als konvektive Penetration bezeichnet [43]. Er wurde in einem Kompartimentmodell von Huth charakterisiert [44, 45]. In der vorliegenden Arbeit soll nur der Einfluss von PG auf den Akzeptorbereich charakterisiert werden. Aus diesem Grund wurden hauptsächlich Formulierungen mit niedriger PG-Konzentration untersucht.

Im Fall der Wirkstoffpenetration aus Vaseline-Suspensionen mit einem PG-Zusatz penetriert PG in den Akzeptor. Aufgrund der flüssigen Konsistenz von PG wird angenommen, dass der Konzentrationsausgleich von PG im halbfesten Donator viel schneller als der Diffusionsprozess im Akzeptor ist. Demzufolge wird für den Donatorbereich keine Ortsabhängigkeit der PG-Konzentration angenommen.

Nach dem Massenerhaltungssatz gilt für die PG-Konzentration im Donator:

$$c_{D-PG}(t) = c_{PG0} - \frac{1}{l_D} \int_{l_D}^{l_{DA}} c_{A-PG}(x,t) dx \quad (4.2.14)$$

dabei sind c_{D-PG} und c_{PG0} die Konzentration von PG im Donator während bzw. am Anfang des Penetrationsprozesses, c_{A-PG} die Konzentration von PG im Akzeptor, l_D die Donatordicke.

Im Akzeptor gilt für die PG-Diffusion das zweite Fick'sche Gesetz:

$$\frac{\partial c_{A-PG}}{\partial t} = D_{A-PG} \frac{\partial^2 c_{A-PG}}{\partial x^2} \quad (4.2.15)$$

dabei ist D_{A-PG} der Diffusionskoeffizient von PG im Akzeptor.

Für den rechten Rand des Akzeptors gilt entweder die Nullstrom-Bedingung:

$$\frac{\partial c_{A-PG}(l_{DA}, t)}{\partial x} = 0 \quad \text{im in-vitro Experiment,} \quad (4.2.16)$$

oder die sink-Bedingung im Fall eines in-vivo Experiments:

$$c_{A-PG}(l_{DA}, t) = 0 \quad (4.2.17)$$

PG erhöht den Diffusionskoeffizienten und die Löslichkeit des Wirkstoffes im Akzeptor. Somit sind der Diffusionskoeffizient D_{aE} und die Sättigungskonzentration des Wirkstoffes c_{sE} im Enhancer-haltigen Akzeptor als Funktionen der Enhancer-Konzentration c_{PG} zu betrachten:

$$D_{aE} = f(c_{A-PG}) \quad (4.2.18)$$

$$c_{sAe} = g(c_{A-PG}) \quad (4.2.19)$$

Diese Abhängigkeit kann aus den experimentellen Daten durch eine Polynomannäherung beschrieben werden. Eine erste Näherung ist eine lineare Abhängigkeit [62, 108]:

$$D_{aE} = D_A + k_{De} c_{A-PG} \quad (4.2.20)$$

$$c_{sAe} = c_{SA} + k_{ce} c_{A-PG} \quad (4.2.21)$$

dabei sind D_A und c_{SA} der Diffusionskoeffizient bzw. die Sättigungskonzentration des Wirkstoffes im Enhancer-freien Akzeptor.

Da die PG-Konzentration im Akzeptor zeit- und ortsabhängig ist, ist es mit dem zweiten Fick'schen Diffusionsgesetz nicht möglich, die Wirkstoffdiffusion im gesamten Akzeptorbereich zu beschreiben. Um das zweite Fick'sche Diffusionsgesetz weiterhin verwenden zu können, wird der Akzeptor in mehrere dünne Schichten geteilt. Für jede Schicht i wird nur ein Diffusionskoeffizient und eine Löslichkeit des Wirkstoffes angenommen. Diese beiden Parameter sind von der mittleren PG-Konzentration in jeder einzelnen Schicht abhängig.

Da innerhalb einer Schicht der Diffusionskoeffizient und die Löslichkeit vom Wirkstoff konstant ist, kann die Diffusion *innerhalb einer Schicht* mit dem zweiten Fick'schen Diffusionsgesetz beschrieben werden:

$$\frac{\partial c_A(i)}{\partial t} = D_{Ae}(i) \frac{\partial^2 c_A(i)}{\partial x^2} . \quad (4.2.22)$$

An den Grenzflächen zwischen zwei benachbarten Schichten i und $i+1$ gelten die ähnliche Beziehung wie für den Übergang zwischen dem Donator und dem Akzeptor [29]:

$$c_{Ag}(i+1) = \frac{c_{SAe}(i+1)}{c_{SAe}(i)} c_{Ag}(i) , \quad (4.2.23)$$

$$D_{Ae}(i+1) \frac{\partial c_{Ag}(i+1)}{\partial x} = D_{Ae}(i) \frac{\partial c_{Ag}(i)}{\partial x} , \quad (4.2.24)$$

dabei ist c_G die Wirkstoffkonzentration an der Grenzfläche zwischen Schichten i und $i+1$.

In der Arbeit von Liu wurde ein ähnlicher Ansatz zur Charakterisierung des Enhancer-Effekts von Ethanol verwendet. Jedoch wurde nur die Penetration im „statedy-state“ mit entsprechenden Vereinfachungen untersucht [60].

Die Freisetzung im Donator sowie die Bedingung für den rechten Rand des Akzeptors bleiben unverändert und werden mit den Gleichungen 4.1.5-4.1.10 und 4.1.12, 4.1.13 beschrieben.

Um das Modell noch lösbar zu halten, wird angenommen, dass die Änderung der Donatoreigenschaften durch der Enhancer vernachlässigt werden können. Spätere Arbeiten können das Modell an dieser Stelle ergänzen.

4.3. Diffusion im heterogenen Akzeptor

Die Gleichung 4.1.11 gelten nur für einen Akzeptor mit nur einem Diffusionskoeffizienten. Diese Bedingung ist für die Penetration ins SC nicht erfüllt, da der Diffusionskoeffizient mit der SC-Tiefe zunimmt, das Modell benötigt dafür eine ähnliche Erweiterung wie im Modell zur Beschreibung des PG-Einflusses. Zur Vereinfachung des Modells wurde der Akzeptor statt in zahlreiche nur in wenigen virtuellen Schichten geteilt. Diese Anzahl entspricht der Anzahl der möglichen Messbereiche. Im PAS-Experiment kann die Penetration ins SC mit fünf Modulationsfrequenzen verfolgt werden. Damit stehen fünf Abtasttiefen zur Verfügung. Zuzufolge wurde der Akzeptor in sechs virtuellen Schichten geteilt, fünf entsprechen den fünf Modulationsfrequenzen, der sechste Schicht ist der nicht erfasste Bereich des Akzeptors. Diese grobe Einteilung des Akzeptors ist mit einem großen Fehler behaftet, jedoch ist der Diffusionskoeffizient in jeder Schicht experimentell zugänglich. Ein Modell mit einer feineren Teilung ist genauer, hat aber wegen der nicht zugängigen Diffusionskoeffizienten nur theoretische Bedeutung.

Ein weiterer Unterschied zum Enhancer-Modell liegt in der Annahme, dass die Wirkstofflöslichkeit im gesamten Akzeptorbereich konstant ist. Zur Beschreibung des Flusses zwischen zwei benachbarten Schichten gilt:

$$D_A(i+1) \frac{\partial c_{Ag}(i+1)}{\partial x} = D_A(i) \frac{\partial c_{Ag}(i)}{\partial x} \quad \text{für } i = 1 \dots 6 \quad (4.3.24)$$

Die übrige Teile des Modells, die Beschreibung der Freisetzung und die Diffusion im Donator

Mathematisches Modell zur Penetration aus Suspensionen

sowie die Diffusion durch die Grenzfläche oder am Donatorrand bzw. am Akzeptorrand, bleiben unverändert.

5. Experimenteller Teil

5.1. Verwendete Chemikalien

Als Modellarzneistoffe dienten Dithranol, Ketoconazol, Methoxsalen und Clotrimazol. Für die Experimente mit SC wurde die Modellschubstanz Undecanitril verwendet. Zur Verbesserung der Freisetzung aus dem Vehikel wurde dünnflüssiges Paraffin eingesetzt.

Arznei- und Hilfsstoffe	Hersteller	Kat.-Nr.
Dithranol	Sigma-Aldrich Chemie (Deisenhofen, Deutschland)	D2773
Ketoconazol	Sigma-Aldrich Chemie (Deisenhofen, Deutschland)	K1003
Methoxsalen	Sigma-Aldrich Chemie (Deisenhofen, Deutschland)	M0505
Clotrimazol	Sigma-Aldrich Chemie (Deisenhofen, Deutschland)	C6019
Undecanitril	Sigma-Aldrich Chemie (Deisenhofen, Deutschland)	R277878
Vaseline	Sigma-Aldrich Chemie (Deisenhofen, Deutschland)	16415
Propylenglykol	Sigma-Aldrich Chemie (Deisenhofen, Deutschland)	P4347
Dünnflüssiges Paraffin	Sigma-Aldrich Chemie (Deisenhofen, Deutschland)	18512
Dodecanol	Carl Roth (Karlsruhe, Deutschland)	4498.1
Collodium	Caesar-Lorenz (Hilden, Deutschland)	7193

Tabelle 1: Verwendete Chemikalien

5.2. Präparationsmethoden

5.2.1. Wahl des Akzeptors

Humane Haut unterliegt als Penetrationsbarriere großen natürlichen Schwankungen, die oft zu unbefriedigenden statistischen Ergebnissen führen. Als Schwierigkeiten bei Penetrationsuntersuchungen müssen z.B. die schwer zu erreichende optimale Lagerung und das begrenzte Kontingent an zur Verfügung stehender Haut in Betracht gezogen werden. Experimente, die versuchen, den Enhancer-Einfluss auf die Wirkstoffpenetration zu bestimmen, sind auf Grund der beschriebenen Komplexität vom SC und der Interaktion der Enhancer mit dem Akzeptor besonders schwer auszuwerten.

Diese Gründe führten zur Entwicklung von in-vitro Modellsystemen mit Membranen als Akzeptor, u.a. Glycerol-, Cellophan-, Isopropylmyristat-, Silikon-Membran [65, 74, 96, 101, 122]. Die in-vitro Experimente am Membranmodellsystem, die dieser Arbeit zugrunde liegen, wurden mit DDC-Membranen als Akzeptor durchgeführt. Damit sollen die Eigenschaften der Hautlipide simuliert werden. Durch eine standardisierte Herstellungsmethode kann die Eigenschaft der DDC-Membran nahezu konstant erhalten werden. Durch den Vergleich der Wirkstoffpenetration in die Membran ist es möglich, die Einflüsse der verschiedenen Faktoren auf den Freisetzungs- und Penetrationsprozess zu charakterisieren. Obwohl die in-vivo und in-vitro Experimente große Unterschiede aufweisen, existiert jedoch bis zu einem gewissen Grad eine Korrelation zwischen den Ergebnissen der Experimente [118]. Die in-vitro Experimente dienen oft als Vorversuche für in-vivo Experimente. In machen Fällen können wegen der erforderlichen konstanten Bedingungen bestimmte Parameter nur in in-

Experimenteller Teil

vitro Experiment bestimmen werden.

Um die in-vitro Anwendungsmöglichkeit der spektroskopischen Methoden zu untersuchen, wurden zusätzlich zu den Versuchen mit DDC-Membran auch die Penetrationsexperimente am SC durchgeführt.

5.2.2. Herstellung der DDC-Membranen

Die Akzeptor-Membran besteht aus einer Collodiummatrix, in die das Lipid Dodecanol eingebettet ist.

Für die Präparation der Membran wurde nach folgender Rezeptur verfahren:

Dodecanol	4,0 g
Ether/Ethanol (8,5:1,5 v/v)	ad 100,0 g
Collodiumlösung 4%	ad 200,0 g.

Die Herstellung wird nach der Methode von Neubert und Fürst durchgeführt [71]. Dodecanol wurde im Ether/Ethanol gelöst und mit der Collodiumlösung gemischt. Die entstandene Mischung wurde auf ein Folienziehgerät (Eigenbau, Werkstatt der MLU) gegeben. Nach der Abdampfung des Lösungsmittelsgemisches wurde die Membran von der Platte abgelöst, dann in kleine Stücke geschnitten. Zur Aufbewahrung wurden die Membran-Stücke zwischen Filterblättern im Exsikkator über Silicagel gelagert.

5.2.3. Präparation von Stratum corneum

Die Aufarbeitung der intakten Haut wurden nach Kligman vorgenommen. Dazu wurden die oberste Hautschicht (SC mit einem Restteil von Epidermis) mit Wasser gewaschen, dann auf Aluminiumfolie bei 4°C 14 h getrocknet. Weiter wurde die Haut mit der Epidermisseite nach unten zeigend auf einem mit Trypsin getränkten Filterpapier-Stafel bei 37°C aufgelegt. Dazu wird eine Lösung mit 0,01 % Trypsin und 0,5% NaHCO₃ hergestellt. Trypsin spaltet in Abhängigkeit vom pH-Wert, der Temperatur, der Einwirkzeit und der Konzentration Peptidbindungen zwischen lebender Epidermis und dem SC. Unter Verwendung NaHCO₃ wurde der pH-Wert auf 8.5 für die optimale Aktivität des Enzyms eingestellt. Nach einer Einwirkzeit von ca. 12 h werden die Filterblätter in destilliertem Wasser flottiert. Dabei verbleiben Epidermisreste auf dem zu Boden sinkenden Filterpapier. Die schwimmenden SC-Membranen wurden vorsichtig mit Wasser abgespült und zum Trocken für 14 h bei 4°C auf Aluminiumfolie ausgebreitet. Die getrocknete Membranen werden in Aluminiumfolie verpackt, dann bei 4°C und bei 20% relativer Luftfeuchte in einer Kammer aufbewahrt.

5.2.4. Herstellung der Suspensionen

Die eingewogene Arzneistoffmenge wird im Mörser mit dem der jeweiligen Rezeptur entsprechenden Anteil an Vaseline angerieben. Eine kurze Erwärmung der Suspension ermöglicht eine homogene Wirkstoffverteilung in der Suspension. Bei den Suspensionen mit einer zusätzlichen Komponente wird nach deren Zugabe (dünnflüssiges Paraffin bzw. Propylenglykol) nochmals gut gerührt. Nach der Präparation wurde die Suspension mindestens einen Tag bei Raumtemperatur aufbewahrt. Damit wurde sicher gestellt, dass das Gleichgewicht zwischen dem flüssigen und festen Anteil von Vaseline wiederhergestellt wird. Für die Untersuchung des Einflusses vom dünnflüssigen Paraffin wurden Suspensionen mit 5%; 10%; 15% und 20% dünnflüssigem Paraffin Zusatz hergestellt. Für die Untersuchung des Einflusses von PG wurden Suspensionen mit 2,5%; 5%; 7,5% und 10% PG hergestellt.

5.3. Messmethoden

Alle Experimente der spektroskopischen Untersuchungen wurden an einem FTIR Spektrometer IFS 28 der Firma Bruker (Karlsruhe) durchgeführt. In den Versuchen wird

jeweils eine Applikationsmenge von 2 mg/cm^2 aufgetragen: die Dicke des Donators beträgt dementsprechend ca. $27 \text{ }\mu\text{m}$, also vergleichbar mit der Dicke der DCC-Membran. Mit dieser Wahl soll erreicht werden, dass der Donator einen gleichrangigen Einfluss auf den Gesamtprozess wie der Akzeptor hat.

Die Vorbereitungszeit vom Auftragen der Formulierung bis zum Messungsstart beträgt in der Regel ca. 5 min. Der Versuch selbst dauert bis zu 14 Stunden. Um standardisierte Messbedingungen (Luftfeuchtigkeit, Erschütterung) zu erreichen, werden die Versuche in der Nacht durchgeführt. Im Hinblick auf die geringeren Umgebungsgeräusche ist dies besonders günstig für die PAS-Experimente. Da die Temperierung des ATR-Kristalls und der PAS-Messzelle begrenzt ist, wurden alle Experimente bei Raumtemperatur durchgeführt.

Da die aufgetragene Suspension und besonders die Membrandicke in wiederholten Versuchen (dreifache Bestimmung) von Mal zu Mal sich unterschieden, wurden die Experimente einzeln ausgewertet. Erst die berechneten Parameter z.B. der Diffusionskoeffizient wurden statistisch ausgewertet. Eine direkte statische Auswertung der Messdaten bringt keine sinnvollen Ergebnissen, da die Schwankung der Donator- und Akzeptorparameter, insbesondere der Membrandicke, viel größer ist als der Fehler, der durch die Messtechnik bedingt ist.

5.3.1. Freisetzungs- und Penetrationsuntersuchungen mit der ATR-Technik

Für die Freisetzungs- und Penetrationsuntersuchung mittels ATR wurde eine horizontale ATR-Einheit mit einer Einfachreflexion von SpectraTec (Shelton, CT, USA) verwendet, die entsprechend unseren Anforderungen modifiziert wurde (s. Abbildung 10). Das verwendete Reflexionselement besteht aus ZnSe und hat eine Reflexionsfläche von $2,27 \text{ cm}^2$. Um eine Störung durch Wasserdampf zu vermindern, wird die Messkammer des Spektrometers mit einem trockenen Luftstrom gespült. Da der trockene Luftstrom zur Verschlechterung des Kontaktes zwischen der Membran und dem Reflexionselement führt, wird eine Abdeckung mit einer Gummidichtung auf dem Kristallträger angebracht. Die Abdeckung verhindert auch die Wasserverdunstung bei Experimenten mit SC oder wasserhaltiger Formulierung. Mit der ATR-Technik wird zum einem die Wirkstofffreisetzung aus dem Donator und zum anderem die Wirkstoffpenetration in den Akzeptor verfolgt.

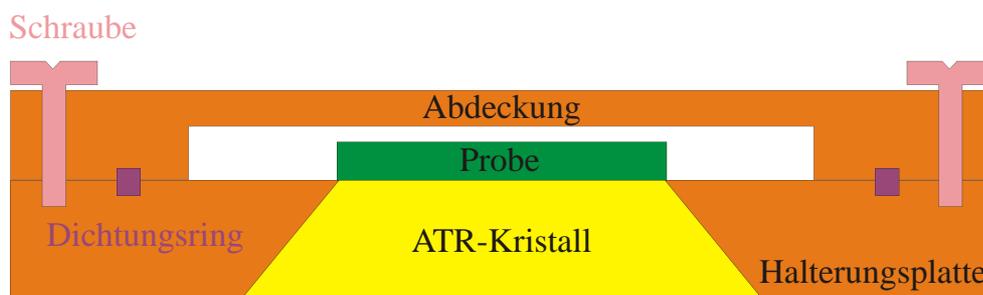


Abbildung 10: Aufbau der horizontalen ATR-Einheit

Im Freisetzungsversuch wird die Akzeptor-Membran zusammen mit einer Plastischablone auf einer Aluminiumfolie mit einem Klebeband fixiert. Die Schablone hat eine Öffnung, die genau so groß wie die Reflexionsfläche des ATR-Kristalls ist. Durch diese Öffnung wird ca. $4,5 \text{ mg}$ Formulierung aufgetragen, das entspricht einer Applikationsmenge von 2 mg/cm^2 . Die Membran mit der Formulierung wird mit einem Stopfbohrer ausgestanzt und mit der Formulierungsseite auf dem ATR-Kristall aufgelegt (s. Abbildung 11a). Nach 3 min Spülung mit trockener Luft werden die IR-Spektren vom Donator aufgenommen. Durch die abnehmende Intensität der Wirkstoffbanden im IR-Spektrum kann die Freisetzung des

Experimenteller Teil

Wirkstoffes im Donator ermittelt werden (s. Abbildung 12a).

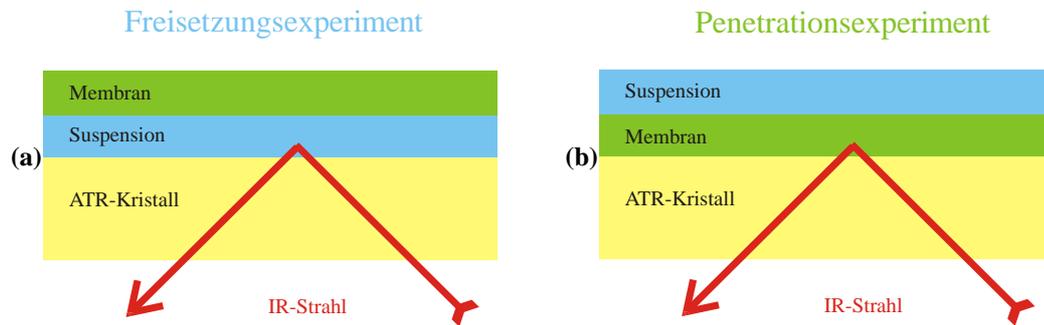


Abbildung 11: Probenanordnung in der ATR-Technik für das Freisetzungsexperiment (a) und Penetrationsexperiment (b)

Im Penetrationsexperiment wird die Membran auf dem ATR-Kristall aufgelegt. Dann wird sie mit Hilfe eines mit Zellstoff umwickelten Glasstabs glatt gestrichen. Dadurch soll ein guter Kontakt zwischen der Membran und dem Kristall erreicht werden. Danach wird mit Hilfe einer Schablone ca. 4,5 mg Formulierung auf der Penetrationsfläche aufgetragen (s. Abbildung 11b). Zur Verringerung des Fehlers beim Abwiegen der Applikationsmenge ist zu empfehlen, das Gewicht der ATR-Einheit so klein wie möglich zu halten. Dafür wurde im Experiment die originale Halterungsplatte aus Edelmetall durch eine leichtere Platte aus Aluminium ersetzt.

Nach dem Entfernen des größten Teils der feuchten Luft aus der Messkammer durch eine erhöhte Spülung mit trockener Luft (ca. 3 min) werden die IR-Spektren des Wirkstoff/Akzeptor-Systems aufgenommen. Die zunehmende Intensität der Wirkstoffbande gibt den Vorgang der Wirkstoffpenetration in den Akzeptor hinein wieder (s. Abbildung 12b). Alle ATR-Spektren wurden bei einer Auflösung von 2 cm^{-1} mit 50 Scans aufgenommen. Eine Messung dauert 75 s. Für einen sehr schnellen Penetrationsprozess reichen auch 30 Scans, damit kann die Messzeit auf 45 s reduziert werden. In den ersten zwei Stunden des Versuchs wurde alle fünf Minuten ein Spektrum aufgenommen, danach alle 15 Minuten.

Um die Störung durch restlichen Wasserdampf zu entfernen, wurden in einem Experiment die ATR-Spektren der Luft im Probenraum 14 Stunden lang aufgezeichnet. Dies liefert das zeitabhängige Signal vom Wasserdampf im Spektrum. Dieser Signalteil wurde von den Spektren der Freisetzungs- bzw. Penetrationsversuche subtrahiert. Dadurch wird nicht nur das IR-Signal vom Wasserdampf, sondern auch vom Kohlendioxid in der Luft weitgehend entfernt (s. Abbildung 13). Ein zusätzliches Hilfsmittel zum Entfernen der Störung durch Wasserdampf ist die Spektrumglättung, dies ist meistens nicht nötig.

Experimenteller Teil

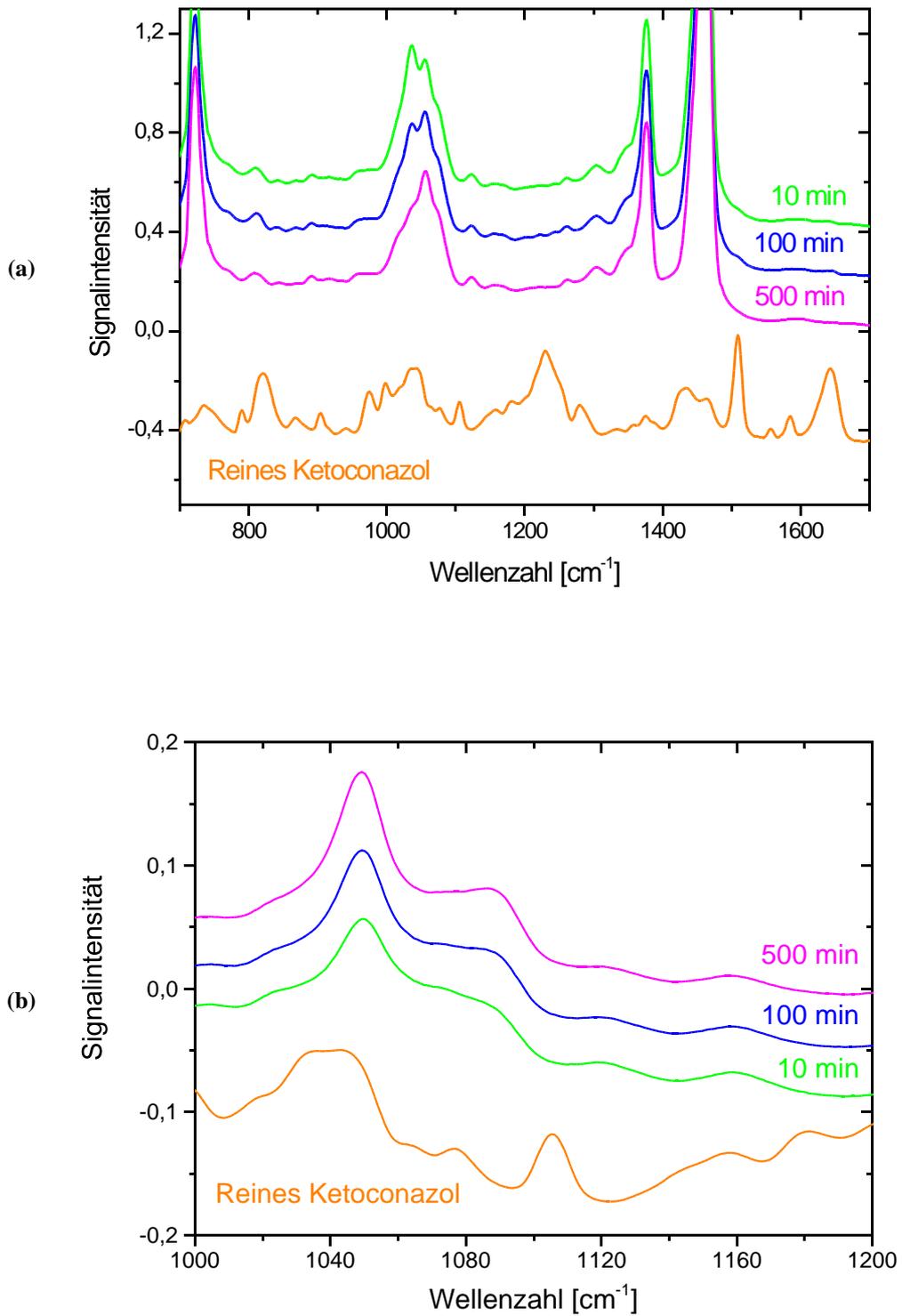


Abbildung 12: ATR-Spektren des Freistzungs- (a) und Penetrationsexperiments (b) von Ketoconazol aus einer 2% Vaseline-Suspension zu verschiedenen Zeitpunkten. Zum Vergleich ist das Spektrum von reinem Ketoconazol angegeben.

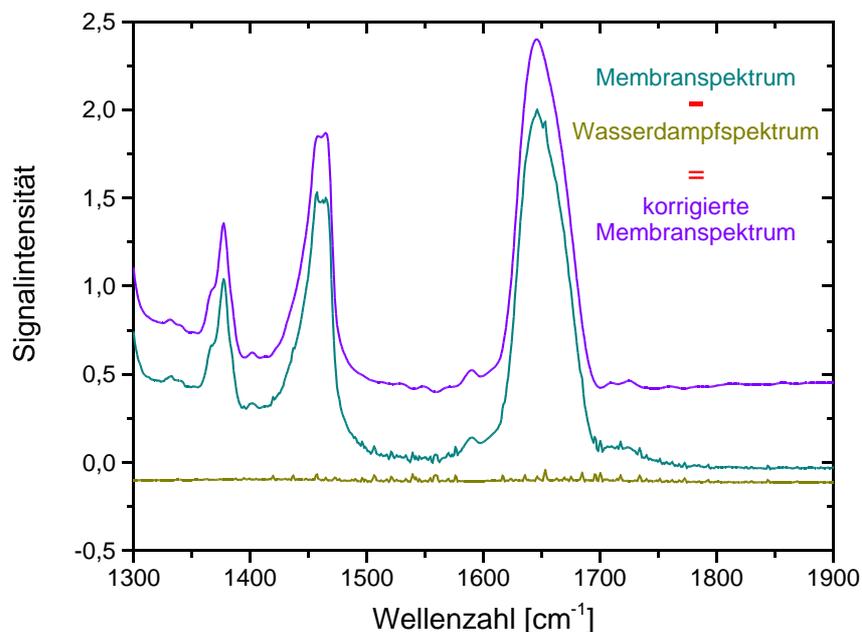


Abbildung 13: Entfernung der durch Wasserdampf verursachten Störungen im ATR-Spektrum im Penetrationsexperiment von Methoxsalen aus einer 2% Vaseline-Suspensionen

5.3.2. Penetrationsuntersuchungen mit der PAS-Technik

Bei der Messung der Penetration mittels PAS wurde eine Messzelle M200 von MTEC (Ames, USA) mit KBr bzw. ZnSe-Fenster verwendet. Der erste Fenstertyp hat eine höhere Lichtdurchlässigkeit und liefert daher ein besseres Signal zu Rausch Verhältnis. Für eine wasserhaltige Formulierung und eine Untersuchung mit SC ist das KBr-Fenster jedoch ungeeignet. In diesem Fall wird das ZnSe-Fenster eingesetzt.

Im PAS-Experiment wurde die Membran auf Aluminiumfolie fixiert und anschließend die Formulierung mit Hilfe einer Schablone auf die Membran aufgetragen. Die Membran mit Formulierung wurde mit einem Stopfenbohrer ausgestanzt. Der Durchmesser der Messprobe beträgt 9mm, dies entspricht einer Penetrationsfläche von 0,5 cm². Nach dem Entfernen der Aluminiumfolie wurde das Donator/Akzeptor System mit der Akzeptorseite nach oben auf einem Abstandhalter aus Metall aufgelegt (s. Abbildung 6). Mit dem Abstandhalter soll der Abstand zwischen dem ZnSe-Fenster und der Probe auf 1,1 mm eingestellt werden. Dieser Abstand ist ein wenig größer als die Dicke der thermischen Diffusionsschicht und liefert das beste Signal/Rausch-Verhältnis [4]. Mit einem kürzeren Abstand zwischen der Probe und dem IR-Fenster kann die RG-Theorie nicht mehr verwendet werden. Ein größerer Abstand führt zur einem längeren Ausbreitungsweg der akustischen Welle im Gasraum. Das hat ein stärkeres Rauschen zur Folge. Die Probe und der Abstandhalter wird in einem Probenhalter platziert und in die Messzelle gebracht, nach einer dreiminütigen He-Spülung wurde der Messraum geschlossen und fünf Minuten lang mit erhöhtem Luftstrom gespült. Danach wurde das Spektrum des Donator/Akzeptor Systems registriert. Anhand der zunehmende Wirkstoffbanden im Spektren kann die Wirkstoffpenetration in die Membran verfolgt werden (s. Abbildung 15).

Bei den Untersuchungen zur Tiefenprofilierung wird mit 5 Modulationsfrequenzen (54 Hz, 77

Experimenteller Teil

Hz, 112 Hz, 195 Hz und 418 Hz) gemessen. Zwischen zwei Messreihen mit je 5 Frequenzen liegt eine Messpause von 1 min. Die Messzeit bei jeder Modulationsfrequenz ist unterschiedlich und abhängig von verschiedenen Messparametern, u.a. Auflösung des Spektrums, Stabilisierungszeit und Anzahl der Koadditionen (s.u.). Anders als bei ATR-Technik kann die PAS-Messzeit nicht vernachlässigt werden. Um den dadurch erzeugte Messfehler zu verringern, werden alle Messparameter so optimiert, dass die Messzeit so kurz wie möglich gehalten wird.

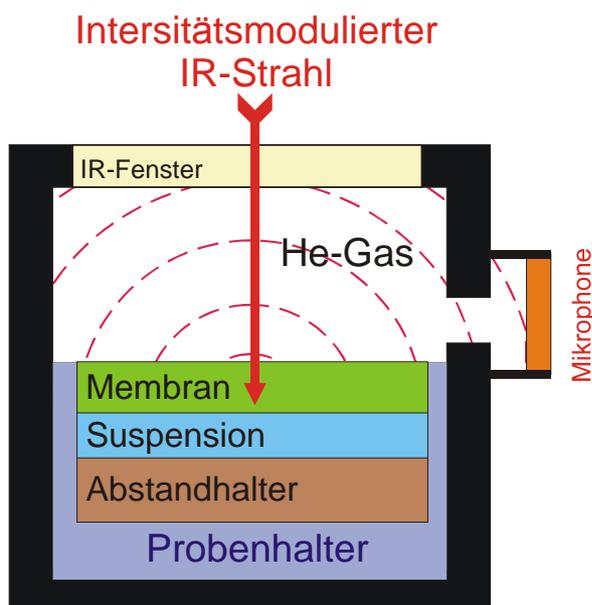


Abbildung 14: Probeanordnung für das Penetrationsexperiment mit Hilfe der PAS-Technik

Um geräteabhängige Fehler auszuschließen, werden alle PAS-Spektren mit Hilfe der „carbon black“ Referenzprobe normiert [126]. Im Experiment wurden alle Spektren mit einer Auflösung 10 cm^{-1} aufgenommen. Obwohl sie viel größer als die Auflösung bei der ATR-Messung ist, reicht sie völlig für eine quantitative Auswertung aus. Eine Verbesserung der Auflösung auf 8 cm^{-1} ist möglich, sie verlängert die Messzeit erheblich, bringt aber keinen nennenswerten Vorteil wegen der relativ breiten PAS-Banden.

Der Fehler bedingt durch die Digitalisierung wird nachträglich korrigiert, dabei wird der Spektralbereich zwischen 600 cm^{-1} und 3000 cm^{-1} nachträglich mit einem zusätzlichen Zerofilling-Faktor von 8 berechnet (s. Abbildung 16) [77]. Der glatte Kurvenverlauf verbessert die Ergebnisse der Spektrennormierung und der quantitativen Auswertung der Spektralbande.

Im Phasenmodulation-Modus benötigt der Spiegel nach jedem Schritt eine Stabilisierungszeit, um in den Ruhezustand zu gelangen. Je höher der Modulationsfrequenz ist, desto länger ist die Stabilisierungszeit, bei einer Modulationsfrequenz von 418 Hz beträgt die Stabilisierungszeit 150 ms, bei 195 Hz 125 ms, bei den übrigen Frequenzen 75 ms.

Eine hohe Anzahl von Koadditionen, also die Anzahl der wiederholten Messungen an einem Interferogrammpunkt, verbessert das Signal/Rausch-Verhältnis, verlängert die Messzeit jedoch erheblich. Bei niedrigen Modulationsfrequenzen, wo das Signal/Rausch-Verhältnis gut ist, wird eine kleine Anzahl von Koadditionen gewählt, bei Frequenzen unterhalb 112 Hz 10 Koadditionen. Bei hohen Modulationsfrequenzen, wo das Rauschen stark ist, wird eine größere Anzahl von Koadditionen benötigt, bei 195 Hz 20 Koadditionen und bei 418 Hz 40 Koadditionen. Trotz der optimierten Messparameter beträgt die Messzeit bei der PAS-Technik immer noch zwischen 6-8 min (s. Tabelle 2).

Experimenteller Teil

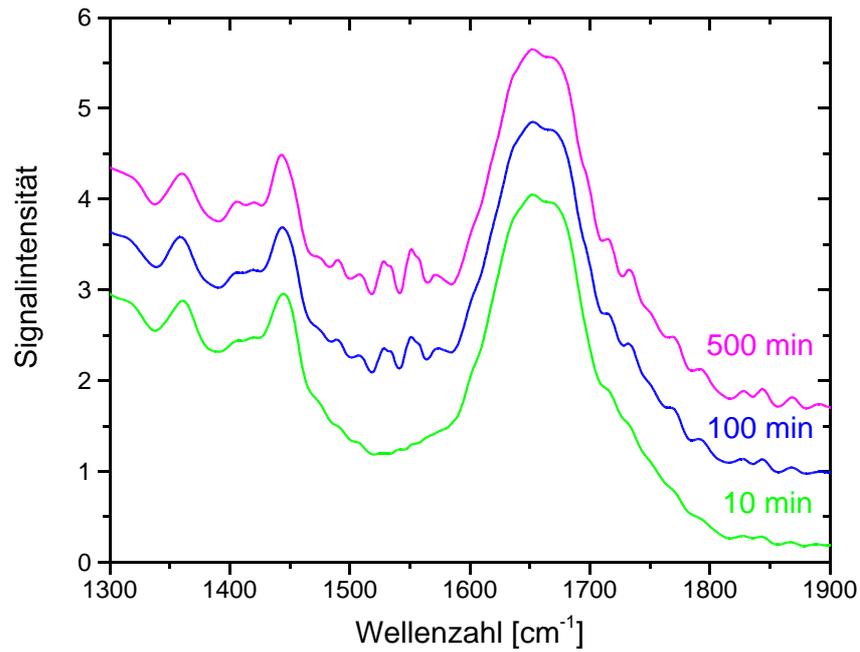


Abbildung 15: PAS-Spektren des Penetrationsexperiments von Methoxsalen aus einer 2% Vaseline-Suspension zu verschiedenen Zeitpunkten.

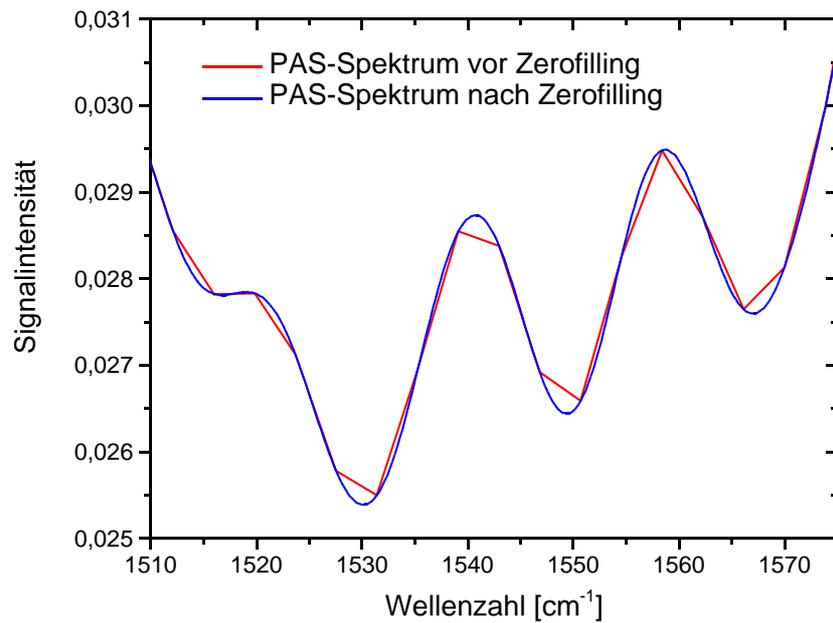


Abbildung 16: Verbesserung der digitalen Auflösung des PAS-Spektrums durch Zerofilling

<i>Modulationsfrequenz [Hz]</i>	<i>Stabilisierungszeit [ms]</i>	<i>Koaddition</i>	<i>Messzeit [min]</i>
54	75	10	6,9
77	75	10	6,6
112	75	10	5,9
195	125	20	6,3
418	150	40	8,1

Tabelle 2: Messparameter im Penetrationsexperiment in die Membran mit Hilfe der PAS-Technik. Alle PAS-Spektren wurden mit der Modulationsamplitude $2 \text{ l}_{\text{HeNe}}$ aufgenommen.

5.3.3. Penetrationsuntersuchungen an humanem Stratum corneum

Um die Möglichkeiten der PAS-Technik zur Untersuchung der Penetration in die Haut zu prüfen, wurde die Penetration von Undecanitril in SC untersucht. Wegen der thermischen Eigenschaft von SC und die Verschlechterung der Messbedingung durch Wasser im SC und Wasserdampf im Gasraum kann nur eine Substanz mit sehr intensiven IR-Banden quantitativ mit der PAS-Technik bestimmt werden. Da die $\text{C}\equiv\text{N}$ Gruppe von Undecanitril eine intensive IR-Bande hat, wurde dieser Substanz gewählt, obwohl sie keine pharmazeutische Relevanz hat.

Eine Stunde vor dem Experiment wird das SC-Stück aus der Feuchtkammer entnommen, dann zur Wiederbefeuchtung zusammen mit befeuchteten Filterblättern in einer Aluminiumfolie verpackt. Das Experiment selbst wurde analog wie das mit der künstlichen Membran durchgeführt. Bei der Untersuchung zur Charakterisierung der Tiefenprofilierung vom SC wurden mit 5 Modulationsfrequenzen gemessen (s. Tabelle 3).

<i>Modulationsfrequenz [Hz]</i>	<i>Stabilisierungszeit [ms]</i>	<i>Koaddition</i>	<i>Messzeit [min]</i>
13,5	50	4	8,6
19	50	4	9,2
32,5	75	6	8,7
54	75	15	9,6
122	75	20	10,3

Tabelle 3: Messparameter im Penetrationsexperiment im SC mit Hilfe der PAS-Technik

5.3.4. Quantitative Auswertung der Spektren

Die quantitative Auswertung der Spektraldaten durchläuft mehrere Schritte. Zuerst werden die unspezifischen Änderungen im Spektrum, u.a. die gerätespezifischen Fehler oder die durch Wasserdampf verursachten Störungen, entfernt. anschließend werden alle Spektren der Messreihe mit der Minimum-Maximum Methode auf eine konstante Spektralbande normiert [77]. Als konstante Spektralbande wurde in den meisten Fällen eine intensive Bande der Membranspektren gewählt. Mit der Spektrennormierung sollen alle unspezifischen Schwankungen durch veränderte Messbedingungen wie z.B. die Qualität des Luftstroms zur Spülung des Messraums, die Temperatur im Messraum, die Umgebungsgeräusche bei den PAS-Messungen oder die Verschlechterung des Kontaktes zwischen der Membran und dem ZnSe-Kristall bei ATR-Messungen während der Versuchsdauer ausgeschlossen werden. Der nachfolgende Schritt besteht darin, die auswertbaren Spektralbereiche zu finden. Diese

Bereiche sind in den Differenzspektren leicht zu erkennen. Dazu wird von jedem Spektrum das Spektrum der reinen Umgebung (d.h. im Penetrationsversuch das Membranspektrum und im Freisetzungversuch das Formulierungsgrundlage-Spektrum) subtrahiert. Als Differenz bleiben nur noch die Bereiche mit Änderungen durch den Wirkstoff übrig. Die Differenzspektren spiegeln meist mehrere intensive Spektralbanden des reinen Wirkstoffes wieder (s. Abbildung 17). Sie besitzen allerdings ein anderes Bandenintensitätsverhältnis. Eine Verschiebung der Bandenposition in Differenzspektren gegenüber den reinen Wirkstoffspektren deutet auf eine Wechselwirkung zwischen der entsprechenden Teilstruktur der Wirkstoffmoleküle und deren Umgebung (Moleküle des Akzeptor- bzw. Donatormediums) hin. In diesem Fall gilt oft die lineare Abhängigkeit zwischen der Bandenintensität und der erfassten Wirkstoffmenge nicht mehr. Aus diesem Grund sollten Banden mit auffälligen Verschiebung nicht zur quantitativen Auswertung genutzt werden.

Zur quantitativen Auswertung der Spektraldaten wurde die multivariate Methode Quant2 der Software OPUS verwendet [77]. Diese Methode gestattet verbesserte Aussagen im Vergleich zur Betrachtung einzelner Variablen, insbesondere wenn Überlagerungen von Banden des Wirkstoffes und des Akzeptors vorliegen. Die Aufgabe der multivariaten Methode besteht darin, aus den spektroskopischen Daten in Form des Extinktionsvektors auf die Konzentration der Komponente in Form des Konzentrationsvektors zu schließen. Die Verknüpfung von beiden Vektoren ist durch die Faktormatrix gegeben:

$$\begin{bmatrix} E_1 \\ \dots \\ E_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} k_{1,1} \dots k_{1,n} \\ \dots \\ k_{n,1} \dots k_{n,n} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} c_1 \\ \dots \\ c_n \end{bmatrix} \quad \text{oder: } E = KC, \quad (5.3.1)$$

hierbei kennzeichnet E den Extinktionsvektor, K die Faktormatrix und C den Konzentrationsvektor.

Die Faktormatrix K wird durch eine Kalibrierung bestimmt. Um eindeutige Ergebnisse zu erreichen, soll die Anzahl der spektralen Datenpunkte der Kalibrierung größer sein als die Anzahl der zu bestimmenden Komponente. Damit ist die Dimension des Extinktionsvektors E größer als die des Konzentrationsvektors C (überbestimmtes System). Zur Lösung dieses linearen Gleichungssystems wurde das least-squares Verfahren verwendet.

Die Kalibrierung für die Freisetzungsexperimente erfordert einen geringeren Aufwand. Hierfür wurden Formulierungen mit unterschiedlichen Wirkstoffkonzentrationen vorbereitet und deren Spektren aufgenommen. Die Spektralbereiche für die Kalibrierung werden nach den Bereichen für die quantitative Auswertung im Freisetzungversuch orientiert (s. Abbildung 18). Die OPUS Software ermöglicht es weiterhin, anhand von Validierungstests (Vorhersage vs. Wahr, Differenz vs. Wahr, RMSEP vs. Rang) die Qualität der Kalibrierung zu kontrollieren (s. Abbildung 19) [77].

Die Kalibrierung für die Penetrationsexperimente gestaltete sich wesentlich schwerer. Die Herstellung einer Membran mit einer eingestellten Wirkstoffkonzentration ist schwierig, da der Wirkstoff während des Lösungsmittelverdunstungsprozesses bei der Membran-Präparation rekristallisiert und sich ungleichmäßig in der Membran verteilt.

Eine andere Methode, die Wirkstoffkonzentration in der Membran nachträglich zu bestimmen, verursacht einen zu großen Fehler auf Grund des zusätzlichen Schritts der Wirkstoff-Extraktion aus der Membran. Zur Vereinfachung der Kalibrierung im Penetrationsexperiment wird angenommen, dass die Wirkstoffkonzentration im Akzeptor zum Zeitpunkt $t = 0$ gleich Null ist und zum Zeitpunkt $t = \infty$ der Konzentration im Gleichgewicht entspricht. Mit diesen beiden Werten wird die Wirkstoffkonzentration mit Hilfe von Quant 2 berechnet.

Experimenteller Teil

<i>Wirkstoff</i>	<i>Spektralbereich zur quantitativen Auswertung im Freisetzungsexperiment [cm⁻¹]</i>
Clotrimazol	719-783, 850-958, 992-1123, 1144-1233, 1254-1344, 1509-1628
Dithranol	720-806, 891-959, 1006-1091, 1192-1314, 1326-1312, 1578-1851
Ketoconazol	733-836, 850-915, 990-1137, 1228-1452, 1479-1566, 1602-1680
Methoxsalen	704-786, 935-1078, 1292-1362, 1377-1443, 1569-1657, 1690-1743

Tabelle 4: Spektralbereich zur quantitativen Auswertung im Freisetzungsexperiment

<i>Wirkstoff</i>	<i>Spektralbereich zur quantitativen Auswertung im ATR-Penetrationsexperiment [cm⁻¹]</i>
Clotrimazol	729-780, 884-964, 981-1125, 1179-1252, 1382-1489
Dithranol	708-791, 906-940, 1002-1090, 1138-1195, 1192-1252, 1318-1519, 1565-1689
Ketoconazol	710-774, 854-955, 987-1089, 1140-1235, 1257-1318, 1357-1395, 1426-1502, 1604-1710
Methoxsalen	704-783, 801-905, 930-1193, 1204-1237, 1315-1418, 1569-1753

Tabelle 5: Spektralbereich zur quantitativen Auswertung im ATR-Penetrationsexperiment

<i>Wirkstoff</i>	<i>Spektralbereich zur quantitativen Auswertung im PAS-Penetrationsexperiment [cm⁻¹]</i>
Clotrimazol	992-1079, 1098-1151, 1167-1381, 1436-1528, 1549-1623, 1681-1762
Dithranol	1004-1078, 1190-1274, 1325-1405, 1409-1701, 1755-1884
Ketoconazol	975-1078, 1140-1313, 1410-1574, 1617-1714, 1775-1901
Methoxsalen	989-1101, 1150-1253, 1280-1379, 1383-1445, 1483-1625, 1635-1897

Tabelle 6: Spektralbereich zur quantitativen Auswertung im PAS-Penetrationsexperiment

Experimenteller Teil

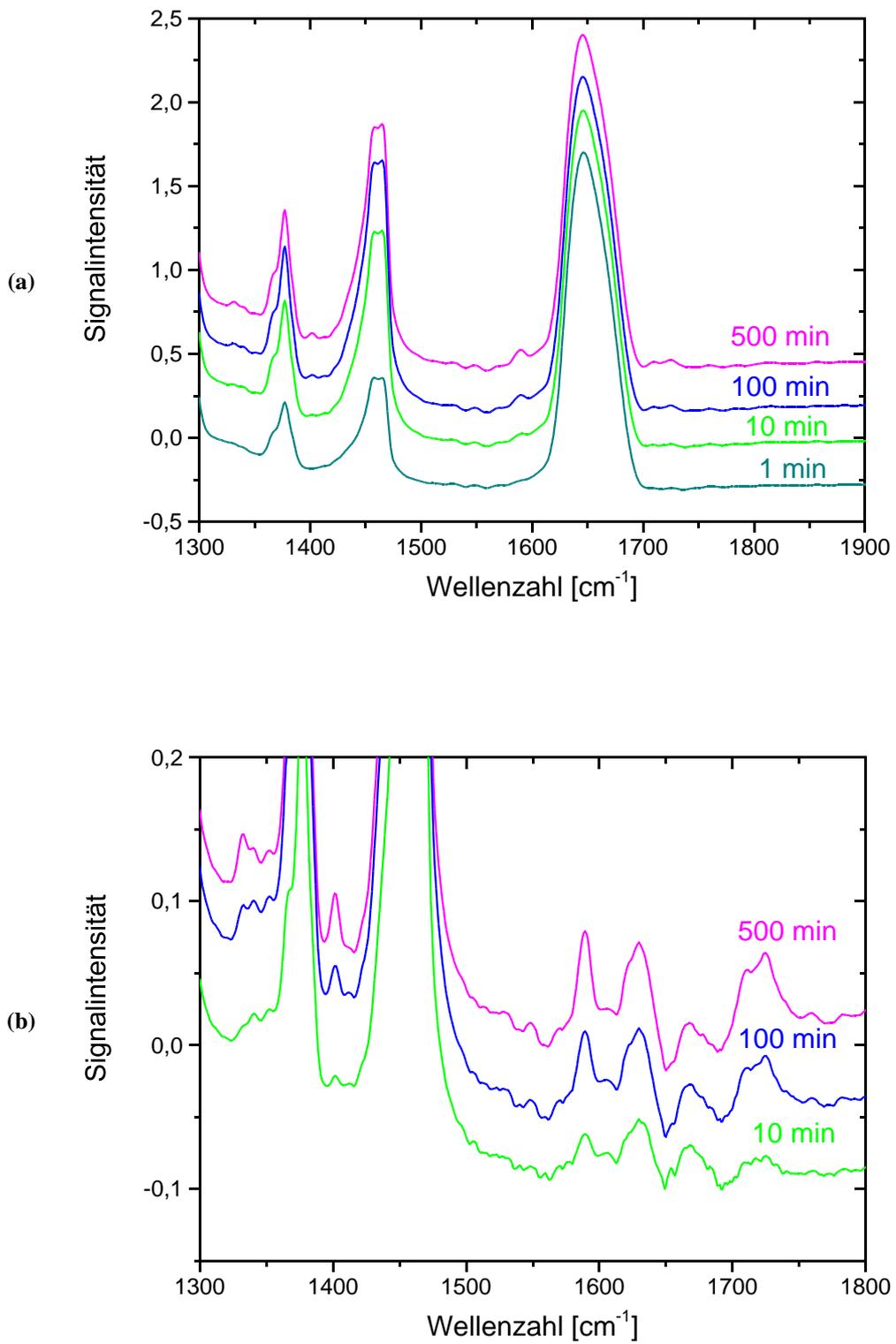


Abbildung 17: ATR-Original- und Differenzspektren des Penetrationsexperiments von Methoxsalen aus einer 2% Vaseline-Suspension

Experimenteller Teil

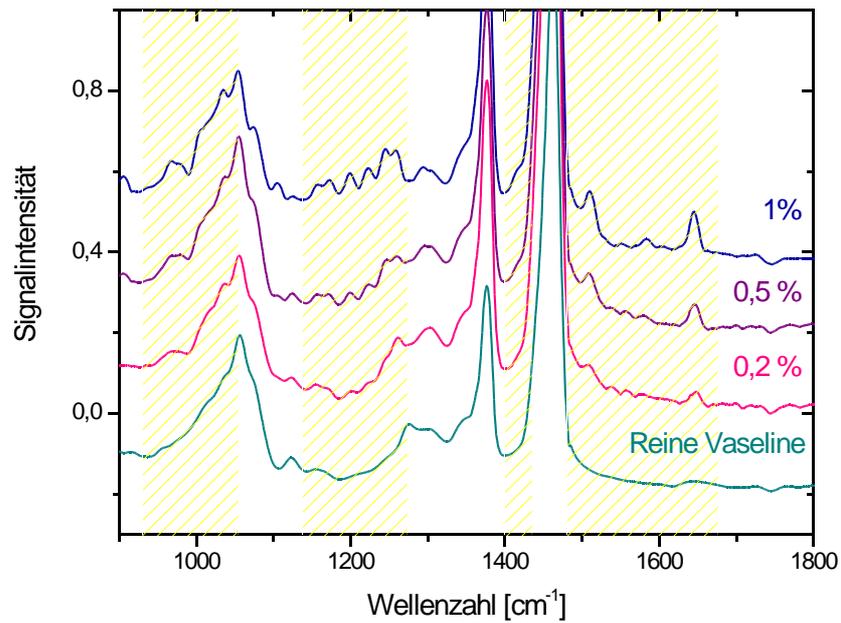


Abbildung 18: Spektrumbereich zur Kalibrierung im Freisetzungsexperiment (markierter Bereich) von Vaseline und Vaseline-Suspensionen mit 0,2% ; 0,5% und 1% Ketoconazol

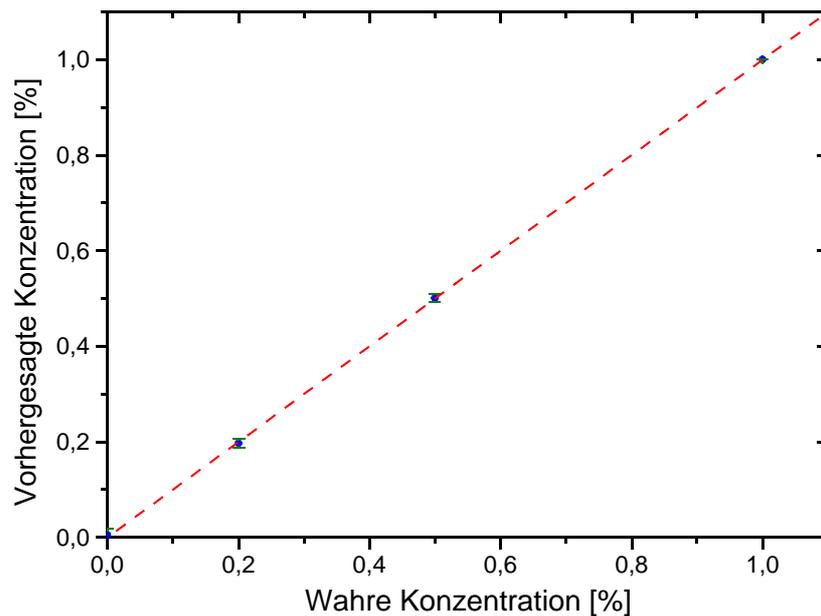


Abbildung 19: Validierungstest für die Kalibrierung im Freisetzungsexperiment von Ketoconazol aus einer Vaseline-Suspension, die vorhergesagte Konzentration gegen wahre Konzentration, $R^2 = 0,9978$

5.4. Charakterisierung der Modellsysteme

Um den Freisetzungs- und Penetrationsprozess zu beschreiben, werden mehrere Systemparameter benötigt. Ein Teil der Parameter kann aus der Literatur entnommen werden. Mehrere Parameter, wie u.a. der Diffusionskoeffizient vom Wirkstoff im Donator und Akzeptor, der Auflösungskoeffizient und die Löslichkeit müssen experimentell bestimmt werden.

5.4.1. Schichtdickenbestimmung

Zur Bestimmung der Schichtdicke von Membran und SC wurde ein Schichtdickenmessgerät (Heidenhain, Deutschland) verwendet. Herstellungsbedingt variiert die Membrandicke zwischen 24-29 μm . Vor jedem Versuch wurde die Dicke der verwendeten Membran bestimmt.

5.4.2. Bestimmung des Diffusionskoeffizienten in der Membran

5.4.2.1. Bestimmung des Diffusionskoeffizienten mit Hilfe eines modifizierten Liberationsmodells

Zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten in der Membran wurde ein modifiziertes Liberationsmodell nach Fürst verwendet (s. Abbildung 20) [81]. Das Modell besteht aus einer Donatorkammer und einer Akzeptorkammer [95]. Die Donatorkammer mit einem Volumen von 5 ml wurde mit einer wirkstoffgesättigten Lösung im Dodecanol/Ethanol-Gemisch gefüllt. Die Akzeptorkammer mit einem Volumen von 100 ml wurde mit Dodecanol/Ethanol-Gemisch gefüllt. Nach dem Eintauchen der Donatorkammer in die Akzeptorkammer penetriert der Wirkstoff vom Donator durch die Membran in den Akzeptor. Durch ein intensives Rühren des Akzeptorvolumens wurde die Homogenität des Akzeptors erreicht. Aus der Akzeptorkammer wurde alle 5 min 1 ml Probe entnommen. Das entzogene Flüssigkeitsvolumen wurde ergänzt. Die Wirkstoffkonzentration in der Probe wird mit UV- oder Fluoreszenzspektroskopie bestimmt.

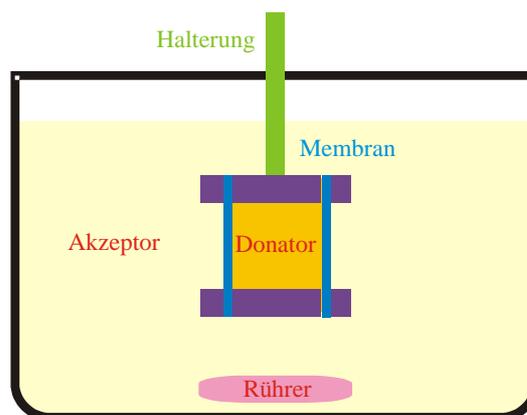


Abbildung 20: Experimentanordnung zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten in der Membran durch den Permeationskoeffizient mit Hilfe eines modifizierten Liberationsmodells

Mit Hilfe des mathematischen Modells von Lippold wurde der Permeationskoeffizient von der Membran bestimmt (s. Abbildung 21) [59]. Im Modell wird angenommen, dass eine konstante Konzentration an den beiden Seiten der Membran vorliegt, an der Seite zur Donatorkammer die Sättigungskonzentration und an der Seite zur Akzeptorkammer die sink-Bedingung wegen des vielfach größeren Volumens der Akzeptorkammer. Für die

Experimenteller Teil

Konzentration im Akzeptor gilt:

$$\log K_c = -\frac{APQ}{2,303V}t \quad \text{mit} \quad K_c = \frac{c(t) - c(t \rightarrow \infty)}{c_0 - c(t \rightarrow \infty)}, \quad (5.4.1)$$

dabei ist c die Konzentration in der Donatorkammer, c_0 die Anfangskonzentration in der Donatorkammer, P der Permeationskoeffizient der Membran, A die Membranfläche der Membran, Q der Verteilungskoeffizient zwischen der Membran und dem Akzeptormedium und V Donatorvolumen.

Aus dem Permeationskoeffizient P und der Membranschichtdicke l wurde der Diffusionskoeffizient der Membran D berechnet:

$$D = \frac{P}{l} \cdot \quad (5.4.2)$$

Wirkstoff	Diffusionskoeffizient in der Membran [$10^{-9} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$]
Clotrimazol	$14,58 \pm 3,53$
Dithranol	$2,31 \pm 0,28$
Ketoconazol	$11,12 \pm 3,05$
Methoxsalen	$19,82 \pm 6,16$

Tabelle 7: Wirkstoffdiffusionskoeffizient in der DDC-Membran, bestimmt mit Hilfe eines modifizierten Liberationsmodells

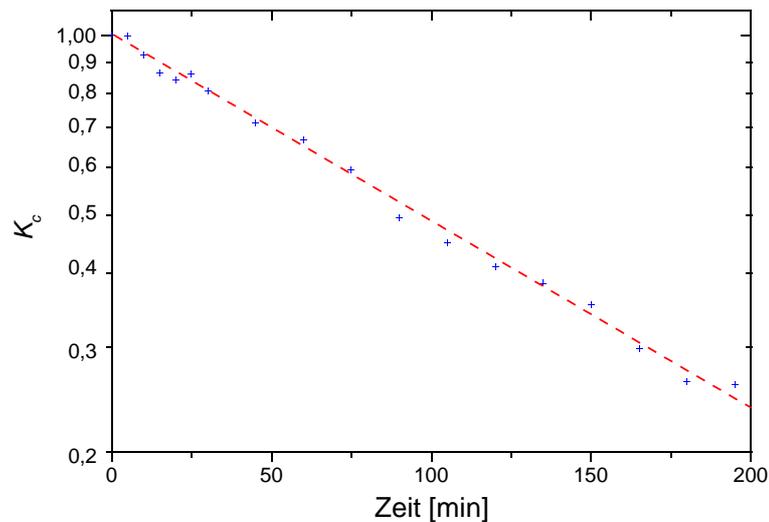


Abbildung 21: Halblogarithmische Auftragung von K_c als Funktion der Zeit. Ergebnis des Experiments zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten von Clotrimazol in der Membran mit Hilfe eines modifizierten Liberationsmodells.

5.4.2.2. Bestimmung des Diffusionskoeffizienten mit der ATR-Technik

Die ATR-Technik wurde bereits zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten von verschiedenen Flüssigkeiten in einer Membran oder halbfesten Formulierungen eingesetzt [64, 131]. Um den Diffusionskoeffizient vom Wirkstoff in der Membran mit der ATR-Technik mit einem möglichst kleinen Fehler bestimmen zu können, soll das Experiment so

Experimenteller Teil

gestattet werden, dass nur wenige und möglichst direkt bestimmbare Parameter zur Berechnung herangezogen werden.

Wie im Penetrationsexperiment wird die Membran auf die Kristalloberfläche aufgelegt und glatt gestrichen. Als Donator wird eine Mischung vom Wirkstoff (20%) und dünnflüssigem Paraffin (80%) verwendet. Unmittelbar nach kräftigem Schütteln werden 10 µl dieser Mischung auf die Membran aufgetragen. Nach sehr kurzer Zeit (ca. 5 min) ist die Oberfläche der Membran fast vollständig mit Wirkstoffkristallen, umgebend von einer mit Wirkstoff gesättigten Paraffinlösung, bedeckt (s. Abbildung 22). Aus der dünnflüssigen Paraffinlösung diffundiert der Wirkstoff in die Membran. Wegen des ständigen Nachlösens der Wirkstoffkristalle wird angenommen, dass während des gesamten Experimentes immer eine gesättigte Konzentration in der Paraffinschicht an der Membranoberfläche vorliegt. Somit entspricht die Konzentration in der Membran an der Grenzfläche der Sättigungskonzentration in der Membran. Durch die Zunahme der Wirkstoffbanden in ATR-Spektren kann die Konzentrationssteigerung in der Membran verfolgt werden.

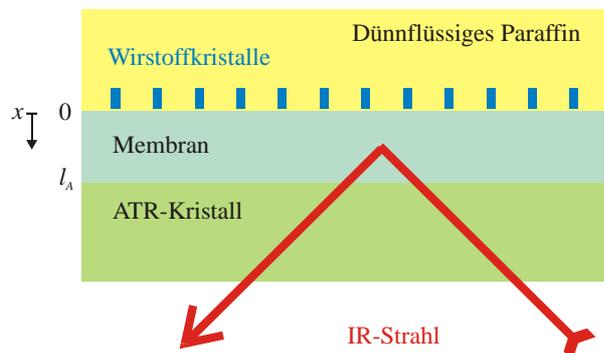


Abbildung 22: Schematische Darstellung der ATR-Technik zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten in der Membran

Für die Wirkstoffpenetration in die Membran gilt:

$$c_A(x,0) = 0, \tag{5.4.3}$$

$$c_A(0,t) = c_{SA}, \tag{5.4.4}$$

$$\frac{\partial c_A}{\partial t} = D_A \frac{\partial^2 c_A}{\partial x^2} \quad \text{für } 0 < x < l_A, \tag{5.4.5}$$

$$\frac{\partial c(l_A,t)}{\partial x} = 0. \tag{5.4.6}$$

Um den Diffusionskoeffizient D_a zu bestimmen, werden nur die Sättigungskonzentration in der Membran c_S und die Membrandicke l_A benötigt.

Mit Hilfe des mathematischen Modells und des Auswertungsmodells für die ATR-Messung (s. Kapitel 3.1) kann der Diffusionskoeffizient durch eine Kurvenanpassung berechnet werden (s. Abbildung 23).

Der Vorteil der Liberationsmethode gegenüber der ATR-Methode ist die einfache Berechnung des Diffusionskoeffizienten. Diese Methode hat aber auch einen großen Nachteil, wegen des Kontaktes zwischen der Membran und dem großen Lösungsmittelvolumen in der Akzeptorkammer kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Zusammensetzung der Membran während des Experimentes unverändert bleibt. Einerseits kann Dodecanol aus der Membran herausgelöst werden, andererseits dringt das Lösungsmittel in großer Masse in die Membran ein. Aus diesem Grund ist der mit der Liberationsmethode bestimmte Diffusionskoeffizient größer als der mit der ATR-Methode. Zur späteren Berechnung wurden

die Ergebnisse der letzteren verwendet.

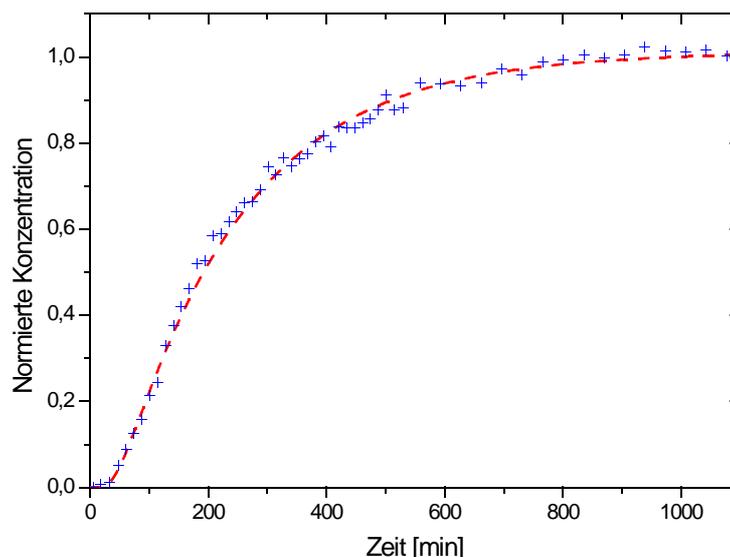


Abbildung 23: Zunahme der normierten Signalintensität von Ketoconazol im ATR-Experiment zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten von Ketoconazol in der Membran

Wirkstoff	Diffusionskoeffizient in der Membran [$10^{-9} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$]
Clotrimazol	$2,10 \pm 0,38$
Dithranol	$1,36 \pm 0,25$
Ketoconazol	$6,45 \pm 0,70$
Methoxsalen	$12,6 \pm 1,08$

Tabelle 8: Wirkstoffdiffusionskoeffizient in der DDC-Membran, bestimmt mit der ATR-Technik

5.4.3. Bestimmung des Diffusionskoeffizienten in flüssigen und halbfesten Medien

Zur Beschreibung der Freisetzung im Donator wird neben dem Diffusionskoeffizienten in der Membran auch der Diffusionskoeffizient in Vaseline benötigt. Der letztere Parameter wird mit Hilfe der Gleichung 4.1.3 und des Diffusionskoeffizienten im flüssigen Paraffin bestimmt [37]. Dazu wird das Wirkstoffpulver im flüssigem Paraffin suspendiert. Unmittelbar danach werden 10 μl dieser Mischung auf den ATR-Kristall aufgetragen. Nach ca. 30 Minuten waren die Wirkstoffkristalle vollständig auf dem ATR-Kristall sedimentiert. Anhand der Zunahme der Wirkstoffbande in den ATR-Spektren kann dieser Prozesses gut verfolgt werden. Die Absorption stammt aus den Wirkstoffkristallen auf der Oberfläche des ATR-Kristall. Danach wird vorsichtig eine Membran auf die Flüssigkeitschicht aufgelegt (s. Abbildung 24).

Infolge der Wirkstoffdiffusion in die Membran nimmt des *ungelösten* Wirkstoffanteils auf der ATR Kristalloberfläche ab. Diese Abnahme wurde anhand der abnehmenden Intensität der Wirkstoffbande in den ATR-Spektren verfolgt (s. Abbildung 25).

Experimenteller Teil

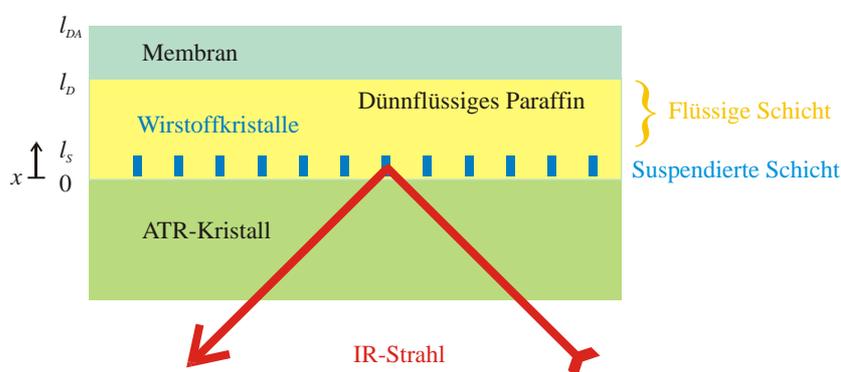


Abbildung 24: Experimentanordnung zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten im dünnflüssigen Paraffin mit Hilfe der ATR-Technik

Wegen der großen Auflösungsfläche der Wirkstoffkristalle wird angenommen, dass in der suspendierten Schicht ständig eine gesättigte Konzentration vorliegt. Der Penetrationsprozess kann durch folgende Gleichungen beschrieben werden:

$$c_S(x, t) = c_{sf} \quad \text{für } 0 \leq x \leq l_S \quad (5.4.7)$$

$$c_D(x, 0) = c_{sf} \quad (5.4.8)$$

$$c_A(x, 0) = 0 \quad (5.4.9)$$

$$\frac{\partial c_D(0, t)}{\partial x} = 0 \quad (5.4.10)$$

$$\frac{\partial c_D}{\partial t} = D_f \frac{\partial^2 c_D}{\partial x^2} \quad \text{für } l_S < x < l_D \quad (5.4.11)$$

$$c_A(l_D, t) = Q c_D(l_D, t) \quad (5.4.12)$$

$$\frac{\partial c_A}{\partial t} = D_A \frac{\partial^2 c_A}{\partial x^2} \quad \text{für } l_D < x < l_{DA} \quad (5.4.13)$$

$$\frac{\partial c(l_{DA}, t)}{\partial x} = 0 \quad (5.4.14)$$

dabei ist c_S die Konzentration vom *gelösten* Wirkstoff in der suspendierten Schicht und l_S die Dicke der suspendierten Schicht.

Alle Parameter im Gleichungssystem bis auf den Diffusionskoeffizienten im dünnflüssigen Paraffin D_f sind bekannt. Durch die Kurvenanpassung kann er bestimmt werden (s. Abbildung 26). Aus diesem Parameter und dem Anteil am dünnflüssigen Paraffin in Vaseline kann der Diffusionskoeffizient in Vaseline berechnet werden.

<i>Wirkstoff</i>	<i>Diffusionskoeffizient im dünnflüssigen Paraffin [10⁻⁹ cm²s⁻¹]</i>
Clotrimazol	10,36 ± 1,48
Dithranol	6,23 ± 1,12
Ketoconazol	12,08 ± 2,01
Methoxsalen	40,57 ± 5,13

Tabelle 9: Wirkstoffdiffusionskoeffizient im dünnflüssigen Paraffin

Experimenteller Teil

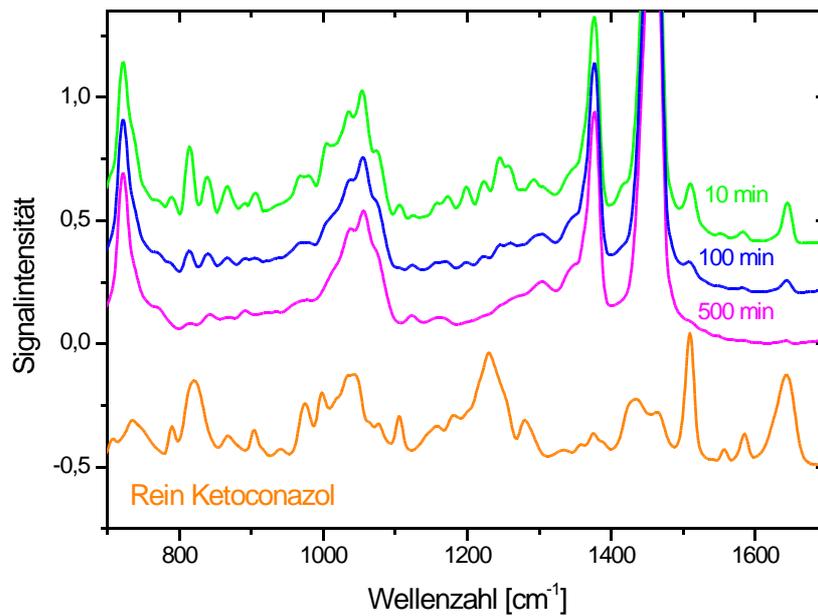


Abbildung 25: ATR-Spektren des Experiments zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten von Ketoconazol im dünnflüssigen Paraffin

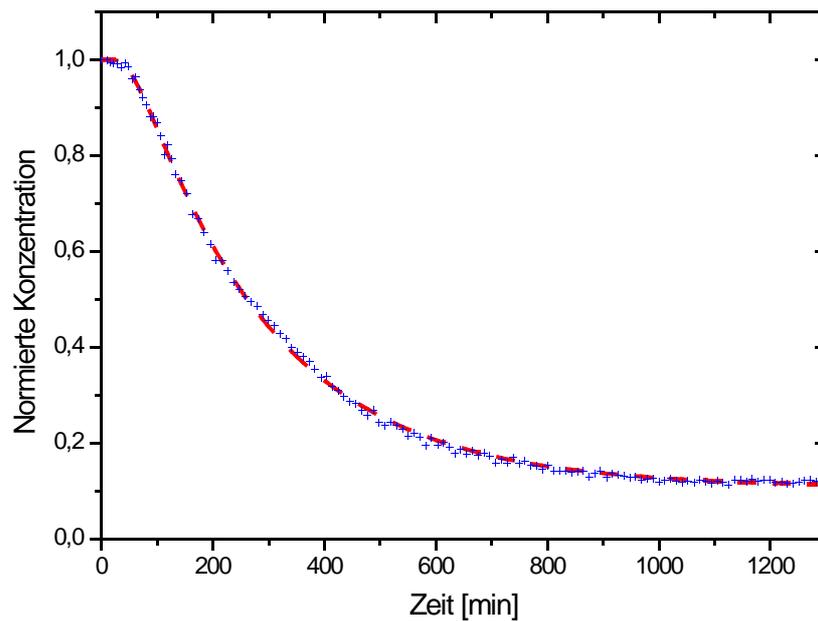


Abbildung 26: Abnahme der normierten Signalintensität von Ketoconazol im ATR-Experiment zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten von Ketoconazol im dünnflüssigen Paraffin

5.4.4. Bestimmung der Löslichkeit und des Verteilungskoeffizienten

Ein wichtiger Parameter zur Beschreibung der Wirkstoffverteilung an der Grenzfläche ist der Verteilungskoeffizient. Um diesen zu berechnen, wird die Löslichkeit in den einzelnen Medien bestimmt. Dazu wird das Wirkstoffpulver im dünnflüssigen Paraffin suspendiert. Die Suspension wurde 10 Stunden lang mit einer Rüttelmaschine geschüttelt. Nach dem Zentrifugieren wird die klare Lösung entnommen und die Wirkstoffkonzentration darin durch UV oder Fluoreszenzspektroskopie bestimmt. Zur Vereinfachung der Berechnung des Verteilungskoeffizienten zwischen dem Donator und dem Akzeptor wurden die effektive Wirkstofflöslichkeit im Donator aus dem Anteil des dünnflüssigen Paraffins in der Suspension und der Wirkstofflöslichkeit im dünnflüssigen Paraffin berechnet. Der Anteil des dünnflüssigen Paraffins in reiner Vaseline beträgt 27% [123, 124]. Die effektive Löslichkeit im Donator steigt mit der Zugabe vom dünnflüssigen Paraffin in die Suspension.

Die Sättigungskonzentration des Wirkstoffes in der Membran wird aus dem Gleichgewichtszustand im Freisetzungsexperiment, d.h. am Ende des Versuchs, ermittelt. Anhand der Intensitätsverhältnisse der Bande vom Wirkstoff in der Suspension am Anfang und Ende des Experimentes kann der in die Membran penetrierte Wirkstoffanteil berechnet werden (s. Abbildung 27). Dafür wird die Integralsfläche der Wirkstoffbande mit der OPUS Software berechnet. Aus der in die Membran penetrierten Wirkstoffmenge und dem Volumen des Akzeptors kann die Wirkstoffkonzentration in der Membran im Gleichgewichtszustand berechnet werden. Das Verhältnis zwischen der Akzeptor- und Donatorkonzentration entspricht dem Verteilungskoeffizient.

<i>Wirkstoff</i>	<i>Verteilungskoeffizient zwischen Vaseline und Membran</i>
Clotrimazol	8,26 ± 0,80
Dithranol	2,07 ± 0,32
Ketoconazol	19,53 ± 1,76
Methoxsalen	36,14 ± 4,91

Tabelle 10: Verteilungskoeffizient zwischen der Membran und Vaseline

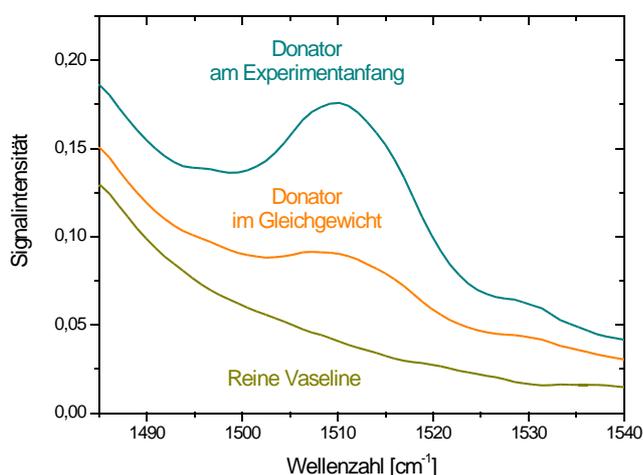


Abbildung 27: Bestimmung des Verteilungskoeffizienten durch den Vergleich der Wirkstoffbande am Anfang und am Ende des Freisetzungsexperimentes

5.4.5. Bestimmung der Enhancer-Einfluss auf den Diffusions- und den Verteilungskoeffizienten

Harrison untersuchte bereits den Enhancer-Effekt mit Hilfe der ATR-Technik [41]. Im Experiment wurde der Fluss aus einer Enhancer-freien und -haltigen Formulierung verglichen. Dadurch war es jedoch nicht möglich zu erkennen, in welchem Verhältnis der Diffusions- und der Löslichkeitseffekt stehen. In der vorliegenden Arbeit soll diese beiden Effekte differenziert werden. Um den Enhancer-Einfluss zu charakterisieren, wurde die Membran vor dem Penetrationsexperiment mit Enhancer präpariert [7, 100]. Dazu wurde eine PG-Suspension in Vaseline auf die Membran aufgetragen. Nach 24 Stunden stellt sich ein Gleichgewicht der PG-Konzentration zwischen der Suspension und der Membran ein. Anhand der eingetragenen suspendierten Menge an Enhancer und des Verteilungskoeffizienten wurde die Enhancer-Konzentration in der Membran im Gleichgewichtszustand berechnet. Zur Überprüfung des PG-Gehalts wurde ein ATR-Spektrum der PG-haltigen Membran aufgenommen. Durch Variation der eingetragenen suspendierten Menge an Enhancer können unterschiedliche Enhancer-Konzentrationen in der Membran eingestellt werden. Nach dem Entfernen der PG-Suspension von der Membran wurde die PG-haltige Membran im Penetrations- und Freisetzungsexperiment zur Bestimmung des Diffusions- und Verteilungskoeffizienten vom Wirkstoff verwendet. Mit diesem Verfahren kann die Abhängigkeit des Wirkstoffdiffusions- und Wirkstoffverteilungskoeffizienten von der Enhancer-Konzentration bestimmt werden.

5.4.6. Thermische, optische und weitere Parameter des Akzeptors

Um das Modell zur quantitativen Auswertung der ATR- und PAS-Signal verwenden zu können, werden die thermischen und optischen Parameter der Membran bzw. SC benötigt. Wegen der sehr ähnlichen thermischen Eigenschaft von Polymeren wird angenommen, dass die Parameter der Membran den typischen Wert eines Polymers entsprechen. Für die optischen Parameter der Membran wird sich nach den Angaben von Mirabella gerichtet [68]. Die Parameter für das werden aus der Literatur entnommen [15, 111, 130].

Brechungsindex von ZnSe (1000 cm^{-1})	2,4
Brechungsindex der Membran (1700 cm^{-1})	1,5
Brechungsindex der Haut (1650 cm^{-1})	1,6
Dichte der Membran	$1,14\text{ gcm}^{-3}$
Wärmeleitfähigkeit der Membran	$2,1\ 10^{-3}\ \text{Jcm}^{-1}\text{s}^{-1}\text{K}^{-1}$
Spezifische Wärme der Membran	$2,3\ \text{Jg}^{-1}\text{K}^{-1}$
Thermische Diffusivität der Membran	$9,9\ 10^{-4}\ \text{cm}^2\text{s}^{-1}$
Thermische Diffusivität von SC	$2,9\ 10^{-4}\ \text{cm}^2\text{s}^{-1}$
Wärmeleitfähigkeit von He	$1,5\ 10^{-3}\ \text{Jcm}^{-1}\text{s}^{-1}\text{K}^{-1}$
Spezifische Wärme von He	$5,2\ \text{Jg}^{-1}\text{K}^{-1}$
Thermische Diffusivität von He	$1,5\ \text{cm}^2\text{s}^{-1}$

Tabelle 11: Thermische und optische Parameter des Systems

Die systemspezifische Parameter wie der optische Extinktionskoeffizient vom Wirkstoff in der Membran werden mit Hilfe des Modells aus den Spektren im Gleichgewichtszustand

berechnet. In diesem Zustand ist die Wirkstoffkonzentration im Akzeptor ortsunabhängig und kann aus dem Verteilungskoeffizient und der gesamten Wirkstoffmenge berechnet werden. Bei der ATR-Technik kann die Extinktion aus einer einfachen Gleichung berechnet werden:

$$\log \frac{I_0}{I} = a d_{ATR} c_{AGG}, \quad (5.4.13)$$

dabei sind die Wirkstoffkonzentration im Gleichgewichtszustand c_{AGG} bekannt. Aus der Extinktion (Integralfläche) kann der Extinktionskoeffizient a berechnet werden.

Bei der PAS-Technik wird eine Kurvenanpassung mit dem Modell im Kapitel 3.2 benötigt. Anstelle einer ortsabhängigen Konzentration wird eine einheitliche Konzentration im Akzeptor angenommen. Die Berechnung ist damit einfacher.

Die Bestimmung der Membrandichte erfolgte mit Hilfe eines Gaspyknometers von Typ AccuPyc 1330 (micrometrics, Norcross, USA). Die mittlere Membrandicke kann auch aus der Masse und der Dichte der Membran berechnet werden. Die nach dieser Methode bestimmte Membrandicke ist jedoch kleiner als die mit Hilfe des Schichtdickenmessgerätes bestimmte Membrandicke. Die mögliche Erklärung ist der Existenz der tiefen Spalten auf der Oberfläche der Membran. Dieser Teil der Membran wurde bei der Bestimmung der wahren Dichte nicht erfasst.

Die Größe der Wirkstoffkristalle wurde mit Hilfe eines Polarisationsmikroskops (Optiphot-2, Nikon, Japan) bestimmt [10, 28].

5.5. Numerische Lösung des Differentialgleichungssystems

Die Differentialgleichung zur Beschreibung der Diffusion nach dem 2. Fick'schen Gesetz kann entweder analytisch oder numerisch gelöst werden. Bis auf wenige Fälle mit einfachen Anfangs- und Randwertbedingungen kann diese Differentialgleichung analytisch nur mit erheblicher Aufwand gelöst werden [1, 3, 51, 76, 113]. Aus diesem Grund wird in dieser Arbeit eine numerische Lösung bevorzugt, obwohl dieses Verfahren mit einer längeren Rechenzeit verbunden ist.

Im vorliegenden partiellen Differentialgleichungssystem ist die Konzentration c vom Ort x und von der Zeit t abhängig. Die beiden unabhängigen Variablen x und t werden als diskrete Größen gesehen. Durch eine Einteilung in Intervalle dx und dt existieren sie als finite Differenzen. Es resultiert eine rechteckige Matrix der Dimensionen ($N_x \times N_t$) (s. Abbildung 28). Jeder Gitterpunkt charakterisiert eine Konzentration an einem bestimmten Zeitpunkt j und einem bestimmten Ort i . Im numerischen Verfahren werden aus den Gitterpunkten des Zeitpunktes j die Gitterpunkte des folgenden Zeitpunktes $j+1$ fortschreitend berechnet, angefangen mit den Gitterpunkten beim Penetrationsbeginn (Anfangsbedingung). Die entsprechenden Differenzengleichungen basieren auf dem Differentialgleichungssystem des betroffenen Bereichs, dazu gehört die Gleichung zur Beschreibung der Diffusion im Bereich, die Gleichung zur Beschreibung des Substanzflusses in diesen Bereich oder aus diesem Bereich (Randbedingung) und die Gleichung zur Beschreibung der Diffusion durch die Grenzfläche zum benachbarten Bereich (Kopplungsbedingung).

Das numerische Verfahren umfasst drei Schritte: zuerst wird das Differentialgleichungssystem des Modells mit der entsprechenden Anfangs-, Rand- und Kopplungsbedingung formuliert, dann werden die vorkommenden Ableitungen durch Differenzenquotienten ersetzt und zum Schluss wird dieses Differenzengleichungssystem in die verwendete Software implementiert.

Die Umformung der Differentialgleichungen stützt sich auf dem impliziten Verfahren nach Crank und Nicolson, dabei werden zur Berechnung eines Gitterpunktes des Zeitpunktes $j+1$ die beiden benachbarten Gitterpunkte des Zeitpunktes $j+1$ und drei Gitterpunkte des Zeitpunktes j herangezogen (s. Abbildung 28 und Anhang) [102].

Experimenteller Teil

Mit Hilfe des Programms zur Lösung des Differentialgleichungssystems können entweder unbekannte Parameter durch eine Kurvenanpassung geschätzt oder die Penetrationskurven unterschiedlicher Formulierungen simuliert werden.

Als mathematische Software diente MATLAB (The Mathworks, Natick, Mass., USA). Die gewöhnlichen Differentialgleichungen können direkt mit einem „ODE-solver“ (ordinary differential equation solver) gelöst werden. Die partiellen Differentialgleichungen werden mit Hilfe von Simulink und dem „ODE-solver“ gelöst [125]. Zur Parameterschätzung wird ein Programm für eine nicht-lineare Kurvenanpassung nach Gauss-Newton Methode aus der Toolbox Statistic verwendet [24].

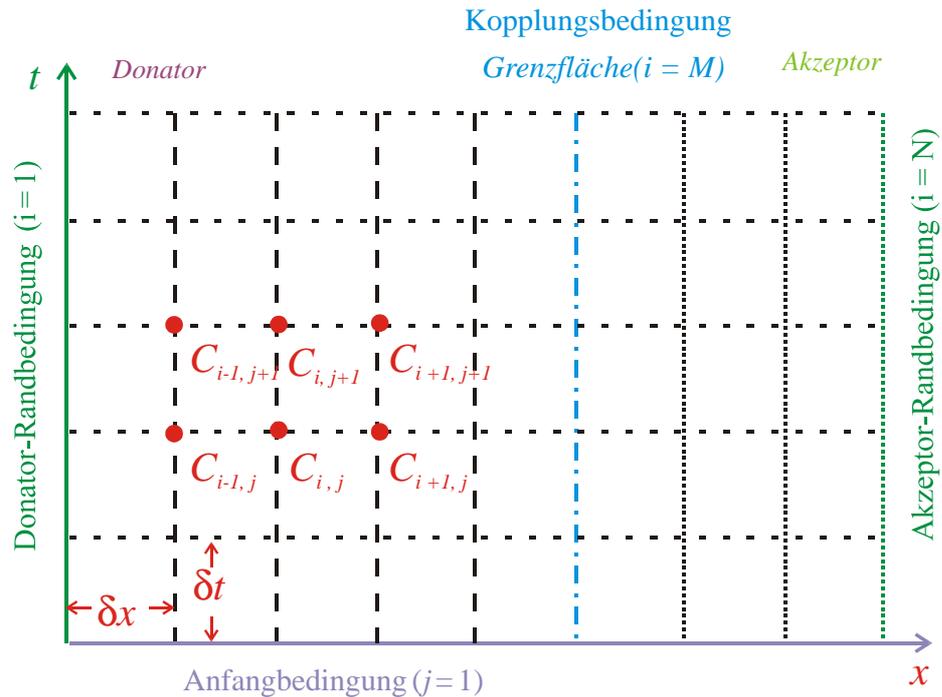


Abbildung 28: Unterteilung in finite Differenzen in der Zeit (j) und des Weges (i) zur numerischen Lösung des 2. Fick'schen Diffusionsgesetzes

6. Resultate und Diskussionen

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist ein Verfahren zur Optimierung der topischen Formulierung zu erarbeiten. Dabei ist die Simulation der Wirkstoffpenetration aus unterschiedlichen Formulierungen sehr hilfreich: der Vergleich der Simulationsergebnisse ermöglicht, die optimale Suspensionszusammensetzung vorherzusagen.

Eingangsgrößen für die Simulation sind die Daten aus systematischen Untersuchungen über den Einfluss einzelner Komponente der Formulierung auf das Freisetzungs- und Penetrationsverhalten. Zunächst soll die Penetration des Wirkstoffes und des Enhancers in den Akzeptor betrachtet werden. Dann soll der Wirkstofffreisetzungsprozess mit veränderter Donatoreigenschaft, z.B. durch Zugabe vom dünnflüssigen Paraffin, untersucht werden. Der nächste Schritt ist die Untersuchung des Wirkstoffpenetrationsprozesses mit einer veränderten Akzeptoreigenschaft, also durch Zugabe von Enhancer. Alle diese Untersuchungen liefern viele nicht direkt bestimmbare Parameter: den Auflösungskoeffizienten, den Diffusionskoeffizienten im Donator bzw. Akzeptor und den Einfluss von Enhancer auf den Diffusionskoeffizienten bzw. die Löslichkeit vom Wirkstoff im Akzeptor.

Mit Hilfe der Parameter wurde die Wirkstoffpenetration aus der Suspension mit verschiedenen Zusammensetzungen unter in-vivo Bedingungen simuliert. Die einzelne Schritte bzw. deren Bedeutungen für das Optimierungsverfahren werden in der Abbildung 29 wiedergegeben.

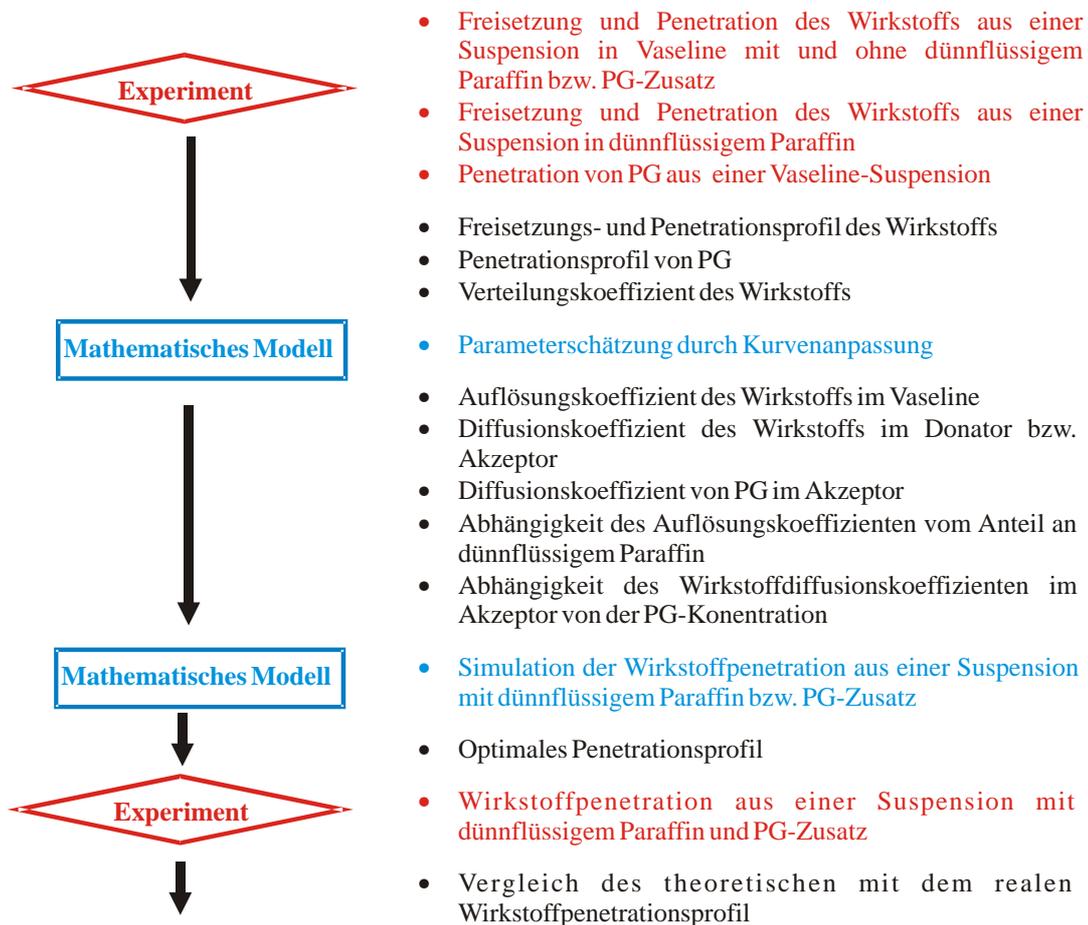


Abbildung 29: Schematische Darstellung des Optimierungsverfahrens

6.1. Penetrationsuntersuchung an der künstlichen Membran

6.1.1. Penetration von Wirkstoffen aus Vaseline-Suspensionen

In diesen Experimenten wurde die Wirkstoffpenetration in den Akzeptor mit Hilfe der ATR- und PAS-Technik untersucht. Anhand des Penetrationsprofils soll das Penetrationsverhalten von verschiedenen Wirkstoffen (Clotrimazol, Ketoconazol, Methoxsalen und Dithranol) aus Suspensionen mit unterschiedlicher Wirkstoffkonzentration (1%, 2%, 5% und 10%) betrachtet werden.

Die ATR-Technik zeigt eine sehr hohe Genauigkeit, auch bei Suspensionen mit niedriger Konzentration (1%). Mit Hilfe von Differenzspektren können die quantitativ auswertbaren Spektralbereiche gefunden werden. Die Differenzspektren des Penetrationsexperiments entsprechen großteils dem Spektrum des reinen Wirkstoffes (s. Abbildung 17, 30, 31). Jedoch sind nicht alle Banden des reinen Wirkstoffes im Differenzspektren vorhanden. Die Intensitätsverhältnisse der Spektralbanden unterscheiden sich. Mehrere intensive Banden des reinen Wirkstoffes treten in Differenzspektrum gar nicht auf oder nur mit geringer Stärke. Umgekehrt entstehen aus schwachen Banden des reinen Wirkstoffes stark ausgeprägte Banden im Differenzspektrum. Intensive Banden, die keinen Banden des reinen Wirkstoffes entsprechen, wurden in allen Experimenten nicht gefunden, schwächere kommen jedoch öfter vor.

Weiter zu beobachten ist die Verschiebung der Bandenposition. Dies deutet auf eine mögliche Wechselwirkung zwischen dem Wirkstoff und dem Akzeptor. Wegen der geringen Polarität von Dodecanol ist keine starke Wechselwirkung zu erwarten [32]. Ein anderer Grund für die Bandenverschiebung ist der unterschiedliche Aggregatzustand der Wirkstoffmoleküle. Bei den Differenzspektren liegt der Wirkstoff gelöst in Dodecanol vor, beim Spektrum des reinen Wirkstoffes liegt er im kristallinen Zustand. Wegen der unterschiedlichen Schwingungsmöglichkeit der Moleküle ist eine Verschiebung der Spektralbanden möglich. Für die quantitative Auswertung sind nur die Banden mit keiner oder nur geringer Verschiebung interessant, damit kann eine lineare Beziehung zwischen der Bandenintensität und der Wirkstoffkonzentration gewährt werden. Eine Wechselwirkung zwischen den Wirkstoffmolekülen ist nicht zu erwarten, da die betreffende Wirkstoffkonzentration sehr niedrig ist. Die Bedingungen für das Lambert-Beersche Gesetz sind weitgehend erfüllt.

Zur quantitativen Auswertung wurden die Originalspektren herangezogen. Hauptsächlich wurden die Banden im IR-Fingerprint Bereich von 700 bis 1400 cm^{-1} zur Auswertung herangezogen. Um den Bereich von 1400 bis 2000 cm^{-1} zu nutzen, sind eine Spektrenkorrektur wegen des Wasserdampfes erforderlich.

Die ATR-Versuche dauerten meistens 1000 min. Bei Clotrimazol bzw. Methoxsalen ist nach 700 bzw. 500 min der Gleichgewichtszustand bereits erreicht. Bei Ketoconazol und Dithranol erst nach 900 min (s. Abbildung 32). Bei diesen beiden Wirkstoffen ist auch eine „lag-time“ am Anfang des Penetrationsprozesses zu erkennen. Mit der ATR-Technik wird nur der Wirkstoff am Rand der Membran erfasst, aus diesem Grund können die Wirkstoffbanden erst nach einer gewissen Verzögerungszeit registriert werden. Bei Clotrimazol und Methoxsalen gibt es diesen Verzögerungseffekt auch, jedoch ist die Penetration so schnell, so dass nach einer Vorbereitungszeit von ca. 5 min der Wirkstoff bereits den detektierten Bereich erreicht hat. Der Penetrationsprozess von Methoxsalen verläuft besonders schnell, da Methoxsalen eine hohe Löslichkeit im dünnflüssigen Paraffin besitzt. Die Streuung der Messdaten ist bei allen Versuchen relativ gering. Besonders hohe Genauigkeit zeigt Methoxsalen wegen seiner intensiven Wirkstoffbanden.

Die Experimente zeigten, dass sich die Kurvenverläufe für Suspensionen mit verschiedenen Konzentrationen nur in der penetrierten Menge, jedoch nicht im Penetrationsprofil

unterscheiden (s. Abbildung 33). Bis der Wirkstoff im Donator vollständig aufgelöst ist, gelten für die beiden Suspensionen mit 2% und 10% Dithranol gleiche Parameter (Auflösungskoeffizient, Diffusionskoeffizient und Verteilungskoeffizient). Erst kurz vor dem Gleichgewichtszustand läßt die Penetration in den Akzeptor nach, da kein Nachschub durch die Auflösung der Wirkstoffkristalle mehr erfolgt. Die Formulierung mit einem höheren Wirkstoffanteil ergibt verständlicherweise auch eine höhere Wirkstoffkonzentration im Akzeptor im Gleichgewichtszustand.

Die Eigenschaften der Differenzspektren der ATR-Technik gilt auch für die Differenzspektren aus den Versuchen mit der PAS-Technik (s. Abbildung 35, 36). Auffallend sind breite Banden in photoakustischen Spektren, dafür ist die Ausbreitung der thermischen Wellen verantwortlich (s. Abbildung 37) [4]. Die Banden in PA-Spektren entsprechen größtenteils denen der ATR-Spektren. Sie unterscheiden sich in Bandenintensitätsverhältnissen, jedoch nicht in der Position. Zu nah beieinander liegende Banden in ATR-Spektren können im PA-Spektrum zu einer breiten Bande zusammenschmelzen (z.B. Bereiche um 1475 und 1615 cm^{-1}). Die breiten Banden der PA-Spektren erschweren die quantitative Auswertung. Hinzu kommen die detektorbedingte Schwankungen der PA Spektren im Bereich unterhalb 1000 cm^{-1} . Nur der Spektralbereich zwischen 1000 und 2000 cm^{-1} kann zur quantitativen Auswertung herangezogen werden. Einen Vorteil gegenüber der ATR-Technik ist, dass die PA-Spektren kaum vom Wasserdampf gestört werden, damit entfällt die Spektrenkorrektur.

Generell ist die Genauigkeit und die Reproduzierbarkeit der ATR-Technik höher als die der PAS-Technik. Das ist anhand der wesentlich größeren Streuung der Messpunkte bei der PAS-Messung gut zu erkennen (s. Abbildung 38). Die Ursache liegt einerseits in der Überlagerung der PAS-Banden, andererseits existieren mehr potentielle Störfaktoren bei der PAS- als bei der ATR-Technik. Die Fehlerquelle bei der ATR-Messung ist hauptsächlich der veränderte Kontakt zwischen der Membran und dem ATR-Kristall, der von der Temperatur und der Luftfeuchtigkeit im Messraum abhängt. Diese beiden Parameter können jedoch gut gesteuert werden. Die PAS-Messungen werden von diesen beiden Faktoren weniger beeinflusst, sie sind aber sehr geräuschempfindlich. Die PAS-Experimente wurden hauptsächlich in der Nacht durchgeführt, die Versuchsdauer liegt bei 600 min. Für alle untersuchten Wirkstoffe ist sie aber ausreichend, nach 500 min ist die Signalintensitätszunahme kaum nennenswert (s. Abbildung 34).

Die Penetrationsprofile der PAS-Versuche entsprechen denen der ATR-Versuche. Die Signalintensitätszunahme im Versuch mit Methoxsalen ist am schnellsten, mit Dithranol am langsamsten. Der Unterschied zwischen den Penetrationsprofilen ist nicht so groß ausgefallen wie in den ATR-Experimenten.

Da mit der PAS-Technik fast die gesamte Membran erfasst wurde, ist die „lag-time“ in allen PAS-Experimenten kaum zu erkennen, erst mit einer höheren Modulationfrequenz kommt diese Verzögerung zum Vorschein (s. Abbildung 8a), da mit dieser Frequenz ein kleinerer Teil der Membran erfasst wurde. Die Möglichkeit, die Abtasttiefe zu verändern, ist der größte Vorteil der PAS-Technik, je niedriger die Modulationfrequenz ist, desto größer ist die Abtasttiefe, die Bandenintensität nimmt schnell zu. Bei einer niedrigeren Frequenz überlagern sich die Spektralbanden, bei einer höheren Frequenz ist das Signal/Rausch-Verhältnis ungünstiger. Beide Effekten führen zu Ungenauigkeiten bei der quantitativen Auswertung. Der optimale Frequenzbereich liegt zwischen 91 und 112 Hz.

Die Ergebnisse der PAS-Experimente mit unterschiedlichen Modulationsfrequenzen können sowohl mit dem Modell **A** als auch mit dem Modell **B** ausgewertet werden. Das letztere ergibt eine bessere Kurvenanpassung an die Messdaten, d.h. das Konfidenzintervall ist kleiner (s. Abbildung 39), da das Modell **B** den Signalbildungsprozess besser widerspiegelt. Das Modell **B** benötigt jedoch mehr Parameter.

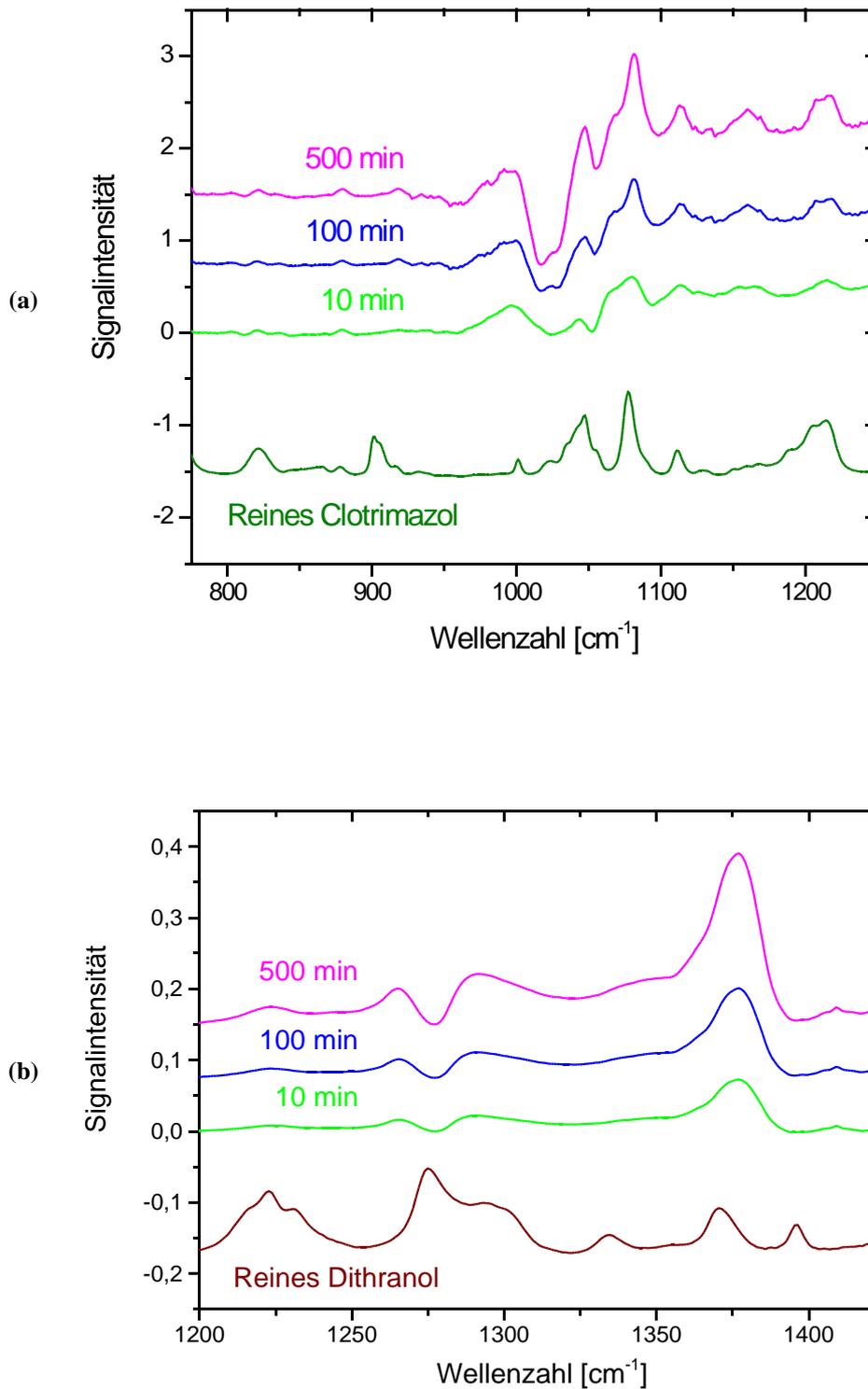


Abbildung 30: ATR-Differenzspektren des Penetrationsexperiments von Clotrimazol (a) und Dithranol (b) aus einer 2% Vaseline-Suspension zu verschiedenen Zeitpunkten. Zum Vergleich ist das Spektrum von reinem Wirkstoff angegeben.

Resultate und Diskussionen

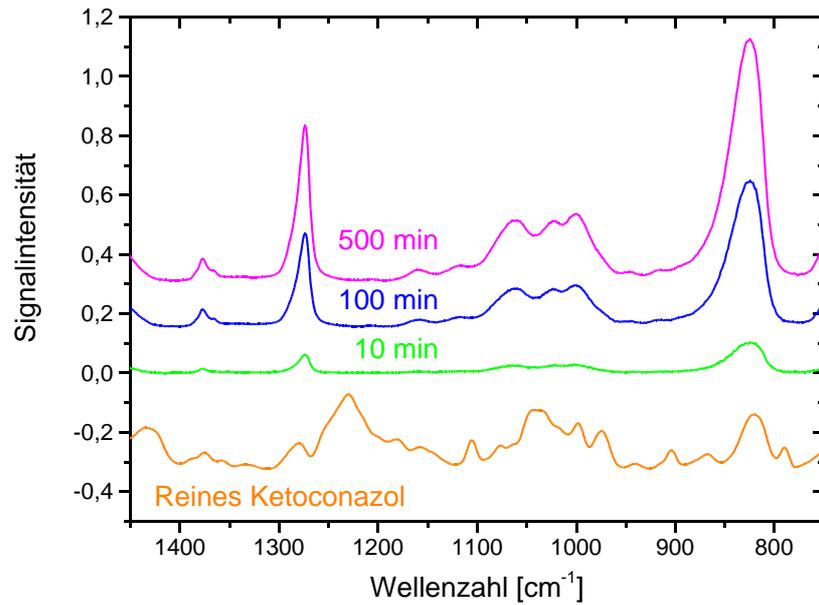


Abbildung 31: ATR-Differenzspektren des Penetrationsexperiments von Ketoconazol aus einer 2% Vaseline-Suspension zu verschiedenen Zeitpunkten. Zum Vergleich ist das Spektrum von reinem Ketoconazol angegeben

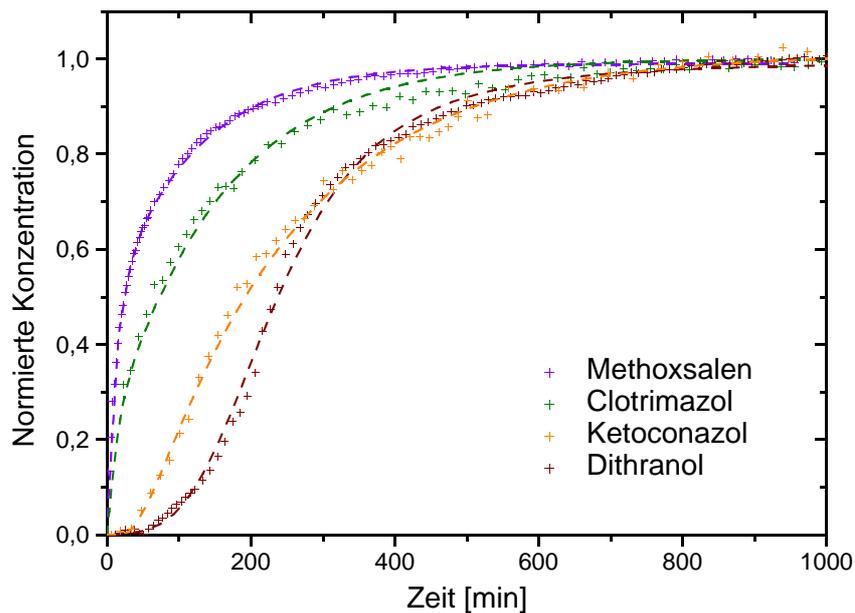


Abbildung 32: Zunahme der normierten Signalintensität von Dithranol, Ketoconazol, Clotrimazol und Methoxsalen während der Penetration aus einer 2% Vaseline-Suspension bestimmt durch FTIR-ATR

Resultate und Diskussionen

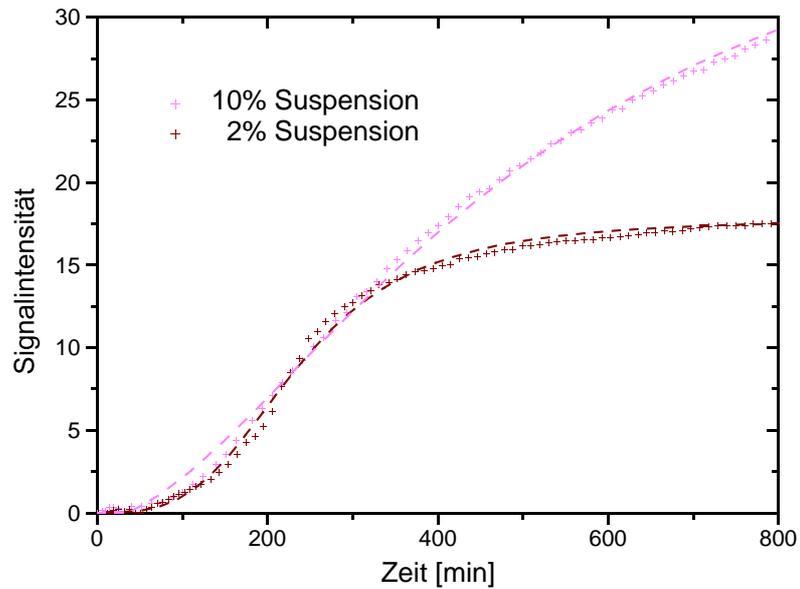


Abbildung 33: Vergleich der Zunahme der normierten Signalintensität von Dithranol während des Penetrationsexperiments aus Vaseline-Suspensionen mit 2% und 10% Dithranol bestimmt durch FTIR-ATR

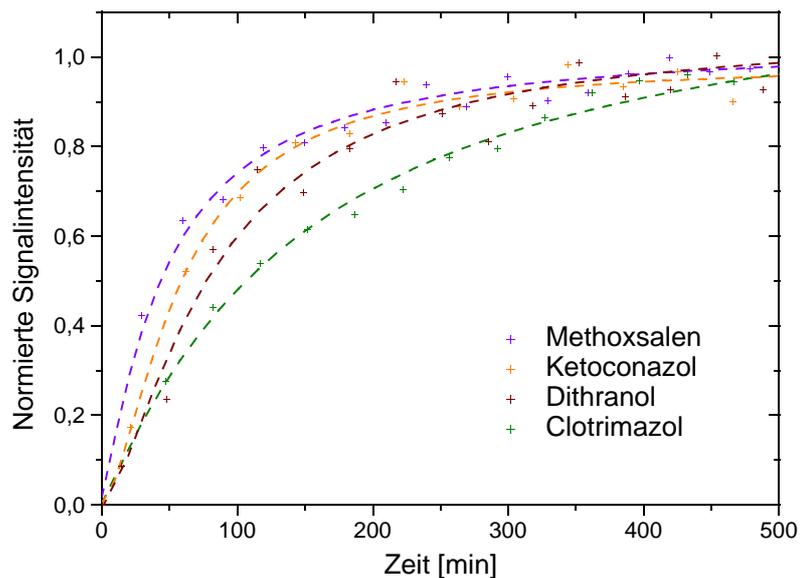


Abbildung 34: Zunahme der normierten Signalintensität von Methoxsalen, Clotrimazol, Ketoconazol und Dithranol während des Penetrationsexperiments bestimmt durch step-scan FTIR-PAS mit Phasenmodulationsfrequenzen von 54 Hz.

Resultate und Diskussionen

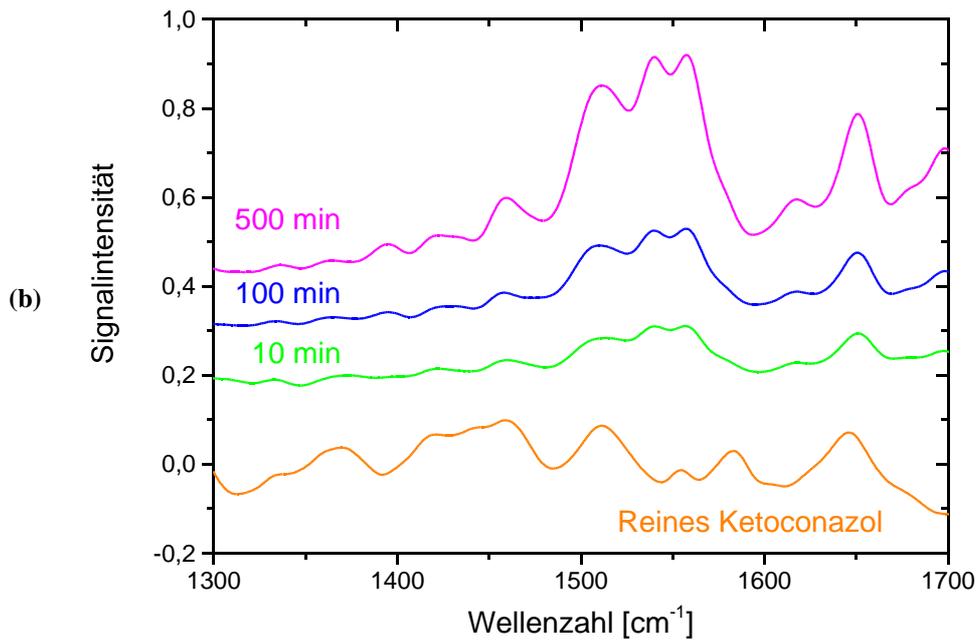
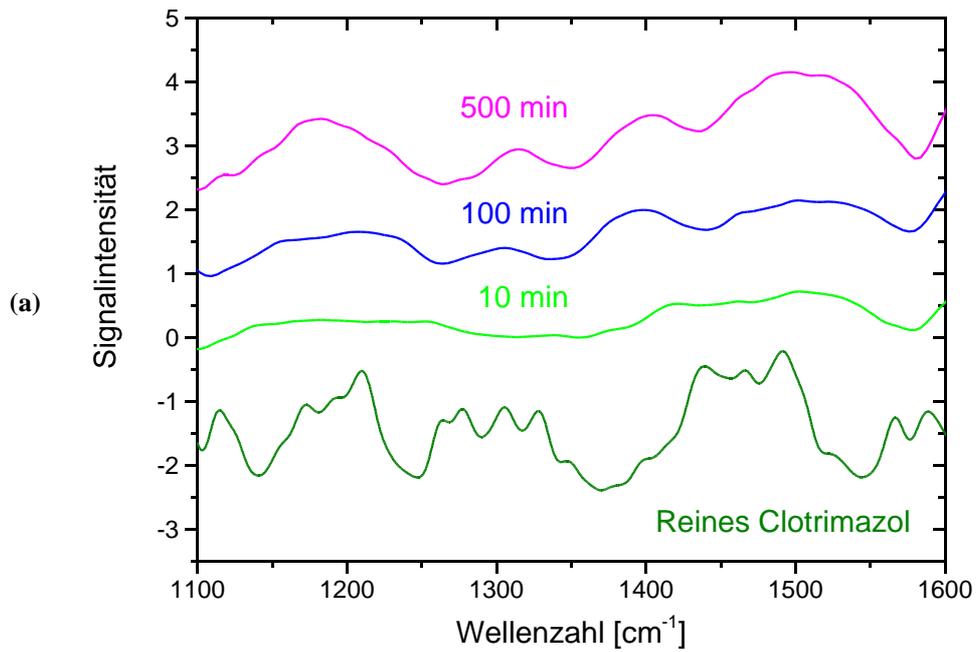


Abbildung 35: PAS-Differenzspektrern des Penetrationsexperiments von Clotrimazol (a) und Ketoconazol (b) aus einer 2% Vaseline-Suspension zu verschiedenen Zeitpunkten. Zum Vergleich ist das Spektrum von reinem Wirkstoff angegeben. Die Originalspektrern wurden im step-scan Modus mit einer Phasenmodulationsfrequenz von 112 Hz aufgenommen.

Resultate und Diskussionen

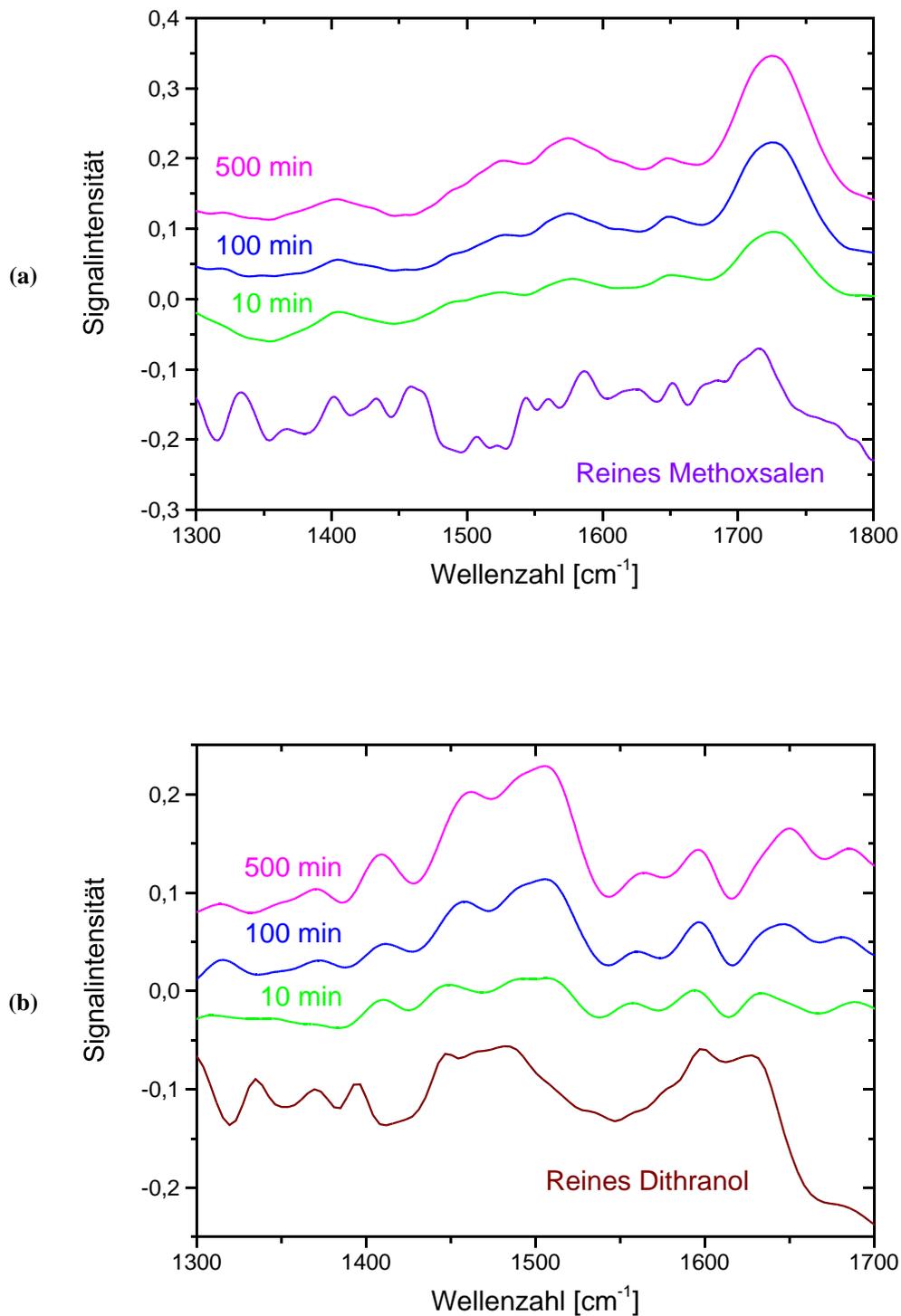


Abbildung 36: PAS-Differenzspektren des Penetrationsexperiments von Methoxsalen (a) und Dithranol (b) aus einer 2% Vaseline-Suspension zu verschiedenen Zeitpunkten. Zum Vergleich ist das Spektrum von reinem Wirkstoff angegeben. Die Originalspektren wurden im „step-scan“ Modus mit einer Phasenmodulationsfrequenz von 112 Hz aufgenommen.

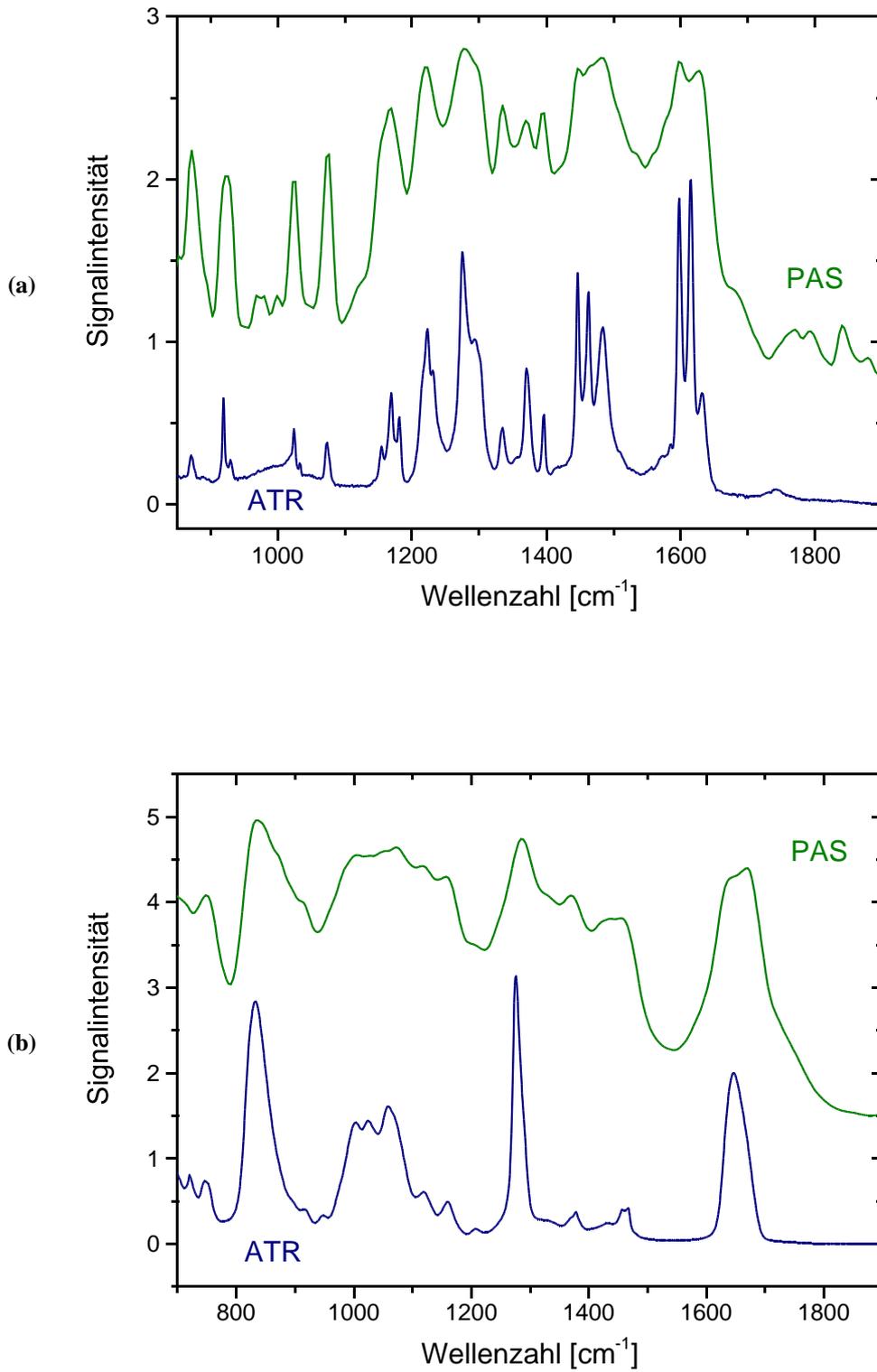


Abbildung 37: ATR- und PA-Spektrum von Clotrimazol (a) und DDC-Membran (b)

Resultate und Diskussionen

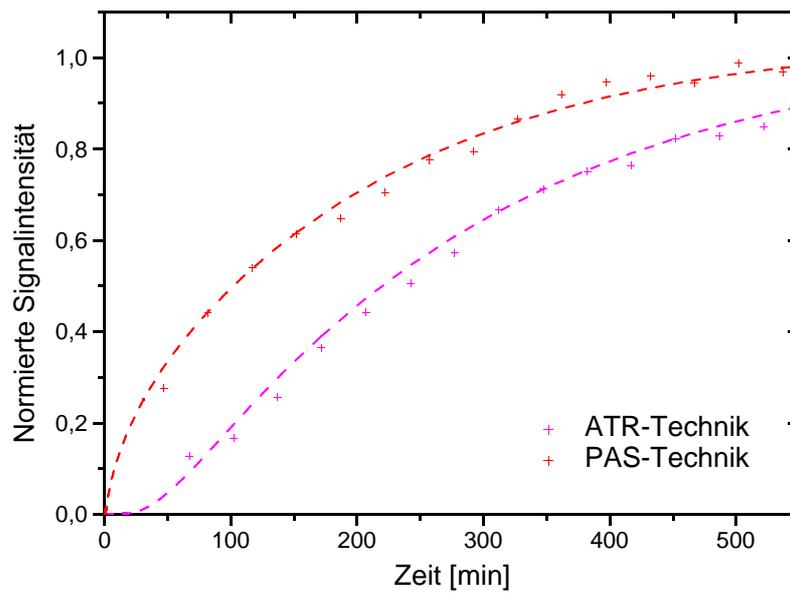


Abbildung 38: Zunahme der normierten Signalintensität von Clotrimazol während des Penetrationsexperiments aus einer 2% Vaseline-Suspension bestimmt durch FTIR-ATR und step-scan FTIR-PAS mit Phasenmodulationsfrequenzen von 112 Hz

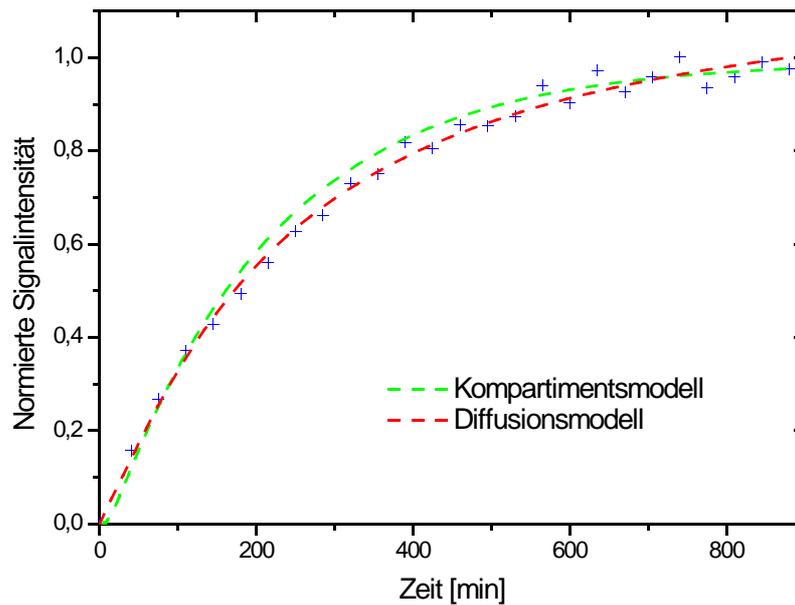


Abbildung 39: Vergleich der Kurvenanpassung an die Messdaten des PAS-Experiments mit dem Modell A und B

6.1.2. Freisetzung und Penetration von Wirkstoffen aus Vaseline-Suspensionen unter Zusatz vom dünnflüssigen Paraffin

Mit Hilfe der ATR-Technik wurde die Wirkstofffreisetzung aus dem Donator untersucht (s. Abbildung 12a, 41, 42). Aus diesen Experimenten kann der Auflösungskoeffizient in der Suspension bestimmt werden [38]. Dieser Parameter kann nicht direkt gemessen werden, sondern nur mit Hilfe des mathematischen Modells durch eine Anpassung der berechneten Werte an die spektroskopischen Daten ermittelt werden (s. Abbildung 43). Beim Experiment mit Methoxsalen ist die Streuung der Messdaten erheblich größer als bei den anderen Wirkstoffen. Die Ursache liegt bei den nadelförmigen Kristallen von Methoxsalen. Diese Kristallform ist ungünstig für den zur ATR-Messung notwendigen Kontakt zwischen den Wirkstoffkristallen und dem ATR-Kristall.

Die Ergebnisse der Freisetzungsexperimente bestätigten die Resultate der Penetrationsexperimente, Methoxsalen wird am schnellsten freigesetzt, gefolgt von Clotrimazol, Ketoconazol und am langsamsten wird Dithranol freigesetzt. Eine Verzögerungszeit am Anfang des Freisetzungsprozesses ist bei Ketoconazol und Dithranol zu erkennen.

Wirkstoff	Auflösungskoeffizient in Vaseline [s^{-1}]
Clotrimazol	$(8,4 \pm 0,7) 10^{-5}$
Dithranol	$(3,8 \pm 0,3) 10^{-5}$
Ketoconazol	$(1,46 \pm 0,11) 10^{-4}$
Methoxsalen	$(5,38 \pm 0,26) 10^{-4}$

Tabelle 12: Auflösungskoeffizient vom Wirkstoff in Vaseline

Da der Auflösungskoeffizient, der Diffusionskoeffizient im Donator und der Verteilungskoeffizient zwischen dem Donator und dem Akzeptor vom flüssigen Anteil der Suspension abhängen (s. Kapitel 4.1), kann das Penetrationsverhalten durch Zugabe vom dünnflüssigen Paraffin beeinflusst werden. Die Freisetzung und die Penetration aus Vaseline-Suspensionen mit einem Anteil am dünnflüssigen Paraffin von 5%, 10%, 15% und 20% wurden mit Hilfe der ATR- und PAS-Technik charakterisiert (s. Abbildung 44). Es zeigte sich, dass der Auflösungskoeffizient mit zunehmendem Anteil am dünnflüssigen Paraffin ansteigt. Die Ursache dafür liegt am verringerten Anteil am festen Paraffin. Ein niedrigerer Anteil am festen Paraffin begünstigt den Kontakt zwischen den Wirkstoffkristallen und der flüssigen Phase der Suspension. Ein besserer Kontakt ermöglicht verständlicherweise eine schnellere Auflösung. Für die Simulation wurde eine lineare Korrelation zwischen dem Auflösungskoeffizienten und dem Anteil am dünnflüssigen Paraffin angenommen (s. Abbildung 45).

Durch Zugabe vom dünnflüssigen Paraffin wird der Wirkstoffverteilungskoeffizient zwischen dem Donator und dem Akzeptor ebenfalls verändert, da die effektive Löslichkeit im Donator direkt proportional zu dem Anteil am dünnflüssigen Paraffin ist.

Charakteristisch für die Freisetzungsgeschwindigkeit ist die Größe $t_{1/2}$, die Zeit bis die Hälfte der Wirkstoffmenge freigesetzt wurde. Bei Methoxsalen und Dithranol beeinflusst die Zugabe vom dünnflüssigen Paraffin der Wirkstofffreisetzung und -penetration kaum, die Zeit $t_{1/2}$ wird kaum verändert. Das liegt am schnellen Freisetzungs- und Penetrationsprozess dieser Wirkstoffe. Eine Beschleunigung ist nur noch in sehr geringer Masse möglich.

Bei Clotrimazol wird die Wirkstofffreisetzung mit zunehmendem dünnflüssigem Paraffinanteil verstärkt, gut zu erkennen an der verringerten Zeit $t_{1/2}$. In diesem Fall wird der Freisetzungs- und Diffusionsprozess durch eine Steigerung des Freisetzungs- und Diffusionskoeffizienten begünstigt.

Resultate und Diskussionen

Bei Ketoconazol steigt die Freisetzungsgeschwindigkeit mit einer Zugabe vom dünnflüssigen Paraffin bis 15% an, fällt aber beim 20% wieder ab. In dieser Suspension überwiegt der Einfluss des verringerten Verteilungskoeffizienten gegenüber dem Effekt eines erhöhten Auflösungs- und Diffusionskoeffizienten (s. Kapitel 4.1).

Da dünnflüssiges Paraffin keine spezifische IR-Absorptionsbande aufweist (s. Abbildung 40), kann nicht festgestellt werden, ob eine Diffusion vom dünnflüssigen Paraffin in die Membran erfolgt. Zur Vereinfachung des Modells wurde jedoch angenommen, dass der Anteil am dünnflüssigen Paraffin im Donator während der Wirkstoffpenetration unverändert bleibt.

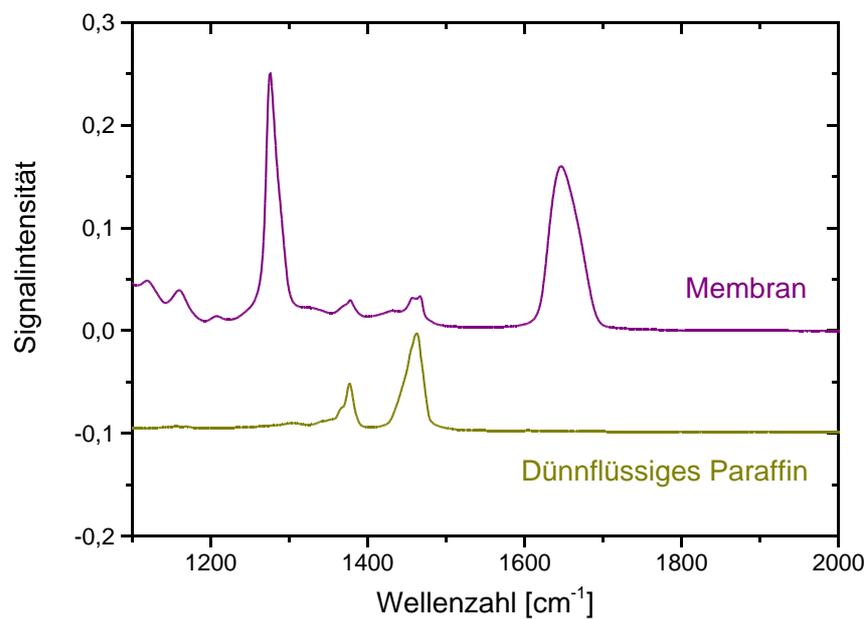


Abbildung 40: ATR-Spektrum vom dünnflüssigen Paraffin. Zum Vergleich ist das ATR-Spektrum der reinen Membran angegeben.

Resultate und Diskussionen

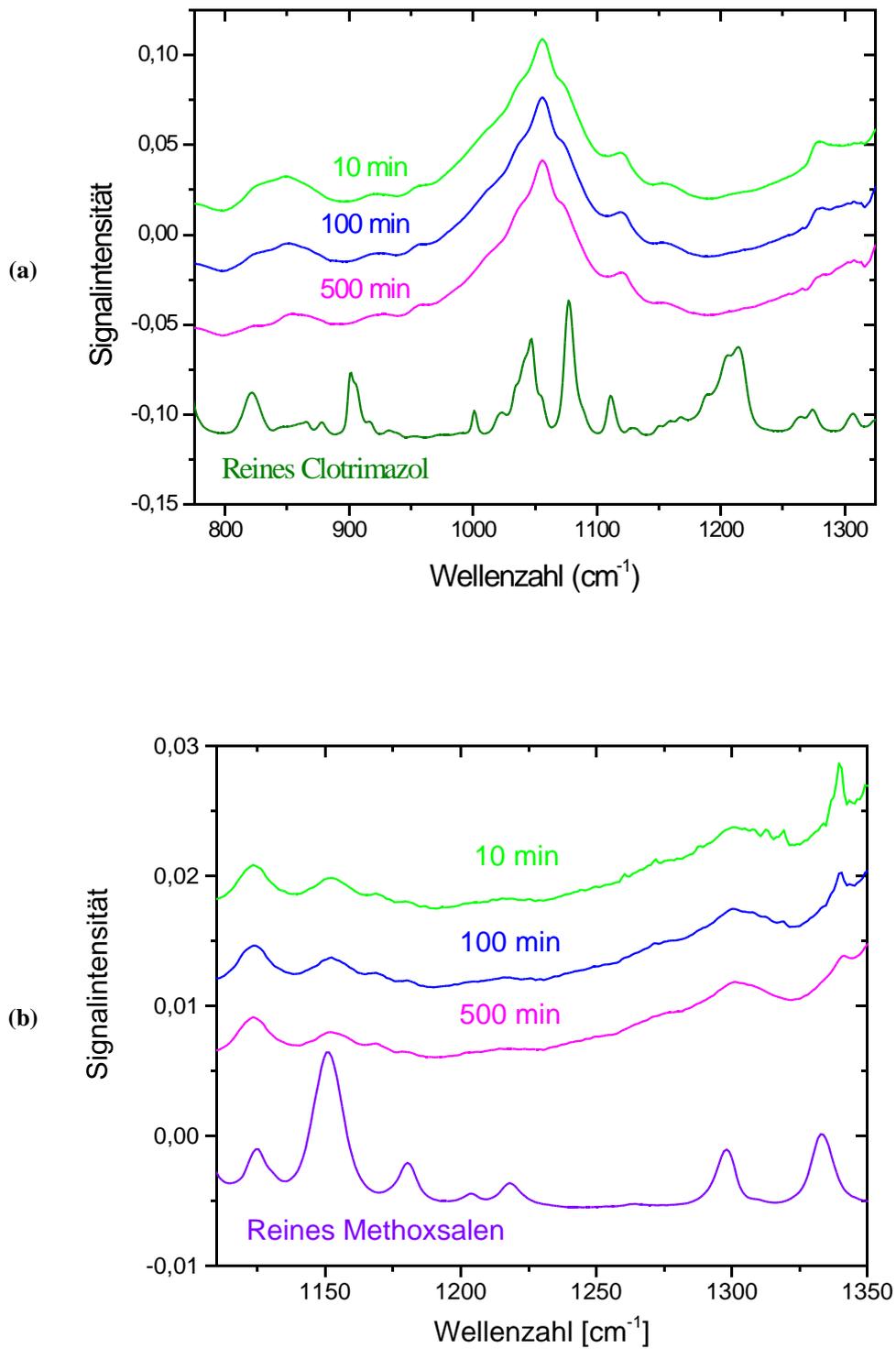


Abbildung 41: ATR-Differenzspektren des Freisetzungsexperiments von Clotrimazol (a) und Methoxsalen (b) aus einer 2% Vaseline-Suspension zu verschiedenen Zeitpunkten. Zum Vergleich ist das Spektrum von reinem Wirkstoff angegeben.

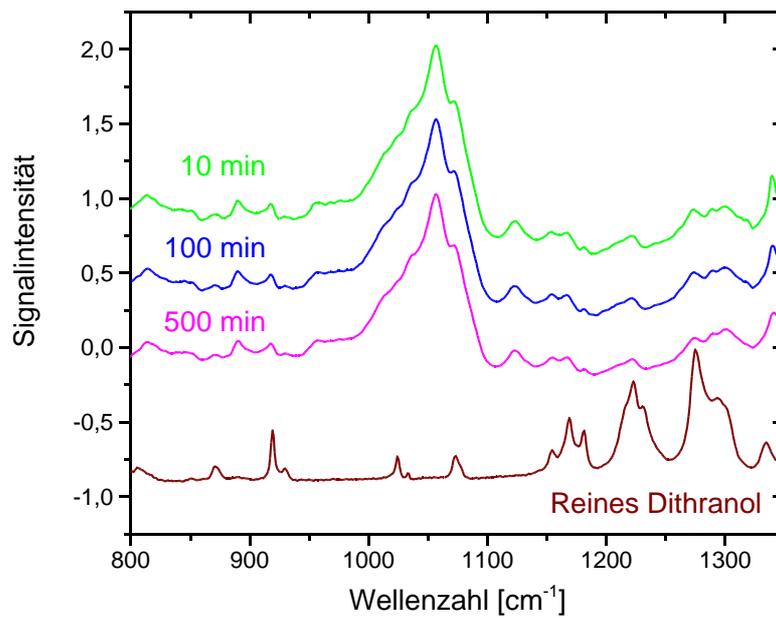


Abbildung 42: ATR-Differenzspektren des Freisetzungsexperiments von Dithranol aus einer 2% Vaseline-Suspension zu verschiedenen Zeitpunkten. Zum Vergleich ist das Spektrum von reinem Dithranol angegeben.

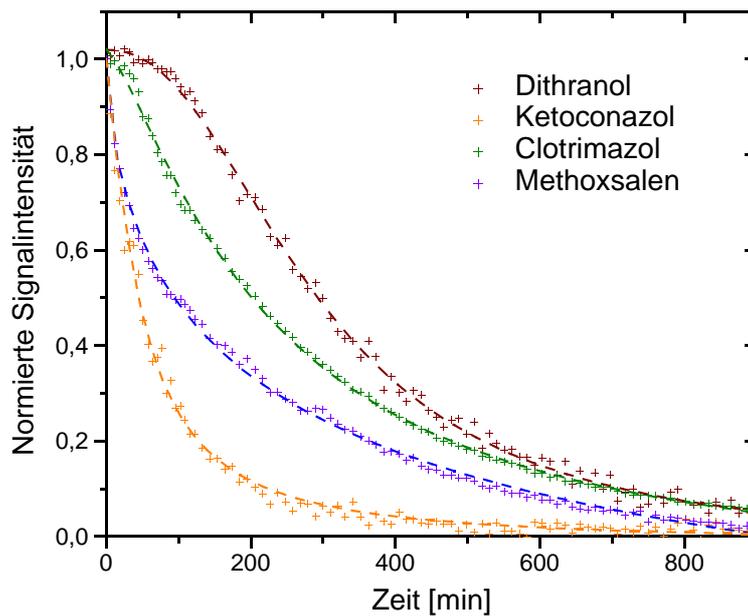


Abbildung 43: Abnahme der normierten Signalintensität von Dithranol, Ketoconazol, Clotrimazol und Methoxsalen während der Freisetzung aus einer 2% Vaseline-Suspension bestimmt durch FTIR-ATR

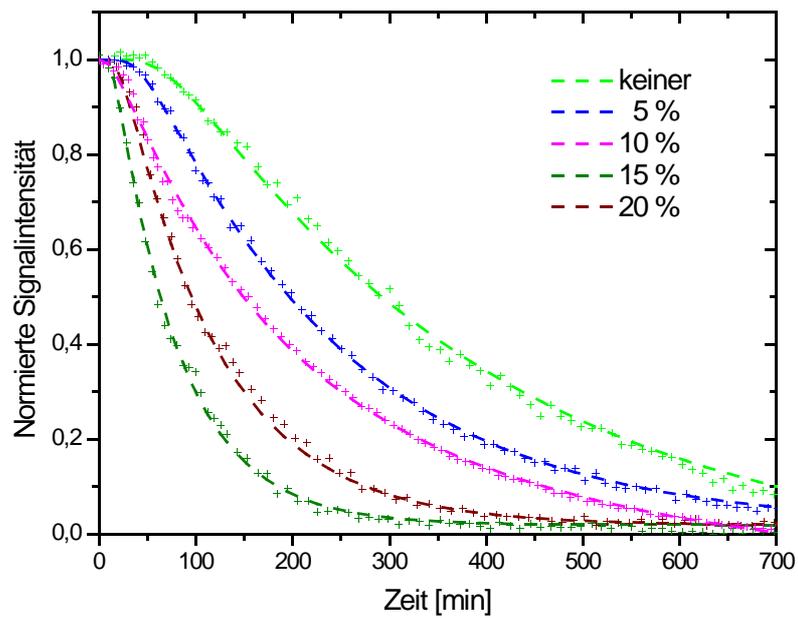


Abbildung 44: Abnahme der normierten Signalintensität von Ketoconazol während der Freisetzung aus Vaseline-Suspensionen mit 2% Ketoconazol mit verschiedenem Anteil am dünnflüssigen Paraffin-Zusatz, bestimmt durch FTIR-ATR

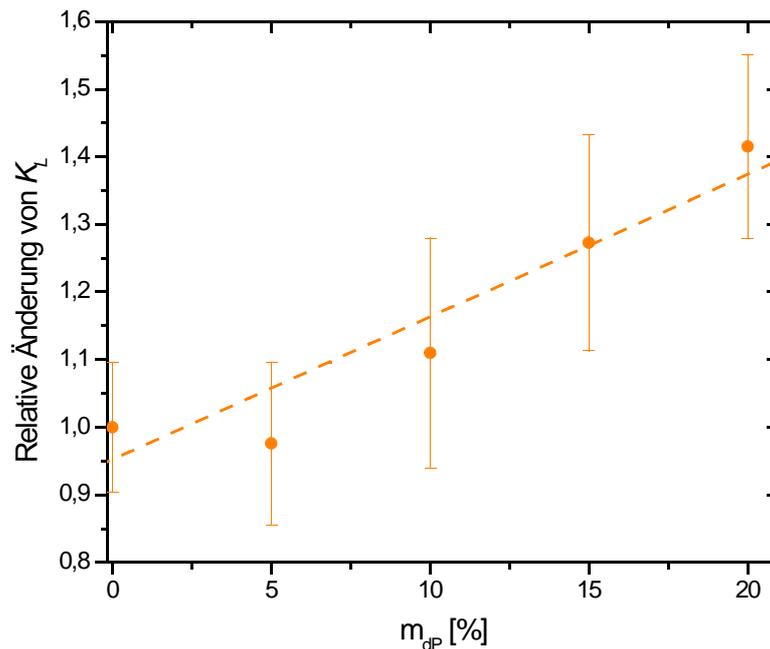


Abbildung 45: Abhängigkeit des Auflösungskoeffizienten K_L vom Anteil am dünnflüssigen Paraffin m_{DP}

6.1.3. Penetration von Propylenglykol aus Vaseline-Suspensionen

In der Arbeit von Takeuchi wurde die Penetration von PG in Mäusen-Haut untersucht [115]. Die Untersuchung zeigte ein Zusammenhang zwischen der Intensitätsabnahme der C=O „Stretching“-Bande der Lipid-Fraktion in SC mit der Konzentration von PG in der Haut. Die PG-Penetration in die Haut konnte mittel FTIR-ATR verfolgt werden. Eine zeitabhängige Untersuchung wurde jedoch nicht angestrebt.

Das Penetrationsverhalten von PG in den Akzeptor wurde in der vorliegenden Arbeit mit Hilfe der ATR-Technik charakterisiert. Dabei wurden Formulierungen mit unterschiedlicher PG-Konzentration (2,5%, 5%, 7,5% und 10%) untersucht. PG hat nur wenige IR-Absorptionsbanden und die auswertbaren Banden liegen im Wellenzahl-Bereich unterhalb 1150 cm^{-1} (s. Abbildung 46). Der PG-Penetrationsprozess kann deshalb mit Hilfe der PAS-Technik nur ungenau verfolgt werden (s. Kapitel 5.3.4).

Da die Intensität der Absorptionsbanden von PG relativ schwach ist, ist die Streuung der Messdaten wesentlich größer als bei den Penetrationsuntersuchungen an Wirkstoffen (s. Abbildung 47). Der Penetrationsprozess von PG verläuft relativ schnell, nach 300 min ist der größte Teil von PG bereits in die Membran penetriert.

Durch eine Anpassung des Modells für die PG-Penetration in Kapitel 4.2 an den experimentellen Daten wurde der Diffusionskoeffizient von PG in der Membran berechnet, $D_{A-PG} : (28,31 \pm 0,59) 10^{-9} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$. Eine gute Anpassung am Anfang und die erkennbare Abweichung der berechneten Kurve von den Messdaten in der späteren Phase des Penetrationsprozesses deutet auf einen Anstieg des Diffusionskoeffizienten infolge der PG-Konzentrationszunahme im Akzeptor. Offensichtlich beschleunigt PG den eigenen Penetrationsprozess („self enhancer“-Effekt). Eine kleine Verschiebung der Membranbande bei 1643 cm^{-1} ist ein Hinweis für die Wechselwirkung zwischen PG und der Membran. Um das Modell im überschaubaren Umfang zu halten, wurde der „self enhancer“-Effekt im Modell nicht berücksichtigt. Hier ist ein Ansatz für spätere Arbeiten.

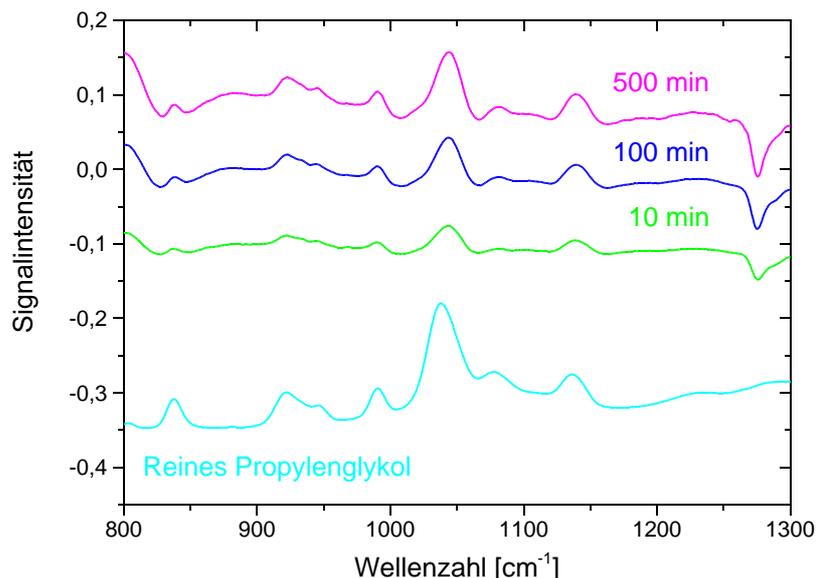


Abbildung 46: ATR-Differenzspektren des Penetrationsexperiments von PG aus einer Vaseline-Suspension mit 2,5% Propylenglykol zu verschiedenen Zeitpunkten. Zum Vergleich ist das Spektrum von reinem Propylenglykol angegeben.

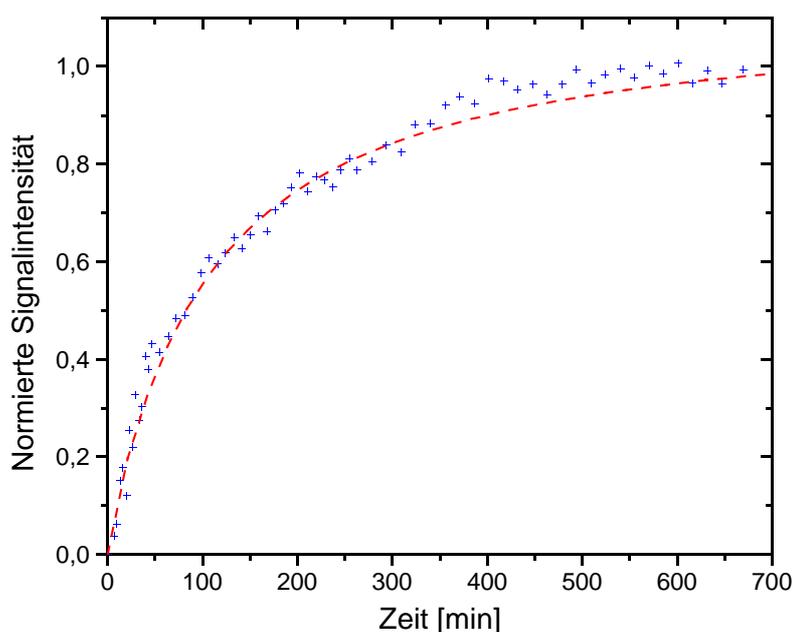


Abbildung 47: Zunahme der normierten Signalintensität von PG während der Penetration aus einer Vaseline-Suspension mit 2,5% Propylenglykol bestimmt durch FTIR-ATR

6.1.4. Penetration von Wirkstoffen aus Vaseline-Suspensionen unter Zusatz von Propylenglykol

Bei der Untersuchung des PG-Einflusses auf den Wirkstoffpenetrationsprozess wurden zuerst die Abhängigkeit des Wirkstoffdiffusionskoeffizienten vom PG-Anteil im Akzeptor bestimmt. In diesem Versuch wurde die Penetration aus einer Vaseline-Suspension in eine Membran mit eingestellter PG-Konzentration (s. Kapitel 5.4.5) untersucht (s. Abbildung 48). Aus diesen Daten kann der Diffusionskoeffizient in der präparierten Membran bestimmt werden.

Die Penetration aus PG-haltigen Suspensionen mit unterschiedlichem PG-Anteil wurde mit Hilfe der ATR-Technik untersucht. Da PG und der Wirkstoff unterschiedliche Absorptionsbanden besitzen, wurde zugleich die PG-Penetration und die Wirkstoffpenetration verfolgt (s. Abbildung 51).

Erwartungsgemäß entspricht das Penetrationsprofil von PG aus einer PG/Wirkstoff-Suspension weitestgehend dem Penetrationsprofil aus einer PG-Suspension, da die PG-Penetration nicht vom Wirkstoff beeinflusst wird. Die Wirkstoffpenetration aus der PG-haltigen Suspension ist signifikant höher als die aus der PG-freien Suspension (s. Abbildung 52). Der Vergleich der Wirkstoffpenetration aus einer PG-haltigen Suspension in eine PG-freie Membran mit der aus einer PG-freien Suspension in eine PG-haltige Membran zeigte, dass bis zu einer Zeit von 400 min der Prozess unterschiedlich verläuft: die Penetration in die PG-haltige Membran erfolgt schneller (s. Abbildung 48). Ab 400 min gibt es keinen Unterschied mehr, da der größte Teil von PG bereits in die Membran penetriert ist. Der Unterschied des Diffusionskoeffizienten im Akzeptor ist damit weitgehend ausgeglichen (s. Abbildung 52).

Die Penetrationssteigerung durch den PG-Zusatz ist wesentlich kleiner als die durch die

Resultate und Diskussionen

Zugabe vom dünnflüssigen Paraffin. Da die PAS-Technik von sich aus eine geringere Genauigkeit besitzt, kann der Unterschied des Penetrationsverhaltens in PAS-Experimenten nur mit dem Modell **B** ausreichend ausgewertet werden. Durch das größere Vertrauensintervall des Modells **A** ist der Unterschied kaum zu charakterisieren

Resultate und Diskussionen

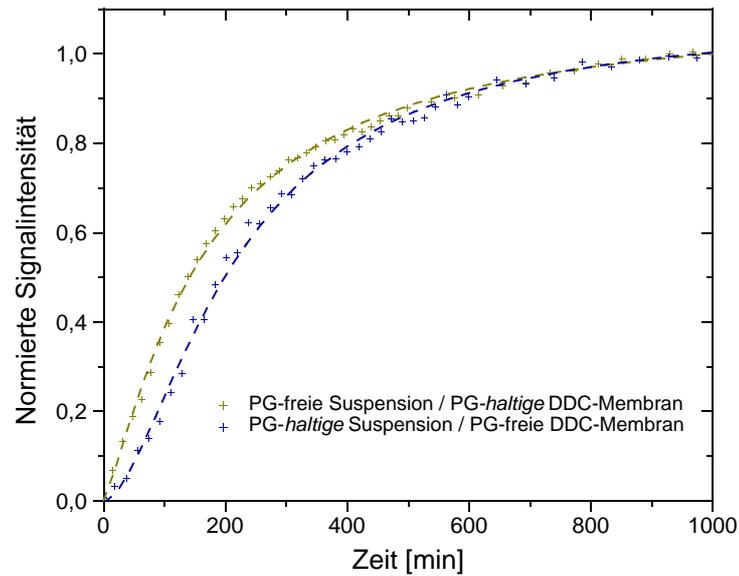


Abbildung 48: Zunahme der normierten Signalintensität von Clotrimazol während der Penetration aus einer Vaseline-Suspension mit 2% Clotrimazol und 10% PG in eine PG-freie DDC-Membran bestimmt durch FTIR-ATR. Zum Vergleich Clotrimazol-Penetration aus einer PG-freien Vaseline-Suspension mit 2% Clotrimazol in eine PG-haltige DDC-Membran

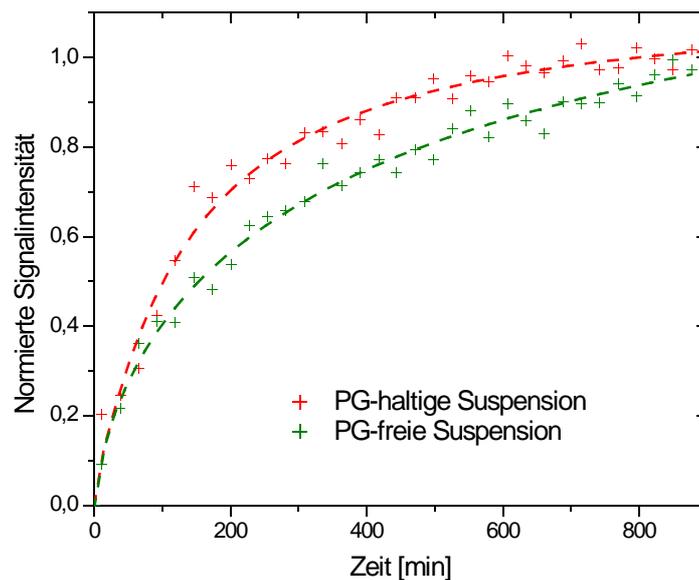


Abbildung 49: Zunahme der normierten Signalintensität von Clotrimazol während der Penetration aus einer Vaseline-Suspension mit 2% Clotrimazol und 10% PG bestimmt durch step-scan FTIR-PAS mit Phasenmodulationsfrequenzen 418 Hz. Zum Vergleich Clotrimazol-Penetration aus einer PG-freien Vaseline-Suspension mit 2% Clotrimazol

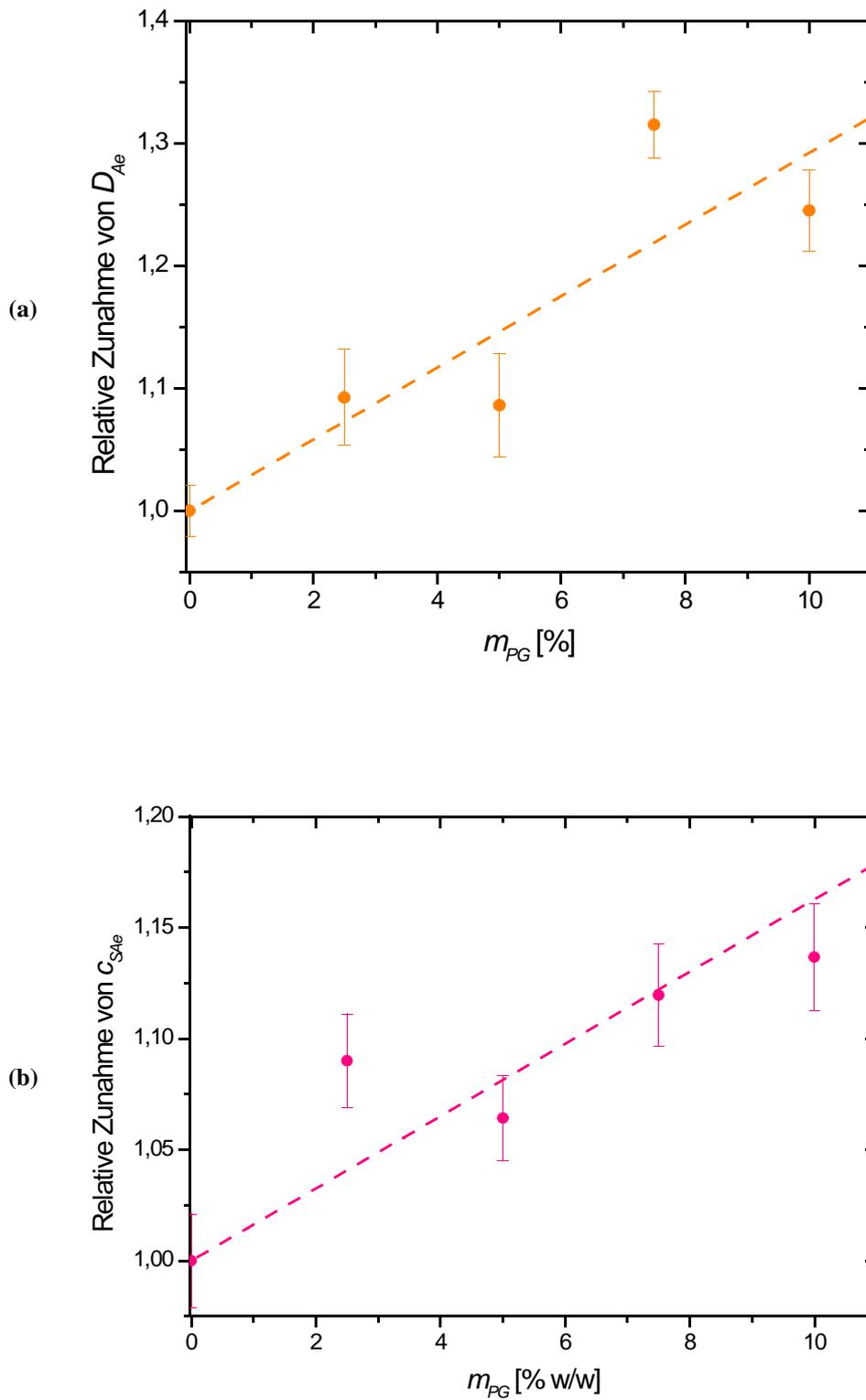


Abbildung 50: Abhängigkeit des Diffusionskoeffizienten vom Wirkstoff D_{Ae} (a) und der Wirkstofflöslichkeit (b) im Akzeptor c_{SAe} vom PG-Anteil m_{PG}

Resultate und Diskussionen

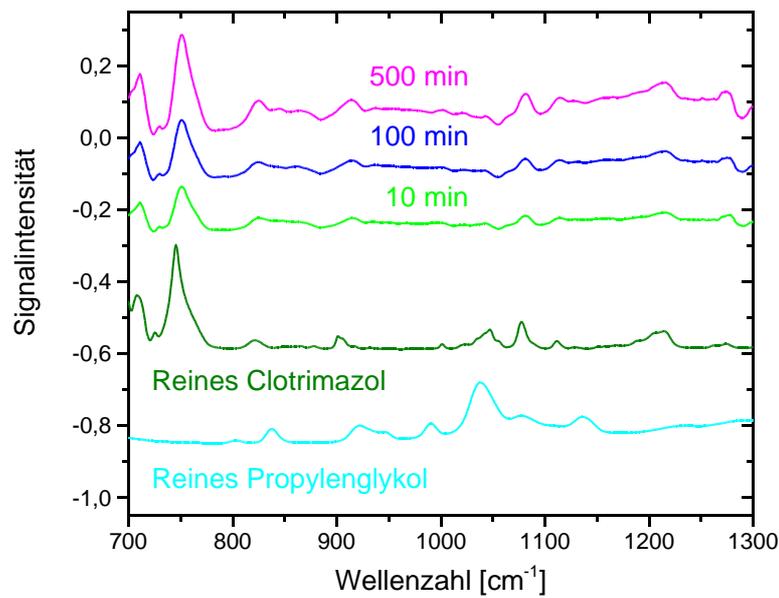


Abbildung 51: ATR-Differenzspektren des Penetrationsexperiments von PG und Clotrimazol aus einer Vaseline-Suspension mit 2% Clotrimazol und 10% PG zu verschiedenen Zeitpunkten. Zum Vergleich ist das Spektrum von reinem PG und Clotrimazol angegeben.

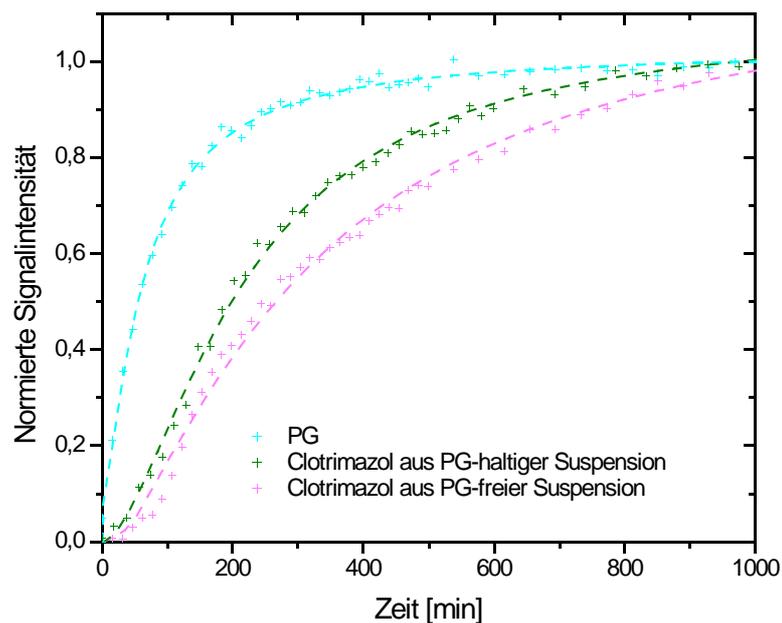


Abbildung 52: Zunahme der normierten Signalintensität von PG und Clotrimazol während der Penetration aus einer Vaseline-Suspension mit 2% Clotrimazol und 10% PG bestimmt durch FTIR-ATR. Zum Vergleich Clotrimazol-Penetration aus einer PG-freien Vaseline-Suspension mit 2% Clotrimazol

6.1.5. Simulation der Wirkstoffpenetration aus Suspensionen unter in-vitro und in-vivo Bedingungen

Mit Hilfe des mathematischen Modells und der experimentellen bestimmten Parameter kann jeder einzelne Schritt der Wirkstofffreisetzung aus einer Suspension nachvollzogen werden. Dadurch können neue Kenntnisse über das Freisetzungs- und Penetrationsverhalten gewonnen werden. Die wichtigste Information ist das nicht direkt messbare zeit- bzw. ortsabhängige Konzentrationsprofil im Donator und Akzeptor (s. Abbildung 54, 53) [128]. Mit Hilfe des mathematischen Modells wurde die Simulation der Wirkstoffpenetration unter in-vitro und in-vivo Bedingungen durchgeführt. Der Unterschied zwischen den beiden Penetrationsprozessen liegt in der verschiedenen Akzeptorrand-Bedingung. Unter in-vitro Bedingungen ist sie die Nullstrom-Bedingung, unter in-vivo Bedingungen ist die „sink“-Bedingung (s. Kapitel 4.1) [28, 118].

Die Simulation der Wirkstoffpenetration unter in-vitro Bedingungen verdeutlicht, dass zuerst die Wirkstoffmenge an der Grenzfläche aus dem Donator in den Akzeptor penetriert. Die Konzentration im Donator nahe der Grenzfläche nimmt sehr schnell ab. Infolge des Konzentrationsausgleichs sinkt langsam die Konzentration im Inneren des Donators, erst nach einer Verzögerungszeit („lag-time“) erreicht die Konzentrationsänderung den Donatorrand.

Da im Freisetzungsexperiment mit der ATR-Technik nur die Konzentrationsänderung in einer 2 μm Schicht am Donatorrand ermittelt werden kann, wurde die Intensitätsänderung der Wirkstoffbanden erst nach dieser Verzögerungszeit registriert. Im Akzeptor steigt zunächst die Konzentration an der Grenzfläche, der Wirkstoff breitet sich langsam in die Richtung des Akzeptorrandes und erreicht diesen erst mit einer Verzögerung. Ähnlich wie im Freisetzungsexperiment kann im Penetrationsexperiment mit der ATR-Technik die Intensitätsänderung der Wirkstoffbanden nach einer „lag-time“ ermittelt werden. Auf Grund der unterschiedlichen Eigenschaft des Donators und Akzeptors (u.a. Dicke und Diffusionskoeffizient) ist die Verzögerungszeit in beiden Experimenten nicht identisch. Die Kurvenverläufe sind ebenfalls nicht spiegelbildlich (s. Abbildung 32, 43).

Das Konzentrationsprofil verdeutlicht auch die unterschiedlichen Verzögerungszeiten bei der PAS-Messung mit verschiedenen Modulationsfrequenzen. Mit einer höheren Frequenz (418 Hz) wurde die Konzentrationsänderung in der Schicht 6 μm vom Akzeptorrand ermittelt. Der Wirkstoff erreicht diese Schicht erst nach der Verzögerungszeit, sie ist aber wesentlich kürzer als bei der ATR-Messung, da deren Eindringtiefe nur 2 μm beträgt. Da beim niedrigeren Modulationsfrequenz (54 Hz) fast der gesamte Akzeptor erfasst wurde, kann vom Anfang an die Intensitätszunahme infolge der Akzeptorkonzentrationszunahme in der Nähe zum Donator registriert werden. Die Verzögerungszeit in diesem Fall ist nicht erkennbar. Die Simulation zeigte, dass die Konzentration im Akzeptor in der Grenzflächennähe sehr schnell zunimmt (s. Abbildung 53). An der von der Grenzfläche 2 μm entfernten Stelle ist Zweidrittel der Gleichgewichtskonzentration bereits nach 60 min erreicht, an der vom Akzeptorrand 2 μm entfernten Stelle erst nach mehr als 240 min.

Die Simulation hilft nicht nur bei der Auswertung der bereits durchgeführten Experimente, sondern auch bei der Planung der folgenden Experimente im Optimierungsprozess der topischen Formulierung. Mit dem mathematischen Modell und den bekannten Parametern kann nämlich der Freisetzungs- und Penetrationsprozess unter in-vivo Bedingungen simuliert werden. Hierfür gilt für den Akzeptorrand statt der Nullstrom-Bedingung die sink-Bedingung, da die Konzentration am Akzeptorrand immer gleich Null ist (s. Kapitel 4.1).

Die Simulation liefert hier ebenfalls das zeits- und ortsabhängige Konzentrationsprofil im Donator und Akzeptor (s. Abbildung 55, 56). Die Konzentrationsgefälle im Akzeptor zu einer Zeit t unter in-vivo Bedingungen wesentlich größer als unter in-vitro Bedingungen, da keine Wirkstoffanreicherung im Akzeptor vorliegt. Das zeitabhängige Konzentrationsprofil unterscheidet sich von dem unter in-vitro Bedingungen. Zuerst steigt die

Wirkstoffkonzentration im Akzeptor sehr schnell an, dann fällt sie langsam wieder ab. Die maximal erreichte Konzentration c_{max} und die zugehörige Zeit t_{max} sind ortsabhängig (s. Abbildung 57). Weiterhin wurde die zeitabhängige Wirkstoffabsorption im Körper ermittelt (s. Abbildung 59). In Kombination mit dem Abbau vom Wirkstoff kann die Wirkstoffkonzentration im Blut vorhergesagt werden.

Mit der Simulation kann weiterhin die Effektivität der Suspension vorhergesagt werden [14]. Als Kriterium für die Effektivität wurde die topische Verfügbarkeit im Akzeptor berechnet, die als Integral der mittleren Konzentration im Akzeptor über der Zeit definiert ist [54]. Ähnlich wie beim zeitabhängigen Konzentrationsprofil steigt am Anfang die Wirkstoffmenge im Akzeptor, in dieser Phase ist die in den Akzeptor penetrierte Menge größer als die aus dem Akzeptor penetrierte Menge (s. Abbildung 58). Nach der vollständigen Auflösung der Wirkstoffkristalle im Donator nimmt die Wirkstoffmenge im Akzeptor langsam ab, da der Wirkstofffluss in den Akzeptor versiegt. Durch eine Veränderung des Freisetzung- bzw. Penetrationsverhaltens kann die topische Verfügbarkeit beeinflusst werden. Die Penetration aus Suspensionen mit unterschiedlichem Anteil am dünnflüssigen Paraffin (von 0 - 20%) und PG (0 - 10%) wurde simuliert. Damit kann die Abhängigkeit der topischen Verfügbarkeit vom Anteil am dünnflüssigen Paraffin und PG ermittelt werden.

Bei einer Zugabe vom dünnflüssigen Paraffin nimmt die topische Verfügbarkeit von Clotrimazol stetig mit steigendem Anteil am dünnflüssigen Paraffin ab. Da der Auflösungskoeffizienten mit dem steigenden Anteil am dünnflüssigen Paraffin sehr stark zu nimmt (s. Abbildung 45), wird die Freisetzung im Donator ebenfalls beschleunigt. Die Zeit t_{max} , bis die Wirkstoffmenge im Akzeptor ihren maximalen Wert erreicht, wird verkürzt. Bei gleich bleibenden Ausfluss aus dem Akzeptor verringert sich die topische Verfügbarkeit. Bei Ketoconazol nimmt die topische Verfügbarkeit bis zu einem Anteil von 12% zu, dann aber wieder ab. Einerseits steigt die Ketoconazol-Löslichkeit im Donator mit steigendem Anteil am dünnflüssigen Paraffin. Infolge der Verringerung des Verteilungskoeffizienten zwischen dem Akzeptor und dem Donator wird die Wirkstoffpenetration durch die Grenzfläche verlangsamt. Dies führt zur einer Vergrößerung von t_{max} und damit zur Steigerung der topischen Verfügbarkeit. Andererseits wird die Freisetzung im Donator durch eine Steigerung des Auflösungskoeffizienten und der Löslichkeit im Donator begünstigt und damit wird der Gesamtprozess beschleunigt. Beim Anteil am dünnflüssigen Paraffin von mehr als 12% übersteigt der zweite Effekt den ersten, die topische Verfügbarkeit nimmt ab.

Bei Methoxsalen ändert sich die topische Verfügbarkeit nur in sehr geringer Masse, da die Freisetzung von Methoxsalen so schnell verläuft, so dass sie durch eine Änderung des Auflösungskoeffizienten sowie der Löslichkeit im Donator kaum beeinflusst wurde.

Bei Dithranol ist eine Vorhersage nur mit Vorbehalt möglich, da die Annahme der linearen Abhängigkeit des Auflösungskoeffizienten vom Anteil am dünnflüssigen Paraffin mit großem Fehler behaftet ist. Der Korrelationskoeffizient liegt hier bei nur 0,84. Dabei ändert sich der Auflösungskoeffizient kaum. Zusammen mit der geringen Änderung der Löslichkeit im Donator wird die topische Verfügbarkeit von Dithranol kaum verändert.

Bei der Suspension mit PG-Zusatz wurde im Modell nur der PG-Einfluss im Akzeptor berücksichtigt. Zu einem bewirkt PG durch die Erhöhung der Wirkstofflöslichkeit im Akzeptor eine Steigerung der Wirkstoffkonzentration im Akzeptor. Zugleich wird die Diffusion durch die Grenzfläche durch eine Vergrößerung des Verteilungskoeffizienten zwischen dem Donator und dem Akzeptor verstärkt. Zu anderem beschleunigt die Erhöhung des Wirkstoffdiffusionskoeffizienten im Akzeptor durch PG den Wirkstofffluss aus dem Akzeptor, da ein Konzentrationsausgleich zwischen der Grenzfläche und dem Akzeptorrand schneller verläuft. Eine Erhöhung der topischen Verfügbarkeit durch eine erhöhte Wirkstoffkonzentration im Akzeptor steht deren Verringerung durch einen erhöhten Verteilungskoeffizienten und einen erhöhten Diffusionskoeffizienten im Akzeptor gegenüber.

Resultate und Diskussionen

Da die beiden letzten Effekte überwiegt sind, nimmt die topische Verfügbarkeit in der Simulation monoton mit dem steigenden PG-Anteil ab (s. Abbildung 61). Jedoch ist dieser Effekt viel weniger geprägt als durch den Zusatz des dünnflüssigen Paraffins.

Da der Einfluss von PG auf die Freisetzung im Donator und Penetration durch die Grenzfläche außer acht gelassen wurde, ist die Genauigkeit der Vorhersage nicht sehr hoch. Weitere Arbeiten sollten diesen Zusammenhang klären.

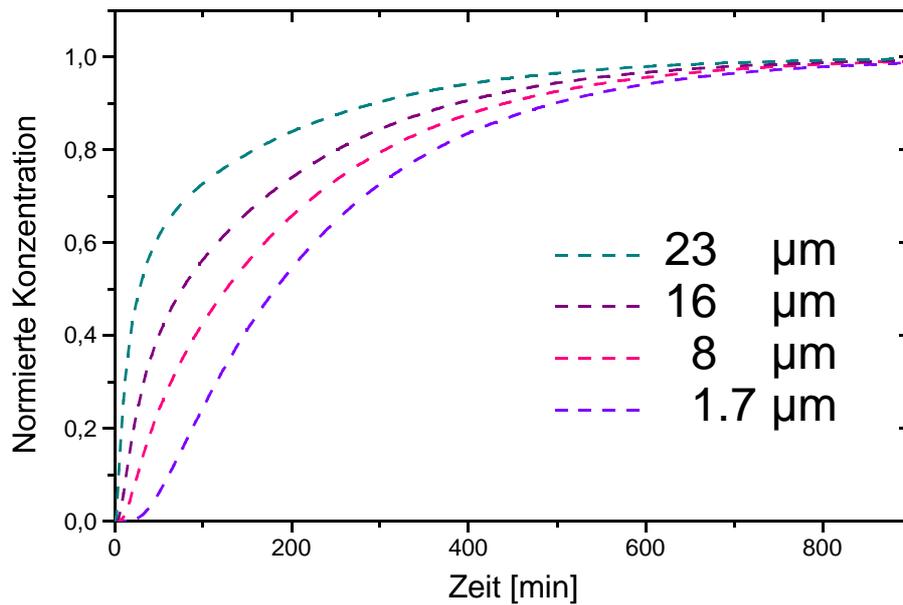


Abbildung 53: Zeitsabhängiges Konzentrationsprofil im Akzeptor an verschiedenem Ort. Ergebnis der Simulation der Wirkstoffpenetration aus einer Vaseline-Suspension unter in-vitro Bedingungen

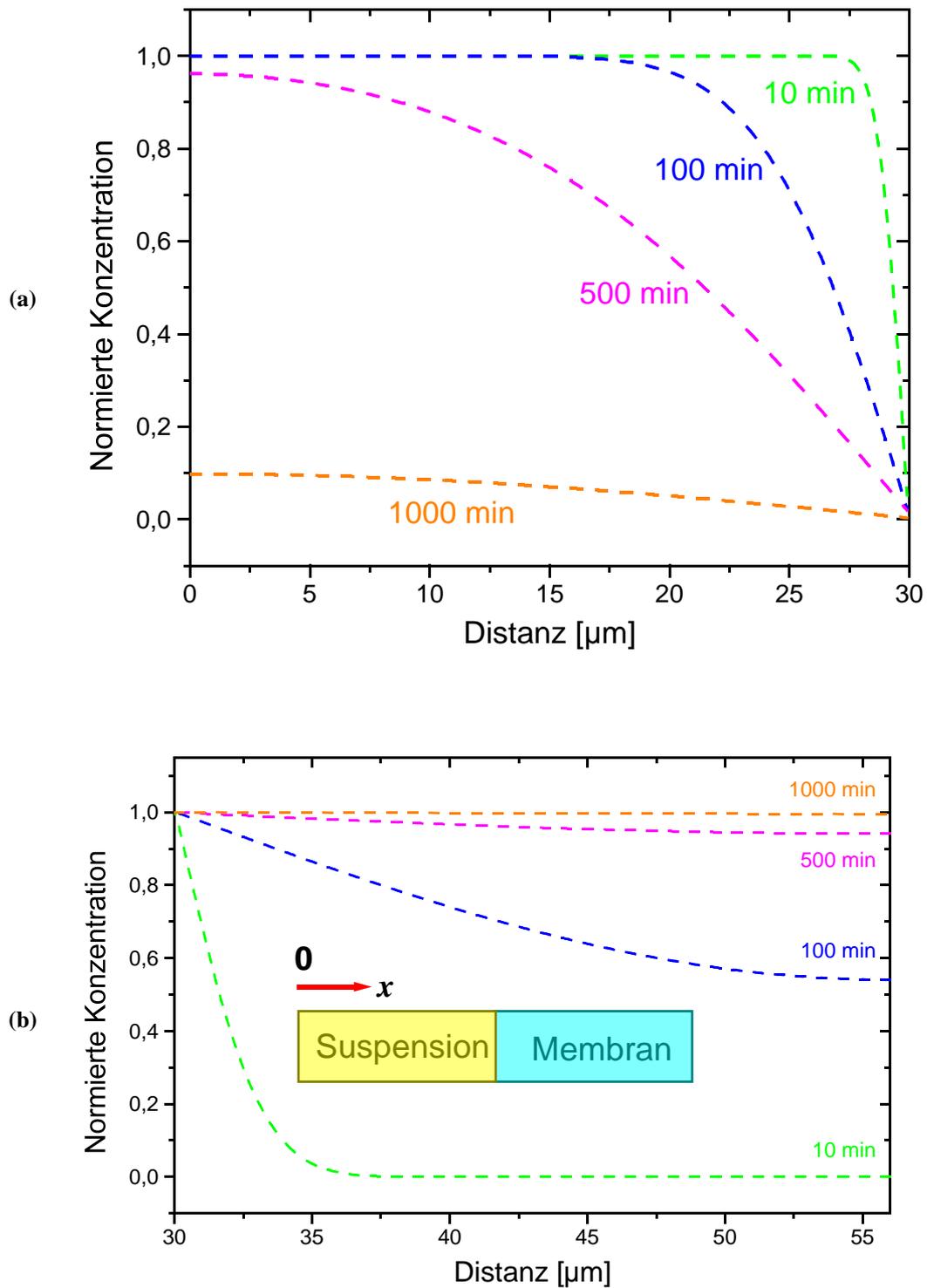


Abbildung 54: Ortsabhängiges Konzentrationsprofil im Donator (a) und Akzeptor (b) zu verschiedener Zeit. Ergebnis der Simulation der Wirkstoffpenetration aus einer Vaseline-Suspension unter in-vitro Bedingungen

Resultate und Diskussionen

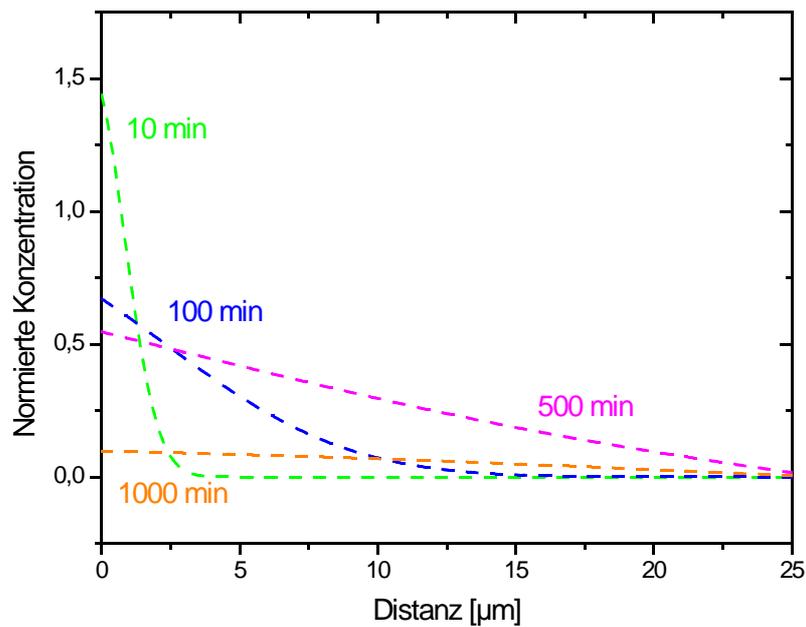


Abbildung 55: Ortsabhängiges Konzentrationsprofil im Akzeptor zu verschiedenen Zeitpunkten. Ergebnis der Simulation der Wirkstoffpenetration aus einer Vaseline-Suspension unter in-vivo Bedingungen

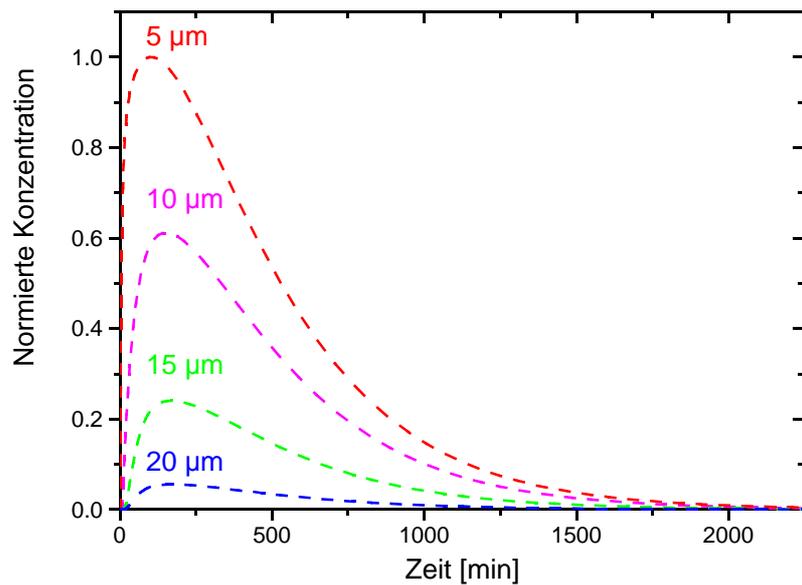


Abbildung 56: Zeitsabhängiges Konzentrationsprofil im Akzeptor an verschiedenen Orten (Distanz von der Grenzfläche entfernt). Ergebnis der Simulation der Wirkstoffpenetration aus einer Vaseline-Suspension unter in-vivo Bedingungen

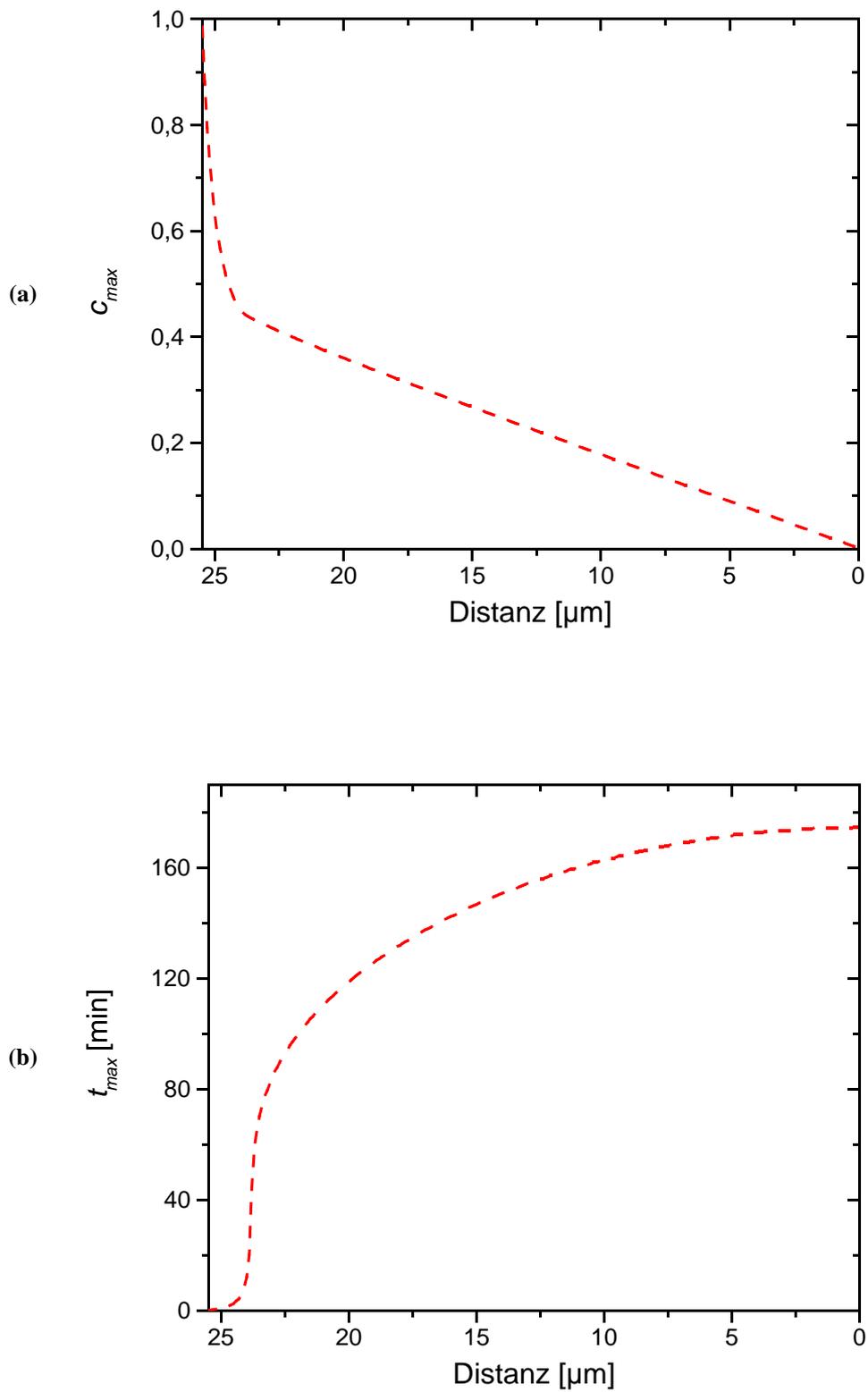


Abbildung 57: Abhängigkeit von c_{max} (a) bzw. t_{max} (b) von der Distanz

Resultate und Diskussionen

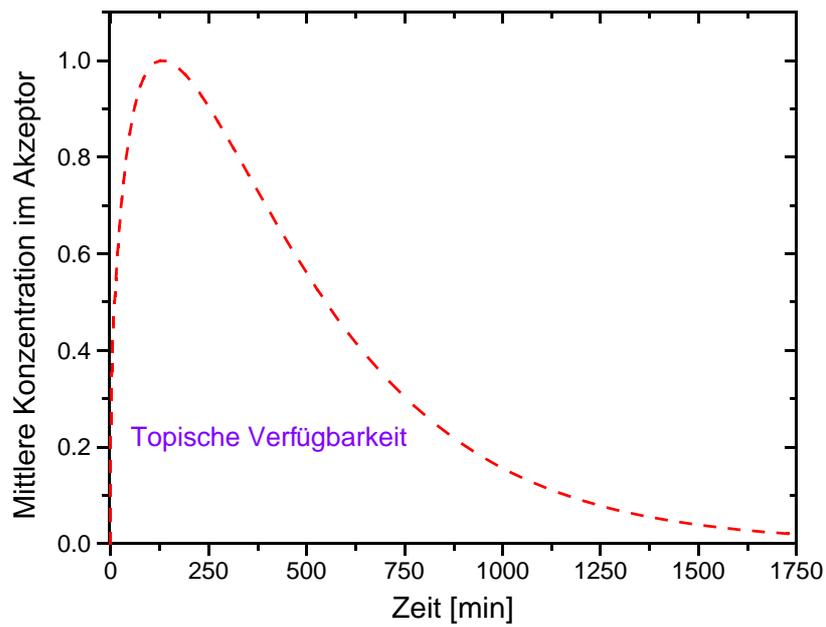


Abbildung 58: Zeitsabhängige mittlere Wirkstoffkonzentration im Akzeptor (normiert). Ergebnis der Simulation der Wirkstoffpenetration aus einer Vaseline-Suspension unter in-vivo Bedingungen

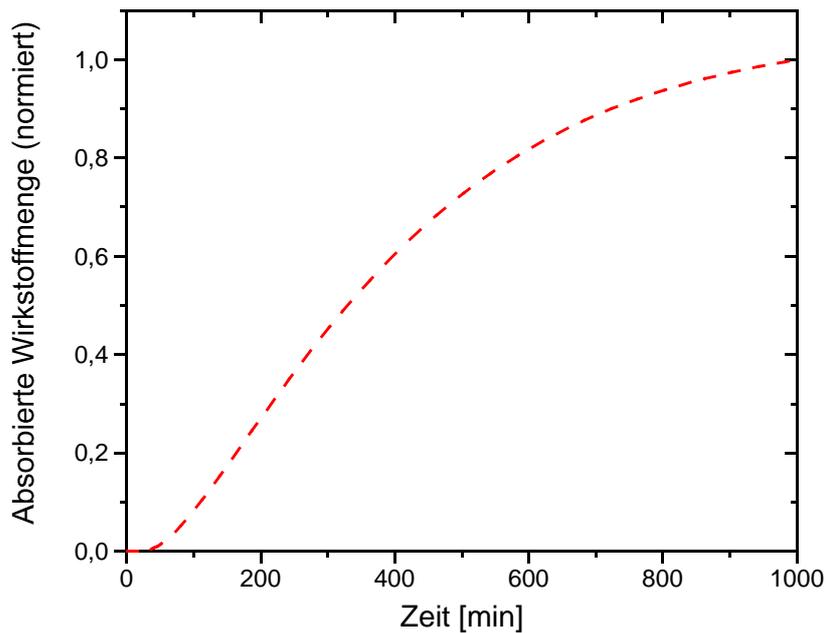


Abbildung 59: Zeitabhängige absorbierte Wirkstoffmenge. Ergebnis der Simulation der Wirkstoffpenetration aus einer Vaseline-Suspension unter in-vivo Bedingungen

Resultate und Diskussionen

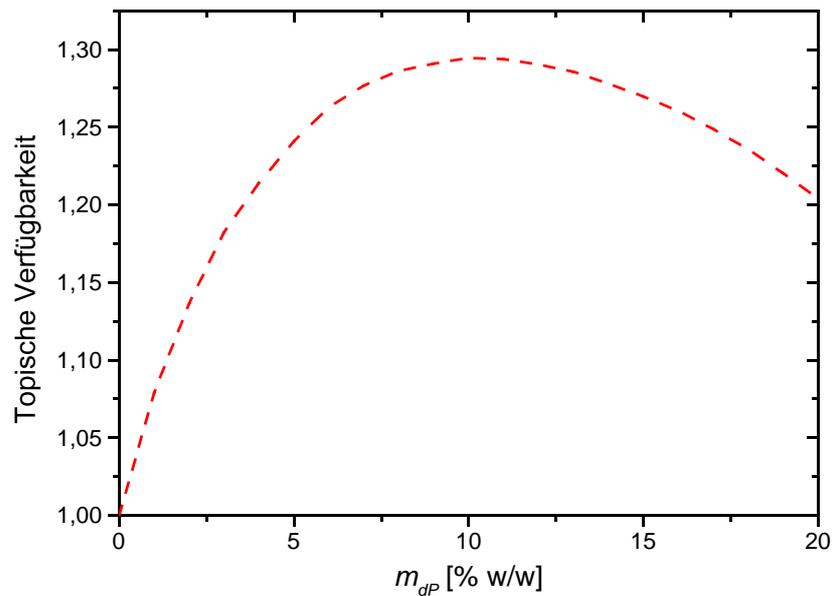


Abbildung 60: Abhängigkeit der topischen Verfügbarkeit vom Anteil am dünnflüssigen Paraffin m_{dP} . Ergebnis der Simulation der Penetration von Ketoconazol aus Vaseline-Suspensionen mit unterschiedlichem dünnflüssigen Paraffinanteil unter in-vivo Bedingungen

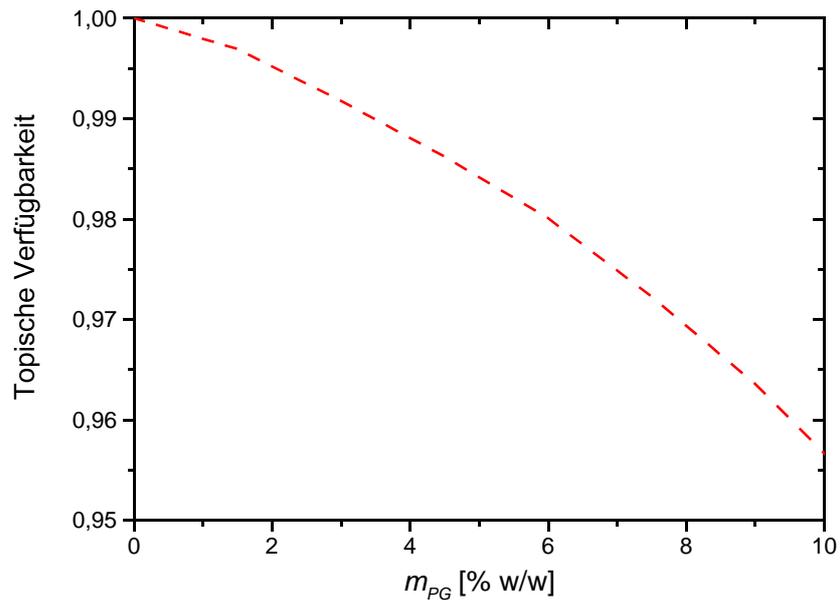


Abbildung 61: Abhängigkeit der topischen Verfügbarkeit (normiert) vom Anteil am dünnflüssigen Paraffin m_{PG} . Ergebnis der Simulation der Penetration von Ketoconazol aus Vaseline-Suspensionen mit unterschiedlichem PG-Anteil unter in-vivo Bedingungen

6.2. Penetrationsuntersuchung an humanem Stratum corneum

In der Arbeit von Hadgraft wurde bereits die Wirkstoffpenetration ins SC spektroskopisch mit Hilfe der ATR-Technik untersucht [80]. Zur Klärung der SC-Struktur wurden bereits in mehreren Arbeiten mit der photothermischen Spektroskopie eingesetzt [16, 30, 82, 84]. Mit dieser Technik wurde die Penetration von Sonnenschutzmitteln in mehreren Arbeiten untersucht. Dabei wurde verschiedene Variation der photothermischen Spektroskopie wie Puls-PAS oder Spektroskopie mit Mirage-Effekt verwendet [31, 55-57, 85-87, 107]. In der vorliegenden Arbeit soll die Möglichkeit des tiefenabhängigen Diffusionskoeffizienten in SC mit Hilfe der FTIR-PAS-Technik erkundet werden [40].

Als Modellsubstanz wurde Undecanitril verwendet. Da die Nitril-Gruppe starke IR-Absorptionsbanden bei 1372 und 1428 cm^{-1} besitzt, kann die Undecanitril-Konzentrationszunahme im SC spektroskopisch verfolgt werden (s. Abbildung 62, 63).

Im Experiment wurde die Penetration ins SC mit fünf Modulationsfrequenzen verfolgt. Zur Auswertung der Daten wurde das Modell A verwendet. Der Akzeptor wurde entsprechend der fünf Abtasttiefen in fünf virtuellen Schichten geteilt. Es wurde angenommen, dass jeder Schicht ein Diffusionskoeffizient zugeordnet werden kann. Aus den experimentellen Daten kann der Diffusionskoeffizient in jeder Schicht bestimmt werden. Das Experiment zeigte, dass der Diffusionskoeffizient mit zunehmender SC-Tiefe steigt (s. Abbildung 64). In einer Tiefe von $28\text{ }\mu\text{m}$ ist dieser etwa anderthalbfach größer als im oberen Bereich vom SC.

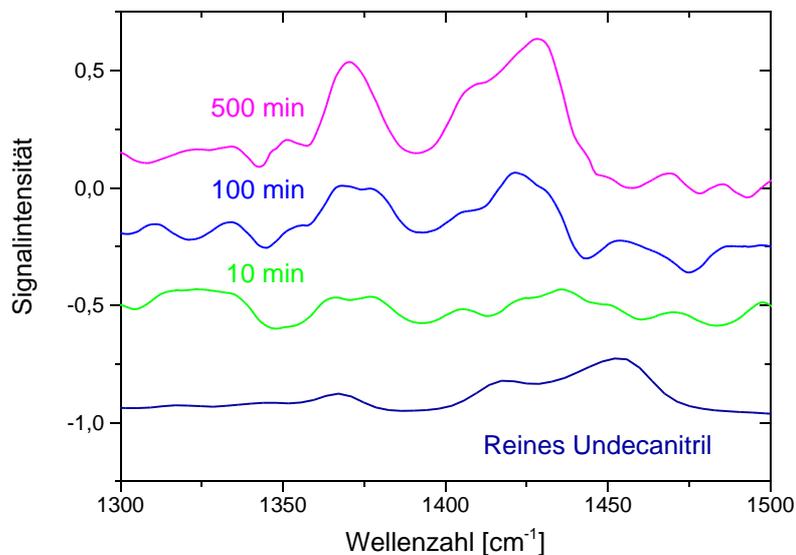


Abbildung 62: PAS-Differenzspektren des Penetrationsexperiments von Undecanitril aufgenommen nach 10 min (1), 100 min (2) und 500 min (3). Zum Vergleich ist das Spektrum von reinem Undecanitril angegeben. Die Originalspektren wurden im step-scan Modus mit einer Phasenmodulationsfrequenz von $32,5\text{ Hz}$ aufgenommen.

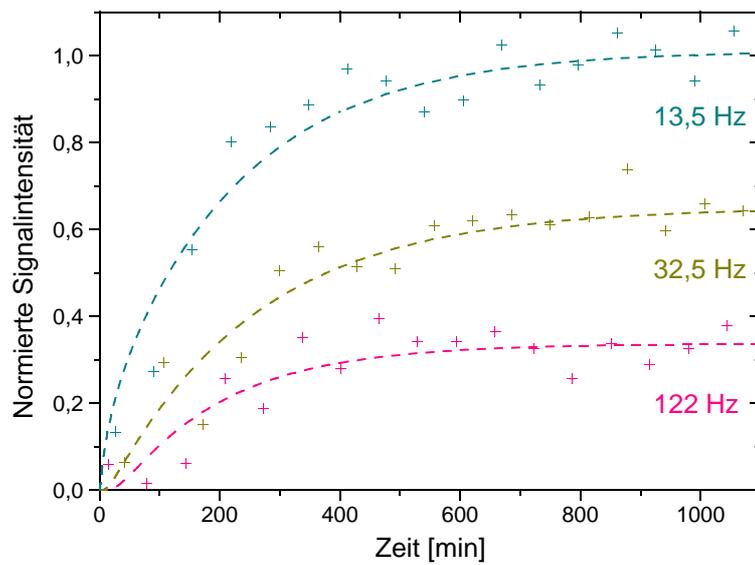


Abbildung 63: Zunahme der normierten Signalintensität von Undecanitril während des Penetrationsexperiments bestimmt durch step-scan FTIR-PAS mit Phasenmodulationsfrequenzen von 13,5 ; 32,5 und 122 Hz. Die eingezeichnete Kurven wurden nach einem entsprechenden mathematischen Modell berechnet.

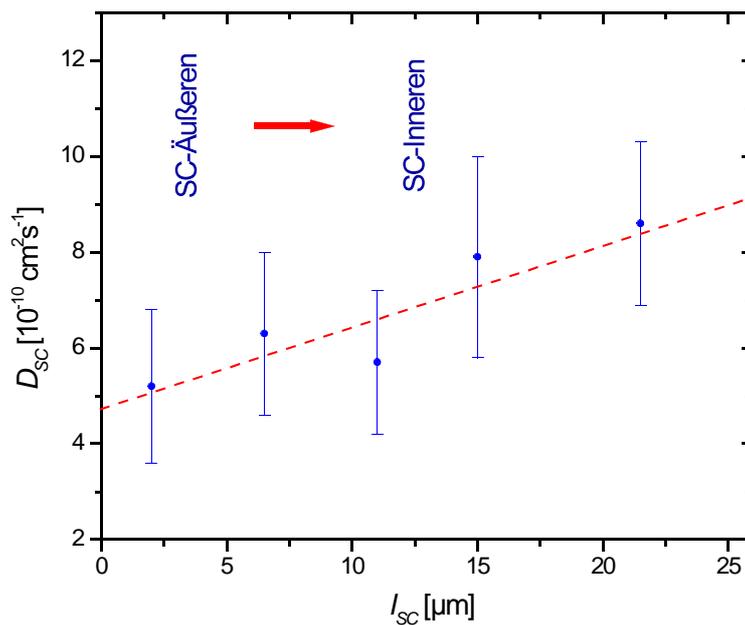


Abbildung 64: Tiefenabhängiger Diffusionskoeffizient im Stratum corneum

7. Zusammenfassung

Die bisherige Methode, mit Hilfe einer statistischen Versuchplanung topische Formulierungen zu optimieren, ist sehr aufwendig und kann in manchen Fällen nur begrenzt eingesetzt werden, da der Zusammenhang zwischen den einzelnen Bestandteilen der Formulierung und dem Freisetzungs- bzw. Penetrationsverhalten des Wirkstoffes oft nicht eindeutig geklärt werden kann.

Es war die Aufgabe der vorliegenden Arbeit, ein effektives Optimierungsverfahren zu entwickeln, in dem der Einfluss einzelner Bestandteile der Suspension auf das Freisetzungs- bzw. Penetrationsverhalten vom Wirkstoff möglichst quantitativ beschrieben wird. Als theoretische Grundlage dient ein mathematisches Modell. Spektroskopischen Untersuchungen bilden die experimentelle Basis.

Im mathematischen Modell wurden alle Prozesse im Donator und Akzeptor berücksichtigt. Dazu gehören die Auflösung der Wirkstoffkristalle und die Diffusion vom Wirkstoff im Donator, die Diffusion durch die Grenzfläche zwischen dem Donator und dem Akzeptor sowie die Diffusion im Akzeptor. Im Modell wurde weiterhin die Beziehung zwischen der Eigenschaft einzelner Prozesse und dem Anteil einzelner Suspensionskomponente erarbeitet. Wesentlich sind die Abhängigkeit des effektiven Diffusionskoeffizienten im Donator und des Verteilungskoeffizienten vom flüssigen Anteil der Suspension sowie die Abhängigkeit des Diffusionskoeffizienten im Akzeptor vom Enhancer-Gehalt.

Ein großer Teil dieser Beziehungen kann mathematisch formuliert werden. Mancher Zusammenhang kann jedoch nur empirisch mit einer linearen Regression abgeschätzt werden. Dazu gehören die Abhängigkeit des Auflösungskoeffizienten vom flüssigen Anteil der Suspension und die Abhängigkeit des Diffusionskoeffizienten im Akzeptor von der Enhancer-Konzentration.

Die spektroskopischen Methoden sind ein effizientes Hilfsmittel für die Bestimmung von Modellparametern. Verschiedene Parameter wurden mit Hilfe einer Kurvenanpassung bestimmt. Dabei wurde meistens die zeitabhängige Konzentrationsänderung im Akzeptor verwendet. Da mit den spektroskopischen Methoden die gesamte zeitliche Konzentrationsänderung in nur einem Experiment erfasst werden kann, kann die benötigte Konzentrationsänderung mit einem geringen Aufwand bestimmt werden. Die Genauigkeit der spektroskopischen Methoden ist höher als die der invasiven Methode, da u.a. der Schritt zur Wirkstoffextraktion aus dem Akzeptor für die analytische Bestimmung entfällt.

Die beiden in der Arbeit verwendeten spektroskopischen Methoden haben Vor- und Nachteile. Die ATR-Technik besitzt eine sehr hohe Genauigkeit, kann für die Freisetzungs- und Penetrationsuntersuchung genutzt werden. Sie kann aber nur eine Schicht von 1-2 μm der Probe erfassen. Bei der PAS-Technik liegt die Abtasttiefe mit bis zu 100 μm wesentlich höher. Hinzu kommt, dass durch eine Variation der Modulationfrequenzen die Abtasttiefe gesteuert werden kann. Die PAS besitzt aber eine geringere Genauigkeit und ist für die Freisetzungsuntersuchung weniger geeignet.

Mit Hilfe des mathematischen Modells und die im in-vitro Experiment bestimmten Parameter kann die Simulation der Wirkstofffreisetzung und -penetration durchgeführt werden. Die Simulation liefert das zeitabhängige und ortsabhängige Konzentrationsprofil im Donator und Akzeptor.

Eine weitere Anwendung ist die Simulation der Freisetzung und der Penetration aus Suspensionen mit unterschiedlicher Zusammensetzung unter in-vivo Bedingungen. Die Simulationsergebnisse erlauben eine Vorhersage über die Formulierungszusammensetzung mit optimalem Freisetzungs- bzw. Penetrationsverhalten.

A. Anhang

Implementierung zur numerischen Lösung des 2. Fick'schen Diffusionsgesetzes

Im Rahmen dieser Arbeit wurde das implizite Verfahren nach Crank-Nicolson zur Lösung des Differentialgleichungssystems verwendet. Für die Diffusion nach dem 2. Fick'schen Diffusionsgesetzes (Gl. 4.1.11) wird die folgende Approximation herangezogen:

$$\frac{c_{i,j+1} - c_{i,j}}{dt} = \frac{1}{2} D \left(\frac{c_{i+1,j} - 2c_{i,j} + c_{i-1,j}}{(dx)^2} + \frac{c_{i+1,j+1} - 2c_{i,j+1} + c_{i-1,j+1}}{(dx)^2} \right) \quad (\text{A.1})$$

dabei ist j der Zeitindex und i der Ortsindex (s. Abbildung 65).

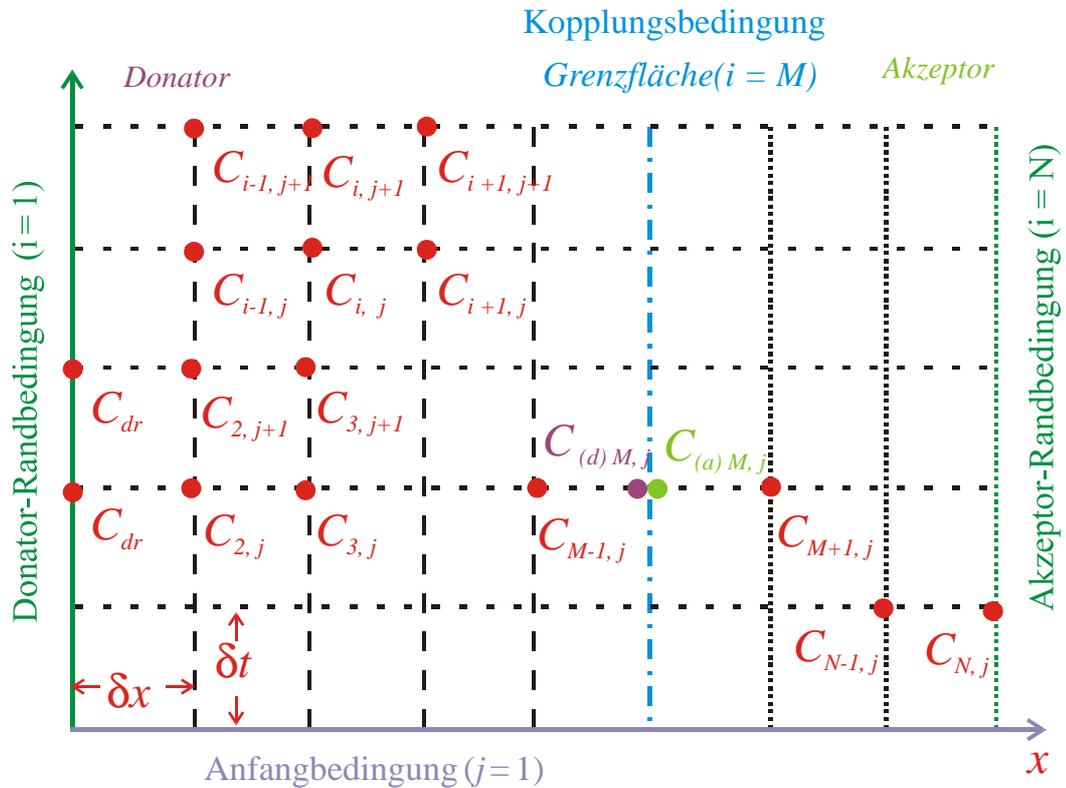


Abbildung 65: Unterteilung in finite Differenzen in der Zeit (j) und des Weges (i) zur numerischen Lösung des 2. Fick'schen Diffusionsgesetzes, der Randbedingung und der Kopplungsbedingung

Im Modell für die Wirkstofffreisetzung und -penetration unter in-vitro Bedingungen gilt für den Donator- und Akzeptorrand die Nullstrom-Bedingung, d.h. es existiert kein Fluss in den Donator bzw. aus dem Akzeptor (Gl. 4.1.8, 4.1.12).

Für den Donatorrand ($i = 1$) gilt nach Crank [20]:

$$\frac{c_{1,j} - c_{1,j-1}}{dt} = D_d \left(\frac{c_{2,j+1} + c_{2,j}}{dx^2} - \frac{c_{1,j+1} + c_{1,j}}{dx^2} \right) \quad (\text{A.2})$$

und für den Akzeptorrand ($i = N$):

$$\frac{c_{N,j} - c_{N,j-1}}{dt} = D_a \left(\frac{c_{N-1,j+1} + c_{N-1,j}}{dx^2} - \frac{c_{N,j+1} + c_{N,j}}{dx^2} \right) \quad (\text{A.3})$$

Anhang

Im Modell für die Wirkstofffreisetzung und -penetration unter in-vivo Bedingungen gilt für den Akzeptorrand ($i = N$) die „sink“-Bedingung, d.h. die Konzentration am Akzeptorrand liegt konstant bei 0 (Gl. 4.1.13). Ebenfalls bleibt die Wirkstoffkonzentration im Donator im Modell zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten im dünnflüssigen Paraffin konstant, sie entspricht der Sättigungskonzentration im dünnflüssigen Paraffin (Gl. 5.4.7). Aus der Gleichung A.1 wurde die folgende Gleichung für die Schicht mit dem Ortsindex $i = N-1$ im Modell mit „sink“-Bedingung hergeleitet:

$$\frac{c_{N-1,j+1} - c_{N-1,j}}{dt} = \frac{1}{2} D_d \left(\frac{c_{N-2,j} - 2c_{N-1,j}}{(dx)^2} + \frac{c_{N-2,j+1} - 2c_{N-1,j+1}}{(dx)^2} \right) \quad (\text{A.4})$$

Analog gilt für die Schicht $i=2$ im Modell zur Bestimmung des Diffusionskoeffizienten:

$$\frac{c_{2,j+1} - c_{2,j}}{dt} = \frac{1}{2} D_d \left(\frac{c_s - 2c_{2,j} + c_{3,j}}{(dx)^2} + \frac{c_s - 2c_{2,j+1} + c_{3,j+1}}{(dx)^2} \right) \quad (\text{A.5})$$

dabei ist c_s die Sättigungskonzentration im dünnflüssigen Paraffin.

Für die Kopplungsbedingung an der Grenzfläche zwischen Donator und Akzeptor ($i = M$) (Gl. 4.1.9, 4.1.10) gilt nach Crank die folgende Beziehungen [20]:

$$\frac{dc_{(d)M,j}}{dt} = \frac{2D_d}{dx} \left(\frac{c_{M-1,j} - c_{(d)M,j}}{dx} - \frac{F}{D_d} \right), \quad (\text{A.6})$$

$$\frac{dc_{(a)M,j}}{dt} = \frac{2D_a}{dx} \left(\frac{c_{M+1,j} - c_{(a)M,j}}{dx} + \frac{F}{D_a} \right), \quad (\text{A.7})$$

dabei ist F der Fluss durch die Grenzfläche, $c_{(d)M,j}$ und $c_{(a)M,j}$ sind die Konzentrationen an der Grenzfläche auf der Donatorseite bzw. Akzeptorseite. Für den Verteilungsprozess an der Grenzfläche gilt:

$$c_{(a)M,j} = Q c_{(d)M,j}. \quad (\text{A.8})$$

Aus den Gleichungen A.6-A.8 folgt:

$$\left(1 + Q\right) \frac{dc_{(d)M,j}}{dt} = \frac{2D_d}{dx^2} (c_{M-1,j} - c_{(d)M,j}) - \frac{2D_a}{dx^2} (Q c_{(d)M,j} - c_{M+1,j}), \quad (\text{A.9})$$

$$\left(1 + \frac{1}{Q}\right) \frac{dc_{(a)M,j}}{dt} = \frac{2D_d}{dx^2} \left(c_{M-1,j} - \frac{1}{Q} c_{(a)M,j} \right) - \frac{2D_a}{dx^2} (c_{(a)M,j} - c_{M+1,j}). \quad (\text{A.10})$$

B. Literaturverzeichnis

- [1] Addicks W., Flynn G., Weiner N., Curl R., A mathematical model to describe drug release from thin topical applications. *Int. J. Pharm.* 56 (1989) 243-248.
- [2] Addicks W., Flynn G., Weiner N., Curl R., Drug delivery from topical formulations: theoretical prediction and experimental assessment. In: *Topical drug delivery formulations*, D.W. Osborne, A.H. Amann (Hrsg.), Dekker, New York, 1990.
- [3] Addicks W., Weiner N., Flynn G., Curl R., Topp E., Topical drug delivery from thin applications: theoretical predictions and experimental results. *Pharm. Res.* 7 (1990) 1048-1054.
- [4] Almond D., Patel P., *Photothermal science and technique*, Chapman & Hall, London, 1996.
- [5] Aungst B.J., Blake J.A., Hussain M.A., Contributions of drug solubilization, partitioning, barrier disruption, and solvent permeation to the enhancement of skin permeation of various compounds with fatty acid and amines. *Pharm. Res.* 7 (1990) 721-718.
- [6] Ayres W.J., Lindstrom F.T., Diffusion model for drug release from suspension I: Theoretical considerations and part II: Release to perfect sink. *J. Pharm. Sci.* 66 (1977) 654-668.
- [7] Bach M., Lippold B.C., Percutaneous penetration enhancement and its quantification. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 46 (1998) 1-13.
- [8] Barry B.W., Action of skin penetration enhancers - the lipid protein partitioning theory. *J. Invest. Dermatol.* 91 (1988) 281-292.
- [9] Barry B.W., Edwards H.G.M., Williams A.C., Fourier transform Raman and infrared vibrational study of human skin: assignment of spectral bands. *J. Raman Spectrosc.* 23 (1992) 641-645.
- [10] Barth H.G., Flippen R.B., Particle size analysis. *Anal. Chem.* 67 (1995) 257R-272R.
- [11] Bendas B., Schmalfuß U., Neubert R., Influence of propylene glycol as cosolvent on mechanisms of drug transport from hydrogels. *Int. J. Pharm.* 116 (1995) 19-30.
- [12] Bhatia K.S., Gao S., Singh J., Effect of penetration enhancers and iontophoresis on the FT-IR spectroscopy and LHRH permeability through porcine skin. *J. Contr. Rel.* 47 (1997) 81-89.
- [13] Bodde H.E., Pechtold L.A.R.M., Subnel M.T.A., de Haan F.H.N., Monitoring in vivo skin hydration by liposomes using infrared spectroscopy in conjunction with tape stripping. *Skin-Pharmacol.* 9 (1996) 69-77.
- [14] Borsadia S., Ghanem A.H., Seta Y., Higuchi W.I., Flynn G.L., Behl C.R., Shah V.P., Factors to be considered in the evaluation of bioavailability and bioequivalence of topical formulations. *Skin Pharmacol.* 5 (1992) 129-145.

Literaturverzeichnis

- [15] Brown S.M., Baesso M.L., Shen J., Snook R.D., Thermal diffusivity of skin measured by two photothermal techniques. *Anl. Chimica Acta*, 282 (1993) 711-719.
- [16] Campbell S., Yee S.S., Afromowitz M.A., Applications of photoacoustic spectroscopy to problems in dermatology research. *IEEE Trans. Biomed. Eng. BME-26* (1979) 220-227.
- [17] Chattaraj S.C., Swarbrick J., Kanfer I., A simple diffusion cell to monitor drug release from semi-solid dosage forms. *Int. J. Pharm.* 120 (1995) 119-124.
- [18] Chien Y.W., *Transdermal controlled systemic medications*, Dekker, New York, 1987.
- [19] Clancy M.J., Corish J., Corrigan O.I., A comparison of the effects of electrical current and penetration enhancers on the properties of human skin using spectroscopic FTIR and calorimetric DSC methods. *Int. J. Pharm.* 105 (1994) 47-56.
- [20] Crank J., *The mathematics of diffusion*, Clarendon Press, Oxford, 1994.
- [21] *Standardisierte Rezepturen (NRF/SR) 2001*, Hrsg.: Pharmazeutisches Laboratorium des "Neues Rezeptur-Formularium", Govi, Eschborn, 2001.
- [22] Dittmar R.M., Chao J.L., Palmer R.A., Photoacoustic depth profiling of polymer laminates by step-scan Fourier transform infrared spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* 45 (1991) 1104-1110.
- [23] Drapcho D.L., Jiang E.Y., Crocombe R.A., McCarthy W.J., Digital signal processing for step-scan Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* 51 (1997) 453-460.
- [24] Fisz M., *Wahrscheinlichkeitsrechnung und mathematische Statistik*, Deutscher Verlag der Wissenschaft, Berlin, 1980.
- [25] Franz T.J., Kinetics of cutaneous drug penetration. *Int. Soc. Tropical Dermatol.* 22 (1983) 499-505.
- [26] Friend D., Catz P., Heller J., Reid J., Baker R., Transdermal delivery of levonorgestrel I: alcohols as permeation enhancer in vitro. *J. Contr. Rel.* 7 (1988) 243-250.
- [27] Fürst W., Neubert R., Wildner R., Beyrich G., Bendas C., Eine neue Versuchsanordnung zur in-vitro-Beurteilung der Wirkstoffresorption aus topischen Arzneiformen. *Pharmazie*, 42 (1987) 452-455.
- [28] Ghanem A.-H., Higuchi W.I., Simonelli A.P., Interfacial barriers in interphase transport III: transport of cholesterol and other organic solutes into hexadecane-gelatin-water matrices. *J. Pharm. Sci.* 59 (1970) 659-665.
- [29] Gienger G., Knoch A., Merkle H.P., Modeling and numerical computation of drug transport in laminates: model case evaluation of transdermal delivery system. *J. Pharm. Sci.* 75 (1986) 9-15.
- [30] Giese K., Nicolaus A., Külmel K., In-vivo application of photoacoustic spectroscopy to stratum corneum studie. *Med. Biol. Eng. Compt.* 23 (suppl. 1) (1985) 378-379.

Literaturverzeichnis

- [31] Giese K., Nicolaus A., Sennhenn B., Külmel K., Photoacoustic in vivo study of the penetration of sunscreen into human skin. *Can. J. Phys.* 64 (1986) 1139-1141.
- [32] Günzler H., Bück H., *IR-Spektroskopie*, VCH, Weinheim, 1990.
- [33] Guy R.H., Hadgraft J., Theoretical comparison of release rates of drugs into sink and nonsink conditions. *J. Pharm. Sci.* 70 (1981) 1243-1245.
- [34] Guy R.H., Hadgraft J., Prediction of drug disposition kinetics in skin and plasma following topical administration. *J. Pharm. Sci.* 73 (1984) 883-887.
- [35] Guy R.H., Hadgraft J., The effect of penetration enhancers on the kinetics of percutaneous absorption. *J. Contr. Rel.* 5 (1987) 43-51.
- [36] Guy R.H., Hadgraft J., Physicochemical aspects of percutaneous penetration and its enhancement. *Pharm. Res.* 5 (1988) 753-758.
- [37] Hanh B.D., Neubert R., Wartewig S., Investigations of drug release from suspensions using FT-ATR technique: Part I. Determination of effective diffusion coefficient of drugs. *Int. J. Pharm.* 204 (2000) 145-150.
- [38] Hanh B.D., Neubert R., Wartewig S., Investigations of drug release from suspensions using FT-ATR technique: Part II. Determination of effective dissolution coefficient of drugs. *Int. J. Pharm.* 204 (2000) 151-158.
- [39] Hanh B.D., Neubert R., Wartewig S., Christ A., Hentzsch C., Drug penetration as studied by non-invasive methods: FT-ATR, FTIR and UV photoacoustic spectroscopy. *J. Pharm. Sci.* 89 (2000) 1106-1113.
- [40] Hanh B.D., Neubert R., Wartewig S., Lasch J., Penetration of compounds through human stratum corneum as studied by Fourier transformed infrared photoacoustic spectroscopy. *J. Control. Rel.* 70 (2001) 393-398.
- [41] Harrison J.E., Watkinson A.C., Green D.M., Hadgraft J., Brain K., The relative effect of azone and transcutool on permeant diffusivity and solubility in human stratum corneum. *Pharm. Res.* 13 (1996) 542-546.
- [42] Higo N., Naik A., Bommannan D.B., Potts R.O., Guy R.H., Validation of reflectance infrared spectroscopy as a quantitative method to measure percutaneous absorption in vivo. *Pharm. Res.* 10 (1993) 1500-1506.
- [43] Hitchon W.N.G., Koch D.J., Adams J.B., An efficient scheme for convection-dominated transport. *J. Computational Phys.* 83 (1989) 79-95.
- [44] Huth S., Boltze L., Neubert R., Mathematical assessment of different penetration mechanisms from vehicles with propylene glycol. *J. Contr. Rel.* 49 (1997) 141-148.
- [45] Huth S., Neubert R., Boltze L., Büge A., Experimental determination and mathematical modeling of propylene glycol transport from semisolid vehicles. *Chem. Pharm. Bull*, 44 (1996) 1263-1266.
- [46] Jiang E.Y., Palmer R.A., Development and applications of a photoacoustic phase

Literaturverzeichnis

- theory for multilayer materials: the phase difference approach. *J. Appl. Phys.* 78 (1995) 460-469.
- [47] Jiang E.Y., Palmer R.A., Barr N.E., Morosoff N., Phase-resolved depth profiling of thin-layered plasma polymer films by step-scan Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* 51 (1997) 1238-1243.
- [48] Jones R.W., McClelland J.F., Quantitative depth profiling of layered samples using phase-modulation FT-IR photoacoustic spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* 50 (1996) 1258-1263.
- [49] Klimich H.M., Chandra G., Use of Fourier transform infrared spectroscopy with alternate total reflectance for in vivo quantification of polydimethylsiloxanes on human skin. *J. Soc. Cosmet. Chem.* 37 (1986) 73-87.
- [50] Koch H.P., Die Technik der Dissolutionsbestimmung (Teil 2). *Pharm. Acta Helv.* 59 (1984) 130-139.
- [51] Koizumi T., Higuchi W.I., Analysis of data on drug release from emulsion II. *J. Pharm. Sci.* 57 (1968) 87-92.
- [52] Kubota K., A compartment model for percutaneous drug absorption. *J. Pharm. Sci.* 80 (1991) 502-504.
- [53] Kubota K., Maibach H.I., A compartment model for percutaneous absorption: compatibility of lag time and steady-state flux with diffusion model. *J. Pharm. Sci.* 81 (1992) 863-865.
- [54] Kubota K., Yamada T., Finite dose percutaneous drug absorption: theory and its application to in vitro timolol permeation. *J. Pharm. Sci.* 79 (1990) 1015-1018.
- [55] Külmel K., Sennhenn B., Giese K., Evaluation of drug penetration into the skin by photoacoustic measurement. *J. Soc. Cosmet. Chem.* 37 (1986) 375-385.
- [56] Lahjomri F., Puccetti G., Leblanc R.M., Alard V., Denis A., Tranchant J.-F., Pulsed photoacoustic study of the diffusion of chromophores in human skin. *Photochem. Photobiol.* 62 (1997) 292-302.
- [57] Lehman P.A., Slatty J.T., Franz T.J., Evidence for percutaneous absorption of isotretinoin from the photo-isomerization of topical tretinoin. *J. Invest. Dermatol.* 91 (1989) 595-599.
- [58] Lippold B.C., Kutane Resorption - Möglichkeiten, Modelle, Beeinflussung. *Acta Pharm. Technol.* 27 (1981) 1-9.
- [59] Lippold B.H., Simulierung der gastro-intestinalen Resorption von dissoziierenden Arzneistoffen mit einem Membranmodell, 2. Mitt.: Arzneistoffdiffusion durch lipoidbarrieren unter den Bedingungen einer Gleichgewichtseinstellung. *Pharm. Ind.* 38 (1976) 208-215.
- [60] Liu P., Higuchi W.I., Ghanem A.-H., Kurihara-Berstrom T., Good W.R., Assessing the influence of ethanol on simultaneous diffusion and metabolism of β -estradiol in

Literaturverzeichnis

- hairless mouse skin for the 'asymmetric' situation in vitro. *Int. J. Pharm.* 78 (1992) 123-136.
- [61] Loth H., Grundlagen des intra- und transdermalen Transports von Arzneistoffen, I. *Acta Pharm. Technol.* 32 (1986) 109-114.
- [62] Maitani Y., Sato H., Nagai T., Effect of ethanol on the true diffusion coefficient of diclofenac and its sodium salt in silicone membrane. *Int. J. Pharm.* 113 (1995) 165-174.
- [63] Mak V.H.W., Potts R.O., Guy R.H., Percutaneous penetration enhancement in vivo measured by attenuated total reflectance. *Pharm. Res.* 7 (1990) 835-841.
- [64] Margarida A., Tralhao L., Watkinson A.C., Brain K.R., Hadgraft J., Armstrong N.A., Use of ATR-FTIR spectroscopy to study the diffusion of ethanol through glycerogelatin films. *Pharm. Res.* 12 (1995) 572-575.
- [65] Megrab N.A., Williams A.C., Barry B.W., Oestradiol permeation through human skin and silastic membranes effects of propylene glycol and supersaturation. *J. Contr. Rel.* 36 (1995) 277-294.
- [66] Michaels A.S., Chandrasekaran S.K., Shaw J.E., Drug permeation through human skin: theory and in vitro experimental measurement. *AIChE J.* 21 (1975) 985-996.
- [67] Miller II K.J., Rao Y.K., Goodwin S.R., Westermann-Clark G.B., Shah D.O., Solubility and in vitro percutaneous absorption of tetracaine from solvents of propylene glycol and saline. *Int. J. Pharm.* 98 (1993) 101-111.
- [68] Mirabella F.M., *Internal reflection spectroscopy: theory and application*, Dekker, New York, 1993.
- [69] Mollgaard B., Hoelgaard A., Permeation of estradiol through the skin - effect of vehicles. *Int. J. Pharm.* 15 (1983) 185-197.
- [70] Naik A., Pechtold L.A., Potts R.O., Guy R.H., Mechanism of oleic acid-induced skin penetration enhancement in vivo in humans. *J. Contr. Rel.* 37 (1995) 299-306.
- [71] Neubert R., Bendas C., Wohlrab W., Gienau B., Fürst W., A multilayer membrane system for modelling drug penetration into skin. *Int. J. Pharm. Sci.* 75 (1991) 89-94.
- [72] Neubert R., Fürtsch R., Boltze L., Fürst W., A new mathematical model of the dissolution process for computer simulations and parameter estimations. *Pharmazie*, 45 (1990) 353-355.
- [73] Neubert R., Schmalfuß U., Wohlrab W., Huschka C., Wirkstoffpenetration in die Haut und deren Modulation. *PZ*, 17 (1996) 11-22.
- [74] Neubert R., Wohlrab W., In vitro methods for the biopharmaceutical evaluation of topical formulations. *Acta Pharm. Technol.* 36 (1990) 197-206.
- [75] Ogiso T., Iwaki M., Paku T., Effect of various enhancers on transdermal penetration of indomethacin and urea, and relationship between penetration parameters and

Literaturverzeichnis

- enhancement factors. *J. Pharm. Sci.* 84 (1995) 482-488.
- [76] Okamoto H., Yamashita F., Saito K., Hashida M., Analysis of drug penetration through the skin by the two layer skin model. *Pharm. Res.* 6 (1989) 931-937.
- [77] *OPUS -Software Handbuch*, Bruker, Leipzig, 2000.
- [78] Ostrenga J., Steinmetz C., Poulsen B., Significance of vehicle composition I: relationship between topical vehicle composition, skin penetrability, and clinical efficacy. *J. Pharm. Sci.* 60 (1971) 1175-1179.
- [79] Pellet M.A., Watkinson A.C., Hadgraft J., Brain K.R., Comparison of permeability data from traditional diffusion cell and ATR-FTIR spectroscopy. Part I. Synthetic membranes. *J. Control. Rel.* 154 (1997) 205-215.
- [80] Pellet M.A., Watkinson A.C., Hadgraft J., Brain K.R., Comparison of permeability data from traditional diffusion cell and ATR-FTIR spectroscopy. Part II. Determination of diffusional pathlengths in synthetic membranes and human stratum corneum. *J. Control. Rel.* 154 (1997) 217-227.
- [81] Pfeifer S., Pfliegel P., Borchert H.-H., *Biopharmazie*, Ullstein Mosby, Berlin, 1995, S. 219-220.
- [82] Pines E., Cunningham T., Dermatological photoacoustic spectroscopy. In: *Bioengineering and the skin*, R. Marks, P.A. Payne (Hrsg.), MTP Press, Boston, 1981, S. 283-290.
- [83] Potts R.O., Guzek D.B., Harris P.R., McKie J.E., A non-invasive, in vivo technique to quantitatively measure water concentration in the stratum corneum using attenuated total reflectance infrared spectroscopy. *Arch. Dermatol. Res.* 277 (1985) 489-495.
- [84] Poulet P., Chambron J., In-vivo photoacoustic spectroscopy of human skin. *J. Phys. C44* (1983) 413-418.
- [85] Puccetti G., Lahjomri F., Leblanc R.M., Pulsed photoacoustic spectroscopy applied to the diffusion of sunscreen chr. *J. Photochem. Photobiol.* 39 (1997) 110-120.
- [86] Puccetti G., Leblanc R.M., A comparative study on chromophore diffusion inside porous filters by pulse. *J. Membrane Sci.* 119 (1996) 213-228.
- [87] Puccetti G., Leblanc R.M., A sunscreen-tanning compromise: 3D visualization of the actions of titanium dioxide particles and dihydroxyactone on human epiderm. *Photochem. Photobiol.* 71 (2000) 426-430.
- [88] Reifenrath W.G., Lee B., Wilson D.R., Spencer T.S., A comparison of in vitro skin-penetration cells. *J. Pharm. Sci.* 83 (1994) 1229-1233.
- [89] Reinl H.M., Hartinger A., Dettmar P., Bayerl T.M., Time resolved infrared ATR measurements of liposome transport kinetics in human keratinocyte cultures and skin reveals a drastic dependence on liposome size and phase state. *J. Invest. Dermatol.* 105 (1995) 291-295.

Literaturverzeichnis

- [90] Rose D.N., Quay G.H., Jackson W.D., Anderson S.L., *An introduction to one dimensional single layer thermal wave/photoacoustic spectroscopy*, Tardec Universty Press, Warren, 1994.
- [91] Rosencwaig A., *Photoacoustics and photoacoustic spectroscopy*, John Wiley & Sons, New York, 1980.
- [92] Rosencwaig A., Gersho A., Theory of the photoacoustic effect with solids. *J. Appl. Phys.* 47 (1976) 64-69.
- [93] Rougier A., Lotte C., Maibach H.I., In vivo percutaneous penetration of some organic compounds related to anatomic site in humans: predictive assessment by the strpping method. *J. Pharm. Sci.* 76 (1987) 451-454.
- [94] Schaefer H., Stuttgen G., Zesch A., Schalla W., Gazith J., Quantitative determination of percutaneous absorption of radiolabelled drugs in vitro and in vivo by human skin. *Curr. Probl. Dermatol.* 7 (1978) 80-94.
- [95] Schendzielorz A., Hanh B.D., Neubert R., Wartewig S., Penetration studies of Clotrimazole from semisolid formulation using step-scan FT-IR photoacoustic spectroscopy. *Pharm. Res.* 16 (1999) 42-45.
- [96] Schendzielorz A., Neubert R., Muck A., Rekonstituiertes Stratum corneum als Modell für Penetrationsstudien. *Pharm. Ind.* 59 (1997) 712-717.
- [97] Scheuplein R.J., Mechanism of percutaneous adsorption I: routes of penetration and the influence of solubility. *J. Invest. Dermatol.* 45 (1965) 334-346.
- [98] Schmidt K., Pabst M., Beckman D., Lauckner G., Use of the photoacoustic method for determination of the protection properties of suncreening agents in vivo. *American Lab.* 33 (1998) .
- [99] Schmidt W., *Optische Spektroskopie*, VCH, Weinheim, 1994.
- [100] Schückler F., Lee G., Relating the concentration-dependent action of Azone and dodecyl-l-pyroglytamate on the structure of excised human stratum corneum to changes in drug diffusivity, partion coefficient and flux. *Int. J. Pharm.* 80 (1992) 81-89.
- [101] Schwarb F.P., Imanidis G., Schmith E.W., Haigh J.M., Surber C., Effect of concentration and degree of saturation of topical founcinide formulations on in vitro membrane transport and in vivo availability on human skin. *Pharm. Res.* 16 (1999) 909-915.
- [102] Schwertlick H., Kretzschmar H., *Numerische Verfahren für Naturwissenschaftler und Ingenieure*, Fachbuchverlag, Leipzig, 1991.
- [103] Sennhenn B., Giese K., Plamann K., Harendt N., Külmel K., In vivo evaluation of the penetration of topically applied drugs into human skin by spectroscopy methods. *Skin Pharmacol*, 6 (1993) 152-160.
- [104] Seta Y., Ghanem A.H., Higuchi W.I., Borsadia S., Behl C.R., Malick A.W., Physical

Literaturverzeichnis

- model approach to understanding finite dose transport and uptake of hydrocortisone in hairless guinea-pig skin. *Int. J. Pharm.* 81 (1992) 89-99.
- [105] Shah S., Kirchner F., In vitro and in vivo evaluation of water penetration through skin protectant barriers. *Skin Res. Technol.* 3 (1997) 114-120.
- [106] Silvestri S., Wu L.L., Bowser B., Release of polyionizable compounds from submicrometer oil-in water emulsions. *J. Pharm. Sci.* 81 (1992) 413-418.
- [107] Simon I., Emslie A.G., Apt C.M., Black I.H., Anderson R.R., Determination of in vivo water concentration profile in human stratum corneum by photoacoustic method. In: *Bioengineering and the skin*, R. Marks, P.A. Payne (Hrsg.), MTP Press, Boston, 1981, S. 187-195.
- [108] Smedley S.I., Friend D.R., Model for ethyl acetate/ethanol skin penetration enhancement. *Proceed. Inter. Symp. Control. Rel.* 17 (1990) 37-38.
- [109] Smith E.W., Maibach H.I., *Percutaneous penetration enhancers*, CRC Press, Boca Raton, 1995.
- [110] Smith M.J., Manning C.J., Palmer R.A., Chao J.L., Step scan interferometry in the mid-infrared with photothermal detection. *Appl. Spectrosc.* 42 (1988) 546-555.
- [111] Snieder M., Hansen W.G., Crystal effect on penetration depth in attenuated total reflectance Fourier-transform infrared study of human skin. *Mikrochim. Acta*, 14 (1997) 677-678.
- [112] Stehle R.G., Higuchi W.I., In vitro model for transport of solutes in three-phase system I: theoretical principles. *J. Pharm. Sci.* 61 (1972) 1922-1930.
- [113] Szust J., Kubis A., Studies on the release of solubilized drugs from ointment bases. *Pharmazie*, 40 (1985) 115-117.
- [114] Takamoto R., Yamamoto S., Namba R., In vivo percutaneous absorptiometry by laser photoacoustic method using a novel open-ended cell combined with light guide. *Anal. Chem.* 66 (1994) 2267-2271.
- [115] Takeuchi Y., Yasukawa H., Yamaoka Y., Takahashi N., Tamura C., Morimoto Y., Fukushima S., Vasavada R.C. Effects of oleic acid/propylene glycol on rat abdominal stratum corneum: lipid extraction and appearance of propylene glycol in the dermis measured by Fourier transform infrared/attenuated total reflectance (FT-IR/ATR) spectroscopy. *Chem. Pharm. Bull.* 41 (1993) 1434-1437.
- [116] Tanojo H., Junginger H.E., Bodde H.E., In vivo human skin permeability enhancement by oleic acid: transepidermal water loss and Fourier-transform infrared spectroscopy studies. *J. Contr. Rel.* 47 (1997) 31-39.
- [117] Tojo K., Fan L.T., Membrane-moderated controlled release. *Math. Biosci.* 57 (1981) 279-300.
- [118] Tojo K., Lee C., A method for predicting steady-state rate of skin penetration in vivo. *J. Invest. Dermatol.* 92 (1989) 105-108.

Literaturverzeichnis

- [119] Touitou E., Abed L., Azone and n-decylmethylsulphoxide on skin permeation kinetics of 5-fluorouracil. *Int. J. Pharm.* 27 (1985) 89-98.
- [120] Touitou E., Meidan V.M., Horwitz E., Methods for quantitative determination of drug localized in the skin. *J. Contr. Rel.* 56 (1998) 7 21.
- [121] Tralheao A.S., Watkinson A.M.L., Brain K.R., Hadgraft J., Armstrong N.A., Use of ATR-FTIR spectroscopy to study the diffusion of ethanol through glycerogelatin films. *Pharm. Res.* 12 (1995) 572-575.
- [122] Twist J.N., Zatz J.L., Influence of solvents on paraben permeation through idealized skin model membranes. *J. Soc. Cosmet. Chem.* 37 (1986) 429-444.
- [123] Ugri-Hunyadvari E., Egri L., Gaschromatographische Untersuchung der Komponenten von Kunstvaselinen. *Pharm. Tech.* 28 (1982) 217-222.
- [124] Ugri-Hunyadvari E., Eros I., Studium der Gelstruktur von Kunstvaselinen. *Pharm. Ind.* 45 (1983) 429-432.
- [125] *Using Matlab*, Version 5, The Mathworks, Natick, 1999.
- [126] Wahls M.W.C., Toutenhoofd J.P., Leyte-Zuiderweg L.H., de Bleijser J., Leyte J.C., Step-scan FT-IR photoacoustic spectroscopy: the signal phase. *Appl. Spectrosc.* 51 (1997) 552-557.
- [127] Watkinson A.C., Brain K.R., Walters K.A., Hadgraft J., Prediction of the percutaneous penetration of ultra-violet filters used in sunscreen formulations. *Int. J. Cosmet. Sci.* 14 (1992) 265-275.
- [128] Watkinson A.C., Bunge A.L., Hadgraft J., Naik A., Computer simulation of penetrant concentration-depth profiles in the stratum corneum. *Int. J. Pharm.* 87 (1992) 175-182.
- [129] Watkinson A.C., Joubin H., Green D.M., Brain K.R., Hadgraft J., The influence of vehicle on permeation from saturated solutions. *Int. J. Pharm.* 121 (1995) 27-36.
- [130] Werner W., Giese K., Sennhenn B., Plaman K., Külmel K., Measurement of the thermal diffusivity of human epidermis by studying thermal wave propagation. *Phys. Med. Biol.* 37 (1992) 21-35.
- [131] Wurster D.E., Buraphacheep V., Patel J.M., The determination of diffusion coefficients in semisolid by Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. *Pharm. Res.* 10 (1993) 616-620.
- [132] Yamashita F., Bando H., Koyama Y., Kitagawa S., Takakura Y., Hashida M., In vivo and in vitro analysis of skin penetration enhancement based on a two-layer diffusion model with polar and nonpolar routes in the stratum corneum. *Pharm. Res.* 11 (1994) 185-190.
- [133] Yokomizo Y., Effect of phosphatidylcholine on the percutaneous penetration of drugs through the dorsal skin of guinea pigs in vitro, and analysis of the molecular mechanism, using attenuated total reflectance-fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy. *J. Contr. Rel.* 42 (1996) 249-262.

Literaturverzeichnis

- [134] Yokomizo Y., Effect of phosphatidylglycerol on the in vitro percutaneous drug penetration through the dorsal skin of guinea pigs, and analysis of the molecular mechanism, using (ATR-FTIR) spectroscopy. *Int. J. Pharm.* 147 (1997) 219-231.
- [135] Yotsuyanagi T., Higuchi W.I., Ghanem A.-H., Theoretical treatment of diffusional transport into and through an oil-water emulsion with an interfacial barrier at the oil water interface. *J. Pharm. Sci.* 62 (1973) 40-43.

Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei allen bedanken, die mich während meiner Arbeiten zur Erstellung der Dissertation unterstützt haben. Zuerst gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. R. Neubert für die Vergabe dieses interessanten Themas, als auch für sein fortwährendes Interesse am Fortgang der Arbeiten. Für die Möglichkeit, von Beginn an die Ergebnisse öffentlich präsentieren und dadurch Erfahrungen sammeln zu können, bin ich ihm ebenfalls dankbar.

Herrn Prof. Dr. S. Wartewig gilt mein Dank für die intensive Betreuung bei der Erstellung dieser Arbeit. Die von ihm eingeräumte weitgehende Freiheit bei der Konzipierung und Planung der Arbeiten im Zusammenhang mit seiner ständigen Bereitschaft zur kritischen Diskussion der Ergebnisse haben maßgeblich zum erfolgreichen Fortgang der Arbeiten beigetragen.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Dr. S. Huth für die wertvolle Einführung in das Forschungsgebiet der Wirkstoffpenetration.

Ebenfalls danke ich Herrn Dr. L. Boltze und Herrn R. Manitz für die vielfältige Unterstützung bei der mathematischen Aufbereitung der Problemstellung und für ihre stete Diskussionsbereitschaft.

Bei Frau H. Rudolf möchte ich mich für ihre Hilfe bei spektroskopischen Messungen bedanken. Allen wissenschaftlichen Mitarbeitern danke ich für die entspannte, freundliche Atmosphäre im Labor und die zahllosen interessanten Diskussionen.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe von mir erstellt wurde. Es wurden nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet. Aus Publikationen und Werken entnommene Stellen wurden als solche kenntlich gemacht.

Bui Duc Hanh

Halle (Saale), den 20.01.2002

Lebenslauf

Lebenslauf

Name: Bui Duc Hanh
Geburtstag: 19. September 1972
Geburtsort: Hanam Ninh - Vietnam

9/1978 – 6/1986 Grundschule in Hanoi
9/1986 – 6/1989 Gynasium in Hanoi
Abschluss Abitur
9/1989 – 6/1990 Deutscher Sprachkurs in Hanoi
9/1990 – 7/1991 Deutscher Sprachkurs in Halle (Saale)
9/1991 – 8/1996 Pharmazie-Studium an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg,
Staatsexamen in Pharmazeutischer Chemie, Pharmazeutischer
Technologie, Pharmazeutischer Biologie und Pharmakologie
7/1996 – 2/1997 Diplomarbeit am Institut für Pharmazeutische Technologie und
Biopharmazie zum Thema „Mathematische Modellierung der
Harnstofffreisetzung aus W/O Emulsionen“
3/1997 – 8/2001 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Pharmazeutische
Technologie und Biopharmazie, Fachbereich Pharmazie, Martin-
Luther-Universität Halle-Wittenberg.

Bui Duc Hanh

Halle (Saale), den 20.01.2002

C. Publikationsliste

- Schendzielorz A., Hanh B.D., Neubert R., Wartewig S., Penetration studies of Clotrimazole from semisolid formulation using step-scan FT-IR photoacoustic spectroscopy. *Pharm. Res.* 16 (1999) 42-45.
- Hanh B.D., Neubert R., Wartewig S., Christ A., Hentzsch C., Drug penetration as studied by non-invasive methods: FT-ATR, FTIR and UV photoacoustic spectroscopy. *J. Pharm. Sci.* 89 (2000) 1106-1113.
- Hanh B.D., Neubert R., Wartewig S., Investigations of drug release from suspensions using FT-ATR technique: Part I. Determination of effective diffusion coefficient of drugs. *Int. J. Pharm.* 204 (2000) 145-150.
- Hanh B.D., Neubert R., Wartewig S., Investigations of drug release from suspensions using FT-ATR technique: Part II. Determination of effective dissolution coefficient of drugs. *Int. J. Pharm.* 204 (2000) 151-158.
- Hanh B.D., Neubert R., Wartewig S., Lasch J., Penetration of compounds through human stratum corneum as studied by Fourier transformed infrared photoacoustic spectroscopy. *J. Control. Rel.* 70 (2001) 393-398.