

6. ZUSAMMENFASSUNG

Die Eignung des isoliert perfundierten Rindereuters als ein neues in vitro-Modell zur Bestimmung der dermalen Resorption von topisch applizierten Arzneimitteln wird untersucht. Als Testsubstanzen werden eingesetzt:

1) Dexamethason:

Dexamethason wird in einer Menge von 8 mg aus verschiedenen galenischen Formulierungen topisch auf eine Fläche von 100 cm² Euterhaut appliziert. Als Perfusionslösung wird eine Tyrodelösung mit und ohne Dextranszusatz verwendet. Die Dexamethasonkonzentrationen werden mit Hilfe eines Radioimmunoassay im Perfusat und in der Haut bestimmt. Unter Berücksichtigung der jeweiligen Perfusatflußrate wird die resorbierte Dexamethasonmenge bestimmt. Im Perfusat kann die höchste Dexamethasonkonzentration (1,91 µg/135 Min.) nach Applikation als Lösung mit Zusatz von DMSO gemessen werden. Aus der Acetonlösung gelangen 0,28 bis 0,36 µg in das Perfusat, wobei ein Dextranszusatz zur Perfusionsflüssigkeit ohne Wirkung bleibt. Aus der Salbe mit und ohne Salizylsäurezusatz gelangen 0,14 - 0,21 µg/135 Min. in das Perfusat. Salizylsäure führt dabei zu keiner Penetrationssteigerung. In der Haut können in allen Versuchsreihen Konzentrationen zwischen 1,56 und 2,27 µg/100 cm² gemessen werden. Die Ergebnisse verdeutlichen den Einfluß der galenischen Formulierungen auf die Resorption und belegen die penetrationssteigernde Wirkung von DMSO.

2) Benzoylperoxid:

Benzoylperoxid wird aus verschiedenen galenischen Formulierungen topisch in einer Konzentration von 500 mg/100 cm² Euterhaut appliziert. Der Nachweis im Perfusat und in der Haut wird mit einem chromatographischen Verfahren geführt. Unter Einbeziehung des Perfusionsflusses wird die resorbierte Substanzmenge berechnet. Die in vitro-Untersuchung bestätigt, daß Benzoylperoxid bereits in der Haut zu Benzoessäure metabolisiert wird, da in keiner der Perfusatfraktionen Benzoylperoxid nachgewiesen werden konnte. Die Benzoessäurekonzentration liegt mit 19,9 mg nach 135 minütiger Perfusion bei Applikation als Lösung mit Zusatz von DMSO am höchstem, gefolgt von 14,6 mg/135 Min. nach Applikation einer Acetonlösung. Die niedrigsten Werte

werden nach 5 minütiger Shampoobehandlung (6,7 mg/135 Min.) gemessen. In der Haut liegt sowohl Benzoylperoxid als auch Benzoesäure vor. Die Benzoylperoxidkonzentrationen der Haut liegen zwischen 4,0 und 42,0 mg/100cm²; die Benzoesäurekonzentrationen zwischen 35,0 und 48,0 mg/100cm².

3) Etofenamat:

Etofenamat wird in Konzentrationen von 2 und 0,75 g topisch als Lotio auf eine Fläche von 100 cm² Euterhaut appliziert. In den Perfusat- und Hautproben wird die Etofenamat und Flufenaminsäurekonzentration dünnschichtchromatographisch bestimmt. Unter Einbeziehung der jeweiligen Flußrate wird die Etofenamatkonzentration berechnet. Der Metabolit, die Flufenaminsäure, liegt in allen Perfusatsproben unter der Nachweisgrenze von 0,1 µg/ml. Die Etofenamatmenge im Perfusat liegt bei 0,46 mg nach 135 Minuten nach topischer Applikation von 2 g Etofenamat und bei 0,25 mg nach Applikation von 0,75 g Etofenamat. In der Haut werden in beiden Versuchsreihen Etofenamatwerte zwischen 32,0 und 35,0 mg/100cm² gemessen. Die Werte des Metaboliten der Flufenaminsäure liegen mit 0,34 und 1,16 mg/100cm² deutlich niedriger. Die Befunde bestätigen, neben einer guten Penetrationsfähigkeit von Etofenamat, eine geringe Metabolisierungsrate in der Haut zu Flufenaminsäure. Trotz der unterschiedlichen Dosierungen ist die resorbierte Etofenamatmenge nahezu gleich.

Um die Lebensfähigkeit des in vitro-Modells zu untersuchen, werden ergänzend biochemische Vitalitätsparameter bestimmt. Die Ergebnisse belegen die Lebensfähigkeit des Organs über einen Zeitraum von 135 Minuten.

Der Einsatz des isoliert perfundierten Rindereuters als ein neues in vitro-Modell zur Untersuchung der dermalen Resorption aus verschiedenen galenischen Formulierungen ist demnach möglich.

7. SUMMARY

Dorothee Arens

Studies of dermal penetration on the isolated perfused bovine udder

The present thesis investigates the suitability of an isolated, perfused bovine udder as an in vitro-model for determination of dermal absorption of topical drugs. The following test substances were used:

1) Dexamethasone:

Eight mg dexamethasone in different galenic formulations were applied to a surface area of 100 cm² of bovine udder skin. For perfusion, a Tyrode solution with and without dextran was used. Concentrations of dexamethasone were determined by radioimmunoassay in the perfused fluid and in the skin. The quantity of absorbed dexamethasone was determined according to the flow rate of the perfused solution. Dexamethasone concentration was highest (1,91 µg/135 min) when using a solution with DMSO as additive for perfusion. When using an acetone solution 0,28 - 0,36 µg were absorbed; addition of dextran to the perfusion fluid had no effect. From an ointment with and without salicylic acid as an additive 0,14 - 0,21 µg/min were absorbed. Salicylic acid therefore has no effect on the absorption rate. Concentrations between 1,56 and 2,27 µg/100 cm² could be measured in the skin in all trials. The results clearly show the effect of the galenic formulations on absorption and also prove that DMSO improves penetration.

2) Benzoylperoxide:

Five hundred mg benzoyl peroxide in different galenic formulations were applied to 100 cm² of bovine udder skin. Concentrations in the perfused fluid and the skin were determined by chromatography. The quantity of absorbed substance was calculated by the perfusion rate. The in vitro-trial confirms that benzoyl peroxide is transformed into benzoic acid already in the skin since benzoyl peroxide was not detectable in any of the perfused fluid fractions. Concentration of benzoic acid after 135 minutes was highest when applied as a

solution to which DMSO (19,9 mg) was added, followed by the acetone solution (14,6 mg). The lowest values were determined after shampooing of the skin for 5 minutes (6,7 mg/135 min). Benzoyl peroxide as well as benzoic acid were found in the skin. Concentrations were between 4,0 and 42,0 mg/100 cm² for benzoyl peroxide, and between 35,0 and 48,0 mg/100 cm² for benzoic acid.

3) Etofenamate:

Etofenamate (2 g and 0,75 g) respectively, were applied as a lotion to an area of 100 cm² bovine udder skin. Etofenamate was determined in the perfused fluid and in the skin by thin-layer chromatography. The concentration of etofenamate was calculated by the perfusion rate. The metabolite of etofenamate, flufenaminic acid, was below the detection limit of 0,1 µg/ml in all perfused fluids. After topical application of 2,0 and 0,75 g etofenamate, respectively, a concentration of 0,46 and 0,25 mg, respectively was determined in the perfused fluid after 135 minutes. Concentrations measured in skin were between 32,0 and 35,0 mg/100 cm² in both trials. Concentrations of the metabolite flufenaminic acid were markedly lower (0,34 and 1,16 mg/100 cm²). The results show that etofenamate has good penetration characteristics and that metabolisation rate in the skin is low. In spite of the different dosages, the quantities of absorbed etofenamate were nearly identical.

Biochemical examination of the udder skin proved that the skin seemed to be vital over a period of 135 minutes.

The isolated, perfused bovine udder can therefore be regarded as a new suitable in vitro-model for investigation of dermal absorption of various substances from different galenic formulations.