

# Modellierung und Analyse pharmakokinetischer invitro und invivo Systeme

## Dissertation

zur 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 Olaf Jeschke (Dipl. Phys.)  
geb. am 25. Juni 1967 in Schongau (Lech)

**urn:nbn:de:gbv:3-000008279**

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000008279>]

### Gutachter:

1. Prof. M. Weiss

2. Prof. R. Neubert

3. PD. Dr. Dr. W. Weber

Halle (Saale), den 20.04.2005

„Timaios: ... Wenn wir nun, mein Sokrates, angesichts der zahlreichen Erörterungen, die von früheren über die Götter und über die Entstehung des Weltalls bereits vorliegen, außerstande sein sollten eine in jeder Beziehung mit sich selber übereinstimmende und genau zutreffende Darstellung zu geben, wundere dich nicht; vielmehr muß es schon genügen, wenn unsere Darstellung es an Wahrscheinlichkeit mit der jedes anderen aufnehmen kann. Denn man darf nicht vergessen, daß wir alle, ich, der Vortragende, und ihr, die Richter, nur Menschen sind; wenn wir also über diese Dinge eine Dichtung zu hören bekommen, die auf Wahrscheinlichkeit Anspruch hat, so können wir ganz zufrieden sein und brauchen nichts weiter zu verlangen.“ Platon (Apelt, O., 1993, ST 29c)

# Inhaltsverzeichnis

<b>Symbole und Abkürzungen</b>	<b>viii</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Ziel der Arbeit . . . . .	1
1.2 Randbedingungen der invitro Experimente . . . . .	2
1.3 Modellsubstanzen . . . . .	2
1.3.1 Die Polychlorierten Biphenyle . . . . .	3
1.3.2 Diclofenac . . . . .	5
1.4 Philosophie der Modellierung . . . . .	6
1.4.1 Verhältnis Experiment zu mathematischem Modell . . . . .	6
1.4.2 Validierung der mathematischen Modelle . . . . .	6
1.4.3 Optimierung des experimentellen Designs . . . . .	6
1.4.4 Pharmakokinetische Prognosemodelle . . . . .	7
<b>2 Material und Methoden</b>	<b>8</b>
2.1 Material . . . . .	8
2.1.1 Chemikalien . . . . .	8
2.2 Laborgeräte . . . . .	8
2.2.1 Invitro-Modell . . . . .	8
2.2.2 HPLC . . . . .	9
2.2.3 Meßgeräte für die akustischen Untersuchungen . . . . .	10
2.3 Methoden . . . . .	10
2.3.1 Silanisierung . . . . .	10
2.3.2 Herstellung der Membranen . . . . .	10
2.3.3 Herstellung des Puffers nach GREEN . . . . .	10
2.3.4 Herstellung der Grundlösungen . . . . .	11
<b>3 Mathematische Modellierung</b>	<b>12</b>
3.1 Pharmakokinetische Grundbegriffe . . . . .	12
3.1.1 Verweilzeitkonzept . . . . .	12
3.1.2 Massenerhaltung . . . . .	13

3.1.3	Momentanalyse . . . . .	13
3.1.4	Maßzahlen . . . . .	14
3.1.5	Modellidentifikation . . . . .	14
3.2	Verhaltens- und Strukturmodelle . . . . .	15
3.2.1	Linear zeitinvariante Systeme . . . . .	16
3.2.2	Das Faltungsintegral . . . . .	17
3.2.3	Zusammengesetzte Systeme . . . . .	17
3.2.4	Spezielle Systeme . . . . .	19
3.3	Kompartimentmodelle . . . . .	20
3.3.1	Das n-Kompartimentsystem . . . . .	20
3.3.2	Das zwei-Kompartimentsystem . . . . .	21
3.3.3	Das drei-Kompartimentsystem (Bindung) . . . . .	22
3.4	Diffusionsmodell . . . . .	24
3.4.1	Diffusionsgleichung der Membran . . . . .	24
3.4.2	Lösung im LAPLACE-Raum . . . . .	26
3.5	Empirisches Modell zur Beschreibung der Experimente . . . . .	28
3.6	Modellfunktion der Bioverfügbarkeitsstudie . . . . .	29
3.7	Ganzkörpersimulationsprogramm . . . . .	29
3.7.1	2-Phasen Diffusionsmodell . . . . .	31
3.7.2	Anomales Diffusionsmodell . . . . .	31
3.8	Sensitivitätsanalyse . . . . .	31
3.8.1	Die normierte Modell-Sensitivität . . . . .	32
3.8.2	Die normierte Parameter-Sensitivität . . . . .	32
3.8.3	Parameter-Information-Sensitivität . . . . .	32
3.8.4	Generalisierte Parameter-Information-Sensitivität . . . . .	33
3.8.5	Generalisierte integrale Parameter-Information-Sensitivität . . . . .	33
3.9	LAPLACE-Transformation . . . . .	34
3.9.1	Definition des LAPLACE-Integrales . . . . .	35
3.9.2	Definition der LAPLACE-Rücktransformation . . . . .	35
3.9.3	Bestimmtes Integral . . . . .	35
3.9.4	Differentiation . . . . .	35
3.9.5	Differentiation im LAPLACE-Raum . . . . .	35
3.9.6	Numerische inverse LAPLACE-Transformation . . . . .	36
<b>4</b>	<b>Experimente und Simulationen</b>	<b>37</b>
4.1	Experimente . . . . .	37
4.1.1	Kritische Parameter der Versuchsanordnung . . . . .	38
4.1.2	Aussagen zur Identifizierbarkeit der Modellparameter . . . . .	43

4.1.3	Optimierung des Sampling Schemas . . . . .	50
4.1.4	Diffusionsexperimente mit PCB . . . . .	51
4.1.5	Diffusionsexperimente mit Diclofenac . . . . .	57
4.1.6	Auswertung der Experimente mit Diclofenac . . . . .	60
4.1.7	Vergleich der Diffusion von PCB und Diclofenac . . . . .	63
4.1.8	Invivo Pilotexperimente mit PCB . . . . .	63
4.1.9	Photoakustik . . . . .	63
4.2	Analyse und Optimierung des experimentellen Designs . . . . .	65
4.2.1	Bioverfügbarkeitsstudie . . . . .	66
4.2.2	Simulationsstudie 1 . . . . .	67
4.2.3	Simulationsstudie 2 . . . . .	70
4.2.4	Folgerungen aus den Bioverfügbarkeits- und Simulationsstudien . . . . .	72
4.3	Physiologisch basiertes Ganzkörpersimulationsmodell . . . . .	73
4.3.1	Graphische Benutzeroberfläche zum Programm Circulation . . . . .	73
4.3.2	Organ-Konzentrationszeitkurven . . . . .	74
4.3.3	Voraussetzungen der Simulation . . . . .	74
4.3.4	Parameter für PCB 153 . . . . .	75
4.3.5	Simulationen mit veränderten Herzminutenvolumen . . . . .	77
4.3.6	Simulationen mit verdoppeltem Fettgewebeanteil . . . . .	80
4.3.7	Simulationen mit einem anormalen Diffusionsmodell . . . . .	83
<b>5</b>	<b>Zusammenfassender Ausblick der Arbeit</b>	<b>87</b>
<b>A</b>	<b>Verwendete Software</b>	<b>98</b>
A.1	Programm „Circulation“ . . . . .	99
A.1.1	Graphische Benutzeroberfläche des Programms „Circulation“ . . . . .	99
A.1.2	Erzeugen einer Simulation . . . . .	100
<b>B</b>	<b>Messung Mechanik</b>	<b>102</b>
<b>C</b>	<b>Verwendete Membranen</b>	<b>104</b>
C.1	Daten zum Ganzkörpersimulationsprogramm . . . . .	105
C.1.1	Physiologische Daten der Organmodelle . . . . .	106
C.1.2	Pharmakokinetische Daten der Organmodelle . . . . .	106
<b>D</b>	<b>Gesamtergebnis Studie 1</b>	<b>109</b>
<b>E</b>	<b>Gesamtergebnis Studie 2</b>	<b>120</b>
	<b>Danksagung</b>	<b>131</b>
	<b>Lebenslauf</b>	<b>132</b>

# Abbildungsverzeichnis

1.1	Grundstrukturformel der Polychlorierten Biphenyle . . . . .	4
1.2	Strukturformel des Diclofenac Natrium . . . . .	5
2.1	Schematische Darstellung des invitro-Modells . . . . .	9
3.1	Schematische Darstellung eines Blackbox Systems . . . . .	16
3.2	Schematische Darstellung eines seriellen Systems . . . . .	18
3.3	Schematische Darstellung eines parallelen Systems . . . . .	18
3.4	Schematische Darstellung eines rückgekoppelten Systems . . . . .	19
3.5	Schematische Darstellung eines n-Kompartimentsystems . . . . .	20
3.6	Schematische Darstellung eines zwei-Kompartimentsystems . . . . .	21
3.7	Schematische Darstellung eines zwei-Kompartimentsystems mit Bindung . . . . .	23
3.8	Versuchsaufbau reduziert auf das Diffusionsmodell. . . . .	24
3.9	Schematische Darstellung des Ganzkörpersimulationsprogramms . . . . .	30
4.1	Ausschnitt des Versuchsaufbaus des Diffusionsversuches. . . . .	39
4.2	Vibrationsamplitude des Laborrüttlers bei 50 Hz . . . . .	40
4.3	Äquilibrierung PCB 28, 52, 95 in Puffer+BSA . . . . .	41
4.4	Vergleich der unterschiedlichen Ausgangskonzentrationen mit 5 % BSA . . . . .	41
4.5	Vergleich PCB 28 BSA Konzentrationen . . . . .	42
4.6	Graphen der Kurven „diff“ und „ig“ mit gleichen Parametern . . . . .	44
4.7	simulierte Konzentrationszeitverläufe für die Intesitätstufen 8 und 9. . . . .	49
4.8	Parameter-Informationen-Sensitivität für PCB 28 des Diffusionsmodells . . . . .	50
4.9	GIPS für PCB 28 des Diffusionsmodells . . . . .	51
4.10	Vergleich hohe und niedrige Intensität PCB 28 . . . . .	52
4.11	Vergleich hohe und niedrige Intensität PCB 52 . . . . .	54
4.12	Vergleich hohe und niedrige Intensität PCB 101 . . . . .	55
4.13	Aufnahme Membran mit Diclofenac . . . . .	58
4.14	Konzentrationszeitkurven in den beiden Kammerhälften . . . . .	58
4.15	Konzentrationszeitkurven Diclofenac: BSA $\Rightarrow$ BSA. . . . .	61
4.16	Konzentrationszeitkurven Diclofenac: Miz $\Rightarrow$ BSA. . . . .	61
4.17	Konzentrationszeitkurven Diclofenac: Miz $\Rightarrow$ Miz. . . . .	62

4.18	Konzentrationszeitkurve der <i>invivo</i> Experimente mit PCB 28 . . . . .	64
4.19	Konzentrationszeitkurve der <i>invivo</i> Experimente mit PCB 101 . . . . .	65
4.20	Vergleich GPS mit vollem und verkürztem Sampling Schema. . . . .	66
4.21	Morphin Konzentrationszeitverlauf nach i. v. und p. o. Applikation . . . . .	67
4.22	Schematische Darstellung der Berechnung eines einzelnen Organs . . . . .	74
4.23	Vergleich Alfentanil unterschiedlicher Cardiac Output . . . . .	78
4.24	Vergleich Fentanyl unterschiedlicher Cardiac Output . . . . .	78
4.25	Vergleich Thiopental unterschiedlicher Cardiac Output . . . . .	80
4.26	Alfentanil mit unterschiedlichem Fettgewebeanteil . . . . .	81
4.27	Fentanyl mit unterschiedlichem Fettgewebeanteil . . . . .	82
4.28	Thiopental mit unterschiedlichem Fettgewebeanteil . . . . .	82
4.29	PCB 153: Vergleich verschiedener Organmodelle. . . . .	85
4.30	PCB 153: Vergleich des 2-Phasenmodell, unterschiedlicher Clearance. . . . .	86
4.31	PCB 153: Vergleich verschiedener Organmodelle, 2. Parametersatz. . . . .	86
A.1	Hauptfenster des Programms Circulation . . . . .	100
A.2	Fenster: Organspezifische Daten des Programms Circulation . . . . .	101
A.3	Fenster: Sampling Schemae des Programms Circulation . . . . .	101
B.1	Vibrationsamplitude in mm bei 50 Hz . . . . .	102
B.2	Vibrationsamplitude in mm bei 100 Hz . . . . .	103
B.3	Spektrum der Schwingung des Laborrüttlers einer Kammer . . . . .	103
D.1	Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für MAT. . . . .	109
D.2	Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für MAT, RMSE Wert. . . . .	110
D.3	Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für F. . . . .	110
D.4	Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für F, RMSE Wert. . . . .	111
D.5	Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für $CV^2$ . . . . .	111
D.6	Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für $CV^2$ , RMSE Wert. . . . .	112
E.1	Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für MAT. . . . .	120
E.2	Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für MAT, RMSE Wert. . . . .	121
E.3	Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für F. . . . .	121
E.4	Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für F., RMSE Wert . . . . .	122
E.5	Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für $CV^2$ . . . . .	122
E.6	Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für $CV^2$ ., RMSE Wert. . . . .	123

# Tabellenverzeichnis

4.1	Ermittelte Parameter der Ausgleichsfunktion für die Vibrationsstärke. . . . .	39
4.2	Parameter, mit denen die Simulationen durchgeführt werden. . . . .	43
4.3	t–Test der Parameter des Diffusionsmodells . . . . .	45
4.4	Vergleich der Schätzung der Parameter $K_m$ , $D_m$ und $k_p^{ve}$ . . . . .	46
4.5	Vergleich der Parameter der inversen GAUSS–Funktion der Simulation . . . . .	47
4.6	Simulation Intensität Stufe 8; geschätzte Parameter . . . . .	49
4.7	Parameter der Experimente mit PCB . . . . .	52
4.8	Parameteranpassungen mit dem Diffusionsmodell der PCB . . . . .	53
4.9	Parameteranpassungen mit der inversen GAUSS–Funktion der PCBs. . . . .	54
4.10	t–Test zwischen allen Randbedingungen PCB . . . . .	55
4.11	Parameter der Experimente mit Diclofenac . . . . .	59
4.12	Vergleich $MTT$ Diclofenac mit Kompartimentmodell . . . . .	59
4.13	Vergleich $MTT$ von Diclofenac in verschiedenen Versuchsanordnungen . . . . .	60
4.14	Vergleich Diclofenac, ausgewertet mit dem Diffusionsmodell . . . . .	60
4.15	Parameter der <i>invivo</i> Experimente PCB 28 und 101 . . . . .	64
4.16	Vergleich realer Daten i. v. und oral . . . . .	68
4.17	Schema der durchgeführten Anpassungen . . . . .	70
4.18	Ergebnis der Auswertung der Simulationen zur Bioverfügbarkeit . . . . .	71
4.19	HMV für die Simulation mit dem Ganzkörpersimulationsprogramm . . . . .	75
4.20	Parameter des Kreislaufsystems . . . . .	75
4.21	Daten des Ganzkörpermodelles für PCB 153 . . . . .	76
4.22	Vergleich Gesamtelimination, $C_{max}$ , $T_{max}$ und $AUC_{single}$ . . . . .	79
4.23	Vergleich $AUC$ , $MDRT$ , $CL$ und $V_{ss}$ . . . . .	79
C.1	Membranen: Dicke, Versuch . . . . .	104
C.2	Parameter: Thiopental, Fentanyl, Alfentanil, Amiodarone . . . . .	105
C.3	Physiologische Daten des gesunden, Durchschnittsmenschen . . . . .	107
C.4	Parameter des Organmodells: Thiopental . . . . .	107
C.5	Parameter des Organmodells: Alfentanil . . . . .	108
C.6	Parameter des Organmodells: Fentanyl . . . . .	108

D.1	Dispositionssystem least-square . . . . .	112
D.2	Dispositionssystem maximum-likelihood . . . . .	113
D.3	Datensatz einzeln least-square . . . . .	113
D.4	Datensatz einzeln least-square, kurzes Sampling Schema . . . . .	114
D.5	Datensatz Median least-square . . . . .	114
D.6	Datensatz Median least-square, kurzes Sampling Schema . . . . .	115
D.7	Datensatz gleichzeitig least-square . . . . .	116
D.8	Datensatz gleichzeitig least-square, kurzes Sampling Schema . . . . .	117
D.9	Datensatz gleichzeitig maximum-likelihood . . . . .	118
D.10	Datensatz gleichzeitig maximum-likelihood, kurzes Sampling Schema . . . . .	119
E.1	Dispositionssystem least-square . . . . .	123
E.2	Dispositionssystem maximum-likelihood . . . . .	124
E.3	Datensatz einzeln least-square . . . . .	124
E.4	Datensatz einzeln least-square, kurzes Sampling Schema . . . . .	125
E.5	Datensatz Median least-square . . . . .	125
E.6	Datensatz Median least-square, kurzes Sampling Schema . . . . .	126
E.7	Datensatz gleichzeitig least-square . . . . .	127
E.8	Datensatz gleichzeitig least-square, kurzes Sampling Schema . . . . .	128
E.9	Datensatz gleichzeitig maximum-likelihood . . . . .	129
E.10	Datensatz gleichzeitig maximum-likelihood, kurzes Sampling Schema . . . . .	130

# Symbole und Abkürzungen

## Verwendete Symbole

Symbol	Maßeinheit	Beschreibung
$[\dots]_D$		Parameter, der sich auf das Dispositionssystem bezieht
$[\dots]_0$		Zeitpunkt $t = 0$
$[\dots]_a$		Parameter, der sich auf den Akzeptor bezieht
$[\dots]_d$		Parameter, der sich auf den Donator bezieht
$A$	$\text{cm}^2$	Fläche der Membran
$AUC$	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}} \text{min}$	Area under the curve
$CL$	$\frac{\text{mL}}{\text{min}}$	Clearance (Gleichung 3.9)
$CV, s$		Standardabweichung, coefficient of variation, Streumaß
$s, s_x$		empirische Standardabweichung $s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$
$s_{xy}$		empirische Kovarianz: $s_{xy} = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})$
$r_{xy}$		empirischer Korrelationskoeffizient: $r_{xy} = \frac{s_{xy}}{s_x s_y}$
$C_a$	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$	Konzentration im Akzeptor
$C_d$	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$	Konzentration im Donator

Symbol	Maßeinheit	Beschreibung
$C_{d0}$	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$	Anfangskonzentration im Donator
$D_m$	$\frac{\text{cm}^2}{\text{h}}$	Diffusionskoeffizient der Membran
$F$		Bioverfügbarkeit bzw. Recovery: Verhältnis zwischen verfügbarer (arteriell) und applizierter Menge (Gleichung 3.11)
$\mathcal{L}^{-1}$		Symbol für die inverse LAPLACE-Transformation
$K_a$		Partitionskoeffizient zwischen Donator und Akzeptor
$K_m$		Partitionskoeffizient zwischen Donator und Membran
$K_j^i$		Partitionskoeffizient zwischen Gewebe $i$ und Pharmakon $j$
$MTT$	h	Mittlere Transitzeit (mean transit time)
$MAT$	h	Mittlere Absorptionszeit (mean absorption time)
$MDRT, MRT_D$	h	Mittlere Verweilzeit im Dispositionssystem (mean disposition residence time)
$MRT$	h	Mittlere Verweilzeit (mean residence time)
$V_i$	$\text{cm}^3$	Volumen der Kammer $i$
$V_m$	$\text{cm}^3$	Volumen der Membran
$V_{aN}$		Normiertes Akzeptorvolumen Modell nach Anissimov, Y. G. und Roberts, M. S. (2000)
$V_{dN}$		Normiertes Donatorvolumen Modell nach Anissimov, Y. G. und Roberts, M. S. (2000)
$\hat{Q}(s)$		Transportierte Menge auf der Seite des Akzeptors nach Anissimov, Y. G. und Roberts, M. S. (2000)
$q$	$\frac{\text{mL}}{\text{min}}$	Fluß
$\wedge$		Funktionen im LAPLACE-Raum
$-$		Mittelwert $\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$
$d_{\bar{x}}$		Durchschnittliche Mittelwert- / Medianabweichung $d_{\bar{x}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n  x_i - \bar{x} $
$\sim$		Median für die geordnete Meßreihe

$$\tilde{x} = \begin{cases} x_{\frac{n+1}{2}}, & \text{falls } n \text{ ungerade} \\ x_{\frac{n}{2}}, & \text{falls } n \text{ gerade} \end{cases}$$

Symbol	Maßeinheit	Beschreibung
$h_m$	cm	Dicke der Membran
$k_p^{sc}$	$\frac{\text{cm}}{\text{h}}$	Permeationskoeffizient der Membran, Modell nach Anissimov, Y. G. und Roberts, M. S. (2000)
$k_p^{ve}$	$\frac{\text{cm}}{\text{h}}$	Permeationskoeffizient der ungerührten Schicht, Modell nach Anissimov, Y. G. und Roberts, M. S. (2000)
$t_d$	h	6-fache lag-time eines steady-state Modell

## Verwendete Abkürzungen

Abkürzung	Beschreibung
BSA	Bovine Serum Albumin; im experimentellen Teil: Pufferlösung mit einem Anteil BSA
GPS	Generalisierte Parameter Informationssensitivitäten
GIPS	Generalisierte integrale Parameter Informationssensitivitäten
GSF	Generalisierte Sensitivitätsfunktion
GISF	Generalisierte integrale Sensitivitätsfunktion
DDE	1,1,-Dichloro-2,2-bis-( <i>p</i> -chlorophenyl)ethylen
DDT	1,1,1-Trichloro-2,2-bis-( <i>p</i> -chlorophenyl)ethan
DPPC	Dipalmitoylphosphatidylcholin
HBB	Hexabrombiphenyl
HCH	Hexachlorochylohexan
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LTI	Linear und Zeit invariant (linear time invariant)
ME	Mittlerer Fehler (mean error)
%ME	Relativer mittlerer Fehler
Miz	Mizelle; im experimentellen Teil: Pufferlösung mit einem fünf mM Anteil Gallensalz (Chenodeoxycholsäure)
MSE	Mittlerer quadratischer Fehler (mean squared error) $MSE = (x_i - x)^2$
%MSE	relativer mittlerer quadratischer Fehler
NMS	normierte Modell Sensitivität
NPS	Parameter Sensitivität
OECD	Organisation for Economic Cooperation and Development
PCB	Polychloriertes Biphenyl

<b>Abkürzung</b>	<b>Beschreibung</b>
pH	negativer Logarithmus der Konzentration der $H_3O^+$ Ionen
PVC	Polyvinylchlorid
PIS	Parameter Informationssensitivitäten
POP	Persistent Organic Pollutants
PS	Permeationsoberflächenprodukt
renal	der Niere zugehörig
RMSE	Wurzel des MSE Wertes: $\sqrt{MSE}$
%RMSE	relativer RMSE Wert
SDS	Natriumdodecylsulfat
SKT	Skalenteilung
TDI	tolerable daily intake. Grenzwert der maximal zulässigen Gesamtdosis für Umweltschadstoffe.
i. a.	intra arteriell
i. v.	intra venös
oBdA	ohne Beschränkung der Allgemeinheit
p. o.	per os, oral (durch den Mund)

# Kapitel 1

## Einleitung

### 1.1 Ziel der Arbeit

Die Durchführung von invasiven *in vivo* Experimenten erscheint in den letzten Jahrzehnten aus ethischen Gründen zunehmend fragwürdig. Um sie trotz der ethischen Bedenken zu rechtfertigen, ist ihre Notwendigkeit klar nachzuweisen. Darüber hinaus gilt es, Alternativen zu suchen, die erlauben, die Zahl der *in vivo* Experimente zu reduzieren. Ein Beitrag zur Lösung der letztgenannten Aufgabe soll diese Arbeit leisten. Es wurden pharmakokinetische *in vitro* Experimente durchgeführt, die mit mathematischen Modellen beschrieben wurden. Die daran anschließenden Simulationen zeigen, wie diese Experimente ersetzt werden können, und damit die Anzahl der Experimente reduziert werden. Jene Vorgehensweise, die mathematische Modellierung und die Simulation, wird auch auf *in vivo* Experimente übertragen. Indem diese Arbeit nachweist, daß die mathematische Modellierung zu vergleichbaren Ergebnissen führt, zeigt sie eine Alternative zu *in vivo* Experimenten auf, und liefert damit ein Argument für deren Begrenzung.

Die benötigten Materialien und Methoden für die in dieser Arbeit durchgeführten Experimente werden in Kapitel 2 und die für die Auswertung verwendeten mathematischen Hilfsmittel in Kapitel 3 beschrieben.

Kapitel 4 befaßt sich mit den Experimenten und Simulationen. Abschnitt 4.1 stellt den Versuchsaufbau, die Durchführung und die Ergebnisse der *in vitro* Diffusionsexperimenten dar. Die Ergebnisse werden mit bis zu drei verschiedenen mathematischen Modellen interpretiert und verglichen, die auf den Arbeiten von Anissimov, Y. G. und Roberts, M. S. (1999, 2000) beruhen. Darüber hinaus werden die experimentellen Daten, insbesondere die mittlere Transitzeit (die Übergangszeit zwischen den Kammern), zusätzlich mit zwei empirischen Modellen ausgewertet, erstens mit der inversen GAUSS-Verteilung (Weiss (1984)) und zweitens mit einem Kompartiment Modell von Rescigno, A. und Sergre, G. (1966). Das Kompartiment Modell liefert die makroskopische und das Diffusionsmodell von Anissimov, Y. G. und Roberts, M. S. (2000) die mikroskopische Beschreibung des physikalischen Prozesses. Der darauf folgende Abschnitt 4.2 geht auf die Optimierung des experimentellen Designs anhand des Samplings-

chemas einer Bioverfügbarkeitsstudie ein. In dem abschließenden Abschnitt 4.3 wird ein Ganzkörpersimulationsprogramm erweitert und auf seine Verwendbarkeit überprüft. Zum Abschluß der Abschnitte werden die sich daraus ergebenden Folgerungen diskutiert.

## 1.2 Randbedingungen der invitro Experimente

Für die Modellbildung und Analyse des Diffusionsprozesses wurden invitro Experimente durchgeführt. Dazu wurde ein Zwei-Kammer-Diffusionsmodell verwendet, das von Neubert (1978) beschrieben und nachfolgend auch von anderen Autoren (Fürst, W. u. a. (1980, 1982); Neubert, R. u. a. (1987)) benutzt wurde. Die in ihm enthaltene sehr lipophile Membran ist den körpereigenen Membranen in den Transporteigenschaften sehr ähnlich. Die Wahl des Zwei-Kammer-Diffusionsmodelles bietet die Möglichkeit, die mit ihm gewonnenen Daten mit unterschiedlichen mathematischen Modellen auszuwerten. Differenzen entstehen gegenüber dem idealem Diffusionsmodell durch eine zusätzliche Barriere für lipophile Stoffe, der sogenannten ungerührten Schicht. Diese wird von Carriern wie der Lipidfraktion nicht durchdrungen. Zunächst wurde dieses Phänomen bei der Auflösung von Festkörpern am Anfang des 20. Jahrhunderts untersucht (Noyes, A. A. und Whitney, W. R. (1897); Brunner (1904); Nernst (1904)). Die Modellierung des Transports durch Mehrschichtsysteme, zu denen auch das Phänomen der ungerührten Schicht gehört, wird in der Literatur auf verschiedene Weisen beschrieben (Kedem, O. und Katchalsky, A. (1961, 1963); Loth (1987); Parry, G. E. u. a. (1990); Ohtori, A. und Tojo, K. (1994); Cordero, J. A. u. a. (1997); Ono, N. u. a. (1999); Soda, S. u. a. (1999); Anissimov, Y. G. und Roberts, M. S. (1999, 2000); Roberts, M. S. u. a. (1999)). Im menschlichen Körper existiert diese ungerührte Schicht z. B. beim Übergang der Pharmaka an der Magen-Darmwand. Um unterschiedliche Randbedingungen des experimentellen Designs zur Verfügung zu stellen, werden in dieser Arbeit Vergleiche zwischen zwei Pharmaka durchgeführt.

## 1.3 Modellschichten

Die in den Experimenten untersuchten Stoffe sind PCB und Diclofenac. Die beiden Pharmaka wurden gewählt, weil sie eine ähnliche Molekülgröße, aber unterschiedliche chemische Eigenschaften besitzen: PCB sind lipophil, und Diclofenac ist hydrophil. PCB haben als lipophile Stoffe eine sehr lange Verweildauer im menschlichen Körper, die gegenüber lipophilen Medikamenten (z. B. Phenprocumon oder Thiopental) einen zeitlichen Extremwert darstellen. Als Referenz zu den PCB Experimenten werden die Experimente mit Diclofenac durchgeführt. Die Experimente mit Diclofenac werden zusätzlich in unterschiedlichen Medien durchgeführt, und zwar in der Lipidfraktion des Blutes und in Gallensalzen, die Mizellen bilden.

### 1.3.1 Die Polychlorierten Biphenyle

#### *Exkurs*

#### *Die Rolle der Polychlorierten Biphenyle in der Umwelt*

In den letzten Jahrzehnten nahm die Aufmerksamkeit in Bezug auf toxische Stoffe in der Umwelt stetig zu. Viele davon sind Substanzen mit einem stark lipophilen Charakter. Mitte des Jahres 2001 tagte in Stockholm eine Arbeitsgruppe der UNO, um über ein weltweites Produktionsverbot der sogenannten **Persistent Organic Pollutants (POP)** zu beraten, welches in Europa und den USA schon in Kraft getreten ist (Mrasek (2001)). Eine Untergruppe der POPs sind die **polychlorierten Biphenylen (PCB)**. Diese setzt sich aus 209, im Chlorierungsgrad verschiedenen, Biphenylen zusammen.

Die ersten Studien wurden durch Umweltkatastrophen angestoßen. Bei zwei Unfällen in Japan (1968) und in Taiwan (1979) gelangte PCB belastetes Reisöl in die Nahrungskette und führte großflächig zu Vergiftungen (Koss, 1994, S. 425, 426). In Europa rückten die PCB im Zusammenhang mit der Katastrophe in Seveso 1976, Norditalien, in das Bewußtsein. Dort explodierte ein Kessel einer Chemiefabrik und chlorierte Lösungsmittel gelangten in die Umwelt (Harmsen (2001)).

#### *Geschichtlicher Überblick: Aufstieg und Fall einer Stoffgruppe*

Am Anfang des 20. Jahrhunderts wurden PCB im Zuge wachsender naturwissenschaftlicher Erkenntnisse entdeckt. Sie gewannen rasch an neuen Einsatzgebieten und wurden deshalb weit verbreitet. Die hohe physikalische und chemische Stabilität, die heute zu großen Problemen führt, war ausschlaggebend für ihre Beliebtheit. PCB besitzen außerdem einen extrem hohen elektrischen Isolationswiderstand und eine hohe thermische Leitfähigkeit. Über einen mehrere hundert Kelvin weiten Bereich hinweg zeigen sie eine ölige Konsistenz.

Einsatzgebiete sind sowohl offene als auch geschlossene Systeme. Die geschlossenen Systeme sind hauptsächlich technischer Natur. Hier dienen PCB als Dielektrika in Klein- und Großkondensatoren, als Isolier- und Kühlflüssigkeiten in großtechnischen Transformatoren und Gleichrichtern, (z. B. in Lokomotiven oder Transformatorstationen) oder als Hydraulikflüssigkeiten und Wärmeübertrager. Die weitaus umweltgefährdenderen Einsatzgebiete sind die offenen Systeme, in denen PCB als Weichmacher in Lacken, Farben und Kunststoffen (z. B. PVC) oder als Benetzungs- und Beschichtungsmittel für Papiere verwendet werden. Auch als Zusatz für Pestizide finden die PCB Anwendung. Gerade die in offenen Systemen verwendeten PCB führen zu ihrer unkontrollierbaren Ausbreitung. Deshalb ist die Produktion in Deutschland seit dem 14.10.1993 verboten (Fiedler, H. u. a. (1995)).

### Chemische Beschreibung

Die zwölf Kohlenstoffatome der polychlorierten Biphenyle ( $C_{12}H_{10-x}Cl_x$ ) sind in zwei miteinander verbundenen Phenylringen angeordnet. Es bleiben zehn Substitutionsplätze für die Chloratome erhalten. Insgesamt ergeben sich 209 verschiedene Möglichkeiten, bis zu zehn Chlor-Atome auf die Plätze der Wasserstoffatome zu verteilen (Abbildung 1.1: einige in der Abbildung vermuteten Kombinationen entfallen aufgrund der Rotationssymmetrien.) Die unterschiedlichen substituierten Biphenyle werden als Kongenere bezeichnet. Die systematische Bezeichnung erfolgt nach der „International Union of Pure and Applied Chemistry“ (IUPAC). Eine vollständige Auflistung der Kongenere ist bei Fiedler, H. u. a. (1995) zu finden.

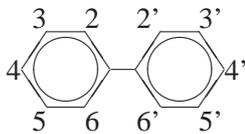


Abbildung 1.1: Grundstrukturformel der chlorierten Biphenyle, mit der systematischen Bezeichnung für die Substitutionsorte nach IUPAC. Die Stellung wird in Bezug auf die C–C Bindung angegeben. Chlor in Position 2 oder 2': ortho-Position; Chlor in Position 3 oder 3': meta-Position; Chlor in Position 4 oder 4': para-Position; Analog für die Positionen 5, 5', 6 und 6'.

### Wissenschaftliche Studien zu Polychlorierten Biphenylen und deren Auswirkungen auf den menschlichen Körper

Ein wichtiger Schritt für die Reproduzierbarkeit von Experimenten und Untersuchungen war die Einführung der Indikator-Kongenere (PCB 28, 52, 101, 138, 153 und 180) im Jahr 1988. Anhand ihrer Konzentration wird auf den Gesamtgehalt aller PCB Kongenere einer Probe geschlossen. Nach Koss (1994) lassen sich so 25 % – 28 % der gesamten PCBs erfassen. Fiedler, H. u. a. (1995) geben an, daß für Altöl und Abfall der Gesamt-PCB-Gehalt über diese Leitsubstanzen bestimmt wird. Dafür wird die Summe über ihre Konzentrationen gebildet und mit fünf multipliziert (d. h. sie gehen davon aus, daß 20 % erfaßt werden).

### Pharmakokinetik

Nach Ewers, U. u. a. (1998) werden 90 % – 95 % der PCB durch lipidreiche Lebensmittel wie Milch-, Fleisch- und Fischprodukte aufgenommen. Die Resorption erfolgt durch den Darm. (Bei Ratten ist diese unabhängig von dem Chlorierungsgrad und der Dosis.) Eine Aufnahme mit der Atemluft ist nicht bekannt, während eine dermale Aufnahme stark von der Verweildauer der PCBs auf der Haut und der Art des Lösungsmittels abhängt. Die Verteilung des PCBs im Organismus erfolgt über den Blutkreislauf, zu geringen Teilen auch über den Lymphkreislauf und ist unabhängig von der Applikationsart. Dabei bindet es sich an die Lipoproteine und Plasmaproteine des Blutes.

Im Hinblick auf die Abbaupfade lässt sich zusammenfassend feststellen: Die Leber besitzt die höchste enzymatische Kapazität zur Metabolisierung; Lunge, Nieren und Darmwand weisen das schwächste Vermögen zur Metabolisierung auf. Ausgeschieden werden sowohl freie Metabolite als auch die Konjugate über Niere und Darm.

### Anreicherung im menschlichen Körper

Durch die hohe Lipophilie reichern sich die PCB im Zentralen Nervensystem (ZNS) und im Fettgewebe an (Fiedler, H. u. a. (1995)). Die niedrig chlorierten Tetra-CB lagern sich im Zentralen Nervensystem, in der Leber und der Lipidfraktion des Fettgewebes an. Die höher chlorierten Hexa-CB finden sich zusätzlich zu einem Zehntel in der Proteinfraction. PCBs werden um so stärker im Fettgewebe angereichert, je größer die Zahl der Chlorsubstituenten in ortho-Position ist (2,2',6 und 6') (Gabrio, T. und Schwenk, M. (1997)).

Für den erwachsenen Menschen beträgt die durchschnittliche tägliche natürliche Aufnahme  $0,1 \frac{\mu\text{g}}{\text{Tag kg}}$  Körpergewicht PCB. Nach Koss (1994) nimmt ein Säugling über die Muttermilch  $2-3 \frac{\mu\text{g}}{\text{Tag kg}}$  Körpergewicht der hoch chlorierten PCB 138, 153 und 180 auf. Als unbedenklich gelten für den erwachsenen Menschen laut Bundesumweltamt und Bundesgesundheitsamt  $1 - 3 \frac{\mu\text{g}}{\text{Tag kg}}$  PCB Gesamtmenge (Stand 1983). Die Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD) legte 1988 die Grenze, den sogenannten TDI (tolerable daily intake), auf  $1 \frac{\mu\text{g}}{\text{Tag kg}}$  PCB Gesamtmenge, die untere Grenze des Bundesumweltamtes, fest. Der durchschnittliche PCB-Gehalt im Gewebe steigt mit zunehmendem Alter linear. Die Anreicherung von Hexa und Hepta-PCBs geht auf die langfristige Aufnahme aus der Umwelt zurück. Die Anreicherung von Tri- und Tetra-PCB wird durch kurzfristige Exposition verursacht (Fiedler, H. u. a. (1995)).

## 1.3.2 Diclofenac

### Chemische Beschreibung

Die beiden Phenylringe ( $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{NO}_2\text{Na}$ ) des Diclofenacs sind über eine Stickstoffbrücke miteinander verbunden. Die analytische Identifizierung und Gehaltsbestimmung wird in der

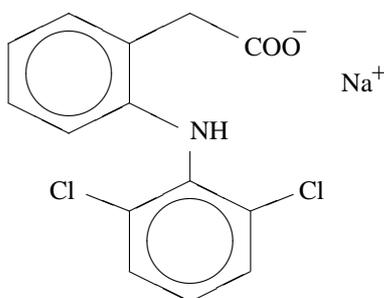


Abbildung 1.2: Strukturformel des Diclofenac Natrium. Die Chloratome stehen beide in ortho-Position.

Arbeit von Kuhlmann (1998) beschrieben und in dieser Arbeit entsprechend durchgeführt.

### **Pharmakokinetik**

Diclofenac wird in den Darreichungsformen oral, rectal oder intramuskulär schnell aufgenommen. Das Maximum der Konzentration im Plasma wird nach zwei bis drei Stunden erreicht (Hardman, J. G. u. a. (1996)). Eine gleichzeitige Nahrungsaufnahme verlangsamt den Absorptionsprozess (Reynolds (1996)). Diclofenac weist eine sehr starke Plasmaproteinbindung (99 %) auf und hat eine Plasmahalbwertszeit von zwei Stunden (Hardman, J. G. u. a. (1996)).

### **Therapeutischer Einsatz**

Das nichtsteroidale Antiphlogistikum Diclofenac wird sowohl in der Langzeitbehandlung (z. B. für Arthritis, Oseroarthritis und Wirbelsäulenversteifung) eingesetzt als auch kurzfristig bei Verletzungen des Skelettmuskels, akuten Schulterschmerzen und in der postoperativen Phase verwendet (Reynolds (1996)).

## **1.4 Philosophie der Modellierung**

### **1.4.1 Verhältnis Experiment zu mathematischem Modell**

Typische Daten eines pharmakokinetischen Experimentes sind Konzentrationszeitkurven. In dieser Arbeit werden sie aus invitro und invivo Experimenten gewonnen. Die folgende Bestimmung der pharmakokinetischen Parameter erfolgt auf zwei unterschiedliche Weisen: erstens über eine numerischen Integration, soweit die Art des Experimentes dies zuließ, und zweitens durch bis zu drei verschiedene mathematische Modelle. Ziel der Arbeit ist es, ein Urteil darüber abzugeben, welches Modell die Daten hinreichend und welches sie am besten beschreibt.

### **1.4.2 Validierung der mathematischen Modelle**

Die Validierung der mathematischen Modelle der invitro Experimente erfolgt durch Simulationen mittels eines aus den Experimenten gewonnen repräsentativen Parametersatzes. Es werden mit den zu untersuchenden mathematischen Modellen Konzentrationszeitkurven wie in Abschnitt 1.4.1 angegeben, generiert. Die Parameterschätzung der simulierten Daten ergibt, daß die so bestimmten Parameter mit denen, die die Ausgangswerte der Simulation waren, übereinstimmen. Durch die Verwendung verschiedener mathematischer Modelle für die Generierung und Analyse von Daten lassen sich die mathematischen Modelle gegenseitig validieren.

### **1.4.3 Optimierung des experimentellen Designs**

Mit Hilfe der Sensitivitätsanalyse (vgl. Thomaseth, K. und Cobelli, C. (1997, 1999)) wird das gefundene experimentelle Design in Bezug auf die Anzahl der benötigten Datenpunkte mi-

nimiert. Es wird dabei beachtet, daß eine gleichbleibende Qualität der Parameterbestimmung gewährleistet ist. Um die Sensitivitätsanalyse im Rahmen dieser Arbeit anwenden zu können wurde das Programm „sensitiv“ (s. Jeschke, O. und Stedtler, C. (1998) und Ring (2000)) implementiert. Es ermöglicht eine Sensitivitätsanalyse für Modellfunktionen, die nur im LAPLACE-Raum vorliegen. Die Optimierung wird an zwei Beispielen veranschaulicht, und zwar erstens an dem Samplingschema der invitro Versuche dieser Arbeit (Abschnitt 4.1.3) und zweitens an einer Bioverfügbarkeits Studie (Abschnitt 4.2). In den darauf folgenden Schritten werden zusätzlich intraindividuelle Abweichungen der pharmakokinetischen Parameter in den Simulationen berücksichtigt. Als zusätzliche Validierung wird die Robustheit der mathematischen Parameterschätzung (vgl. Looby, M. und Weiss, M. (1995); Sheiner, L. B. und Beal, S. L. (1981); Purves (1993); Graves, D. A. u. a. (1989)) untersucht.

#### **1.4.4 Pharmakokinetische Prognosemodelle**

Simulationen gewinnen in allen Bereichen der Wissenschaft an Bedeutung. In dieser Arbeit werden mit Hilfe eines Ganzkörpersimulationsprogramms Konzentrationszeitkurven erzeugt. Die in der Literatur beschriebenen Verfahren beruhen auf Kompartimentmodellen (z. B. Björkman, S. u. a. (1994, 1998); Ebling, W. F. u. a. (1994); Parham, F. M. und Portier, C. J. (1998)). Diese Modelle werden im wesentlichen für die Simulation kurzer Analysezeiträume verwendet. Da diese Modelle auf einfachen Kompartimentsystemen beruhen, ermöglichen sie keine Aussagen über extrem lipophile Pharmaka, die eine extrem lange Verweildauer im menschlichen Körper besitzen. Sie beschreiben extrem lipophile Substanzen nicht hinreichend (vgl. Weiss (1999)), weil sie die Speicherung des Wirkstoffes im Fettgewebe nicht wiedergeben können und so eine zu schnelle Elimination aus dem Kreislauf darstellen. Das hier durch Jeschke (2000) und Ring, A. (2001) erweiterte Rezirkulationsmodell von Weiss, M. und Geschke, D. (1997) verbindet die Vorteile der Nachbildung aller Organe, wie dies auch bei Björkman, S. u. a. (1994) geschieht, mit der flexiblen Modellierung der Organe oder Subsysteme als Rezirkulationsmodell bzw. Strukturmodell nach der Systemtheorie (z. B. Weiss (1990); Weiss, M. u. a. (1996); Weiss, M. und Roberts, M. S. (1996); Weiss (1998); Lüke (1999); Weiss, M. u. a. (2002)). Durch die hier angewendete Struktur ist es möglich für unterschiedliche Organe verschiedene Organmodelle im Kreislaufsystem zu modellieren. Eine neu entstandene graphische Benutzeroberfläche ermöglicht einen einfachen und intuitiven Umgang mit dem Programm. Als Beispiel folgen Simulationen mit veränderten physiologischen Parametern (Herzminutenvolumen (Abschnitt 4.3.5) erhöhtem Fettgewebeanteil (Abschnitt 4.3.6)). Eine mögliche Kinetik extrem lipophiler Substanzen erfolgt über die neu implementierte anormale Diffusion. Dazu werden physiologische und pharmakokinetische Parameter für PCB 153 hergeleitet (Abschnitt 4.3.4) und diese dann in Abschnitt 4.3.7 für ein Beispiel einer Belastung durch Umweltgifte verwendet.

# Kapitel 2

## Material und Methoden

### 2.1 Material

#### 2.1.1 Chemikalien

Die in den Experimenten verwendeten Chemikalien wurden von verschiedenen Firmen bezogen. Im Einzelnen handelt es sich um die Produkte von: Carl Roth GmbH + Co, Karlsruhe, Deutschland: Albumin Fraktion V, > 96 %, di-Kaliumhydrogenphosphat, puriss., wasserfrei,  $\geq$  98 %; Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland: Kaliumdihydrogenphosphat, min. 99,5 %; Fluka Chemie AG, Neu-Ulm, Deutschland: Chenodesoxycholsäure, > 98 %; Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen, Deutschland: Diclofenac; Dr. Ehrendorfer GmbH, Germany: PCB-Mix 1 (Standard-Mix), PCB No.: 28, 52, 101, 138, 153, 180 je 10 ng/mL in Cyclohexane, 99,9 %, 2,4,4'-Trichlorobiphenyl (certified): PCB 28, 99,9 %, 2,2',5,5'-Tetrachlorobiphenyl (certified): PCB 52, 99,9 %, 2,2',3,5',6-Pentachlorobiphenyl (certified): PCB 95, 99,9 %, 2,2',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl (certified): PCB 101, 99,9 %. Die Kalibrierung des pH-Meters erfolgte mit pH-Pufferlösungen (pH = 9,18 und pH = 6,85) von Mettler-Toledo GmbH. Alle weiteren Chemikalien besitzen die übliche Standardlaborqualität.

### 2.2 Laborgeräte

Alle Geräte (Pipetten, Magnetrührer, Tischzentrifugen, pH-Meter etc.), die nicht weiter beschrieben sind, gehören zur normalen Laborausstattung.

#### 2.2.1 Invitro-Modell

Mit Hilfe des Permeationsmodells nach Neubert (1978) (Abbildung 2.1) wurde die Diffusion von verschiedenen PCBs und Diclofenac durch eine Lipidmembran untersucht. Da die PCB sich sehr gut an dem ebenfalls lipophilen Acrylglas anlagern, wurde für die Experimente das

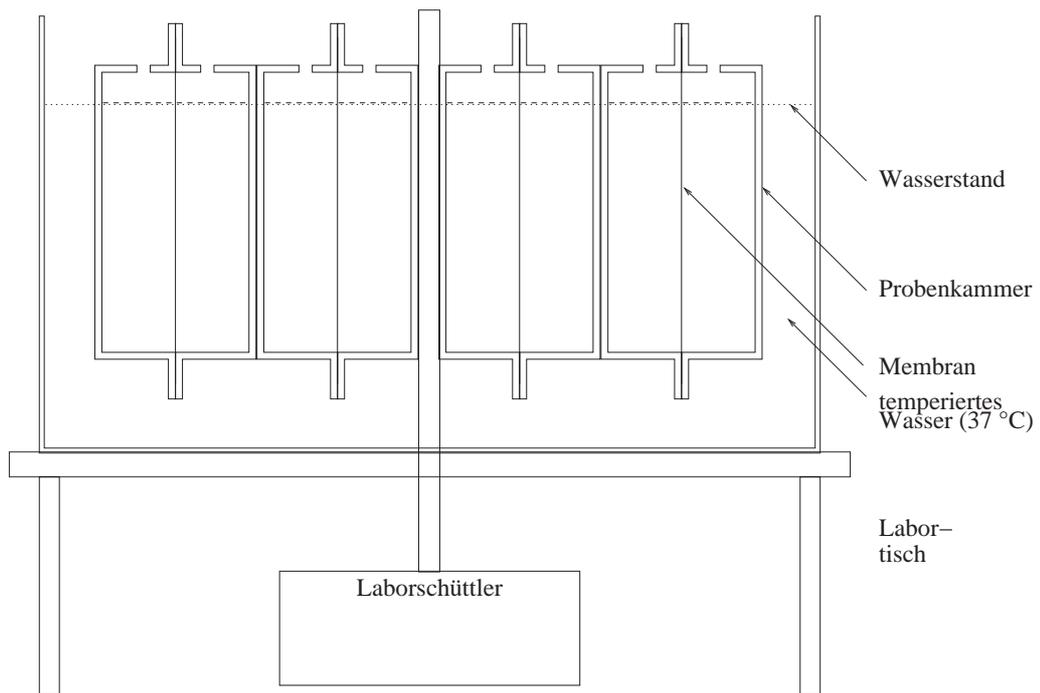


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung des invitro-Modells nach NEUBERT. Weitere Details siehe Abbildung 3.8

vorhandene Acrylglas Modell durch ein neues aus Edelstahl<sup>1</sup> ersetzt. Das neue Modell bietet die Vorteile besser gereinigt werden zu können und inert gegenüber PCBs zu sein. Als Laborrüttler wurde ein MLW Thyr 2, VEB MLW Labortechnik Ilmenau verwendet.

## 2.2.2 HPLC

Die HPLC-Anlage wurde mit Geräten von E. MERCK KGaA, Darmstadt, betrieben: D-6000A Interface, L-4250 UV-VIS-Detektor, L-6200A Pumpe, AS-2000A Autosampler.

### Trennsäulen

Als Trennsäulen wurden für Diclofenac eine Lichrospher 100 RP-8 (5  $\mu\text{m}$ ), 25 cm, und für Evans blue eine Lichrospher 100 RP-18 (5  $\mu\text{m}$ ), 25 cm verwendet.

<sup>1</sup>Chrom-Nickel-X10-Titan nach DIN 671 / 1013 (V4A)

### 2.2.3 Meßgeräte für die akustischen Untersuchungen

Spektrumanalysator: Onosokki (CF-930) Auflösung 402 Linien, Frequenzbereich 0–1000 Hz, die Werte wurden aus 16 Spektren gemittelt mit einem Beschleunigungsaufnehmer, eindimensional: Firma PCB (905A): 1,1 g Masse,  $a_0 = 0,56 \frac{mV}{\frac{s^2}{m}}$

## 2.3 Methoden

### 2.3.1 Silanisierung

Alle im Rahmen der Untersuchung verwendeten Glasgegenstände, wie Probenbehälter, Zentrifugenröhrchen und  $\mu$ L Injektionsspritzen, wurden vor dem ersten Einsatz mit Dimethyldichlor-silan behandelt, um die freien Bindungsstelle am Glas für lipophile Substanzen zu sättigen.

### 2.3.2 Herstellung der Membranen

Die Lipidmembranen wurden wie folgt hergestellt (vgl. Haase (1994)): 4 g des Gemisches aus 90 % (v,v) Dodekanol + 10 % (v,v) Octanol; Ether–Ethanol–Gemisch (85:15 Vol %) ad 100 g; Kollodiumlösung (4 %ig) ad 200 g; Mit einem Filmziehapparat<sup>2</sup> wird diese Membranlösung bei laufendem Motor des Gerätes vor den Verteilungsschlitten gegossen, der sie gleichmäßig über eine Glasplatte verteilt. Nach diesem Vorgang müssen die flüchtigen Bestandteile unter einem Abzug verdunsten. Der entstandene Film kann nach ca. sechs Stunden von der Glasplatte durch Benetzen mit bidestilliertem Wasser nach etwa fünf Minuten gelöst werden. Diese Membran wird für 24 Stunden zwischen zwei Filterpapieren getrocknet. Sie wird anschließend in Stücke mit einem Durchmesser von etwa 8 cm zerteilt. Im Folgenden werden diese Membranstücke im Exikator für mindestens weitere 10 Tage aufbewahrt. Die Dicke (vgl. Abschnitt 4.1.1) der hergestellten Membranen liegt in einem Bereich von 10  $\mu$ m–30  $\mu$ m.

### 2.3.3 Herstellung des Puffers nach GREEN

Als flüssiges Medium für die invitro–Versuche (Kapitel 4) wurde ein 0,1 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ – $\text{K}_2\text{HPO}_4$ –Puffer (nach GREEN in Rauscher, K. u. a. (1977)) mit einem pH–Wert von 7,4 verwendet, der folgende Zusammensetzung hat:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  13,969 g und  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  2,694 g ad 1 l Aqua–bidest.

Der Puffer wird mit Natronlauge (NaOH) oder Salzsäure (HCl) auf einen pH–Wert von 7,4 eingestellt. Vor jeder Messung wird das pH–Meter mit den Standardpuffern pH = 9,18 und pH = 6,85 kalibriert.

---

<sup>2</sup>Hergestellt in der Werkstatt des Instituts. Spalt auf 81, langsamste Geschwindigkeit; 130 mL der Lösung pro Film

### 2.3.4 Herstellung der Grundlösungen

Für die Versuche in der Permeationsapparatur werden zwei verschiedene flüssige Medien verwendet: erstens BSA: Puffer nach GREEN (Abschnitt 2.3.3) mit einer 5 %igen Zugabe von Serum-Albumin und zweitens Mizellar: Puffer nach GREEN (Abschnitt 2.3.3) mit 5 mM Chenoodeoxycholsäure. Im folgenden werden die erste Lösung mit BSA und die zweite mit Miz bezeichnet. Das **Bovine Serum Albumin (BSA)** wird in den Puffer nach GREEN bei Zimmertemperatur langsam eingerührt. Die entstandene Lösung wird bei 4 °C bis zum Versuchsbeginn aufbewahrt. Das Gallensalz für die mizellare Lösung wird in den Puffer nach GREEN zugegeben.

Die Donatorlösung wurde durch Zugabe des Pharmakons<sup>3</sup> hergestellt. Bei den polychlorierten Biphenylen wurde die Lösung bei 4 °C auf einem Magnetrührer mindestens 24 Stunden äquilibriert.

Es wurden 8333 ng/mL Evans blue in die Donatorlösung gegeben, um die Membran auf Unversehrtheit zu prüfen. Nach der Herstellung der Donatorlösung wurde der pH-Wert erneut kontrolliert und gegebenenfalls neu eingestellt.

#### HPLC Evans Blue-Analytik

UV-VIS-Detektor:	Wellenlänge 610 nm
Trennsäule:	LiChrospher 100 RP-18 (5 µm)
Retentionszeit:	3,4 min
Flußrate:	1,0 mL/min
Säulendruck:	ca. 14 MPa
Mobile Phase:	Acetonitril : Puffer (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> : 5,319 g/L und KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> : 1,29 g/L; pH eingestellt auf 7,4) 30:70
Proteinfällung:	100 µL Probe + 20 µL 2 M HClO <sub>4</sub> + 80 µL Acetonitril 10 min abzentrifugieren (12000 rpm)

#### HPLC Diclofenac-Analytik

UV-VIS-Detektor:	Wellenlänge 272 nm
Trennsäule:	LiChrospher 100 RP-8 (5 µm)
Retentionszeit:	6,9 min
Flußrate:	1,0 mL/min
Säulendruck:	ca. 9 MPa
Mobile Phase:	Acetonitril : Puffer (30 mM Natriumazetat, pH eingestellt auf 3,0 mit Phosphorsäure) 65:35
Proteinfällung:	50 µL Probe + 100 µL Acetonitril 10 min abzentrifugieren (12000 rpm)

<sup>3</sup>Es wird die Definition wie in Forth, W. u. a. (1996), Kapitel 1.1.1 verwendet.

# Kapitel 3

## Mathematische Modellierung

Die folgenden Abschnitten enthalten die in dieser Arbeit verwendeten Definitionen und Konzepte. Als erstes (Abschnitt 3.1) werden modellunabhängige Methoden beschrieben. In den Abschnitten 3.2–3.7 werden die verwendeten mathematische Modelles vorgestellt. Die Abschnitte 3.8 und 3.9 stellen die mathematischen Hilfsmittel Sensitivitätsanalyse und LAPLACE-Transformation dar.

### 3.1 Pharmakokinetische Grundbegriffe

#### 3.1.1 Verweilzeitkonzept

Das Verweilzeitkonzept beschreibt pharmakokinetische Daten modellunabhängig und ohne apriori Annahmen, wie diese z. B. für Kompartimentmodelle vorausgesetzt werden. Die Experimente werden anhand der Maßzahlen des Verweilzeitkonzepts verglichen. Das Verweilzeitkonzept geht davon aus, daß einzelne Moleküle im System eine zufällige (stetige) Verweilzeit besitzen, die einer kumulativen Verteilung  $F(t)$  unterliegen.

$$F(t) = P(T \leq t) \quad (3.1)$$

$P$  bezeichnet die Wahrscheinlichkeit, daß ein Molekül eine Verweilzeit  $T$  oder kleiner gleich  $t$  besitzt. Als weitere Randbedingungen der Funktion  $F(t)$  werden die Differenzierbarkeit  $(0, \infty]$  und die Grenzwerte  $\lim_{t \rightarrow 0} F(t) = 0$  und  $\lim_{t \rightarrow \infty} F(t) = 1$  gefordert. Dann ist die erste Ableitung dieser Funktion die Verweilzeitdichte  $f(t)$ , die durch ihre zugehörigen Momente  $m_k$  (Abschnitt 3.1.3) charakterisiert ist.

### Mittlere Verweilzeit

Die mittlere Verweilzeit  $MRT$  der Pharmaka im Körper ist durch den Erwartungswert ( $E(t)$ ) der Verweilzeitdichte  $f(t)$  definiert (vgl. Lehn, J. und Wegmann, H. (1985); Weiss (1992)).

$$MRT = E(t) = \int_0^{\infty} t f(t) dt = \int_0^{\infty} \bar{F}(t) dt = \frac{m_1}{m_0} \quad (3.2)$$

mit  $\bar{F}(t) = 1 - F(t)$ .

### Varianz des Erwartungswertes

$$VRT = Var(T) = E[T - E(T)]^2 = E(T^2) - (E[T])^2 \quad (3.3)$$

$$VRT = \int_0^{\infty} t^2 f(t) dt - MRT^2 = \int_0^{\infty} t \bar{F}(t) dt - MRT^2 = \frac{m_2}{m_0} - \frac{m_1^2}{m_0^2} \quad (3.4)$$

### Relative Dispersion

In der Pharmakokinetik betrachtet man als Streumaß der Verweilzeitdichte üblicherweise die relative Dispersion und nicht die Varianz. Die relative Dispersion (Quadrat des Variationskoeffizienten) ist definiert als:

$$CV^2 = \frac{VRT}{MRT^2} = \frac{m_2 m_0}{m_1^2} - 1 \quad (3.5)$$

### 3.1.2 Massenerhaltung

Für lineare, pharmakokinetische Prozesse gilt das Gesetz der Massenerhaltung.

$$A_{na}(t) + A_d(t) = A_e(\infty) - A_e(t) \quad (3.6)$$

mit  $A_{na}$  der noch zu absorbierenden Menge;  $A_d$  der Menge im Dispositionssystem;  $A_e$  der bereits eliminierten Menge und  $A_{na}(0) = A_e(\infty)$ .

### 3.1.3 Momentanalyse

Die in Abschnitt 3.1.4 folgenden Maßzahlen können durch die Momente einer Konzentrationszeitkurve berechnet werden. Die allgemeine Definition des  $k$ -ten Momentes lautet (Gl. 3.7):

$$m_k = \int_0^{\infty} t^k f(t) dt \quad (3.7)$$

und im LAPLACE-Raum (s. Abschn. 3.9) gegeben durch Gleichung (3.8):

$$m_k = (-1)^k \lim_{s \rightarrow 0^+} \frac{d^k \hat{f}(s)}{ds^k} \quad (3.8)$$

### 3.1.4 Maßzahlen

#### Elimination — Clearance

Der Pharmakokinetik liegt das Konzept der Referenzkonzentration zu Grunde. Im idealen Modell, das potentielle Biotransformationsschritte nicht beachtet, folgt die Elimination einer Kinetik 1. Ordnung. Es beinhaltet, daß die Eliminationsgeschwindigkeit  $dA_e/dt$  zu jedem Zeitpunkt proportional der gemessenen Konzentration  $C(t)$  ist. Die Proportionalitätskonstante wird als Clearance  $CL$  bezeichnet.

$$A_e(\infty) = CL \int_0^{\infty} C(t) dt \quad (3.9)$$

#### Area under the Curve (AUC)

Mit der area under the curve (AUC, Gleichung 3.10) bezeichnet man den Wert des bestimmten Integrales über den Konzentrationszeitverlauf.

$$AUC = \int_0^{\infty} C(t) dt = m_0 \quad (3.10)$$

mit  $m_0$  dem 0-ten Moment und  $f(t) = C(t)$ .

#### Bioverfügbarkeit

Für alle nicht intravenös gegebenen Medikamente ist die Bioverfügbarkeit definiert als der biologisch verfügbare Dosisanteil, der in den Körperkreislauf (arterielles Blut) gelangt. Der Quotient aus verfügbarer und applizierter Menge heißt Bioverfügbarkeit  $F$ .

$$F = \frac{A_e(\infty)}{D} \quad (3.11)$$

#### Verteilungsvolumen

Das scheinbare Verteilungsvolumen gibt den Raum wieder, in dem sich das Pharmakon verteilen kann. Scheinbar heißt es, da sich das reale Volumen durch Bindung an z. B. Plasmaproteine erhöhen kann.

$$V_d(t) = \frac{A(t)}{C(t)} \text{ für festes } t \quad (3.12)$$

### 3.1.5 Modellidentifikation

Dieser Abschnitt befaßt sich mit verschiedenen Möglichkeiten, Ergebnisse zu vergleichen und auf Signifikanz zu prüfen.

### Test der Vorhersageleistung eines Modells

Als ein erstes Maß kann der Korrelationskoeffizient zwischen tatsächlichen und geschätzten Parametern verwendet werden. Sheiner, L. B. und Beal, S. L. (1981) zeigen, daß die Schätzung aber zu einem Fehlurteil führt, wenn sie mit einem systematischen Fehler behaftet ist. Sie schlagen deshalb vor, die Güte einer Parameterschätzung durch die Bias (auch mittlere Fehler (**ME**) genannt, Gleichung 3.14) und dem mittleren quadratischen Fehler (**MSE**, Gleichung 3.15) vorzunehmen. Wird die Wurzel des MSE (**RMSE**, Gleichung 3.16) für den Vergleich herangezogen, haben das Fehlermaß und der Parameter die gleichen Einheiten.

$$pe_i = x_i - \tilde{x} \quad (3.13)$$

$$ME = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N pe_i \quad (3.14)$$

$$MSE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N pe_i^2 \quad (3.15)$$

$$RMSE = \sqrt{MSE} \quad (3.16)$$

In den Gleichungen (3.13 – 3.15) bedeuten:  $\tilde{x}$  der tatsächliche Wert des Parameters,  $x_i$  der geschätzte Wert des Parameters des  $i$ -ten Experiments,  $pe_i$  der Vorhersagefehler des Parameters des  $i$ -ten Experiments und  $N$  die Anzahl der Experimente.

Damit die Anpassungsgüte verschiedener pharmakokinetischer Parameter verglichen werden kann führt Purves (1993) die normierten Fehlermaße %ME bis %RMSE (Gleichungen 3.17 und 3.19) ein.

$$\%ME = \frac{100 ME}{\tilde{x}} \quad (3.17)$$

$$\%MSE = \frac{100 MSE}{\tilde{x}^2} \quad (3.18)$$

$$\%RMSE = 100 \sqrt{\frac{MSE}{\tilde{x}^2}} \quad (3.19)$$

Die Bewertung der Simulationsstudien in Abschnitt 4.2 erfolgt durch den mit der normierten Standardabweichung ( $std(\bar{x})$ ) gewichteten Mittelwert (Gleichung 3.20)

$$\%RMSE_{tot} = \sum_{x \in \{MAT, CV^2, F\}} \frac{std(\bar{x})}{\tilde{x}} \%RMSE \quad (3.20)$$

## 3.2 Verhaltens- und Strukturmodelle

Pharmakokinetische Systeme können als eine sogenannte „Blackbox“ (Abbildung 3.1) aufgefaßt werden. Von einem solchen System sind nur die Eingangsfunktion  $x(t)$ , zum Beispiel eine

Infusionsrate, und der zeitliche Verlauf der Konzentration des Pharmakon im Blut als Antwortfunktion  $y(t)$  bekannt. Allgemein gesprochen wird der Körper als ein System mit einer Übertragungsfunktion  $\text{Tr}$  (Gleichung 3.21) aufgefaßt.

$$y(t) = \text{Tr} \{x(t)\} \quad (3.21)$$

In der Nachrichtentechnik wurden bereits ausgefeilte Systembeschreibungen entwickelt (z. B. Lüke (1999)).

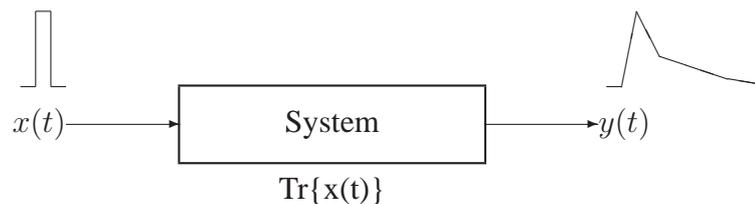


Abbildung 3.1: Schematische Darstellung eines Blackbox Systems

Der Modellierung eines realen Systems liegen zwei Schritte zugrunde:

1. Abstraktion des realen in ein ideales System,
2. Aufspaltung des gesamten Systems in Teilsysteme.

Die idealisierten Systeme sind durch mathematisch eindeutige Zuordnungen der Eingangs- zu den Ausgangssignalen definiert. Lüke (1999) faßt dieses folgendermaßen zusammen:

„Die Bedeutung dieser systemtheoretischen Betrachtungsweise liegt also darin, die Vielfalt der Eigenschaften realer Systeme anhand der gut übersehbaren Eigenschaften idealisierter Systeme einfacher überschauen zu können.“

### 3.2.1 Linear zeitinvariante Systeme

Besonders bedeutend ist die Untergruppe der **linearen zeitinvarianten Systeme (LTI)**<sup>1</sup>. Sie werden bei dem in dieser Arbeit verwendeten Ganzkörpersimulationsprogramm (Geschke, D. (1996)) angewendet. Ein System ist linear, wenn es die Eigenschaft aus Gleichung 3.22 erfüllt:

$$\text{Tr} \{a_1 x_1(t) + a_2 x_2(t)\} = a_1 \text{Tr} \{x_1(t)\} + a_2 \text{Tr} \{x_2(t)\} = a_1 y_1(t) + a_2 y_2(t) \quad (3.22)$$

Von einem zeitinvarianten System wird gesprochen, wenn das Ausgangssignal nicht von einer zeitlichen Verschiebung des Eingangssignales abhängt (Gleichung 3.23).

<sup>1</sup>englische Schreibweise: Linear Time Invariant

$$\text{Tr}\{x(t + t_0)\} = y(t + t_0) \quad (3.23)$$

Wird das System mit dem DIRACschen Impuls  $\delta$  (def: Gleichung 3.24) angeregt, so wird die Transformation  $\text{Tr}\{\}$  Impulsantwort genannt.

$$\delta(x) = \begin{cases} \infty & \text{für } x = 0 \\ 0 & \text{sonst} \end{cases} \quad (3.24)$$

Die Impulsantwort beschreibt ein System vollständig. Eine Beschreibung des Systems mit anderen Eingangsfunktionen als dem DIRACschen Impuls, wird mathematisch durch die Faltung der Eingangsfunktion mit der Impulsantwort erreicht.

### 3.2.2 Das Faltungsintegral

Die Faltung ermöglicht, zwei Signale zu überlagern, die zeitlich in Wechselwirkung stehen. Die Faltung ist durch das Integral Gleichung 3.25 definiert.

$$x(t) * h(t) = \int_{-\infty}^{\infty} x(t)h(t - \tau) d\tau = y(t) \quad (3.25)$$

mit  $*$  dem Faltungsoperator und  $h(t)$  der Impulsantwort des Systems. Dieses Integral (Gleichung 3.25) wird in der Praxis oft im LAPLACE- oder FOURIER-Raum gelöst, da hier die Integration in eine Grenzwertbestimmung übergeht (Abschnitt 3.9). Man unterscheidet zwischen einer einseitigen und zweiseitigen Faltung, je nachdem ob die Integration von 0 bis  $\infty$  (LAPLACE) oder von  $-\infty$  bis  $\infty$  (FOURIER) vorgenommen wird. In der Pharmakokinetik wird die einseitige Faltung verwendet, weil die im Experiment gewonnenen Daten zu einem bestimmten Zeitpunkt beginnen, der ohne Beschränkung der Allgemeinheit als 0 angenommen werden kann. Alle Daten vor diesem Zeitpunkt werden als identisch 0 betrachtet, sie liefern deshalb auch keinen Beitrag zu dem Integral. In der Physik muß meistens die FOURIER-Transformation verwendet werden, da sich hier kein willkürlicher Nullpunkt wählen läßt, der erlaubt alle links liegenden Punkte als identisch 0 anzusehen. Unter gewissen Bedingungen, d. h. bei bestimmten mathematischen Eigenschaften der zu integrierenden Funktionen, gehen die einseitige und zweiseitige Faltung, bzw. die LAPLACE- und FOURIER-Transformation ineinander über.

### 3.2.3 Zusammengesetzte Systeme

#### Seriell System

Durch die serielle Koppelung zweier Systeme ist das Eingangssignal des zweiten Systems von der Übertragungsfunktion des ersten Systems abhängig (Abb. 3.2). Diese Abhängigkeit wird

mathematisch durch die Faltung beschrieben (Gl. 3.26). Ein solches seriell System ist beispielsweise in der Pharmakokinetik aus der Absorption im Magen und dem übrigen Körper gebildet.

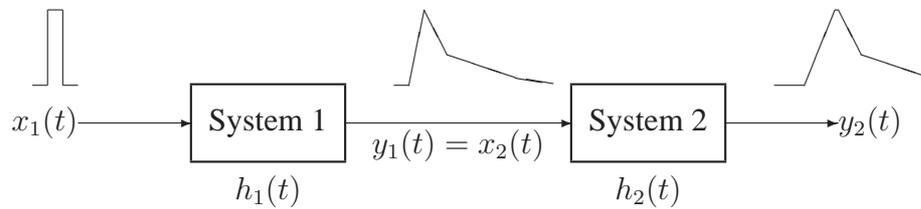


Abbildung 3.2: Schematische Darstellung eines seriellen Systems

$$y_2(t) = x_1(t) * h_1(t) * h_2(t) \quad (3.26)$$

$$\hat{y}_2(s) = \hat{x}_1(s) \hat{h}_1(s) \hat{h}_2(s) \quad (3.27)$$

### Paralleles System

Zwei parallel geschaltete Systeme (Abb. 3.3) werden alleine durch das bei LTI-Systemen gültige Superpositionsprinzip bestimmt. Welchen Einfluß die einzelne Übertragungsfunktion auf das gesamte System hat, ist von dem Koeffizienten (in Gleichung 3.28:  $a \in [0, 1]$ ) vor den Übertragungsfunktionen abhängig. Dieser kann z. B. von dem relativen Massenfluß ( $a$ ) abgeleitet werden.

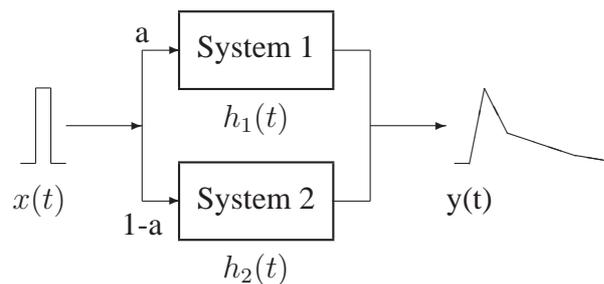


Abbildung 3.3: Schematische Darstellung eines parallelen Systems

$$y_2(t) = x_1(t) * (ah_1(t) + (1 - a)h_2(t)) \quad (3.28)$$

$$\hat{y}_2(s) = \hat{x}_1(s) \left( a\hat{h}_1(s) + (1 - a)\hat{h}_2(s) \right) \quad (3.29)$$

### Rückgekoppeltes System

Der menschliche Kreislauf wird durch ein zirkulares oder rückgekoppeltes System modelliert. Die einfachste Form des Kreislaufs ist in Abbildung 3.4 zu sehen. Hier repräsentiert System 1 ( $\hat{h}_1(t)$ ) die Lunge und System 2 den restlichen Körper.

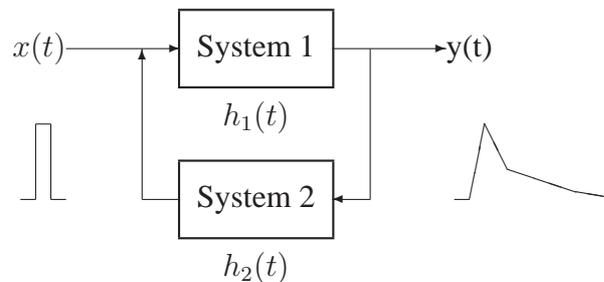


Abbildung 3.4: Schematische Darstellung eines rückgekoppelten oder zirkularen Systems

$$\hat{y}(s) = \hat{x}(s) \frac{\hat{h}_1(s)}{1 - \hat{h}_1(s)\hat{h}_2(s)} \quad (3.30)$$

### 3.2.4 Spezielle Systeme

Zwei für die Medizin wichtige Darreichungsformen sind die Bolusinjektion und die Infusion. Sie werden in der Systemtheorie durch die Impulsantwort (Bolus) und die Sprungantwort (Infusion) dargestellt.

#### Impulsantwort und Dispositionssystem

Die Impulsantwort gibt das zeitliche Verhalten des Systems auf einen ideal kurzen Impuls ( $\lim_{\Delta t \rightarrow 0} \Delta t$ ,  $\Delta t$  Dauer des Impulses) wieder. Durch die Impulsantwort ist das System vollständig charakterisiert. In der Pharmakokinetik bezeichnet man den Konzentrationszeitverlauf nach schneller intravenöser Bolusinjektion als Dispositionskurve. Sie stellt, nach der Normierung, die Impulsantwort des Systems auf den Einheitsbolus dar.

#### Sprungantwort

Die Sprungantwort beschreibt das Verhalten auf einen einmalig wechselnden Eingangszustand des Systems wieder. Dies entspricht zum Beispiel einer Langzeitinfusion.

### Beliebige Inputfunktion

Mit Hilfe dieser beiden Funktionen (Abschnitte 3.2.4 und 3.2.4) und den im Abschnitt 3.2 vorgestellten Verknüpfungstheoremen lassen sich beliebige Inputsysteme beschreiben. Als Beispiel sei hier die Resorption einer Tablette angeführt, deren Aufnahme in den Blutkreislauf durch eine „Auflösungsfunktion“ und dem Verhalten des Systems nach einer Bolusinjektion modelliert werden kann.

## 3.3 Kompartimentmodelle

Die im Rahmen dieser Untersuchungen durchgeführten invitro Experimente erfolgen in einem zwei-Kammersystem, das durch eine Membran getrennt wird. Die Konzentrationszeitprofile werden mit in der Literatur bekannten pharmakokinetischen Modellen interpretiert, die im Folgenden vorgestellt werden.

Der Versuchsaufbau kann durch verschiedene Kompartimentmodelle beschrieben werden, die jedoch alle Spezialfälle des allgemeinen Lösungsansatzes für lineare Kompartimentsysteme sind, s. z. B. Rescigno, A. und Sergre, G. (1966). Als erstes erfolgt eine allgemeine Darstellung der Lösung solcher Kompartimentsysteme.

### 3.3.1 Das n-Kompartimentsystem

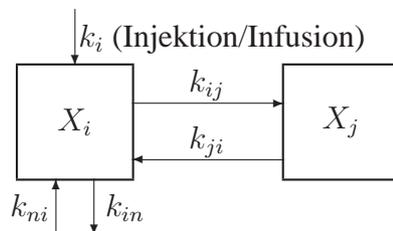


Abbildung 3.5: Schematische Darstellung eines n-Kompartimentsystems

Die Lösung dieses Systems (Abb. 3.5), als Differentialgleichung geschrieben, lautet:

$$\frac{dX_i}{dt} = \sum_{\substack{j=1 \\ i \neq j}}^n k_{ji} X_j - \sum_{\substack{j=1 \\ i \neq j}}^n k_{ij} X_i \quad \text{für } i = j : k_{ii} = 0 \quad (3.31)$$

Die Gleichung (3.31) sagt aus, daß die zeitliche Änderung der Menge im i-ten Kompartiment gleich der Summe des Zuflusses aus den anderen Kompartimenten minus der Summe der Abflüsse in diese ist. Die Lösung (Gl. 3.33) dieses Gleichungssystems (3.31) erfolgt im LAPLACE-Raum <sup>2</sup> (Abschnitt 3.9). Bei dieser Transformation wird das erste Kompartiment ohne

<sup>2</sup>Größen die mit einem Dach geschrieben sind beziehen sich auf den LAPLACE-Raum.

Beschränkung der Allgemeinheit als das ausgezeichnet, welches einen initialen Bolus erhält, weshalb die Lösung für das erste Kompartiment durch Gleichung 3.32 gegeben ist.

$$s\hat{x}_1 - X_0 - \sum_{j=2}^n k_{j1}\hat{x}_j + \sum_{j=2}^n k_{1j}\hat{x}_1 = 0 \quad (3.32)$$

mit  $X_0$  der Initialmenge im ersten Kompartiment. Die Mengen in den restlichen Kompartimenten ist durch Gleichung (3.33) gegeben.

$$s\hat{x}_i - \sum_{\substack{j=1 \\ i \neq j}}^n k_{ji}\hat{x}_j + \sum_{\substack{j=1 \\ i \neq j}}^n k_{ij}\hat{x}_i = 0 \quad (3.33)$$

Es wird vorausgesetzt, daß die Stoffmenge in den restlichen Kompartimenten zu Beginn Null ist. Die Lösung des Differentialgleichungssystems geschieht über die Determinante (Gleichung 3.34):

$$\Delta = \begin{vmatrix} s + K_1 & -k_{21} & \cdots & -k_{n1} \\ -k_{12} & s + K_2 & \cdots & -k_{n2} \\ \vdots & & \ddots & \vdots \\ -k_{1n} & -k_{2n} & \cdots & s + K_n \end{vmatrix} \quad \text{mit} \quad K_i = \sum_{\substack{j=1 \\ i \neq j}}^n k_{ij} \quad (3.34)$$

Die Menge im  $i$ -ten Kompartiment kann mit Gleichung (3.35) berechnet werden.

$$\frac{X_i}{X_0} = (-1)^{i+1} \cdot \frac{\Delta_{1,i}}{\Delta} \quad (3.35)$$

mit  $\Delta_{1,i}$  einer Unterdeterminante, die durch Streichen der ersten Zeile und  $i$ -ten Spalte erzeugt wird. Dies ist ein Spezialfall der CRAMERSchen Regel, da oBdA angenommen wurde, daß nur im ersten Kompartiment zu Anfang das Pharmakon vorhanden war. Mit diesem allgemeinen Ansatz werden jetzt verschiedene Varianten beschrieben.

### 3.3.2 Das zwei-Kompartimentsystem

Bei diesem Modell werden nur die zwei Kammern des Versuchsaufbaus betrachtet. Die Membran bestimmt die Parameter des Flusses  $k_{12}$  und  $k_{21}$  zwischen den Kammern. So ergibt sich ein

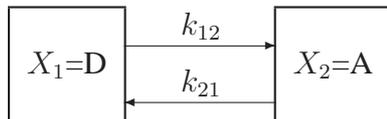


Abbildung 3.6: Schematische Darstellung eines zwei-Kompartimentsystems. D: Donator und A: Akzeptor.

reines zwei-Kompartimentsystem (Abb. 3.6) für das Permeationsmodell nach Neubert (1978). Die Gleichungen (3.31, 3.32 und 3.34) ergeben sich zu:

$$\frac{dX_i}{dt} = \sum_{\substack{j=1 \\ i \neq j}}^2 k_{ji}X_j - \sum_{\substack{j=1 \\ i \neq j}}^2 k_{ij}X_i \quad (3.36)$$

$$\frac{dX_1}{dt} = k_{21}X_2 - k_{12}X_1 \quad \text{bzw.} \quad s\hat{x}_1 - X_0 - k_{21}\hat{x}_2 + k_{12}\hat{x}_1 = 0 \quad (3.37)$$

$$\frac{dX_2}{dt} = k_{12}X_1 - k_{21}X_2 \quad \text{bzw.} \quad s\hat{x}_2 - k_{12}\hat{x}_1 + k_{21}\hat{x}_2 = 0 \quad (3.38)$$

Dieses Gleichungssystem wird über die Determinante (3.34) definiert und daraus ergibt sich folgende Matrix  $\Delta$ :

$$\Delta = \begin{vmatrix} s + k_{12} & -k_{21} \\ -k_{12} & s + k_{21} \end{vmatrix} = s(s + k_{12} + k_{21}) \quad (3.39)$$

Die Konzentration in den beiden Kammern läßt sich aus den Gleichungen 3.40 und 3.41 bestimmen.

$$\frac{X_1}{X_0} = \frac{s + k_{21}}{s(s + k_{12} + k_{21})} \quad (3.40)$$

$$\frac{X_2}{X_0} = \frac{k_{12}}{s(s + k_{12} + k_{21})} \quad (3.41)$$

Für diese Gleichungen (3.40 und 3.41) gibt es eine analytische Rücktransformation in den Zeitbereich, die die Lösungen (Gleichungen 3.42 und 3.43) haben.

$$C_d(t) = X_1(t) = X_0 \left( \frac{k_{21}}{k_{12} + k_{21}} + \frac{k_{12}}{k_{12} + k_{21}} e^{-(k_{12} + k_{21})t} \right) \quad (3.42)$$

$$C_a(t) = X_2(t) = X_0 \frac{k_{12}}{k_{12} + k_{21}} (1 - e^{-(k_{12} + k_{21})t}) \quad (3.43)$$

Für den in den Experimenten mit Diclofenac: BSA–BSA und MIZ–MIZ verwendeten symmetrischen Aufbau können die Gleichungen (3.42) und (3.43) noch vereinfacht werden. Sie lauten dann:

$$C_d(t) = \frac{1}{2} X_0 (1 + e^{(-2k_m t)}) \quad (3.44)$$

$$C_a(t) = \frac{1}{2} X_0 (1 - e^{(-2k_m t)}) \quad (3.45)$$

Die *MTT* in Bezug auf den Donator für dieses Kompartimentsystem ist durch Gleichung 3.46 gegeben.

$$MTT = \frac{1}{2k_m} \quad (3.46)$$

Die Relative Dispersion  $CV^2$  ist systembedingt gleich 1.

### 3.3.3 Das drei–Kompartimentsystem (Bindung)

Das folgende Modell des drei–Kompartimentsystems (Abb. 3.7), welches eine Bindung an Albumin beschreibt, wird für die Anpassung der Experimente mit Diclofenac (Miz–BSA) eingesetzt. Die Konzentration des Akzeptors setzt sich aus der Summe der Kompartimente Akzeptor und BSA zusammen.

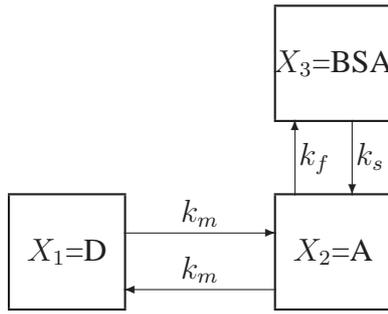


Abbildung 3.7: Schematische Darstellung eines zwei-Kompartimentsystems mit Bindung. D: Donator, A: Akzeptor und BSA: Bindungskompartiment im Akzeptor.

$$\begin{aligned}
 \frac{dx_1(t)}{dt} &= -k_m x_1(t) + k_m x_2(t) \\
 \frac{dx_2(t)}{dt} &= -(k_f + k_m)x_2(t) + k_m x_1(t) + k_s x_3(t) \\
 \frac{dx_3(t)}{dt} &= -k_s x_3(t) + k_f x_2(t)
 \end{aligned} \tag{3.47}$$

$$\begin{aligned}
 \Delta &= \begin{vmatrix} s + k_m & -k_m & 0 \\ -k_m & s + k_f + k_m & -k_s \\ 0 & -k_f & s + k_s \end{vmatrix} \\
 &= s(k_f k_m + 2k_m k_s + s^2 + s k_f + 2s k_m + s k_s)
 \end{aligned} \tag{3.48}$$

Die Konzentrationen in Donator und Akzeptor werden durch die Gleichungen (3.49) beschrieben.

$$\begin{aligned}
 C_d(t) &= \mathcal{L}^{-1} \left( s(k_f + k_m + k_s) + k_m k_s + s^2 \right) \frac{C_{d0}}{\Delta} \\
 \hat{C}_w(s) &= k_m (s + k_s) \frac{C_{d0}}{\Delta} \\
 \hat{C}_b(s) &= k_f k_m \frac{C_{d0}}{\Delta} \\
 C_a(t) &= \mathcal{L}^{-1} \hat{C}_w(s) + \mathcal{L}^{-1} \hat{C}_b(s)
 \end{aligned} \tag{3.49}$$

$\hat{C}_w$  ist die Konzentration im „Wasser“- und  $\hat{C}_b$  die Konzentration im „Bindungs“-Kompartiment. Die Summe aus beiden wird als Konzentration des Akzeptors gewertet. Die *MTT* ist durch Gleichung (3.50), und die *CV* ist durch Gleichung (3.52) definiert.

$$MTT = \frac{k_m k_f + (k_s + k_f)^2}{k_m k_s (2k_s + k_f)} \tag{3.50}$$

$$Var = \frac{k_f^3 + 3k_f^2 k_s + 2k_m k_f^2 + 3k_s^2 k_f + 2k_s k_m k_f + k_m^2 k_f + k_s^3}{(2k_s + k_f) k_m^2 k_s^2} \tag{3.51}$$

$$CV^2 = \frac{(k_f^3 + 3k_f^2 k_s + 2k_m k_f^2 + 3k_s^2 k_f + 2k_s k_m k_f + k_m^2 k_f + k_s^3)}{(k_m k_f + (k_s + k_f)^2) k_m^2 k_s^2} \tag{3.52}$$



chen Volumenmodell werden die Randbedingungen auf der Oberfläche, die zum Donator zeigt ( $x = 0$ ), durch den Transport des Wirkstoffs aus dem Donator in die Membran und durch die Abnahme des Wirkstoffs in der Donatorphase definiert (3.55, 3.56).

$$-D_m \frac{\partial C_m}{\partial x} \Big|_{x=0} = k_p^d \left( C_d - \frac{C_m}{K_m} \right) \quad (3.55)$$

mit den Parametern:  $k_p^d$  dem Permeationskoeffizienten durch die Donator Grenzschicht,  $C_d$  die Konzentration in dem Donator,  $K_m$  der Partitionskoeffizient zwischen Membran und Donator ( $K_m = C_m^{ss}/C_d^{ss}$  im äquilibrierten Zustand zwischen Donator und Membran). Die gleichen Randbedingungen gelten auf der Rezeptorseite ( $x = h_m$ ,  $h_m$  ist die effektive Dicke der Membran):

$$-D_m \frac{\partial C_m}{\partial x} \Big|_{x=h_m} = k_p^{ve} \left( \frac{C_m}{K_m} - \frac{C_a}{K_a} \right). \quad (3.56)$$

In Gleichung (3.56) bedeuten  $K_a$  der Partitionskoeffizient zwischen Akzeptor und Donator ( $K_a = C_a^{ss}/C_d^{ss}$  im äquilibrierten Zustand zwischen Akzeptor und Donator) und  $C_a$  die Konzentration im Akzeptor,  $k_p^{ve}$  ist der Permeabilitätskoeffizient des Wirkstoffs in Bezug auf die Barriere zwischen Membran und Akzeptor. In dem speziellen Fall der ungerührten Schicht ist  $k_p^{ve} = K_{ve} D_{ve} / h_{ve}$  mit  $h_{ve}$  der Dicke der Schicht,  $D_{ve}$  der Diffusionskoeffizient der Schicht und  $K_{ve}$  dem Partitionskoeffizienten zwischen Schicht und Donator ( $K_{ve} = C_{ve}^{ss}/C_d^{ss}$  im Gleichgewicht zwischen Schicht und Donator).

Die Donatorkammer wird wie folgt beschrieben:

$$V_d \frac{\partial C_d}{\partial t} = A D_m \frac{\partial C_m}{\partial x} \Big|_{x=0} \quad (3.57)$$

In Gleichung (3.57) ist  $A$  die Fläche der Membran,  $V_d$  das Volumen des Donators. Die effektive Dicke des Donators ist durch  $V_d = A h_d$ ,  $h_d$  gegeben. Die folgende Anfangsbedingung soll gelten:

$$C_d = C_{d0} \quad \text{für} \quad t = 0 \quad (3.58)$$

und die Akzeptorkammer wird beschrieben als:

$$V_a \frac{\partial C_a}{\partial t} = -A D_m \frac{\partial C_m}{\partial x} \Big|_{x=h_m} - C L_a C_a \quad (3.59)$$

Die Abnahmerate  $C L_a$  (mL/min) ist durch die Samplingrate oder die Flußrate bei invitro Experimenten definiert. Sie wird hier nicht betrachtet, da es sich um ein geschlossenes System handelt. Für den Akzeptor gelten die Anfangsbedingungen:

$$C_a = 0 \quad \text{für} \quad t = 0. \quad (3.60)$$

### 3.4.2 Lösung im LAPLACE–Raum

Anissimov, Y. G. und Roberts, M. S. (2000) geben die Lösung im LAPLACE–Raum von Gleichung 3.53 mit den Randbedingungen 3.55 und 3.56 an. Die LAPLACE–Transformierte von Gleichung 3.53 mit der Anfangsbedingung 3.54 ist:

$$s\hat{C}_m = D_m \frac{d^2\hat{C}_m}{dx^2} \quad (3.61)$$

Die LAPLACE–Transformierten der Randbedingungen 3.55 – 3.59 sind:

$$-D_m \left. \frac{d\hat{C}_m}{dx} \right|_{x=0} = k_p^d \left( \hat{C}_d - \frac{\hat{C}_m}{K_m} \right) \quad (3.62)$$

$$V_d (s\hat{C}_d - C_{d0}) = AD_m \left. \frac{d\hat{C}_m}{dx} \right|_{x=0} \quad (3.63)$$

$$-D_m \left. \frac{d\hat{C}_m}{dx} \right|_{x=h_m} = k_p^{ve} \left( \frac{\hat{C}_m}{K_m} - \frac{\hat{C}_a}{K_a} \right) \quad (3.64)$$

$$V_a s\hat{C}_a = -AD_m \left. \frac{d\hat{C}_m}{dx} \right|_{x=h_m} - CL_a \hat{C}_a \quad (3.65)$$

mit  $C_{d0}$  der Anfangskonzentration im Donator. Die Lösung der Randbedingung 3.63 für  $\hat{C}_d$  und anschließendem Einsetzen in die Randbedingung 3.62 ergibt nach der Transformation:

$$-D_m \left. \frac{d\hat{C}_m}{dx} \right|_{x=0} = \frac{k_p^d}{1 + \frac{k_p^d A}{V_d s}} \left( \frac{C_{d0}}{s} - \frac{\hat{C}_m}{K_m} \right) \quad (3.66)$$

Die Randbedingungen können von den korrespondierenden Bedingungen des Falls eines unendlichen Donatorvolumens abgeleitet werden, wenn  $k_p^d$  durch Gleichung (3.67) ersetzt wird.

$$\frac{k_p^d}{1 + \frac{k_p^d A}{V_d s}} \quad (3.67)$$

Die Gleichung 3.61 und die Randbedingungen 3.64 und 3.65 sind äquivalent zum Fall des unendlichen Donatorvolumens. Mit Gleichung 3.67 folgt die Lösung der für die Konzentration in der Membran  $\hat{C}_m(x, s)$  für das endliche Volumen mit der Substitution von  $k_p^d$ . Diese Substitution ist äquivalent mit:

$$\frac{1}{\kappa_d} \longrightarrow \frac{1}{\kappa_d} + \frac{1}{V_{dN} s t_d}. \quad (3.68)$$

Der Parameter  $\kappa_d$  ist die relative Permeabilität der Diffusionsschicht im Donator,

$$\kappa_d = \frac{k_p^d}{k_p^{sc}} \quad (3.69)$$

und  $k_p^{sc}$  die Permeabilität der Membran,

$$k_p^{sc} = \frac{K_m D_m}{h_m} \quad (3.70)$$

$\kappa_d$  und  $k_p^{sc}$  ergeben mit der Donatorvolumenzahl  $V_{dN}$  einen neuen Parameter, der das relative Volumen der Donatorphase angibt:

$$V_{dN} = \frac{V_d}{V_m K_m}. \quad (3.71)$$

Der Parameter  $t_d$  ist bezogen auf die Diffusionszeit:

$$t_d = \frac{h_m^2}{D_m} \quad (3.72)$$

Hieraus kann  $\hat{C}_m(x, s)$  berechnet werden:

$$\hat{C}_m(x, s) = \frac{C_{d0} K_m}{s} \frac{g_1(s) \cosh\left(\sqrt{st_d} \frac{x}{h_m}\right) - g_2(s) \sinh\left(\sqrt{st_d} \frac{x}{h_m}\right)}{g_1(s) + g_2(s) \left(\frac{1}{\kappa_d} + \frac{1}{V_{dN} st_d}\right) \sqrt{st_d}} \quad (3.73)$$

mit den Funktionen  $g_1(s)$  und  $g_2(s)$ :

$$g_1(s) = 1 + \frac{\kappa_{ve}}{V_{aN} st_d} + \frac{\kappa_{ve}}{\sqrt{st_d}} \tanh \sqrt{st_d} \quad (3.74)$$

$$g_2(s) = \left(1 + \frac{\kappa_{ve}}{V_{aN} st_d}\right) \tanh \sqrt{st_d} + \frac{\kappa_{ve}}{\sqrt{st_d}} \quad (3.75)$$

und den dimensionslosen Parametern  $\kappa_{ve}$  und  $V_{aN}$ :

$$\kappa_{ve} = \frac{k_p^{ve}}{k_p^{sc}}; \quad V_{aN} = \frac{V_a K_a}{V_m K_m} \quad (3.76)$$

### Fluß und Konzentration der gelösten Substanz

Die Lösung für den Fluß und die Konzentration folgen aus der Lösung für das unendlich große Donatorvolumen (Anissimov, Y. G. und Roberts, M. S. (1999)) und der Transformation (Gleichung 3.68).

$$\begin{aligned} \hat{J}_a(s) &= \frac{k_p^{sc} C_{d0}}{s} \left[ \left( \frac{1}{V_{aN} st_d} + \frac{1}{\kappa_{ve}} + \frac{1}{\kappa_d} + \frac{1}{V_{dN} st_d} \right) \cosh \sqrt{st_d} \right. \\ &\quad \left. + \left( \frac{1}{\sqrt{st_d}} + \sqrt{st_d} \left[ \frac{1}{\kappa_d} + \frac{1}{V_{dN} st_d} \right] \left[ \frac{1}{\kappa_{ve}} + \frac{1}{V_{aN} st_d} \right] \right) \sinh \sqrt{st_d} \right]^{-1} \end{aligned} \quad (3.77)$$

$$\begin{aligned} \hat{C}_a(s) &= \frac{k_p^{sc} C_{d0} A}{s^2 V_a} \left[ \left( \frac{1}{V_{aN} st_d} + \frac{1}{\kappa_{ve}} + \frac{1}{\kappa_d} + \frac{1}{V_{dN} st_d} \right) \cosh \sqrt{st_d} \right. \\ &\quad \left. + \left( \frac{1}{\sqrt{st_d}} + \sqrt{st_d} \left[ \frac{1}{\kappa_d} + \frac{1}{V_{dN} st_d} \right] \left[ \frac{1}{\kappa_{ve}} + \frac{1}{V_{aN} st_d} \right] \right) \sinh \sqrt{st_d} \right]^{-1} \end{aligned} \quad (3.78)$$

Für die dieser Arbeit zugrunde liegenden Experimente kann die mittlere Transitzeit ( $MTT$ ) wie folgt berechnet werden. Es wird davon ausgegangen, daß die ungerührte Schicht auf beiden Seiten der Membran die gleichen Eigenschaften aufweist. Dann gilt  $\kappa_d = \kappa_{ve}$ :

$$MTT = \int_0^{\infty} \left(1 - \frac{C_a(t)}{C_a(\infty)}\right) dt \quad (3.79)$$

$$MTT = \lim_{s \rightarrow 0} \left( \frac{1}{s} - \frac{\hat{C}_a(s)}{C_a(\infty)} \right) \quad (3.80)$$

$$C_a(\infty) = \frac{t_d V_{dN} V_{aN} k_p^{sc} C_{d0} A}{(V_{dN} + V_{aN} + 1) V_a} \quad (3.81)$$

$$MTT = t_d \left[ \frac{(V_{dN} + V_{aN} + 2V_{dN}V_{aN} + \frac{1}{3})}{2(V_{dN} + V_{aN} + 1)} + \frac{(2V_{dN}V_{aN} + V_{dN} + V_{aN})}{\kappa_{ve}(V_{dN} + V_{aN} + 1)} \right] \quad (3.82)$$

Und die relative Dispersion lautet:

$$CV^2 = \frac{2}{5} \left[ 360V_{dN}^2 V_{aN}^2 \kappa_{ve} + 60\kappa_{ve}^2 V_{aN}^2 V_{dN} + 180\kappa_{ve} V_{aN}^2 V_{dN} + 60\kappa_{ve}^2 V_{dN}^2 V_{aN} + 180\kappa_{ve} V_{dN}^2 V_{aN} + 30\kappa_{ve}^2 V_{dN} V_{aN} + 90V_{dN}^2 \kappa_{ve}^2 V_{aN}^2 + \kappa_{ve}^2 + 60\kappa_{ve} V_{aN}^2 + 90V_{aN}^2 + 90V_{dN}^2 + 15\kappa_{ve}^2 V_{dN}^2 + 6\kappa_{ve}^2 V_{dN} + 60\kappa_{ve} V_{dN}^2 + 15\kappa_{ve}^2 V_{aN}^2 + 6\kappa_{ve}^2 V_{aN} + 360V_{dN}^2 V_{aN}^2 + 180V_{dN} V_{aN}^2 + 180V_{dN}^2 V_{aN} \right] / \left[ (3\kappa_{ve} V_{dN} + 3\kappa_{ve} V_{aN} + 12V_{dN} V_{aN} + \kappa_{ve} + 6V_{dN} \kappa_{ve} V_{aN} + 6V_{aN} + 6V_{dN})^2 \right] \quad (3.83)$$

## 3.5 Empirisches Modell zur Beschreibung der Experimente

Die sehr flexible, nur wenige Parameter enthaltende inverse GAUSS-Funktion (Gleichung 3.86, Weiss (1984)) ist ein empirisches Modell, das sich gegenüber dem zwei-Kompartimentmodell an zusätzliche Randbedingungen des experimentellen Designs, z. B. unterschiedliches Pharmakon oder Medium, anpassen läßt.

$$f_{ig}(t) = \sqrt{\frac{MTT}{2\pi CV^2 t^3}} \exp\left(-\frac{(t - MTT)^2}{2CV^2 MTT t}\right) \quad (3.84)$$

Sie enthält als Parameter die mittlere Transitzeit ( $MTT$ ) und die relative Dispersion ( $CV^2$ ). In komplexeren Modellen wird diese Funktion im LAPLACE-Raum benötigt (Gleichung 3.85):

$$\hat{f}_{ig}(s) = \exp\left(\frac{1}{CV^2} - \sqrt{\frac{MTT}{\frac{1}{2}CV^2} \left(s + \frac{1}{2MTT CV^2}\right)}\right) \quad (3.85)$$

Für dieses Diffusionsmodell wird die Verweilzeitdichte der inversen GAUSS-Funktion angewendet:

$$\hat{F}_{ig}(s) = \frac{1}{s} \exp \left( \frac{1}{CV^2} - \sqrt{\frac{MTT}{\frac{1}{2}CV^2} \left( s + \frac{1}{2MTT CV^2} \right)} \right) \quad (3.86)$$

### 3.6 Modellfunktion der Bioverfügbarkeitsstudie

Die erweiterte Auswertung zweier Bioverfügbarkeitsstudien in Kapitel 4.2 von Weiss (1996) und Lötsch, J. u. a. (1998) wird mit den folgenden Funktionen durchgeführt. Das Dispositionssystem wird als 2 Kompartimentsystem (Lötsch, J. u. a. (1998)) und als 3 Kompartimentsystem Weiss (1996) modelliert (Gleichung 3.87).

$$f_{disp}(t) = \sum_{i=1}^n A_i e^{-\lambda_i t} \quad (3.87)$$

Das orale Daten (Gleichung 3.88) werden durch die Faltung (vgl. Abschnitt 3.2.2) zwischen einer inversen GAUSS-Funktion (Gleichung 3.85) als Invasion und dem Dispositionssystem (Gleichung (3.87) beschrieben.

$$\begin{aligned} \hat{f}_{oral}(s) &= \hat{f}_{ig}(s) \cdot \hat{f}_{disp}(s) \\ \hat{f}_{oral}(s) &= \exp \left( \frac{1}{CV^2} - \sqrt{\frac{MTT}{\frac{1}{2}CV^2} \left( s + \frac{1}{2MTT CV^2} \right)} \right) \cdot \sum_{i=1}^n \frac{A_i}{s + \lambda_i} \end{aligned} \quad (3.88)$$

### 3.7 Ganzkörpersimulationsprogramm

Das im Abschnitt 4.3 verwendete Ganzkörpersimulationsprogramm beruht auf der Systemtheorie (Weiss, M. und Geschke, D. (1997)). Hier werden deren rezirkulative, parallele und serielle Elemente angewendet (Abschnitt 3.2.3). In Abbildung 3.9 (nach Geschke, D. (1996)) ist die Struktur des Modells veranschaulicht. Die Injektion oder Infusion erfolgt in die Vene. Die Plasma Konzentration werden arteriell bestimmt. Das serielle System aus Vene, Lunge und Arterie bildet System 1, des einfachen Kreislaufes (Abb. 3.4), die restlichen Organe bilden System 2. Die Organe, das Fettgewebe und das Skelett werden in dieser Arbeit durch die Übertragungsfunktionen der 2-Phasen Diffusion (Abschnitt 3.7.1) und der anormale Diffusion (Abschnitt 3.7.2) modelliert. Die Beschreibung eines Organs erfolgt durch das generelle stochastische Blut-Gewebe Austauschmodell nach Weiss, M. und Roberts, M. S. (1996). Die Verweilzeitdichte  $\hat{f}_{org}(s)$  (Gl. 3.89) des im Gewebe gebunden Pharmakons wird durch den nicht permeierenden Gewebemarker  $\hat{f}_v(s)$  und die Verweilzeitdichte eines Moleküls nach dem ersten Austritt aus dem Geweberaum  $\hat{f}_T(s)$  beschrieben. Für die Kinetik des intravaskulären Raumes wird die inverse GAUSS-Verteilung (Gl. 3.85) angenommen, bzw. eine gewichtete Summe  $f_v(t) = p f_{ig}^1(t) + (1 - p) f_{ig}^2(t)$  mit den Parametern  $MTT_i$ ,  $CV_i^2$  und  $p \in [0, 1]$ .

$$\hat{f}_{org}(s) = \hat{f}_v \left[ s + k \left[ 1 - \hat{f}_T(s) \right] \right] \quad (3.89)$$

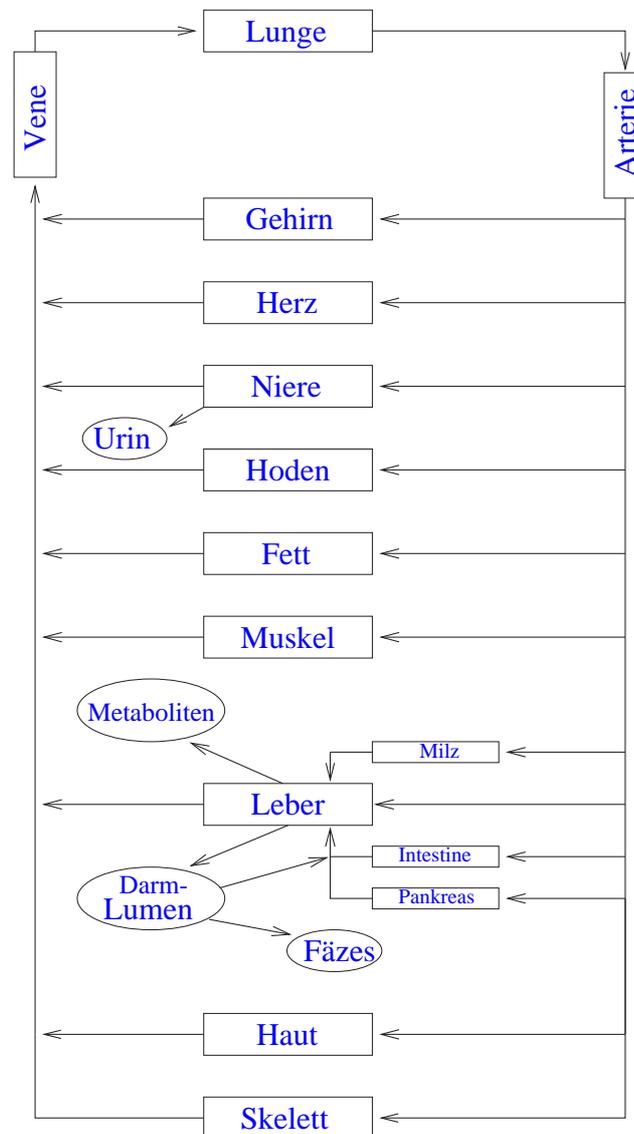


Abbildung 3.9: Schematische Darstellung der Verknüpfung der Organe des Ganzkörpersimulationsprogramms. Das Pharmakon wird in die Vene appliziert und am Austritt der Arterie gemessen.

mit  $k$  der Plasma–zu–Gewebeübertragungsrate. Im Ganzkörpermodell wird  $k$  aus dem Permeationsoberflächenprodukt  $PS$ , dem an das Plasma gebunden Anteil  $f_{ub}$  und dem Blutvolumen  $V_B$  berechnet (Gl. 3.90).

$$k = \frac{f_{ub}PS}{V_B} \quad (3.90)$$

### 3.7.1 2–Phasen Diffusionsmodell

Die Verweilzeitdichte des Gewebes ist für das 2–Phasen Diffusionsmodell durch Gleichung 3.91 gegeben (Weiss, M. und Roberts, M. S. (1996)).

$$\hat{f}_T(s) = \frac{1}{1 + \frac{\nu}{kd} \sqrt{ds} \tanh \sqrt{ds}} \quad (3.91)$$

mit  $\nu = V_T/V_B$  dem relativen Gewebeverteilungsvolumen  $V_T$  zum Blutvolumen  $V_B$  und  $d$  der Zeitkonstante des inneren Gewebe–Diffusions–Äquilibrierungs–Prozesses.

### 3.7.2 Anomales Diffusionsmodell

Viele Modelle versagen, wenn sie mit Daten vorhersagen oder beschreiben sollen, wie sich Pharmaka, die eine extrem lange Verweildauer im menschlichen Körper haben, verhalten. Die Modellannahme der anomalen Diffusion kann dieses Problem bewältigen. Weiss (1999) setzt die anormale Diffusion in einem reduzierten Rezirkulationsmodell ein. In der vorliegenden Arbeit wird die anormale Diffusion als Modellfunktion für einzelne Organe verwendet; Sie beschreibt die zeitliche Änderung der Konzentration im Blut des Organs. Bei diesem Modell wird davon ausgegangen, daß die Moleküle „eingefangen“ werden und erst nach einer gewissen Zeit wieder in das System zurückkehren. Dieser Sachverhalt wird durch die Gleichung (3.92) wiedergegeben.

$$f_T(t) = \tau^\alpha t^{-1-\alpha} \quad \text{bzw.} \quad \hat{f}_T(s) = 1 - \frac{\pi}{\sin(\pi\alpha)} (s\tau)^\alpha \quad (3.92)$$

mit  $\alpha$  als dimensionslosen Exponent der fraktalen Aufenthaltswahrscheinlichkeit. Für  $\alpha = 1$  geht dieses Modell in die BRAUNsche– oder Eigendiffusion über. Fraktal ist in diesem Zusammenhang der nicht ganzzahlige Exponent  $\alpha$ , wie er auch in der nicht linearen Dynamik definiert ist.

## 3.8 Sensitivitätsanalyse

Die Sensitivitätsanalyse, eine unterstützende mathematische Methode für die Bewertung der Ergebnisse einer Parameterschätzung, untersucht das Verhältnis zwischen experimentell gewonnenen Daten und mathematischen Modellen. Sie liefert, abhängig von den gewählten Zeitpunkten der Probennahme, dem Sampling–Schema und dem mathematischen Modell, Aussagen über die Empfindlichkeit der Parameter des Modells und die Identifizierbarkeit der Para-

meter. In dieser Arbeit werden die invitro Experimente (Abschnitt 4.1) und eine Bioverfügbarkeitsstudie (Abschnitt 4.2) optimiert.

Es werden fünf verschiedene Sensitivitätsfunktionen betrachtet, von denen die ersten drei aufeinander aufbauen, die vierte eine andere Darstellung der dritten ist und die fünfte eine Verfeinerung der vierten darstellt. Zuerst werden die Kriterien vorgestellt, am Ende folgen die benötigten Definitionen der Matrizes (Gl. 3.98 bis 3.102).

### 3.8.1 Die normierte Modell–Sensitivität

Die ersten Ableitungen des Modells nach den Parametern geben die Empfindlichkeit der Parameter wieder. Nach einer Skalierung der so gewonnenen Funktionen ergibt sich die normierte Modell–Sensitivität (NMS), definiert durch Gleichung (3.93).

$$\mathbf{s}_1(t) = \frac{1}{\sigma(t)} \mathbf{S}_J \nabla_{\theta} f(\theta, t) \quad (3.93)$$

Sie liefert Aussagen über die Änderung des geschätzten Parameters in Bezug auf eine Variation des Funktionswertes und ist mit der herkömmlichen Sensitivität identisch.

Ist bei kleiner Variation des Funktionswertes die Änderung des betrachteten Parameters groß, so spricht man von einer hohen Sensitivität dieses Parameters in dem betrachteten Intervall des Sampling Schemas.

### 3.8.2 Die normierte Parameter–Sensitivität

Die normierte Parameter–Sensitivität (NPS) eröffnet einen Blick darauf, wie gut sich die einzelnen Parameter bei gegebenem Probennahme–Schema identifizieren lassen (Gleichung 3.94). Sie wurde von Thomaseth, K. und Cobelli, C. (1999) in die Analyse pharmakokinetischer Modelle eingeführt. Im Gegensatz zu Abschnitt 3.8.1 interessiert hier die Abhängigkeit zwischen den Parametern und der Funktionswertänderung.

$$\mathbf{s}_2(t) = \frac{1}{\sigma(t)} \mathbf{S}_C \mathbf{Cov}(\theta) \nabla_{\theta} f(\theta, t) \quad (3.94)$$

Ändert sich der Funktionswert in einem Intervall bei geringer Variation des Parameters sehr stark, ist die Sensitivität in diesem Zeitabschnitt sehr groß.

### 3.8.3 Parameter–Informations–Sensitivität

Werden die ersten beiden Kriterien kombiniert, erhält man nach Thomaseth, K. und Cobelli, C. (1997) die Parameter–Informations–Sensitivität (PIS), die durch Gleichung (3.95) definiert sind. Sie haben den Vorteil, daß sie anhand eines gegebenen Sampling Schemas sowohl den Einfluß des Modells als auch den Einfluß der Messung berücksichtigen. Wird eine Messung

durchgeführt, kann nach der Parameterschätzung eine solche Sensitivitätsanalyse erfolgen und in den Intervallen mit großen Werten, also hoher Sensitivität, das Probennahmen–Schema verdichtet werden. Es ergibt sich keine Verbesserung der Schätzung, wenn die Datenpunkte in Abschnitten niedriger Sensitivität gewählt werden. Hohe Korrelationen zwischen einzelnen Parametern werden durch (anti–) parallele Kurvenverläufe der Sensitivität angezeigt. Die Schätzung der Parameter kann in diesem Intervall nicht durch eine Verdichtung der Meßwerte herbeigeführt werden. Deshalb muß versucht werden, das Sampling–Schema an Stellen zu verdichten, in denen keine Korrelationen vorhanden sind, auch wenn die Sensitivität dort geringer ist.

$$\mathbf{s}_3(t) = \frac{1}{\sigma^2(t)} [\mathbf{S}_C \mathbf{Cov}(\theta) \nabla_{\theta} f(\theta, t)] \bullet \nabla_{\theta} f(\theta, t) \quad (3.95)$$

- bedeutet elementweise Multiplikation der Parameterkomponenten

### 3.8.4 Generalisierte Parameter–Informations–Sensitivität

Auch die Summe des Kriteriums (Gleichung 3.95) über alle Zeitpunkte oder dessen Integral, bei geänderter Informationsmatrix, wird zur Analyse der Daten herangezogen (Thomaseth, K. und Cobelli, C. (1999)).

Sie bildet die Definition der Generalisierten–Parameter–Informations–Sensitivitäten GPS:

$$\mathbf{s}(t_k) = \sum_{i=1}^k \mathbf{s}_3(t_i) \quad (3.96)$$

Haben die Funktionen den konstanten Wert 1 erreicht, ist für diesen Parameter durch Verlängerung des Sampling Schemas keine bessere Anpassung mehr möglich.

### 3.8.5 Generalisierte integrale Parameter–Informations–Sensitivität

Da für die vorliegenden Untersuchungen eine Auswertung durch die in Abschnitt 3.8.4 definierten Funktionen keine zufriedenstellenden Informationen lieferte, werden an dieser Stelle die generalisierten integralen–Parameter–Informations–Sensitivitäten (GIPS) eingeführt (Gleichung 3.97):

$$\mathbf{s}(t) = \int_0^t \mathbf{s}_3(\tau) d\tau \quad (3.97)$$

Hier kann man den Bereich, in dem keine Information mehr gewonnen werden kann, sehr gut erkennen. Um die GIPS zu erhalten, ersetzt man die FISCHERSche Informationsmatrix (Gleichung 3.98) durch eine integrale Berechnung (Gleichung 3.99).<sup>3</sup> In den letzten beiden

<sup>3</sup>Im Programmpaket „sensitiv“ Ring (2000); Jeschke (2000) wird der Zeitvektor verwendet, der auch für die Darstellung verwendet wird.

Kriterien weist ein steiler Zuwachs auf einen hohen Informationsgehalt in diesem Zeitabschnitt für den entsprechenden Parameter hin. Parallele Verläufe in den Kurven entstehen, wenn die Parameter in diesem Intervall eine hohe Korrelation haben. Das Kriterium in Abschnitt 3.8.5 wird angewendet, wenn das Sampling Schema wenig Datenpunkte enthält. Ist der Funktionswert für einen Parameter gleich 1, so ist für diesen Parameter für alle folgenden Zeitpunkte keine Information mehr zu gewinnen. Eine Verlängerung des Probennahme–Schemas erübrigt sich.

Die beiden Skalierungsmatrizen werden aus der FISCHERSchen Informationsmatrix  $\mathbf{J}$  (Gleichung 3.98) gebildet:

$$\mathbf{J}(\theta) = \sum_{k=1}^M \nabla_{\theta} f(\theta, t_k) \cdot \nabla_{\theta} f(\theta, t_k)' \frac{1}{\sigma(t_k)^2} \quad (3.98)$$

bzw. für das fünfte Kriterium:

$$\mathbf{J}(\theta) = \int_0^t \nabla_{\theta} f(\theta, \tau) \cdot \nabla_{\theta} f(\theta, \tau)' \frac{1}{\sigma(\tau)^2} d\tau \quad (3.99)$$

Hierin bedeuten ' den transponierten Vektor,  $\theta$  den Parameter Vektor der Funktion  $f$ ,  $t_k$  den Zeitpunkt der  $k$ -ten Probennahme.

Das Inverse der Diagonalelemente ergibt die Skalierungsmatrix  $\mathbf{S}_J$  (Gleichung 3.100):

$$\mathbf{S}_J(\theta) = \text{diag} \left( \frac{1}{\sqrt{\mathbf{J}(\theta)}} \right) \quad (3.100)$$

Die Normierung des zweiten, auf der Covarianz beruhenden, Kriteriums erfolgt über die Inversen der Diagonalelemente der Covarianzmatrix (Gleichung 3.101), die die inverse Matrix der FISCHERSchen–Informations Matrix (Gleichung 3.98) ist.

$$\mathbf{Cov}(\theta) = [\mathbf{J}(\theta)]^{-1} \quad (3.101)$$

Die Skalierungsmatrix ist definiert durch  $\mathbf{S}_C$  (3.102):

$$\mathbf{S}_C(\theta) = \text{diag} \left( \frac{1}{\sqrt{\mathbf{Cov}(\theta)}} \right) \quad (3.102)$$

## 3.9 LAPLACE–Transformation

Die LAPLACE–Transformation und vor allem deren Rücktransformation in den Zeitbereich wird in dieser Arbeit an verschiedenen Stellen verwendet. Läßt sich eine Funktion nicht analytisch transformieren, muß ein numerisches Verfahren angewendet werden. Verschiedene numerische Rücktransformationalgorithmen wurden untersucht.

### 3.9.1 Definition des LAPLACE-Integrales

Die LAPLACE-Transformation erfolgt in einer integralen Darstellung (Gleichung 3.103). Sie übersetzt eine Zeitfunktion in den zugehörigen Spektralbereich. In diesem können einige mathematische Operationen leichter ausgeführt werden, wie z. B. die Faltung (Abschnitt 3.2.2) oder das Ermitteln des Wertes eines bestimmten Integrales (Abschnitt 3.9.3).

$$\hat{f}(s) = \int_0^{\infty} e^{-st} f(t) dt; \Re(s) > \gamma_0 \quad (3.103)$$

### 3.9.2 Definition der LAPLACE-Rücktransformation

Die Rücktransformation oder inverse LAPLACE-Transformation wird in dieser Arbeit für die Berechnung der Konzentrationszeitwerte und für die Lösung von Differentialgleichungssystemen verwendet. Die Rücktransformation ist durch das Integral (Gleichung 3.104) definiert und wird durch das Symbol  $\mathcal{L}^{-1}$  abgekürzt.

$$f(t) = \frac{1}{2\pi i} \oint_B e^{st} \hat{f}(s) ds; t > 0 \quad (3.104)$$

mit B als dem Integrationsweg.

### 3.9.3 Bestimmtes Integral

Das Integral wird durch die Division mit der Variablen s gegeben. Mit der Grenzwertbildung erhält man den Wert des Bestimmten Integrales. Beispiele sind die Bestimmung der AUC, die Berechnung der kumulativen Werte und die Faltung verwendet.

$$\int_0^{\infty} f(t) dt = \lim_{s \rightarrow +0} \frac{1}{s} \hat{f}(s) \quad (3.105)$$

### 3.9.4 Differentiation

Die Lösung von Differentialgleichungen kann im LAPLACE-Raum erfolgen. Durch den Übergang in den LAPLACE-Raum werden aus gewöhnlichen Differentialgleichungen lineare Gleichungen.

$$\frac{\partial f(t)}{\partial t} = \mathcal{L}^{-1} \left( s \hat{f}(s) \right) \quad (3.106)$$

### 3.9.5 Differentiation im LAPLACE-Raum

Die folgende Rechenregel wird bei der Momentberechnung benötigt.

$$(-t)^n f(t) = \mathcal{L}^{-1} \left( \frac{d^n}{ds^n} \hat{f}(s) \right) \quad (3.107)$$

### 3.9.6 Numerische inverse LAPLACE-Transformation

In dieser Arbeit werden Parameteranpassungen komplexer Modelle durchgeführt, die im LAPLACE-Raum definiert sind. Wenn keine analytische Rücktransformation des Modelles existiert, ist man auf eine numerische Rücktransformation angewiesen. Für das im Quellcode erhältliche Programm der Autoren D'Argenio, D.Z. und Schumitzky, A. (1979) (ADAPT 2.4) wurden, zusätzlich zu den von Schalla, M. und Weiss, M. (1999) verwendeten, verschiedene Algorithmen getestet.

Auch die neuen von d'Amore, L. u. a. (1999b,a) vorgestellten Algorithmen liefern im Vergleich zu den von Schalla, M. und Weiss, M. (1999) verwendeten Algorithmus von Talbot, A. (1979); Murli, A. und Rizzardi, M. (1990) keine Verbesserung der Modellierung, da die Konvergenz des Verfahrens noch nicht an die des TALBOT heranreicht. Murli, A. und Rizzardi, M. (1990) nennen ca. elf Schritte bis zur Konvergenz einfacher Funktionen, d'Amore, L. u. a. (1999a) geben selbst mit dem neuen Algorithmus noch um den Faktor zwei bis drei höhere Werte an. Ohne das neue Abbruchkriterium erhöht sich die Anzahl der benötigten Iterationen auf das fünf- bis zehnfache mit dem FOURIER-Reihen basierten Algorithmus. Die Ausführungsgeschwindigkeit wurde nicht untersucht.

# Kapitel 4

## Experimente und Simulationen

In diesem Kapitel werden die Durchführung und die Ergebnisse der Experimente und Simulationen beschrieben und diskutiert. Abschnitt 4.1 befaßt sich mit einem zwei-Kammer invitro Diffusionsmodell und mit einem invivo PCB-Experiment. Der zweite Teil dieses Kapitels, Abschnitt 4.2, optimiert Bioverfügbarkeitsstudien aus der Literatur und darauf beruhende Simulationen mit Hilfe der Sensitivitätsanalyse in Bezug auf das verwendete Sampling Schema. Abgeschlossen wird das Kapitel durch Abschnitt 4.3, in dem ein Ganzkörpersimulationsprogramm um anormale Diffusion erweitert wird. Damit ist dieses für Simulationen hochlipophiler Substanzen (z. B. PCB) geeignet.

### 4.1 Experimente

Für die invitro zwei-Kammer Diffusionsexperimente, die mit PCB und Diclofenac durchgeführt werden, wird der Versuchsaufbau (Abb. 2.1), wie von Neubert (1978) beschrieben, verwendet. Beide Modellsubstanzen können an das Serumalbumin des Blutes binden (z. B. Rau, L. A. und Vodcnik, M. J. (1986); Bass, L. und Pond, S. M. (1987); Schwab, A. J. und Goresky, C. A. (1996); Weisiger, R. A. u. a. (1989); Weisiger (1993)). Diese Bindung erhöht die Löslichkeit des Pharmakons in dem Medium. Anstelle des Serumalbumins kann man auch Mizellen (z. B. Bates, T. R. u. a. (1966b,a); de Smidt, J. H. u. a. (1991); Dulfer, W. J. u. a. (1995)) einsetzen. Durch den Zusatz von Gallensalzen zum Medium finden Solubilisationsprozesse unter Mizellbildung statt. Die Experimente mit Diclofenac werden wegen der größeren Löslichkeit mit höheren Dosen und mit geringerem Probenvolumen durchgeführt. Der Gehalt des Diclofenacs läßt sich aus diesen Proben schneller bestimmen. Die hier verwendete Analyse dauert für eine Probe ungefähr zehn Minuten für Diclofenac, jedoch zweieinhalb Stunden für die polychlorierten Biphenyle.

### 4.1.1 Kritische Parameter der Versuchsanordnung

Im Folgenden werden die Eigenschaften der Meßapparatur und der Proben genauer betrachtet, die Einfluß auf die Messung haben können.

An der Membran entsteht am Übergang zwischen Membran und Lösung eine „ungerührte Grenzschicht“. Die ungerührte Schicht vor der Membran ist von Bedeutung, da nur der nicht an das Albumin gebundene Anteil des Pharmakons diffundieren kann. Diclofenac, durch seine polare Gruppe begründet, ist auch in Wasser löslich, weshalb hier kein Einfluß durch eine Schichtdickenänderung erwartet wird.

Dieses Phänomen der ungerührten Grenzschicht wurde schon sehr früh in der Geschichte durch Brunner (1904), einem Mitarbeiter von Nernst in Göttingen, untersucht. Brunner beobachtete die Auflösung eines Kristalls in einem Lösungsmittel. Durch stetiges Umrühren dieser Lösung wurde die Auflösungsrate erhöht. Er fand eine Abhängigkeit zur Potenz  $2/3$  der Rührgeschwindigkeit. D. h. durch Variation des Durchmischungsvorgangs ließ sich die Dicke der Grenzschicht ändern.

Lerche, D. u. a. (1976) untersuchten diese Erscheinung anhand des Brechungsindex einer Lösung. Dworecki, K. u. a. (2000) beschreiben die ungerührte Schicht in ihrem zeitlichen Verlauf. In dem hier verwendeten Modell wird die Durchmischung des Diffusionsmediums über die Vibration gesteuert. Ein Maß für die Durchmischung in den Diffusionskammern ist ihre Vibrationsintensität, die den Kammern von außen durch einen Laborrüttler aufgeprägt wird. Im folgenden Abschnitt wird die Beschleunigung, die an den Diffusionskammern auftritt, bestimmt, sie steht in einem direkten Zusammenhang mit der Intensität. Daran anschließend wird eine Simulation zeigen, welche Unterschiede der Vibrationsintensität in den Meßdaten bei der vorliegenden Meßgenauigkeit bestimmt werden können.

#### Untersuchung der mechanischen Schwingungen der Versuchsanordnung

Für die lipophilen PCBs stellt die ungerührte Schicht eine weitere Barriere dar. Deren Durchlässigkeit wird in dem theoretischen Modell durch die Permeabilität  $k_p^{ve}$  beschrieben. Die Schichtdicke wird in diesen Versuchen durch die Intensität der Vibration des invitro Modells (Abschnitt 2.2.1) gesteuert. Es folgt eine Bestimmung der Rüttelintensität in Abhängigkeit von der eingestellten Stufe am Laborrüttler. Dafür werden an verschiedenen Meßpunkten (an den Positionen der Membran und einem Referenzpunkt, s. Abb. 4.1) die Schwingungsamplituden unter Versuchsbedingungen mit Hilfe eines Beschleunigungssensors bestimmt. Um aus der Beschleunigung die Auslenkung zu erhalten, sind folgende Schritte notwendig: Die Beschleunigung sei durch  $a(t)$  gegeben, die Auslenkung  $s(t)$  erhält man durch zweifache Integration. Da hier nur die maximale Amplitude von Interesse ist, kann am Abschluß der zeitabhängige multiplikative Faktor gleich 1 gesetzt werden. Für eine der Teilschwingungen gilt:

$$a(t) = a_0 \sin \omega t \quad (4.1)$$

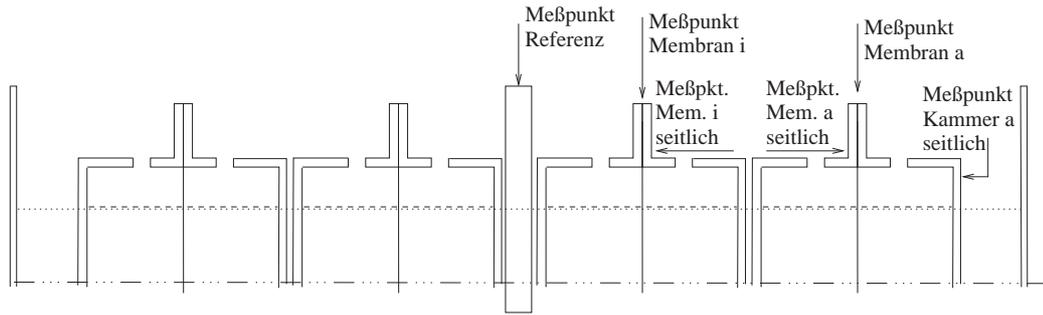


Abbildung 4.1: Ausschnitt des Versuchsaufbaus des Diffusionsversuchs. An den einzelnen Meßpunkten wird die Beschleunigung in Pfeilrichtung gemessen.

$$v(t) = \int a(t)dt = -\frac{1}{\omega}a_0 \cos \omega t + v_0 \quad (4.2)$$

$$s(t) = \int v(t)dt = -\frac{1}{\omega^2}a_0 \sin \omega t + v_0 t + s_0 \quad (4.3)$$

Ohne Beschränkung der Allgemeinheit können die Integrationskonstanten  $v_0$  und  $s_0$  gleich Null gesetzt werden. Daraus ergibt sich für die Elongation bei einer bestimmten Frequenz  $s_{max} = \frac{a_0}{\omega^2}$ . Die Konstante  $a_0$  ist ein Materialparameter, der von der Art des Beschleunigungssensors abhängt.

Die Messungen wurden mit einem Sensor 905A der Firma PCB, der eindimensional arbeitet, und einem Spektrumanalysator von Onosokki (CF-930) durchgeführt. In Abbildung 4.2 ist eine deutlich geringere Amplitude der Schwingung an der innenliegenden Membran zu sehen (Abb. B.1 zeigt die Daten in linearer Auftragung). Die Schwingungsamplitude der 100 Hz Komponente liegt um den Faktor fünf niedriger als die der 50 Hz Teilschwingung. Dies ergibt sich aus dem Vergleich der Abbildungen B.1 und B.2. Somit ist die 50 Hz Komponente der Schwingung für den Versuchsaufbau bestimmend. Die Amplitude der Schwingung des Laborrüttlers wird durch eine Exponentialfunktion charakterisiert. Es erfolgt eine Anpassung der Parameter der Exponentialfunktion (Abb. 4.2) an die Amplitude der 50 Hz Komponente der Schwingung. Abbildung B.3 zeigt exemplarisch die aufgenommenen Spektren der mechanischen Schwingung des Versuchsaufbaus.

$$A(x) = a_n e^{b_n x} \quad (4.4)$$

mit  $x$  als der an dem Laborrüttler eingestellten Intensität. Es wurden folgende Parameter (Tabelle 4.1) ermittelt:

Tabelle 4.1: Ermittelte Parameter der Ausgleichsfunktion für die Vibrationsstärke.

$a_{\text{innen}}$	$b_{\text{innen}}$	$a_{\text{ausßen}}$	$b_{\text{ausßen}}$	$a_{\text{Referenz}}$	$b_{\text{Referenz}}$
0,0087	0,24	0,0142	0,20	0,0081	0,24

Diese Untersuchung zeigt, daß die Auslenkung der innen liegenden Kammern einer Intensitätsstufe niedriger entspricht, als die der außen liegenden (Abb. 4.2). D. h.: Wird die Versuchsaapparatur mit eine Intensität von 7 angeregt und die Auslenkung für die außen liegenden

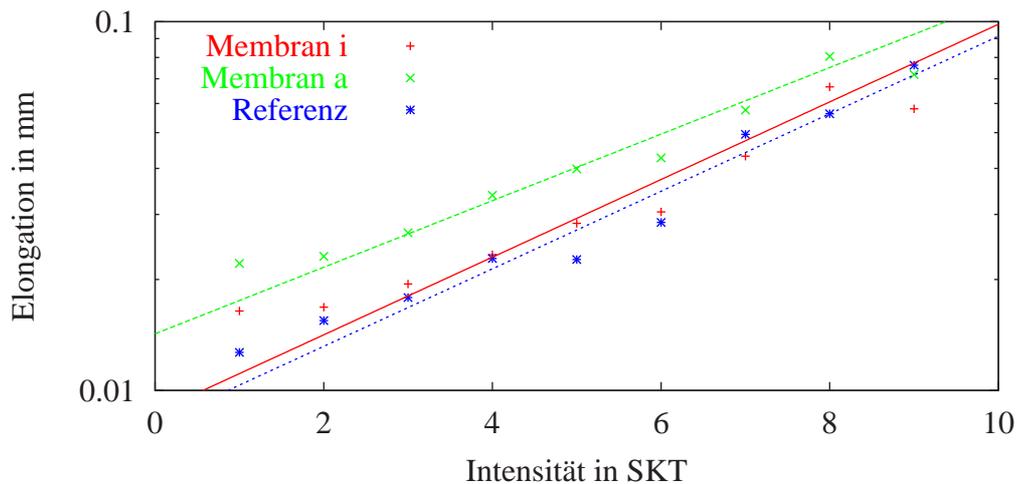


Abbildung 4.2: Die Vibrationsamplitude des Laborrüttlers bei 50 Hz ist in Abhängigkeit der Skaleneinteilung (SKT) des Amplitudenwahlstellers des Laborrüttlers für die Meßpunkte außen (a), innen (i) und Referenz dargestellt. Die Ergebnisse der Parameteranpassung einer Exponentialfunktion sind als Ausgleichsfunktion aufgetragen.

Kammern bestimmt, so müßte die Apperatur mit der Intensität von 8 angeregt werden, damit die innen liegenden Kammern die gleiche Auslenkung erhalten. Auf dieses Ergebnis wird in Abschnitt 4.1.2 näher eingegangen.

### Äquilibrierungszeiten von PCB in der BSA-Lösung

Ein weiterer kritischer Punkt für die Experimente ist die Bereitstellung einer homogenen Donatorlösung. Es soll eine dem *in vivo* System möglichst ähnliche Lösung verwendet werden. Die Albuminkonzentration im menschlichen Blut beträgt laut Boss, N. u. a. (1987) 3,5 % bis 5,5 %. Um zu überprüfen ob mit anderen Albuminkonzentration bessere *in vitro* Versuchsbedingungen erzielt werden können, wird die Albuminkonzentration von 0 % bis 12,5 % variiert. Dabei wird die Zeit der Gleichverteilung der verwendeten PCBs in der Basislösung bestimmt. Die Versuche werden in einem silanisierten Gefäß durchgeführt. Es werden jeweils Proben mit einem Volumen von 20 mL bei den Konzentrationen von 100, 150, 200 und 250 ng/mL PCB angesetzt. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels Cyclohexan werden die PCBs mit einem GREENschen Puffer, der ohne und mit 1 %, 2,5 %, 5 %, 7,5 %, 10 % und 12,5 % Bovine Serum Albumin (BSA) versetzt war, aufgenommen. Zu verschiedenen Zeitpunkten werden je zwei Proben mit einem Volumen von 200  $\mu$ L mit einer Kolbenhubpipette entnommen.

Die Abbildungen 4.3 bis 4.5 zeigen die Versuchsreihe, die die Grundlage für die Diffusionsexperimente bildet. Nach 24 Stunden wird die eingesetzte Konzentration bei einer Konzentration von 100 ng/mL wiedergefunden (Abb. 4.3). Bei den Konzentrationen 150, 200 und 250 ng/mL PCB und Puffer mit 5 % BSA wird die Äquilibrierung nach 24 Stunden nicht

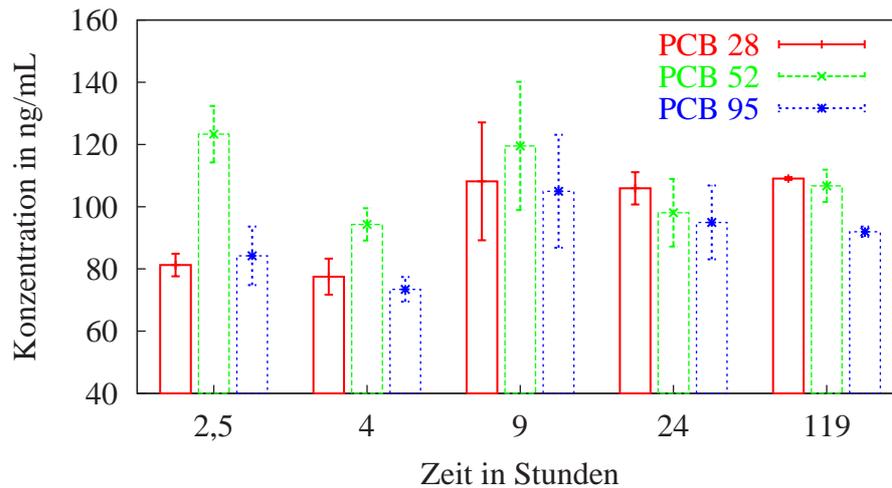


Abbildung 4.3: Wiedergefundene Konzentration für die PCB-Kongenerne 28, 52 und 95 nach 2,5, 4, 9, 24 und 119 Stunden bei einer Ausgangskonzentration von 100 ng/mL in Puffer mit 5 % BSA

erreicht, wie in Abb. 4.4 zu sehen ist. Nach fünf Tagen ist sie jedoch auch für die hohen

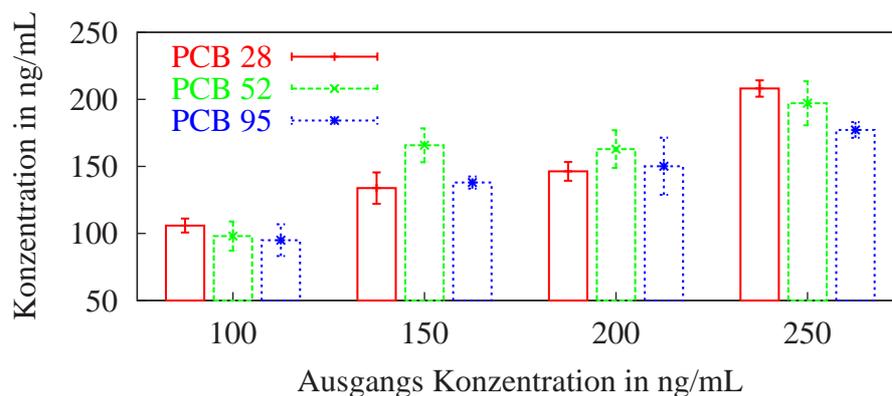


Abbildung 4.4: Vergleich der wiedergefundene Konzentration der PCB-Kongenerne 28, 52 und 95 zum Zeitpunkt 24 Stunden nach Versuchsbeginn bei unterschiedlichen Ausgangskonzentrationen in Puffer mit 5 % BSA.

Konzentrationen erreicht. Da die eigentlichen Versuche mit 50 Stunden angesetzt wurden, die BSA Lösung aber nur maximal eine Woche zu verwenden ist, wird für die Experimente eine Ausgangskonzentration von 100 ng/mL gewählt, um genügend Zeit für die Vorbereitungen zu besitzen und die Haltbarkeit nicht vollkommen auszuschöpfen.

Die Vermutung, daß der biologische Abbau des BSA zu einer Veränderung der Freisetzung der PCBs bei der Messung führt, kann nicht bestätigt werden. Um den biologischen Abbau des BSA dennoch zu verhindern, werden Versuche durchgeführt, deren Lösungen zusätzlich mit Natriumazit versetzt sind.

In Abbildung 4.5 sind die prozentualen Werte der wiedergefundenen Menge in Bezug auf den Puffer mit einem Zusatz von 5 % BSA zu sehen. Bei höheren BSA Konzentrationen sind die Analysebedingungen verschlechtert, da sich dann die Verteilung der PCBs von der Gasphase zugunsten der flüssigen Phase verschiebt. Dies hat zur Folge, daß die Anreicherungsphase wesentlich verlängert werden müßte. Bei niedrigeren BSA-Konzentrationen sind geringere Mengen der PCB löslich.

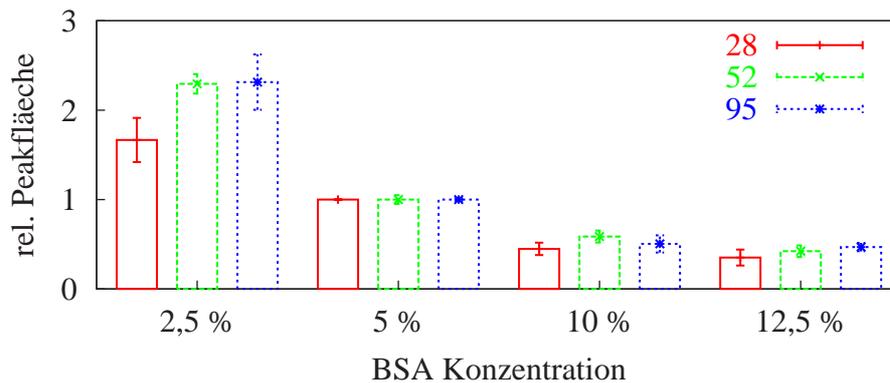


Abbildung 4.5: Vergleich der relativen Peakflächen für 100 ng/mL PCB 28 Ausgangskonzentration in Puffer mit 2,5 %, 5 %, 10 % und 12,5 % BSA in Bezug auf die 5 %-ige Lösung. Es ist der letzte Datenpunkt aufgetragen.

### Bestimmung der Dicke einer Dodekanol-Kollodium-Membran

Ein zweiter mechanischer Faktor, der die Experimente beeinflusst, ist die Schichtdicke der verwendeten Membran. Die Dodekanol-Kollodium-Membranen werden selbst hergestellt (vgl. Abschnitt 2.3.2) und weisen Fertigungstoleranzen im Bereich zwischen 20  $\mu\text{m}$  und 50  $\mu\text{m}$  auf. Sie werden auf Grund ihres Gewichtes selektiert (vgl. Tabelle C.1). In den gleichzeitig durchgeführten Experimenten werden Membranen aus derselben Charge verwendet. Die Mittelwerte der verwendeten Membranen sind in Tabelle C.1 aufgezeigt. Die Membranen weisen eine durchschnittliche Dicke von 30  $\mu\text{m}$  auf.

Die Dicke der Membranen wird anhand der von Neubert (1978) bestimmten Dichte  $\rho = 0,661 \pm 0,014 \text{ g/cm}^3$  errechnet (Gl. 4.5). Richter, H. u. a. (1978) zeigten, daß diese vereinfachte Messung zulässig ist. Es wird eine zylindrische Form der Membranen zugrunde gelegt, deren Radius mit  $r = 3,4 \text{ cm}$  bestimmt wurde. Daraus folgt eine Gesamtfläche  $F = 36,3 \text{ cm}^2$ .

$$d = \frac{m}{\rho F} \quad (4.5)$$

Die Messung mit einem mechanischen Abstandstaster ergibt etwa die Hälfte dieser berechneten Dicke. Jedoch muß in Betracht gezogen werden, daß dieses Meßgerät Druck auf die Oberfläche ausübt und somit die Dicke der Membran während der Messung beeinflusst. Richter,

H. u. a. (1978) beschreiben eine optische Methode zur Bestimmung der Dicke der Membranen, die im Einklang mit der Dicke aus der Dichtebestimmung steht.

## 4.1.2 Aussagen zur Identifizierbarkeit der Modellparameter

### Vergleich des Diffusionsmodelles und der inversen GAUSS-Funktion

Die Auswertung der invitro Diffusionsversuche (Abschnitte 4.1.4 und 4.1.5) erfolgt mit dem Diffusionsmodell (Gl. 3.59) und der inversen GAUSS-Funktion (Gl. 3.86). Da das Diffusionsmodell aus dem zugrunde liegenden Prozeß der invitro Experimente abgeleitet ist, wird es zur Simulation verwendet. Die Simulationen sollen zeigen, ob mit den gegebenen Randbedingungen eine Parameterbestimmung möglich ist. Als erstes wird dazu ein fehlerfreier Datensatz erzeugt, um mit diesem zu zeigen, daß die Modelle grundsätzlich für die Parameterbestimmung durch verschiedene Schätzverfahren geeignet sind. Die Parameter werden in Anlehnung an die Experimente mit PCB 28 (Tab. 4.8) gewählt. Sie sind in der folgenden Tabelle (Tab. 4.2) zusammengestellt. Die ersten sechs Parameter sind durch den Versuchsaufbau bestimmt, die Parameter  $K_m$ ,  $D_m$  und  $k_p^{ve}$  werden im Folgenden mit dem Diffusionsmodell geschätzt. Die Parameter  $k_p^{sc}$ ,  $MTT$  und  $CV^2$  sind von den geschätzten Parametern abgeleitete Werte.

Tabelle 4.2: Parameter für das Diffusionsmodell, mit denen die Simulationen durchgeführt werden. Ergebnisse der Schätzung eines ohne Meßfehler simulierten Datensatzes mit dem Diffusionsmodell und der inversen GAUSS-Funktion. Die Schätzverfahren least-square und maximum-likelihood werden verwendet.  $V_d$ ,  $V_a$  Volumen der Kammern,  $A$  Querschnitt der Membran,  $h_m$  Schichtdicke der Membran,  $C_{d0}$  Ausgangskonzentration,  $K_a$ ,  $K_m$  Verhältnis der Partitionskoeffizienten zwischen den Kammern bzw. zwischen Kammer und Membran,  $D_m$  Diffusionskoeffizient der Membran,  $k_p^{ve}$ ,  $k_p^{sc}$  Permeabilität der ungerührten Schicht bzw. Membran,  $MTT$  mittlere Transitzeit,  $CV^2$  der Variationkoeffizient.

$V_a$	$V_d$	$A$	$h_m$	$C_{d0}$	$K_a$	$K_m$	$D_m$	$k_p^{ve}$	$k_p^{sc}$	$MTT$	$CV^2$
cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>2</sup>	µm	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$	1	1	$\frac{\text{cm}^2}{\text{h}}$	$\frac{\text{cm}}{\text{h}}$	$\frac{\text{cm}}{\text{h}}$	h	1
<b>Ausgangsparameter</b>											
20	20	15,7	30	100	1	2000	0,8	0,51	$5,3 \cdot 10^5$	4,25	0,52
<b>Diffusionsmodell: Bestimmung mit „least-square“</b>						2000	0,48	0,51	$3,2 \cdot 10^5$	4,25	0,52
<b>Diffusionsmodell: Bestimmung mit „maximum-likelihood“</b>						2006	0,72	0,51	$4,8 \cdot 10^5$	4,26	0,52
<b>inverse GAUSS-Funktion: Bestimmung mit „least-square“</b>										4,55	0,69
<b>inverse GAUSS-Funktion: Bestimmung mit „maximum-likelihood“</b>										6,03	1,5

Das Schätzen der Parameter  $K_m$ ,  $D_m$  und  $k_p^{ve}$  des Diffusionsmodelles des fehlerfrei simulierten Datensatzes reproduziert die für die Simulation verwendeten Parameter gut. Das least-square-Verfahren trifft die Werte für  $k_p^{ve}$  und  $K_m$  exakt, für den Diffusionskoeffizienten  $D_m$  wird auch eine sehr kleine Streuung ( $\sigma = 4 \cdot 10^{-4} \%$ ) angegeben, der Wert weicht aber 40 % von dem ursprünglichen Parameter ab. Die „maximum-likelihood“ Schätzung weist für jeden der geschätzten Parameter eine kleine Variation ( $\sigma < 3,5 \%$ ) aus. Auch hier wird der Diffusionskoeffizient  $D_m$  um 10 % zu gering geschätzt. Dies deutet auf eine geringe Sensitivität dieses Parameters hin. Das Gewicht des Parameters  $D_m$  in der abgeleiteten mittleren Transitzeit  $MTT$  und dem Variationskoeffizienten  $CV^2$  ist aber sehr gering, so daß diese durch die fehlerhafte Schätzung nicht beeinflusst sind.

Für die inverse GAUSS-Funktion wird der Parameter  $CV^2$  mit einem zu hohen Wert geschätzt. Durch die hohe Korrelation zwischen  $MTT$  und  $CV^2$  wird auch der Parameter  $MTT$  höher geschätzt. Die Bestimmung der Parameter mit der least-square-Methode ist etwas besser als die mit der maximum-likelihood-Methode, da hier die Abweichungen in den Funktionswerten im Intervall zwischen 0 und 7,5 Stunden weniger Gewicht besitzen. Abbildung 4.6 zeigt die Konzentrations-Zeit-Kurve des Diffusionsmodelles und der inversen GAUSS-Funktion mit identischen Parametern  $MTT$ ,  $CV^2$  und  $F$ . Das Diffusionsmodell weist einen Wert größer 0,1 schon nach ca. 20 min auf, die inverse GAUSS-Funktion hingegen erst nach ca. 50 min. Die Steigung der ersten Funktion ist weniger steil als die der inversen GAUSS-Funktion.

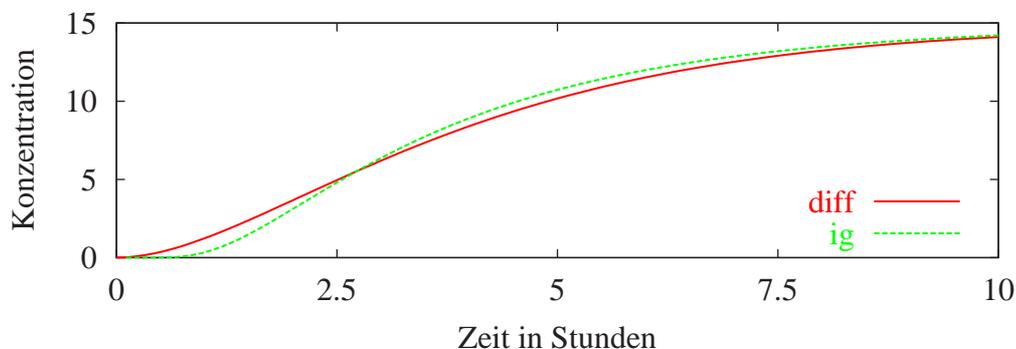


Abbildung 4.6: Vergleich der Graphen des Diffusionsmodelles (diff) und der inversen GAUSS-Funktion (ig) mit  $MTT = 4,25$ ,  $CV^2 = 0,51$  und  $F = 0,15$ .

Reale Daten weisen eine Meßungenauigkeit auf. Um dies zu berücksichtigen, folgt eine MONTECARLO-Simulation mit 100 Datensätzen, die dieselben Ausgangsparameter (Tabelle 4.2) verwendet. Die erzeugten Datenpunkte werden mit einem normalverteilten Rauschen, der Meßungenauigkeit, dem das Varianzmodell (Gleichung 4.6) mit den Koeffizienten  $v_1 = v_2 = 0,1$  zu Grunde liegt, multipliziert.

$$\text{Var}(t) = (v_1 + v_2 y(t))^2 \quad (4.6)$$

mit  $y(t)$  als Funktionswert des Modells zum Zeitpunkt  $t$ .

Im Folgenden werden die Parameter wie im Abschnitt 4.1.2 für die so erzeugten Daten sowohl für das Diffusionsmodell als auch für die inversen GAUSS-Funktion geschätzt.

Die Parameter des Diffusionsmodells lassen sich mit beiden Methoden gut schätzen. Die Ergebnisse des Vergleiches zwischen den zur Simulation verwendeten und geschätzten Parametern sind in Tabelle 4.4 zusammengestellt. Der t-Test mit der Hypothese: „Die geschätzten Parameter unterscheiden sich von den zur Simulation verwendeten Werten“ ergibt, daß jene verworfen werden muß (Tabelle 4.3). Für die least-square Schätzung sind alle Irrtumswahrscheinlichkeiten des t-Tests  $p > 0,05$ , d. h. die Parameter sind nicht signifikant unterschiedlich zu den Ausgangswerten aus Tabelle 4.2. Die Irrtumswahrscheinlichkeit des t-Tests ergibt für die Diffusionskonstante  $D_m$  einen signifikanten Unterschied, wenn die Parameter mit der maximum-likelihood Methode geschätzt werden. Dies war auch schon in der Schätzung des Datensatzes ohne Rauschen der Fall. Insgesamt können die Parameter der simulierten Daten wieder gut geschätzt werden. Im Folgenden werden die Daten mit der inversen GAUSS-Funktion interpretiert.

Tabelle 4.3: Irrtumswahrscheinlichkeiten der t-Tests für die Vergleiche geschätzte Parameter zu in der Simulation verwendeten Parametern. Ein p-Wert  $\leq 0,05$  wird als signifikant betrachtet. Die signifikanten Parameter sind mit \* gekennzeichnet.

	$K_m$	$D_m$	$k_p^{ve}$	$k_p^{sc}$	$MTT$	$CV^2$
<b>Diffusionsmodell</b>						
least-square	0,54	0,57	0,10	0,46	0,26	0,17
maximum-likelihood	0,24	<0,01*	0,45	<0,01*	0,84	0,11
<b>inverse GAUSS-Funktion</b>						
least-square					0,48	0,20
maximum-likelihood					<0,01*	<0,01*

Das bedeutet: die Bestimmung der Parameter der inversen GAUSS-Funktion ist sehr stark von den einzelnen Datensätzen und den verwendeten Schätzmethoden abhängig. Tabelle 4.5 enthält die Ergebnisse der Schätzung, die zeigt, daß eine Parameterschätzung der inversen-GAUSS-Funktion nur durch die least-square-Methode erfolgen kann, da nur bei dieser die Hypothese des t-Tests (Tab.: 4.3) verworfen wird. Die Auswertung mit der maximum-likelihood-Bewertung zeigt die Schwäche der inversen GAUSS-Funktion, die in der hohen Korrelation der Parameter  $MTT$  und  $CV^2$  begründet ist. Bei der Auswertung in Tabelle 4.5 werden alle Datensätze verworfen, deren  $CV^2 > 10$  ist, da hier die hohe Korrelation zwischen  $MTT$  und  $CV^2$  zu einer Instabilität der Schätzung mit Überhöhung der Parameter führt.

Tabelle 4.4: Vergleich der Ergebnisse der Schätzung der Parameter  $K_m$ ,  $D_m$  und  $k_p^{ve}$  von 100 Datensätzen, bei denen ein normalverteilter Fehler von 10 % der Funktionswerte mit dem Diffusions-Modell simuliert wurde. Die Bestimmung der Parameter erfolgt mit der least-square- und der maximum-likelihood-Methode. Für die Schätzung werden die Datensätze des Donators und Akzeptors verwendet. Der mittlere Fehler (%ME) und die Wurzel des mittleren quadratischen Fehlers (%RMSE) sind auf die Parameter der Simulation bezogen.

	$K_m$	$D_m$	$k_p^{ve}$	$k_p^{sc}$	$MTT$	$CV^2$
in	1	$\frac{\text{cm}^2}{\text{h}}$	$\frac{\text{cm}}{\text{h}}$	$\frac{\text{cm}}{\text{h}}$	h	1
<b>Parameter</b>	<b>least-square</b>					
Mittelwert	2025	0,943	1,289	$7,00 \cdot 10^5$	4,49	0,52
Median	1930	0,550	0,489	$3,43 \cdot 10^5$	4,34	0,52
Standardabw.	407	2,511	4,698	$22,38 \cdot 10^5$	2,15	0,02
	<b>maximum-likelihood</b>					
Mittelwert	1985	0,511	0,513	$3,35 \cdot 10^5$	4,24	0,52
Median	1987	0,527	0,513	$3,44 \cdot 10^5$	4,24	0,52
Standardabw.	124	0,125	0,036	$0,77 \cdot 10^5$	0,28	< 0,01
in	%	%	%	%	%	%
<b>%ME</b>	<b>least-square</b>					
Mittelwert	1	18	153	32	6	< 1
Median	-4	-31	-4	-35	2	-1
Standardabw.	20	314	921	422	51	4
	<b>maximum-likelihood</b>					
Mittelwert	-1	-36	1	-37	< 1	-1
Median	-1	-34	1	-35	< 1	-1
Standardabw.	6	16	7	15	7	< 1
<b>%RMSE</b>	<b>least-square</b>					
Mittelwert	16	89	180	109	37	1
Median	11	32	27	38	26	1
Standardabw.	13	302	916	409	34	4
	<b>maximum-likelihood</b>					
Mittelwert	5	36	6	37	5	1
Median	4	34	4	35	4	1
Standardabw.	4	15	4	15	4	< 1

Tabelle 4.5: Vergleich der Parametern der inversen GAUSS-Funktion mit den Parametern der Simulation. Die Bestimmung der Parameter erfolgt mit der least-square- und der maximum-likelihood-Methode. Für die Schätzung werden die Datensätze von Donator und Akzeptor verwendet. Der mittlere Fehler (%ME) und der mittlere quadratische Fehler (%RMSE) sind auf die Parameter der Simulation bezogen. Mit der least-square-Methode konnten 81, mit der maximum-likelihood-Methode 77 Parametersätze bestimmt werden.

	least-square				maximum-likelihood			
	$C_{d0}$	$F$	$MTT$	$CV^2$	$C_{d0}$	$F$	$MTT$	$CV^2$
<b>Parameter</b>								
in	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$	1	h	1	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$	1	h	1
Mittelwert	99,9	0,15	4,9	0,8	100,0	0,16	10,4	3,5
Median	100,3	0,15	4,2	0,3	100,3	0,16	9,2	3,0
Standardabw.	3,0	0,02	3,0	1,3	2,6	0,01	4,9	1,8
<b>%ME</b>								
in	%	%	%	%	%	%	%	%
Mittelwert	< 1	< 1	14	58	< 1	10	145	583
Median	< 1	< 1	-1	-44	< 1	9	117	497
Standardabw.	3	12	69	253	3	9	114	360
<b>%RMSE</b>								
Mittelwert	2	9	44	146	2	11	145	583
Median	2	7	29	88	2	9	117	497
Standardabw.	2	8	55	214	1	8	114	360

### Unterscheidbarkeit der Experimente aus den innen und außen liegenden Kammern

Der t-förmige Aufbau der Halterung für die Kammern bedingt, daß die Elongation der außen liegenden Kammern größer ist als die der innen montierten. Die Messung (Abschnitt 4.1.1) der Auslenkung an den Membranen ergibt, daß die Intensität der Vibration bei Stufe 9 an der innen liegenden Kammer der Intensität der Vibration bei Stufe 8 für die außen liegende entspricht. Es wird mit einer Simulation untersucht, ob der Unterschied in der Intensität hinreichend groß ist, um den von der Intensität abhängigen Parameter  $k_p^{ve}$  signifikant zu schätzen.

Die Parameterwerte für die Permeabilität der ungerührten Schicht bei einer Intensität der Stufe 8 werden durch lineare bzw. log-lineare Interpolation aus Experimenten mit hoher und niedriger Intensität abgeleitet (Tab. 4.8). Dazu werden die Koeffizienten der Gleichungen 4.7 und 4.8 bestimmt.

$$k_p^{ve}{}_{lin}(x) = ax + b \quad (4.7)$$

$$k_p^{ve}{}_{log}(x) = a'e^{b'x} \quad (4.8)$$

Für die beiden Parameter ergeben sich die Werte  $k_p^{ve}{}_{lin} = 0,483$  und  $k_p^{ve}{}_{log} = 0,475$ . Die Parameter  $V_d$ ,  $V_a$ ,  $A$ ,  $h_m$ ,  $C_{d0}$ ,  $K_a$ ,  $K_m$  und  $D_m$  werden, wie im Abschnitt 4.1.2 gesetzt, beibehalten. Die Ergebnisse der Parameteranpassungen der Intensitätsstufe 8 sind in Tabelle 4.6 zusammengestellt. Die Ergebnisse der beiden Bestimmungen zusammengenommen (Tab. 4.4 und Tab. 4.6) bedeuten, daß selbst bei der guten Anpassung der Daten mit der Maximum-likelihood-Methode ist zu beachten, daß die Konfidenzintervalle des Parameters  $k_p^{ve}$  für alle Anpassungen durch den Bereich  $0,44 - 0,51$  gebildet werden. Wird dieser Parameter mit der Least-Square-Methode bestimmt, ist das Konfidenzintervall größer ( $0,02 - 1,01$ ). In beiden Konfidenzintervallen ist auch der Wert für  $k_p^{ve}$  bei Intensität 9 enthalten. Der Parameter läßt sich somit nicht signifikant bestimmen. Die graphische Überlappung der Standardabweichungen in Abbildung 4.7 zeigt dies auf.

Da die Schätzungen der Parameter der innen und außen liegenden Kammern nicht signifikant voneinander abweichen, können die Daten als eine gemeinsame Datenquelle verwendet werden.

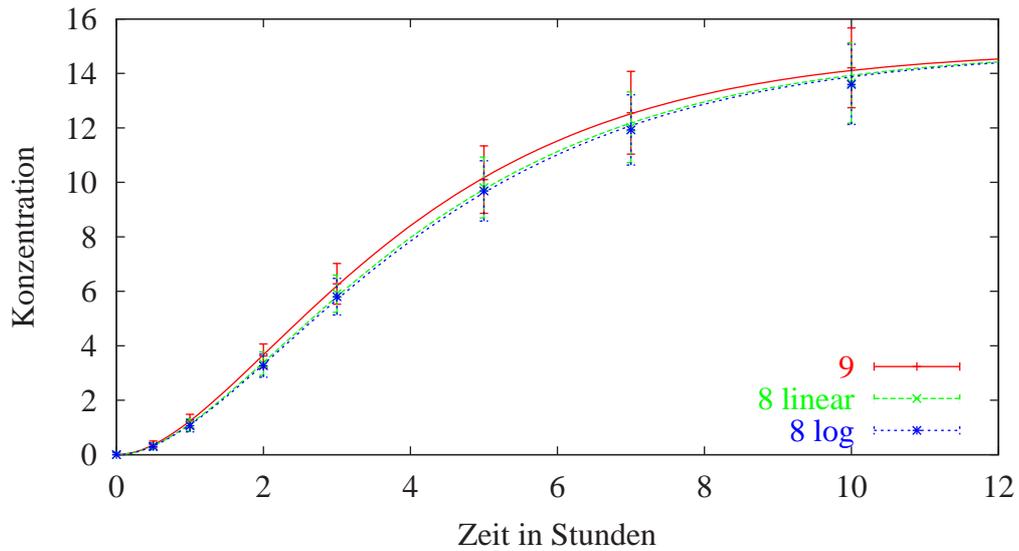


Abbildung 4.7: Vergleich der simulierten Konzentrationszeitverläufe für die Intensitätsstufen 8 und 9.

Tabelle 4.6: Vergleich der Parameterschätzungen der simulierten Daten für die Intensitätsstufe 8 des Laborrüttlers. Es werden die Parameter  $K_m$ ,  $D_m$  und  $k_p^{ve}$  geschätzt. Es sind die Mittelwerte aus 100 Simulationen aufgetragen.

	$K_m$	$D_m$	$k_p^{ve}$	$k_p^{sc}$	$MTT$	$CV^2$
in	1	$\frac{\text{cm}^2}{\text{h}}$	$\frac{\text{cm}}{\text{h}}$	$\frac{\text{cm}}{\text{h}}$	h	1
<b>linear least-square</b>						
Mittelwert	1994	0,57	0,622	$3,60 \cdot 10^5$	5,06	0,53
Median	1994	0,58	0,488	$3,71 \cdot 10^5$	4,57	0,52
Standardabw.	328	0,31	0,690	$1,82 \cdot 10^5$	2,35	0,07
<b>linear maximum-likelihood</b>						
Mittelwert	1988	0,54	0,482	$3,57 \cdot 10^5$	4,51	0,52
Median	1989	0,56	0,483	$3,66 \cdot 10^5$	4,50	0,52
Standardabw.	114	0,12	0,034	$0,75 \cdot 10^5$	0,29	0,00
<b>logarithmisch least-square</b>						
Mittelwert	1998	0,59	0,597	$3,73 \cdot 10^5$	5,12	0,52
Median	2014	0,58	0,481	$3,92 \cdot 10^5$	4,64	0,52
Standardabw.	332	0,32	0,641	$1,86 \cdot 10^5$	2,40	0,06
<b>logarithmisch maximum-likelihood</b>						
Mittelwert	1988	0,55	0,475	$3,59 \cdot 10^5$	4,58	0,52
Median	1989	0,55	0,475	$3,59 \cdot 10^5$	4,57	0,52
Standardabw.	114	0,12	0,034	$0,70 \cdot 10^5$	0,30	0,00

### 4.1.3 Optimierung des Sampling Schemas

Die für die PCB-Analyse benötigte Zeit legt nahe, die Anzahl der Proben möglichst gering zu halten. Deshalb wird das Sampling Schema mit Hilfe der Sensitivitätsanalyse (Abschnitt 3.8) auf das Diffusionsmodell (Gleichung 3.79) optimiert. Bei den Experimenten werden der Diffusionskoeffizient der Membran  $D_m$ , die Geschwindigkeitskonstante der ungerührten Schicht  $k_p^{ve}$  und der Partitionskoeffizient zwischen BSA-Puffer und Kollodium-Dodekanol Membran  $K_m$  bestimmt. Dazu wird ein Vorexperiment durchgeführt. Obwohl die Parameter  $D_m$  und  $k_p^{ve}$  sehr stark korrelieren ( $r_{D_m k_p^{ve}} = -0,91$ ), gibt es zwei ausgewiesene Zeiträume, in denen sie bestimmt werden können.  $D_m$  kann im initialen Bereich bis ca. 3 Stunden,  $k_p^{ve}$  in dem anschließenden Abschnitt von 5 bis 10 Stunden bestimmt werden. Die hohe Korrelation ist in den Abbildungen 4.8 und 4.9 an den (anti)parallelen Kruvenverläufen zu erkennen. Die Parameter lassen sich aber dennoch bestimmen, da ihre Sensitivität unterschiedlich in den entsprechenden Abschnitten ist. Der Verteilungskoeffizient ist in der Schlußphase sensitiv. Je länger das Experiment durchgeführt wird, um so besser läßt er sich bestimmen. Dies ist in Abbildung 4.9 daran zu erkennen, daß sich die Kurve streng monoton steigend dem Ende des Intervalles nähert. Hier ist ein sinnvoller Kompromiß zwischen Versuchsdauer und Meßwertgenauigkeit zu suchen. In dieser Arbeit legt die Denaturierung des BSA die maximale Versuchsdauer fest.

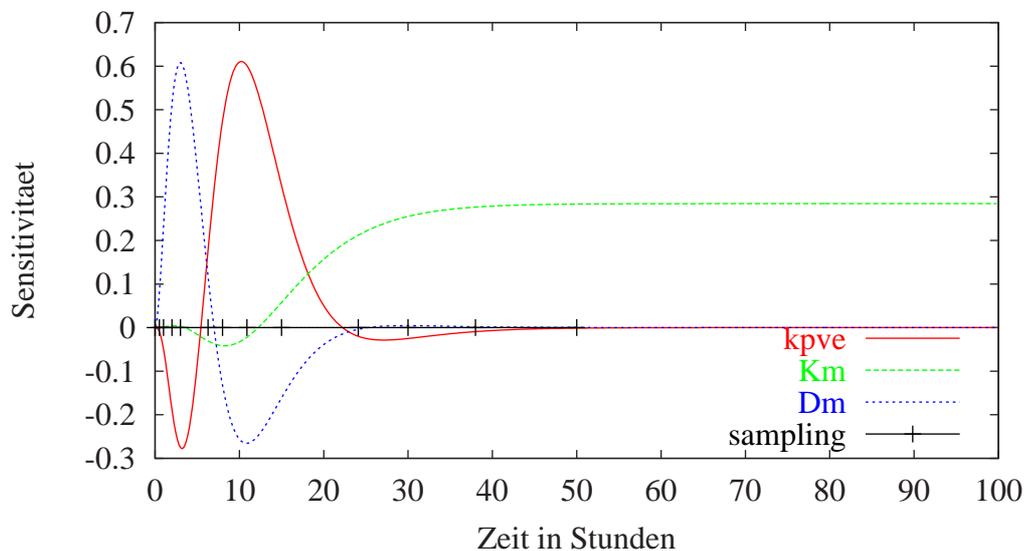


Abbildung 4.8: Parameter-Informationen-Sensitivität einer Parameteranpassung für PCB 28 mit dem Diffusionsmodell.

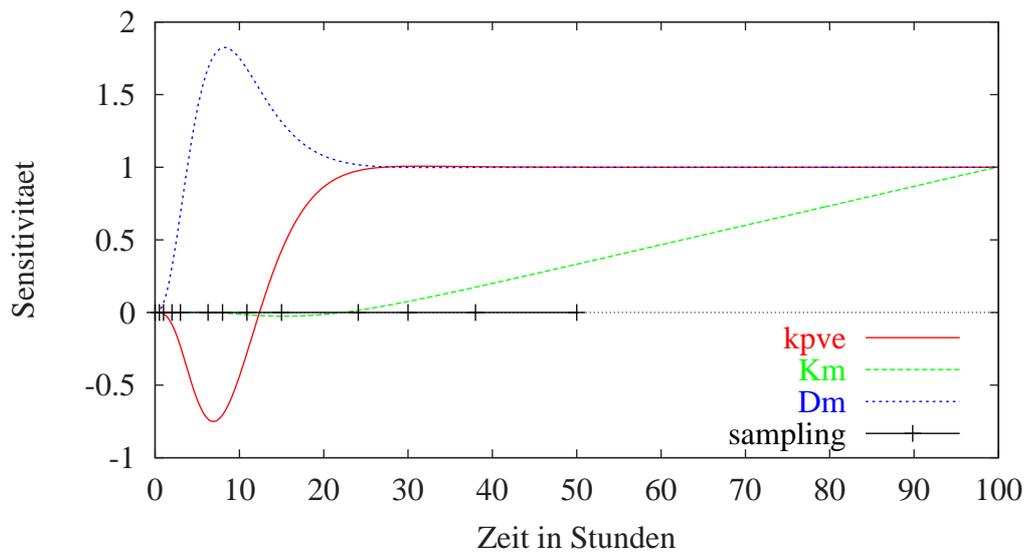


Abbildung 4.9: Generalisierte integrale Parameter-Information-Sensitivität einer Parameter Bestimmung für PCB 28 mit dem Diffusionsmodell.

#### 4.1.4 Diffusionsexperimente mit PCB

##### Invitro Experimente mit PCB

Mit den Ergebnissen aus den vorangegangenen Abschnitten werden die PCB invitro-Experimente mit einer Basislösung aus GREENSchem Puffer mit einem Zusatz von 5 % BSA durchgeführt. Die Lösung des Donators enthält zusätzlich 100 ng/mL PCB-Mix 1. Dieser besteht aus den PCB-Kongeneren 28, 52, 101, 138, 153 und 180. Es werden nur die ersten drei Kongenere ausgewertet, da die Wiederfindungsrate der höher chlorierten Biphenyle zu gering ist.

Die Versuche werden mit jeweils hoher Stufe (9) und niedriger Stufe (1) der Rüttelintensität durchgeführt.

Um die Unversehrtheit der Membran zu überprüfen, wird der Farbstoff Evans Blue in den Donator gegeben. Im Anschluß an den Versuch wird die Lösung jeder Akzeptorkammer durch eine HPLC-Analyse auf diesen Farbstoff hin untersucht. Läßt er sich nicht nachweisen, gilt die Membran als intakt.

Die Auswertung erfolgt auf verschiedene Weisen: ein direkter Vergleich der Zeitreihen, danach ein Vergleich der Ergebnisse der verschiedenen Modelle, die in den Abschnitten 3.3 bis 3.5 dargestellt sind. Parameter, die nicht in den Tabellen 4.8 und 4.9 aufgeführt sind, erhalten die in Tabelle 4.7 angegebenen Standardwerte. Die Ergebnisse des Diffusionsmodells (Gl. 3.79) sind in Tabelle 4.8 enthalten. Die Auswertung der Daten mit der inversen GAUSS-Funktion (Gl. 3.86) sind in Tabelle 4.9 aufgeführt. Die Signifikanz der Ergebnisse wird durch einen t-Test berechnet und ist in Tabelle 4.10 zusammengestellt. In den Abbildungen 4.10 bis 4.12 sind die Meßergebnisse mit dem Diffusionsmodell aufgetragen.

Tabelle 4.7: Parameter der Experimente mit PCB, die für die Parameteranpassung der mathematischen Modelle angenommen werden, falls im Text nicht anders vermerkt.

$V_a$	$V_d$	$A$	$h_m$	$C_{d0}$	$K_a$	$CV^2$
$\text{cm}^3$	$\text{cm}^3$	$\text{cm}^2$	$\mu\text{m}$	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$	1	1
20,0	20,0	15,7	30,0	100,0	1,0	0,5

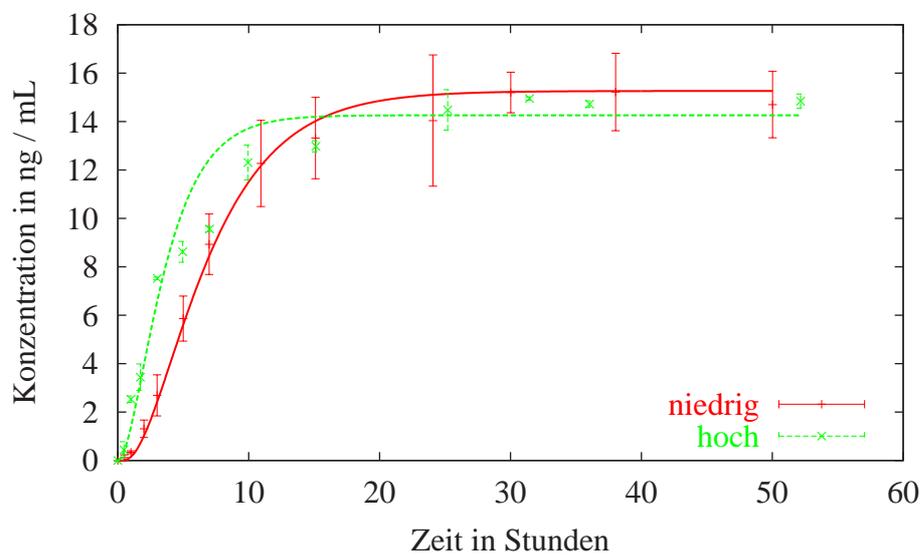


Abbildung 4.10: Vergleich der Konzentrationszeitverläufe des invitro Experiments mit PCB 28 bei hoher und niedriger Intensität. Die Standardabweichung ergibt sich aus der Mehrfachbestimmung der Probenwerte je Zeitpunkt.

Tabelle 4.8: Vergleich der Parameteranpassungen mit dem Diffusionsmodell der Diffusionsexperimente mit PCBs. Mittelwert aller Experimente, jeder Datensatz wurde einzeln angepaßt, davon der Median, Mittelwert und die Standardabweichung der Parameter. 1–6: Anpassung aller Daten mit einer Modellfunktion. g: gleichzeitig Anpassung der hohen und niedrigen Intensität.

	$h_m$ $\mu\text{m}$	$C_{d0}$ $\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$	$K_m$ 1	$D_m$ $\frac{\text{cm}^2}{\text{h}}$	$k_p^{ve}$ $\frac{\text{cm}}{\text{h}}$	$k_p^{sc}$ $\frac{\text{cm}}{\text{h}}$	$MTT$ h	$CV^2$ 1
<b>PCB 28</b>								
hohe Intensität								
Mittelwert	32,9		1690	0,88	0,51	$4,44 \cdot 10^5$	4,4	0,52
Median	32,9		1638	0,72	0,54	$3,80 \cdot 10^5$	4,1	0,52
Standardabw.	0,5		80	0,15	0,04	$6,12 \cdot 10^4$	0,3	< 0,01
1–6g		99,4	1410	1,20	0,43	$5,62 \cdot 10^5$	4,8	0,53
niedrige Intensität								
7+8g		99,4	1410	1,20	0,21	$5,62 \cdot 10^5$	9,8	0,53
Mittelwert	30,7		2098	0,77	0,30	$5,41 \cdot 10^5$	7,5	0,51
Standardabw.	0,4		185	0,10	0,02	$1,91 \cdot 10^5$	0,4	< 0,01
<b>PCB 52</b>								
hohe Intensität								
Mittelwert			3414	0,30	0,69	$3,17 \cdot 10^5$	3,5	0,51
Median			3182	0,35	0,76	$3,19 \cdot 10^5$	3,1	0,51
Standardabw.			309	0,05	0,06	$6,45 \cdot 10^4$	0,3	< 0,01
1–6g		112,8	2596	0,50	1,05	$4,29 \cdot 10^5$	2,1	0,51
niedrige Intensität								
7+8g		112,8	2596	0,50	0,26	$4,29 \cdot 10^5$	8,6	0,51
Mittelwert			4142	0,55	0,4	$7,05 \cdot 10^5$	5,9	0,50
Standardabw.			232	0,18	0,01	$1,90 \cdot 10^5$	0,1	< 0,01
<b>PCB 101</b>								
hohe Intensität								
Mittelwert			10907	0,84	0,57	$2,62 \cdot 10^6$	4,7	0,50
Median			10155	0,69	0,60	$1,95 \cdot 10^6$	4,2	0,50
Standardabw.			1159	0,29	0,06	$9,37 \cdot 10^5$	0,5	< 0,01
1–6g			10000	0,17	0,36	$5,67 \cdot 10^5$	6,9	0,50
niedrige Intensität								
7+8g			10000	0,17	0,15	$5,67 \cdot 10^5$	16,2	0,50
Mittelwert			15590	0,26	0,20	$1,34 \cdot 10^6$	19,4	0,50
Standardabw.			417	0,18	0,08	$9,34 \cdot 10^5$	8,1	< 0,01

Tabelle 4.9: Vergleich der Parameteranpassungen mit der inversen GAUSS-Funktion der Diffusionsexperimente mit PCBs. Mittelwert aller Experimente, jeder Datensatz wurde einzeln angepaßt, davon der Median, Mittelwert und die Standardabweichung der Parameter. 1–6: Anpassung aller Daten mit einer Modellfunktion. g: gleichzeitig Anpassung der hohen und niedrigen Intensität.

Ergebnis der Diffusionsexperimente mit PCBs, ausgewertet mit der IGkum.

	PCB 28		PCB 52		PCB 101	
hohe Intensität						
	<i>MTT</i>	<i>F</i>	<i>MTT</i>	<i>F</i>	<i>MTT</i>	<i>F</i>
	h		h		h	
Mittelwert	7,8	0,18	5,6	0,11	11,8	0,05
Median	7,9	0,17	5,1	0,11	7,7	0,05
Standardabw.	0,6	0,003	0,6	0,005	4,2	0,005
1–6	4,6	0,14	4,6	0,09	3,7	0,02
niedrige Intensität						
7+8g	7,1	0,14	10,8	0,09	13,3	0,02
Mittelwert	9,3	0,16	6,7	0,09	12,5	0,03
Standardabw.	0,1	0,004	0,3	0,004	1,8	0,004

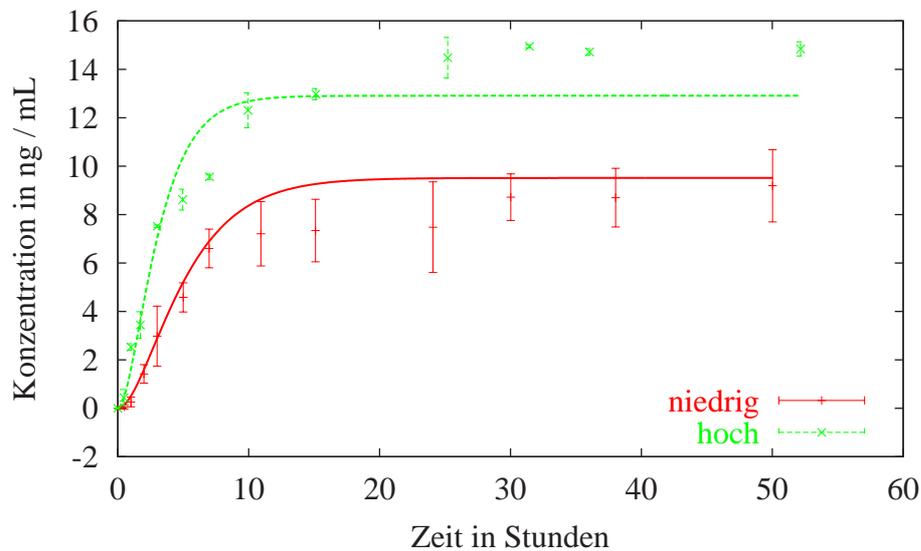


Abbildung 4.11: Vergleich der Konzentrationszeitverläufe des invitro Experiments mit PCB 52 bei hoher und niedriger Intensität. Die Standardabweichung ergibt sich aus der Mehrfachbestimmung der Probenwerte je Zeitpunkt.

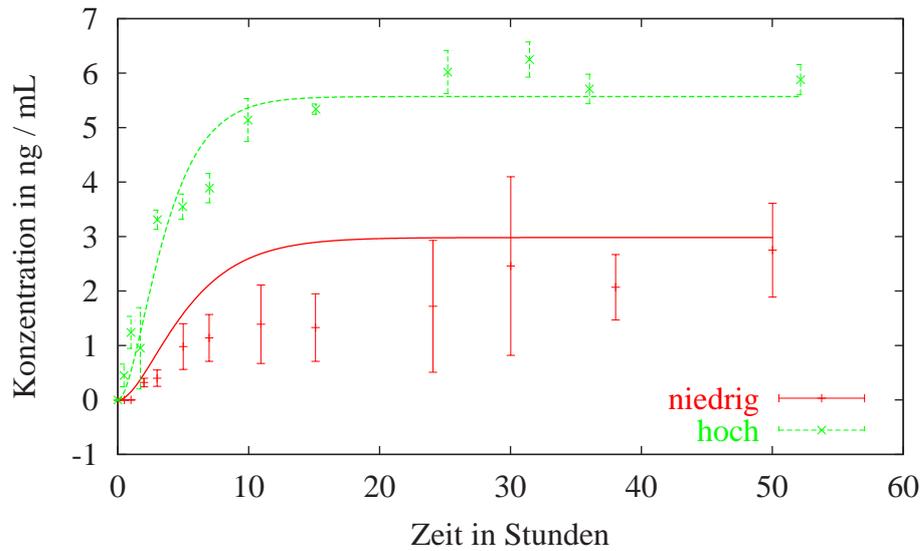


Abbildung 4.12: Vergleich der Konzentrationszeitverläufe des invitro Experiments mit PCB 101 bei hoher und niedriger Intensität. Die Standardabweichung ergibt sich aus der Mehrfachbestimmung der Probenwerte je Zeitpunkt.

Tabelle 4.10: t-Test der einzelnen Parameter des Diffusionsmodells zwischen den verschiedenen Randbedingungen und den verschiedenen PCB. Ein p-Wert  $\leq 0,05$  wird als signifikant betrachtet. Die sich signifikant unterscheidenden Parameter sind mit \* gekennzeichnet.

<b>t-Test zwischen den verschiedenen Versuchen mit unterschiedlichem Chlorierungsgrad</b>						
	$K_m$	$D_m$	$k_p^{ve}$	$k_p^{sc}$	$MTT$	$CV^2$
<b>hohe Intensität</b>						
<b>28 vs. 52</b>	0,003*	0,014*	0,032*	0,224	0,101	0,002*
<b>28 vs. 101</b>	0,001*	0,906	0,437	0,088	0,664	<0,001*
<b>52 vs. 101</b>	0,001*	0,152	0,206	0,075	0,115	0,025*
<b>niedrige Intensität</b>						
<b>28 vs. 52</b>	0,044*	0,540	0,112	0,665	0,205	0,016*
<b>28 vs. 101</b>	0,011*	0,251	0,541	0,656	0,489	0,017*
<b>52 vs. 101</b>	0,009*	0,500	0,324	0,719	0,448	0,293
<b>t-Test zwischen den verschiedenen Versuchen mit gleichem Chlorierungsgrad und unterschiedlicher Intensität</b>						
<b>28</b>	0,345	0,622	0,005*	0,667	0,060	0,363
<b>52</b>	0,208	0,507	0,005*	0,375	0,001*	0,032*
<b>101</b>	0,016*	0,216	0,124	0,502	0,422	0,205

### Vergleich der Datenreihen

Als erstes werden die experimentell erhaltenen Daten des PCB 28 Kongeners durch eine multivariante Varianzanalyse für Meßwertwiederholungen (repeat = 7) beurteilt. Sie zeigt beim Vergleich der Gruppen zwischen den innen und außen liegenden Kammern bei hoher Intensität keinen Unterschied ( $p = 0,958$ ). Der Versuch mit niedriger Intensität unterscheidet sich zwar von dem mit hoher Intensität im Anstieg der Kurve mit  $p = 0,073$ . Jedoch kann keine Signifikanz festgestellt werden.

### Vergleich der Parameteranpassungen

Die Resultate der Parameteranpassung mit dem Diffusionsmodell belegen einen signifikanten Unterschied der Permeabilität  $k_p^{ve}$  der ungerührten Schicht für die PCB Kongenere 28 und 52 zwischen niedriger und hoher Intensität, wenn die Parameter der Experimente jeweils für sich geschätzt werden. Werden jeweils die Daten der Experimente mit hoher und mit niedriger Intensität zusammengefaßt und erneut unter der Annahme, daß die Diffusionskonstante  $D_m$  und Partitionskoeffizient  $K_m$  für hohe und niedrige Intensität gleich sind, geschätzt (Tabelle 4.8 jeweils die Zeilen 1–6g und 7+8g), sind die Permeabilitätskoeffizienten  $k_p^{ve_h}$  und  $k_p^{ve_n}$  sowie die mittleren Transitzeiten signifikant unterschiedlich. Dies zeigt sich in den disjunkten Konfidenzintervallen der Parameter ( $k_p^{ve28_h}$ : [0,40, 0,45],  $k_p^{ve28_n}$ : [0,20, 0,22],  $MTT_h^{28}$ : [4,5, 5,1],  $MTT_n^{28}$ : [9,3, 10,3],  $k_p^{ve52_h}$ : [0,97, 1,12],  $k_p^{ve52_n}$ : [0,25, 0,28],  $MTT_h^{52}$ : [2,0, 2,3] und  $MTT_n^{52}$ : [8,1, 9,0]).

Der Unterschied zwischen den innen und außen liegenden Kammern (Experimente 3 und 6 versus Experimente 4 und 5), den die Messung der Rüttelintensität ergab (vgl. Abschnitt 4.1.1), kann nicht am Parameter der ungerührten Schicht beobachtet werden. Eine Simulation (Abschnitt 4.1.2) mit dem ANISSIMOV-Modell zeigt, daß der Unterschied zwischen den innen und außen liegenden Kammern nicht bestimmt werden kann (vgl. Tabelle 4.6). Dies steht in gutem Einklang mit der Auswertung in Abschnitt 4.1.4.

Die Daten der Versuche 3–6 werden nach dem fünften bzw. zehnten Zeitpunkt in der Konzentration korrigiert, da hier eine Verdünnung der Proben für die Analyse<sup>1</sup> erfolgen muß. Es werden die Proben mit niedrigerer Konzentration in der gleichen Verdünnung gemessen und daraus ein Korrekturfaktor bestimmt.

Zwischen hoher und niedriger Intensität wird eine Veränderung der mittleren Transitzeit ( $MTT$ ) um den Faktor 2,04 für PCB 28, 4,01 für PCB 52 und 2,34 für PCB 101 ermittelt. Die Parameterschätzung liefert einen Partitionskoeffizienten zwischen der BSA-Lösung und der Kollodium-Membran von 1400 für PCB 28, 2600 für PCB 52 und 10000 für PCB 101. Der Diffusionskoeffizient ( $D_m$ ) der Membran erniedrigt sich um den Faktor ein Drittel von den niedrig chlorierten PCBs zu den hoch chlorierten PCBs, was einer schnelleren Passage der Membran entspricht. In Tabelle 4.10 sind die Signifikanzen des Unterschieds zwischen hoher

<sup>1</sup>Es wird bei einer anderen Auflösung gemessen.

und niedriger Intensität enthalten. Es zeigen sich nur signifikante Unterschiede in den Parametern  $MTT$  und  $k_p^{ve}$ . Die restlichen Parameter dürfen sich bei einer Änderung der Rüttelintensität nicht unterscheiden. Die Annahme, daß durch die Rüttelintensität also nur die ungerührte Schicht beeinflußt wird, ist damit bestätigt.

Die Anpassung der Daten mit der kumulativen inversen GAUSS-Funktion (Gleichung 3.86) liefert sehr stark variierende Ergebnisse. Die mittlere Transitzeit  $MTT$  ist sowohl mit der Verfügbarkeit  $F$  als auch mit der relativen Dispersion  $CV^2$  korreliert. Die hohe Korrelation der Parameter der kumulativen inversen GAUSS-Funktion ist auch sehr gut in der Sensitivitätsanalyse (vgl. Abb. 4.20) zu sehen.

Die beste Schätzung gelingt bei der gleichzeitigen Anpassung mit hoher und niedriger Intensität. Hier stimmen die berechneten Werte der  $MTT$  auch gut mit dem Diffusionsmodell (Gleichung 3.83) überein. Bei den einzelnen Schätzungen wird der Parameter  $F$  für das Kongener 28 zu hoch geschätzt, legt man zugrunde, daß die steady-state Konzentration erreicht ist. Entsprechend wird auch die  $MTT$  höher geschätzt. Für die Kongenere 52 und 101 wird  $F$  zu gering geschätzt, so daß die  $MTT$  kleiner ausfällt. Ist der steady-state Zustand im Experiment jedoch erreicht oder der Wert der Verfügbarkeit aus einer anderen Quelle vorhanden, läßt sich mit der kumulativen inversen GAUSS-Funktion eine sehr gute und einfache Anpassung vornehmen.

#### 4.1.5 Diffusionsexperimente mit Diclofenac

Es werden drei verschiedene Gruppen von Diffusionsexperimenten durchgeführt. Sie unterscheiden sich in der Zusammensetzung der Lösungen, die alle als Grundlage den Puffer nach GREEN haben. Die erste Lösung, BSA fünfprozentig, entspricht der Lösung, die auch in den PCB Experimenten (Abschnitt 4.1.4) verwendet wurde. Die andere Lösung enthält Gallensalze und bildet Mizellen (vgl. Schwarz, M. A. (1998)).

Folgende Kombinationen werden durchgeführt: Donatorlösung BSA, Akzeptorlösung BSA; Donatorlösung Mizellen, Akzeptorlösung BSA; Donatorlösung Mizellen, Akzeptorlösung Mizellen. Im Folgenden werden sie durch BSA–BSA, Miz–BSA und Miz–Miz abgekürzt.

##### Diffusion von Diclofenac aus einer präparierten Membran

Um ein vereinfachtes Modell zu erreichen, werden Membranen hergestellt, die Diclofenac in einer definierten Konzentration enthalten. Gleichzeitig werden sie als Kalibration für die photoakustischen Messungen (Kapitel 4.1.9) verwendet. Es gelang nicht, die Membranen mit einer ausreichenden Homogenität herzustellen, was sich durch ihr unterschiedliches Abgabeverhalten für Diclofenac zeigt. Diese Inhomogenität ist sehr gut in der Mikroskopaufnahme (Abbildung 4.13) zu erkennen. In die beiden angrenzenden Kammern wurde eine unterschiedliche Menge Diclofenac abgegeben (Abb. 4.14). Die Kontrolle der aufgelösten Membranen ergab jedoch die eingesetzte Konzentration.

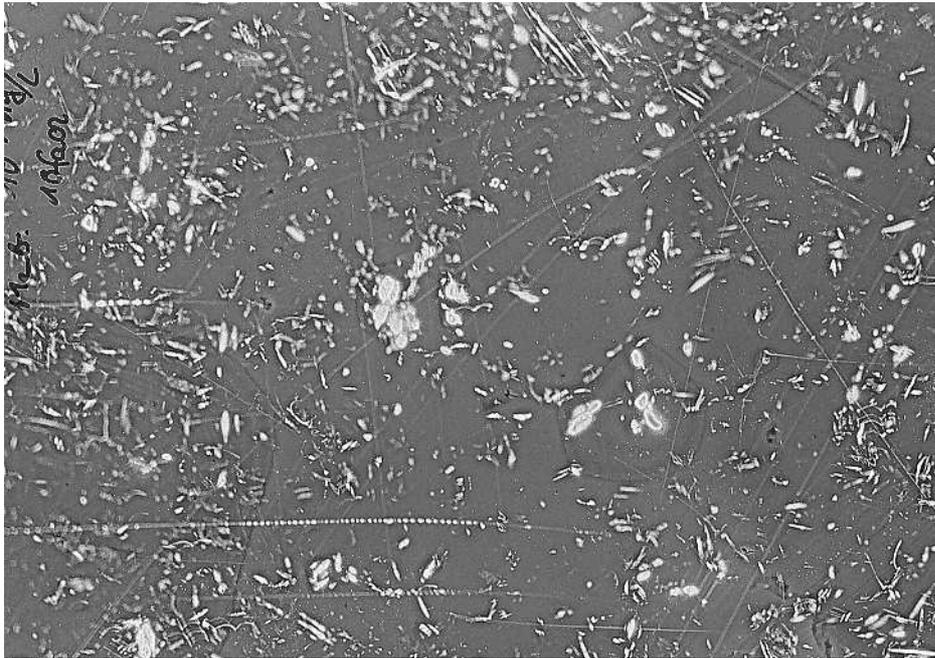


Abbildung 4.13: Aufnahme einer mit Diclofenac präparierten Membran. Die Menge des in die Membran gegebenen Diclofenacs entspricht einer Ausgangskonzentration von  $10^4$  ng/mL. Die Aufnahme ist bei 10-facher Vergrößerung erstellt.

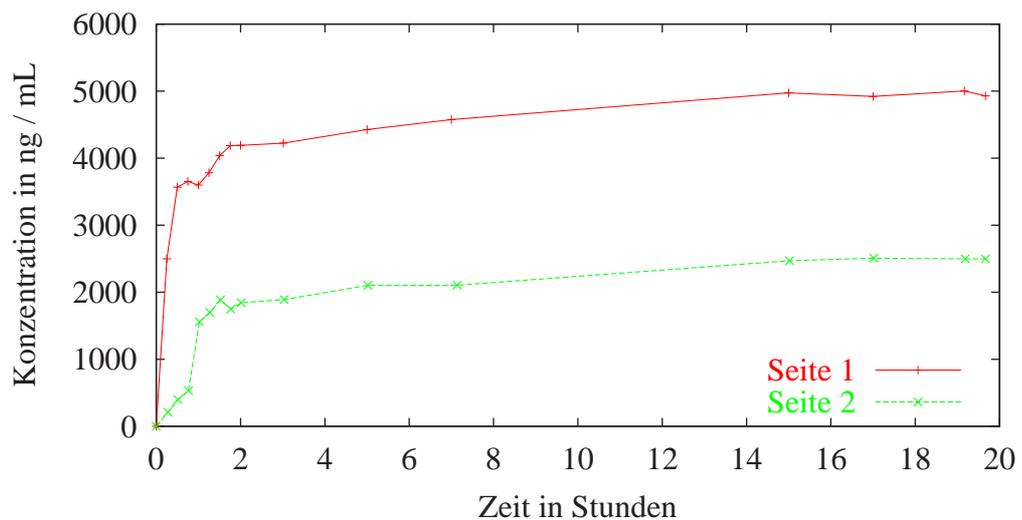


Abbildung 4.14: Konzentrationszeitkurven in den beiden Kammerhälften bei Diffusion aus der mit Diclofenac präparierten Membran

### Invitro Experimente mit Diclofenac

Die Auswertung der invitro Experimente mit Diclofenac erfolgte mit den Kompartimentmodellen (Gl. 3.44 bzw. 3.48), der inversen GAUSS-Funktion (Gl. 3.86) und dem Diffusionsmodell (Gl. 3.79). Parameter, die nicht geschätzt werden, sind in Tabelle 4.11 zusammengestellt. Die Schätzung der Parameter erfolgte jeweils mit den Daten von Donator und Akzeptor. Für die Kompartiment-Modelle (Experimente BSA–BSA und Miz–Miz) wurden die Transferkonstanten der Membran  $k_m$  und die Ausgangskonzentration  $C_{d0}$  mit dem maximum-likelihood Verfahren geschätzt (Tabelle 4.12). Bei den Miz–BSA Experimenten wurden die Transferkonstanten der Membran  $k_m$  und die Freisetzung aus dem BSA-Kompartiment  $k_s$  geschätzt. Die Aufnahme in das BSA-Kompartiment wird auf den konstanten Wert  $k_f = 100$  gesetzt. Die inverse GAUSS-Funktion wurde unter der Annahme  $CV^2 = 1$  mit dem least-square Verfahren geschätzt. Für die BSA–BSA Experimente wird zusätzlich auf Grund des symmetrischen Aufbaues eine Verfügbarkeit  $F = 0,5$  angenommen (Tabelle 4.13). Die Ergebnisse des Diffusionsmodells sind in Tabelle 4.14 zusammengestellt. Die Ausgangskonzentration  $C_{d0}$ , die Partitionskoeffizienten  $K_a$ ,  $K_m$ , die Diffusionskonstante der Membran und der Permeabilitätskoeffizienten der ungerührten Schicht  $k_p^{ve}$  werden geschätzt. Die Abbildungen 4.15, 4.16 und 4.17 zeigen

Tabelle 4.11: Parameter der Experimente mit Diclofenac, die für die Parameteranpassung mit den mathematischen Modellen angenommen werden, falls im Text nicht anders vermerkt.

	$V_a$	$V_d$	$A$	$h_m$	$C_{d0}$	$K_a$	$D_m$	$k_p^{ve}$	$CV^2$	$F$
	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>2</sup>	μm	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$	1	$\frac{\text{cm}^2}{\text{h}}$	$\frac{\text{cm}}{\text{h}}$	1	1
BSA–BSA										
Miz–Miz	20,0	20,0	15,7	30	10000	1,0	0,002	10000	1,0	0,5
Miz–BSA	20,0	20,0	15,7	30	10000	33,0	0,002	10000	1,0	0,97

Tabelle 4.12: Vergleich der mittleren Transitzeit  $MTT$  von Diclofenac in den drei verschiedenen Versuchsanordnungen. Die Auswertung erfolgt für die symmetrischen Anordnungen mit einem 2-Kompartimentmodell, für den Fall Mizelle–BSA mit einem 3-Kompartimentmodell.

	BSA–BSA			Miz–BSA		Miz–Miz		
	$C_{d0}$	k	$MTT$	k	$MTT$	$C_{d0}$	k	$MTT$
	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$	$\frac{1}{\text{h}}$	h	$\frac{1}{\text{h}}$	h	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$	$\frac{1}{\text{h}}$	h
Mittelwert	10548	0,0043	130	0,27	3,7	9885	0,059	8,6
Standardabw.	1241	0,0018	41	0,08	1,4	488	0,008	1,0

Tabelle 4.13: Vergleich der mittleren Transitzeit  $MTT$  von Diclofenac in den drei verschiedenen Versuchsanordnungen. Die Auswertung erfolgt mit der kumulativen inversen GAUSS-Funktion.

	<b>BSA–BSA</b>		<b>Miz–BSA</b>			<b>Miz–Miz</b>		
	$C_{d0}$	$MTT$	$C_{d0}$	$MTT$	$F$	$C_{d0}$	$MTT$	$F$
	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$	h	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$	h	1	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$	h	1
Mittelwert	10433	120	10171	3,8	0,97	9683	8,5	0,49
Standardabw.	1180	34	1050	1,3	0,01	482	1,1	0,02

exemplarisch die experimentellen Daten und den Graphen des Diffusionsmodells, der mit den geschätzten Parametern berechnet ist, in den drei verschiedenen Versuchsanordnungen.

Tabelle 4.14: Vergleich der Experimente mit Diclofenac, ausgewertet mit dem Diffusionsmodell

	$K_a$	$K_m$	$D_m$	$k_p^{ve}$	$k_p^{sc}$	$MTT$	$CV^2$
	1	1	$\frac{\text{cm}^2}{\text{h}}$	$\frac{\text{cm}}{\text{h}}$	$\frac{\text{cm}}{\text{h}}$	h	1
<b>BSA–BSA</b>							
Mittelwert		0,0074	0,0025		0,0055	130,6	1,00
Standardabweichung		0,0029	0,0013		0,0024	42,9	<0,01
<b>Miz–BSA</b>							
Mittelwert	33,1	0,7	0,0017	11004	0,4	3,7	1,00
Standardabweichung	3,7	0,1	0,0009	2847	0,1	1,1	<0,01
<b>Miz–Miz</b>							
Mittelwert	0,96	0,11		8755	0,076	8,3	1,00
Standardabweichung	0,09	0,01		1860	0,008	0,6	<0,01

#### 4.1.6 Auswertung der Experimente mit Diclofenac

##### Vereinfachtes Diffusionsexperiment

Die Vereinfachung des Experiments, den Wirkstoff in die Membran einzubringen, ist für polare Pharmaka wie Diclofenac nicht zulässig, denn, wie in Abbildung 4.14 zu erkennen ist, erfolgt die Diffusion aus der Membran in das Medium nicht symmetrisch, wie es bei einer homogenen Membran der Fall sein muß. Diese Inhomogenitäten sind gut im Mikroskopbild zu erkennen

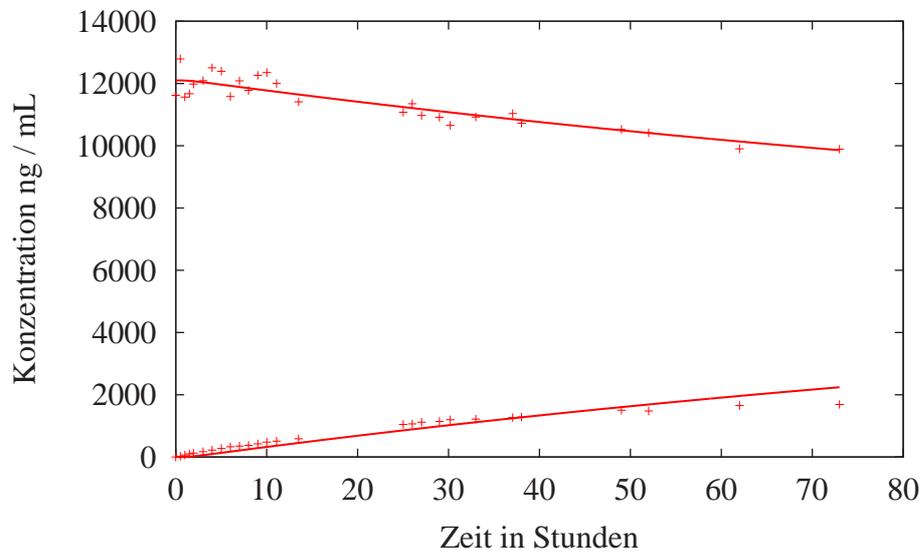


Abbildung 4.15: Konzentrationszeitkurven in Donator und Akzeptor unter der Randbedingung  $BSA \Rightarrow BSA$ .

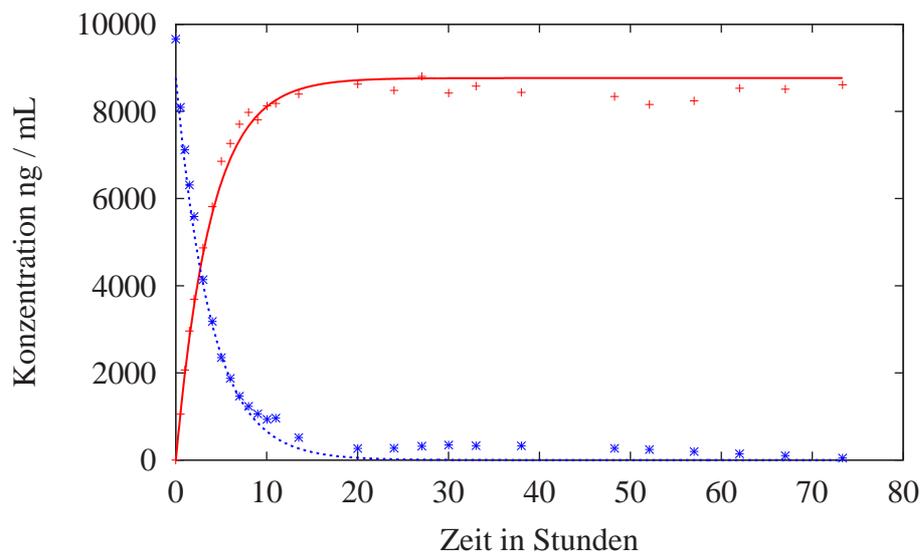


Abbildung 4.16: Konzentrationszeitkurven in Donator und Akzeptor unter der Randbedingung  $Miz \Rightarrow BSA$ .

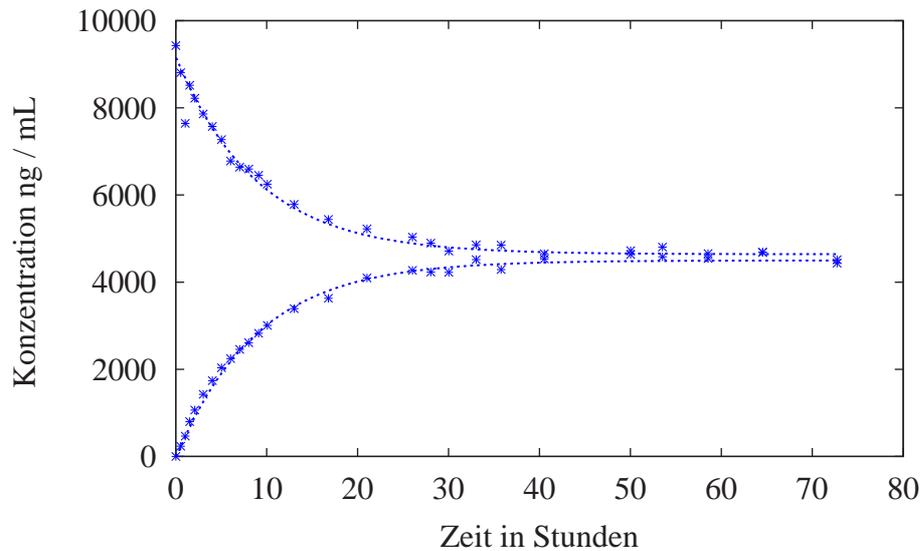


Abbildung 4.17: Konzentrationszeitkurven in Donator und Akzeptor unter der Randbedingung  $Miz \Rightarrow Miz$ .

(Abb. 4.13). Es kann ausgeschlossen werden, daß ein Teil des Diclofenacs bei der Herstellung der Membranen bereits verloren gegangen ist, da bei der Analyse einer nicht im Versuch verwendeten Membran, im Rahmen der Meßgenauigkeit, die eingesetzte Menge des Pharmakons wiedergefunden wurde.

### Diffusion von Diclofenac durch Dodekanol–Kollodium–Membranen

Die mittlere Transitzeit  $MTT$  und die Ausgangskonzentration lassen sich mit allen drei verwendeten mathematischen Modellen bestimmen. Ein paarweise durchgeführter t-Test zwischen den verschiedenen mathematischen Modellen ergibt Irrtumswahrscheinlichkeiten  $p > 0,05$ , d. h. mit jedem Modell lassen sich diese Parameter der Versuchsanordnung in gleicher Qualität bestimmen. Das Diffusionsmodell bietet zusätzlich jedoch die Möglichkeit, auch die Diffusionskonstante der Membran  $D_m$  für Diclofenac zu berechnen.

Damit die Auswertung mit der inversen GAUSS-Funktion durchgeführt werden kann, muß als Randbedingung das Intervall für die relative Dispersion  $CV^2$  bekannt sein.

Ein Unterschied in der ungerührten Schicht konnte für Diclofenac nicht festgestellt werden. Die Permeabilität der Membran  $k_p^{sc}$  ist mindestens fünf Größenordnungen kleiner als die Permeabilität der ungerührten Schicht  $k_p^{ve}$ , woraus folgt, daß die Membran die geschwindigkeitsbestimmende Schicht ist.

### 4.1.7 Vergleich der Diffusion von PCB und Diclofenac

Die Diffusion des Diclofenacs unterscheidet sich wesentlich von der der PCBs. Das polare und sehr stark an das BSA gebundene Diclofenac kann in diesen Experimenten mit einem 1-Schichtsystem beschrieben werden. Die ungerührte Schicht vor der Membran stellt für hydrophile Diclofenac keine zusätzliche Barriere dar. Für die extrem lipophilen PCB-Kongeneren bildet die ungerührte Schicht die die Diffusion bestimmende Schicht, wie der Unterschied zwischen hoher und niedriger Rüttelintensität gezeigt hat.

### 4.1.8 In vivo Pilotexperimente mit PCB

An Kaninchen (Rasse: Weiße Neuseeländer (NZW)) wird der Konzentrationszeitverlauf im Blutplasma für die PCB-Kongeneren 28 und 101 bestimmt. Die Experimente werden in gleicher Weise durchgeführt wie bei Kuhlmann, O. u. a. (2000). Dafür wurde demselben Kaninchen jeweils einmal die PCB in Mizelle mit Olivenöl und Wasser mit Olivenöl im Abstand von 3 Wochen appliziert. Es zeigt sich kein Unterschied in der oralen Aufnahme der PCB zwischen Mizelle mit Olivenöl und in Wasser mit Olivenöl. Die Auswertung der in vivo Konzentrationszeitkurven (Abb. 4.18 und 4.19) erfolgt numerisch. Es wurde ein Algorithmus nach Purves (1992a,b,c) für die Extrapolation des Konzentrationszeitverlaufs nach unendlich verwendet. Für die ersten beiden Experimente wurden die letzten 7 Datenpunkte und für das dritte die letzten 3 Datenpunkte für die Extrapolation verwendet. Danach wurde eine numerische Integration der Kurven vorgenommen. Die Ergebnisse der Parameterbestimmung für  $AUC$ ,  $MRT$ ,  $CV^2$  und  $CL/F$  sind in Tabelle 4.15 aufgeführt.

Schon die wenigen Experimente zeigen große Abweichungen sowohl zwischen den beiden PCB-Kongeneren als auch zwischen den Experimenten. Eine ähnlich große Streuung weisen auch die Experimente mit Diclofenac bei Kuhlmann, O. u. a. (2000) auf. Aus den in dieser Arbeit vorgestellten Daten läßt sich ableiten, daß aus der Plasmakonzentration nicht auf das Langzeitverhalten der PCB, insbesondere die Anreicherung im Gewebe der Kaninchen, geschlossen werden kann. Die hohen intra-individuellen Abweichungen führten zum Abbruch der Versuche.

### 4.1.9 Bestimmung des Substanzgehalts unter Anwendung des photoakustischen Effektes

Die photoakustische Spektroskopie zeichnet sich durch einen geringen Präparationsaufwand aus (z. B. Brunn (1987) und Zharov, V. P. und Letokhov, V. S. (1986)). Mit ihr lassen sich die Anteile messen, die bei der lichtmikroskopischen Untersuchung streuen, wie dies bei den hier verwendeten Membranen der Fall ist.

Tabelle 4.15: Die ersten drei Momente der *in vivo* Experimente an Kaninchen nach oraler Gabe der PCB-Kongenere 28 und 101. Diese wurden in Wasser und in Olivenöl gelöst.

	PCB 28				PCB 101			
	<i>AUC</i>	<i>MRT</i>	<i>CV</i> <sup>2</sup>	<i>CL/F</i>	<i>AUC</i>	<i>MRT</i>	<i>CV</i> <sup>2</sup>	<i>CL/F</i>
	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}} \cdot \text{min}$	min		$\frac{\text{mL}}{\text{min}}$	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}} \cdot \text{min}$	min		$\frac{\text{mL}}{\text{min}}$
1	1219500	4727	1,9	11,9	4930000	7544	3,0	3,0
2	6744000	34688	1,1	2,2	5250054	15154	1,9	3,8
3	999140	10981	0,9	14,6	1514600	9752	1,1	9,6
Mittel	4104889	16799	1,3	9,6	4701645	10816	2,0	5,4
norm Stabw.	1,09	0,94	0,39	0,68	0,51	0,36	0,48	0,66

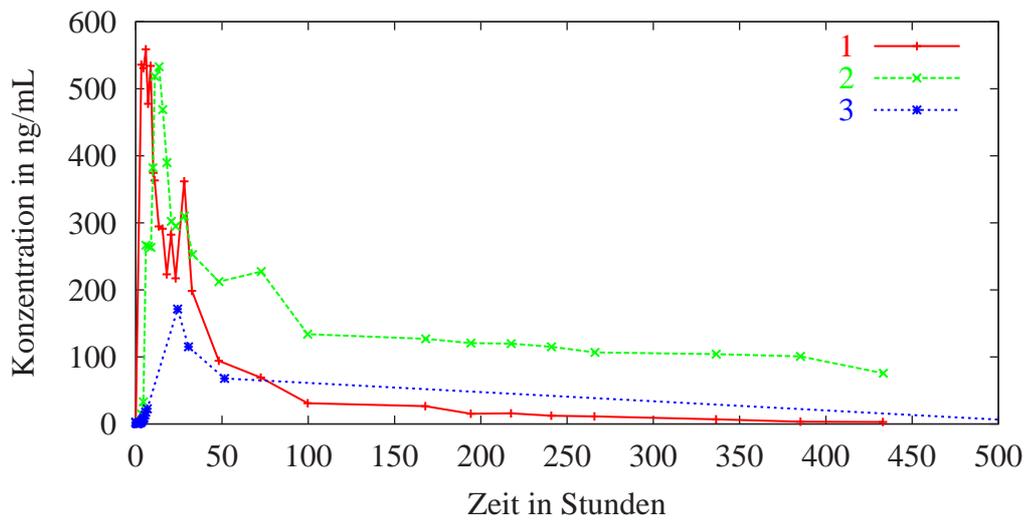


Abbildung 4.18: Konzentrationszeitkurve der *in vivo* Experimente mit PCB 28

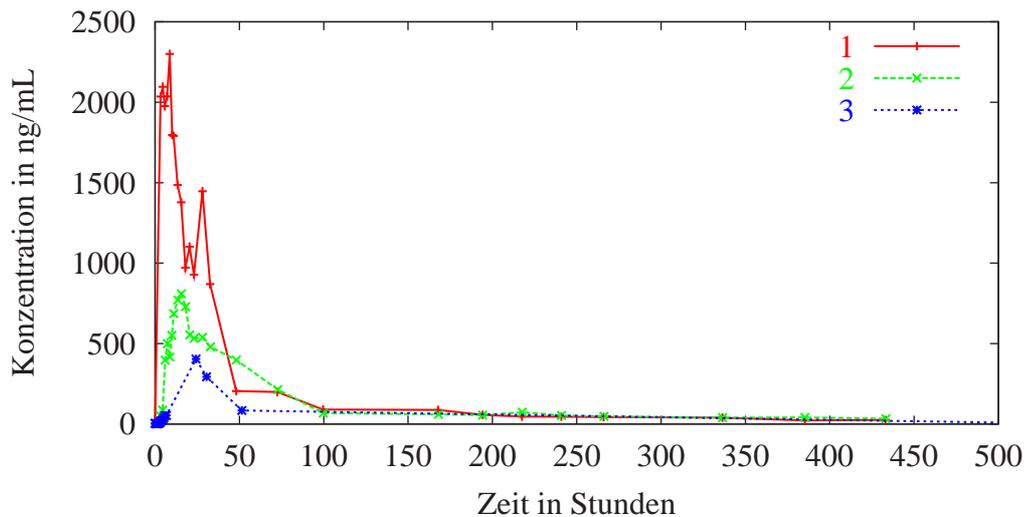


Abbildung 4.19: Konzentrationszeitkurve der *in vivo* Experimente mit PCB 101

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, die Membranen nach dem *in vitro* Diffusionsversuch auf den Gehalt des Pharmakons über die photoakustische Infrarot-Spektroskopie zu untersuchen. Als Vergleichswerte für die untersuchten Membranen wurden zusätzlich die Spektren der Bestandteile des Puffers, Diclofenac, BSA und eine Membran direkt nach der Herstellung sowie eine Membran, mit der ein Blindversuch durchgeführt wurde, aufgenommen. Beide Kammern der Versuchsanordnung wurden für den Blindversuch mit BSA-Puffer gefüllt.

Die einfachsten Vergleiche zweier Spektren werden durch deren Differenz oder Quotienten gegeben. Bereiche, die sich nach dem Bilden des Quotienten um den Faktor 1,5 unterscheiden, wurden in die Auswertung einbezogen. Es werden keine solche Abschnitte weder für Diclofenac noch bei den PCB beobachtet. Auch der zusätzliche Vergleich mit Membranen eines Blindversuches enthält keinen Bereich, der ausreichend Informationen beinhaltet.

Wegen der großen Anzahl verwendeter Substanzen im Versuch (Puffer, BSA, Wirkstoff, Bestandteile der Membran) ist eine Auswertung der Spektren auch nach der Bildung der Korrelationsfunktion nicht möglich.

## 4.2 Analyse und Optimierung des experimentellen Designs

Die folgenden Abschnitte führen die mathematische Analysemöglichkeiten weiter aus. Am Beispiel einer Analyse publizierter Daten von Bioverfügbarkeitsstudien wird gezeigt, daß die dort gewonnenen Ergebnisse in gleicher Qualität auch mit weniger Datenpunkte erhalten werden können. Um die Aussagen auf eine breitere Datenbasis zu stellen, folgen noch zwei Studien mit simulierten Daten, die auf den Daten der *in vivo* Bioverfügbarkeitsstudie beruhen. Die erste Simulation untersucht den Einfluß eines Meßwertfehlers auf die zuvor aufgestellte These. Die zweite beinhaltet eine zusätzliche Variation der pharmakokinetischen Parameter.

### 4.2.1 Bioverfügbarkeitsstudie

Die erste Untersuchung wurde von Lötsch, J. u. a. (1999) durchgeführt. In der Studie wurde Morphin sowohl i. v. als auch p. o. an sechs gesunden Probanden appliziert. Die Anpassung der Parameter des Dispositionssystems (i. v. Daten) erfolgt mit einer bi-exponentiellen Funktion (Gl. 3.87 mit  $n = 2$ ). Die p. o. Daten werden durch ein serielles System, das sich aus dem Dispositionssystem, das mit einer inversen GAUSS-Funktion (Gl. 3.88 mit  $n = 2$ ) gefaltet ist, zusammensetzt, beschrieben. Die Sensitivitätsanalyse zeigt, daß innerhalb der ersten zwei Fünftel der Länge des Zeitintervalls, bereits alle Information in Bezug auf das orale System enthalten ist (Ergebnisse nicht gesondert aufgeführt, weil sie den folgenden entsprechen).

Die zweite hier betrachtete Studie analysiert die Daten aus Weiss (1996). Sie enthält Daten von 10 Probanden, die wiederum ein Präparat, welches nicht näher bezeichnet ist, sowohl i. v. als auch p. o. erhielten. Mit Hilfe der generalisierten Parameter-Information-Sensitivitäten (Gl. 3.96) wird der Bereich des Sampling Schemas ermittelt (vgl. Abb. 4.20), der für die Parameterschätzung des oralen Systems nötig ist, wenn für den Probanden auch i. v. Daten vorliegen. Es sind die Zeitintervalle, in denen der Betrag der Funktionswerte der generalisierten Parameter-Information-Sensitivitäten nicht in der Nähe von 1 liegen, also das Zeitintervall 0 min bis 800 min. Die Parameter der i. v. Daten und die der oralen Daten werden getrennt

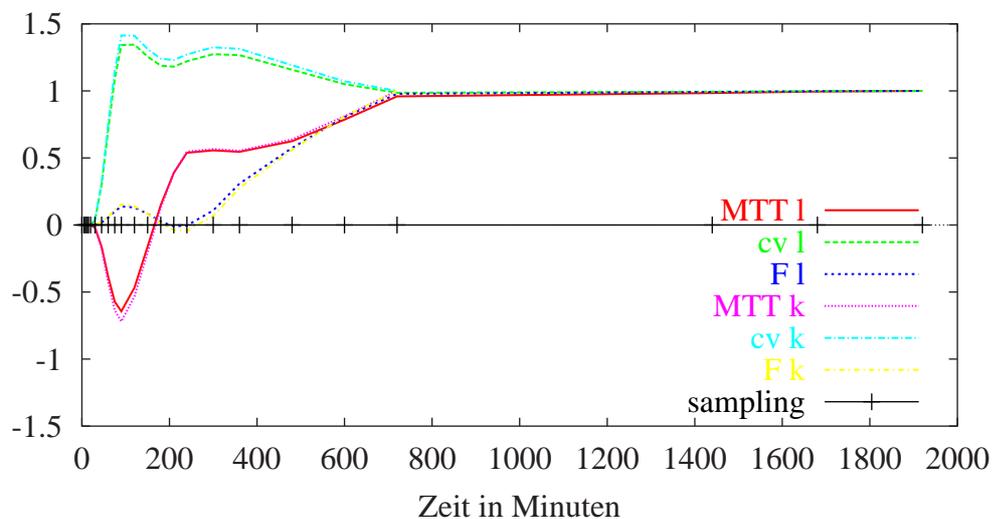


Abbildung 4.20: Vergleich der „generalisierten Parameter-Information-Sensitivitäten“ eines Datensatzes mit vollem und mit verkürztem Sampling Schema. Die Kurven, die mit „l“ gekennzeichnet sind, beziehen sich auf das lange Sampling Schema (bis 1920 min), die mit „k“ bezeichneten geben die Analyse der Daten bis 720 min wieder.

geschätzt, wie dies auch in der vorliegenden Studie der Fall ist. Als Funktion für die oralen Daten dient die inverse GAUSS-Funktion, die mit einer tri-exponentiellen Funktion (Gl. 3.88 mit  $n = 3$ ) gefaltet ist (Abb. 4.21). Die Anpassung der Parameter erfolgte mit dem Programm Scientist von MicroMath Research. Das Dispositionssystem wird durch eine tri-exponentiellen

Funktion (Gl. 3.87 mit  $n = 3$ ) repräsentiert. Die geschätzten Parameter des Dispositionssystems werden als feste Parameter in die orale Funktion eingesetzt. Die Parameter des oralen Versuchs

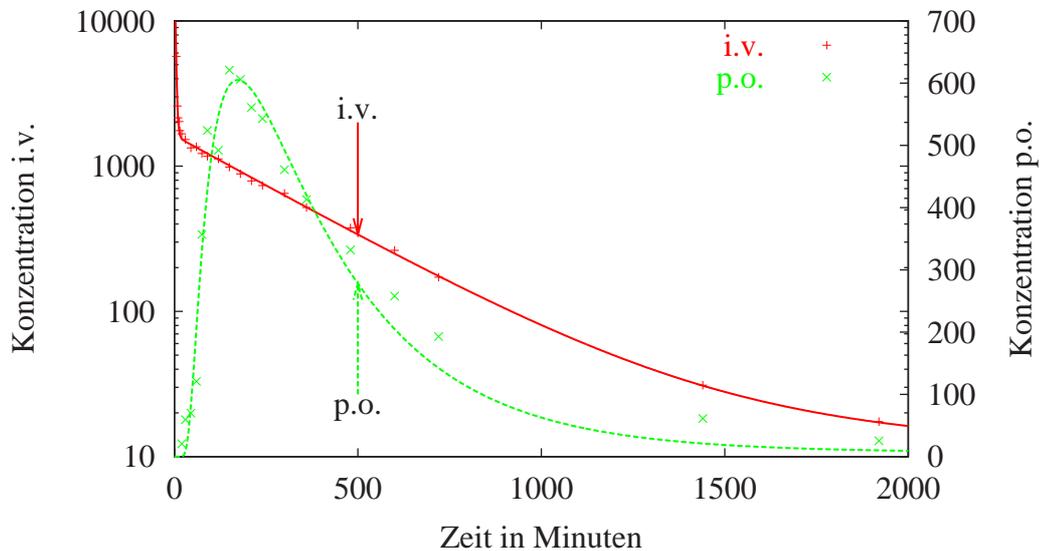


Abbildung 4.21: Morphin Konzentrationszeitverlauf eines Probanden nach i. v. und oraler Applikation. Die i. v. Daten sind halblogarithmisch aufgetragen (linke Abszisse), die p. o. Daten sind linear dargestellt (rechte Abszisse).

werden zunächst mit dem vollen Sampling Schema angepaßt. Mit einer weiteren Schätzung, die von den gleichen Startwerten erfolgte, werden die Parameter der Daten bis zum Zeitpunkt 720 min angepaßt, dem letzten Meßzeitpunkt, der im oben bestimmten Intervall liegt. Der Vergleich der Parameter erfolgt nach der in Abschnitt 3.1.5 beschriebenen Methode des prozentualen mittleren Fehlers (%ME und %RMSE). Die Berechnung der %ME und %RMSE der Parameteranpassung mit dem verkürzten Sampling Schemas erfolgt mit dem Mittelwert ( $\tilde{x} = \bar{x}_l$ ) des jeweiligen Parameters des ursprünglichen Sampling Schema. Der Unterschied in der durchschnittlichen Anpassung beträgt weniger als 3 % (vgl. Tab. 4.16). Dieses Ergebnis bedeutet, daß der Fehler, der durch die Verkürzung des Sampling Schemas entsteht, kleiner ist als ein üblicher Meßfehler. Um die Aussage auf eine breitere Basis zu stellen, werden die Ergebnisse für die folgenden Simulationsstudien (Abs. 4.2.2 und 4.2.3) als Ausgangsparameter der mathematischen Modelle verwendet. Die Ergebnisse der Simulationsstudien gelten in äquivalenter Form auch für die hier vorliegenden Daten.

## 4.2.2 Simulationsstudie 1

Die Erweiterung des Programms ADAPT 2.3 (D'Argenio, D.Z. und Schumitzky, A. (1979)) durch Schalla, M. und Weiss, M. (1999) um die numerische inverse LAPLACE-Transformation ermöglicht eine weitere theoretische Studie dieser Problematik an simulierten Datensätzen.

Tabelle 4.16: Vergleich der Anpassung von realen Daten des Dispositions- und des oralen Systems mit vollem und verkürztem Sampling Schema mit einem tri-exponentiellen Dispositionssystem. Das orale System wurde mit einer inversen GAUSS-Funktion, die mit den Dispositionssystem gefaltet ist, angepaßt.  $MTT$ : mittlere Transitzeit,  $CV^2$  Varianz,  $F$  Bioverfügbarkeit

	1920 min			720 min		
	$MTT$	$CV^2$	$F$	$MTT$	$CV^2$	$F$
<b>Parameter</b>						
in	min	1	1	min	1	1
Mittelwert	203	0,51	0,58	199	0,49	0,57
Median	194	0,59	0,54	194	0,56	0,54
Standardabw.	54	0,21	0,09	49	0,19	0,08
<b>%ME</b>						
in	%	%	%	%	%	%
Mittelwert				-2	-3	-1
Median				-5	11	-6
Standardabw.				24	38	14
<b>%RMSE</b>						
Mittelwert	21	34	13	20	30	12
Median	24	35	10	22	26	10
Standardabw.	15	19	8	12	21	6
Güte	21,75			18,24		

Eine MONTECARLO Simulation erfolgt mit 1000 Datensätzen, wobei die Populationssimulationsfunktion des Programmes ADAPT 2.4 verwendet wird. Die für die Simulation benötigte Varianz ist durch Gleichung 4.9 mit  $\sigma = 0,1$  beschrieben. Die Funktion  $f(t)$  ist für das Dispositionssystem Gl. 3.87 mit  $n = 3$  und für das orale System Gl. 3.88. Der Fehler der so erzeugten Daten entspricht einer typischen Meßwerttoleranz von invivo Daten.

$$\text{Var}(t) = (\sigma f(t))^2 \quad (4.9)$$

Die Parameter der Datensätze werden automatisch mit ADAPT geschätzt. Dies wird mit einem Stapelverarbeitungsskript (in der Programmiersprache awk) bewerkstelligt, welches ADAPT die nötigen Tastatureingaben liefert. Die Ergebnisse der Parameterschätzungen wurden exemplarisch überprüft. Ein besonderes Augenmerk wurde auf die Datensätze, deren Parameter aus den üblichen Wertstrebereite herausfielen, gelegt.

Die Parameteranpassungen erfolgen auf acht verschiedene Weisen, daraus ergaben sich 8000 Parameterdatensätze, die beurteilt werden müssen. Als Kriterium einer fehlgeschlage-

nen Schätzung wird die  $AUC_D$  herangezogen. Ist der Wert, verglichen mit den der Simulation zugrunde liegenden, zweifach überhöht, wird der Parametersatz als Ausreißer gewertet. Dies ist für Daten, die so erzeugt werden, zulässig, da eine ungünstige Kombination der generierten Fehler vorliegen kann. Beispielsweise entstand für die ersten Zeitpunkte ein negativer Wert für die Abweichung vom fehlerfreien Wert, im Tailpart sind die Fehler nur positiv. Dies führt zu einer überproportionalen Verlängerung der  $MRT_D$ . In solchen Fällen läßt sich das Dispositionssystem nicht schätzen.

Nach diesen Prinzipien konnten zumindest 729 Datensätze ausgewertet werden. Es wurde immer die maximale Anzahl der Datensätze verwendet. Bei der gleichzeitigen Schätzung aller Datenpunkte gehen mehr Datensätze in die Auswertung ein, da sich aufgrund der zusätzlichen Information in den oralen Daten auch das Dispositionssystem in kritischen Fällen anpassen ließ.

Folgende Arten (Tab. 4.17) der Auswertung des Dispositions- und oralen Systems werden durchgeführt:

1. Schätzung der Parameter aller Dispositionsdatensätze mit je einer tri-exponentiellen Funktion. Diese Werte bilden den Ausgang für alle sequentiell ausgeführten Anpassungen.
2. Mit den Parametern, die in der Anpassung des Dispositionssystem (Punkt Nr.: 1) für den zugehörigen Datensatz des Individuums ermittelt wurden, werden die Parameter des oralen Systems durch least-square-Minimierung geschätzt.
3. Der Mittelwert der Parameter, die sich aus der Ausgangsschätzung (Punkt Nr.: 1) ergeben, wird für das Dispositionssystem gesetzt und die Parameter der p. o. Daten werden durch eine Anpassung mit least-square-Verfahren ermittelt.
4. Die gemeinsame Anpassung des oralen- und des Dispositionssystems. Das bedeutet, daß die Parameter, die in beiden Funktionen enthalten sind, in jedem Iterationsschritt der Berechnung denselben gemeinsamen Wert aufweisen.
  - Für das Dispositionssystem mit „linearer inverser Varianz des Ergebnisfehlers“, jeweils mit 10 % Fehlertoleranz in den Daten gewichtet.
  - Für das orale System wird keine Wichtung verwendet.
5. Die gleichzeitige Anpassung der i. v.- und p. o.-Daten mit der maximum-likelihood-Methode.

Die Anpassungen 2, 3, 4 und 5 werden auch mit einem verkürztem Sampling Schema durchgeführt, das anhand der Ergebnisse der Sensitivitätsanalyse bestimmt wurde. Außer den fehlenden Datenwerten stimmten die Datensätze überein, ein Datensatz ist als Beispiel in Abbildung 4.21 dargestellt. Im Unterschied zu der Auswertung in Abschnitt 4.2.1 sind hier die tatsächlichen Werte der Parameter bekannt, da sie als Startparameter der Simulation eingesetzt wurden. Es

Tabelle 4.17: Schema der durchgeführten Anpassungen. Die verwendeten Symbole bedeuten: + Parameter wird geschätzt, · entfällt, f: Parameter wird fest eingesetzt und aus einer vorhergehenden Schätzung bezogen, M. f. Mittelwert aller Anpassungen wird nur für das Dispositionssystem verwendet.

	Disposition						oral		
	$\alpha_1$	$\beta_1$	$\alpha_2$	$\beta_2$	$\alpha_3$	$\beta_3$	MAT	CV <sup>2</sup>	F
1	+	+	+	+	+	+	·	·	·
2	f	f	f	f	f	f	+	+	+
3	M. f.	M. f.	M. f.	M. f.	M. f.	M. f.	+	+	+
4 + 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+

wird für alle Parameteranpassungen untersucht, wie gut diese den gegebenen Datensatz beschreiben. Es folgen die Aussagen über die Güte der Anpassungen, für jeden einzelnen Parameter mit Hilfe der Fehlermaße %MSE und %ME. Je kleiner der mittlere quadratische Fehler ist, um so besser ist die Anpassung. Diese Aussage kann für jeden einzelnen Datensatz gemacht werden. Da dann aber 8000 Parametersätze betrachtet werden müßten, werden nur die Mittelwerte und Mediane der Ergebnisse ausgewertet. Um ein zutreffendes Urteil über die Gesamtheit der Datensätze zu fällen, müssen noch Gewichtungsfaktoren bestimmt werden. Hierzu eignen sich die normierten Standardabweichungen der Parameterwerte. Für die endgültige Auswertung wird nicht der Rang der MSE-Werte sondern der normierte RMSE-Wert verwendet. Der Gesamtrang der Parameteranpassung ergibt sich aus Gleichung 4.10

$$\text{Güte} = \sum_{x \in \{MAT, CV^2, F\}} \frac{\text{std}(x)}{x} \%RMSE(x) \quad (4.10)$$

Die verschiedenen Auswertungen und deren Güte sind in Tabelle 4.18 zusammengestellt. Die Ergebnisse der einzelnen Parameter erscheinen im Anhang D in den Abbildungen D.1, D.3 und D.5.

### 4.2.3 Simulationsstudie 2

Nachdem die erste Studie im vorangegangenen Abschnitt (4.2.2) den Einfluß der Messung auf die Auswertung darlegt, folgt eine zweite theoretische Studie mit Daten, die Individuen darstellen, d. h. jeder Datensatz erhält eigene pharmakokinetische Parameter. Die Daten werden wieder mit der Populationssimulationsfunktion des Programmes ADAPT generiert. Alle Parameter sind normal verteilt mit dem Varianzmodell (Gl. 4.9). Dadurch ist sichergestellt, daß die Zufallszahlen der verschiedenen Parameter untereinander nicht korrelieren. Somit sind die Parameter der Simulationen unabhängig voneinander. Je ein Datensatz setzt sich aus Werten für das Dispositionssystem und das orale System zusammen, wobei in dieser Versuchsreihe jedem

Dispositionssystem genau ein orales System zugeordnet ist. Alle Datensätze erhalten zusätzlich noch eine Meßwertungenauigkeit, mit denen auch die Daten in Abschnitt 4.2.2 belegt sind. Die Parameter, die in beiden Funktionen (i. v. und oral) vorhanden sind, haben für jedes Datenpaar die gleichen Werte. Auf eine Bioverfügbarkeitsstudie übertragen bedeutet es, daß 1000 Probanden an der Studie teilnehmen, bei denen sich die individuellen pharmakokinetischen Parameter während der Versuchsdurchführung nicht ändern. Die Auswertung ist nach dem gleichen Schema durchgeführt, das in Abschnitt 4.2.2 beschrieben ist. Die Auswertungen und deren Güte sind in Tabelle 4.18 zusammengestellt. Die Werte der einzelnen Parameter sind im Anhang E aufgeführt.

Tabelle 4.18: Auswertung der Simulationen in Studien 1 und 2. Die Anpassungsmethode mit der niedrigsten Zahl weist die beste Schätzung aus. In den Klammern ist die Güte der Auswertung angegeben. Die Spalten, die mit „kurz“ überschrieben sind, geben die Auswertung wieder, in der nur die Anpassung der reduzierten Daten einbezogen ist. Abkürzung: einzeln: jeder Datensatz einzeln angepaßt; median: orale Daten mit Median der Parameter der zuvor ermittelten Dispositionsdaten; gleichz.: beide Funktionen gleichzeitig; kurz: und verkürztes orales Sampling Schema; LS: Schätzung mit kleinster Quadrate Methode; ML: Schätzung mit maximum-likelihood-Methode.

	Studie 1				Studie 2			
	Mittelwert		Median		Mittelwert		Median	
		kurz		kurz		kurz		kurz
einzeln LS	7 (6,1)		6 (4,7)		5 (8,9)		4 (7,0)	
einzeln LS kurz	8 (8,6)	4	8 (6,2)	4	8 (28,9)	4	8 (19,8)	4
median LS	3 (3,0)		7 (2,6)		4 (9,0)		7 (7,2)	
median LS kurz	5 (4,0)	2	4 (3,3)	2	7 (12,1)	3	6 (9,0)	3
gleichz. LS	4 (3,3)		3 (2,7)		2 (5,8)		3 (4,8)	
gleichz. LS kurz	6 (5,5)	3	5 (4,4)	3	6 (8,3)	2	5 (6,8)	2
gleichz. ML	1 (0,2)		1 (0,2)		1 (3,3)		1 (2,8)	
gleichz. ML kurz	2 (0,4)	1	2 (0,3)	1	3 (6,1)	1	2 (4,5)	1

#### 4.2.4 Folgerungen aus den Bioverfügbarkeits- und Simulationsstudien

Die Ergebnisse der Sensitivitätsanalyse, veranschaulicht in Abbildung 4.20, zeigen, daß sich das Sampling Schema auf  $3/8$  der Zeit (720 min) verkürzen läßt, da zu diesem Zeitpunkt über 90 % der Information schon vorhanden war. Der daraus resultierende Informationsverlust ist zu vernachlässigen, bzw. kann sogar durch eine andere Anpassung der Parameter, nämlich die gleichzeitige Schätzung der Parameter für die i. v. und oralen Daten mit der maximum-likelihood Methode, wiedergewonnen werden. Die Werte der generalisierten Parameter-Information-Sensitivitäten unterscheiden sich nur sehr wenig für die beiden Anordnungen (geschätzte Parameter und Sampling Schema). Zu beachten ist, daß die Sensitivität der Verfügbarkeit  $F$  auch bei dem vollständigen Datensatz bei 720 min einen Wert im Intervall  $(0,9;1,1)$  hat. Das gleiche Ergebnis liefert auch die Parameterbestimmung, der beiden Simulationsstudien (Abschnitte 4.2.2 und 4.2.3). Zusätzlich zeigen diese noch, wie gut die Parameter überhaupt geschätzt werden können, da hier die tatsächlichen Werte der Parameter bekannt sind. Eine solche Reduzierung des Sampling Schemas ist nicht zulässig, wenn sich die Sensitivität des Parameters so verhält wie der Parameter  $K_m$  in Abbildung 4.9 dann ist mit einer deutlichen Verschlechterung der Parameterschätzung zu rechnen.

Die üblicherweise gewählte Analyse bei der wie in Abschnitt 4.2.1 die Parameter getrennt geschätzt werden, führt selbst bei langem Sampling Schema zu schlechteren Ergebnissen, als die gemeinsame Anpassung mit verkürztem oralen Sampling Schema. Dies zeigen die unterschiedlichen Güterwerte in Tabelle 4.18.

Daraus ergibt sich für die Analyse einer solchen Bioverfügbarkeitsstudie, daß zuerst alle Dispositionssystemparameter bestimmt werden sollten, um die Daten einzeln anzupassen, daran anschließend kann mit dem Mittelwert dieser Parameter das orale System mit einem verkürzten Sampling Schema geschätzt werden.

Stehen von jedem Probanden beide Datensätze zur Verfügung, ist eine gleichzeitige Anpassung der Parameter vorzuziehen, wie es sich schon hier bei den Simulationen mit ausschließlichem Ausgangsmeßfehler zeigt. Liegen, wie hier im Beispiel, die Konzentrationen für das Dispositions- und das orale System sehr weit auseinander, so liefert die Schätzung mit der maximum-likelihood-Methode die besseren Ergebnisse als mit der least-square-Methode; denn man kann sowohl darauf verzichten zuvor Gewichtungsfaktor zwischen den beiden anzupassenden Funktionen zu suchen, als auch darauf, das Dispositionssystem selbst zu gewichten (vgl. Weiss, M. und Geschke, D. (1997)). Selbst die Anpassung der Parameter der Daten mit verkürztem oralen System ergibt mit der maximum-likelihood-Methode bessere Ergebnisse als mit den übrigen Vorgehensweisen.

Weiter gilt es beachten, daß mit den simultanen Anpassungsmethoden alle Datensätze geschätzt werden konnten. Bei der getrennten Parameterschätzung ließen sich nur dreiviertel der Datensätze auswerten, weil sich das Dispositionssystem nicht schätzen ließ. Daß die Mittelwerte der Parameter des Dispositionssystems die ursprünglichen Werte gut treffen, verwundert

bei der großen Anzahl der Simulationen nicht. Deshalb liefert die Anpassung des Abschnittes 4.2.2, die die Mittelwerte der Parameter des Dispositionssystems verwenden, auch bei den Datensätzen, die einzeln nicht geschätzt werden können, ein Ergebnis, obgleich hier das Dispositionssystem nicht bestimmt werden konnte. Die Ergebnisse der Studie 2 (Abschnitt 4.2.3) entsprechen der Realität eher, da jedes Individuum seinen eigenen Parametersatz besitzt. Dadurch sind — wie zu erwarten — die Ergebnisse der Mittelwertanpassung nicht mehr besser, als jede simultane Anpassung der Daten. Auch hier schließt die maximum-likelihood-Schätzung aus dem oben genannten Grund wieder besser ab.

### **4.3 Physiologisch basiertes Ganzkörpersimulationsmodell in der Toxikokinetik**

Das Programm „circulation“ ermöglicht Simulationen von Plasma- bzw. Gewebekonzentrationszeitkurven. Es wurde von Weiss, M. und Geschke, D. (1997) eingeführt und durch Ring, A. (2001) sowie Jeschke (2000) erweitert. Das Modell basiert auf einem Kreislauf-Ansatz nach der Systemtheorie. Jedes Organ ist darin durch eine Modellfunktion nachgebildet. Folgende Neuerungen werden in dieser Version des Programms im Rahmen dieser Arbeit hinzugefügt: 1. Graphische Benutzeroberfläche in den Sprachen Englisch und Deutsch, 2. Wahl des zu simulierenden Systems (Option -s: singlepas oder recirculation), 3. Neue Organ-Modellfunktionen (Kompartiment und anormale Diffusion), 4. Wahl der Modellfunktion der Organe (Option -m), 5. Wahl der Inputfunktion (Option -i: Bolus, Infusion), 6. Unterstützung der Betriebssysteme Windows und Linux vormals nur SUN/Solaris, 7. Konzentrationszeitkurven der einzelnen Organe und resultierende Gewebemengen und 8. Wahl zwischen Permeationsoberflächenprodukt (PS) und Plasma-zu-Gewebe-Transferrate (k).

#### **4.3.1 Graphische Benutzeroberfläche zum Programm Circulation**

Die graphische Benutzeroberfläche (GUI) bietet die Möglichkeit, die Parameter der Simulation zu verändern. Im Hauptfenster (Abb. A.1) werden die globalen Parameter der Modells festgelegt (Pharmakon  $\equiv$  Ausgabedateiname, Herzminutenvolumen (CO), intrinsische Clearance der Leber, Dosis und die Infusionszeit). Das Menü „Datei“ ermöglicht, die geänderten Daten zu laden und speichern. Mit dem Pulldown Menü „Modell“ können verschiedene Kombinationen für Organmodellfunktionen und die Inputfunktion eingestellt werden. Es stehen die Organmodelle 1. Kompartiment, 2. 2-Phasen-Diffusion (Weiss, M. und Roberts, M. S. (1996), Abschnitt 3.7.1) und 3. anormale Diffusion (Weiss (1999), Abschnitt 3.7.2) zur Verfügung. Die anormale Diffusion kann für die Organe/Gewebe nur Fettgewebe, die Organe Herz, Lunge, das Muskel- und Fettgewebe und das Skelett oder für alle Organe/Gewebe mit Ausnahme der Arterie und Vene gewählt werden. Alle Organe, die nicht mit dem anormalen Diffusionsmodell simuliert

werden, erhalten die 2-Phasen-Diffusion als Modellfunktion. Die Ergebnisse dieser verschiedenen Modellfunktionen werden am Beispiel von PCB 153 im Abschnitt 4.3.7 dargestellt. Die Schaltfläche „Organdaten“ und „Sampling Schema“ öffnet die Fenster Organdaten und Sampling Schema. Das Fenster „Organdaten“ (Abb. A.2) erlaubt die physiologischen und pharmakokinetischen Parameter der einzelnen Organe zu verändern. Das Fenster „Sampling Schema“ (Abb. A.3) dient zur Erzeugung eines für die Simulation benötigten Sampling Schemas. Es wird entweder linear, quadratisch oder logarithmisch erzeugt, indem sowohl der Start- und Endzeitpunkt als auch die Anzahl der Datenpunkte festgelegt werden. Die Schaltfläche „Simulation beginnen“ ruft das Programm circulation mit den gewählten Kommandozeilen Parametern auf. Eine Beschreibung der Simulationsdurchführung ist im Anhang A.1.2 aufgeführt.

### 4.3.2 Organ-Konzentrationszeitkurven

Die Beschreibung der Konzentrationszeitkurven ist durch die Systemtheorie ermöglicht. Ähnlich der Analyse am isoliert perfundierten Organ, bei der als Eingangsfunktion ein Bolus oder eine Infusion angenommen wird, wird hier der Konzentrationszeitverlauf der Arterie als Eingangsfunktion für das Organ/Gewebe verwendet (Abb. 4.22). Das Organ wird mit denselben Parameter, die es auch in der Kreislaufsimulation angewendet werden, zusätzlich in Reihe zum Kreislauf geschaltet. Es muß darauf hingewiesen werden, daß die Lunge gesondert behandelt werden muß. Die Menge des Pharmakons im Organ ergibt sich durch die Differenz des kumulativen Zuflusses und kumulativen Abflusses. In gleicher Weise können auch Metabolisierung oder die Ausscheidung modelliert werden.

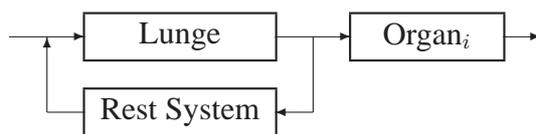


Abbildung 4.22: Schematische Darstellung der Berechnung eines einzelnen Organs

### 4.3.3 Voraussetzungen der Simulation

In dieser Arbeit werden Simulationen für die Pharmaka Alfentanil, Fentanyl, Thiopental und PCB 153 durchgeführt. Die physiologischen, pharmakologischen und pharmakokinetischen Parameter werden aus Ring, A. (2001) für die ersten drei Pharmaka übernommen. Exemplarisch werden drei Untersuchungen durchgeführt, die die Variabilität des Modells veranschaulichen. In der Simulation werden die Pharmaka intravenös appliziert und arteriell bestimmt. Die erste Untersuchung bezieht sich auf das Herzminutenvolumen (Abschnitt 4.3.5). Dafür werden Konzentrationszeitkurven für Alfentanil, Fentanyl und Thiopental mit verschiedenen Herzminutenvolumen simuliert (Tab. 4.19). Auch für die Simulation mit erhöhtem Fettgewebeanteil

(Abschnitt 4.3.6) wird das Herzminutenvolumen angepaßt, da hierfür das Blutvolumen des Fettgewebes erhöht wird, sich der absolute Fluß durch die restlichen Organe aber nicht ändern soll. Der letzte Abschnitt (4.3.7) dieser Simulationen befaßt sich mit extrem lipophilen Pharma-

Tabelle 4.19: Herzzeitvolumina für die Simulation mit dem Ganzkörpersimulationsprogramm

50 %	100 %	150 %	fett
3267,2 $\frac{\text{mL}}{\text{min}}$	6534,4 $\frac{\text{mL}}{\text{min}}$	9801,6 $\frac{\text{mL}}{\text{min}}$	6790 $\frac{\text{mL}}{\text{min}}$

ka. Dafür wird das Ganzkörpersimulationsprogramm um die anormale Dispersion (Abschnitt 3.7.2) erweitert. Tabelle 4.20 enthält die globalen Parameter der einzelnen Simulationen. Die physiologischen Daten der Organe sind in Abschnitt C.1.1 beschrieben. Die Parameter der einzelnen Organe für Alfentanil, Fentanyl und Thiopental sind in den Abschnitt C.1.2 enthalten. Die pharmakokinetischen Parameter für PCB 153 folgen im nächsten Abschnitt.

Tabelle 4.20: Parameter des Kreislaufsystems

Pharmakon	Dosis	Infusionszeit	Leber CL
Alfentanil	13,18 mg	Bolus	202,3 $\frac{\text{mL}}{\text{min}}$
Fentanyl	806 $\mu\text{g}$	Bolus	1042,9 $\frac{\text{mL}}{\text{min}}$
Thiopental	219,8 $\mu\text{g}$	Bolus	297,3 $\frac{\text{mL}}{\text{min}}$
PCB 153	1,26 g	120 Tage	0,085 $\frac{\text{mL}}{\text{min}}$

#### 4.3.4 Parameter für PCB 153

Für sehr stark lipophile Substanzen wie die PCB oder Amiodaron läßt die klassische Pharmakokinetik keine Aussagen mehr über das Langzeitverhalten zu. Wyss, P. A. u. a. (1982) geben an, daß die PCB irreversibel an das Fettgewebe gebunden werden. In Amiodaron–Langzeitversuchen hat sich gezeigt (vgl. Weiss (1999)), daß Standardmodelle die Langzeitpharmakokinetik unzureichend beschreiben. PCB ist ähnlich lipophil wie Amiodaron. Da die Literatur nicht für alle benötigten Parameter dieser Substanzen Werte bereitstellt, werden die entsprechenden Werte ähnlicher Pharmaka übernommen und für die Simulationen zugrundegelegt. Da für das Ganzkörpersimulationsprogramm die Verteilungskoeffizienten und die Permeationsoberflächenprodukte der Organe erforderlich sind, werden diese im Folgenden bestimmt. Die steady–state Verteilungskoeffizienten werden nach Parham, F. M. u. a. (1997) berechnet (Tab. 4.21). Die

Permeationsoberflächenprodukte werden als Näherung aus den Fentanyl Permeationsoberflächenprodukten bestimmt und aus den Verhältnissen  $PS_{PCB}^i = \frac{K_{PCB}^i}{K_{Fentanyl}^i} PS_{Fentanyl}^i$  abgeleitet.  $K_j^i$  ist der Partitionskoeffizient des Gewebes  $i$  zu Blut für das Pharmakon  $j$ .

Die Clearance wird von Tuey, D. B. und Matthews, H. B. (1980) für 2,2',4,4',5,5'-Brombiphenyl (HBB) entnommen, welches sich von PCB 153 nur durch den Substituenten Brom unterscheidet. Sie geben eine renale Clearance 5,06 mL/h an. Sie geben auch die Gewebeverteilungskoeffizienten für HBB an. Diese sind den berechneten für PCB 153 ähnlich. Die Partitionskoeffizienten des Brombiphenyls sind in Tabelle 4.21, soweit vorhanden, in der Spalte HBB zum Vergleich angegeben. Die Parameter des anormalen Diffusionsmodelles werden für alle selektierten Organe auf die Werte  $CV^2 = 7$ ,  $\tau = 10,0$  und  $\alpha = 0,56$  gesetzt.

Ein zweiter Ansatz ist die Übernahme aller Parameter aus Weiss (1999). Hierzu wird das Programm um die Möglichkeit erweitert, die Plasma zu Gewebe Transferrate von  $k = 3,0$  1/min anstatt des Permeationsoberflächenproduktes einzusetzen. Der Parameter  $CV^2$  der inversen GAUSS-Funktion wird auf 7,0 gesetzt.

Tabelle 4.21: Daten des Ganzkörpermodelles für PCB 153, berechnet nach Parham, F. M. u. a. (1997), bzw. umgerechnet aus Fentanyl. Dazu im Vergleich der Gewebe-Partitionskoeffizient für HBB nach Tuey, D. B. und Matthews, H. B. (1980).

Organ	PS in mL/min	Partition Koeffizient		$\nu = \frac{V_T}{V_B}$
		PCB	HBB	
Lunge	$\infty$	17,9		16,6
Herz	$\infty$	14,3		40,8
Gehirn	$\infty$	303,0		9473,5
Niere	661	17,9		120,1
Leber	$\infty$	17,9	17,0	48,5
Intestine	5250	47,4	1,0	1345,7
Milz	149	47,4		231,3
Pankreas	797	47,4		1345,5
Hoden	778	47,4		2912,7
Muskel	184275	14,3	5,0	536,9
Haut	4756	47,4	56,5	2445,2
Fett	171257	303,0	340,0	15645,2
Skelett	197446	47,4		2445,2

### 4.3.5 Simulationen mit veränderten Herzminutenvolumen

Die erste Simulation, durchgeführt mit der 2-Phasen-Diffusion, bezieht sich auf das Herzminutenvolumen oder den Cardiac Output (in den Gleichungen 4.11 und 4.12 der Parameter CO). Eine Veränderung des Cardiac Output tritt z. B. bei Herzinsuffizienz (Erniedrigung) und Hyperthyreose (Erhöhung) auf (Boss, N. u. a. (1987)). Bei der simulierten Variation des Cardiac Output ist darauf zu achten, daß der absolute Fluß durch das Gehirn erhalten bleibt und der durch die Niere nicht überschritten wird. Da das Programm mit relativen Flüssen rechnet und die Summer der relativen Flüsse gleich bleiben und 100 % ergeben muß, dienen das Muskel- und das Hautgewebe als Puffer für den verbleibenden Fluß. Die geänderten Flüsse durch diese Gewebe werden mit der Gleichung 4.11 berechnet.

$$q'_i = q_i \left( \Delta CO + \frac{(\Delta CO - 1)(q_G + q_N)}{(q_M + q_H)} \right) \quad (4.11)$$

In Gleichung 4.11 bedeuten:  $i$ : Organ Haut oder Muskel; die Indices  $H$ ,  $M$ ,  $G$  und  $N$ : Haut, Muskel, Gehirn und Niere;  $q_i$ : relativer Fluß durch das  $i$ -te Organ im Ausgangszustand;  $q'_i$ : relativer Fluß durch das  $i$ -te Organ bei geändertem Cardiac Output;  $\Delta CO$ : relative Änderung des Cardiac Output. Ist  $\Delta CO < 1$ , wird  $q_N = 0$  gesetzt und so der maximale Fluß durch die Niere beachtet. Die neuen Flüsse der Organe Gehirn und Niere werden nach Gleichung 4.12 berechnet.

$$q'_j = \frac{q_j}{\Delta CO} \quad (4.12)$$

Für die Simulationen wird der Cardiac Output auf 50 % und 75 % des Standardwerts reduziert bzw. auf 150 % erhöht. Die Pharmaka werden dabei als Bolus (Infusionszeit 0,1 min) in die Vene appliziert und in der Arterie gemessen. Dabei werden die oben genannten Randbedingungen eingehalten, d. h. der absolute Fluß durch das Gehirn bleibt gleich, der maximale absolute Fluß durch die Niere wird nicht überschritten. Es werden nur die Versuche 50 % und 150 % ausgewertet, da die Ergebnisse des Falles mit 75 % die gleichen Charakteristika wie der 50 % Fall aufweist.

Die Simulationen ergeben die folgende Ergebnissen: Die Variation des Cardiac Output führt zu großen Änderungen hinsichtlich des Zeitpunktes ( $T_{max}$ ), an dem die Maximalkonzentration (Tab. 4.22) erreicht wird. Dagegen ändert sich die mittlere Dispositionszeit deutlich weniger (Tab. 4.23). Auch im Langzeitverhalten ist die Veränderung zu erkennen. Die Pharmaka bleiben länger bzw. entsprechend kürzer im Körper. Das Produkt aus MDRT und Clearance, das Verteilungsvolumen ( $V_{ss}$ ) im Gleichgewicht, ist nahezu konstant. Alle Änderungen des Verteilungsvolumens sind kleiner als 1,5 % (Tab. 4.23).

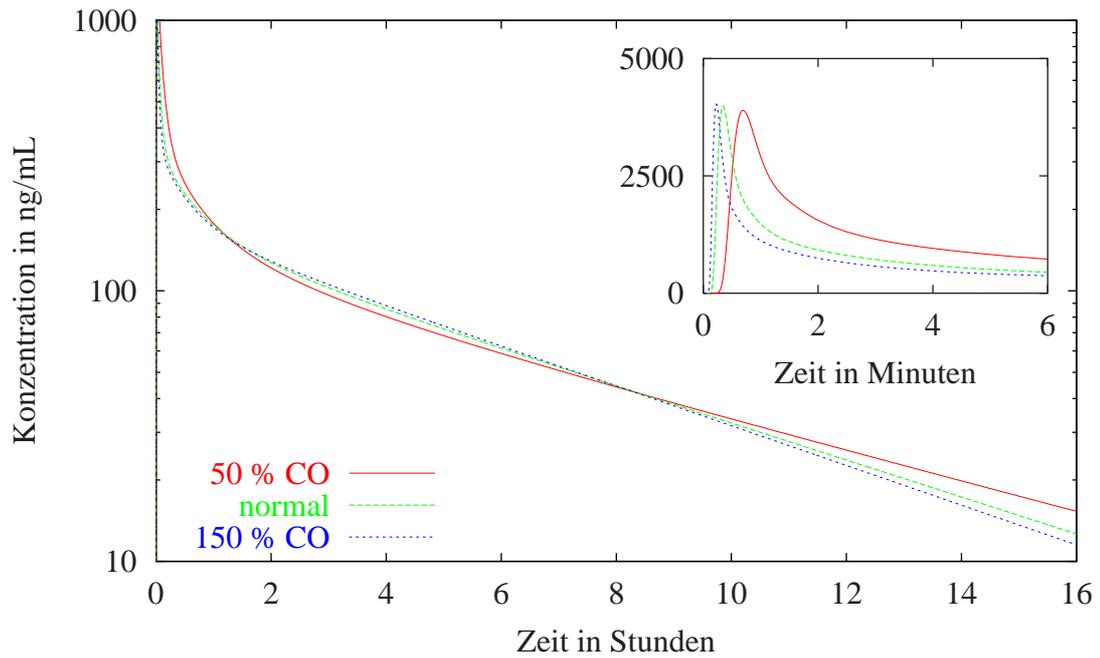


Abbildung 4.23: Vergleich der Initial- und der Langzeit-Phase des Alfentanil mit unterschiedlichem Cardiac Output nach intravenöser Bolusinjektion.

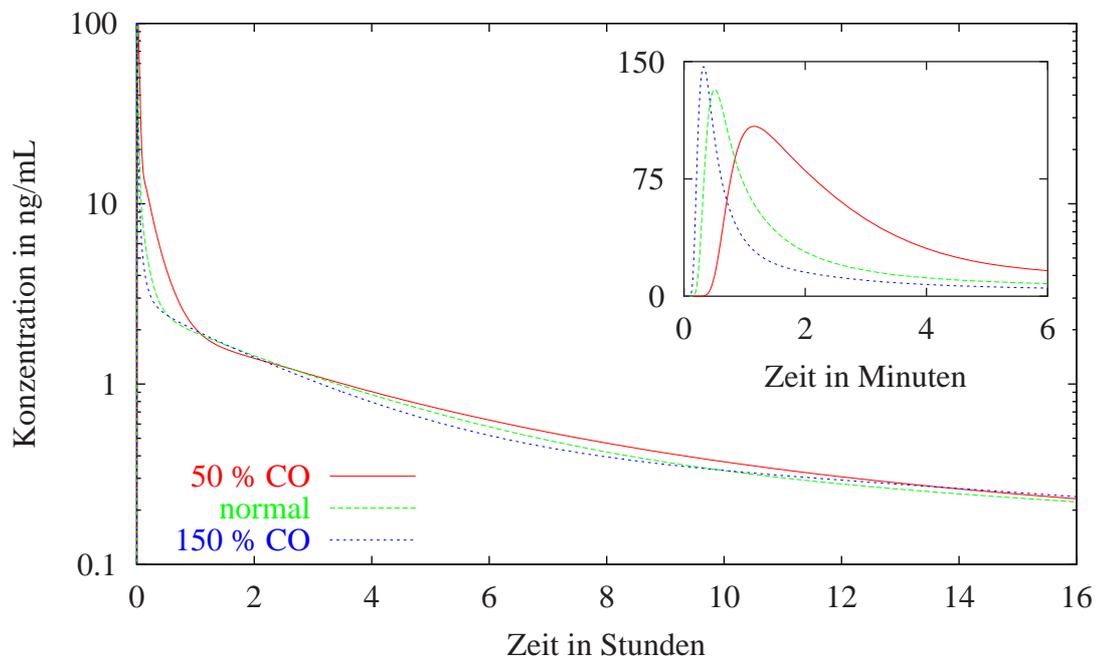


Abbildung 4.24: Vergleich der Initial- und Langzeit-Phase von Fentanyl mit unterschiedlichem Cardiac Output nach intravenöser Bolusinjektion.

Tabelle 4.22: Vergleich Gesamtelimination,  $C_{max}$ ,  $T_{max}$  und  $AUC_{single}$  ( $AUC$  des single-pass-Systems) der Simulationen mit dem Ganzkörpermodell.

Versuch	Elimination		$C_{max}$		$T_{max}$		$AUC_{single}$	
	1		$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$		min		$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$ min	
<b>Alfentanil</b>								
CO 50 %	0,052	183 %	3896	98 %	0,69	203 %	3828	195 %
CO 100 %	0,028	100 %	3988	100 %	0,34	100 %	1962	100 %
CO 150 %	0,019	69 %	4030	101 %	0,23	68 %	1320	67 %
Fett	0,026	93 %	3996	100 %	0,32	94 %	1814	92 %
<b>Fentanyl</b>								
CO 50 %	0,158	149 %	108,6	82 %	1,16	227 %	207,7	188 %
CO 100 %	0,106	100 %	132,1	100 %	0,51	100 %	110,3	100 %
CO 150 %	0,079	75 %	146,7	111 %	0,32	63 %	75,7	69 %
Fett	0,100	95 %	135,0	102 %	0,46	90 %	102,5	93 %
<b>Thiopental</b>								
CO 50 %	0,070	178 %	64,9	98 %	0,69	203 %	62,54	194 %
CO 100 %	0,040	100 %	66,4	100 %	0,34	100 %	32,30	100 %
CO 150 %	0,028	70 %	67,1	101 %	0,23	68 %	21,81	68 %
Fett	0,037	93 %	66,6	100 %	0,32	94 %	29,90	93 %

Tabelle 4.23: Vergleich der mittleren Dispositionszeit und der Clearance der Simulationsstudie mit verändertem Cardiac-Output und erhöhtem Fettgewebe Anteil

Versuch	$AUC$		$MDRT$		$CL$		$V_{ss}$	
	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$ min		min		$\frac{\text{mL}}{\text{min}}$		mL	
<b>Alfentanil</b>								
CO 50 %	78154	109 %	344,9	107 %	168,8	92 %	58207	99 %
CO 100 %	71693	100 %	320,9	100 %	184,0	100 %	59037	100 %
CO 150 %	69530	97 %	313,0	98 %	189,7	103 %	59378	101 %
Fett	71194	99 %	482,6	150 %	185,2	101 %	89394	151 %
<b>Fentanyl</b>								
CO 50 %	1561	134 %	1065,6	133 %	516,2	75 %	550045	99 %
CO 100 %	1167	100 %	803,2	100 %	690,7	100 %	554775	100 %
CO 150 %	1036	89 %	717,3	89 %	777,9	113 %	557950	101 %
Fett	1137	97 %	1307,7	163 %	709,0	103 %	927188	167 %
<b>Thiopental</b>								
CO 50 %	955,0	113 %	580,9	112 %	230,2	89 %	133699	99 %
CO 100 %	847,6	100 %	520,1	100 %	259,3	100 %	134865	100 %
CO 150 %	811,7	96 %	499,9	96 %	270,8	104 %	135389	100 %
Fett	839,3	99 %	881,5	170 %	261,9	101 %	230865	171 %

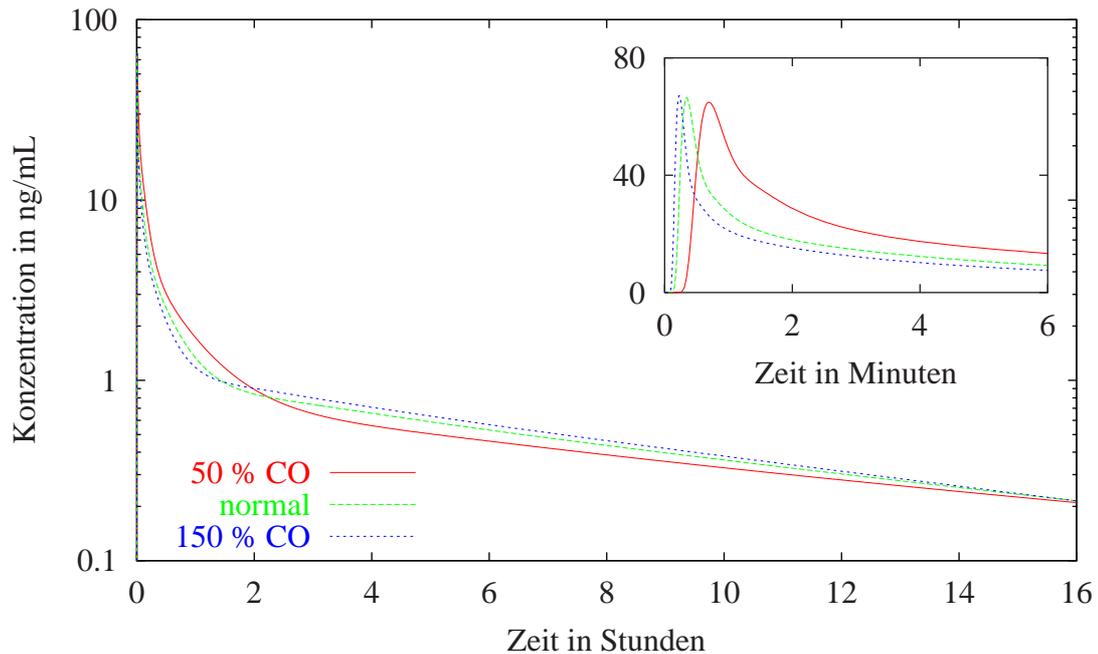


Abbildung 4.25: Vergleich der Initial- und Langzeit-Phase von Thiopental mit unterschiedlichem Cardiac Output nach intravenöser Bolusinjektion.

### 4.3.6 Simulationen mit verdoppeltem Fettgewebeanteil

Das verdoppelte Fettgewebe wird durch das erhöhte Blutvolumen des Fettgewebes abgebildet. Der Anteil wird auf 475 mL verdoppelt, was einer Vergrößerung des gesamten Blutvolumens von 6071 mL auf 6308 mL entspricht. Der totale Blutfluß wird im gleichen Verhältnis (Blutvolumen / Fluß) angepaßt und um den Faktor 1,039 auf 6790 mL/min erhöht. Auch bei dieser Simulation mit der 2-Phasen-Diffusion werden die physiologischen Randbedingungen eingehalten.

Als Ergebnis der Simulationen ist festzuhalten: In der Initialphase sind für alle drei Wirkstoffe keine Veränderungen für die normale und die Gruppe mit hohem Anteil von Fettgewebe (Adipositas) zu erkennen. Die maximale Konzentration  $C_{max}$  ist für alle Pharmaka als gleich anzusehen (Tab. 4.22). Das gleiche gilt für die  $AUC$  und die Clearance. Der Zeitpunkt  $T_{max}$  der maximal Konzentration ist um 6 % (Alfentail, Thiopental) und um 10 % (Fentanyl) früher als bei der Kontrollgruppe (Abb. 4.26, 4.27 und 4.28). Die Änderung in der Gesamtelimination (Tab. 4.22) ist durch den erhöhten Cardiac Output erklärt, da die simulierten Pharmaka nur in der Leber abgebaut werden. Für alle drei Pharmaka ist eine verlängerte zweite Phase erkennbar (Abb. 4.26, 4.27 und 4.28). Während dieser ist die Plasmakonzentration gegenüber der normalen Gruppe erniedrigt. Das Plateau des Rezirkulations-Peaks bei Thiopental (Abbildung 4.28) ist bei der Gruppe mit hohem Fettgewebeanteil verlängert. Die terminale Phase für alle drei Pharmaka fällt weniger stark. Die Änderung der  $MDRT$  ist für alle Pharmaka durch die

Vergrößerung des Verteilungsvolumens  $V_{ss}$  bedingt. Die Pharmaka besitzen einen großen Blut-zu-Gewebepartitionskoeffizienten, so daß sich die Volumenänderung des Fettgewebes deutlich in dem davon abhängigen Parameter  $V_{ss}$  zeigt.

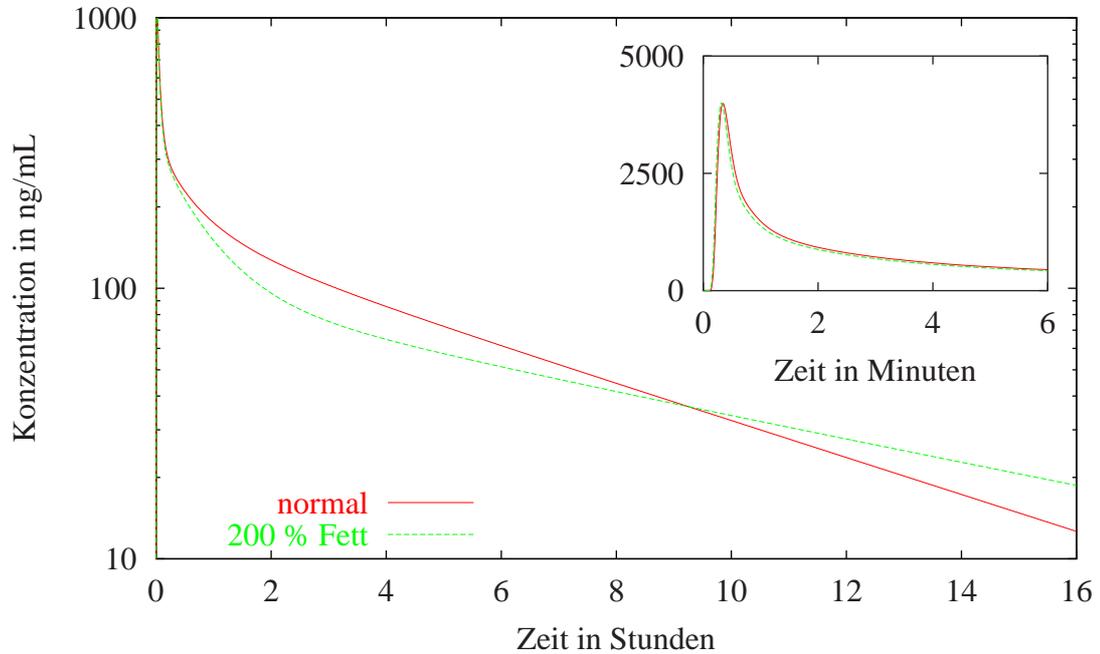


Abbildung 4.26: Vergleich des Konzentrationszeitverlaufs von Alfentanil mit unterschiedlichem Fettgewebeanteil nach intravenöser Bolusinjektion.

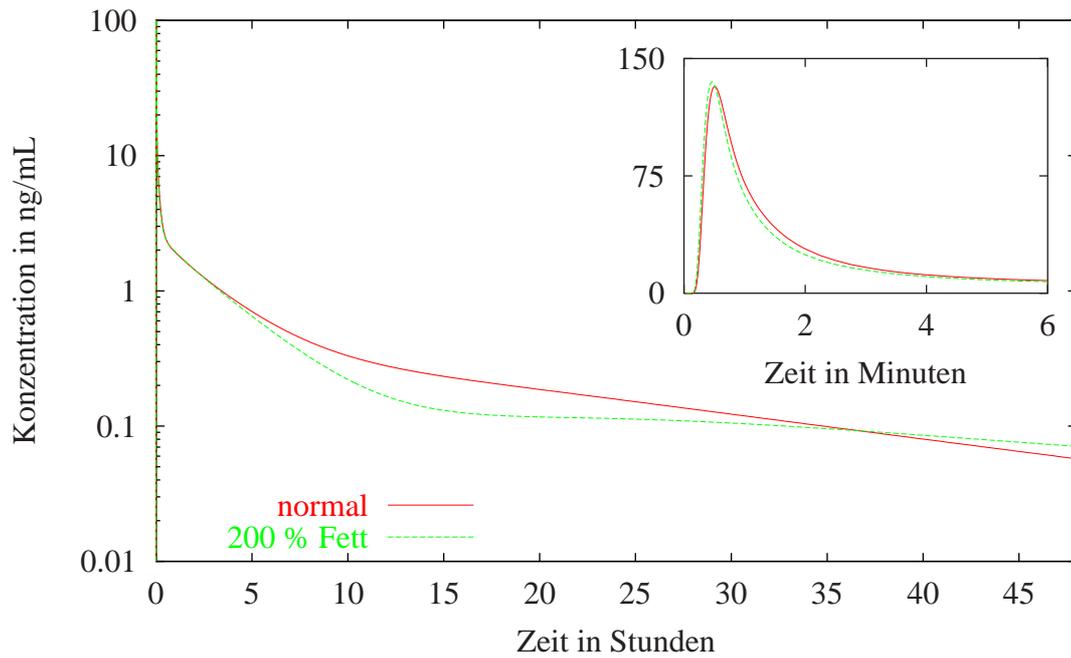


Abbildung 4.27: Vergleich des Konzentrationszeitverlaufs von Fentanyl mit unterschiedlichem Fettgewebeanteil nach intravenöser Bolusinjektion.

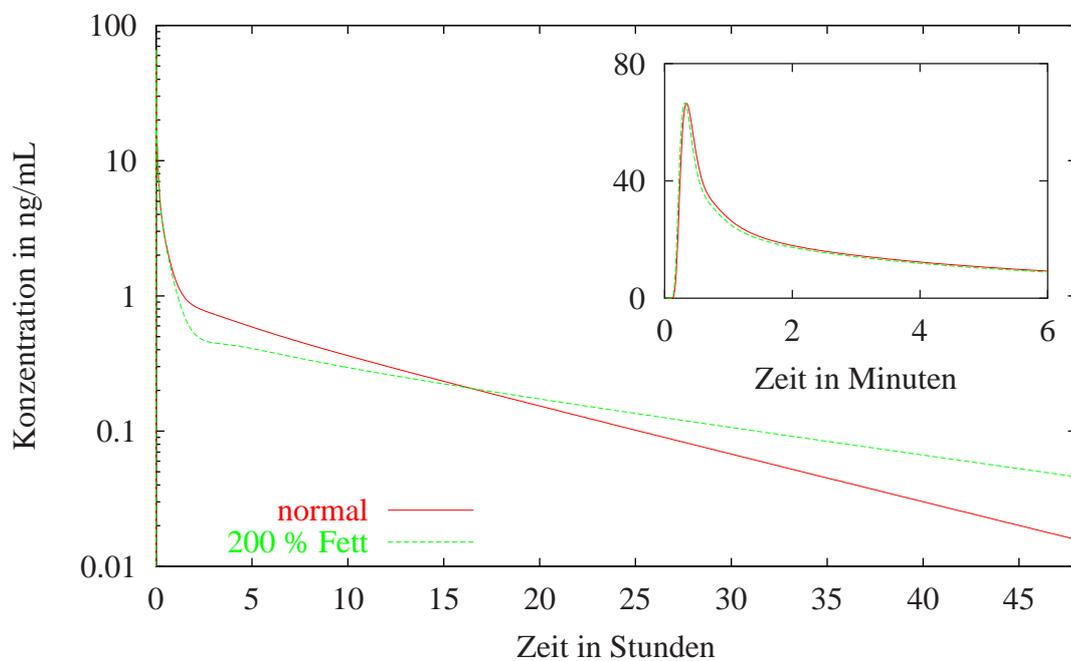


Abbildung 4.28: Vergleich des Konzentrationszeitverlaufs von Thiopental mit unterschiedlichem Fettgewebeanteil nach intravenöser Bolusinjektion.

### 4.3.7 Simulationen mit einem anormalen Diffusionsmodell

Der abschließende Abschnitt beschäftigt sich mit der Simulation extrem lipophiler Pharmaka. Ein Vergleich der Organmodelle 2-Phasen-Diffusion und anormale Diffusion erfolgt am Beispiel von PCB 153. Mit der anormalen Diffusion kann wahlweise nur a) das Fettgewebe, b) das Fettgewebe, das Skelett, die Muskulatur, die Organe Herz, und Lunge oder c) das Fettgewebe, das Skelett, das Muskelgewebe und alle Organe beschrieben werden. Alle Organe, die nicht ausgewählt wurden, werden mit dem 2-Phasen-Diffusionsmodell berechnet.

Als Beispiel wird eine Simulation eines Umweltunfalls durchgeführt. Koss (1994) berichtet über einen Unfall in „Yu Cheng“ (Taiwan), bei dem ein PCB-Gemisch aus einem defekten Wärmetauscher, der bei der Reisöl-Produktion eingesetzt wird, entwich. Er gibt eine durchschnittliche Aufnahme der PCB von 700 bis 1840 mg bei den Betroffenen Menschen an. Die Exposition mit den Giften betrug einige Wochen bis Monate. Direkt nach Expositionsende wurden im Blut 3 bis 1156  $\mu\text{g/L}$  gemessen. Sechs Monate später betrug die durchschnittliche Konzentration im Blut 12 bis 50  $\mu\text{g/L}$ .

Die Simulationen erfolgen mit zwei verschiedenen Clearance-Werten, erstens mit der von HBB (0,085 mL/min), und zweitens 74 mL/min. Dieser errechnet sich mit dem 2-Phasenmodell aus dem Verhältnis der Konzentrationswerte direkt nach Exposition und sechs Monate später. Die Clearance in der Simulation wird so lange variiert, bis sich das Verhältnis der Konzentrationen zu den gleichen Zeitpunkten einstellt, wie Koss (1994) es beobachtete. Für die Simulation werden eine Dosis von 1,26 g, entsprechend einer täglichen Dosis von 150  $\mu\text{g}$  pro kg Körpergewicht, über einen Zeitraum von 4 Monaten infundiert. Im Anschluß werden Simulationen mit verschiedenen Parametersätzen vorgestellt und verglichen. Die Simulationen mit dem 2-Phasenmodell werden mit einer Clearance von 0,085 mL/min und 74 mL/min durchgeführt. Die Werte der Parameter des Permeationsoberflächenproduktes und der relativen Gewebepartitionskoeffizienten werden aus Tabelle 4.21 übernommen. Die Rechnungen mit den anormalen Diffusionsmodell werden sowohl mit den Parametern aus Tabelle 4.21 als auch mit den Parametern aus Weiss (1999) (Abschnitt 4.3.4, zweiter Ansatz) durchgeführt.

Die Simulation ergibt: In der Initialphase nach Bolusinjektion mit dem dem 2-Phasenmodell mit unterschiedlicher Clearance ist in der Plasma-Konzentration kein Unterschied im Konzentrationszeitverlauf zu erkennen (Abb. 4.30, kleines Bild). Nach ca. zweieinhalb Stunden tritt ein Rezirkulationspeak auf. Die Infusion über vier Monate zeigt für den Konzentrationszeitverlauf eine Kinetik erster Ordnung. Durch die hohe Elimination im Fall  $CL = 74$  mL/min ist die maximale Konzentration nach der Infusion etwa zweieinhalbfach erniedrigt (Abb. 4.30).

Die zweite Simulationsanordnung variiert die eingesetzten Organmodelle. Der Vergleich erfolgt in Bezug auf das 2-Phasenmodell mit einer Clearance  $CL = 74$  mL/min. Alle in beiden Modellen vorhandenen Parameter erhalten dieselben Werte. Aus der Simulationsanordnung ergibt sich: Wird nur das Fettgewebe mit der anormalen Diffusion modelliert, können die Konzentrationszeitverläufe nach Bolusinjektion als identisch betrachtet werden (Abb. 4.29, kleines

Bild, die Kurve der Simulation mit dem 2-Phasenmodell wird vollständig durch die zweite überdeckt). Dieses Verhalten ändert sich, werden zusätzlich auch Herz, Muskel, Lunge und Skelett mit der anormalen Diffusion modelliert. Der Rezirkulationspeak kann in dieser Anordnung nicht mehr identifiziert werden. Derselbe Sachverhalt ergibt sich, wenn alle Gewebe durch die anormale Diffusion dargestellt werden (Abb. 4.29, kleines Bild). Die stärkere Bindung des Pharmakons an das Gewebe läßt sich gut anhand der Langzeitinfusion erkennen. Je mehr Organe durch die anormale Diffusion beschrieben werden, um so niedriger ist die erreichte Maximalkonzentration nach vier Monaten (Abb. 4.29). Die Kurven, bei denen mindestens ein Gewebe mit der anormalen Diffusion modelliert wird, zeigen ein rasches Abklingen, welches in eine terminale Phase mit geringer Steigung übergeht. Selbst nach 10 Jahren zeigen diese Modelle noch eine meßbare Konzentration und entsprechen damit den Berichten in der Literatur

Da mit den bisher gezeigten Simulationen die Daten nicht zufriedenstellend beschrieben werden können, folgen exemplarisch noch Simulationen mit einen geänderten Parametersatz (zweiter Ansatz). Die langsamere Verteilung der PCB in das Gewebe, bedingt durch das kleinere  $k$ , führt in der Initialphase nach Bolusinjektion zu einer mehr als zehnfachen Anfangskonzentration (Abb. 4.31, kleines Bild). Mit diesen Parametern ist die Maximalkonzentration nach Langzeitinfusion nur durch die Clearance bestimmt. Die Terminalephase ist weiterhin durch die unterschiedlichen Organmodelle bestimmt (Abb. 4.31). Die schwächere Bindung an das Gewebe führt auch zu einer mehr als hundertfachen Erniedrigung der Konzentration im Plasma.

Mit dem hier vorgestellten anormalen Diffusionsmodell wird die Möglichkeit eröffnet, Pharmaka mit einer extrem hohen Lipophilie zu beschreiben. Ein geeigneter Parametersatz für PCB 153 konnte allerdings nicht bereitgestellt werden, da die Datengrundlage hierfür nicht ausreichte. Zum einen lagen die Konzentrationswerte nur kummulativ mit einer sehr großen Streubreite vor (vgl. Koss (1994)), zum anderen wird davon ausgegangen, daß alle PCB Kongenere eine unterschiedliche Clearance besitzen. Dies wird durch die Tatsache untermauert, daß für einzelne Kongenere unterschiedliche Abbaupfade vorhanden sind. Um einen geeigneten Parametersatz bereitstellen zu können, müssen zumindest Konzentrations-Zeitwerte nach einzelnen Kongeneren verfügbar sein.

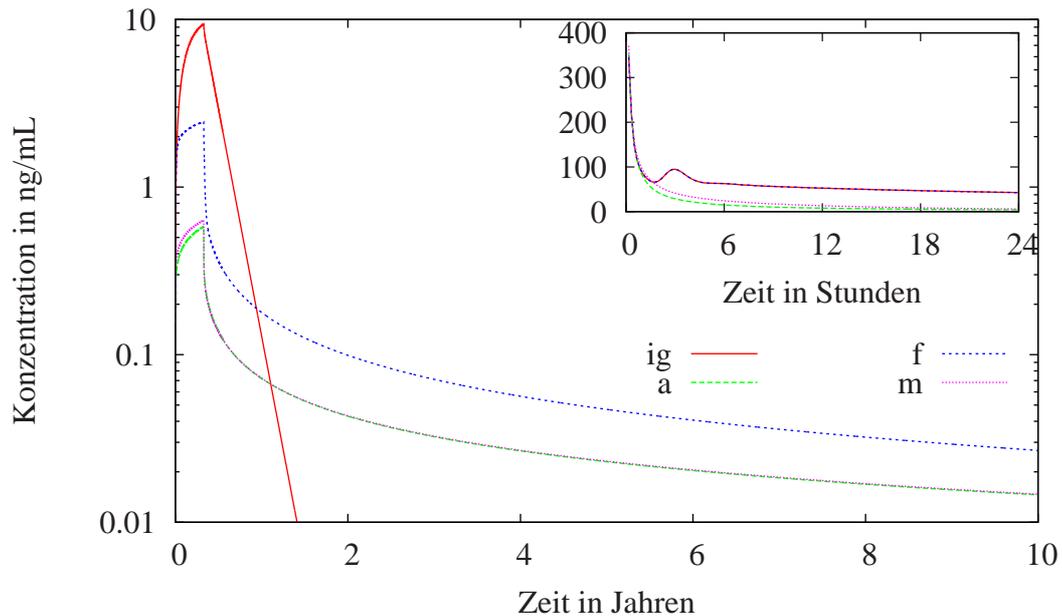


Abbildung 4.29: Vergleich der Simulationen für PCB 153 mit verschiedenen Organfunktionen und einer Clearance  $CL = 74 \text{ mL/min}$  bei einer Infusion über vier Monate. Die Parameter für die Simulation sind aus Tabelle 4.21 entnommen. Es bedeuten: *ig*: alle Organe werden mit der 2-Phasenmodell berechnet (ist identisch mit Abb. 4.30  $CL = 74$ ); *f*: wie *ig*, aber das Fettgewebe wird mit durch die anormale Diffusion ermittelt; *m*: wie *ig*, aber Fett, Herz, Muskel, Lunge und Skelett werden mit dem anormalen Diffusions-Modell simuliert; *a*: alle Organe werden durch die anormale Diffusion bestimmt. Die Maximalkonzentration der Simulationen, die mit der anormalen Diffusion gerechnet werden, ist am Ende der Infusion durch den sehr schnellen Übergang in das Gewebe bestimmt, je mehr Organe mit der anormalen Diffusion gerechnet werden, um so niedriger ist Konzentration.

Kleines Bild: Simulation einer Bolusinjektion mit den gleichen Parametern.

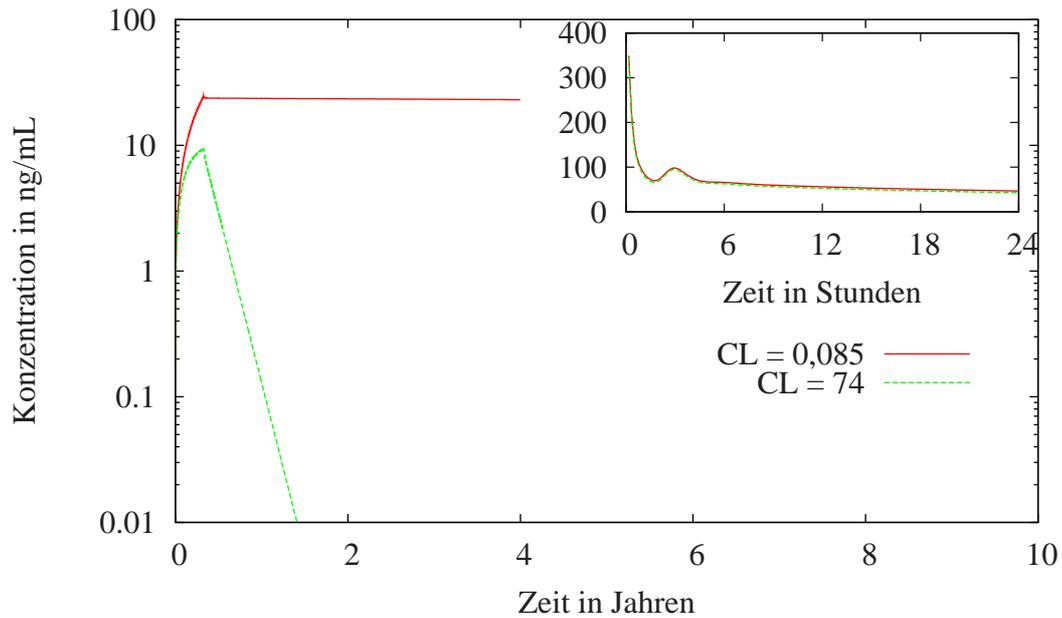


Abbildung 4.30: Vergleich der Simulationen für PCB 153 mit dem 2-Phasenmodell mit unterschiedlicher Clearance und einer Infusion über 4 Monate. Es wird mit einer Clearance von  $CL = 0,085$  mL/min und  $CL = 74$  mL/min gerechnet. Die hohe Clearance bewirkt eine sehr schnelle Elimination aus dem System. Mit der niedrigen Clearance, wie sie sich von HBB herleitet, wird das PCB nahezu nicht eliminiert.

Kleines Bild: Simulation einer Bolusinjektion mit den gleichen Parametern.

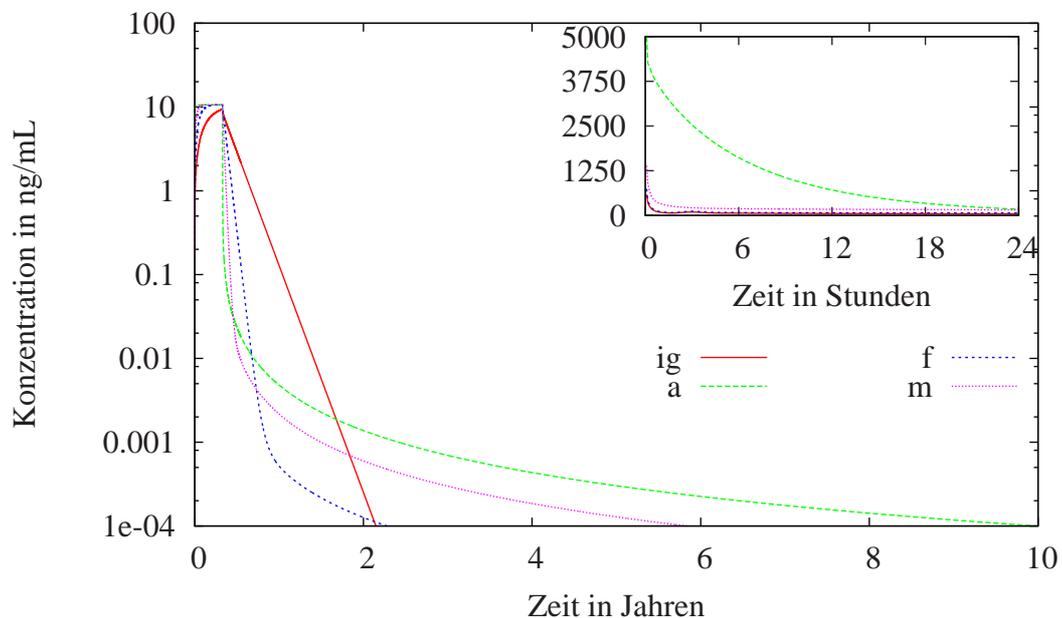


Abbildung 4.31: Vergleich der Simulationen für PCB 153 mit verschiedenen Organfunktionen und einer Clearance  $CL = 74$  mL/min bei einer Infusion über vier Monate. Es werden dieselben Simulationen wie in Abb. 4.29 durchgeführt, jedoch werden die Parameter der anormalen Diffusion aus Weiss (1999) übernommen.

Kleines Bild: Simulation einer Bolusinjektion mit den gleichen Parametern.

# Kapitel 5

## Zusammenfassender Ausblick der Arbeit

Die drei Schwerpunkte (invitro Experimente mit PCB und Diclofenac, Optimierung des experimentellen Designs und Ganzkörpersimulationsprogramm) der Arbeit zeigen, wie die mathematische Modellierung die Auswertung pharmakokinetischer Experimente unterstützt. Der erste Teil (Abschnitt 4.1) beinhaltet die Beschreibung pharmakokinetischer invitro und invivo Experimente mit PCB und Diclofenac mittels mathematischer Modelle. Im Vorfeld der invitro Diffusionsexperimente wird das Versuchsdesign durch die Sensitivitätsanalyse optimiert. Die mechanischen Randbedingungen der invitro Versuchsanordnung sowie deren Einfluß auf die anschließende Schätzbarkeit der Parameter werden analysiert und bewertet. Als Abschluß der Vorexperimente wird der Äquilibrationszeitraum für die eingesetzten PCB Kongenere in einer 5 %igen BSA wäßrigen Lösung bestimmt. Die Experimente mit Diclofenac werden zusätzlich mit einer mizellaren wäßrigen Lösung durchgeführt. Die in den invitro Diffusionsexperimenten bestimmten Konzentrationszeitdaten werden mit zwei (PCB) oder drei (Diclofenac) mathematischen Modellen analysiert. Der Vergleich der Modelle erfolgt über die Parameter, die in allen Modellen berechenbar sind.

Dieses Vorgehen zeigt: Alle Modelle können für die Parameterschätzung einer Einschichtdiffusion angewendet werden. Die asymmetrische Versuchsanordnung Mis-BSA kann mit allen drei mathematischen Modellen erfolgen. In allen Medien wird für Diclofenac keine Abhängigkeit von einer ungerührten Schicht festgestellt. Eine Mehrschichtdiffusion läßt sich nur mit der inversen GAUSS-Funktion und dem Diffusionsmodell beschreiben. Dabei wird für die Kongenere 28, 52 der PCB eine signifikante Abhängigkeit von der ungerührten Schicht vor der Membran festgestellt, was einer Mehrschichtdiffusion entspricht. Die inverse GAUSS-Funktion lieferte nur Ergebnisse, wenn einzelne Parameter fest vorgegeben sind. Daraus folgt, daß das Diffusionsmodell für die Beschreibung der invitro Diffusionsexperimente am besten geeignet ist. Ein invivo Pilotversuch mit PCB wird mittels numerischer Integration ausgewertet. Die Versuche weisen eine hohe interindividuelle Streuung auf, wie diese auch für Diclofenac beobachtet werden.

Der zweite Teil (Abschnitt 4.2) beschäftigt sich mit der Optimierung des experimentellen

Designs. Am Beispiel einer Bioverfügbarkeitsstudie wird gezeigt, wie der Informationsverlust, der durch ein reduziertes Sampling Schema entsteht, in gleicher Qualität durch die simultane Parameter Schätzung ausgeglichen werden kann. Die Sensitivitätsanalyse liefert die Information darüber, wie das Sampling Schema minimiert werden kann. Für eine Bioverfügbarkeitsstudie heißt dies, daß die Anzahl der Punktierungen reduziert wird. Dadurch verkleinert sich zwar nicht die Anzahl der Experimente, aber es vermindert den Umfang der erforderlichen Daten. In zwei Simulations-Studien wird dieses Ergebnis mit bekannten pharmakokinetischen Parametern in Bezug auf den Meßwertfehler und der interindividuelle Streuung analysiert und bestätigt. Die simultane Schätzung führt weiterhin dazu, daß in Bezug auf die Datenlage selbst kritische Datensätze geschätzt werden können. Als Konsequenz folgt daraus: Stehen von einem Probanden sowohl der intravenös als auch der orale Datensatz zur Verfügung ist eine simultane Schätzung des minimierten Sampling Schemas mit der maximum-likelihood-Methode durchzuführen.

Im abschließenden Teil (Abschnitt 4.3) wird ein erweitertes Ganzkörpersimulationsprogramm vorgestellt. Die in dieser Arbeit eingeführte graphische Benutzeroberfläche ermöglicht es, auf einfache Weise physiologische und pharmakokinetischen Parameter der Simulation zu variieren. Die hier durchgeführten Simulationen sollen die Leistungsfähigkeit des Modelles zeigen. Dies wird am Beispiel des Herzminutenvolumens und der Verdoppelung des Fettgewebes demonstriert. Es werden hier also pathologische Zustände des menschlichen Körpers simuliert. Die Erweiterung um die anormale Diffusion als Organmodell lassen sich extrem lipophile Substanzen modellieren. Es werden mögliche Parametersätze für PCB 153 diskutiert.

# Literaturverzeichnis

- [1] ANISSIMOV, Y. G. ; ROBERTS, M. S.: Diffusion modeling of percutaneous absorption kinetics: 1. Effects of flow rate, receptor sampling rate, and viable epidermal resistance for a constant donor concentration. In: *Journal of Pharmaceutical Sciences* 88 (1999), Nr. 11, S. 1201–1209
- [2] ANISSIMOV, Y. G. ; ROBERTS, M. S.: Diffusion modeling of percutaneous absorption kinetics: 1. Effects of flow rate, receptor sampling rate, and viable epidermal resistance for a constant donor concentration. In: *Journal of Pharmaceutical Sciences* 89 (2000), Nr. 1, S. 144
- [3] APELT, O. (Hrsg.): *Sämtliche Dialoge, Timaios*. zweite Auflage. Hamburg : Felix Meiner Verlag GmbH, 1993
- [4] BASS, L. ; POND, S. M.: The Puzzle of Rates of Cellular Uptake of Protein-Bound Ligand. In: PECILE, A. (Hrsg.) ; RESCIGNO, A. (Hrsg.): *Pharmacokinetics, Mathematical and Statistical Approaches to Metabolism and Distribution of Chemicals and Drugs* Bd. 145, 1987, S. 245–269
- [5] BATES, T. R. ; M. GIBALDI ; KANIG, J. L.: Rate of Dissolution of Griseofulvin and Hexestrol in Bile Salt Solutions. In: *Nature* 210 (1966), Nr. 5043, S. 1331–1333
- [6] BATES, T. R. ; M. GIBALDI ; KANIG, J. L.: Solubilizing Properties of Bile Salt Solutions I, Effect of Temperature and Bile Salt Concentration on Solubilization of Glutethimide, Griseofulvin, and Hexestrol. In: *Journal of Pharmaceutical Science* 55 (1966), S. 191–199
- [7] BJÖRKMAN, S. ; WADA, D. R. ; STANSKI, D. R.: Application of Physiologic Models to Predict the Influence of Changes in Body Composition and Blood Flows on the Pharmacokinetics of Fentanyl and Alfentanil in Patients. In: *Anesthesiology* 88 (1998), Nr. 3, S. 657–667
- [8] BJÖRKMAN, S. ; WADA, D. R. ; STANSKI, D. R. ; EBLING, W. F.: Comparative Physiological Pharmacokinetics of fentanyl and Alfentanil in Rats and Humans Based on Parametric Single-Tissue Models. In: *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 22 (1994), Nr. 5, S. 381–410

- [9] BODENHAM, A. ; PARK, G. R.: Alfentanil Infusions in Patients Requiring Intensive Care. In: *Clinical Pharmacokinetics* 15 (1988), S. 216–226
- [10] BOSS, N. u. a. ; HOFFMANN–LA ROCHE AG (Hrsg.) ; URBAN & SCHWARZENBERG (Hrsg.): *Roche–Lexikon Medizin*. Zweite. neubearb. Aufl. München; Wien; Baltimore : Urban und Schwarzenberg, 1987
- [11] BRUNN, J.: *Photoakustische Untersuchungen mit einem Fourier–Spektralphotometer*. Aachen, Technische Hochschule, Math.–Naturwissenschaftliche Fakultät, Dissertation, 1987
- [12] BRUNNER, E.: Reaktionsgeschwindigkeit in heterogenen Systemen. In: *Zeitschrift für Physikalische Chemie* 47 A (1904), S. 56–102. – Auszug aus der Göttinger Dissertation 1903
- [13] CHATELAIN, P. ; LARUEL, R.: Amiodarone Partitioning with Phospholipid Bilayers and Erythrocyte Membranes. In: *Journal of Pharmaceutical Sciences* 74 (1985), Nr. 7, S. 783–784
- [14] CORDERO, J. A. ; ALARCON, L. ; ESCRIBANDO, E. ; OBACH, R. ; DOMENECH, J.: A Comparative Study of the Transdermal Penetration of a Series of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs. In: *Journal of Pharmaceutical Sciences* 86 (1997), Nr. 4, S. 503–507
- [15] D'AMORE, L. ; LACCETTI, G. ; MURLI, A.: Algorithm 796: A Fortran Software Package for the Numerical Inversion of the Laplace Transform Based on a Fourier Series Method. In: *ACM Transactions on Mathematical Software* 25 (1999), Nr. 3, S. 306–315
- [16] D'AMORE, L. ; LACCETTI, G. ; MURLI, A.: An Implementation of a Fourier Series Method for the Numerical Inversion of the Laplace Transform. In: *ACM Transactions on Mathematical Software* 25 (1999), S. 279–305
- [17] D'ARGENIO, D.Z. ; SCHUMITZKY, A.: A Program Package for Simulation and Parameter Estimation in Pharmacokinetics. In: *Computer Programs in Biomedicine*. 9 (1979), S. 115–134
- [18] DE SMIDT, J. H. ; OFFRINGA, J. C. A. ; CROMMELIN, D. J. A.: Dissolution Rate of Griseofulvin in Bile Salt Solutions. In: *Journal of Pharmaceutical Sciences* 80 (1991), Nr. 4, S. 399–401
- [19] DULFER, W. J. ; BAKKER, M. W. ; GOVERS, H. A. J.: Micellar Solubility and Micell/Water Partitioning of Polychlorinated Biphenyls in Solutions of Sodium Dodecyl Sulfate. In: *Environmental Science and Technology* 29 (1995), S. 985–992

- [20] DWORECKI, K. ; KOSZTOLOWICZ, T. ; MRÓWCZY'NSKI, ST. ; WASIK, S.: Time evolution of near membrane layers. In: *The European Physical Journal E* 3 (2000), Nr. 4, S. 389–394
- [21] EBLING, W. F. ; WADA, D. R. ; STANSKI, D. R.: From Piecewise to full Physiologic Pharmacokinetic Modeling: Applied to Thiopental Disposition in the Rat. In: *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 22 (1994), Nr. 4, S. 259
- [22] ESTLER, C.-J. (Hrsg.): *Pharmakologie und Toxikologie*. 4. Stuttgart, New York : Schattauer, 1995
- [23] EWERS, U. ; WITTSIEPE, J. ; BARTH, G. ; BORK, M. ; KAESLER, C. ; LEIDEL, J. ; STROBEL, K.: Blutuntersuchungen auf PCB bei Lehrerinnen und Lehrern einer stark PCB-belasteten Schule. In: *Gesundheitswesen* 60 (1998), Nr. 6, S. 357–362
- [24] FIEDLER, H. ; LAU, CH. ; SCHULZ, S. ; WAGNER, C. ; HUTZINGER, O. ; VON DER TRENCK, K. T. ; UMWELTSCHUTZ BADEN-WÜRTTEMBERG, Landesanstalt für (Hrsg.): Stoffbericht Polychlorierte Biphenyle (PCB) / Lehrstuhl für Ökologische Chemie und Geochemie, Universität Bayreuth. Griesbachstr. 1, 76185 Karlsruhe, 1995 (16/95). – Stoffbericht
- [25] FORTH, W. (Hrsg.) ; HENSCHLER, D. (Hrsg.) ; RUMMEL, W. (Hrsg.) ; STARKE, K. (Hrsg.): *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 7. Heidelberg, Berlin, Oxford : Spektrum Akademischer Verlag GmbH, 1996
- [26] FÜRST, W. ; NEUBERT, R. ; REPEL, L.: Arzneimittelpermeation durch künstliche Lipoidmembranen, zehnte Mitteilung: Einfluß von Diffusionsschichten auf den Permeationsprozeß. In: *Pharmazie* 35 (1980), Nr. 2, S. 106–109
- [27] FÜRST, W. ; NEUBERT, R. ; STÜTZ, B. ; BUCKMANN, B. ; RAPPEL, L.: Möglichkeiten zur in-vitro-Beurteilung der Bioverfügbarkeit. 3: Mitteilung: Funktionsweise eines neu konstruierten Resorptionsmodells und damit erhaltene Ergebnisse. In: *Pharmazie* 37 (1982), S. 571–577
- [28] GABRIO, T. ; SCHWENK, M.: PCB-Konzentration im Blut von Erwachsenen: Einfluß von Innenraumbelastungen und anderen Faktoren / Sozialministerium Baden-Württemberg. Landes Gesundheitsamt Baden-Württemberg, Wiederholdstr. 15, 70174 Stuttgart, 1997. – Abschlußbericht
- [29] GESCHKE, D.: Ein Multiorgan-Rezirkulationsmodell zur Untersuchung hämodynamischer Einflüsse auf die Dispositionskinetik / Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Sektion Pharmakokinetik. Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Magdeburger Str. 4, 06097 Halle, 1996. – Abschlußbericht

- [30] GRAVES, D. A. ; LOCKE, JR., CH. S. ; MUIR, K. T. ; MILLER, R. P.: The Influence of Assay Variability on Pharmacokinetic Parameter Estimation. In: *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 17 (1989), Nr. 5, S. 571–592
- [31] HAASE, H.: *Untersuchungen von Wechselwirkungen zwischen dem  $\beta$ -Blocker Propranolol-HCl und Pektinen und Gallensäuren*. Fachbereich Pharmazie, Institut für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie, Martin Luther Universität Halle–Wittenberg, Diplomarbeit, 1994
- [32] HARDMAN, J. G. (Hrsg.); GILMAN, A. G. (Hrsg.); LIMBIRD, L. E. (Hrsg.): *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9. The McGraw–Hill Companies, Inc., 1996
- [33] HARMSSEN, S.: Explosion in einem Chemiewerk bei Seveso in Norditalien / Deutschlandfunk–Radio Berlin. <http://www.dradio.de/cgi-bin/user/fm1004/es/neukalenderblatt/1418.htm> : Deutschlandfunk–Radio Berlin, 2001. – Forschungsbericht. Radiobeitrag am 20.7.2001
- [34] HOMER, T. D. ; STANSKI, D. R.: The Effect of Increasing Age on Thiopental Disposition and Anesthetic Requirement. In: *Anesthesiology* 62 (1985), Nr. 6, S. 714–724
- [35] JESCHKE, O.: Dokumentation zum Programmpaket Circulation / Institut für Pharmakologie und Toxikologie. Martin–Luther–Universität Halle–Wittenberg, Magdeburger Str. 4, 2000. – Dokumentation
- [36] JESCHKE, O. ; STEDTLER, C.: Dokumentation zum Programm Sensitiv / Institut für Pharmakologie und Toxikologie. Martin–Luther–Universität Halle–Wittenberg, Magdeburger Str. 4, 1998. – Dokumentation
- [37] KEDEM, O. ; KATCHALSKY, A.: A Physical Interpretation of the Phenomenological Coefficients of Membran Permeability. In: *Journal of general Physiology* 45 (1961), S. 143–179
- [38] KEDEM, O. ; KATCHALSKY, A.: Permeability of Composite Membranes, Part 3.— Series Array of Elements. In: *Transactions of the Faraday Society* 59 (1963), S. 1941–1953
- [39] KOSS, G.: *Polychlorierte Biphenyle (PCB)*. Kap. Polychlorierte Biphenyle (PCB), S. 417–434. In: MARQUARDT, H. (Hrsg.) ; SCHÄFER, S. G. (Hrsg.): *Lehrbuch der Toxikologie*. Heidelberg, Berlin : Spektrum Akademischer Verlag, 1994
- [40] KUHLMANN, O.: *Trennverfahren für die Wirkstoffanalyse und deren Einsatz in der Pharmakokinetik*, Martin–Luther–Universität Halle–Wittenberg, Dissertation, 1998

- [41] KUHLMANN, O. ; JESCHKE, O. ; WEISS, M.: *Effect of bile acid on membrane permeation and absorption kinetics of diclofenac*. Poster auf der Jahres Konferenz in Mainz. 2000
- [42] LACY, C. ; LIPSY, R. J., Armstrong, L. L. and ; LANCE, L. L.: *Drug Information Handbook*. Lexi Comp, 1993
- [43] LEHN, J. ; WEGMANN, H.: *Einführung in die Statistik*. Stuttgart : Teubner, 1985 (Teubner-Studienbücher: Mathematik)
- [44] LERCHE, D. ; BECKER, R. ; FALK, M. ; FÜRST, W.: Arzneimittelpermeation durch künstliche Lipoidmembranen. 9. Mitteilung: Untersuchungen zum Auftreten von Diffusionsschichten in Abhängigkeit von der Membranzusammensetzung und den permeierenden Arzneimitteln. In: *Pharmazie* 31 (1976), Nr. 11, S. 800–4
- [45] LOOBY, M. ; WEISS, M.: Accuracy of Noncompartmental Pharmacokinetic Parameters Estimated from Bolus Injection and Steady–State Infusion Data. In: *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 23 (1995), Nr. 6, S. 635–649
- [46] LOTH, H.: Grundlagen des intra– und transdermalen Transports von Arzneistoffen, II. In: *Acta Pharmaceutica Technologica* 33 (1987), Nr. 1, S. 3–14. – Review
- [47] LÖTSCH, J. ; WEISS, M. ; AHNE, G. ; KOBAL, G. ; GEISSLINGER, GERD: Pharmacokinetic modeling of M6G formation after oral administration of morphine in healthy volunteers. In: *Anesthesiology* 90 (1999), Nr. 4, S. 1026–38
- [48] LÖTSCH, J. ; WEISS, M. ; KOBAL, G. ; GEISSLINGER, G.: Pharmacokinetics of morphine–6–glucuronide and its formation from morphine after intravenous administration. In: *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 63 (1998), Nr. 6, S. 629–639
- [49] LÜKE, H. D.: *Signalübertragung: Grundlagen der digitalen und analogen Nachrichtenübertragungssysteme*. 7. Berlin, Heidelberg : Springer, 1999
- [50] MICROMATH RESEARCH, : *Scientist for Windows 2.0, User Manual*. 2.0. Saint Louis, Missouri 63144:
- [51] MRASEK, V.: Spätes Aus für das dreckige Dutzend / Deutschlandfunk. <http://www.dradio.de/cgi-bin/user/fm1004/es/neu-forschak/24485.html> : Deutschlandfunk, 2001. – Forschungsbericht. Radiobeitrag am 5.7.2001
- [52] MURLI, A. ; RIZZARDI, M.: Algorithm 682: Talbot’s Method for the Laplace Inversion. In: *ACM Transaction on Mathematical Software* 16 (1990), Nr. 2, S. 158–168

- [53] NERNST, W.: Theorie der Reaktionsgeschwindigkeit in heterogenen Systemen. In: *Zeitschrift für Physikalische Chemie* 47 A (1904), S. 52–55
- [54] NEUBERT, R.: *Zur Bewertung des Permeations- und Resorptionsverhaltens von Arzneimitteln durch Modellmethoden*. Halle (Saale), Martin Luther Universität Halle–Wittenberg, Dissertation, 1978
- [55] NEUBERT, R. ; FÜRST, W. ; WURSCI, B.: Arzneimittelpermeation durch künstliche Lipoidmembranen, 20. Mitteilung: Eignung multilamellarer Liposomen zur Beurteilung der Arzneistofftransportes. In: *Pharmazie* 42 (1987), S. 102–103
- [56] NOYES, A. A. ; WHITNEY, W. R.: Ueber die Auflösungsgeschwindigkeit von festen Stoffen in ihren eigenen Lösungen. In: *Zeitschrift für physikalische Chemie* 23 (1897)
- [57] OHTORI, A. ; TOJO, K.: In Vivo/inVitro Correlation of Inravitreial Delivery of Drugs with the Help of Computer Simulation. In: *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 17 (1994), Nr. 2, S. 283–290
- [58] ONO, N. ; HIRAYAMA, F. ; ARIMA, H. ; UEKAMA, K.: Determination of stability constant of  $\beta$ -cyclodextrin complexes using the membrane permeation technique and the permeation behavior of drugcompeting agent- $\beta$ -cyclodextrin ternary systems. In: *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 8 (1999), Nr. 2, S. 133–139
- [59] PARHAM, F. M. ; KOHN, M. C. ; MATTHEWS, H. B. ; DEROSA, C. ; PORTIER, C. J.: Using Structural Information to Create Physiologically Based Pharmacokinetic Models for All Polychlorinated Biphenyls I: Tissue:Blood Partitions Coefficients. In: *Toxicology and Applied Pharmacology* 2 (1997), Nr. 144, S. 340–347
- [60] PARHAM, F. M. ; PORTIER, C. J.: Using Structural Information to Create Physiologically Based Pharmacokinetic Models for All Polychlorinated Biphenyls II: Rates of Metabolism. In: *Toxicology and Applied Pharmacology* 1 (1998), Nr. 151, S. 110–116
- [61] PARRY, G. E. ; BUNGE, A. L. ; SILCOX, G. D. ; PERSHING, L. K. ; PERSHING, D. W.: Percutaneous Absorption of Benzoic Acid Across Human Skin. I. *In Vitro* Experiments and Mathematical Modeling. In: *Pharmaceutical Research* 7 (1990), Nr. 3, S. 230–236
- [62] PURVES, R. D.: Bias an Variance of Extrapolated Tails for Area-Under-the-Curve (AUC) and Area-Under-the-Moment-Curve (AUMC). In: *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 20 (1992), Nr. 5, S. 501–510
- [63] PURVES, R. D.: Numerical Estimation of the Noncompartmental Pharmacokinetic Parameters Variance ane Coefficient of Variation of Residence Times. In: *Journal of Pharmaceutical Sciences* 83 (1992), Nr. 2, S. 202–205

- [64] PURVES, R. D.: Optimum Numerical Integration Methods for Estimation of Area–Under–the–Curve (AUC) and Area–Under–the–Moment–Curve (AUMC). In: *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 20 (1992), Nr. 3, S. 211–226
- [65] PURVES, R. D.: Methods for Estimating Pharmacokinetic Parameters Should Be Thoroughly Tested. In: *Journal of Pharmaceutical Sciences* 82 (1993), Nr. 10, S. 1064–1066
- [66] RAU, L. A. ; VODICNIK, M. J.: Mechanisms for the release and redistribution of 2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl (6-CB) from hepatic tissues in the rat. In: *Fundamental and Applied Toxicology* 7 (1986), Nr. 3, S. 494–501
- [67] RAUSCHER, K. ; VOIGT, J. ; WILKE, I. ; WILKE, K.–TH.: *Chemische Tabellen und Rechentafeln für die analytische Praxis*. 6. Leipzig : VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, 1977. – 146 S
- [68] RESCIGNO, A. ; SERGRE, G.: *Theorie of Compartment System Models*. Kap. 4, S. 75–137. In: *Drug and Tracer kinetics*, Waltham, Mass, 1966
- [69] REYNOLDS, J. E. F. (Hrsg.): *Martindale - The Extra Pharmacopoeia*. 31. London : Deutscher Apotheker Verlag, 1996
- [70] RICHTER, H. ; MORBITZER, B. ; FINK, R. ; WINTER, K. ; FÜRST, W.: Zur Bestimmung der Schichtdicke von künstlichen Membranen. In: *Pharmazie* 33 (1978), Nr. 8, S. 523–525
- [71] RING, C.: *Beiträge zur mathematischen Modellierung der hepatischen Pharmakokinetik*, Martin–Luther–Universität Halle–Wittenberg, Dissertation, 2000
- [72] RING, A.: *Einfluß der Modellwahl auf die Zuverlässigkeit der Schätzung pharmakokinetischer Parameter*, Martin–Luther–Universität Halle–Wittenberg, Dissertation, 2001
- [73] ROBERTS, M. S. ; ANISSIMOV, Y. G. ; GONSALVEZ, R. A.: *Mathematical Models in Percutaneous Absorption*. Kap. 1, S. 3–55. In: *Percutaneous Absorption Drugs–Cosmetics–Mechanisms–Methodology*, Marcel Dekker, Inxc., 1999
- [74] SCHALLA, M. ; WEISS, M.: Pharmacokinetic curve fitting using numerical inverse Laplace transformation. In: *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 7 (1999), S. 305–309
- [75] SCHWAB, A. J. ; GORESKY, C. A.: Hepatic uptake of protein–bound ligands: effect of an unstirred Disse space. In: *American Journal Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology* 270 (1996), S. G869–G880

- [76] SCHWARZ, M. A.: *Charakterisierung von Wechselwirkungen zwischen Wirkstoffen und Gallensalzmizellen mittels mizellarer elektrokinetischer Affinitätschromatographie (MEAC)*. Halle (Saale), Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Dissertation, 1998
- [77] SHEINER, L. B. ; BEAL, S. L.: Some Suggestions for Measuring Predictive Performance. In: *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 9 (1981), Nr. 4, S. 503–512
- [78] SODA, S. ; HEINZLE, E. ; FUJITA, M.: Modeling and Simulation of Competition Between Two Microorganisms for a Single Inhibitory Substrate in a Biofilm Reactor. In: *Biotechnology and Bioengineering* 66 (1999), Nr. 4, S. 258–264
- [79] SPEIGHT, T. M. (Hrsg.) ; HOLFORD, N. H.G. (Hrsg.): *Avery's: Drug Treatment*. 4. Auckland, Chester, Frankfurt, Honkong : Adis Internation, 1997
- [80] TALBOT, A.: The Accurate Numerical Inversion of Laplace Transforms. In: *Journal of the Institute for Mathematics and Applications* 23 (1979), S. 97–120
- [81] THOMASETH, K. ; COBELLI, C.: Parameter information content during model identification experiments. In: LINKENS, D. A. (Hrsg.) ; CARSON, E. (Hrsg.): *Modelling and Control in Biomedical Systems*. Elsevier, 1997, S. 107–112
- [82] THOMASETH, K. ; COBELLI, C.: Generalized sensitivity functions in physiological system identification. In: *Annals of Biomedical Engineering* 27 (1999), Nr. 5, S. 607–616
- [83] TUEY, D. B. ; MATTHEWS, H. B.: Distribution and Excretion of 2,2',4,4',5,5'-Hexabromobiphenyl in Rats and Man: Pharmacokinetic Model Predictions. In: *Toxicology and Applied Pharmacology* 53 (1980), S. 420–431
- [84] WEISIGER, R. A.: *The Role of Albumin Binding in Hepatic Organic Anion Transport*. Kap. 12, S. 171–196. In: N. TAVOLONI (Hrsg.) ; P. D. BERK (Hrsg.): *Hepatic Transport and Bile Secretion: Physiology and Pathophysiology*. New York : Raven Press, Ltd., 1993
- [85] WEISIGER, R. A. ; POND, S. M. ; BASS, L.: Albumin enhances unidirectional fluxes of fatty acid across a lipid-water Interface: theory and experiments. In: *American Journal Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology* 257 (1989), S. G904–G916
- [86] WEISS, M.: A note on the role of generalized inverse Gaussian distributions of circulatory transit times in pharmacokinetics. In: *Journal of Mathematical Biology* 20 (1984), S. 95–102
- [87] WEISS, M.: *Theoretische Pharmakokinetik*. Berlin : Verlag Gesundheit GmbH, 1990
- [88] WEISS, M.: The relevance of residence time theory to pharmacokinetics. In: *European Journal of Clinical Pharmacology* 43 (1992), S. 419–422

- [89] WEISS, M.: A Novel Extravascular Input Function for the Assessment of Drug Absorption in Bioavailability Studies. In: *Pharmaceutical Research* 13 (1996), Nr. 10, S. 1547–1553
- [90] WEISS, M.: Pharmacokinetics in organs and the intact body: model validation and reduction. In: *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 7 (1998), S. 119–127
- [91] WEISS, M.: The Anomalous Pharmacokinetics of Amiodarone Explained by Nonexponential Tissue Trapping. In: *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 27 (1999), Nr. 4, S. 383–396
- [92] WEISS, M. ; GESCHKE, D.: *Estimation and Model Selection in Pharmacokinetics: The Effect of Model Misspecification*. S. 123–127. In: LINKENS, D. A. (Hrsg.) ; CARSON, E. (Hrsg.): *Modelling and Control in Biomedical Systems*. Amsterdam : Elsevier, 1997
- [93] WEISS, M. ; HÜBNER, G. H. ; HÜBNER, I. G. ; TEICHMANN, W: Effects of cardiac output on disposition kinetics of sorbitol: recirculatory modelling. In: *British Journal of Clinical Pharmacology* 41 (1996), S. 261–268
- [94] WEISS, M. ; ROBERTS, M. S.: Tissue Distribution Kinetics as Determinant of Transit Time Dispersion of Drugs in Organs: Application of a Stochastic Model to the Rat Hindlimb. In: *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* 24 (1996), Nr. 2, S. 173–196
- [95] WEISS, M. ; ROELSGAARD, K. ; BENDER, D. ; KEIDING, S.: Determinants of [13N]ammonia kinetics in hepatic PET experiments: a minimal recirculatory model. In: *European Journal of Nuclear Medicine* 29 (2002), Nr. 12, S. 1648–1656
- [96] WYSS, P. A. ; MÜHLEBACH, S. ; BICKEL, M. H.: Pharmacokinetics of 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (6-CB) in rats with decreasing adipose tissue mass. I. Effects of restricting food intake two weeks after administration of 6-CB. In: *Drug Metabolism and Disposition* 10 (1982), Nr. 6, S. 657–661
- [97] ZHAROV, V. P. ; LETOKHOV, V. S.: *Laser Optoacoustic Spectroscopy*. Berlin, Heidelberg : Springer, 1986

# Anhang A

## Verwendete Software

Standard Office Produkte für Windows und Linux.

Diese Arbeit wurde mit  $\text{teTeX}$  und dem Makropacket  $\text{L}^{\text{A}}\text{T}_{\text{E}}\text{X}2_{\epsilon}$  unter Linux geschrieben.

Die Darstellung der Graphen erfolgte mit gnuplot 3.7 unter Linux.

Die Parameteranpassung erfolgte mit SCIENTIST (MicroMath Scientific Software, Salt Lake City, Utah 84121) und adapt 2.4 D'Argenio, D.Z. und Schumitzky, A. (1979).

Die entwickelten C und C++ Programme wurden mit dem egcs-2.91.66 unter Linux, mit dem gcc 2.7.2.2 für Solaris und dem cygnus gcc 2.95.2 für Win95/WinNT (nur Pentium und höher) übersetzt.

Die Fortran Programme wurden mit dem g77 für Linux Version 0.5.24-19981002, unter Solaris mit SUN eigenen und unter Win95/WinNT mit dem DIGITAL Visual Fortran übersetzt.

Die Graphische Oberfläche für das Ganzkörpersimulationprogramm circulation wurde in Tcl-Tk 8.0 geschrieben.

Mathematisch-analytische Transformationen wurden unter Maple V Release 5 (Waterloo Maple, Inc.) unter Solaris durchgeführt.

Die Statistik wurde mit Sigma Stat (SPSS Inc. 444 N. Michigan Avenue, Chicago, IL, 60611) und mit Student Systat durchgeführt.

Des weiteren wurden die Programme sensitive (im Rahmen dieser Arbeit entwickelt) und circulation angewendet.

## A.1 Programm „Circulation“

Das Programm „Circulation“ ermöglicht Simulationen von Konzentrations–Zeit–Kurven. Das Pharmakon wird dabei intravenös appliziert und arteriell aufgenommen. Das Programm wurde als Bestandteil dieser Arbeit in die Sprache C++ übertragen und ist in seiner Funktionalität erweitert worden.

### A.1.1 Graphische Benutzeroberfläche des Programms „Circulation“

Das Programm Circulation erhält im Rahmen dieser Arbeit eine graphische Oberfläche. Sie erleichtert die Bedienung, wenn nur wenige Parameter geändert werden sollen. Gleichzeitig ist das Programmpaket jetzt auf den Plattformen Solaris (SPARC), Linux (Intel) und WinNT/Win95 verfügbar. Die graphische Oberfläche gliedert sich in drei Fenster, der Haupt- bzw. Steueroberfläche, die Eingabe von Organdaten und die Generierung von Sampling Schemata. Im Hauptfenster wird der Ausgabedateinamen (Pharmakon), der absoluten Blutfluß durch die Arterie, die intrinsische Clearance der Leber, die Dosis des Medikamentes und die Dauer der Infusion festgelegt.

Während der Installation kann die Sprache der Texte festgelegt werden. Zur Zeit verfügbar sind Deutsch und Englisch.

In dem Menü „Modell“ kann zwischen den verschiedenen mathematischen Organmodellen, die das Programm unterstützt, gewählt werden. Diese sind

- zwei–Phasenmodell
- zwei–Kompartimentmodell
- anormale Diffusion nur Fettgewebe
- anormale Diffusion des Fettgewebes, des Skeletts und der Organe Lunge, Leber, Herz, Muskel
- anormale Diffusion für alle Organe

Dem „zwei–Phasenmodell“ liegt eine doppelte inverse GAUSS–Funktion zu Grunde.

Die Schaltflächen „Organ Daten anzeigen“ und „Sampling Schema anzeigen“ öffnen zwei neue Fenster, in denen die Daten geändert werden können.

In dem Fenster „Organ Daten“ können die Daten aus Tabelle C.3 eingegeben und bearbeitet werden. In den Spalten 2 – 5 stehen die vom jeweiligen Pharmakon abhängigen Werte.

Im Fenster „Samplingschema“ können Probenentnahme–Zeitpunkte generiert werden. Es stehen lineare, quadratische und logarithmische Funktionen für die Erzeugung zur Verfügung. Das Schema wird nach dem Aktivieren der Schaltfläche erzeugt.

Mit der Schaltfläche „Simulation beginnen“ wird das Programm circulation mit den entsprechenden Kommandozeilen Parametern aufgerufen.



Abbildung A.1: Hauptfenster der graphischen Benutzeroberfläche des Programms Circulation.

### A.1.2 Erzeugen einer Simulation

- Organdaten laden. Das Feld Pharmakon ist gleichzeitig der Dateiname, mit dem die Konzentrations–Zeit Werte gespeichert werden.
- Der Knopf „Organ Daten“ im Hauptfenster öffnet das Fenster „Organ Daten“. In diesem können die Parameter für die einzelnen Organe geändert werden. Zu beachten ist, daß die Summe der relativen Flüsse durch das Körpersystem 100 % beträgt.
- Sampling–Schema laden oder erzeugen. Falls das Sampling–Schema erzeugt werden soll, müssen sowohl der Anfangs– und Endzeitpunkt als auch die Anzahl der Datenpunkte entsprechend gesetzt werden, und durch den Druck auf „linear“, „kubisch“ oder „logarithmisch“ wird ein aus linearen, kubischen oder logarithmischen Zeitabständen bestehendes Sampling–Schema generiert. Um die Anzeige zu aktualisieren, muß der Knopf „Sampling Schema“ im Hauptfenster erneut betätigt werden.
- Simulation beginnen.

Organ	Vb (mL)	CV <sup>2</sup> _1	CV <sup>2</sup> _2	p	v	d	PS (mL/min)	Q (%)
Lunge	244.4	0.25	0.00	1.00	1.02	100	10810.00	100.00
Aterie	767.0	0.10	0.00	1.00	0.00	100	0.000000	100.00
Vene	2950.0	0.80	0.00	1.00	0.00	100	0.000000	100.00
Gehirn	43.4	0.80	0.00	1.00	5.63	100	0.000000	12.00
Herz	85.8	0.80	0.00	1.00	2.25	100	0.000000	4.04
Muskel	780.0	0.80	0.80	0.46	16.48	100	4200.000	17.44
Haut	62.7	0.80	0.00	1.00	13.42	100	132.0000	6.06
Skelett	294.5	0.80	0.00	1.00	18.07	100	1395.000	9.49
Fett	475	0.80	0.00	1.00	126.50	100	2250.000	5.36
Niere	40.3	0.80	0.00	1.00	7.90	100	145.7000	18.97
Hoden	4.4	0.80	0.00	1.00	29.52	100	19.25000	0.28
Leber	486.0	0.80	0.00	1.00	3.87	100	0.000000	6.89
Milz	30.6	0.80	0.00	1.00	5.13	100	27.00000	3.31
Intestine	40.8	0.80	0.00	1.00	42.90	100	216.0000	15.24
Pankreas	3.4	0.80	0.00	1.00	38.92	100	37.00000	0.92

Abbildung A.2: Fenster zur Eingabe der organspezifischen Daten der graphischen Benutzeroberfläche des Programms Circulation.

Sampling Scheme	Value
linear	0.0
kubisch	0.25
logarithmisch	1.0
Beginn	0.0
Ende	100.0
Anzahl	21.0
	0.0
	0.25
	1.0
	2.25
	4.0
	6.25
	9.0
	12.25
	16.0
	20.25

Abbildung A.3: Fenster zur Generierung von Sampling Schemata der graphischen Benutzeroberfläche des Programms Circulation.

# Anhang B

## Messungen an der Mechanik des Versuchsaufbaues

Die Messungen der Vibrationsintensität erfolgte an den in Abbildung 4.1 gezeigten Meßpunkten in Pfeilrichtung. Die Messung wurde unter Versuchsbedingungen durchgeführt. Dies bedeutet, daß die Kammern mit Wasser gefüllt sind und in den zur Temperierung verwendeten Wasserbehälter eingetaucht sind. Die Versuche wurden bei Zimmertemperatur durchgeführt. Die Temperaturabhängigkeit der Viskosität des Wassers wurde nicht berücksichtigt.

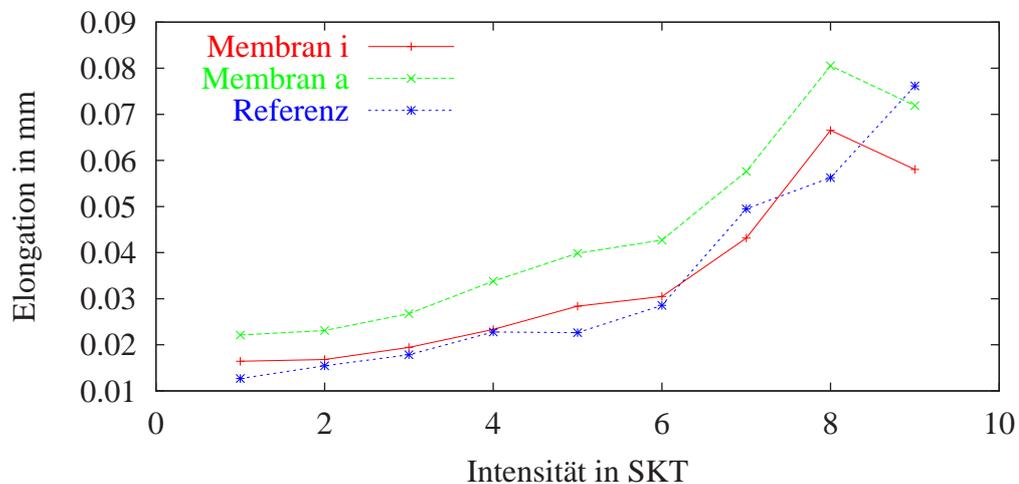


Abbildung B.1: Die Vibrationsamplitude in mm bei 50 Hz ist in Abhängigkeit der Skaleneinteilung des Laborrüttlers dargestellt.

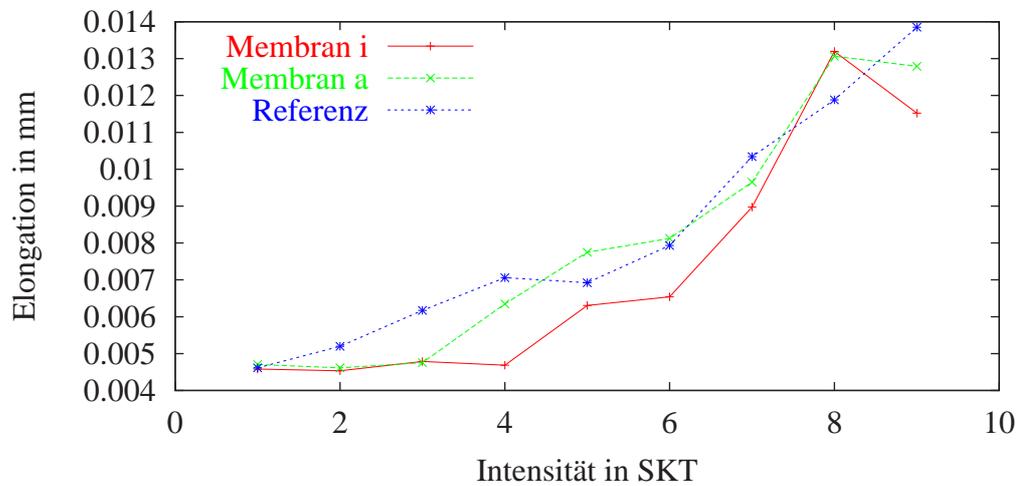


Abbildung B.2: Die Vibrationsamplitude in mm bei 100 Hz ist in Abhängigkeit der Skaleneinteilung des Laborrüttlers dargestellt.

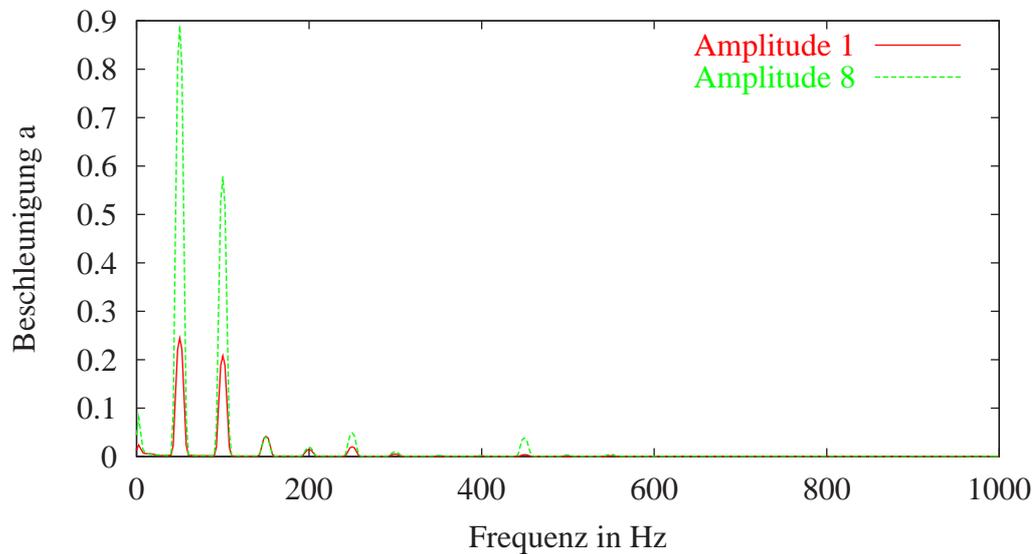


Abbildung B.3: Spektrum der Schwingung des Laborrüttlers an der Befestigung der Membran einer außen liegenden Kammer. Es sind Rüttelintensität niedrig und hoch in relativer Einheit über der Frequenz aufgetragen.

# Anhang C

## Verwendete Membranen

Tabelle C.1: Aufstellung der Massen der Membranen und die daraus berechnete integrale Dicke.

Dicke in $\mu\text{m}$	Gewicht	$\sigma$	Datum	Pharmakon
Vorversuche				
26,4	63,3	2,3	16.07.98	PCB
20,7	49,6	0,5	20.07.98	PCB
24,1	57,9	2,4	02.11.98	Diclofenac
23,1	55,4	2,7	27.11.98	Diclofenac
Versuche mit PCB				
33,2	79,7	2,4	07.02.99	PCB
30,4	73,0	2,0	26.01.99	PCB
32,9	79,0	4,1	21.01.00	PCB
Versuche mit Diclofenac				
26,0	62,4	5,0	29.01.99	Diclofenac
28,8	69,2	3,8	30.04.99	Diclofenac
35,0	84,1	3,1	26.05.99	Diclofenac
39,8	95,4	1,3	02.06.99	Diclofenac
19,7	47,4	4,2	28.06.99	Diclofenac
42,4	101,7	1,5	28.07.99	Diclofenac
45,1	108,3	2,4	20.08.99	Diclofenac
46,8	112,3	1,1	03.09.99	Diclofenac
29,9	71,8	2,1	16.12.99	Diclofenac
sonstige Versuche				
41,0	98,4	7,6	19.11.98	Leck
29,1	70,0	20,6	06.09.99	EB
47,9	114,9	1,6	11.09.99	EB

Fortsetzung nächste Seite

Dicke in $\mu\text{m}$	Gewicht	$\sigma$	Datum	Pharmakon
25,2	60,5	2,1	07.10.99	Phenprocoumol
27,3	65,6	1,1	09.10.99	Phenprocoumol

## C.1 Daten zum Ganzkörpersimulationsprogramm

Tabelle C.2: Pharmakokinetische, chemische und pharmakologische Eigenschaften der verwendeten Pharmaka.

Eigenschaft	Fentanyl	Alfentanil	Thiopental	Amiodarone
pKa	8,4 (1)	6,8 (2)	—	9,12 (7)
orale Bioverfügbarkeit	< 10 % (1)	90 % (2)	—	46 $\pm$ 22 % (3)
Verteilungsvolumen	3 L / kg (1)	0,46 L / kg (4)	—	—
Verteilungskoeffizient (Heptan/Wasser)	20 (1)	—	—	—
CL	1,3 L / (h kg) (1)	0,16 $\pm$ 0,01 L /(h kg)	—	—
Plasma-Protein Bindung	85 % (1); 84 $\pm$ 2 % (3)	—	—	> 80 % (3)
Wirkhalbwertszeit (min)	10 (1)	33 (2)	—	—
Plasmahalbwertszeit	5 min ( $\alpha$ - Phase) 3,5 h ( $\beta$ -Phase) (1); 3,7 $\pm$ 0,4 h (3)	1,5 h; 2,7 h ( $\beta$ -Phase) (2)	8 – 10 h (3)	Wochen (3)
Dosis Bolus	1 – 2 $\mu\text{g}$ / kg (1); 1 – 2 mg; Nachdosie- rung 1 $\mu\text{g}$ / kg (2)	15 – 30 $\mu\text{g}$ / kg (1); 1 – 2 mg (2)	6 mg / kg (1); 2 – 5 mg / kg (2)	po.: 800 – 1600 mg / Tag für 2 – 4 Wochen; dann 100 – 400 mg / Tag; iv.: 100 – 300 mg / Tag

Eigenschaft	Fentanyl	Alfentanil	Thiopental	Amiodarone
Dosis Infusion	0,3 – 0,5 $\mu\text{g} / \text{kg} / \text{h}$ (1)	15 – 30 $\mu\text{g} / \text{kg} / \text{h}$ (1)	—	—
Wirkungsbandbreite	1 ng / mL post op. (3); 3 ng / mL operativ (3)	100 – 200 ng / mL	19 $\pm$ 7 $\mu\text{g} / \text{mL}$	0,5 – 2 $\mu\text{g} / \text{mL}$ (3) <sup>1</sup>
toxische Konzentration	>0,7 ng / ml (3)	—	—	—

(1) Speight, T. M. und Holford, N. H.G. (1997); (2) Estler (1995); (3) Hardman, J. G. u. a. (1996); (4) Lacy, C. u. a. (1993); (5) Bodenham, A. und Park, G. R. (1988); (6) Homer, T. D. und Stanski, D. R. (1985); (7) Chatelain, P. und Laruel, R. (1985)

### C.1.1 Physiologische Daten der Organmodelle

Das Ganzkörpersimulationsmodell benötigt sowohl physiologische Daten (Tabelle C.3) als auch solche, die Eigenschaften des Pharmakons beschreiben. Die Daten für Alfentanil, Fentanyl und Thiopental wurden den Arbeiten von Björkman, S. u. a. (1998, 1994); Ebling, W. F. u. a. (1994) entnommen. Die Diffusions Konstante für das 2–Phasenmodelle ist für alle Organe auf 100 sec gesetzt.

### C.1.2 Pharmakokinetische Daten der Organmodelle

#### Thiopental, Alfentanil und Fentanyl

Daten entnommen aus: Ebling, W. F. u. a. (1994)

Tabelle C.3: Physiologische Daten des gesunden, Durchschnittsmenschen, die nicht vom Pharmakon abhängen.

Organ	Masse in kg	Q in mL/min	rel. Blutfluß	$V_B$ in mL
Lunge	0.47	6534.4	100.0 %	244.4
Herz	0.33	264.0	4.04 %	85.8
Gehirn	1.40	784.0	12.00 %	43.4
Niere	0.31	1240.0	18.98 %	40.3
Leber	1.80	450.0	6.89 %	486.0
Intestine	1.20	996.0	15.24 %	40.8
Milz	0.18	216.0	3.31 %	30.6
Pankreas	0.10	60.0	0.92 %	3.4
Hoden	0.28	18.4	0.28 %	4.4
Muskel	30.00	1140.0	17.45 %	780.0
Haut	3.30	396.0	6.06 %	62.7
Fett	12.50	350.0	5.36 %	237.5
Skelett	15.50	620.0	9.49 %	294.5
Arterie	1.63	6534.4	100.00 %	767.0
Vene	3.78	6534.4	100.00 %	2950.0

Tabelle C.4: Aus Meßwerten von Ratten hochgerechnete Werte für den Menschen im Fall Thio-pental

Organ	PS in mL/min	Tissue Partition	$\nu = \frac{V_T}{V_B}$	$\overline{\frac{\nu}{\text{Tissue Partition}}}$
Lunge	$\infty$	1,1	1,02	0,92
Herz	13,28	1,1	3,13	2,85
Gehirn	2,46	0,7	21,88	31,26
Niere	3,80	3,1	20,75	6,69
Leber	$\infty$	2,3	6,22	2,71
Intestine	0,43	1,3	36,94	28,41
Milz	10,85	0,6	2,93	4,88
Pankreas	0,73	1,0	28,41	28,41
Hoden	1,10	0,6	36,90	61,5
Muskel	158,72	0,5	18,73	37,46
Haut	9,58	0,8	41,31	51,63
Fett	$\infty$	7,8	402,73	51,63
Skelett	$\infty$	0,7	36,14	51,63

Tabelle C.5: Aus Meßwerten von Ratten hochgerechnete Werte für den Menschen im Fall Alfentanil

Organ	PS in mL/min	Tissue Partition	$\nu = \frac{V_T}{V_B}$
Lunge	10810	1,11	1,02
Herz	$\infty$	0,79	2,25
Gehirn	$\infty$	0,18	5,63
Niere	146	1,18	7,90
Leber	$\infty$	1,43	3,87
Intestine	216	1,51	42,90
Milz	27	1,05	5,13
Pankreas	37	1,37	38,92
Hoden	19	0,48	29,52
Muskel	4200	0,44	16,48
Haut	132	0,26	13,42
Fett	2250	2,45	126,50
Skelett	1395	0,35	18,07

Tabelle C.6: Aus Meßwerten von Ratten hochgerechnete Werte für den Menschen im Fall Fentanyl

Organ	PS in mL/min	Tissue Partition	$\nu = \frac{V_T}{V_B}$
Lunge	$\infty$	15,3	14,1
Herz	$\infty$	5,1	14,5
Gehirn	$\infty$	4,0	125,0
Niere	505	13,7	91,7
Leber	$\infty$	4,3	11,6
Intestine	1020	9,2	261,4
Milz	99	31,3	152,8
Pankreas	406	24,1	684,7
Hoden	151	9,2	565,8
Muskel	45000	3,5	131,1
Haut	231	2,3	118,8
Fett	17125	30,3	1564,4
Skelett	12090	2,9	149,7

# Anhang D

## Gesamtergebnis Studie 1

Die Abbildungen D.1 und E.1 zeigen die Mittelwerte der angepaßten Daten. Der Rang der Anpassung wurde durch den mittleren Quadratischen Fehler bestimmt. Es sind 729 Datensätze bei der einzelnen Schätzung bewertet. 995 Datensätze sind bei der simultanen Schätzung durch die „least-square“ mit kurzem oralen Sampling Schema berücksichtigt. Für alle anderen Schätzungen konnten alle Simulationen ausgewertet werden.

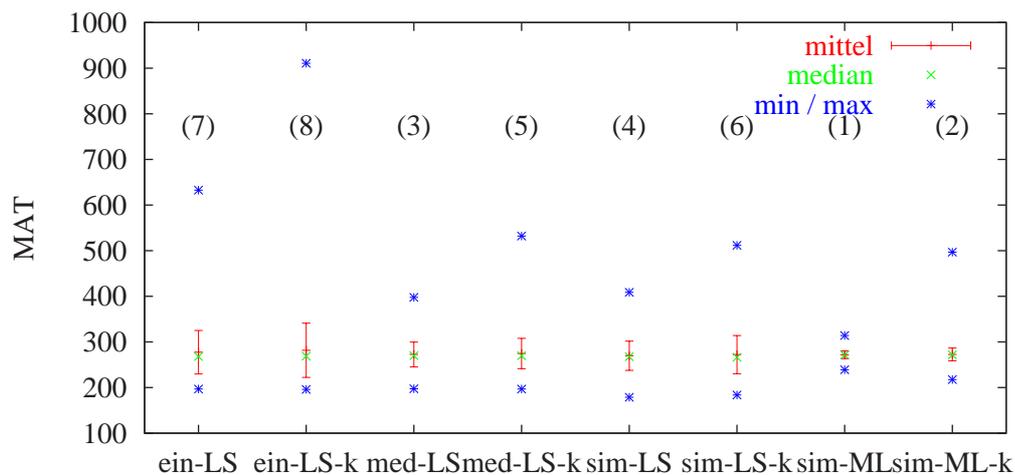


Abbildung D.1: Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für MAT. Es ist der Mittelwert, Median, Minimum, Maximum und die Standardabweichung des Parameters dargestellt. Die Zahl in Klammern gibt den Rang in der Güte der Anpassung für diesen Parameter wieder, wie er sich aus dem mittleren quadratischen Fehler ergibt. Je kleiner der Wert, um so besser ist die Anpassung

Es folgen ein Vergleich der Schätzung des Dispositionssystems und des oralen Systems. Die Parameter werden mit den Werten der zur Simulation verwendeten verglichen.

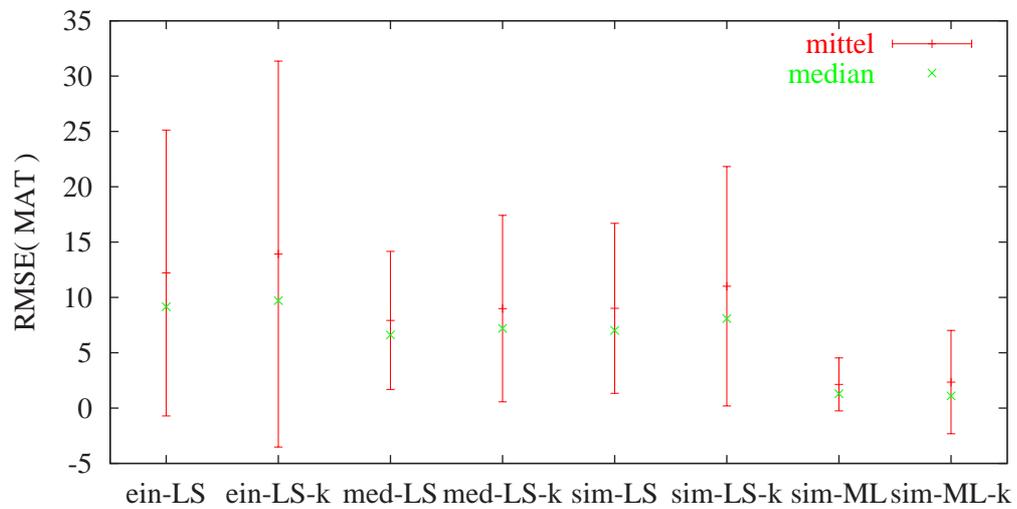


Abbildung D.2: Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden durch den „squared error“ des Parameters MAT. Es ist der Mittelwert, Median, Minimum, Maximum und die Standardabweichung des Parameters dargestellt.

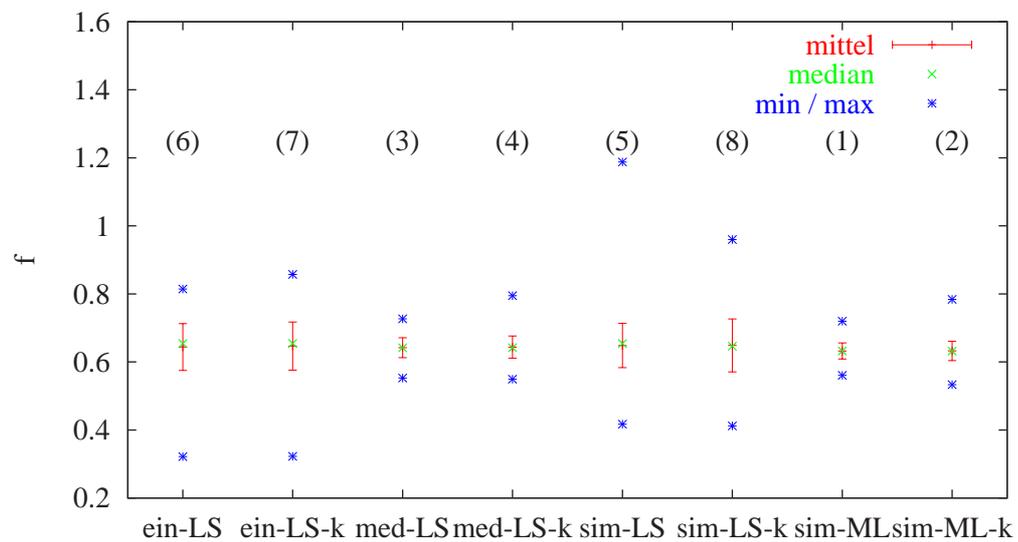


Abbildung D.3: Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für F. Es ist der Mittelwert, Median, Minimum, Maximum und die Standardabweichung des Parameters dargestellt.

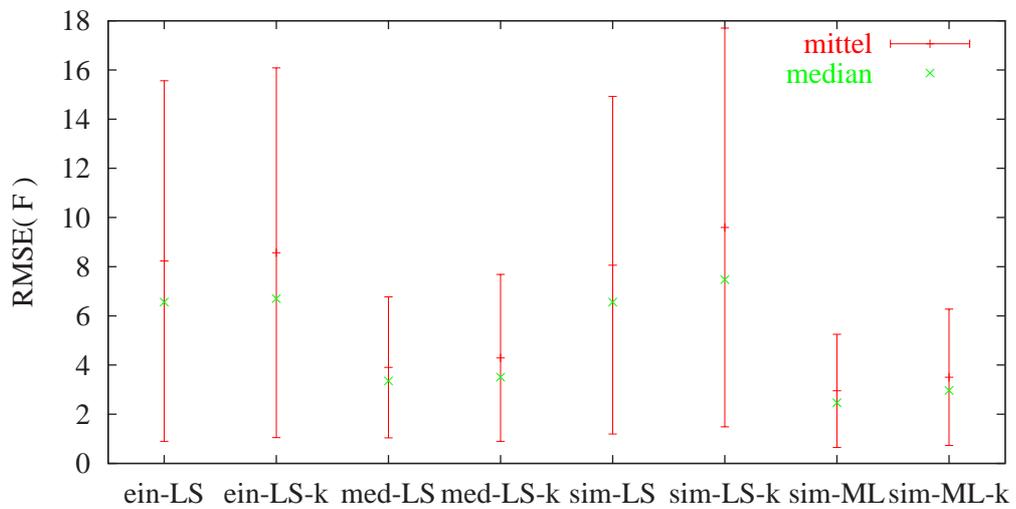


Abbildung D.4: Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden durch den „squared error“ des Parameter F. Es ist der Mittelwert, Median, Minimum, Maximum und die Standardabweichung des Parameters dargestellt.

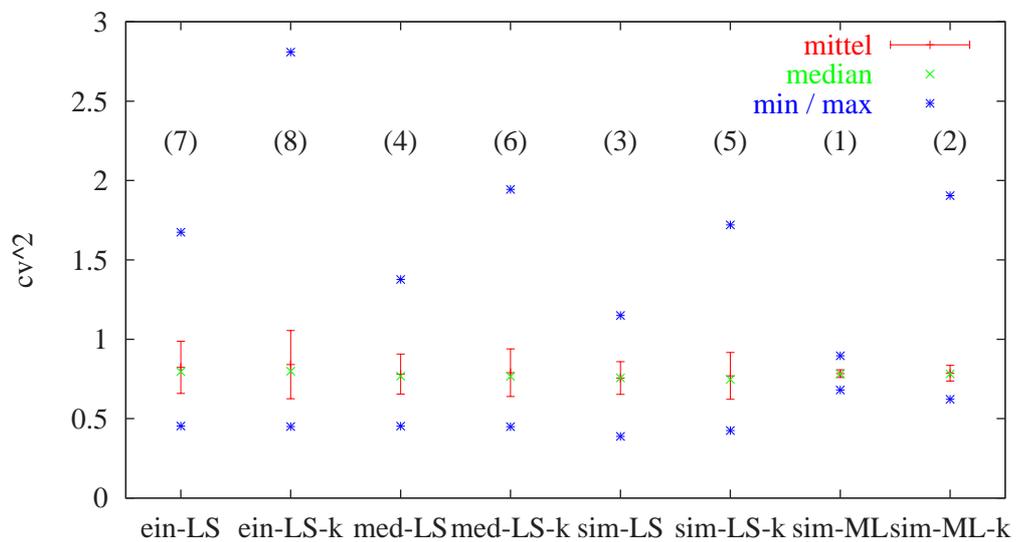


Abbildung D.5: Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für  $CV^2$ . Es ist der Mittelwert, Median, Minimum, Maximum und die Standardabweichung des Parameters dargestellt.

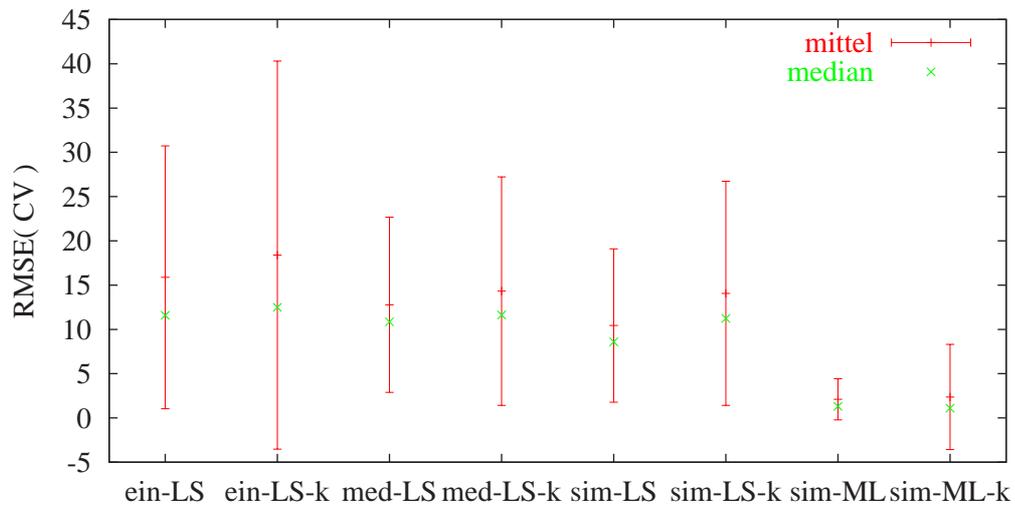


Abbildung D.6: Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden durch den „squared error“ des Parameters  $CV^2$ . Es ist der Mittelwert, Median, Minimum, Maximum und die Standardabweichung des Parameters dargestellt.

Tabelle D.1: Nur Dispositionssystem mit der least-square-Methode geschätzt, für 729 Datensätze konnten Parameter ermittelt werden.

	$AUC$	$MDRT$	$CVD^2$
in	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}} \text{ min}$	min	1
Mittelwert	474903	312	1,8
Median	456649	321	1,7
Standardabw.	65960	31	0,4
	$AUC_{ME}$	$MDRT_{ME}$	$CVD_{ME}^2$
in	%	%	%
Mittelwert	0,04	-0,3	3,73
Median	-3,80	2,4	-2,7
Standardabw.	14	10	23
	$AUC_{RMSE}$	$MDRT_{RMSE}$	$CVD_{RMSE}^2$
Mittelwert	8	6	12
Median	5	4,76	7
Standardabw.	11	7	20

Tabelle D.2: Nur Dispositionssystem mit der maximum-likelihood-Methode geschätzt, für 679 Datensätze konnten Parameter ermittelt werden.

in	$AUC$	$MDRT$	$CVD^2$
	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}} \text{ min}$	min	1
Mittelwert	487601	310	1,8
Median	463686	321	1,7
Standardabw.	80311	34	0,5
in	$AUC_{ME}$	$MDRT_{ME}$	$CVD_{ME}^2$
	%	%	%
Mittelwert	2,7	-1,2	5
Median	-2,3	2,5	-2,6
Standardabw.	17	11	27
	$AUC_{RMSE}$	$MDRT_{RMSE}$	$CVD_{RMSE}^2$
Mittelwert	9	7	14
Median	4,76	4,91	7
Standardabw.	15	8	24

Tabelle D.3: Jeder Datensatz wurde einzeln mit der least-square-Methode geschätzt, es wurden Parameter für 729 Datensätze ermittelt.

in	$F$	$CV^2$	$MAT$
	1	1	min
Mittelwert	0,6	0,8	277
Median	0,7	0,8	268
Standardabw.	0,07	0,16	48
in	$F_{ME}$	$CV_{ME}^2$	$MAT_{ME}$
	%	%	%
Mittelwert	1,8	5	2,5
Median	3,41	2,1	-1,1
Standardabw.	11	21	18
	$F_{RMSE}$	$CV_{RMSE}^2$	$MAT_{RMSE}$
Mittelwert	8	16	12
Median	7	12	9
Standardabw.	7	15	13

Tabelle D.4: Jeder Datensatz wurde einzeln mit least-square-Methode und verkürztes orales Sampling Schema geschätzt, es wurden Parameter für 729 Datensätze ermittelt.

	$F$	$CV^2$	$MAT$
in	1	1	min
Mittelwert	0,6	0,8	282
Median	0,7	0,8	269
Standardabw.	0,07	0,22	59
	$F_{ME}$	$CV_{ME}^2$	$MAT_{ME}$
in	%	%	%
Mittelwert	2,2	8	4,03
Median	3,45	2,3	-0,7
Standardabw.	11	28	22
	$F_{RMSE}$	$CV_{RMSE}^2$	$MAT_{RMSE}$
Mittelwert	9	18	14
Median	7	12	10
Standardabw.	8	22	17

Tabelle D.5: Die Datensätze wurden mit dem Median des zuvor ermittelten Dispositionssystems mit der least-square-Methode geschätzt, es konnten Parameter für alle Datensätze ermittelt werden. es können alle Datensätze geschätzt werden.

	$F$	$CV^2$	$MAT$
in	1	1	min
Mittelwert	0,6	0,8	273
Median	0,6	0,8	270
Standardabw.	0,029	0,13	27
	$F_{ME}$	$CV_{ME}^2$	$MAT_{ME}$
in	%	%	%
Mittelwert	1,5	0,018	0,7
Median	1,4	-1,6	-0,3
Standardabw.	4,62	16	10
	$F_{RMSE}$	$CV_{RMSE}^2$	$MAT_{RMSE}$
Mittelwert	3,91	13	8
Median	3,35	11	7
Standardabw.	2,9	10	6

Tabelle D.6: Die Datensätze wurden mit dem Median des zuvor ermittelten Dispositionssystems mit least-square-Methode und verkürztes orales Sampling Schema geschätzt, es konnten Parameter für alle Datensätze ermittelt werden.

	$F$	$CV^2$	$MAT$
in	1	1	min
Mittelwert	0,6	0,8	275
Median	0,6	0,8	270
Standardabw.	0,03	0,15	33
	$F_{ME}$	$CV_{ME}^2$	$MAT_{ME}$
in	%	%	%
Mittelwert	1,7	1,2	1,5
Median	1,5	-1,9	-0,4
Standardabw.	5	19	12
	$F_{RMSE}$	$CV_{RMSE}^2$	$MAT_{RMSE}$
Mittelwert	4,29	14	9
Median	3,51	12	7
Standardabw.	3,39	13	8

Tabelle D.7: Die beiden Datensätze wurden gleichzeitig mit der least-square-Methode geschätzt, es konnten Parameter für alle Datensätze ermittelt werden.

	$AUC$	$MDRT$	$CVD^2$
in	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}} \text{ min}$	min	1
Mittelwert	468129	346	2,0
Median	458220	321	1,8
Standardabw.	47829	337	0,8
	$AUC_{ME}$	$MDRT_{ME}$	$CVD_{ME}^2$
in	%	%	%
Mittelwert	-1,4	10	17
Median	-3,47	2,5	3,32
Standardabw.	10	108	48
	$AUC_{RMSE}$	$MDRT_{RMSE}$	$CVD_{RMSE}^2$
Mittelwert	8	15	26
Median	6	5	13
Standardabw.	7	107	44
	$F$	$CV^2$	$MAT$
in	1	1	min
Mittelwert	0,6	0,8	270
Median	0,7	0,8	268
Standardabw.	0,07	0,10	32
	$F_{ME}$	$CV_{ME}^2$	$MAT_{ME}$
in	%	%	%
Mittelwert	2,5	-3,1	-0,4
Median	3,40	-3,1	-1,2
Standardabw.	10	13	12
	$F_{RMSE}$	$CV_{RMSE}^2$	$MAT_{RMSE}$
Mittelwert	8	10	9
Median	7	9	7
Standardabw.	7	9	8

Tabelle D.8: Die beiden Datensätze wurden gleichzeitig mit der least-square-Methode und verkürztes orales Sampling Schema geschätzt, für 995 Datensätze konnten Parameter ermittelt werden.

in	$AUC$	$MDRT$	$CVD^2$
	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}} \text{ min}$	min	1
Mittelwert	470140	391	2,0
Median	458357	320	1,8
Standardabw.	55548	797	1,0
in	$AUC_{ME}$	$MDRT_{ME}$	$CVD_{ME}^2$
	%	%	%
Mittelwert	-1,0	25	19
Median	-3,44	2,1	3,79
Standardabw.	12	254	56
in	$AUC_{RMSE}$	$MDRT_{RMSE}$	$CVD_{RMSE}^2$
Mittelwert	8	31	29
Median	7	6	13
Standardabw.	8	254	52
in	$F$	$CV^2$	$MAT$
	1	1	min
Mittelwert	0,6	0,8	272
Median	0,6	0,7	266
Standardabw.	0,08	0,15	42
in	$F_{ME}$	$CV_{ME}^2$	$MAT_{ME}$
	%	%	%
Mittelwert	2,5	-1,4	0,5
Median	2,1	-4,27	-1,7
Standardabw.	12	19	15
in	$F_{RMSE}$	$CV_{RMSE}^2$	$MAT_{RMSE}$
Mittelwert	10	14	11
Median	7	11	8
Standardabw.	8	13	11

Tabelle D.9: Die beiden Datensätze wurden gleichzeitig mit der maximum-likelihood-Methode geschätzt, es konnten Parameter für alle Datensätze ermittelt werden.

	$AUC$	$MDRT$	$CVD^2$
in	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$ min	min	1
Mittelwert	473334	313	1,7
Median	473693	313	1,7
Standardabw.	11380	7	0,08
	$AUC_{ME}$	$MDRT_{ME}$	$CVD_{ME}^2$
in	%	%	%
Mittelwert	-0,29	-0,23	0,6
Median	-0,21	-0,22	0,08
Standardabw.	2,4	2,1	4,53
	$AUC_{RMSE}$	$MDRT_{RMSE}$	$CVD_{RMSE}^2$
Mittelwert	1,9	1,7	3,52
Median	1,7	1,4	2,8
Standardabw.	1,5	1,3	2,9
	$F$	$CV^2$	$MAT$
in	1	1	min
Mittelwert	0,6	0,8	272
Median	0,6	0,8	271
Standardabw.	0,024	0,024	9
	$F_{ME}$	$CV_{ME}^2$	$MAT_{ME}$
in	%	%	%
Mittelwert	-0,07	0,4	0,4
Median	-0,06	0,21	0,22
Standardabw.	3,74	3,1	3,18
	$F_{RMSE}$	$CV_{RMSE}^2$	$MAT_{RMSE}$
Mittelwert	3,0	2,1	2,1
Median	2,5	1,3	1,3
Standardabw.	2,3	2,3	2,4

Tabelle D.10: Die Datensätze wurden gleichzeitig mit der maximum-likelihood-Methode und verkürztes orales Sampling Schema geschätzt, es konnten Parameter für alle Datensätze ermittelt werden.

in	$AUC$	$MDRT$	$CVD^2$
	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}} \text{ min}$	min	1
Mittelwert	473264	313	1,7
Median	473801	313	1,7
Standardabw.	11466	7	0,08
in	$AUC_{ME}$	$MDRT_{ME}$	$CVD_{ME}^2$
	%	%	%
Mittelwert	-0,30	-0,27	0,7
Median	-0,19	-0,13	0,29
Standardabw.	2,4	2,4	4,69
	$AUC_{RMSE}$	$MDRT_{RMSE}$	$CVD_{RMSE}^2$
Mittelwert	1,9	1,9	3,65
Median	1,7	1,6	3,0
Standardabw.	1,5	1,4	3,0
in	$F$	$CV^2$	$MAT$
	1	1	min
Mittelwert	0,6	0,8	273
Median	0,6	0,8	272
Standardabw.	0,028	0,05	14
in	$F_{ME}$	$CV_{ME}^2$	$MAT_{ME}$
	%	%	%
Mittelwert	-0,04	0,7	0,7
Median	-0,11	0,23	0,3
Standardabw.	4,47	6	5
	$F_{RMSE}$	$CV_{RMSE}^2$	$MAT_{RMSE}$
Mittelwert	3,50	2,4	2,3
Median	3,0	1,1	1,1
Standardabw.	2,8	6	4,66

# Anhang E

## Gesamtergebnis Studie 2

Die Darstellung der einzelnen Parameter beinhaltet für die einzelne Anpassung der Datensätze 732 Datenpaare. Mit der „least-square“ Methode lassen sich 997 Datensätze, die das volle Sampling Schema enthalten, und 877 des verkürzten, anpassen. Der „Maximum-Likelihood“ Schätzer bestimmt 1000 bzw. 947 Datensätze. Die Bewertung des Dispositionssystems durch den Median läßt eine Schätzung aller Datensätze zu.

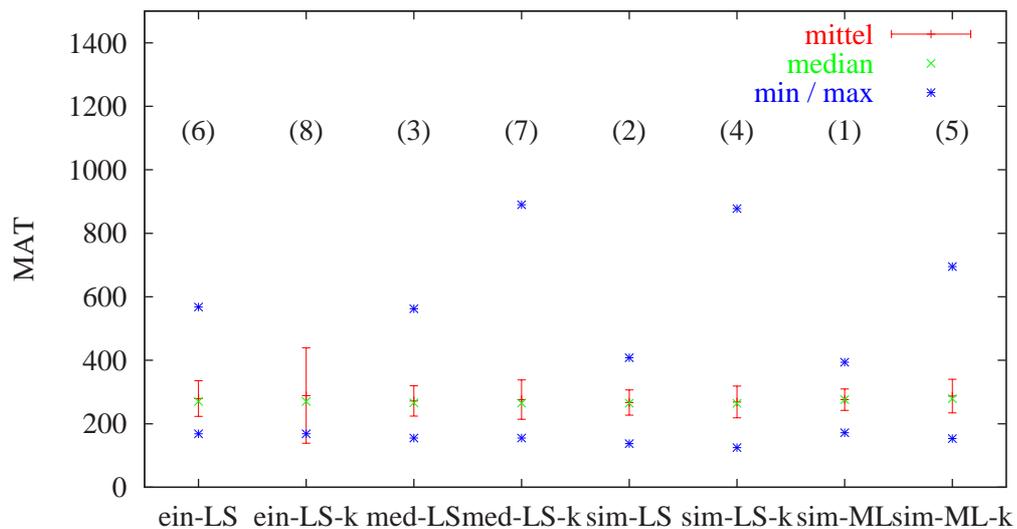


Abbildung E.1: Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für MAT. Es ist der Mittelwert, Median, Minimum, Maximum und die Standardabweichung des Parameters dargestellt. Der Maximalwert für ein-LS-k beträgt 3936.

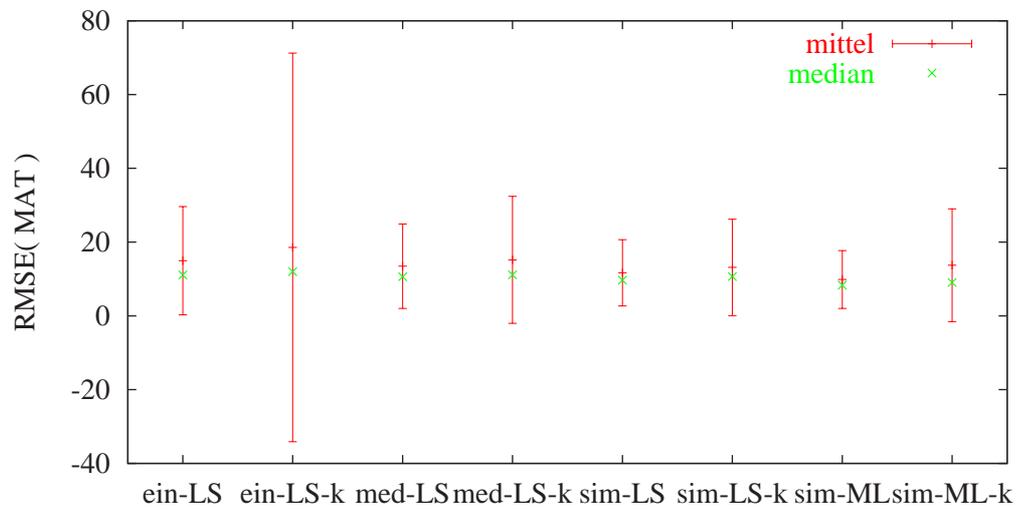


Abbildung E.2: Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden durch den „squared error“ des Parameters MAT. Es ist der Mittelwert, Median, Minimum, Maximum und die Standardabweichung des Parameters dargestellt.

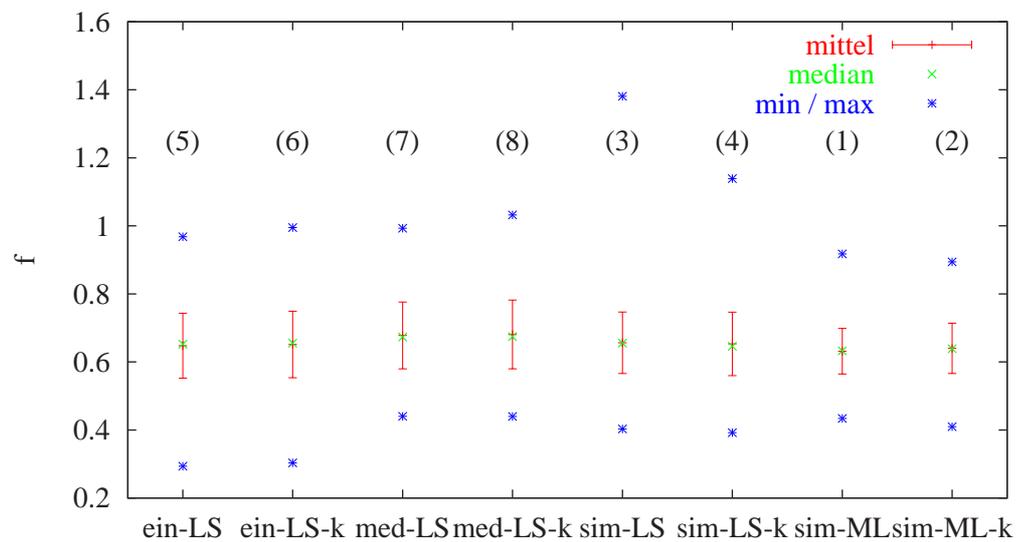


Abbildung E.3: Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für F. Es ist der Mittelwert, Median, Minimum, Maximum und die Standardabweichung des Parameters dargestellt.

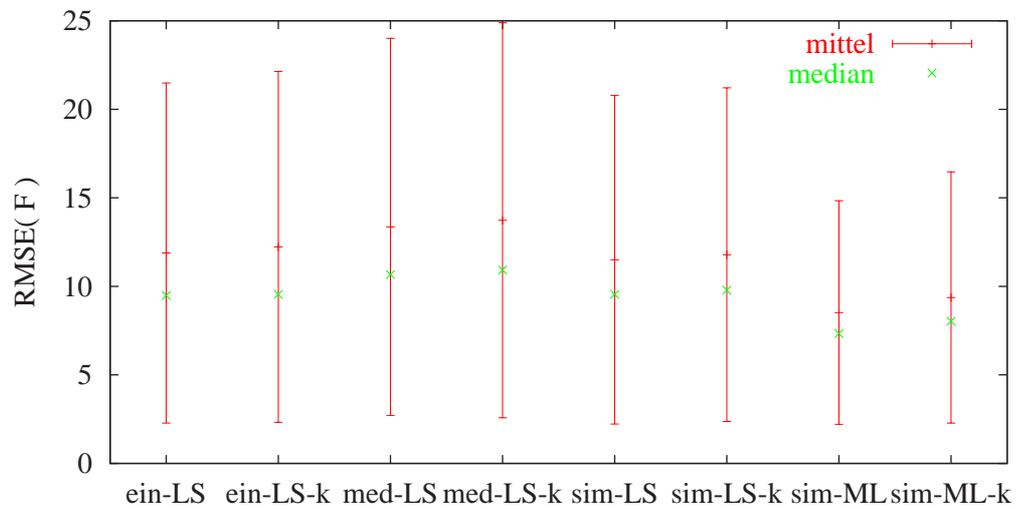


Abbildung E.4: Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden durch den „squared error“ des Parameters F. Es ist der Mittelwert, Median, Minimum, Maximum und die Standardabweichung des Parameters dargestellt.

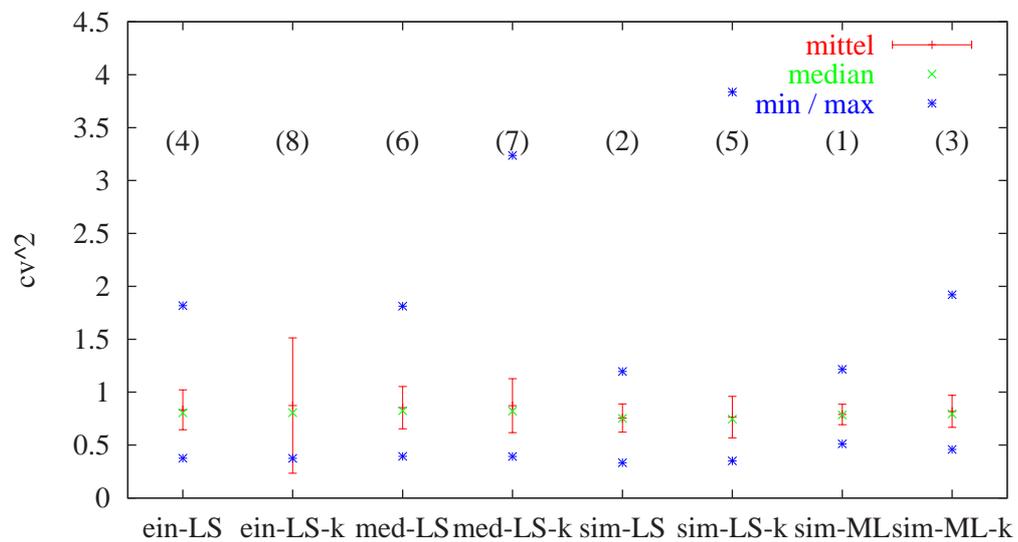


Abbildung E.5: Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden für  $CV^2$ . Es ist der Mittelwert, Median, Minimum, Maximum und die Standardabweichung des Parameters dargestellt.

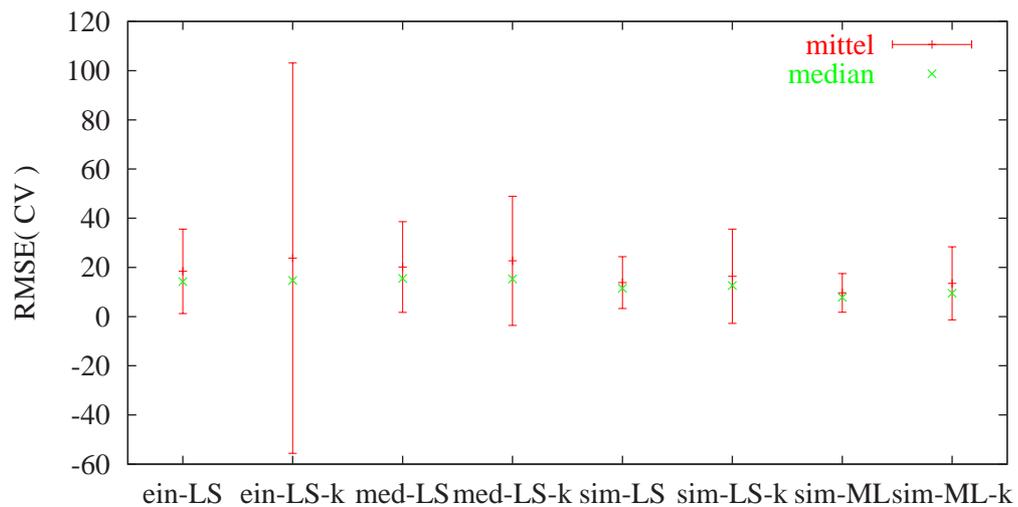


Abbildung E.6: Vergleich der verschiedenen Schätzmethoden durch den „squared error“ des Parameters  $CV^2$ . Es ist der Mittelwert, Median, Minimum, Maximum und die Standardabweichung des Parameters dargestellt.

Tabelle E.1: Nur Dispositionssystem mit der least-square-Methode geschätzt, für 732 Datensätze konnten Parameter ermittelt werden.

	$AUC$	$MDRT$	$CVD^2$
in	$\frac{ng}{mL} \min$	min	1
Mittelwert	476227	316	1,8
Median	465530	316	1,7
Standardabw.	79248	50	0,4
	$AUC_{ME}$	$MDRT_{ME}$	$CVD_{ME}^2$
in	%	%	%
Mittelwert	0,3	0,9	3,24
Median	-1,9	0,8	-2,8
Standardabw.	17	16	24
	$AUC_{RMSE}$	$MDRT_{RMSE}$	$CVD_{RMSE}^2$
Mittelwert	11	12	13
Median	8	10	8
Standardabw.	12	10	21

Tabelle E.2: Nur Dispositionssystem mit der maximum-likelihood-Methode geschätzt, für 766 Datensätze konnten Parameter ermittelt werden.

in	$AUC$	$MDRT$	$CVD^2$
	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}} \text{ min}$	min	1
Mittelwert	502182	309	1,9
Median	480870	311	1,7
Standardabw.	102770	55	0,6
in	$AUC_{ME}$	$MDRT_{ME}$	$CVD_{ME}^2$
	%	%	%
Mittelwert	6	-1,6	9
Median	1,3	-0,9	-1,0
Standardabw.	22	17	32
	$AUC_{RMSE}$	$MDRT_{RMSE}$	$CVD_{RMSE}^2$
Mittelwert	14	13	17
Median	9	10	9
Standardabw.	17	12	29

Tabelle E.3: Jeder Datensatz wurde einzeln mit der least-square-Methode geschätzt, es wurden Parameter für 732 Datensätze ermittelt.

in	$F$	$CV^2$	$MAT$
	1	1	min
Mittelwert	0,6	0,8	279
Median	0,7	0,8	270
Standardabw.	0,10	0,19	56
in	$F_{ME}$	$CV_{ME}^2$	$MAT_{ME}$
	%	%	%
Mittelwert	2,4	7	3,24
Median	3,1	3,17	-0,26
Standardabw.	15	24	21
	$F_{RMSE}$	$CV_{RMSE}^2$	$MAT_{RMSE}$
Mittelwert	12	18	15
Median	9	14	11
Standardabw.	10	17	15

Tabelle E.4: Jeder Datensatz wurde einzeln mit least-square-Methode und verkürztes orales Sampling Schema geschätzt, es wurden Parameter für 732 Datensätze ermittelt.

	$F$	$CV^2$	$MAT$
in	1	1	min
Mittelwert	0,7	0,9	289
Median	0,7	0,8	270
Standardabw.	0,10	0,6	150
	$F_{ME}$	$CV_{ME}^2$	$MAT_{ME}$
in	%	%	%
Mittelwert	2,9	12	7
Median	3,56	3,26	-0,18
Standardabw.	15	82	55
	$F_{RMSE}$	$CV_{RMSE}^2$	$MAT_{RMSE}$
Mittelwert	12	24	19
Median	10	15	12
Standardabw.	10	79	53

Tabelle E.5: Die Datensätze wurden mit dem Median des zuvor ermittelten Dispositionssystems mit der least-square-Methode geschätzt, es konnten Parameter für alle Datensätze ermittelt werden. es können alle Datensätze geschätzt werden.

	$F$	$CV^2$	$MAT$
in	1	1	min
Mittelwert	0,7	0,9	272
Median	0,7	0,8	266
Standardabw.	0,10	0,20	48
	$F_{ME}$	$CV_{ME}^2$	$MAT_{ME}$
in	%	%	%
Mittelwert	7	9	0,4
Median	6	6	-1,8
Standardabw.	16	26	18
	$F_{RMSE}$	$CV_{RMSE}^2$	$MAT_{RMSE}$
Mittelwert	13	20	13
Median	11	15	11
Standardabw.	11	18	11

Tabelle E.6: Die Datensätze wurden mit dem Median des zuvor ermittelten Dispositionssystems mit least-square-Methode und verkürztes orales Sampling Schema geschätzt, es konnten Parameter für alle Datensätze ermittelt werden.

	$F$	$CV^2$	$MAT$
in	1	1	min
Mittelwert	0,7	0,9	276
Median	0,7	0,8	265
Standardabw.	0,10	0,25	62
	$F_{ME}$	$CV_{ME}^2$	$MAT_{ME}$
in	%	%	%
Mittelwert	8	12	2,0
Median	7	5	-2,0
Standardabw.	16	33	23
	$F_{RMSE}$	$CV_{RMSE}^2$	$MAT_{RMSE}$
Mittelwert	14	23	15
Median	11	15	11
Standardabw.	11	26	17

Tabelle E.7: Die beiden Datensätze wurden gleichzeitig mit der least-square-Methode geschätzt, es konnten Parameter für 997 Datensätze ermittelt werden.

in	$AUC$	$MDRT$	$CVD^2$
	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$ min	min	1
Mittelwert	465712	339	2,0
Median	461232	324	1,7
Standardabw.	61279	106	0,8
in	$AUC_{ME}$	$MDRT_{ME}$	$CVD_{ME}^2$
	%	%	%
Mittelwert	-1,9	8	15
Median	-2,8	3,39	1,3
Standardabw.	13	34	49
	$AUC_{RMSE}$	$MDRT_{RMSE}$	$CVD_{RMSE}^2$
Mittelwert	10	16	26
Median	8	11	14
Standardabw.	8	31	44
in	$F$	$CV^2$	$MAT$
	1	1	min
Mittelwert	0,7	0,8	267
Median	0,7	0,8	265
Standardabw.	0,09	0,13	40
in	$F_{ME}$	$CV_{ME}^2$	$MAT_{ME}$
	%	%	%
Mittelwert	3,75	-3,19	-1,4
Median	3,57	-3,52	-2,1
Standardabw.	14	17	15
	$F_{RMSE}$	$CV_{RMSE}^2$	$MAT_{RMSE}$
Mittelwert	12	14	12
Median	10	11	10
Standardabw.	9	11	9

Tabelle E.8: Die beiden Datensätze wurden gleichzeitig mit der least-square-Methode und verkürztes orales Sampling Schema geschätzt, für 877 Datensätze konnten Parameter ermittelt werden.

in	$AUC$	$MDRT$	$CVD^2$
	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}}$ min	min	1
Mittelwert	480015	394	1,6
Median	462938	291	1,5
Standardabw.	96181	384	0,8
in	$AUC_{ME}$	$MDRT_{ME}$	$CVD_{ME}^2$
	%	%	%
Mittelwert	1,1	26	-6
Median	-2,5	-7	-13
Standardabw.	20	122	46
	$AUC_{RMSE}$	$MDRT_{RMSE}$	$CVD_{RMSE}^2$
Mittelwert	13	51	21
Median	9	23	17
Standardabw.	15	114	41
in	$F$	$CV^2$	$MAT$
	1	1	min
Mittelwert	0,7	0,8	269
Median	0,6	0,7	264
Standardabw.	0,09	0,20	50
in	$F_{ME}$	$CV_{ME}^2$	$MAT_{ME}$
	%	%	%
Mittelwert	3,26	-2,0	-0,7
Median	2,1	-4,42	-2,4
Standardabw.	15	25	19
	$F_{RMSE}$	$CV_{RMSE}^2$	$MAT_{RMSE}$
Mittelwert	12	16	13
Median	10	13	11
Standardabw.	9	19	13

Tabelle E.9: Die beiden Datensätze wurden gleichzeitig mit der maximum-likelihood-Methode geschätzt, es konnten Parameter für alle Datensätze ermittelt werden.

in	$AUC$	$MDRT$	$CVD^2$
	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}} \text{ min}$	min	1
Mittelwert	478805	316	1,7
Median	477245	311	1,7
Standardabw.	48859	42	0,15
in	$AUC_{ME}$	$MDRT_{ME}$	$CVD_{ME}^2$
	%	%	%
Mittelwert	0,9	0,9	1,0
Median	0,5	-0,8	0,28
Standardabw.	10	13	9
	$AUC_{RMSE}$	$MDRT_{RMSE}$	$CVD_{RMSE}^2$
Mittelwert	8	10	6
Median	7	9	4,97
Standardabw.	6	9	6
in	$F$	$CV^2$	$MAT$
	1	1	min
Mittelwert	0,6	0,8	276
Median	0,6	0,8	276
Standardabw.	0,07	0,10	34
in	$F_{ME}$	$CV_{ME}^2$	$MAT_{ME}$
	%	%	%
Mittelwert	-0,18	1,1	2,0
Median	-0,06	0,5	2,0
Standardabw.	11	12	12
	$F_{RMSE}$	$CV_{RMSE}^2$	$MAT_{RMSE}$
Mittelwert	9	10	10
Median	7	8	8
Standardabw.	6	8	8

Tabelle E.10: Die Datensätze wurden gleichzeitig mit der maximum-likelihood-Methode und verkürztes orales Sampling Schema geschätzt, es konnten Parameter für 947 Datensätze ermittelt werden.

in	$AUC$	$MDRT$	$CVD^2$
	$\frac{\text{ng}}{\text{mL}} \text{ min}$	min	1
Mittelwert	495002	401	1,8
Median	482020	310	1,7
Standardabw.	82367	346	0,3
in	$AUC_{ME}$	$MDRT_{ME}$	$CVD_{ME}^2$
	%	%	%
Mittelwert	4,28	28	3,44
Median	1,5	-1,2	-1,4
Standardabw.	17	110	20
	$AUC_{RMSE}$	$MDRT_{RMSE}$	$CVD_{RMSE}^2$
Mittelwert	11	41	15
Median	8	13	11
Standardabw.	14	106	14
in	$F$	$CV^2$	$MAT$
	1	1	min
Mittelwert	0,6	0,8	287
Median	0,6	0,8	279
Standardabw.	0,07	0,15	53
in	$F_{ME}$	$CV_{ME}^2$	$MAT_{ME}$
	%	%	%
Mittelwert	1,2	4,94	6
Median	0,9	1,8	3,0
Standardabw.	12	19	20
	$F_{RMSE}$	$CV_{RMSE}^2$	$MAT_{RMSE}$
Mittelwert	9	14	14
Median	8	10	9
Standardabw.	7	15	15

## Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Weiß für die freundliche Überlassung des Themas und die Betreuung. Ferner möchte ich Herrn Prof. Neubert, Leiter des Graduiertenkolleges „Transport von Wirkstoffen in biologischen Systemen“, für seine Zusammenarbeit und die Leihgabe einer Meßapparatur danken.

Mein Dank gilt Herrn Dr. K. Wogram aus dem Projekt „Raumsimulation“, Abteilung Akustik, für die unbürokratische Möglichkeit, die akustischen Messungen in seinem Labor durchführen zu können.

Den Herren Prof. Wartewig und Prof. Neubert danke ich für Anregungen die Überlassung von Meßzeit, und dem Versuchsaufbau und ihren Mitarbeiterinnen, Frau Anders und Frau Rudolf, für die Unterstützung in ihren Laboren.

Herrn Prof. Dhein danke ich für die Bereitschaft, zu fast jeder Zeit für Diskussionen zur Verfügung zu stehen. Ein großer Teil der Simulationsstudien wurde durch die Nutzung seiner Computer beschleunigt.

Herrn Dr. Olaf Kuhlmann danke ich für die Analysemethoden der Diclofenac und Evansblue Proben sowie Frau Wiehle für deren Durchführung.

Die Analyse der Proben der Experimente mit polychlorierten Biphenylen wurde freundlicherweise im Insitut für „Analytik und Umweltchemie“ der Martin–Luther–Universität Halle–Wittenberg unter Leitung von Frau Dr. Kraus durchgeführt.

Frau Dr. Christina Ring danke ich für die Zusammenarbeit und die fruchtbaren Diskussionen, die sich auch nach ihrem Abschied vom Institut fortsetzen, sowie meinen Freunden Dr. Jochen Schütze und Dipl. Ing. Jörg Rothhämel für die Diskussion über die Fakultätsgrenzen hinaus. Frau Dr. Barbara Senckel und Frau Dipl. Psych. Ulrike Luxen für die kritische Durchsicht der Manuskripte.

Frau Günther unterstütze mich durch den guten Geist in der Arbeitsgruppe und die Erleichterung der täglichen Kleinigkeiten.

Nicht zuletzt danke ich meinen Eltern, die mir das Studium ermöglichten und damit den Grundstein zu dieser Arbeit gelegt haben.

Auch das Akademische Orchester der Martin–Luther Univerität Halle–Wittenberg soll hier nicht unerwähnt bleiben, hat es mir doch in der verbleibenden Zeit viel Freude bereitet.

# Lebenslauf

## **Olaf Jeschke**

Geburtsdatum: 25.06.1967

Geburtsort: Schongau / Lech

### **Schulische Ausbildung**

1973 – 1977 Nordstadtgundschule Pforzheim

1977 – 1988 Hebel–Gymnasium Pforzheim

### **Zivildienst**

Diakonie Station Pforzheim, ambulante Kranken– und Altenpflege

### **Wissenschaftliche Ausbildung**

1990 – 1997 Technische Universität Braunschweig  
Naturwissenschaftliche Fakultät  
Diplomstudium Physik

1996 – 1997 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Geophysik  
der Technischen Universität Braunschweig

1997 – 2000 Martin–Luther Universität Halle–Wittenberg  
Institut für Pharmakologie und Toxikologie  
Section Pharmakokinetik  
wissenschaftlicher Mitarbeiter  
gefördert durch das Land Sachsen–Anhalt

seit 01.05.2000 Specialist Systems Engineering  
Lufthansa Systems Airline Services GmbH  
Strategische Netzwerkplanung

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt, die verwendeten Hilfsmittel vollständig angegeben und die wissenschaftlichen Werken entnommenen Stellen als solche gekennzeichnet zu haben.

Frankfurt am Main im Oktober 2004