

4 Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit, die Kopplung der Photochemie im rein wässrigen Milieu mit der Hochleistungsflüssigchromatographie, wurde erfolgreich umgesetzt. Unter Verwendung einer Säulenschaltung konnte der Photoreaktor mit dem chromatographischen System gekoppelt werden. Die Anreicherung und Chromatographie erfolgte mit zwei speziellen Aqua Säulen.

Die im Rahmen dieser Arbeit erstmals entwickelte HPLC online Methode konnte erfolgreich zu Photostabilitätsprüfungen bei variablen pH-Werten und mit unterschiedlichen Lichtquellen eingesetzt werden. Diese Methode ermöglicht die Untersuchung von verschiedensten Arzneistoffen. So konnten sowohl polare als auch lipophile Arzneistoffe untersucht werden.

Besonders hervorzuheben ist die Anwendung dieser Methode zum Screening auf phototoxische oder photoallergene Reaktionen von Arzneistoffen.

Zur Testung auf phototoxische Reaktionen wurde die DNA-Base Guanosinmonophosphat als Modellsubstanz verwendet. Die Arzneistoffe Chlorpromazin und Ofloxacin zeigten unter Belichtung mit UV-A Licht Wechselwirkungen und Reaktionen mit der DNA-Base und die phototoxische Wirkung dieser Stoffe konnte mit dieser Methode bestätigt werden. Auf der anderen Seite zeigte das Diuretikum Hydrochlorothiazid keine Reaktion mit GMP, obwohl der Stoff in der Literatur als phototoxisch beschrieben wurde. Durch die Verwendung eines kurzen DNA-Einzelstranges anstatt der Base GMP konnte eine Reaktion von Hydrochlorothiazid unter Belichtung mit dem DNA-antisense-Strang nachgewiesen werden. In Versuchen mit dem DNA-sense-Strang konnte hingegen keine Wechselwirkung festgestellt werden.

Zur Testung auf photoallergische Reaktionen erwies sich das Dipeptid Alanyltryptophan als Modellsubstanz für besonders geeignet. Die Versuchsergebnisse zum Screening auf Photoallergenität korrelierten gut mit den Angaben aus der Literatur. Die Photoallergenität konnte für die Phenothiazine, Hydrochlorothiazid, Ofloxacin und Mefloquin durch die Wechselwirkung oder Reaktion mit dem Dipeptid bestätigt werden.

Bestätigt wurde die Theorie, dass häufig halogenierte Arzneistoffe an photochemischen Reaktionen mit Biomolekülen beteiligt sind. Die halogenierten Arzneistoffe Chlorpromazin, Hydrochlorothiazid, Ofloxacin und Mefloquin erwiesen sich als besonders reaktiv in Gegenwart von Biomolekülen. Die nicht halogenierten Arzneistoffe Etodolac und Nifedipin zeigten zum Vergleich kaum Reaktionen mit den Biomolekülen. Insgesamt hat sich in den

durchgeführten Untersuchungen eine ausgeprägte pH-Abhängigkeit gezeigt. Dabei ist das Spektrum der resultierenden Photoprodukte stark vom pH-Wert abhängig und somit auch die Reaktivität der Photoprodukte mit den Biomolekülen.

Mit den Untersuchungsergebnissen lässt sich eine sequenzabhängige Schädigung der DNA-Einzelstränge belegen. Die Chromatogramme von dem DNAa-Strang zeigten in Anwesenheit von Hydrochlorothiazid, Eosin und Protoporphyrin eine Schädigung der DNA, während vergleichend die Untersuchungsergebnisse zu dem DNAs-Strang eine größere Stabilität zeigten.

Im Vordergrund steht die Nutzung dieser Methode zum Screening auf ein mögliches phototoxisches und photoallergenes Potential von Arzneistoffen. Bei Arzneistoffen, die sich in der Entwicklung befinden, könnte frühzeitig ein phototoxisches oder photoallergenes Potential erkannt werden. Mit dieser Methode steht eine kostengünstige Alternative zu herkömmlichen Methoden zur Verfügung. Im Vergleich sind Tierversuche sehr zeitaufwendig und damit auch kostenintensiv.

Ausgehend von den vorgestellten Ergebnissen ergeben sich zahlreiche weitere Anwendungsmöglichkeiten. Mit dieser Methode könnten neue Erkenntnisse zu Wirkungsmechanismen von Photosensibilisatoren in der Photodynamischen Therapie gewonnen werden.