

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
der Naturwissenschaftlich-Mathematischen Gesamtfakultät
der
Ruprecht-Karls-Universität
Heidelberg

vorgelegt von
Apotheker
Thomas Lange
aus Jena

Tag der mündlichen Prüfung:.....

**Neue Ansätze der Wirkstoffcharakterisierung mittels
Durchflusszellen,
In-vitro Wirkstofffreisetzungen und Wirkstoffpermeation**

Gutachter:

Prof. Dr. Gert Fricker
Prof. Dr. Jürgen Reichling

Erklärung gemäß § 8 (3) b) und c) der Promotionsordnung:

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorgelegte Dissertation selbst verfasst und mich dabei keiner anderen als der von mir ausdrücklich bezeichneten Quellen und Hilfen bedient habe. Des Weiteren erkläre ich hiermit, dass ich an keiner anderen Stelle ein Prüfungsverfahren beantragt bzw. die Dissertation in dieser oder anderer Form bereits anderweitig als Prüfungsarbeit verwendet oder einer anderen Fakultät als Dissertation vorgelegt habe.

Darmstadt, den 27. April 2009

Die vorliegende Arbeit entstand unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. Gert Fricker am Institut für Pharmazie und Molekulare Biotechnologie (Abteilung Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie) der Universität Heidelberg.

Meinem verehrten Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Gert Fricker, danke ich für die Möglichkeit, diese interessante und facettenreiche Arbeit in seinem Arbeitskreis durchführen zu können, sowie für seine stets vorhandene Hilfs- und Diskussionsbereitschaft und die vertrauensvolle Zusammenarbeit.

Ebenso danke ich Frau Dr. Anette Partheil für die zahlreichen wertvollen Hinweise und Diskussionen und die Schaffung optimaler Arbeitsbedingungen bei der Firma Merck KGaA. Für die Möglichkeit zur Teilnahme an Weiterbildungsseminaren zum Fachapotheker für Pharmazeutische Analytik, den Besuch von Kongressen und Seminaren möchte ich mich ebenfalls bei ihr bedanken.

Meinen ehemaligen und derzeitigen Kolleginnen und Kollegen möchte ich danken für die zahlreichen Fachdiskussionen, die mich persönlich und meine Arbeit gefördert haben, sowie für die zahlreichen lustigen und freudigen Momente in meiner Doktorandenzeit.

Darüber hinaus danke ich allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben und den anderen Doktoranden für die freundliche Aufnahme und für ihre Hilfsbereitschaft.

Meinen Eltern möchte ich danken für die umfassende Unterstützung und Förderung meiner Interessen während meiner Schulzeit, meines Studiums, sowie während der Promotionszeit. Ich wurde in meinen Entscheidungen stets durch sie unterstützt und konnte mich in kritischen Momenten voll auf sie verlassen. Danke.

Zusammenfassung

- 1) Apparent Dissolution (scheinbare Freisetzung): Untersuchung verschiedener Einflüsse und Entwicklung einer standardisierten Routinemethode.

Für die 2007 in der Ph.Eur. monographierte Apparent Dissolution wurden anhand von vier Entwicklungswirkstoffen Einflüsse der Partikelgröße, des Freisetzungsmediums, der Löslichkeit, der Probenbeschickung sowie der Einfluss von Hilfsstoffen in physikalischen Mischungen untersucht. Die Kombination von zwei Probenbeschickungen und einem Freisetzungsmedium mit 0,01 % Tween® 80 sind besonders geeignet für die Charakterisierung der Wirkstoffe. Mit den erhaltenen Daten kann auf die Freisetzung fertiger Formulierungen geschlossen werden.

- 2) Intrinsic Dissolution (innere Auflösungsgeschwindigkeit): Design eines Systems für Durchflusszellen zur Evaluation neuer Möglichkeiten.

Durch die Entwicklung eines Zelleinsatzes zur Intrinsic Dissolution für die monographierte 22,6 mm Tablettenzelle kann erstmals Intrinsic Dissolution in Durchflusszellen durchgeführt werden. Bei einer offenen Betriebsweise kann mittels der entwickelten Kombinationsmethode die Bestimmung der Freisetzungsraten für verschiedene Freisetzungsmedien mittels einer einzigen Freisetzung erfolgen. Verschiedene Metallinlays für den Zelleinsatz ermöglichen die Freisetzung von verschiedenen Presslingsoberflächen. Es wurde ein linearer Zusammenhang zwischen der Oberfläche und der Freisetzungsraten nachgewiesen. Die Anwendung der Kombinationsmethode und die flexible Wahl der Presslingsoberfläche kann die Wirkstoffmenge bei der Bestimmung von Freisetzungsraten erheblich reduzieren. Umwandlungskinetiken, beispielsweise von Salzen an der Presslingsoberfläche, konnten erstmals gemessen und als Kinetik erster Ordnung beschrieben werden. Die Vergleichbarkeit der Freisetzungsraten der Durchflusszelle mit anderen Methoden wurde anhand einer Korrelation mit Freisetzungsraten der häufig verwendeten Distekmethode nachgewiesen.

- 3) Untersuchung des Einflusses ausgewählter Hilfsstoffe auf die Permeation im Caco-2 Model

Die untersuchten Hilfsstoffe Chitosan, Lutrol F68 und emulgierende Stärke zeigten unabhängig von deren Konzentration keinen Einfluss auf die Permeation der beiden Wirkstoffe. Einzig die Auswirkung der Hilfsstoffe auf die Freisetzung kann daher in diesem Fall die Bioverfügbarkeit beeinflussen. Der Einfluss von Hilfsstoffen auf die Permeation in Kombination mit der Apparent Dissolution wird in Zukunft eine immer stärkere Rolle spielen. Da immer neue Hilfsstoffe für eine bessere Freisetzung eingesetzt werden, muss zugleich abgeklärt werden, ob diese Hilfsstoffe eine Auswirkung auf die Permeation und damit die Bioverfügbarkeit haben.

Summary

- 1) Apparent Dissolution: Investigation of influences and development of a standardized routine method.

The influence of particle size, dissolution medium, solubility, sample loading and excipients in physical mixtures have been investigated since apparent dissolution was observed as monographed in 2007. The combination of two sample loadings and a dissolution medium containing 0.01 % of Tween[®] 80 is especially suited for the characterisation of active pharmaceutical ingredients (API). According to the recorded data from apparent dissolution experiments it is possible to predict effects on dissolution of API's in final formulations.

- 2) Intrinsic Dissolution: Design of a system for flow through cells (FTC) and evaluation of new possibilities and options.

Due to the development of an insert for the monographed 22.6 mm tablet cell, intrinsic dissolution has now been realized for the first time in FTC's. By open loop operation for the developed combined method it is possible to determine the dissolution rate for different dissolution media in one dissolution experiment. The use of different metal inlays for the insert offers flexible dissolution from different surface areas. A linear relationship for different surface areas and dissolution rates was found. Using the combined method and the possibility to select different surface areas, the amount of API could be significantly reduced for the determination of dissolution rates.

Conversion kinetics for example of salts at the surface of the compact could be clarified as first order kinetics. With this realisation it may be possible in the future to characterise the conversion of API's during dissolution without a significant instrumental complexity.

The comparability of dissolution rates determined by the FTC with other methods was shown by a correlation to the frequently used distek method.

- 3) Investigation of the influence of selected excipients on permeation in the caco 2 model.

The influence of excipients on permeation as well as the influence of apparent dissolution is important in estimating the impact on bioavailability. The combination of apparent dissolution and the determination of permeation could be crucial when considering the prospective dosage for the formulation, helping to prevent a departure from the therapeutic window. The analysed excipients Chitosan, Lutrol F68 and Purity[®] Gum 2000 show independent of their concentration no influence on permeation of the two observed API's. Therefore only their influence on dissolution could have an impact on the bioavailability.

Inhaltsverzeichnis

1	Zielsetzung	1
2	Einleitung	2
2.1	Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen	2
2.1.1	Biopharmazeutisches Klassifizierungssystem	3
2.2	Resorption	5
2.2.1	Permeationsmechanismen	6
2.2.2	Caco 2 Permeationsmodell	9
2.3	In-vitro Wirkstofffreisetzung	10
2.3.1	Löslichkeit und Auflösungsgeschwindigkeit	12
2.3.2	Freisetzungsmedien	16
2.3.3	In-vitro Freisetzungssysteme	17
2.3.4	Apparent Dissolution	21
2.3.5	Intrinsic Dissolution	23
3	Materialien	26
3.1	Wirkstoffe-Basen	26
3.2	Wirkstoffe-Neutralstoffe	27
3.3	Wirkstoffe-Säuren	28
3.4	Hilfsstoffe	29
3.4.1	Chitosan 90/10/A1	29
3.4.2	Lutrol F68 (Poloxamer 188)	30
3.4.3	Purity® Gum 2000 (emulgierende Stärke)	31
3.5	Puffer und Freisetzungsmedien	32
3.6	Lösungsmittel und Chemikalien	33
3.7	Geräte	34
3.8	Sonstige Materialien	35
4	Methoden	35
4.1	In-vitro Wirkstofffreisetzungsmethoden	35
4.1.1	Apparent Dissolution	35
4.1.2	Intrinsic Dissolution nach Distek	36
4.1.3	Intrinsic Dissolution im Durchflusszellensystem	37
4.2	Charakterisierung des Freisetzungsmediums	38
4.2.1	Osmolarität	38
4.2.2	Oberflächenspannung	38
4.2.3	Benetzungswinkel	38
4.2.4	Leitfähigkeit	39
4.2.5	Löslichkeitsisothermen	39
4.3	Charakterisierung der Wirkstoffe	40
4.3.1	Partikelgrößenanalytik mittels Laserbeugung	40

4.3.2	spezifische Oberfläche (BET).....	41
4.3.3	Mikroskopie.....	42
4.3.4	Löslichkeit.....	42
4.3.5	DSC	42
4.3.6	NIR-Spektrometrie	43
4.3.7	Raman-Spektrometrie	44
4.4	Analytische Verfahren	44
4.4.1	HPLC-Methoden und deren Validierung	44
4.5	Caco 2 Zellmodell für Permeationsstudien.....	46
4.5.1	Kultivierung.....	46
4.5.2	Transportpuffer.....	47
4.5.3	Transportversuche	47
4.5.4	Auswertung	48
4.5.5	Zytotoxizitätsversuch: Alamar Blue Assay	48
4.6	Physikalische Mischungen.....	49
5	Ergebnisse und Diskussion	49
5.1	Auswahl des Freisetzungsmediums	49
5.1.1	Osmolarität, Leitfähigkeit & Viskosität	50
5.1.2	Löslichkeitsisothermen & Tween® 80.....	51
5.1.3	Oberflächenspannung: Einfluss von SDS, Tween® 20 & 80	56
5.1.4	Benetzungswinkel und Tween® 80	58
5.1.5	Diskussion	65
5.2	Apparent Dissolution: Pulverfreisetzung.....	67
5.2.1	Löslichkeitsprofile.....	67
5.2.1.1	EMD 128130.....	67
5.2.1.2	EMD 503982.....	67
5.2.1.3	EMD 486019.....	69
5.2.1.4	EMD 525544.....	69
5.2.2	In-vitro Wirkstofffreisetzung	71
5.2.2.1	Versuchsschema und Methodenwahl	71
5.2.2.2	pH-Wert Einfluss des Freisetzungsmediums	72
5.2.2.3	Glasperleneinfluss	75
5.2.2.4	Partikelgrößeneinfluss der Wirkstoffe.....	79
5.2.2.5	Löslichkeitseinfluss der Wirkstoffe	84
5.2.2.6	Diskussion	87
5.2.3	Hilfsstoffeinfluss auf die Freisetzung physikalischer Mischungen	88
5.2.3.1	Versuchsschema und Methodenwahl	88
5.2.3.2	pH-Wert Einfluss des Freisetzungsmediums	89
5.2.3.3	Glasperleneinfluss	98
5.2.3.4	Partikelgrößeneinfluss der Wirkstoffe.....	104
5.2.3.5	Löslichkeitseinfluss der Wirkstoffe	110
5.2.3.6	Einfluss der Hilfsstoffmenge.....	113
5.2.3.7	Einfluss von der Hilfsstoffart.....	117
5.2.3.8	Diskussion	120
5.2.4	Praxisbeispiel: Formulierungsentwicklung.....	121
5.3	Entwicklung eines neuen Systems zur Intrinsic Dissolution	124
5.3.1	Design und Umsetzung eines neuen Zelleinsatzes für Durchflusszellen	124
5.3.2	Möglichkeiten und Grenzen in der Durchflusszelle.....	125
5.3.3	Einfluss des Freisetzungsmediums	126
5.3.3.1	Freisetzung ohne Medienwechsel.....	126
5.3.3.2	Freisetzung mit Medienwechsel (Kombinationsmethode).....	129
5.3.3.3	Vergleichbarkeit der Daten	133
5.3.3.4	Freisetzung von verschieden großen Oberflächen	136

5.3.3.5	Diskussion	141
5.3.4	Korrelation zwischen der Durchflusszelle und der Distekmethode.....	143
5.3.5	Korrelation der Freisetzungsrates mit der Löslichkeit.....	144
5.3.6	Anwendung: Bestimmung von Salzänderungen	145
5.3.6.1	Modell der Umwandlungskinetik.....	146
5.3.6.2	Ambroxol Base	151
5.3.6.3	Diclofenac Natrium	153
5.3.6.4	EMD 128130 (Base).....	157
5.3.6.5	Diskussion	161
5.4	Permeationsstudien mit Caco 2 Zellen.....	162
5.4.1	Konzentrationsabhängigkeit der Wirkstoffpermeation	162
5.4.1.1	EMD 128130.....	163
5.4.1.2	EMD 503982.....	163
5.4.2	Einfluss der Hilfsstoffe auf die Wirkstoffpermeation	164
5.4.2.1	Hilfsstoffeinfluss EMD 128130	165
5.4.2.2	Hilfsstoffeinfluss EMD 503982	166
5.4.3	Diskussion	168
6	Zusammenfassung und Ausblick.....	170
	Literaturverzeichnis	174
	Publikationen.....	181
	Anhang	182

Abkürzungsverzeichnis

ab	apical nach basolateral
ACN	Acetonitril
ba	basolateral nach apikal
BCS	Biopharmazeutisches Klassifizierungssystem
BET	Brunauer, Emmet und Teller
CMC	kritische Mizellbildungskonzentration (critical micellar concentration)
C _s	Sättigungslöslichkeit
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromid
DLV	Dosis-Löslichkeitsvolumen
D-Rate	Freisetzungsrate
DSC	Dynamische Differenz-Kalorimetrie (differential scanning calorimetry)
EMD	Emanuel Merck Darmstadt
EMS	emulgierende Stärke (Purity® Gum 2000)
FDA	Food and Drug Administration
FTC	Durchflussszelle (Flow-Through-Cell)
GIT	Gastrointestinaltrakt
HCl	Hydrochlorid
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HTS	High Throughput Screening
ICH	International Conference of Harmonization
IDR	Intrinsic Dissolution Rate
KRB	Krebs-Ringer-Puffer
LF68	Lutrol F68 (Pluronic F68)
NIR	nahes Infrarot
P _{app}	Permeationskoeffizient
P-gp	P-Glykoprotein
Ph.Eur.	European Pharmacopoeia
pKa	negativer Logarithmus von Ka
rpm	Umdrehungen pro Minute (rounds per minute)
SDS	Natrium Laurylsulfat
SGFsp	künstlicher Magensaft ohne Pepsin (Simulated Gastric Fluid sine pepsin)
SIFsp	künstlicher Darmsaft ohne Pankreatin (Simulated Intestinal Fluid sine pancreatin)
Smp	Schmelzpunkt
SOP	Standardarbeitsanweisung (Standard Operating Procedure)
t	Zeit
t _{50%}	Zeitpunkt bei dem 50 Prozent des eingesetzten Wirkstoffes freigesetzt sind
t _{res}	mittlere Verweilzeit
USP	United States Pharmacopeia
V ₀	initiales Flüssigkeitsvolumen im Magen

1 Zielsetzung

In-vitro Freisetzungsversuche von reinen Wirkstoffen und Arzneiformen sind ein ständiger Begleiter der Formulierungsentwicklung bis hin zur Qualitätskontrolle der Fertigprodukte in der pharmazeutischen Industrie. Klassisch erfolgt die in-vitro Freisetzung mit der seit Jahrzehnten etablierten Blattrührerapparatur. Seit der Aufnahme der Durchflusszellenapparatur 1990 in das europäische Arzneibuch ist die Anwendung der Durchflusszellentechnik in den Focus der pharmazeutischen Industrie gerückt.

Ziel dieser Arbeit ist die Weiterentwicklung, Optimierung und Etablierung von in-vitro Freisetzungsmethoden mittels Durchflusszellen zur Wirkstoffcharakterisierung in der Präformulierung und Formulierungsfindung. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf die scheinbare Freisetzung (Apparent Dissolution) und die innere Freisetzung (Intrinsic Dissolution) gemäß Ph.Eur. gelegt. Die Anwendung dieser neuen Freisetzungsmethoden wird im frühen Stadium der pharmazeutischen Entwicklung erfolgen. Es sind daher ganz bestimmte Voraussetzungen notwendig, wie z.B. die Universalität bei geringst möglichem Wirkstoffbedarf. Ein weiterer Schwerpunkt der Arbeit liegt in der Untersuchung verwendeter Hilfsstoffe der scheinbaren Freisetzung auf die Permeation im Caco 2 Zellmodell.

Folgende spezifische Ziele wurden im Rahmen der Arbeit verfolgt:

1) **Untersuchung verschiedener Einflüsse auf die Apparent Dissolution (scheinbare Freisetzung): Entwicklung einer standardisierten Routinemethode**

Anhand eines Versuchsschemas wurde der Einfluss von Glasperlen, pH-Wert des Freisetzungsmediums, Löslichkeit des Wirkstoffes, Partikelgröße des Wirkstoffes, Hilfsstoffen in physikalischen Mischungen, sowie der Einfluss der Hilfsstoffmenge und Hilfsstoffart untersucht. Speziell für Durchflusszellen wurden Freisetzungsmethoden ausgewählt und charakterisiert.

Entwurf eines Arbeitsplanes für die Anwendung der scheinbaren Freisetzung mit einer standardisierten Methode hinsichtlich möglicher Auswirkungen verschiedener Parameter auf das Freisetzungsprofil.

2) **Design eines neuen Zelleinsatzes für die in Intrinsic Dissolution in Durchflusszellen (innere Auflösungsgeschwindigkeit):**

Entwicklung eines Zelleinsatzes für die USP und Ph.Eur. monographierte Tablettenzelle zur Bestimmung der inneren Auflösungsgeschwindigkeit in Durchflusszellen.

3) **Evaluation der Möglichkeiten und Grenzen des neuen Zelleinsatzes für die Intrinsic Dissolution:**

Von besonderem Interesse war der Einfluss der Wirkstoffoberfläche, die Auswirkung eines Medienwechsels, die Messbarkeit von Änderungen an der Wirkstoffoberfläche und die Korrelation der Daten mit der Blattrührerapparatur.

4) **Einfluss ausgewählter Hilfsstoffe auf die Freisetzung, sowie die Permeation im Caco 2 Modell:**

Untersuchung des Hilfsstoffeinflusses in physikalischen Mischungen auf die scheinbare Freisetzung und den Einfluss der gewählten Hilfsstoffe auf die Permeation.

2 **Einleitung**

2.1 **Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen**

Die Bioverfügbarkeit einer Arzneiform beschreibt das Ausmaß und die Geschwindigkeit, mit der die therapeutisch wirksamen Bestandteile einer pharmazeutischen Zubereitung/Formulierung unverändert am Wirkort verfügbar sind. Man unterscheidet zwischen der absoluten Bioverfügbarkeit, die der intravenösen Applikation entspricht und der relativen Bioverfügbarkeit, welche dem Vergleich verschiedener Darreichungsformen dient. Die FDA definiert die relative Bioverfügbarkeit wie folgt: „Bioavailability is the rate and extent to which a substance is absorbed and becomes available at the site of action“. Die absolute Bioverfügbarkeit ist als „Absolute bioavailability of the active drug in systemic circulation following non-intravenous administration, with the bioavailability of the same drug following intravenous administration“ definiert. Der Nachweis der Bioverfügbarkeit ist eine wichtige Voraussetzung für die Arzneimittelzulassung und kann unter bestimmten Umständen hohen Schwankungen zwischen verschiedenen Individuen unterliegen. Für forschende Arzneimittelhersteller dient die Bioverfügbarkeit zur Bestimmung des Verhaltens neuer Wirkstoffe vor allem nach oraler Gabe. Hingegen ist für Generika-Hersteller der Vergleich von Bioverfügbarkeiten von besonderer Bedeutung. Daher ist es wichtig, die verschiedenen Abhängigkeiten der Bioverfügbarkeit zu kennen. Der erste Schritt ist immer die Freigabe nach Applikation der Arzneiform. Die Freigabe setzt sich bei einer Tablette zum Beispiel aus dem Zerfall (Disintegration) und der Auflösung (Dissolution) zusammen. Der nächste Schritt bei oral verabreichten Arzneiformen ist die Resorption des gelösten Arzneistoffes aus dem Gastrointestinaltrakt (GIT) in den systemischen Kreislauf. Dieser Weg des Wirkstoffes nach oraler Applikation ist essentieller Bestandteil des LADME Modells der Pharmakokinetik: **L**iberation (Freisetzung), **A**bsorption, **D**istribution, **M**etabolisierung und **E**xkretion. Es ist stets wichtig die Bioverfügbarkeit von der Absorption abzugrenzen, denn die Bioverfügbarkeit bezieht sich auf die gesamte Pharmakokinetik. Die Resorption ist, je nach Arzneistoff, von verschiedenen Faktoren abhängig, wie Membranpermeabilität, Dissoziationsgrad des Wirkstoffes, Füllungsgrad, Passagenzeit, chemische Stabilität etc..

Die Auflösungsgeschwindigkeit von schwerlöslichen Arzneistoffen hat für die Bioverfügbarkeit eine große Bedeutung. Der Arzneistoff steht nur eine begrenzte Zeit am Resorptionsort zur Verfügung. Aufgrund der begrenzten Zeit kann nicht immer eine vollständige Resorption erreicht werden. Bei gut löslichen Wirkstoffen spielt unter bestimmten Umständen die Auflösungsgeschwindigkeit keine Rolle, nämlich dann, wenn die Magenentleerungszeit den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt für die Resorption darstellt (Rehki GS & Eddington ND 1997).

Erstmals wurden die wichtigsten drei Parameter Löslichkeit, In-vitro Wirkstofffreisetzung und die Permeabilität im Jahr 1995 (Amidon GL et al. 1995) zur Bewertung von Arzneistoffen verwendet. Daraus entwickelte sich das Biopharmazeutische Klassifizierungssystem (BCS) als Standard für die Beurteilung von Arzneistoffen. Heute ist das BCS Grundlage der „Guidance for Industrie 2000“ der FDA. Inzwischen existiert auch eine Leitlinie der Europäischen Union, das „Concept Paper on BCS based Biowaver“, sowie eine Arbeitsgruppe zum BCS der International Pharmaceutical Federation.

2.1.1 Biopharmazeutisches Klassifizierungssystem

Das Biopharmazeutische Klassifizierungssystem (BCS) als Richtlinie der FDA dient der Einteilung von Wirkstoffen in vier Klassen anhand ihrer Löslichkeit in wässrigen Medien, über einen pH Bereich von 1 bis 7,5 und ihrer Permeabilität (Tabelle 1). Ein Wirkstoff wird als gut löslich, beziehungsweise mit einer hohen Löslichkeit eingestuft, wenn die höchste therapeutische Einzeldosis in 250 ml Wasser über den physiologischen pH Bereich von 1 bis 7,5 vollständig gelöst werden kann. Das Volumen von 250 ml entspricht der Flüssigkeitsmenge im Magen, welches dem Arzneimittel im Rahmen einer Bioverfügbarkeitsstudie nach Einnahme des Arzneimittels mit 250 ml Wasser für die Auflösung zur Verfügung steht.

Tabelle 1: Biopharmazeutisches Klassifizierungssystem BCS

BCS Klasse	Löslichkeit	Permeabilität
I	Hoch	Hoch
II	Niedrig	Hoch
III	Hoch	Niedrig
IV	Niedrig	Niedrig

Eigentlich basiert das BCS auf einem einfachen Absorptionsmodell, bei dem der Gastrointestinaltrakt als zylindrische Röhre dargestellt wird, in welcher die Resorption stattfindet (Amidon GL et al. 1995). Dem Modell gehen folgende Annahmen, wie eine einheitliche Partikelgröße, keine Interaktionen wie z.B. Metabolismus, die Löslichkeit ist unabhängig von der Partikelgröße, einem pH-Gradienten im Gastrointestinaltrakt und der Abwesenheit von Aggregationen voraus. Die Zusammenhänge bei der Absorption werden durch drei dimensionslose Parameter dargestellt: die Absorptionszahl (absorption number, An), Freisetzungszahl (dissolution number, Dn) und die Dosiszahl (dose number, Dn), dabei

entspricht M_0 der verabreichten Dosis, V_0 das initiale Flüssigkeitsvolumen im Magen (~ 250 ml), C_s der Sättigungslöslichkeit, t_{res} die mittlere Verweilzeit (~ 180 min), t_{diss} die benötigte Zeit zur Auflösung eines Wirkstoffpartikels, P_{eff} die effektive Permeabilität und R der intestinale Innenradius. Mittels dieser drei Parameter Do , Dn und An lässt sich die Abhängigkeit der Bioverfügbarkeit von der Löslichkeit, in-vitro Wirkstofffreisetzung sowie der Permeabilität ermitteln (Lobenberg R & Amidon GL 2000).

$$Do = \text{DoseNumber} = \frac{M_0 / V_0}{C_s}$$

$$Dn = \text{DissolutionNumber} = \frac{t_{res}}{t_{Diss}}$$

$$An = \text{AbsorptionNumber} = \frac{P_{eff}}{R} \times t_{res}$$

Häufig wird anstatt der Löslichkeit das Dosislöslichkeitsvolumen (DLV) (Dressman JB & Fleisher D 1986) verwendet, man erhält das DLV aus dem Quotienten der therapeutischen Dosis (mg) und der Löslichkeit (mg/ml). Das DLV gibt das Volumen an, in dem die Dosis gerade noch löslich ist. Ein DLV von 250 ml wird als Grenze zwischen einer hohen und niedrigen Löslichkeit im BCS angesehen. Demnach ist ein Arzneistoff gut löslich bei einem DLV kleiner als 250 ml. Für eine schlechte Löslichkeit erhält man einen Quotienten von größer als 250 ml. Für die Bestimmung der Permeabilität sind neben Absorptionsstudien am Menschen, tierischen und menschlichen in vivo Perfusionsstudien, auch in-vitro Tests aus isoliertem menschlichen und tierischen Gewebe und etablierte Resorptionsmodelle durch epitheliale Monozelllayer möglich. Das Caco 2 Resorptionsmodell findet zum Beispiel häufig Anwendung in der pharmazeutischen Industrie. Dabei werden Permeationskoeffizienten P_{app} (z.B. 10^{-6} cm/s) bestimmt. Anhand der ermittelten Permeationskoeffizienten können Aussagen über die Absorption getroffen werden. Liegt dieser Wert unter 1 ist eine schlechte Absorption (0 - 20 %) zu erwarten, bei Permeationskoeffizienten zwischen 1 und 10 spricht man von einer mittleren Absorption (20 - 70 %) und für Werte größer als 10 erwartet man eine gute Absorption (70 - 100 %).

Die Leitlinie „Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutical classification system“ (Guidance for Industry 2000) stützt sich auf das BCS sowie auf Freisetzungsdaten mit dem Ziel, unnötige in-vivo Bioäquivalenzstudien einzusparen (Biowaver). Diese Leitlinie enthält definierte Akzeptanzkriterien für die Löslichkeit, Permeabilität und die Freisetzung des Wirkstoffes aus der Arzneiformulierung. Die Kriterien für einen Biowaver werden von Wirkstoffen der BCS-Klasse I erfüllt, wenn diese eine schnelle und ähnliche Freisetzung (> 85 % in 30 min und ≤ 900 ml) aus der Arzneiform zeigen und ein breites therapeutisches Fenster vorliegt. Substanzen der Klasse II, III und IV benötigen stets eine in-vivo Studie.

2.2 Resorption

Damit Arzneistoffe systemisch wirken können, müssen diese über den Blutkreislauf oder das Lymphsystem an den Wirkort transportiert werden. Üblicherweise gelangt ein Arzneistoff nach oraler Gabe nicht direkt in den systemischen Kreislauf, sondern es erfolgt zuvor die Aufnahme vom Applikationsort in den Kreislauf. Dieser Prozess der Aufnahme wird auch Resorption genannt. Die Geschwindigkeit der Resorption ist zum einen abhängig von der Permeation des Wirkstoffes durch biologische Membranen und zum anderen von der Arzneiform selbst.

Wichtige Resorptionsorte für Pharmaka sind die Lunge, der Gastrointestinaltrakt, besondere Schleimhäute sowie die Haut. Der Resorptionsort wird üblicherweise durch gezielte Applikation der Arzneiform gewählt, um einen maximalen therapeutischen Effekt unter Berücksichtigung der Compliance zu erhalten. Klassisch werden daher Pharmaka am häufigsten oral verabreicht. Dabei findet die Resorption im Gastrointestinaltrakt statt. Die gastrointestinale Resorption zeigt eine große Ortsabhängigkeit aufgrund verschiedener vorhandener Oberflächen und lokal vorliegenden pH-Werten. Der Hauptresorptionsort Dünndarm bietet mit 120 m² die größte Oberfläche während der Magen mit 0,1 m² und das Colon mit 0,3 m² hingegen kaum eine Rolle spielen (Dressman JB et al. 1998). Das Vorhandensein von Nahrung im Gastrointestinaltrakt kann sich verschieden auf die Resorption und damit auf die Bioverfügbarkeit auswirken. Die verschiedenen biologischen Membranen, durch die ein Arzneistoff resorbiert wird, zeigen allgemein gemeinsame Strukturmerkmale, obwohl sie nicht identisch sind. Diese Membranen stellen eine Schutzbarriere mit einer Dicke von 70 Å dar, bestehend aus einer Phospholipiddoppelschicht in der Proteine ein bzw. aufgelagert sind. Dies entspricht dem 1972 eingeführten „Fluid Mosaic Modell“ von Singer und Nicolson (Singer SJ & Nicolson GL 1972). Die äußere und innere Lipidschicht können sich in ihrer qualitativen und quantitativen Zusammensetzung unterscheiden. Wichtig ist, dass verschiedene Zelltypen aufgrund struktureller Unterschiede der Membran hohe Permeabilitätsunterschiede besitzen.

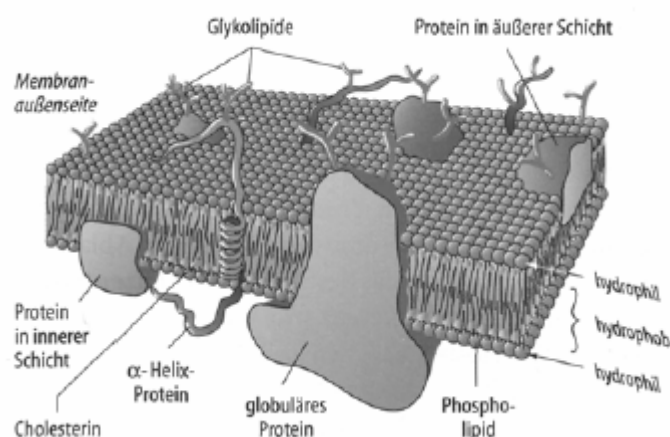


Abbildung 1: Aufbau der Plasmamembran gemäß (Thews und Vaupel 2005)

Für die Verdauung und Resorption spielt der Dünndarm bei oral verabreichten Arzneiformen die entscheidende Rolle. Dieser besteht aus drei aufeinander folgenden Abschnitten unterschiedlicher Länge: dem Duodenum (20-30 cm), dem Jejunum (1,5 m) und dem Ileum (2 m). Die große Oberfläche von 120 m² bis 200 m² wird durch die Ausbildung von Kerckringfalten, fingerförmigen

Zotten (Villi) und von den 1 µm Ausstülpungen (Mikrovilli) der absorptiven Enterozyten erreicht (Thews G & Vaupel P 2005). Diese Enterozyten bilden eine zusammenhängende Epithelschicht, deren dem Darmlumen zugewandte apikale Seite als Bürstensaummembran bezeichnet wird. Eine Mucusschicht mit Hydrogelcharakter, bestehend aus Wasser, Proteinen (meist Mucin), Glycoproteinen und Elektrolyten, bedeckt diese Epithelschicht. Mit ihrer Dicke von 100- 500 µm ist sie Bestandteil der „unstirred water layer“ (unbewegte Wasserschicht), welche als Absorptionsbarriere vor der Epithelschicht fungiert. Die dem Blut zugewandte Seite der Epithelschicht bezeichnet man als basolaterale Membran. Seitlich befinden sich die lateralen Membranen von benachbarten Zellen. Mittels spezieller Proteine können zwischen diesen Zellen „tight junctions“ gebildet sein.

Das Epithel des Gastrointestinaltraktes dient vorwiegend dem Flüssigkeits- und Stoffaustausch. Der Transport von Stoffen durch diese Epithelschicht ist von der Permeation durch deren apikaler und basolateraler Membran abhängig.

2.2.1 Permeationsmechanismen

Die Permeation durch biologische Membranen kann auf zwei Wegen erfolgen: zum einen durch die Zellen hindurch (transzellular) oder zwischen den Zellen (parazellular), siehe Abbildung 2.

Bei der transzellulären Permeation unterscheidet man zwischen dem aktiven, Carrier vermittelten, dem vesikulären und dem passiven Transport.

Die Permeation eines Arzneistoffes hängt von dessen physikochemischen Eigenschaften ab. Es können verschiedene Permeationsmechanismen parallel ablaufen. Zusätzlich beeinflussen physiologische Faktoren wie Magenentleerung, lokale pH-Werte, gastrointestinale Motilität die Permeation und damit die Resorption.

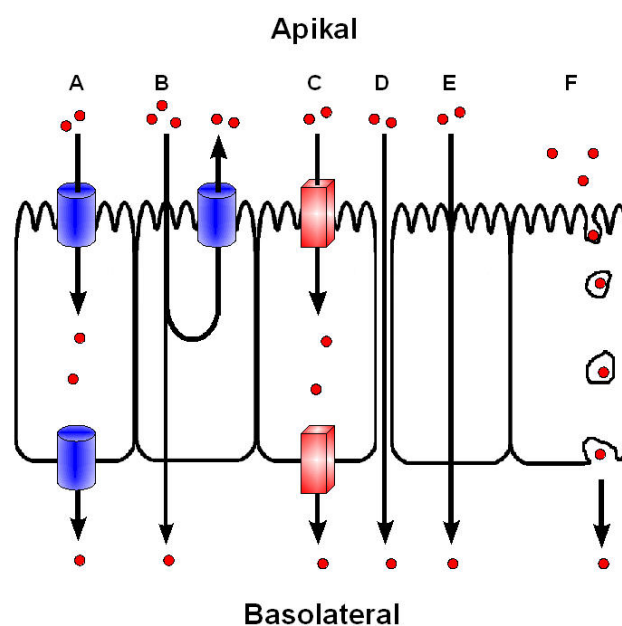


Abbildung 2: Übersicht über intestinale Resorptionswege: (A) primärer aktiver Transport; (B) Efflux Transport; (C) Carrier vermittelte erleichterte Diffusion; (D) passiv parazellulärer Transport; (E) passiv transzellulärer Transport; (F) vesikulärer Transport.

Parazellulärer Transport

Die passive parazelluläre Diffusion korreliert mit der Anzahl der tight junctions (Interzellularspalt) im Darmepithel. Der Anteil an der gesamten Darmoberfläche beträgt jedoch weniger als 0,1 %, demzufolge spielt dieser Absorptionsweg eine untergeordnete Rolle (Lennernäs H. 1998). Diese kleinen mit Wasser gefüllten Poren, mit einem Innendurchmesser von 8 bis 10/13 Å werden vom Jejunum bis zum Dickdarm mit 3 Å immer kleiner (Lennernäs H. 1995; Fine KD et al. 1995). Daher nimmt die Resorptionsquote von den oberen Dünndarmabschnitten hin zum Colon deutlich ab. Eine Permeation durch die tight junctions ist von der Masse und der Hydrophilie des Moleküles abhängig. Vor allem kleine Moleküle (< 200 Da) bevorzugen diesen Absorptionsweg. Zusätzlich erhöhen vorhandene Ladungen in den Poren die Selektivität für die Aufnahme von Kationen (Pappenheimer JR & Reiss KZ 1987; Madara JL 1998; Adson A et al. 1994; Karlsson J et al. 1999). Bei der Anwesenheit von Resorptionsverbesserern können sich diese Poren verstärkt öffnen. Damit kann der Anteil an der Gesamtresorption eines Wirkstoffes entscheidend zunehmen.

Transzellulärer Transport

Passive Diffusion

Die passive transzelluläre Diffusion ist der häufigste Absorptionsprozess für Arzneistoffe. Dieser Prozess benötigt keine Energie, der Arzneistoff diffundiert aufgrund eines Konzentrationsgefälles. Dabei muss der Arzneistoff die apikale Membran, das Zytosol und die basolaterale Membran der Epithelzellen überwinden. Es besteht ein Bezug zum ersten Fickschen Diffusionsgesetz, da die Diffusionsgeschwindigkeit eines Wirkstoffes von der Fläche, der Membrandicke und seinen spezifischen Diffusionskoeffizienten abhängig ist (Gleichung 1).

$$\frac{dQ}{dt} = K \times \frac{A}{d} \times (C_1 - C_2) \quad \text{Gleichung 1}$$

dQ/dt	Diffusionsgeschwindigkeit
K	Permeabilitätskoeffizient
d	Diffusionsweg, Membrandicke
A	Membranoberfläche
(C ₁ – C ₂)	Konzentrationsgefälle an der Membran

Da der Arzneistoff vom Blut- oder Lymphsystem kontinuierlich abtransportiert wird, liegen Sinkbedingungen vor. Damit hängt die Diffusionsgeschwindigkeit von der apikalen Wirkstoffkonzentration ab. Neben den physikochemischen Eigenschaften des Wirkstoffes hängt die Permeation von den Eigenschaften der Membran ab. Die apikale Membran der Enterocyten scheint dabei aufgrund ihrer Dicke limitierend für die passive Diffusion im Vergleich mit der basolateralen Membran (Rehki GS & Eddington ND 1997) zu sein. Die Membranpermeabilität K kann mit der vereinfachten Gleichung 2 beschrieben werden (Artursson P et al. 2001; Fricker G & Miller DS 2002).

$$K = \frac{P \times D}{\lambda}$$

Gleichung 2

P	Lipid/Wasserverteilungskoeffizient
D	Diffusionskoeffizient der Membran
λ	Dicke der Membran
K	Membranpermeabilität

Aufgrund des Verteilungsgleichgewichtes müssen Arzneistoffe idealerweise wasserlöslich, sowie auch lipidlöslich sein, man spricht von „lipophilic hydrophilic balance“. Der sogenannte log P, Logarithmus des Octanol/Wasserverteilungskoeffizienten eignet sich daher für die Vorhersage der Permeabilität. Eine vollständige Absorption wird für einen log P-Wert von 2 vorhergesagt. Ab log P Werten > 4 nimmt die Permeabilität stetig ab, da in diesem Fall das Molekül zu hydrophob ist und sich in die Membran einlagern würde (Lipinski CA 2000; Artursson P et al. 2001).

Für ionisierte Substanzen ist die Permeation vom Gleichgewicht zwischen unionisierter und ionisierter Form abhängig. Die Resorption von größeren Molekülen ist meist erniedrigt. Oft wird auch der log D angegeben. Dieser entspricht den Logarithmus des Octanol-Wasserverteilungskoeffizienten bei einem bestimmten pH-Wert.

„Lipinski`s Rule of Five“ dient der qualitativen Vorhersage der passiven transzellulären Permeation (Tabelle 2).

Tabelle 2: Lipinski`s Rule of Five

Lipinski`s Rule of Five
Molekulargewicht < 500
Protonendonatoren < 5
Protonenakzeptoren < 10
Log P < 5

Carrier vermittelter Transport

Der Carrier vermittelte Transport unterteilt sich in die erleichterte Diffusion und den aktiven Transport. Grundsätzlich können Carrier vermittelte Transporte gesättigt, inhibiert oder induziert werden, das kann zu einer dosisabhängigen Pharmakokinetik führen.

Die erleichterte Diffusion nutzt einen durch primär aktiven Transport entstandenen Gradienten aus, ohne selbst ATP zu verbrauchen. Dabei erfolgt eine Kopplung der Substanz an den Carrier, dieser Komplex diffundiert passiv durch die apikale Membran und gibt die Substanz ins Zelllumen ab.

Der primär aktive Transport erfolgt ausschließlich transzellulär und ist direkt an den Verbrauch von ATP gebunden. Ein Transport entgegen dem Konzentrationsgefälle ist möglich. Zu dieser Gruppe gehören auch aktive Efflux Transporter wie P-Glykoprotein (P-gp).

Der sekundär aktive Transport nutzt einen vorhandenen Spannungs- oder Konzentrationsgradienten. Man unterscheidet Symporter (gleiche Richtung) von Antiportern (entgegengesetzt).

Vesikulärer Transport

Bei einem vesikulären Transport spricht man von Endocytose. Dabei erfolgt der Transport über Membranvesikel. Diese bilden sich an der apikalen Seite über Membranabschnürungen, anschließend wandern sie durch das Cytosol, um mit der basolateralen Membran zu verschmelzen. Dabei geben sie ihren Inhalt ab. Man unterscheidet zwischen Pinocytose (Flüssigkeitströpfchen) und Phagocytose (Feststoffpartikel).

Efflux Transport

Hierbei handelt es sich um apikal lokalisierte aktive Transporter, die Substanzen zurück ins Darmlumen transportieren können. Sie haben daher eine besondere Bedeutung für die Arzneimitteltherapie, denn ein aktiver Efflux führt zu erniedrigten Bioverfügbarkeiten. Die wichtigsten Effluxtransporter sind p-Glycoprotein (P-gp) und das Multi-Drug-Resistance-Related-Protein 2 (MRP2) (Fricker G & Miller DS 2002; Taipalensuu J et al. 2001; Loo T W et al. 2004). Diese Transportproteine zählen zu den ABC-Transportern (Adenosintriphosphat binding cassette transporter), wobei durch ATP Hydrolyse ein Transport entgegen dem Konzentrationsgradienten erfolgt.

2.2.2 Caco 2 Permeationsmodell

Für die Vorhersage des Transportes durch biologische Membranen wurden verschiedene Modelle entwickelt. Eines der am besten charakterisierten in-vitro Modelle zur Bestimmung von intestinalen Absorptionsprozessen enthält eine aus einem humanen Colon Adenokarzinom gewonnene Caco 2 Zelllinie. Isoliert wurden die Zellen aus dem Colon des 72 jährigen Kaukasiers J. Fogh im Jahr 1977. Die Bedeutung der Caco 2 Zellen für in-vitro Permeabilitätsuntersuchungen spiegelt sich in der Guidance for Industry 2000 der FDA wieder. Die mittels Caco 2 ermittelten Permeabilitäten werden heutzutage als Grundlage für die Einteilung von Arzneistoffen mittels des BCS herangezogen.

Die Caco 2 Zellen sind immortale und adhäre Zellen, sie differenzieren spontan und besitzen eine morphologische Ähnlichkeit zum Dünndarmepithel. Daher können Caco 2 Zellen für die Aufklärung des intestinalen Arzneistofftransportes, der intestinalen Bioverfügbarkeit, Toxizitätsuntersuchungen oder den Einfluss von pharmazeutischen Hilfsstoffen auf die Permeation verwendet werden. Eine in-vitro in-vivo Korrelation wurde nachgewiesen (Dressman JB & Fleisher D 1986; Artursson P et al. 2001; Artursson and Karlsson 1991). Dennoch ist stets zu beachten, dass diese Zellen aus dem Colon gewonnen wurden, dessen Zellen dichter und undurchlässiger als im Dünndarm sind.

Bei der Anzucht proliferieren die Zellen schnell und bilden nach wenigen Tagen einen zusammenhängenden Zellmonolayer. Es schließt sich eine Phase der Polarisation zu säulenförmigen Zellen mit Mikrovilli, Transportproteinen und Tight Junctions auf der apikalen Seite an. Nach zwei bis

drei Wochen hat sich die typische luminale Bürstensaummembran des Darmepithels gebildet. Diese ausdifferenzierten Zellmonolayer können anschließend für Permeationsversuche verwendet werden. Die Permeationsversuche werden meist kombiniert, im Allgemeinen von apikal nach basolateral zur Aufklärung von Absorptionsprozessen und von basolateral nach apikal zur Aufklärung von Effluxmechanismen, durchgeführt. Trotz der weiten Verbreitung von Caco 2 Zellen existieren keine standardisierten Vorschriften, daher kann ein Vergleich verschiedener Ergebnisse schwierig sein (Dressman JB & Fleisher D 1986; Walter and Kissel 1995). Nachteile der Caco 2 Zellen im Vergleich zu in-vivo oder in-situ Versuchen liegen darin, dass nur Zellen eines Zelltypes vorliegen und bestimmte physiologische Faktoren wie z.B. Mucus und Gallensalze in Zellmodellen nicht vorhanden sind. Dafür spricht der geringe apparative Aufwand, was einhergeht mit mehr möglichen Untersuchungen bei geringeren Kosten. Die Verwendung von kleinen Arzneistoffmengen hat wesentlich dazu beigetragen, dass sich das Caco 2 Modell vor allem in der pharmazeutischen Industrie durchgesetzt hat.

2.3 *In-vitro Wirkstofffreisetzung*

Die Bestimmung der Freigabe eines Arzneistoffes aus einer Arzneiform erfolgt unter standardisierten Bedingungen mittels der in-vitro Freisetzung (Dissolution). Der Anfang der Entwicklung der Freisetzung begann vor über 100 Jahren nicht im Bereich der Pharmazie, sondern in der physikalischen Chemie. Erst in den fünfziger Jahren des letzten Jahrhunderts wurden erste Beziehungen zwischen der Freisetzung von Arzneistoffen und deren Bioverfügbarkeit aufgestellt (Dokoumetzidis A & Macheras P 2006). So fand Nelson 1957 als Erster einen Zusammenhang zwischen der in-vitro Freisetzung bei oral verabreichten Theophyllinsalzen und dem Blutspiegel (Nelson E 1957). Im Jahr 1970 wurde erstmals eine Freisetzung mittels der Drehkörbchen-Apparatur (Apparatus 1) in der USP veröffentlicht. In den Folgejahren wurde die in-vitro Freisetzung zu einem essentiellen Bestandteil der Arzneibücher weltweit. Heute erfolgt die Durchführung von in-vitro Freisetzen in der pharmazeutischen Industrie auf der Grundlage von Leitlinien in den Arzneibüchern, wie der USP-Guideline (<711> „Dissolution“) oder dem Europäischen Arzneibuch (Ph. Eur. 2.9.3. „Dissolution Test for Solid Dosage Forms“). Für die Bestimmung der Auflösungs- und Freisetzungsgeschwindigkeit sind inzwischen verschiedene Methoden beschrieben. Hauptsächlich findet die Blattrührer-Apparatur (Apparatus 2) und der Apparatus 1 Verwendung. Weitere Methoden finden sich in der Tabelle 3.

Tabelle 3: Übersicht zu den monographierten Freisetzungsmethoden

	Apparat	Bezeichnung	Monographie
Orale Arzneiform	Apparat 1	Drehkörbchen-Apparatur	Ph.Eur. 2.9.3 & USP <711>
	Apparat 2	Blattrührer-Apparatur	Ph.Eur. 2.9.3 & USP <711>
	Apparat 3	Reziproker Zylinder	Ph.Eur. 2.9.3 & USP <711>
	Apparat 4	Durchflussszelle	Ph.Eur. 2.9.3 & USP <711>
Trans- dermale Arznei- form	Apparat 5	Freisetzungsscheibe	Ph.Eur. 2.9.4. & USP <724>
	Apparat 6	Rotierender Zylinder	Ph.Eur. 2.9.4. & USP <724>
	Apparat 7	Reziproker Halter	USP <724>

Da es sich bei der Freisetzung um eine Konventionsmethode handelt, müssen viele Parameter genau eingehalten werden. Die möglichen variablen Parameter sind das Freisetzungsmedium, der Drehkörper, die Rührgeschwindigkeit, Probennahmezeitpunkte und in Ausnahmefällen die Temperatur.

Die Freisetzung stellt immer ein wichtiges Kriterium für die pharmazeutische Qualität dar. Sie dient zum einen der Überwachung der Chargeneinheitlichkeit und dem Vergleich unterschiedlichster Zubereitungen bzw. der Qualitätskontrolle für die Produktion. Zum anderen ist die Anwendung während der Formulierungsentwicklung unverzichtbar. Besonders bei schwerlöslichen Arzneistoffen ist die Bestimmung der Auflösungsgeschwindigkeit von großer Bedeutung, da in diesem Fall die Auflösungsgeschwindigkeit den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt für die Bioverfügbarkeit darstellt. In Folge dessen sind neue Freisetzungsmethoden, wie die Durchflussszelle, in den Focus der Arzneibücher, sowie der Industrie gerückt, siehe Tabelle 4 (Siewert M et al. 2003; Shah VP et al. 2002).

Tabelle 4: Freisetzungssysteme für Arzneiformulierungen

Arzneiform	Freisetzungsmethode
Feste orale Arzneiform	Blattrührer, Drehkörbchen, reziproker Zylinder, Durchflussszelle
Orale Suspensionen	Blattrührer, Durchflussszelle
Transdermale Arzneiform	Freisetzungsscheibe
Halbfeste topische Arzneiform	Franz Diffusionszelle
Suppositorien	Blattrührer, modifiziertes Drehkörbchen, Durchflussszelle
Kaugummi	Spezielle Apparatur (Ph.Eur.)
Pulver und Granulate	Durchflussszelle
Mikropartikuläre Formulierungen	Durchflussszelle
Implantate	Durchflussszelle

2.3.1 Löslichkeit und Auflösungsgeschwindigkeit

Die Löslichkeit, als eine charakteristische physikalische Eigenschaft von Stoffen, gibt an, in welchem Ausmaß ein Stoff in einem Medium gelöst werden kann. Für die Formulierungsentwicklung ist die Löslichkeit von Wirkstoffen in wässrigen Medien entscheidend. Die Löslichkeit selbst entspricht einem dynamischen Gleichgewicht, bestehend aus zwei Prozessen, der Auflösung und der Präzipitation, welche bei Erreichen der Sättigungslöslichkeit im Gleichgewicht vorliegen. Die qualitative Löslichkeit gibt an, ob ein Stoff in einem bestimmten Lösungsmittel löslich ist. Hingegen wird als quantitative Löslichkeit die Stoffmenge betrachtet, die in einem bestimmten Lösungsvolumen löslich ist.

Eine Bestimmung der Löslichkeit kann kinetisch oder thermodynamisch erfolgen, die Anwendung ist abhängig vom Stadium der pharmazeutischen Entwicklung, Abbildung 3.

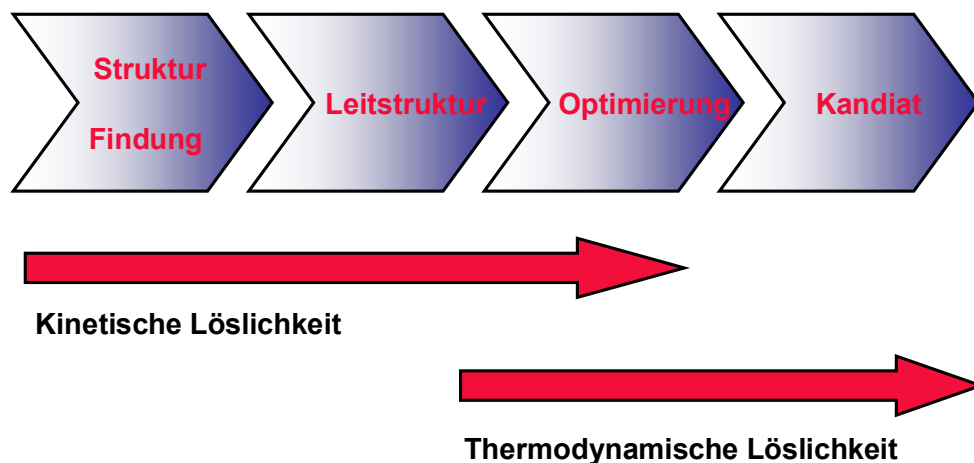


Abbildung 3: Anwendung der kinetischen bzw. thermodynamischen Löslichkeit während der pharmazeutischen Entwicklung.

Bei der kinetischen Löslichkeit wird eine DMSO Stammlösung schrittweise einem Puffer zugegeben. Der Zeitpunkt des ersten Auftretens eines Präzipitates wird als kinetische Löslichkeit definiert. Da dieses Verfahren einfach zu automatisieren ist, findet es meist Anwendung beim High Throughput Screening (HTS). Die thermodynamische Löslichkeit, auch Sättigungslöslichkeit, wird unter definierten Bedingungen durchgeführt. Am häufigsten findet die Shake-Flask-Methode Anwendung. Bei der Shake-Flask-Methode (Bodensatzmethode) befindet sich die zu lösende Substanz in einem Kolben der über einen bestimmten Zeitraum meistens 24/48 oder 72 Stunden geschüttelt oder gerührt wird (Yalkowsky SH & Mishra DS 1992; Yalkowsky SH & Pinal R 1993). Dabei stellt sich ein Gleichgewicht zwischen fester Substanz (Solute) und gelöster Substanz (Solution) ein.

Wichtig ist die Unterscheidung zwischen den unterschiedlichen thermodynamischen Löslichkeiten, wie der ungepufferten Löslichkeit, intrinsischen Löslichkeit und gepufferten Löslichkeit, Tabelle 5 (Hörter D & Dressman JB 1997).

Tabelle 5: Definitionen der verschiedenen thermodynamischen Löslichkeiten

Löslichkeit		
ungepufferte	intrinsische	gepufferte
Es liegt eine gesättigte wirkstoffgepufferte Lösung vor, deren pH-Wert von den Eigenschaften des Wirkstoffes abhängt.	Sättigungslöslichkeit eines ionisierbaren Wirkstoffes (freie Säure oder freie Base) bei einem bestimmten pH-Wert bei dem der Wirkstoff völlig unionisiert vorliegt.	Sättigungslöslichkeit bei einem spezifischen durch Puffer eingestellten pH-Wert.

Die Auflösung einer Substanz in einer Lösung beruht auf einer Entropieänderung. Bei kristallinen Stoffen kommt es zunächst zum Aufbrechen des Kristallgitters in die einzelnen Gitterbausteine und der anschließenden Solvation durch das Lösungsmittel.

Die Wirkstoffe können in verschiedenen Kristallformen vorliegen, diese werden auch polymorphe Modifikationen genannt. Kristallformen, welche Lösungsmitteladdukte enthalten, werden als pseudopolymorphe Formen bezeichnet. Im Fall von Wasser spricht man von Hydraten. Im Allgemeinen besitzt die thermodynamisch instabilste Form die höchste Sättigungslöslichkeit, sowie eine erhöhte Auflösungsgeschwindigkeit. Im Fall von amorphen Substanzen ist keine Kristallgitterstruktur vorhanden, die Moleküle sind zufällig angeordnet und damit thermodynamisch instabil. Amorphe Substanzen benötigen daher eine geringere Energie für den Auflösungsprozess und zeigen eine höhere Löslichkeit als die kristalline Form.

Nach der Kelvingleichung steht die Sättigungslöslichkeit in Korrelation zur Teilchengröße. Allgemein nimmt die Löslichkeit bei abnehmendem Teilchendurchmesser zu. Dieser Effekt spielt erst eine Rolle bei Teilchendurchmessern von kleiner als 1 µm, siehe Gleichung 3.

$$\ln\left(\frac{S}{S_0}\right) = \frac{2 \cdot \gamma \cdot V}{R \cdot T \cdot r}$$

Gleichung 3

S/S_0	Löslichkeitsverhältnis zwischen sehr großen S_0 und kleinen S Teilchen
γ	Grenzflächenspannung (fest-flüssig)
V	molares Volumen
T	absolute Temperatur
R	Gaskonstante
r	Teilchenradius

Weitere Einflüsse auf die Löslichkeit sind die Temperatur, der pH-Wert, eine Komplexbildung, die Ionenstärke im Lösungsmedium oder das Vorliegen bestimmter Salze.

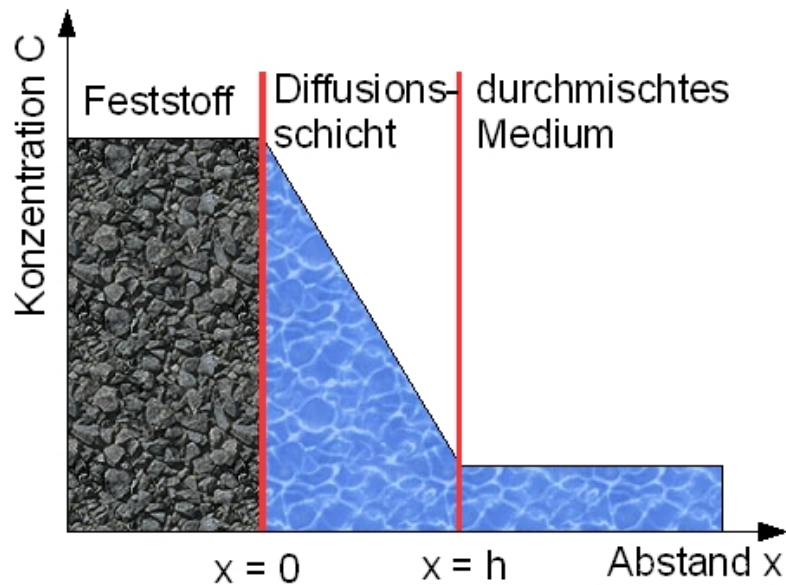


Abbildung 4: Modell der unbewegten Diffusionsschicht auf Festkörperoberflächen.

Die Auflösungsgeschwindigkeit spielt ebenfalls eine wichtige Rolle während der Formulierungsentwicklung. Besonders bei schwerlöslichen Arzneistoffen, bei denen ein geringes Konzentrationsgefälle zwischen gesättigter Lösung und der Konzentration des Arzneistoffes zum Zeitpunkt t vorliegt. 1897 wurde erstmals die Auflösungskinetik von Noyes und Whitney untersucht (Noyes AA & Whitney WR 1897). Die von Ihnen aufgestellte Gleichung (Gleichung 4) beruht auf der Theorie einer unbewegten Diffusionsschicht auf der Festkörperoberfläche, durch die gelöste Teilchen hindurch diffundieren müssen, siehe Abbildung 4. Diese Gleichung diente als Basis für die Beschreibung der Freisetzungsrates von Nernst (1904) und Brunner (1904), indem sie das 1. Ficksche Diffusionsgesetz (Gleichung 5) mit berücksichtigten (Nernst W 1904; Bruner L & Tolloczko S 1900). Die so optimierte Gleichung (Gleichung 6) enthält nun den Einfluss der Feststoffoberfläche auf die Auflösungsgeschwindigkeit.

Der Massenstrom J ist die Masse m , die durch eine Flächeneinheit A pro Zeiteinheit hindurchwandert, er ist dem Konzentrationsgradienten dC/dx proportional.

$$\frac{dC_t}{dt} = k \times (C_s - C_t) \quad \text{Gleichung 4}$$

$$J = \frac{dm}{A \times dt} = -D \frac{dC}{dx} \quad \text{Gleichung 5}$$

$$\frac{dm}{dt} = \frac{D \times A}{h} \times (C_s - C_t) \quad \text{Gleichung 6}$$

dm/dt	Auflösungsgeschwindigkeit
D	Diffusionskoeffizient
A	effektive Feststoffoberfläche
J	Massenstrom
m	Masse
$dc/d\chi$	Konzentrationsgradient
k	Konstante
C_s	Sättigungskonzentration
C_t	Konzentration zum Zeitpunkt t

Es ist nicht möglich die Nernst-Brunner-Gleichung für die Auflösung von Pulvern anzuwenden, da sich die effektive Oberfläche von Wirkstoffpartikeln permanent ändert. Ein Ansatz zur Beschreibung der Pulverauflösung kam von Hixson-Crowell im Jahr 1931 für die Freisetzung von monodispersen Partikeln unter Sinkbedingungen mit dem Kubikwurzelgesetz, siehe Gleichung 7 (Hixson AW & Crowell JH 1931).

$$W_0^{\frac{1}{3}} - W_t^{\frac{1}{3}} = R \times t$$

Gleichung 7

W_0	Initiale Masse
W_t	ungelöste Masse zum Zeitpunkt t
t	Zeit
R	Freisetzungskonstante

Langenbucher nutzte 1972 die Weibull-Funktion (Gleichung 8) zur empirischen Beschreibung von Freisetzungsprofilen. Der Vorteil liegt darin, dass auch Arzneiformen mit unvollständiger Freisetzung bzw. verzögerter Freisetzung beschrieben werden können (Langenbucher F 1976; Langenbucher F 1972).

$$C_t = C_0 \left(1 - e^{-\left(\frac{t}{k_w}\right)^d} \right)$$

Gleichung 8

C_t	Konzentration der Substanz im Medium zum Zeitpunkt t [g/l]
C_0	Grenzkonzentration nach vollständiger Lösung [g/l]
K_w	Zeitpunkt zu dem 63,2 % des Wirkoffs freigesetzt sind [s]
d	Formfaktor der Freisetzungskurve
t	Zeit [s]

Dokoumetzidis et al stellten 2006 einen physikalischen Bezug der empirischen Weibull-Funktion mit der integrierten Noyes-Withney-Gleichung auf (Dokoumetzidis A & Macheras P 2006). Für den Sonderfall, dass der Formfaktor d den Wert 1 hat, entspricht die Weibull-Funktion mathematisch der integrierten Noyes-Whitney-Gleichung (9).

$$C_t = C_0(1 - e^{-kt})$$

Gleichung 9

C_t	Konzentration der Substanz in der Lösung zum Zeitpunkt t [g/l]
C_0	Grenzkonzentration nach vollständiger Lösung bzw. nach Erreichen der Sättigungslöslichkeit
t	Zeit [s]

Im Laufe der Zeit wurden viele weitere Modelle für die Auflösungskinetik diskutiert, diese haben sich aber nicht durchgesetzt. Auch für die Freisetzung aus diversen Arzneiformen wurden verschiedenste Gesetzmäßigkeiten aufgestellt. Die bekanntesten darunter stammen von Higuchi sowie von Korsmeyer und Peppas (Higuchi T 1961; Higuchi T 1963; Korsmeyer RW & Peppas NA 1981).

2.3.2 Freisetzungsmedien

Die Wahl des Freisetzungsmediums ist wesentlich entscheidend für das Freisetzungsprofil eines Arzneistoffes. Die Faktoren wie pH-Wert, Löslichkeit, Ionenstärke, Ionenart, die Anwesenheit von Lösungsvermittlern und Benetzungsmitteln können die Freisetzung unter Umständen erheblich beeinflussen. Die Löslichkeit eines Arzneistoffes, als wichtigstes Charakteristikum für das Freisetzungsmedium, ist für das Erreichen von Sinkbedingungen ausschlaggebend. Um Sinkbedingungen zu erhalten, muss das Volumen des Freisetzungsmediums, je nach Literatur, um den Faktor 3 (Gray VA et al. 2000; The United States Pharmacopeia Convention 2008) bzw. um den Faktor 5 bis 10 (Little AC 1999) höher sein, als für die vollständige Auflösung der vorliegenden Menge Wirkstoff benötigt wird. Bei wasserunlöslichen oder schlecht löslichen Wirkstoffen werden daher häufig Lösungsvermittler eingesetzt, um Sinkbedingungen zu simulieren.

Oberflächenaktive Zusätze in Freisetzungsmedien dienen einer Verbesserung der Benetzbarkeit, denn die Oberflächenspannung von Magensaft liegt mit 35 – 45 mN/m deutlich unter den 72,75 mN/m von reinem Wasser (Finholt P & Solvang S 1968). Der Einsatz von Benetzungsmitteln stellt daher ein einfaches und probates Mittel dar, die natürliche Benetzung im Freisetzungsmedium zu simulieren. Ein Gebrauch wässrig-organischer Gemische als Freisetzungsmedium ist generell nicht statthaft. Nur eine Ausnahme ist akzeptabel, in dem Fall, wenn eine in-vivo in-vitro Korrelation nachgewiesen werden kann. Ein Zusatz von Benetzungsmitteln oder Lösungsvermittlern wird meistens durch ein Plus bei der Kurzbezeichnung des Freisetzungsmediums angezeigt.

Für die Simulation der physiologischen Bedingungen im menschlichen Körper gibt es verschiedene Ansätze, das Verhalten eines Arzneistoffes oder einer Arzneiform nachzustellen. Entsprechend unterscheidet man zwischen biorelevanten Freisetzungsmedien und Freisetzungsmedien für die

Routineanwendung wie der Qualitätskontrolle. Bei Routineanwendungen ist es nicht zwingend erforderlich komplexere Freisetzungsmedien zu wählen. Es können zum Beispiel anstelle von künstlichen Magen- und Darmsaft, 0,1 mol/l Salzsäure oder eine Pufferlösung pH 6,8 gemäß Arzneibücher eingesetzt werden. Die biorelevanten Medien hingegen unterscheiden sich in ihrer Zusammensetzung nach der zu simulierenden physiologischen Situation. Fassif/ Fessif- Medien zum Beispiel abgeleitet von Fasted State/ Fed State Simulated Intestinal Fluid dienen der Prognose des Einflusses von Mahlzeiten (Food-effectes). Sie stellen die etabliertesten biorelevanten Medien dar (Galia E et al. 1998). Ein Nachteil der Anwendung dieser biorelevanten Medien liegt in der aufwendigen Herstellung. Andere Ursachen für die bisher geringe Anwendung in der pharmazeutischen Industrie liegen in der Verwendung von teuren Gallensalzen und Lecithin sowie in der kurzen Haltbarkeit von nur einem Tag. Eine Übersicht zu möglichen Freisetzungsmedien ist in der Tabelle 6 aufgeführt. Trotz verschiedener Philosophien über die Zusammensetzung von Freisetzungsmedien ist es das Ziel stets eine diskriminierende Freisetzungsmethode zu erhalten.

Tabelle 6: Übersicht zu monographierten und nicht-monographierten Freisetzungsmedien

Medium	Bezeichnung	Vorschrift
SGF	Simulated Gastric Fluid	gemäß USP & Ph.Eur.
SGFsp	Simulated Gastric Fluid sine Pepsin	
SGFsp ⁺	Simulated Gastric Fluid sine Pepsin & Tensid	
SIF	Simulated Intestinal Fluid	gemäß USP & Ph.Eur.
SIFsp	Simulated Intestinal Fluid sine Pancreatin	
SIFsp ⁺	Simulated Intestinal Fluid sine Pancreatin & Tensid	
Fassif	Fasted State Simulated Intestinal Fluid	
Fessif	Fed State Simulated Intestinal Fluid	
FaSSGF	Fasted State Simulated Gastric Fluid	
Milch 3,5%		
0,1 N HCl		
Acetatpuffer 4,5		gemäß USP & Ph.Eur.
Phosphatpuffer 4,5		gemäß Ph.Eur.
Wasser		

2.3.3 In-vitro Freisetzungssysteme

Blattrührerapparatur:

Die Entwicklung startete bei der Becherglas- methode von Levy bis zur standardisierten Blattrührer- Apparatur (USP- Apparatus 2), welche erstmals 1978 in die USP aufgenommen wurde. Seither hat sie sich mit großem Abstand zur meistgenutzten Freisetzungssapparatur weltweit entwickelt (Dokoumetzidis A & Macheras P 2006). Die Arzneibücher weltweit enthalten inzwischen einheitlich standardisierte Abmessungen für diese Apparatur, siehe Abbildung 5.

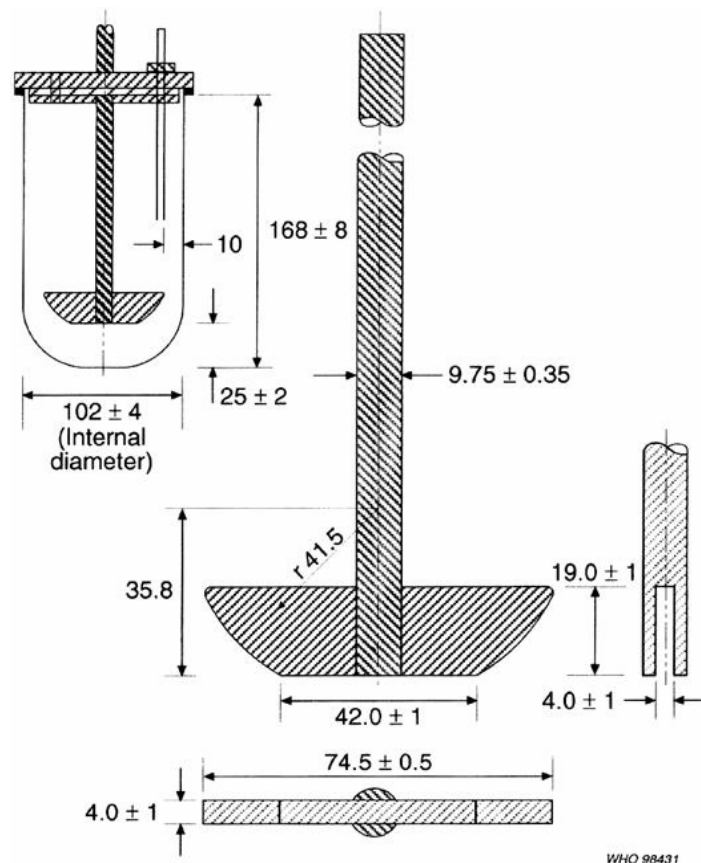


Abbildung 5: Schematische Darstellung der Blattrührerapparatur.

Die verwendeten Vessel können aus inertem Kunststoff oder Glas bestehen. Die Anwendung erfolgt fast ausschließlich für die Freisetzung von festen oralen Arzneiformen, meistens handelt es sich um Tabletten- und Kapselformulierungen. Während der Freisetzung wird unter bestimmten Umständen eine Verwendung von Sinkern gestattet, siehe Abbildung 6.

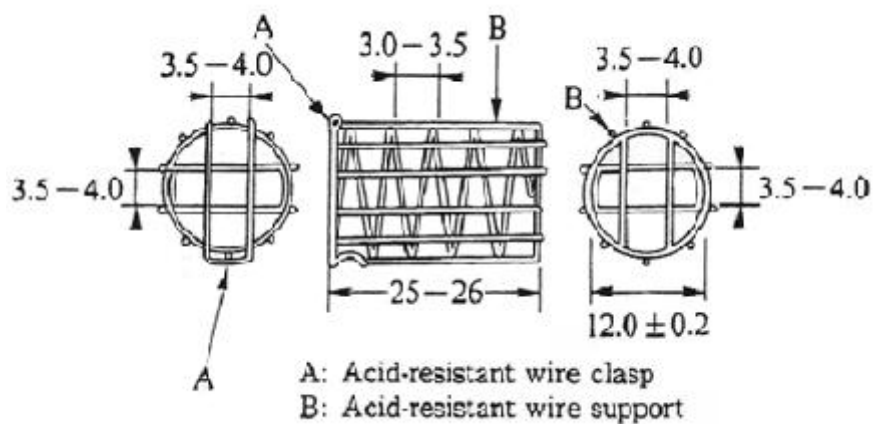


Abbildung 6: Beispiel für alternative Sinkern gemäß Ph.Eur. 2.9.3.

Sinker dienen der Beschwerung der Arzneiform, sie sollen sicherstellen, dass diese nicht aufschwimmt (floating) und zentral am Boden des Vessels liegt. Häufig werden Sinker bei der Freisetzung von Hartgelatinekapiteln verwendet. Es existieren Sinker in verschiedenen Formen und Größen, daher müssen sie für die jeweilige Anwendung genau angepasst (spezifiziert) werden.

Häufig zu beobachtende Effekte während der Freisetzung sind ein „Coning“ oder „Mounding“. Dabei kommt es zur Anhäufung von nichtlöslichen Bestandteilen der Arzneiformulierung zentral am Boden des Vessels. Dieser Effekt lässt sich durch eine Erhöhung der Umdrehungsgeschwindigkeit oder Volumenvergrößerung verhindern.

Üblicherweise verwendet man Umdrehungsgeschwindigkeiten von 25 bis 150 Umdrehungen pro Minute (rpm), da die Hydrodynamik unterhalb von 25 rpm eine schlechte Reproduzierbarkeit aufweist und oberhalb von 150 rpm kommt es zur Entstehung von Turbulenzen im Vessel.

Die Durchführung von in-vitro Freisetzung mittels Blattrührer-Apparatur erfolgt in der pharmazeutischen Industrie entsprechend der aktuell vorliegenden USP (<711>, „Dissolution“) und der Ph. Eur. (2.9.3., „Dissolution Test For Solid Dosage Forms“).

Durchflussszellenapparatur:

Die Entwicklung der Durchflussszelle begann 1957 in den Laboren der FDA. In der Folgezeit gab es verschiedene Ansätze, wie von Pernarowski 1968, Durchflussszellen zu realisieren. Mit der Zeit stellte sich heraus, dass die Säulenmethode die besten Bedingungen für die Freisetzung von festen Arzneiformen bietet. Es wurden verschiedene Ansätze von Durchflussszellen in Säulenform verfolgt. Am Ende setzte sich der Entwurf von Langenbucher (Langenbucher F et al. 1989) gegen Dibbern, Tingstadt, Riegelman und Bolhuis durch. Aber erst mit der Aufnahme in die USP 1990 stieg das Interesse Durchflussszellen in der pharmazeutischen Entwicklung einzusetzen (Pernarowski M et al. 1968; Hu J et al. 2005; Zolnik BS et al. 2005; Fotaki N & Reppas C 2005; Beyssac E & Lavigne J 2005; Brown W 2005; Krämer J & Stippler E 2005; Kauffman JS 2005; Hodson A & Wilkinson KA 2005). Aufgrund der vielseitigen Möglichkeiten, die Durchflussszellen bieten, steigt deren Anwendung stetig an. Da diese Entwicklung jedoch erst in den letzten Jahren begonnen hat, gibt es bis heute wenige Anwendungen für Durchflussszellen in der Qualitätskontrolle von festen oralen Arzneiformen. Hingegen erfolgt die Anwendung in der Qualitätskontrolle bei Implantaten, Stents oder Inserten schon seit Jahren.

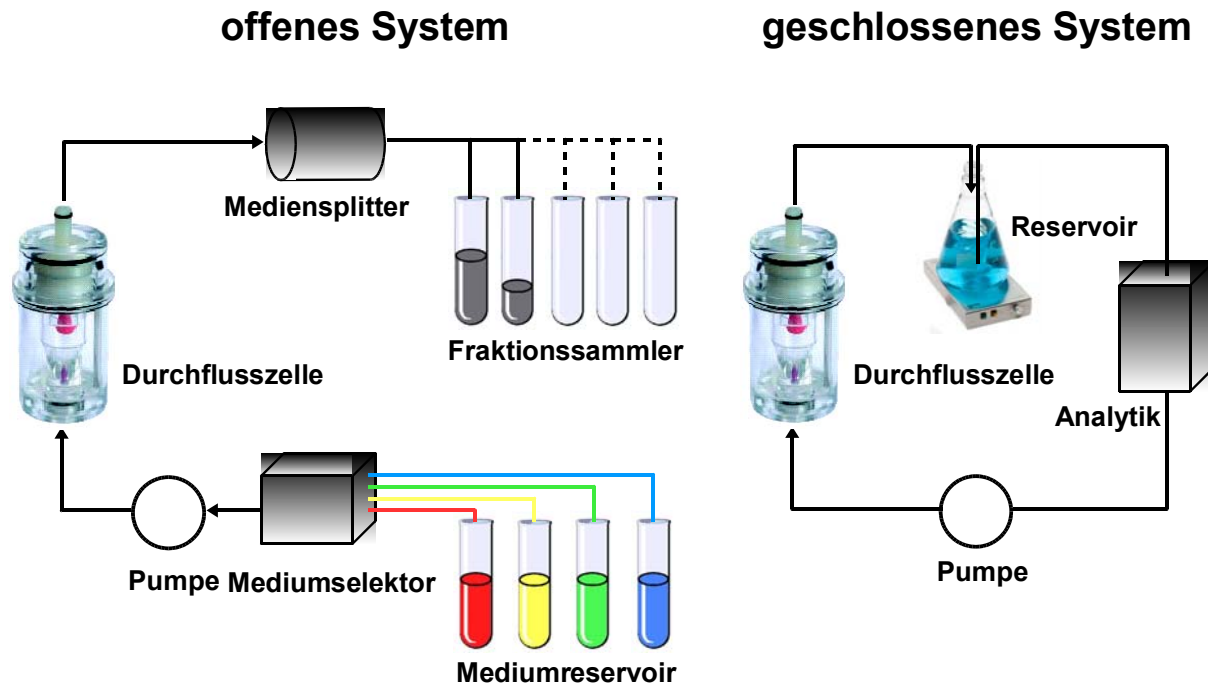


Abbildung 7: Schematische Darstellung der offenen und geschlossenen Betriebsweise von Durchflussszellen. Die Analytik kann direkt online per UV/Vis Spektroskopie oder nach Entnahme von Fraktionen mittels HPLC erfolgen.

Bei der Durchflussszellenmethode durchfließt das auf 37°C temperierte Freisetzungsmittel von unten eine definierte Zelle. Am Zellausgang wird das Lösungsmittel filtriert und anschließend direkt analysiert („online“) oder fraktionsweise gesammelt und anschließend analysiert („offline“). Die Analyse erfolgt meist mittels UV/VIS Spektroskopie oder HPLC. Die Flussraten des Mediums liegen üblicherweise zwischen 8 und 48 ml/min. Durch eine Variation der Flussrate kann Einfluss auf die Freisetzungskinetik genommen werden. Eine Flussrate von 16 ml/min wird meistens bei Tabletten verwendet, da dies einem Volumen von 960 ml pro Stunde entspricht. Dies erleichtert einen Vergleich mit der Blattrührer-Apparatur, bei der häufig die Freisetzung in einem Volumen von max. 900 ml oder 1000 ml erfolgt.

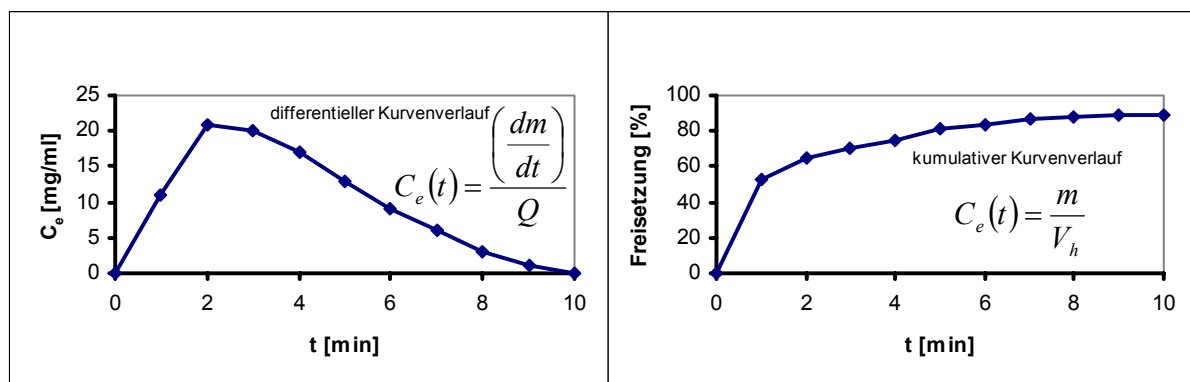


Abbildung 8: Gegenüberstellung des differentiellen Freisetzungsprofils der offenen Betriebsweise gegen das kumulative Freisetzungsprofil der geschlossenen Betriebsweise in Durchflussszellen.

Bei der Freisetzung unterscheidet man zwischen einer offenen und einer geschlossenen Betriebsweise, siehe Abbildung 7. In der offenen Betriebsweise wird permanent frisches Freisetzungsmittel der Zelle zugeführt. Bei der geschlossenen Betriebsweise wird hingegen das Medium in einem Kreislauf gepumpt. Diese beiden Betriebsweisen unterscheiden sich daher grundlegend in ihren Freisetzungsprofilen. Man spricht von einem differentiellen Profil für die offene Betriebsweise und einem kumulativen Profil für die geschlossene Betriebsweise, Abbildung 8. Differentielle Profile werden üblicherweise mittels einer Summenformel in kumulative Profile umgerechnet. Die Darstellung des kumulativen Profils hat sich als Standard durchgesetzt, denn ein kumulatives Profil erleichtert den Vergleich mit Freisetzungsprofilen der Blattrührer-Apparatur. Die Möglichkeit einer offenen Betriebsweise stellt den größten Vorteil dar, denn dadurch erfolgt auch bei schwerlöslichen Wirkstoffen die Freisetzung unter Sinkbedingungen. Ein weiterer Vorteil liegt im einfachen Wechsel zwischen verschiedenen Freisetzungsmitteln. Dies ermöglicht die Simulation von physiologischen Bedingungen durch Änderung des pH-Wertes während der Freisetzung. Es stehen verschiedene Zellen je nach Anwendung für Durchflusszellen zur Verfügung, siehe Abbildung 9.

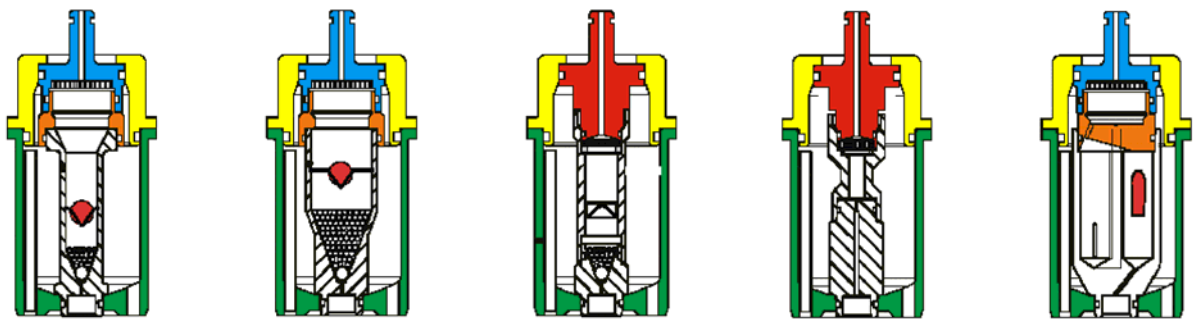


Abbildung 9: Die Abbildung zeigt die kommerziell erhältlichen Zellen. Von links nach rechts sind die 12 mm Tablettenzelle, 22,6 mm Tablettenzelle, Pulver-/Granulat-zelle, Implantatzelle und die Suppositorienzelle abgebildet.

Für die Freisetzung von Tabletten und Kapseln sind zwei Zellen mit verschiedenen Innendurchmessern in der USP und Ph.Eur. beschrieben. Zellen für Suppositorien und Pulver/Granulate sind inzwischen auch in den Arzneibüchern monographiert.

2.3.4 Apparent Dissolution

In den frühen 1970er Jahren begann Langenbucher mit den ersten konzeptionellen Entwürfen für Zelleinsätze verschiedenster Anwendung bei Durchflusszellen. Unter anderem entwickelte er eine Zelle für die Freisetzung von Pulvern und Granulaten. Diese Zelle wurde im Januar 2007 als Kapitel 2.9.43 in die Ph.Eur. mit dem Titel „Apparent Dissolution“ aufgenommen. Die Methode dient zur Bestimmung der scheinbaren Freisetzung, der sogenannten „Apparent Dissolution Rate“. Seitdem findet die „Apparent Dissolution“ zur Charakterisierung von Pulvern und Granulaten zunehmend Anwendung. Ein Vorteil dieser Technik liegt in der Möglichkeit, die Zelle flexibel je nach den erforderlichen Ansprüchen mit einer Probe zu beladen. Im Gegensatz zur herkömmlichen Blattrührer-

apparatur wird die Probe nicht einfach aufgestreut, sondern das Freisetzungsmedium kommt zur definierten und positionierten Probe, was eine viel bessere Standardisierbarkeit ermöglicht. Die eigentliche Zelle, in der die Freisetzung stattfindet, stellt einen Zylinder dar. Das obere und untere Ende wird jeweils von einem Sieb mit Filter begrenzt, siehe Abbildung 10.

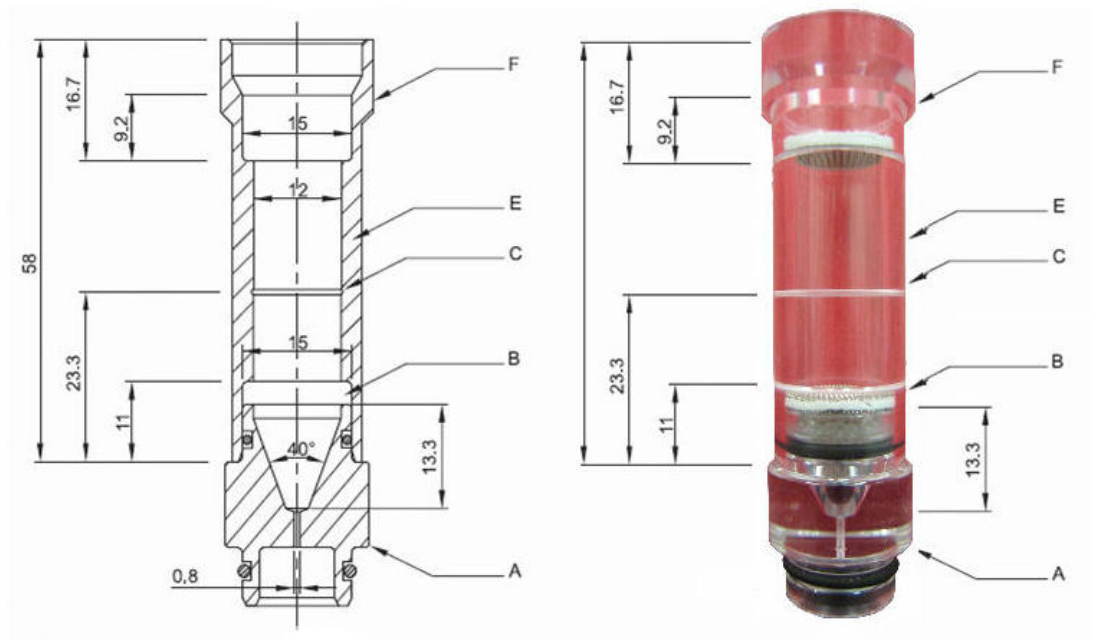


Abbildung 10: Schematische Übersicht einer Pulver-/ Granulatzelle gemäß 2.9.43 Ph.Eur.

A) unterer Teil, B) Metallsieb, C) Clip, E) mittlerer Teil, F) oberer Teil

Der Ablauf einer Freisetzung kann wie folgt beschrieben werden: Zunächst wird das Freisetzungsmedium von unten in die Zelle gepumpt. Es gelangt dabei erst durch eine konische Aufweitung und nach anschließender Passage eines Filters in die eigentliche Zelle. In dem Konus befindet sich eine Rubinglaskugel am unteren Ende. Diese dient als Ventil, damit kein Freisetzungsmedium die Zelle verlassen kann. Der restliche Raum zwischen Rubinglaskugel und Filter ist mit 1 mm Glasperlen gefüllt. Dies soll einen laminaren Flüssigkeitsstrom gewährleisten. In der Zelle findet dann der eigentliche Auflösungsprozess statt, anschließend wird das Freisetzungsmedium beim Verlassen der Zelle filtriert analysiert.

Das Ausnutzen der neuen Flexibilität bei der Entwicklung von diskriminierenden Freisetzungsmethoden für Pulver/Granulate ist gerade am Anfang. Erst seit der Monographie im Jahr 2007 haben Firmen verstärkt mit der Methodenentwicklung zur Charakterisierung von verschiedenen Pulver-/Granulatchargen begonnen.

2.3.5 Intrinsic Dissolution

Die Intrinsic Dissolution bezeichnet die innere Freisetzung eines Wirkstoffes in einem Freisetzungssystem. Die Freisetzungsrates ist definiert als zeitabhängige Freisetzung von reinem Wirkstoff bei einer konstanten Oberfläche unter definierten äußeren Bedingungen (Hydrodynamik, pH-Wert, vernachlässigter Porosität, Temperatur, Pufferart, Pufferkapazität, Viskosität und Ionenstärke). Üblicherweise wird die Freisetzungsrates als aufgelöste Masse pro Zeiteinheit [mg/s] angegeben oder es erfolgt eine Normierung der Oberfläche. Diese entspricht der Freisetzungsrates pro Oberflächeneinheit [mg/cm²/s]. Bei reinen Wirkstoffen spricht man gewöhnlich von der „Intrinsic Dissolution Rate“ (IDR).

Die Freisetzungsrates wird zusätzlich von Festkörpereigenschaften als inneren Faktoren beeinflusst wie Kristallinität, Polymorphie, Pseudopolymorphie sowie Verunreinigungen. Eine Bestimmung der IDR erfolgt typischerweise bei der Charakterisierung eines Wirkstoffes während der frühen Phase der pharmazeutischen Entwicklung. Häufig werden verschiedene polymorphe Formen oder Salze miteinander verglichen. Phasenumwandlungen (Aaltonen J et al. 2006; Chen LR et al. 2003) oder eine Klassifizierung von Wirkstoffen ähnlich dem BCS sind mittels der IDR ebenfalls möglich (Yu LX et al. 2004; Kaplan SA 1972).

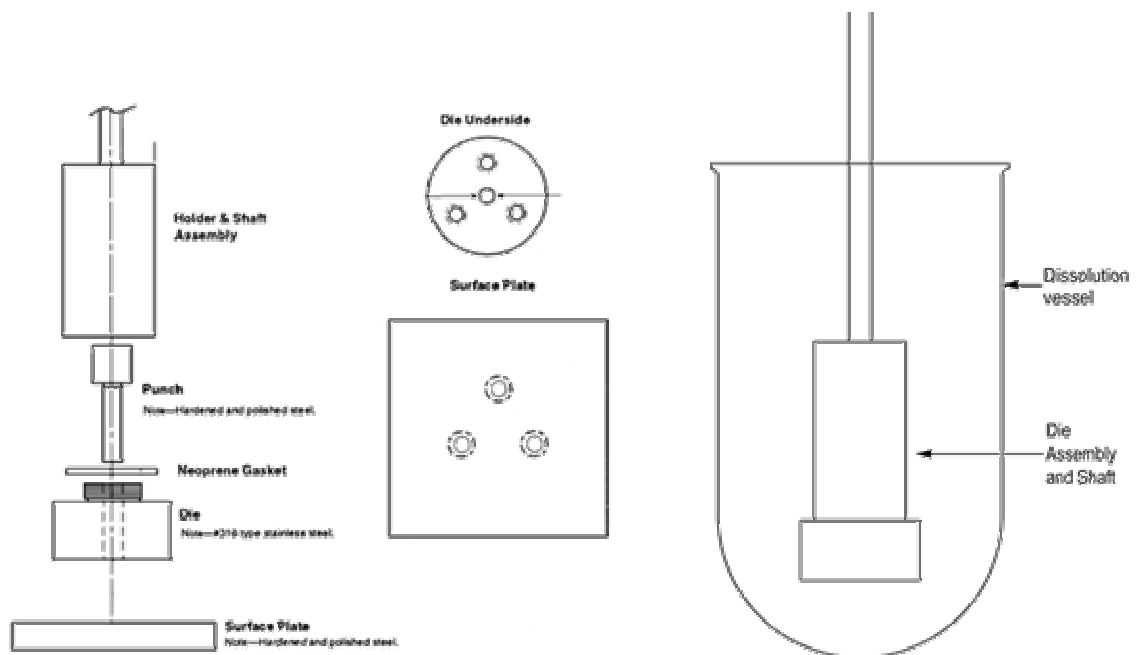


Abbildung 11: Schematische Darstellung des so genannten Wood-Apparatus zur Intrinsic Dissolution gemäß USP Monographie <1087> und Ph.Eur. 2.9.29

1963 entwickelte Dr. John Wood (Wood JH et al. 1965) den nach ihm bezeichneten Wood-Apparatus, welcher als rotierender Zylinder in der Monographie <1087> der USP und in 2.9.29 der Ph.Eur. beschrieben ist, siehe Abbildung 11. Im United States Patent 6497157 aus dem Jahr 2002 „Intrinsic dissolution apparatus with stationary sample holder“ wurde eine neue Möglichkeit zur Bestimmung der Intrinsic Dissolution veröffentlicht. Inzwischen ist diese Variante ein Bestandteil der USP Monographie <1087>, Abbildung 12.

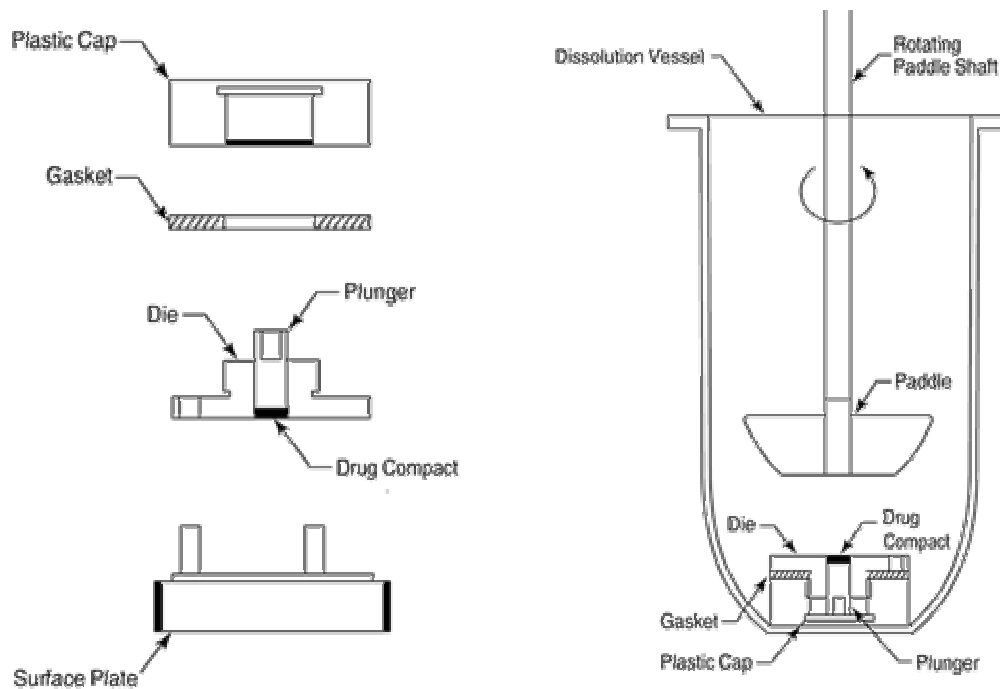


Abbildung 12: Schematische Darstellung der Intrinsic Dissolution gemäß USP Monographie <1087>.

Bei diesen beiden Methoden handelt es sich um geschlossene Systeme, in denen die Wirkstoffkonzentration kumulativ während der Freisetzung in einem Volumen zwischen 225 und 900 ml ansteigt. Ein weiteres geschlossenes System wurde von der Firma pion entwickelt. Dabei erfolgt die Freisetzung in einem sehr kleinen Volumen von 15 ml (Berger CM et al. 2007). Dieses System ist seit 2007 erhältlich und wird Mini-IDR für „Mini Intrinsic Dissolution Rate“ genannt.

Bisher existiert noch kein kommerziell erhältliches offenes System, in dem der Wirkstoff nicht kumuliert. Der erste Schritt in diese Richtung war die sogenannte „Channel Flow Cell“ CFC, welche in Publikationen von Peltonen, Aaltonen, Missel und Thompson verwendet wurde, Abbildung 13 (Peltonen L et al. 2003; Aaltonen J et al. 2006; Missel PJ et al. 2004; Thompson M et al. 2003). Bei dieser Technik ist es grundsätzlich möglich, die Freisetzungsrates mit einem offenen oder geschlossenen System zu bestimmen. Veröffentlicht wurden bisher ausschließlich Untersuchungen in einem geschlossenen System. Im Gegensatz zu den drei anderen Methoden wird bei der CFC die Hydrodynamik und damit die Auflösungsgeschwindigkeit nicht von einer Umdrehungsgeschwindigkeit, sondern von der Flussrate des Freisetzungsmittels bestimmt.

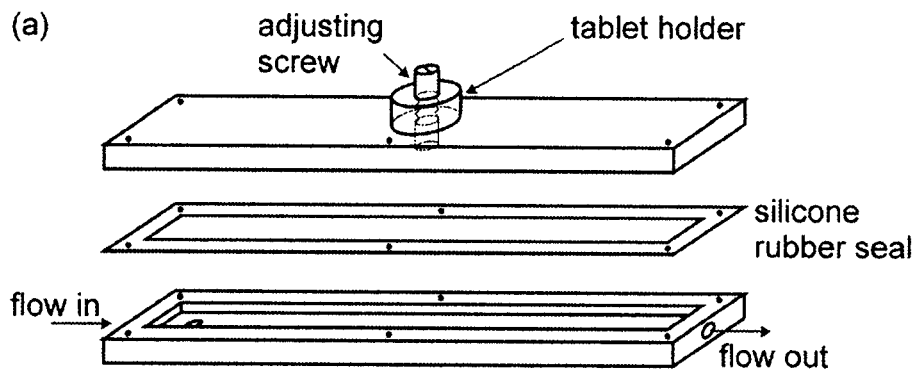


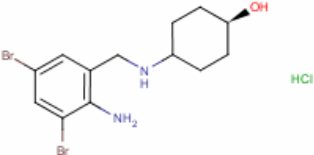
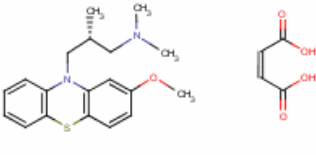
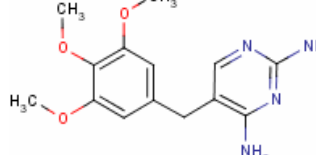
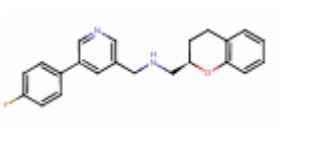
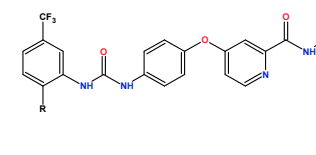
Abbildung 13: Schematische Darstellung einer „Channel Flow Cell“ (CFC).

Der Ablauf einer intrinsischen Freisetzung ist im Prinzip bei allen Systemen identisch. Der gemahlene Wirkstoff wird mittels einer Pressvorrichtung mit 1000 – 2500 psi direkt zum Beispiel im Zylinder der Woods-Apparatur verpresst. Die erhaltene runde Oberfläche von 0,5 cm² mit einem Durchmesser von 8 mm entspricht der Arzneibuchmonographie. Anschließend erfolgt die Freisetzung von der planaren Oberfläche in einem Freisetzungssystem, dabei wird diese langsam abgetragen. Eine mögliche Beeinflussung der Freisetzungsdaten durch ein Wandern der Oberfläche während der Auflösung ins Innere der Halterung ist vernachlässigbar.

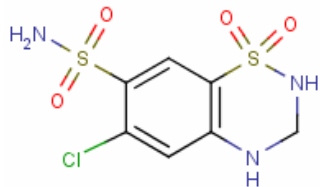
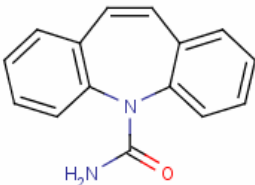
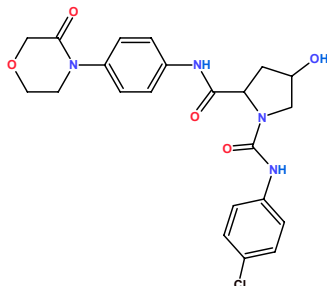
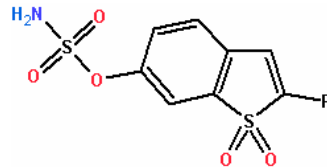
Heutzutage wird es immer wichtiger IDRs mittels geringerer Wirkstoffmengen zu ermitteln, da IDRs immer früher während der pharmazeutischen Entwicklung bestimmt werden. Eine Möglichkeit Wirkstoff einzusparen besteht in der Verringerung der Oberfläche bei gleichzeitiger Reduktion des Volumens an Freisetzungsmittel oder in der Entwicklung neuer intrinsischen Freisetzungstechniken.

3 Materialien

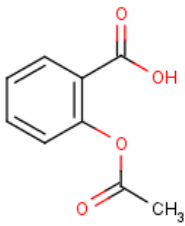
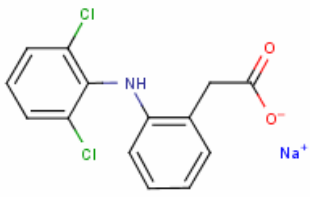
3.1 Wirkstoffe-Basen

Wirkstoff	Ambroxol HCl	Levomepromazin Maleat	Trimethoprim	EMD 128130	EMD 525544
Strukturformel					
Summenformel	$C_{13}H_{18}Br_2N_2O \cdot HCl$	$C_{19}H_{24}N_2OS \cdot C_4H_4O_4$	$C_{14}H_{18}N_4O_3$	$C_{22}H_{21}FN_2O \cdot HCl$	$C_{23}H_{18}F_3N_7O_3$
CAS-Nummer	23828-92-4	7104-38-3	738-70-5	195068-07-6	883881-38-8
Molare Masse	414,56 ¹	444,54	290,32	384,88	497,44
pKa-Wert	7,0	9,43	7,12	7,5	3 (calculated)
LD ₅₀	2720 mg/kg (Maus, oral)		2764 mg/kg (Maus, oral)		
Schmelzpunkt	237°C	186 °C	199-203 °C	242°C	223 °C
Indikation	Expektorans	Neuroleptikum	Antibiotikum	Antidyskinesien	Zytostatikum
Wirkmechanismus	Sekretomotorische Wirkung durch Aktivierung des Flimmerepithels und sekretolytische Eigenschaften durch Beeinflussung sezernierender Zellen sowie Stimulation der Surfactantsynthese.	Antipsychotikum vom Phenothiazintyp, das eine Vielzahl von Rezeptoren, wie adrenerge, dopaminerge, histaminerge oder serotoninerge Rezeptoren blockiert.	Hemmung der Folsäuresynthese durch kompetitive Inhibition der Folsäure-Reduktase.		

3.2 Wirkstoffe-Neutralstoffe

Wirkstoff	Hydrochlorothiazid	Carbamazepin	EMD 503982	EMD 486019
Strukturformel				
Summenformel	$C_7H_8ClN_3O_4S_2$	$C_{15}H_{12}N_2O$	$C_{22}H_{23}ClN_4O_5$	$C_{16}H_{21}NO_5S_2$
CAS-Nummer	58-93-5	298-46-4	768370-75-8	102-1914-23-7
Molare Masse	297,74	236,27	458,91	371,48
pKa-Wert	7,9	7 ¹	10	Not detectable (hydrolysis)
LD ₅₀	2750 mg/kg (Ratte, oral)	114 mg/kg (Maus, i.p.)		
Schmelzpunkt	274 °C	190 – 193 °C	218 °C	142 – 143 °C
Indikation	Diuretikum	Antiepileptikum	Antikoagulanzen	Zytostatikum
Wirkmechanismus	Hemmung des NaCl Cotransporters der luminalen Zellmembran im distalen Tubulus der Niere. Dies führt zu einer vermehrten NaCl und Wasserausscheidung.	Hemmung der Erregungsweiterleitung durch Blockade von Natrium- und spannungsabhängigen Calciumkanälen in den Axonen der Nervenzellen.		

3.3 Wirkstoffe-Säuren

Wirkstoff	Acetylsalicylsäure	Diclofenac-Natrium
Strukturformel		
Summenformel	C ₉ H ₈ O ₅	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₂ NO ₂ Na
CAS-Nummer	50-78-2	15307-79-6
Molare Masse	180,16	318,1
pKa-Wert	3,49	4,15
LD ₅₀	200 mg/kg (Ratte, oral)	62,5 mg/kg (Ratte, oral)
Schmelzpunkt	135 °C	283 – 285 °C
Indikation	Analgetikum	Analgetikum
Wirkmechanismus	Irreversible Hemmung der Prostaglandin-synthese durch die Übertragung des Acetylrestes auf die Aminosäure Serin vor dem aktiven Zentrum der Cyclooxygenasen COX-1 und COX-2. Dabei wird COX-1 bis zu 100 mal stärker als COX-2 gehemmt.	Unselektive Hemmung der Cyclooxygenase COX-2, Beeinflussung der Leukotrien-produktion und Verminderung des freien Arachidonsäure-spiegels durch Freisetzungshemmung und Erhöhung der Reuptakes.

3.4 Hilfsstoffe

3.4.1 Chitosan 90/10/A1

Als Chitosan werden technisch durch Deacetylierung von Chitin gewonnene lineare Polyaminosaccharide bezeichnet. Chitosan besteht aus den zwei Zuckeruntereinheiten 2-Amino-2-desoxy- β -D-glukopyranose (Glucosamin) und 2-Acetamido-2-desoxy- β -D-glukopyranose (N-Acetylglucosamin) die durch eine β -1,4-glykoside Bindung verknüpft sind, Abbildung 14. Die Gewinnung erfolgt fast ausschließlich als Nebenprodukt der Krabbenindustrie mittels alkalischer Hydrolyse aus Panzern von Schalentieren. Der Deacetylierungsgrad sowie die molare Masse bestimmen die Löslichkeit in wässrigen Medien. In schwach sauren Medien zeigt Chitosan die beste Löslichkeit, wobei es als Polykation vorliegt, während es im alkalischen pH-Bereich unlöslich ist (Mun S et al. 2005; Muzzarelli C et al. 2003). Mit steigendem Deacetylierungsgrad und abnehmender Molmasse nimmt die Löslichkeit in Wasser zu.

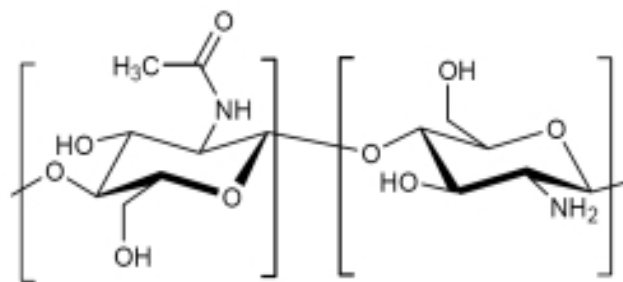


Abbildung 14: Chemische Struktur von Chitosan bestehend aus Glucosamin und N-Acetylglucosamin.

Chitosan findet in vielen Bereichen Verwendung. Unter anderem wird die Eigenschaft zur Komplexierung anderer Moleküle in Kläranlagen genutzt. In der Medizintechnik kommen die blutstillenden, absorbierenden und bioabbaubaren Eigenschaften, zum Beispiel bei Wundauflagen, zum Einsatz. Bei Nahrungsergänzungsmitteln wird hingegen mit der Fettbindungskapazität von Chitosan geworben. Auch in der Biotechnologie und Kosmetikindustrie findet Chitosan Anwendung. Die mögliche Biodegradation bei gleichzeitig sehr geringer Toxizität, sowie die permeationsfördernden Eigenschaften durch Öffnen der Tight Junctions machen Chitosan zu einem sehr aussichtsreichen Polymer für pharmazeutische Zubereitungen. Aufgrund der Tatsache, dass es sich um ein Biopolymer handelt, unterscheiden sich die Produkte verschiedener Hersteller zum Teil erheblich. Bei Chitosan sind ionische Interaktionen bekannt, wie beispielsweise mit SDS (Mun S et al. 2005; Muzzarelli C et al. 2003; Thongngam M & McClements DJ 2004; Thongngam M & McClements DJ 2005). Mit der Aufnahme von Chitosan HCl in die Ph.Eur. müssen die Hersteller inzwischen bestimmte Mindestanforderungen erfüllen. Das verwendete Chitosan 90/10/A1 der Firma Kraeber GmbH & Co erfüllt mit seiner standardisierten Qualität die Arzneibuchspezifikationen, siehe Tabelle 7. Für die Verwendung in physikalischen Mischungen wurde das Chitosan Sprühgetrocknet um eine

standardisierte Partikelgröße aus den Flakes zu erhalten (Mura P et al. 2003; Rege PR et al. 2003; Yang M et al. 2007).

Tabelle 7: Übersicht der Eigenschaften von Chitosan 90/10/A1 der Firma Kraeber GmbH

Chitosan 90/10/A1	
Trockenmasse	95,4 %
Dynamische Viskosität (1% in 1% Essigsäure, 20°C)	9 mPas
Deacetylierungsgrad	88,1 %
Schwermetalle	entspricht

3.4.2 Lutrol F68 (Poloxamer 188)

Lutrol F 68 sowie Pluronic F 68 sind die entsprechenden Handelsnamen von Poloxamer 188, siehe Abbildung 15. Es handelt sich um ein nichtionisches Triblock-Copolymer, das durch Polymerisation von Ethylenoxid und Propylenoxid gewonnen wird. Durch die amphiphile Struktur besitzt Lutrol F68 tensidähnliche Eigenschaften. Es existieren viele verschiedene Poloxamere, deren Eigenschaften durch die Kettenlänge der Polyoxyethylen oder Polyoxypropyleneinheiten bestimmt wird. Lutrol F 68 wird häufig zum Stabilisieren von Suspensionen, bei der Sprüh-/ Schmelzgranulation oder als Lösungsvermittler eingesetzt. Wegen seiner eingeschränkten Molekularbewegung zeigt Lutrol F68 keine eindeutige kritische Mizellbildungskonzentration (Bauer KH 1990; Chiappetta DA & Sosnik A 2007). Auf dem Markt befinden sich zwei Produkte der BASF AG die sich ausschließlich in ihrer Partikelgröße und der Partikelgrößenverteilung unterscheiden. Die Gewinnung dieser pulverförmigen Produkte Lutrol F 68 Prill ($d_{90} = 1000 \mu\text{m}$; $d_{50} = 600 \mu\text{m}$) und Lutrol F 68 micro ($d_{90} = 90 \mu\text{m}$; $d_{50} = 50 \mu\text{m}$) erfolgt mittels Sprühkondensation. Der große Vorteil der Poloxamere liegt in ihrer äußerst geringen Toxizität, daher werden sie bevorzugt zur Stabilisierung in parenteralen Zubereitungen, wie zum Beispiel Micera, Omnitrope und anderen verwendet (Rote Liste 2008).

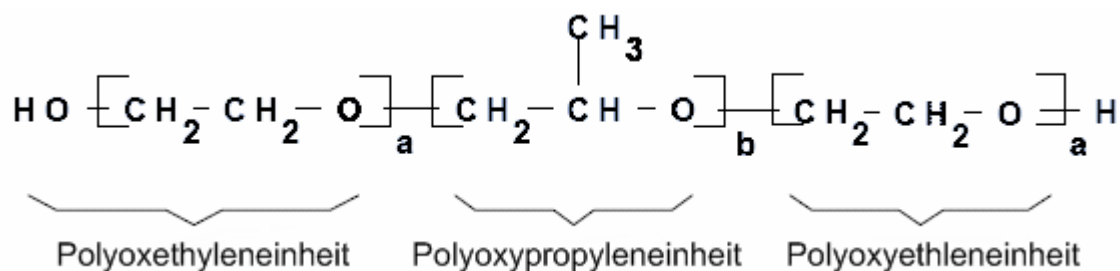


Abbildung 15: Chemische Struktur von Lutrol F68® mit $a \sim 79$ und $b \sim 28$ Einheiten.

3.4.3 Purity® Gum 2000 (emulgierende Stärke)

Bei Purity® Gum 2000 (E1450) handelt es sich um eine Emulsionen stabilisierende modifizierte Maisstärke, Abbildung 16. Durch die Veresterung mit Octenylsuccinat ist Purity® Gum 2000 in kaltem Wasser dispergierbar und löslich, die wässrige Lösung zeigt einen pH-Wert von 4. Häufig wird es als Ersatz von Gummi Arabicum in Emulsionen zur Einstellung der Viskosität in der Lebensmittelindustrie verwendet. Purity® Gum 2000 wird mit einem Veresterungsgrad von 0,2 % von National Starch vertrieben (National Starch & Chemicals 2001).

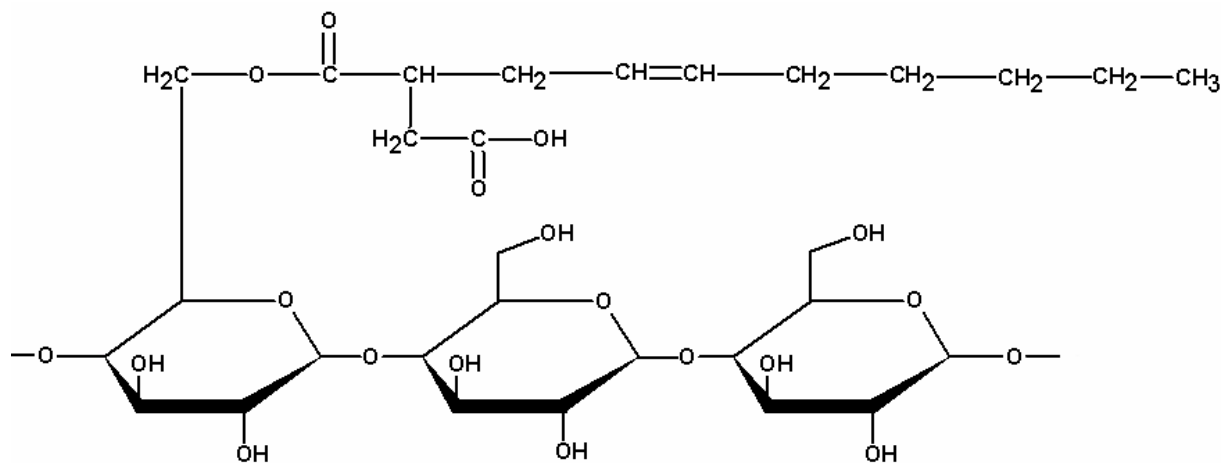


Abbildung 16: Chemische Struktur von Purity Gum® 2000 (emulgierende Stärke)

3.5 Puffer und Freisetzungsmedien

Simulated Gastric Fluid without Pepsin (SGFsp)	
NaCl	20,0 g
1 N HCl	800 mL
Milli Q Wasser	ad 10000 mL
Simulated Intestinal Fluid without Pankreatin (SIFsp)	
KH ₂ PO ₄	68,05 g
1 N NaOH	224 mL
Milli Q Wasser	ad 10000 mL
Simulated Gastric Fluid without Pepsin mit 0,01% Tween 20 (SGFsp ⁺)	
NaCl	20,0 g
Tween [®] 80	1 g
1 N HCl	800 mL
Milli Q Wasser	ad 10000 mL
Simulated Intestinal Fluid without Pankreatin mit 0,01% Tween 20 (SIFsp ⁺)	
KH ₂ PO ₄	68,05 g
Tween [®] 80	1 g
1 N NaOH	224 mL
Milli Q Wasser	ad 10000 mL
Puffer pH 4,5	
KH ₂ PO ₄	136,1 g
Milli Q Wasser	ad 10000 mL
Hanks Balanced Salt Solution (HBSS+/-)	
Hanks Balanced Salts, Modified	1 Glas
CaCl ₂ × 2H ₂ O	1,85 g
MgSO ₄	0,99 g
Milli Q Wasser	ad 1000 mL
Krebs – Ringer – Puffer (KRB)	
NaCl	8,3 g
KCl	0,224 g
K ₂ HPO ₄ × 3H ₂ O	0,343 g
HEPES	2,4 g
D-Glucose (wasserfrei)	0,72 g
CaCl ₂ × 2H ₂ O	0,207 g
MgCl ₂ × 6H ₂ O	0,244 g
Wasser für Injektionszwecke	ad 1000mL
Zellkulturmedium für Caco 2 Zellen	
Dulbeccos Modified Eagle Serum	427,5 mL
Fetales Kälberserum	50 mL
Natriumpyruvat	5 mL
L-Glutamin	5 mL
Penicillin (10.000 E./ml)/ Streptomycin (10.000µg/ml)	5 mL
Ciprobay	2,5 mL
Nicht essentielle Aminosäuren	5 mL
Puffer pH 2,6	
NaH ₂ PO ₄ × H ₂ O	3,45 g
Ortho Phosphorsäure 85 %	1734 µl
Milli Q Wasser	ad 5000 mL

3.6 Lösungsmittel und Chemikalien

Bezeichnung	Hersteller
(NH ₄) ₂ CO ₃	Merck KGaA, Darmstadt
10% Lösung SDS	Merck KGaA, Darmstadt
1N HCl	Merck KGaA, Darmstadt
1N NaOH	Merck KGaA, Darmstadt
Aceton	Merck KGaA, Darmstadt
Acetonitril	Merck KGaA, Darmstadt
Alamar Blue	Biozol Diagnostica Vertrieb GmbH, Eching
Alamar Blue	Biozol
Benzalkoniumchlorid 50% in Wasser	Riedel-de Haen
CaCl ₂ · 2H ₂ O	Merck KGaA, Darmstadt
Calibration Standard 300 mOsm/kg	Gonotec
Calibration Standard 600 mOsm/kg	Gonotec
Cetripur Puffer pH 1	Merck KGaA, Darmstadt
Cetripur Puffer pH 5	Merck KGaA, Darmstadt
Cetripur Puffer pH 7	Merck KGaA, Darmstadt
Cetripur Puffer pH 9	Merck KGaA, Darmstadt
CH ₃ COONH ₄	Merck KGaA, Darmstadt
Ciprobay	Bayer-Schering
Dulbeccos Modified Eagle Serum (DMEM)	Biochrom
Eisessig	Merck KGaA, Darmstadt
Ethanol	Merck KGaA, Darmstadt
Fetales Kälberserum	Biochrom
Fluorescein	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Glucose	Merck KGaA, Darmstadt
Hanks Balanced Salts, Modified	Sigma
HEPES	Roth GmbH, Karlsruhe
K ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O	Merck KGaA, Darmstadt
KCl	Merck KGaA, Darmstadt
KH ₂ PO ₄	Merck KGaA, Darmstadt
Kollagen (Rattenschwanz)	Roche Diagnostics GmbH, Mannheim
L-Glutamin (200mM)	Biochrom
Maltisorb P-200	Roquette Pharma
Methanol	Merck KGaA, Darmstadt
MgCl ₂ · 6H ₂ O	Merck KGaA, Darmstadt
MgSO ₄	Merck KGaA, Darmstadt
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	Merck KGaA, Darmstadt
Natriumacetat-Trihydrat	Merck KGaA, Darmstadt
Natriumchlorid	Merck KGaA, Darmstadt
NH ₃	Merck KGaA, Darmstadt
Nicht essentielle Aminosäuren (Non E)	Biochrom
Octan-1sulfonsäure Natriumsalz	Merck KGaA, Darmstadt
ortho-Phosphorsäure 85%	Merck KGaA, Darmstadt
Penicillin (10.000 E./ml)/ Streptomycin (10.000µg/ml)	Biochrom
Siliconöl AP 150	Wacker AG
Triton X-100	Merck KGaA, Darmstadt
Tween 20	USB AG
Tween 80	Merck KGaA, Darmstadt

3.7 Geräte

Bezeichnung	Hersteller
Analysenwaage Genius	Satorius
BET-Monosorb	Quantachrome
Biofuge fresco	Heraus
Dosaprep X8	Dosatec
DSC 821 ^e	Mettler Toledo
Durchflussszelle CE7 smart	Sotax
Fluoroskan Ascent	Labsystems
Fraktionssammler C-615	Sotax
Freisetzungsapparatur DT80	Erweka
Horizontalplattenschüttler Titramax 101	Heidolph
Horizontalschüttler HS 500	Janke & Kunkel IKA-Labortechnik
HPLC Merck Hitachi LaChrom	Merck Hitachi
Hubkolbenpumpe CY 7-50	Sotax
HTP Hydraulikpresse	Herzog
Inkubationsschrank BBD 6220	Heraus
Inversmikroskop ID 03	Zeiss
Konduktometer LF 318	WTW
Kontaktwinkelmessgerät OCA 20	DataPhysics
Kühlschrank 2101P	Rubarth Apparate GmbH
Laborwaage LP6200S	Satorius
LAF-Bank HeraSafe	Heraus
Magnetrührer IKA-RCT basic	IKA
Mastersizer 2000	Malvern
Mediumsplitter	Sotax
Mikroskop BX 60	Olympus
Mikrowaage ME 5-OCE	Satorius
Mini Spray Dryer B-290	Büchi
NIR Spektrometer Vector 22	Bruker
Osmomat 030-D	gonotec
PH Meter 713	Metrohm
Pipettenspüler PSD	H.Hölzel GmbH
Ramanmikroskop	Bruker
Siebturm Vibro einschließlich Siebe	Retsch
Spülmaschine G 7836CD	Miele
Stopuhr Model No. SKT338N	Huger
Teer-Messgerät Millicell-ERS	Millipore
Tensiometer PAT 1	Sinterface
Trockenschrank T6760	Heraus
Turbula-Mischer T2C	WAB AG
Ultraschallbad Transsonic 950	Prolabo
UV/Vis Photometer Lambda 20	Perkin Elmer
Vortex Mixer Stuart SA8	Bibby Sterilin
Wasserbad 1083	GFL

3.8 Sonstige Materialien

Bezeichnung	Hersteller
10 ml Zentrifugenröhrchen	Nalgene
12er Wellplate	Corning Star
96er Wellplate	Corning Star
GF/D Glasfaserfilter (70 mm, 2,7 µm)	Whatman, Schleicher & Schuell
GF/F Glasfaserfilter (55mm, 0,7 µm)	Whatman, Schleicher & Schuell
Gasperlen (1mm)	Sotax
Transwell Clear Membraneinsätze (1,13 cm², 0,4µm, 3460)	Corning Star
Vaccum Filtrationssystem (500ml, 0,2 µm)	VWR
Zellkultur Caco 2 ACC 169; Lot 9 DMSZ	Bayer-Schering

4 Methoden

4.1 In-vitro Wirkstofffreisetzungsmethoden

4.1.1 Apparent Dissolution

Für die Apparent Dissolution wurden Pulverzellen gemäß Ph.Eur. 2.9.43 verwendet. Die Freisetzung wurde stets bei einer Flussrate von 16 ml/min und 37 °C in einem offenen Durchflusssystem CE7smart von Sotax durchgeführt. Die Probennahme erfolgte mittels 15 bzw. 16 Fraktionen per Fraktionssammler. Anschließend wurden die einzelnen Fraktionen mittels HPLC gegen einen äußeren Standard analysiert. Anhand von Gleichung 10 wird die Freisetzung in Prozent für die einzelnen Fraktionen berechnet. Durch Addition der entsprechenden Fraktionen kann die Freisetzung zum jeweiligen Zeitpunkt für das kumulative Freisetzungsprofil ermittelt werden.

$$Freisetzung_{Fraktion} = \frac{Peakfläche_{Fraktion} \times Konzentration_{Standard} \times Volumen_{Fraktion}}{Peakfläche_{Standard} \times Masse_{Probe} \times Gehalt_{Probe}} \times 100 \quad (10)$$

Die Pulverzelle besitzt folgenden Aufbau: Der untere Teil des Probenraumes wird von zwei Sieben mit einem dazwischen befindlichen GF/D-Filter (2,7 µm) begrenzt. Am oberen Ende des Probenraumes befindet sich ein weiteres Sieb, danach folgt ein GF/D Filter zum Vorfiltrieren und anschließend ein GF/F Filter (0,7 µm), siehe Abbildung 17. Bei den Filtern handelt es sich um Glasfaserfilter, die eine Tiefenfiltration gewährleisten. Dadurch wird ein möglicher Druckanstieg durch ein Zusetzen der Filter reduziert.

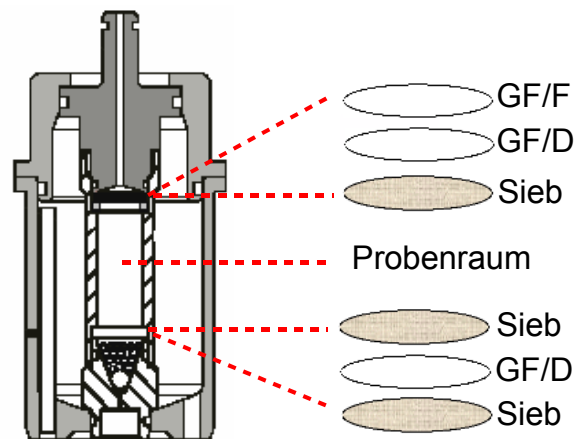


Abbildung 17: Schematischer Aufbau der Pulverzelle gemäß Ph.Eur. 2.9.43.

Die Beschickung der Pulverzelle erfolgte zum einen mittels Direktwaage des Wirkstoffes bzw. einer physikalischen Mischung in den Probenraum der Pulverzelle. Bei einer zweiten Variante wurden zusätzlich zum Wirkstoff bzw. zu der physikalischen Mischung 2 g Glasperlen ($\varnothing$ 1 mm) hinzugegeben. Anschließend wurde die Pulverzelle verschlossen und für 10 Minuten im Turbulamischer vermischt. Abweichend von der Monographie wurde bei beiden Varianten nicht das konische Metallsieb (Insert) verwendet.

Die Methodenlänge ist abhängig von der Dauer der einzelnen Fraktionen. Für die praktische Umsetzung wurden drei Methoden mit einer Länge von 45, 60 bzw. 85 Minuten verwendet. Die Verteilung der einzelnen Fraktionen über die gesamte Methodendauer wurde anhand verschiedener Versuche evaluiert. Die 60 Minuten Methode entspricht einem gesamten Volumen von 960 ml, was in etwa dem maximalen Volumen der Blattrührer-Apparatur entspricht und damit eine gute Vergleichbarkeit garantiert. Die längere Methode von 85 Minuten wurde anhand von praktischen Gesichtspunkten in einem Routinelabor gewählt, da ein Standardansatz an Freisetzungsmedium 10 l entspricht. Bei einer Freisetzung mit 7 parallelen Kanälen und einem Fluss von 16 ml/min über 85 Minuten wird ein Volumen von 9520 ml verbraucht. Folglich ist die maximale Methodenlänge bei einer Einspüldauer von 4 Minuten (448 ml) auf 85 Minuten begrenzt.

4.1.2 Intrinsic Dissolution nach Distek

Die Intrinsic Dissolution nach Distek wurde in der Freisetzungsapparatur DT80 von Erweka durchgeführt. Für die Herstellung der Presslinge wurde für den jeweiligen Wirkstoff zwischen 50 und 100 mg je Pressling eingewogen. Anschließend erfolgte die Verpressung für 10 Sekunden mittels einer Exzenterpresse bei einem Druck von 5 – 20 kN entsprechend des jeweiligen Wirkstoffes. Die Freisetzung wurde bei 50 rpm, 37 °C in einem Volumen von 500 ml über einen Zeitraum von zwei Stunden durchgeführt. Währenddessen wurde alle 10 Minuten eine Probe von 1 ml mittels einer Eppendorfpipette entnommen und per HPLC analysiert. Das entnommene Probenvolumen von 1 ml wurde durch 1 ml frisches Freisetzungsmedium ersetzt.

4.1.3 Intrinsic Dissolution im Durchflusssystem

Für diese Versuche wurden die eigens entwickelten Zelleinsätze verwendet. Zunächst erfolgte die Fixierung in der entsprechenden Pressvorrichtung. Anschließend wurde der Wirkstoff direkt in den Zelleinsatz eingewogen und der Pressstempel eingesetzt. Für 10 Sekunden bei einem entsprechenden Druck ($10 - 40 \text{ kN/cm}^2$) in Abhängigkeit des Wirkstoffes und Presslingsdurchmesser wurde mittels einer Exzenterpresse gepresst. Nach der Entnahme des Zelleinsatzes aus der Pressvorrichtung und dem Entfernen des Pressstempels wurde die presslingsabgewandte Seite mit einer entsprechenden Schraube verschlossen. Vor dem Einsetzen des fertigen Zelleinsatzes in eine 22,6 mm USP-Tablettenzelle wurde zunächst eine Rubinglaskugel und darüber 2 g Glasperlen ($\varnothing 1 \text{ mm}$) in die Tablettenzellen gegeben, siehe Abbildung 18.

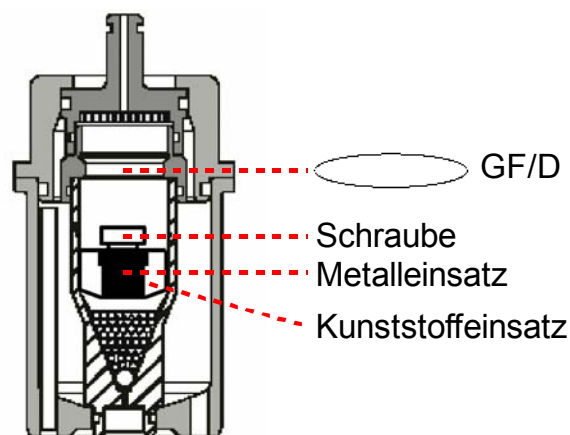


Abbildung 18: Schematischer Aufbau der 22,6 mm Tablettenzelle, einschließlich des Zelleinsatzes für die Intrinsic Dissolution.

Vor der eigentlichen Freisetzung wurde das gesamte Durchflusssystem mit dem Freisetzungsmedium gespült, um alle Luftblasen aus dem System zu entfernen. Die Freisetzung erfolgte in der offenen Betriebsweise bei 37°C und einem Fluss von 16 ml/min . Dabei wurde ein möglicher Wechsel des Freisetzungsmediums durch einen Splitter gesteuert. In den ersten Minuten der Freisetzung wurde visuell die Oberfläche des Presslings auf vorhandene Luftblasen überprüft, welche die Freisetzung negativ beeinflussen können. Die Integrität des Presslings wurde über den gesamten Zeitraum der Freisetzung beobachtet. Das Freisetzungsmedium ist stets vor Verwendung mindestens für 48 Stunden bei 50°C zu lagern, dies verhindert die Entgasung des Mediums in den Tablettenzellen während der Freisetzung.

4.2 Charakterisierung des Freisetzungsmediums

4.2.1 Osmolarität

Die Osmolarität der Freisetzungsm Medien wurde mittels der Gefrierpunkts erniedrigung am Osmomat 030-D bestimmt. Das Gerät wurde entsprechend der Arbeitsanweisung mit einer 600 mOsm/kg Lösung kalibriert und anschließend mittels einer 300 mOsm/kg Lösung überprüft. Für die Bestimmung der Proben wurden jeweils 50 µl Lösung vermessen, es erfolgte stets eine Dreifachbestimmung.

4.2.2 Oberflächenspannung

Die Messung der Oberflächenspannung erfolgte mittels der Pendant-Drop-Methode an einem PAT 1 Tensiometer von Sinterface. Dabei wird ein hängender Tropfen an einer Kapillare bewertet. Anhand der Tropfengeometrie kann durch eine direkte Proportionalität die Oberflächenspannung abgeleitet werden. Die Gauss-Laplace Gleichung 11 beschreibt die Beziehung zwischen der Krümmung einer Grenzfläche in Abhängigkeit vom Binnendruck und der Oberflächenspannung γ .

$$\gamma \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) = \Delta P_0 + \Delta \rho g h \quad \text{Gleichung 11}$$

R_1 und R_2 sind die Hauptkrümmungsradien, ΔP_0 die Druckdifferenz einer Referenzfläche, $\Delta \rho$ entspricht dem Dichteunterschied, g der Erdbeschleunigung und h entspricht der vertikalen Höhe des Tropfens in Bezug auf eine Referenzfläche. Die Oberflächenspannung wurde durch ein Fitting der Gauss-Laplace Gleichung an die Tropfengeometrie bestimmt.

Vor einer Messung wurde das System für 2 Minuten mit der Messlösung gespült. Ein Tropfen mit einem Volumen zwischen 12 µl und 20 µl wurde über einen Zeitraum von 60 Minuten per CCD-Kamera mittels 2400 Messpunkten vermessen. Anschließend wurde das System mit Ethanol (96 %) für 2 Minuten gereinigt.

Aus den erhaltenen Oberflächenspannungs-Zeitdiagrammen wurde die Oberflächenspannung der Untersuchungslösungen bestimmt.

4.2.3 Benetzungswinkel

Eine Bestimmung des Benetzungswinkels erfolgte mit dem Kontaktwinkelmessgerät OCA 20 von DataPhysics. Die Benetzung eines Festkörpers durch eine Flüssigkeit auf dessen Oberfläche wird durch den Kontaktwinkel θ beschrieben. Bei der verwendeten Sessile-Drop-Methode handelt es sich um ein optisches Verfahren. Dabei wird ein Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit auf eine plane Fläche des zu charakterisierenden Festkörpers gebracht, siehe Abbildung 19. Der Tropfen wird mittels einer CCD-Kamera aufgezeichnet und mittels verschiedener Verfahren kann die Bestimmung des Benetzungswinkels erfolgen. Das Tangenten-Verfahren legt beispielsweise eine Tangente an den

Dreiphasenkontaktpunkt fest-flüssig-gasförmig an. Hingegen wird beim Young-Laplace-Verfahren die Kontur des liegenden Tropfens mathematisch erfasst und daraus der Kontaktwinkel anhand der Gleichung 12 berechnet.

$$\cos\theta = \frac{\sigma_S - \sigma_{LS}}{\sigma_L} \quad \text{Gleichung 12}$$

Dabei findet die Young-Gleichung mit θ als Kontaktwinkel, σ_L der Oberflächenspannung der Flüssigkeit, σ_S als Freie Oberflächenenergie des Festkörpers und σ_{LS} der Grenzflächenenergie zwischen Flüssigkeit und Festkörper Anwendung.

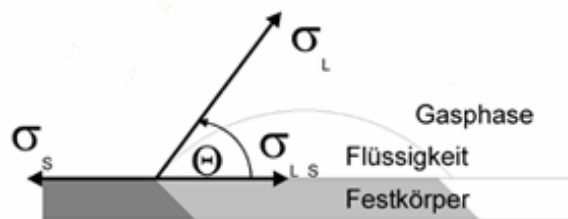


Abbildung 19: Kontaktwinkel einer Flüssigkeit auf einem Festkörper

Für eine Messung wurde aus dem Wirkstoff ein planer Pressling mit einem Durchmesser von 4 cm hergestellt. Bei der Herstellung des Presslings wurden 4,5 g mikronisierter Wirkstoff mittels einer HTP Hydraulikpresse von Herzog bei 100 kN für 10 Sekunden verpresst.

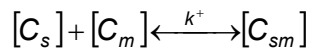
Die Messung wurde statisch mit einem 2 µl Tropfen durchgeführt, jede Lösung wurde dreifach vermessen. Ein Tropfen wurde dabei auf die Oberfläche des Presslings aufgebracht und für 3 Minuten mit 4 Bildern pro Minute aufgezeichnet und anhand des Young-Laplace-Verfahren wurde der Kontaktwinkelverlauf per Software ermittelt.

4.2.4 Leitfähigkeit

Für die Bestimmung der Leitfähigkeit wurde ein Konduktometer LF 318 von WTW verwendet, damit wurde der elektrochemische Widerstand bestimmt. Die Messung erfolgte in einem Volumen von 20 bis 30 ml in einem 30 ml Becherglas bei 25 °C. Je Lösung wurden drei Wiederholungen durchgeführt.

4.2.5 Löslichkeitsisothermen

Die Auflösung von festen Wirkstoffen in Tensidlösungen entspricht dem Gleichgewicht der Gleichung 13 zwischen dem freien gelösten Wirkstoff (C_x) und den vorhandenen Tensidmizellen (C_m).



Gleichung 13

C_s entspricht der Konzentration des Wirkstoffes in tensidfreier Lösung, C_m ist die Konzentration des Tensides bzw. der Mizellen und C_{sm} entspricht der Konzentration, der mit Arzneistoff beladenen Mizellen. Die Gleichgewichtskonstante k^+ ist nach Gleichung 14 definiert.

$$k^+ = \frac{[C_{sm}]}{[C_s][C_m]}$$

Gleichung 14

Der löslichkeitsverbessernde Effekt von Tensiden kann mittels Löslichkeitsisothermen durch den Quotienten der Löslichkeit in einer Tensidlösung S_x mit der Löslichkeit in tensidfreier Lösung S_0 dargestellt werden, siehe Gleichung 15.

$$\frac{S_x}{S_0} = 1 + k^+[C_m]$$

Gleichung 15

Dadurch kann die Gleichgewichtskonstante einfach mittels linearer Regression aus einem Diagramm der Verbesserung der Löslichkeit gegen die Tensidkonzentration bestimmt werden (Crison JR et al. 1997; Crison JR et al. 1996; Higuchi T & Connors KA 1965).

Daraus ergibt sich die Gleichung 16, diese dient der Berechnung eines Faktors F_x . Dieser Faktor gibt an, wie sich die Löslichkeit mit einer steigenden Tensidkonzentration ändert.

$$F_x = \frac{S_x}{S_0} - 1$$

Gleichung 16

Die Subtraktion von 1 führt zu einer Normierung auf den Ausgangswert Null. Die Bestimmung der Löslichkeiten ist in Kapitel 4.3.4 Löslichkeit beschrieben.

4.3 Charakterisierung der Wirkstoffe

4.3.1 Partikelgrößenanalytik mittels Laserbeugung

Die Partikelgrößenbestimmung erfolgte mittels Laserbeugung. Die Methode eignet sich zur Bestimmung von feindispersen (1 μm – 50 μm) Teilchen, dabei wird die Partikelgröße als Durchmesser einer idealen Kugel angegeben. Die Messung beruht auf der Tatsache, dass ein Laserstrahl von kleinen Partikeln stärker gebeugt wird als von großen Partikeln. In diesem Größenbereich findet die Mie-Streuung und Fraunhofer-Beugung Anwendung (ISO13320-1(1999)). Die Mie-Theorie setzt sphärische sowie homogene Partikel mit bekanntem Brechungsindex des Dispersionsmediums voraus.

Die Fraunhofer-Beugung gilt für absorbierende Partikel oberhalb von 1 μm .

Die Messungen wurden mit einem Mastersizer 2000 und dem Nassmodul 2000 SM von Malvern durchgeführt. Als Dispergiermedium kam dickflüssiges Silikonöl AP 150 zum Einsatz. Der Brechungsindex des Mediums beträgt 1,45. Für die Wirkstoffe wurde anhand empirischer Erfahrungen ein Brechungsindex von 1,5 für niedermolekulare organische Verbindungen angenommen. Zunächst wurden 10 – 20 mg Wirkstoff mit 8 ml dickflüssigem Silikonöl für 6 Minuten im Ultraschall vordispersiert. Für eine Messung wurde die Messzelle luftblasenfrei mit dickflüssigem Silikonöl befüllt. Die Rührerumdrehung wurde auf 1750 rpm eingestellt und eine Backgroundmessung durchgeführt. Anschließend wurde mittels einer Pasteurpipette die vordispersierte Probe zugegeben, bis eine gewünschte Obscuration von 5 % bis 10 % erreicht wurde. Nach 4 Minuten rühren der Probe in der Messzelle wurde die Messung gestartet. Das Messergebnis wurde aus dem arithmetischen Mittel von 30 Einzelbestimmungen ermittelt.

4.3.2 spezifische Oberfläche (BET)

Diese Methode, benannt nach den Entdeckern Brunauer, Emmet und Teller (BET), nutzt die Absorption von Gasmolekülen an Festkörperoberflächen zur Bestimmung der spezifischen Oberfläche (Brunauer S et al. 1938; Brunauer S et al. 1940). Die Sorption von Stickstoff findet bei einer Temperatur von 77 K statt. Im Fall einer einfachen Monoschichtabsorption entspricht die BET-Gleichung der Langmuir-Isotherme. Bei realen Adsorbaten findet bei steigendem Druck meist eine fortschreitende Absorption einhergehend mit der Bildung von Multischichten statt.

Die Beschreibung der BET-Isothermen erfolgte anhand der linearisierten BET-Gleichung, dabei ist die Auswertung auf den so genannten BET-Bereich ($0,05 < p/p_0 < 0,30$) beschränkt, siehe Gleichung 17. Nur bei Isothermen, bei denen die Bildung einer Monoschicht erkannt wird, ist die Bestimmung der spezifischen Oberfläche möglich.

$$\frac{p}{(p_0 - p)\gamma} = \frac{1}{C\gamma_{\text{mono}}} + \frac{C-1}{C\gamma_{\text{mono}}} \cdot \frac{p}{p_0} \quad \text{Gleichung 17}$$

p/p_0 Dampfdruckverhältnis

p_0 Gleichgewichtsdampfdruck

p Gasdruck

C BET-Konstante

γ_{mono} Absorptionsmolalität bei vollständiger monomolekularer Bedeckung (pro Masseneinheit absorbierte Volumenmenge)

γ Absorptionsmolalität $\gamma = n_{\text{ads}}/m_A$ (adsorbierte Volumenmenge beim Druck p pro Masseneinheit Adsorbens)

Für die Messungen wurden 0,5 bis 1,5 g der zu untersuchenden Substanz in der Probenzelle für 30 Minuten im Vakuum bei 80 °C ausgeheizt. Die Messung der Probe erfolgte mittels eines Monosorb von Quantachrome durch Aufnahme der Desorptionsisotherme. Dabei wurde ausgehend von einer

evakuierten und auf 77 K temperierten Probe ein definiertes Stickstoffvolumen im Vergleich zu einem Referenzdruck zugefügt. Anschließend wurde durch eine Temperaturerhöhung die Desorption des an der Probenoberfläche absorbierten Stickstoffes bestimmt. Die Ausgabe der Oberfläche erfolgte automatisch durch den Monosorb mittels der Einpunktauswertung von Haul und Dümbgen. Dabei wird angenommen, dass die linearisierte BET-Gleichung durch den Koordinatenursprung geht, indem $1/C\gamma_{\text{mono}} = 0$ gesetzt wird. Die dadurch vereinfachte BET-Gleichung ist durch den Wegfall der BET-Konstanten C fehlerbehaftet.

4.3.3 Mikroskopie

Im Gegensatz zur Laserbeugung und BET gibt die Lichtmikroskopie Auskunft über die Form und Größe von Partikeln bis in den unteren Mikrometerbereich. Vor der mikroskopischen Untersuchung wurde die Probe in dickflüssigem Silikonöl dispergiert. Mittels der CCD Kamera des Mikroskop BX 60 von Olympus wurden die Aufnahmen der Proben vorgenommen.

4.3.4 Löslichkeit

Die Löslichkeiten wurden über 24 bzw. 48 Stunden thermodynamisch mittels der Shake-Flask-Methode entsprechend der „Guidance for Industry 2000“ durchgeführt. Die Bestimmung erfolgte jeweils mit drei Wiederholungen. Eine definierte Menge an Wirkstoff wurde in einen 50 ml Erlenmeyerkolben eingewogen. Die gewählte Menge an Wirkstoff wurde so ausgewählt, dass nach dem Versuch ein Bodensatz an ungelöstem Wirkstoff vorhanden war. Nach Zugabe von 25 ml des entsprechenden Mediums zu dem Wirkstoff im Erlenmeyerkolben wurde dieser verschlossen. Der Erlenmeyerkolben wurde anschließend für 24 bzw. 48 Stunden bei 37°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) und 85 rpm in einem Wasserbad 1083 von GFL geschüttelt. Zu den Probennahmepunkten wurde der pH-Wert überprüft und falls notwendig mit verdünnter HCl oder verdünnter NaOH auf den Medium spezifischen pH-Wert nachgestellt.

Die Probennahme von 3 ml erfolgte mittels einer 5 ml Spritze. Anschließend wurde die Probe durch einen Spartan 30 Filter (0,45 μm) in ein HPLC Vial filtriert, wobei der erste Milliliter des Filtrats verworfen wurde. Die Analyse erfolgte mittels HPLC gegen einen externen Standard.

4.3.5 DSC

Die Bestimmung der Schmelzpunkte sowie die Charakterisierung von Salzen und physikalischen Mischungen wurde mit einer DSC 821e von Mettler Toledo durchgeführt. Strukturelle Phasenübergänge, Schmelzen, Kristallisieren, Sublimieren oder auch chemische Reaktionen, wie eine Zersetzung, können mittels DSC erfasst werden. Die DSC nach DIN 51005 als thermisches Verfahren misst die Temperaturdifferenz zur Erfassung der Wärmeströme einer Probe gegen eine Referenz bei denselben konstanten Heizraten. Daraus wird die Wärmemenge Q bei Veränderungen der Probe

ermittelt. Bei bekannter Masse der Probe können aus der Wärmemenge Q zum Beispiel die Zersetzungs-, Schmelz- bzw. Sublimationsenergien abgeleitet werden. Man unterscheidet zusätzlich zwischen endothermen und exothermen Vorgängen, die sich im Vorzeichen der Differenz der Wärmeströme zwischen Probe und Referenz unterscheiden. Für endotherme Prozesse erhält man eine Temperaturdifferenz $\Delta T < 0$, hingegen liefern exotherme Prozesse ein $\Delta T > 0$.

Für die Messungen wurden 5 bis 10 mg Probe in einen 100 μl Aluminiumtiegel eingewogen und mit einem mittig gelochten Aluminiumdeckel verschweißt. Als Referenz diente ein leerer Tiegel mit gelochtem Deckel. Die Aufheizrate betrug 10 K/min bei einem Messbereich von 25 bis 300 $^{\circ}\text{C}$.

4.3.6 NIR-Spektrometrie

Bei der NIR Spektroskopie werden Interaktionen von elektromagnetischer Strahlung mit Molekülen und Atomen bestimmt. Der Infrarotbereich befindet sich im Spektralbereich zwischen sichtbarem Licht und Mikrowellen. Man unterscheidet zwischen fernem Infrarot (FIR), mittlerem Infrarot (MIR) und nahem Infrarot (NIR) (Gottwald W & Wachter G 1997; Drennen JK & Lodder RA 1993), siehe Tabelle 8.

Tabelle 8: Übersicht über die Lage des Infraroten Bereiches im Spektrum der elektromagnetischen Strahlung

	NIR	MIR	FIR
Wellenlänge [μm]	0,8 – 2,5	2,5 – 25	25 – 1000
Wellenzahl [cm^{-1}]	12500 – 4000	4000 – 400	400 – 10
Energie [kJ/mol]	149 – 47,8	47,8 – 4,78	4,78 – 0,12

Im NIR-Bereich wird die gesamte absorbierte Energie ausschließlich zur Anregung von Schwingungen im Molekül verbraucht, es sind besonders C-H, O-H, S-H und N-H Gruppen aktiv. Dabei schwingen die Moleküle um die starken Bindungen des leichten Wasserstoffatoms. Der Grund liegt in der Asymmetrie der Bindung, die zu großen Änderungen des Dipolmomentes beim Schwingen führt. Da im NIR nur Oberschwingungen höherer Ordnung und Kombinationsschwingungen des gesamten Moleküls angeregt werden, findet man nur Banden im sogenannten „Fingerprint“-Bereich. Dadurch ist eine Zuordnung zu funktionellen Gruppen schwierig. Dies führte zum Einsatz von modernen rechnergestützten Systemen zur Datenanalyse der Spektren. Ein Unterschied zur MIR Spektroskopie ist die Sensitivität für verschiedene physikalische Parameter wie Dichte, Partikelgröße, Viskosität etc. (Drennen JK & Lodder RA 1993). In der Praxis wird das NIR häufig zur Bestimmung der Feuchte oder der Mischungsgüte von Pulvern sowie zur berührungslosen Online- Messung und zur Inprozesskontrolle verwendet.

Die Messungen erfolgten im Reflektionsmodus des NIR-Spektrometers Vector 22/N von Bruker. Jede Probe wurde mit drei Messungen nach einer Standardmethode bei einer Scanzahl von 30 im Bereich von 3200 bis 10000 cm^{-1} mit einer Auflösung von 1 cm^{-1} aufgenommen.

4.3.7 Raman-Spektrometrie

Die Ramanspektroskopie beruht auf der Grundlage des Raman-Effektes, der als inelastische Streuung von monochromatischem Licht an Molekülen beschrieben werden kann. Bei einer Wechselwirkung eines Photons mit einem Molekül kann es zu einer Aufnahme bzw. Abgabe von Energie und damit zu einer Änderung des Energieniveaus kommen. Im Fall einer Stokes-Raman-Streuung befindet sich das Molekül auf einem höheren Energieniveau als vor der Streuung. Besitzt das Molekül nach der Streuung eine niedrigere Schwingungsenergie, handelt es sich um eine Anti-Stokes-Raman-Streuung. Dadurch kommt es bei einem geringen Teil des Streulichtes zu einer Frequenzverschiebung gegenüber dem einfallenden Licht, die so genannte Ramanverschiebung. Diese wird mittels leistungsfähiger Detektoren gemessen (Schnepel 1980).

Für eine Messung im Ramanmikroskop wurden wenige Milligramm der zu untersuchenden Substanz auf einem Objektträger positioniert. Im Lichtmikroskopmodus wurde die Messposition auf der Probe gewählt. Anschließend wurde die Probe vermessen, einzelne Parameter wie Laserintensität oder die Spaltbreite wurden dabei individuell der Probe angepasst.

4.4 Analytische Verfahren

4.4.1 HPLC-Methoden und deren Validierung

Die high performance liquid chromatography (HPLC) gehört zu den flüssigchromatographischen Verfahren. Dabei wird ein Substanzgemisch in seine Bestandteile mittels einer mobilen Phase (Eluent) an einer stationären Phase (Trennsäule) aufgetrennt. Man unterscheidet zwischen normaler Phase (normal phase), den sogenannten Kieselgelen und Umkehrphasen (reversed phase), bei denen es sich um modifizierte Kieselgele mit langkettigen unpolaren Alkanen handelt. Heutzutage wird fast ausschließlich mit Umkehrphasen gearbeitet, diese sind meist zusätzlich mit Chlortrimethylsilan endcapped. Durch das Endcapping werden die restlichen freien Hydroxylgruppen bei Umkehrphasen silanisiert und damit das Kieselgel weiter hydrophobisiert.

Für die quantitative Bestimmung der verwendeten Wirkstoffe von der Freisetzung wurden verschiedene HPLC-Methoden entwickelt. Das Ziel war aufgrund der hohen Probenanzahl jeweils eine vierminütige Methode zu entwickeln. Insgesamt wurden für elf Wirkstoffe isokratische Methoden auf einer Purospher®Star RP-18 endcapped (5 μm) Säule mit vergleichbaren Parametern entwickelt, siehe Tabelle 9. Dies erleichtert einen Wechsel zwischen den Methoden durch eine einfache Änderung der Zusammensetzung des Eluenten aus den zwei Fließmitteln A und B. Die Retentionszeit des Wirkstoffpeaks lag je nach Methode zwischen 1,5 und 3 Minuten.

Tabelle 9: Technische Angaben zur verwendeten HPLC-Methode

Mobile Phase	Zusammensetzung siehe Tabelle 10
Fließmittel A	Puffer pH 2,6/ ACN (80:20)
Fließmittel B	Puffer pH 2,6/ ACN (10:90)
Flussrate	1,6 mL/min
Injektionsvolumen	20 µL
Autosampler	L-7250 (Fa. Merck/Hitachi)
Pumpe	L-7100 (Fa. Merck/Hitachi)
Ofen	L-7300 (Fa. Merck/Hitachi)
UV-Detektor	L-7400 (Fa. Merck/Hitachi)
Interface	D-7000 (Fa. Merck/Hitachi)
Säule	LiChroCart 125-4, Purospher Star RP-18 endcapped (5 µm)
Detektion	Wellenlängen siehe Tabelle 10
Auswertung	EZChrom Elite Client/Server Version 3.0

Die Validierung der Methoden ist an die ICH-Guideline Q2(R1) 2005 „Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology“ angelehnt. Für den Arbeitsbereich eines analytischen Verfahrens muss ein geeignetes Maß an Präzision, Richtigkeit und Linearität entsprechend der Guideline gezeigt werden.

Bei der Freisetzung in einem offenen Durchflusssystem können jedoch Konzentrationen über einen Bereich von drei Zehnerpotenzen auftreten. In dem Konzentrationsbereich von 5 µg/ml bis 75 µg/ml wurde die Linearität entsprechend der Guideline Q2(R1) bestimmt. Für niedrigere und höhere Konzentration wurde die Linearität abweichend von der Guideline mit weniger Messpunkten überprüft. Insgesamt wurde ein Konzentrationsbereich von 0,1 µg/ml bis 150 µg/ml abgedeckt. Die Systempräzision (Instrumental Precision) und Wiederholpräzision (Repeatability) wurde für jede verwendete Konzentration entsprechend der Merck Serono SOP „Validierung von HPLC-Methoden für chemische Arzneistoffe und Arzneiformen“ bestimmt. In Tabelle 10 sind ausgewählte Daten der Systempräzision, Wiederholpräzision, Linearität, Messwellenlänge sowie die Fließmittelzusammensetzung aufgeführt.

Tabelle 10: Zusammenfassung wichtiger Validierungsparameter der HPLC-Methoden

	Linearität	Systempräzison			Wiederhol- präzision		HPLC		
	5 – 75	0,5	50	150	0,5	50	A	B	λ
	µg/mL	µg/mL	µg/ml	µg/mL	µg/ml	µg/ml			nm
Ambroxol	0,9998	1,029	0,747	0,462	2,359	1,513	92	8	210
ASS	0,9977	1,448	0,346	0,927	0,843	0,858	75	25	206
Carbamazepin	0,9992	0,699	0,475	0,213	0,146	0,740	79	21	211
Diclofenac Na	0,9998	2,11	1,60	0,47	3,82	2,33	48	52	210
EMD 128130	0,9991	1,40	0,83	0,32	3,47	0,90	79	21	206
EMD 493320	0,9980	1,37	0,55	0,20	3,26	1,14	45	55	231
EMD 503982	0,9998	1,39	0,41	0,28	2,28	0,80	81,5	18,5	246
EMD 525544	1,00	1,68	0,33	0,76	1,99	1,26	60	40	204
HCT	0,9997	0,36	1,04	1,14	2,52	1,97	100	0	226
Levomepromazin	0,9997	2,11	0,88	0,90	6,21	1,16	77	23	250
Trimethoprim	0,9965	0,93	0,20	0,22	1,84	1,59	100	0	206

4.5 Caco 2 Zellmodell für Permeationsstudien

4.5.1 Kultivierung

Für die Permeationsuntersuchungen im Caco 2 Zellmodell wurden die Zellen ACC 169, Lot 9 DMSZ von Bayer-Schering verwendet. Die Kultivierung erfolgte grundsätzlich unter aseptischen Bedingungen in einem Inkubationsschrank bei 37 °C, 5 % CO₂ und 95 % relativer Luftfeuchtigkeit. Langfristig wurden Passagen der Caco 2 Zellen in flüssigem Stickstoff (-196 °C) gelagert. Für die Permeationsstudien wurden Filter-Kammer-Systeme, so genannte Transwell-Systeme®, mit einer Polycarbonatmembran mit 0,4 μm Porengröße verwendet, siehe Abbildung 20.

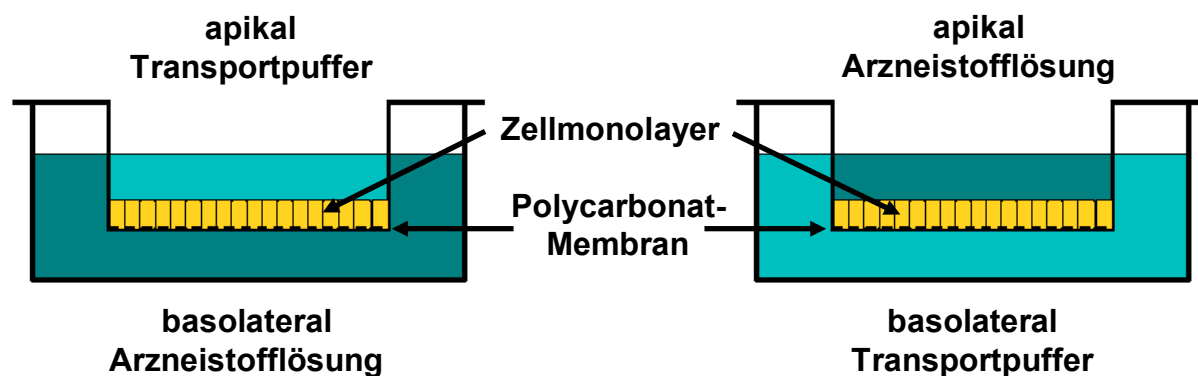


Abbildung 20: Versuchsanordnung eines Transwell-Systems® für Permeationsuntersuchungen von basolateral nach apikal (links) sowie apikal nach basolateral (rechts).

Die Zellen wurden mit einer Aussaatdichte von 150000 Zellen/cm² direkt auf der Polycarbonatmembran der Transwell-Einsätze für 14 Tage in 12-well-Platten kultiviert. Alle zwei Tage wurde das Medium durch auf 37 °C vortemperiertes Medium ausgetauscht.

4.5.2 Transportpuffer

Für alle Permeationsversuche wurde Krebs-Ringer-Puffer (KRB) entsprechend Kapitel 3.5 verwendet. Die Einstellung des pH-Wertes erfolgte mit 0,1 N NaOH Lösung.

4.5.3 Transportversuche

Die Transportversuche wurden unter statischen Bedingungen mit dem Transwell-System® als Dreifachbestimmung von apikal nach basolateral und basolateral nach apikal durchgeführt, siehe Abbildung 20. Bei den Transportversuchen stellt die Seite mit der Arzneistofflösung das Donorkompartiment und die Seite des Transportpuffers das Akzeptorkompartiment dar.

Nach der 14-tägigen Kultivierung wurde das Kulturmedium zuerst im apikalen Kompartiment und dann im basolateralen Kompartiment abgesaugt. Anschließend wurde zweimal mit KRB gewaschen und für 30 Minuten im Trockenschrank inkubiert. Nach der Messung des transepithelialen elektrischen Widerstandes (Teer) mit dem Widerstandmessgerät (Millicell-ERS) wurde das Medium abgesaugt.

Für die Untersuchung der Permeation von der apikalen zur basolateralen Seite wurden die Transwell-Einsätze in neue 12-well-Platten, die mit 1,5 ml vortemperierten Transportpuffer gefüllt waren, umgesetzt. In das apikale Kompartiment (Donor) wurden 0,5 ml der im Transportpuffer gelösten Probe gegeben. Danach wurden die Transwell-Systeme® bei 37 °C in einem Inkubationsschrank für 180 Minuten mit dem Horizontalschüttler HS 500 auf der Stufe 1 geschüttelt. Nach 60, 120 und 180 Minuten wurden die Transwell-Einsätze in neue 12-well-Platten mit 1,5 ml vortemperierten frischen Transportpuffer umgesetzt. Aus den alten 12-well-Platten der jeweiligen Zeitpunkte wurden aus jedem basolateralen Kompartiment (Akzeptor) ein 1 ml in HPLC-Vials zur anschließenden Analyse pipettiert. Nach dem letzten Umsetzen wurde der Teer erneut bestimmt.

Zusätzlich wurde parallel die Integrität des Zellmonolayers analog der Permeationsstudien mittels einer 2,5 µM 5-(6)-Carboxyfluorescein-Lösung als hydrophile Markersubstanz untersucht (Artursson P et al. 1996). Dieser Farbstoff, gelöst im Transportpuffer, passiert den Zellmonolayer ausschließlich passiv parazellulär. Die zu den Messzeitpunkten entnommenen Proben (100 µl) wurden in 96-Well-Platten pipettiert. Das entnommene Volumen wurde durch frischen Transportpuffer ersetzt. Der Fluoreszenzfarbstoffgehalt wurde mittels einer Eichgerade im Fluoreszenzspektrometer (Ascent Fluoroskan™) bestimmt.

Bei der Untersuchung des Transportes von der basolateralen zur apikalen Seite wurden 1,5 ml temperierte Probelösung in der basolateralen Seite vorgelegt und 0,5 ml temperierter Transportpuffer auf die apikale Seite gegeben. Nach 60, 120 und 180 Minuten wurde eine Probe von 200 µl auf der apikalen Seite entnommen und mit frischem temperierten Transportpuffer ersetzt. Nach 180 Minuten wurde der Teer direkt bestimmt. Die 200 µl Proben wurden mit 400 µl ACN in HPLC-Vials zur Analyse pipettiert.

Eine Übersicht über die durchgeführten Versuchsbedingungen einschließlich der verwendeten Hilfsstoffkonzentrationen findet sich in Abbildung 21. Der verwendete Wirkstoff mit den entsprechenden Konzentrationen findet sich in der Beschreibung des jeweiligen Experimentes.

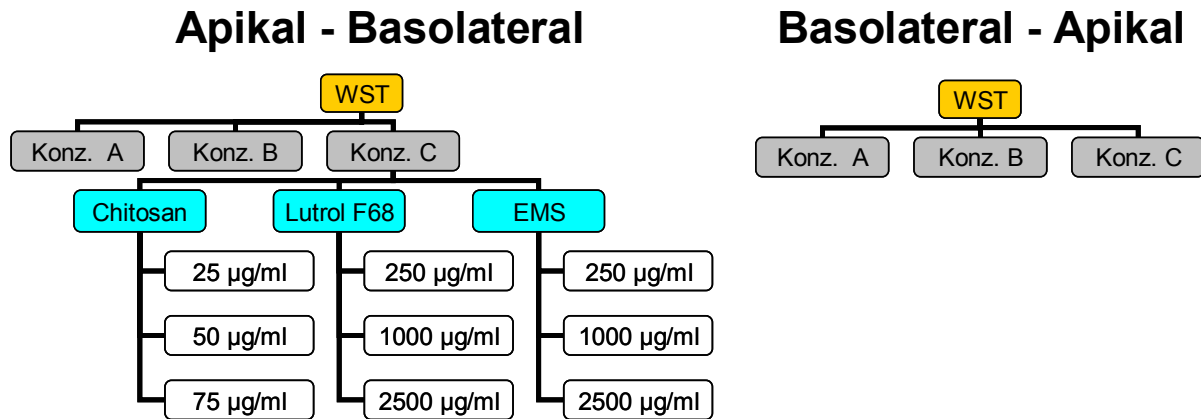


Abbildung 21: Versuchsbedingungen der Permeationsstudien im Caco 2 Permeationsmodell:

Es wurden je Wirkstoff (WST) drei Konzentrationen (Konz.) A, B und C getestet. Mit der Wirkstoffkonzentration C wurden weiter Permeationsversuche mit drei Hilfsstoffen von apikal nach basolateral bei drei verschiedenen Hilfsstoffkonzentrationen durchgeführt.

4.5.4 Auswertung

Als Parameter zur Charakterisierung der Permeation wurde der apparente Permeationskoeffizient (P_{app}) bestimmt. Dazu wird die kumulative Arzneistoffkonzentration im Akzeptorkompartiment gegen die Zeit aufgetragen, der Anstieg dc/dt wurde mittels linearer Regression ermittelt. Gemäß Gleichung 18 wurde daraus der P_{app} berechnet (Artursson P 1990; Artursson P 1991; Artursson P et al. 1996).

$$P_{app} = \frac{dc}{dt} \times \frac{1}{A \cdot C_0} \times V_{Akzeptor} \quad [cm / s] \quad \text{Gleichung 18}$$

dc/dt Substanzfluss durch den Monolayer [$\mu g \cdot ml^{-1} \cdot s^{-1}$]

A Oberfläche des Monolayers [cm^2]

C_0 Ausgangskonzentration im Donorkompartiment

$V_{Akzeptor}$ Volumen im Akzeptorkompartiment [cm^3]

4.5.5 Zytotoxizitätsversuch: Alamar Blue Assay

Für den Versuch wurden in 96-well-Platten Zellen mit einer Dichte von 150000 Zellen/ cm^2 ausgesät und für 14 Tage im Inkubationsschrank entsprechend der Permeationsstudien kultiviert. Resazurin als nicht toxischer Abkömmling des MTT (Tetrazoliumsalz) liegt als wasserlöslicher Redoxfarbstoff beim Alamar Blue Assay in seiner oxidierten Form als blauer, nicht fluoreszierender und in seiner reduzierten Form als roter fluoreszierender Farbstoff vor. Diese Eigenschaft wird sich zu nutze

gemacht, da metabolisch aktive vitale Zellen Resazurin in seine rote fluoreszierende Form umsetzen. Überwiegt die Anzahl toter Zellen ist die Reduktion des Indikators so gering, dass ein Farbumschlag von blau nach rot ausbleibt.

Vor dem Versuch wurden die Zellen zweimal mit KRB gewaschen. Pro Well wurden 200 µl Probelösung zugegeben und für 4 Stunden inkubiert. Anschließend wurden 5 µl Alamar Blue zugegeben und für weitere 4 Stunden inkubiert. Dabei wurde jede Stunde die Menge des Farbstoffes mit dem Fluoreszenzspektrometer (Ascent Fluoroskan) bestimmt. Als Negativkontrolle diente KRB und als Positivkontrolle eine 1 prozentige Triton X 100-Lösung.

4.6 *Physikalische Mischungen*

Für die Untersuchung des Einflusses von Hilfsstoffen auf die Freisetzung von Wirkstoffen wurden physikalische Mischungen verwendet. Es ist von großem Interesse, die Auswirkung von Hilfsstoffen auf der Stufe der physikalischen Mischung vor der ersten klassischen Formulierung (Tabletten, Kapseln etc.) zu kennen. Physikalische Mischungen können sehr effektiv in kleinen Ansätzen bei minimalstem Wirkstoffbedarf hergestellt werden. Dies bietet Vorteile in der Präformulierung, da die vorhandene Wirkstoffmenge oft der begrenzende Faktor für die erste Formulierungsentwicklung darstellt. Anhand von im Labormaßstab hergestellten physikalischen Mischungen wurde der Einfluss der Hilfsstoffmenge auf die Wirkstofffreisetzung untersucht. Für die Freisetzung mit 30 Prozent bzw. 90 Prozent Hilfsstoffanteil wurden entsprechend eines Versuchsschemas die physikalischen Mischungen nach einem standardisierten Vorgehen hergestellt. Dabei wurden je Mischung 500 mg Wirkstoff zuzüglich 214 mg bzw. 4500 mg Hilfsstoff in ein 50 ml ActivVial eingewogen. Zunächst wurde für 2 Minuten die Mischung mit dem Vortexer Stuart SA8 bei 2500 rpm vorgemischt und anschließend weitere 10 Minuten im Turbula-Mischer T2C von WAB AG gemischt.

Bei kleineren physikalischen Mischungen, wie zum Beispiel für die Versuche zum Einfluss der Partikelgröße des Hilfsstoffes bei der Freisetzung oder die NIR-Versuche, wurden die Mischungen in einem miniaturisierten Maßstab hergestellt. Dabei wurde die gewünschte Menge an Wirkstoff und Hilfsstoff, maximal 2 Gramm, in 10 ml Zentrifugenröhrchen von Nalgene eingewogen. Danach wurden die Proben für 5 Minuten bei 2500 rpm auf dem Vortexer Stuart SA8 gemischt.

5 Ergebnisse und Diskussion

5.1 *Auswahl des Freisetzungsmediums*

Die Auswahl des Freisetzungsmediums ist entscheidend bei der Entwicklung diskriminierender Freisetzungsmethoden. Bei Freisetzungen in Durchflusszellen wurden bisher laut Literatur keine speziellen Medien verwendet oder neu entwickelt.

Für das Aufstellen eines Entscheidungsbaums zur Charakterisierung von Wirkstoffen mittels der Durchflusszelle sind standardisierte Freisetzungsmedien unerlässlich. Aufgrund der Tatsache, dass für einen Biowaver Freisetzungen im pH-Bereich von 1,2 bis 6,8 gefordert sind, wurden drei Medien in diesem Bereich und eins bei pH 7,5 in Anlehnung an die Ph.Eur. und die USP näher charakterisiert.

Unter Beachtung, dass diese Medien in der Routine angewandt werden sollen, wurde vor allem auf niedrige Kosten sowie auf eine einfache Herstellbarkeit Wert gelegt. Die Entscheidung viel auf Simulated Gastric Fluid ohne Enzyme (SGFsp), einen Phosphatpuffer pH 4,5 gemäß Ph.Eur., Simulated Intestinal Fluid ohne Enzyme (SIFsp) und einen Phosphatpuffer pH 7,5 gemäß Ph.Eur. und USP. Speziell für die Anwendung in der Durchflusszelle wurde der Zusatz von Tensiden überlegt. Daher wurde die Auswirkung verschiedener Tensidkonzentration auf die Eigenschaften des Mediums speziell für das nichtionische Tensid Tween® 80 untersucht (Horozov T & Amaudov L 1999; Zhang D et al. 2002; Shah VP et al. 1989; Warren PB & Buchanan M 2001; Lin SL et al. 1968). Die Anwendung von ionischen Tensiden, wie das häufig verwendete SDS (Natriumlaurylsulfat) und CTAB (Cetyltrimethylammoniumbromid), kamen nicht in Betracht, da ionische Tenside zu einer möglichen Ionenpaarbildung mit Wirkstoffen neigen (Mall S et al. 1996). Im Fall von SDS zum Beispiel wurde eine Interaktion mit dem Hilfsstoff Chitosan (Prado AGS et al. 2004; Thongngam M & McClements DJ 2004; Thongngam M & McClements DJ 2005) beschrieben. Bei eigenen Untersuchungen mit SDS konnte eine Addition an sekundäre Amine mittels LC-MS nachgewiesen werden.

5.1.1 Osmolarität, Leitfähigkeit & Viskosität

Es konnte kein Einfluss auf die Osmolarität bei Zusatz von Tween® 80 bis zu 0,5 % [m/V] in den verschiedenen Medien nachgewiesen werden, siehe Tabelle 11.

Tabelle 11: Abhängigkeit der Osmolarität in Osm/kg verschiedener Medien von der Tween® 80 Konzentration [m/V]. (n =3)

Tween® 80 [m/V]	Osmolarität [Osm/kg]				
	H2O	SGF	pH 4,5	SIF	pH 7,5
0,0000%	0,001	0,219	0,192	0,115	0,124
0,0002%	0,001	0,219	0,191	0,110	0,119
0,0005%	0,001	0,220	0,190	0,111	0,119
0,0008%	0,002	0,219	0,189	0,110	0,119
0,0020%	0,001	0,220	0,186	0,111	0,118
0,0100%	0,001	0,220	0,186	0,110	0,119
0,0500%	0,001	0,224	0,185	0,110	0,121
0,1000%	0,001	0,221	0,185	0,111	0,119
0,2000%	0,001	0,223	0,187	0,112	0,119
0,5000%	0,002	0,223	0,184	0,112	0,122

Bei der Bestimmung der Leitfähigkeit in Abhängigkeit der Tween® 80 Konzentration wurde in Wasser ein marginaler Anstieg der Leitfähigkeit auf sehr geringem Niveau gefunden. In allen anderen Medien konnte kein Einfluss von Tween® 80 auf die Leitfähigkeit nachgewiesen werden, siehe Tabelle 12. Die Ursache liegt in der hohen Grundleitfähigkeit dieser Medien, bei denen ein Zusatz von Tween® 80 zu einer nicht messbaren Änderung in der Leitfähigkeit führt. Ein Einfluss auf die Viskosität kann bei den gewählten Konzentrationen an Tween® 80 vernachlässigt werden.

Tabelle 12: Abhängigkeit der Leitfähigkeit in mS/cm verschiedener Medien von der Tween® 80 Konzentration [m/V]. (n = 3)

Tween® 80 [m/V]	Leitfähigkeit [mS/cm]				
	H ₂ O	SGF	pH 4,5	SIF	pH 7,5
0,0000%	0,00070	35,00	6,53	5,17	6,40
0,0002%	0,00070	34,90	6,51	5,15	6,41
0,0005%	0,00070	34,90	6,49	5,15	6,41
0,0008%	0,00050	34,90	6,48	5,15	6,41
0,0020%	0,00060	34,90	6,30	5,15	6,41
0,0100%	0,00070	34,70	6,27	5,15	6,40
0,0500%	0,00210	34,70	6,30	5,13	6,38
0,1000%	0,00360	34,60	6,27	5,12	6,37
0,2000%	0,00780	34,50	6,28	5,11	6,35
0,5000%	0,01580	34,20	6,20	5,06	6,31

5.1.2 Löslichkeitsisothermen & Tween® 80

Es wurden Löslichkeitsisothermen von den Wirkstoffen der „Apparent Dissolution“ bestimmt. Dabei wurde der Einfluss der Tween® 80 Konzentration auf die Löslichkeit des Wirkstoffes nach 24 bzw. 48 Stunden im FreisetzungsmEDIUM untersucht. Die Löslichkeitsisothermen wurden mit den Wirkstoffen EMD 128130, EMD 503982, EMD 525544 und EMD 486019 in den Medien SGFsp, Phosphatpuffer pH 4,5, SIFsp und Phosphatpuffer pH 7,5 durchgeführt. Für einen direkten Vergleich der Löslichkeitsisothermen wurde nicht wie üblich die Löslichkeit gegen den Zusatz an Tween® 80 gegenübergestellt. Es wurde der ermittelte Löslichkeitsfaktor F_x als Maß für die Verbesserung der Löslichkeit gegen die Tensidkonzentration aufgetragen (Bhattachar SN et al. 2006; Higuchi T & Connors KA 1965).

Für EMD 128130 als schwache Base erhält man im Phosphatpuffer pH 7,5 einen Wert von 10 für F_x , bei einem Zusatz von 0,5 % Tween® 80, dies entspricht einer Verelffachung der Löslichkeit. In SGFsp mit einem pH-Wert von 1,2 und dem Phosphatpuffer pH 4,5 ist keine signifikante Verbesserung der Löslichkeit mit steigender Tween® 80 Konzentration zu erkennen. Ab einer Konzentration von 0,01 % Tween® 80 in SIFsp und dem Phosphatpuffer 7,5 nimmt die Löslichkeit linear mit steigender Tween® 80 Konzentration zu, siehe Abbildung 22.

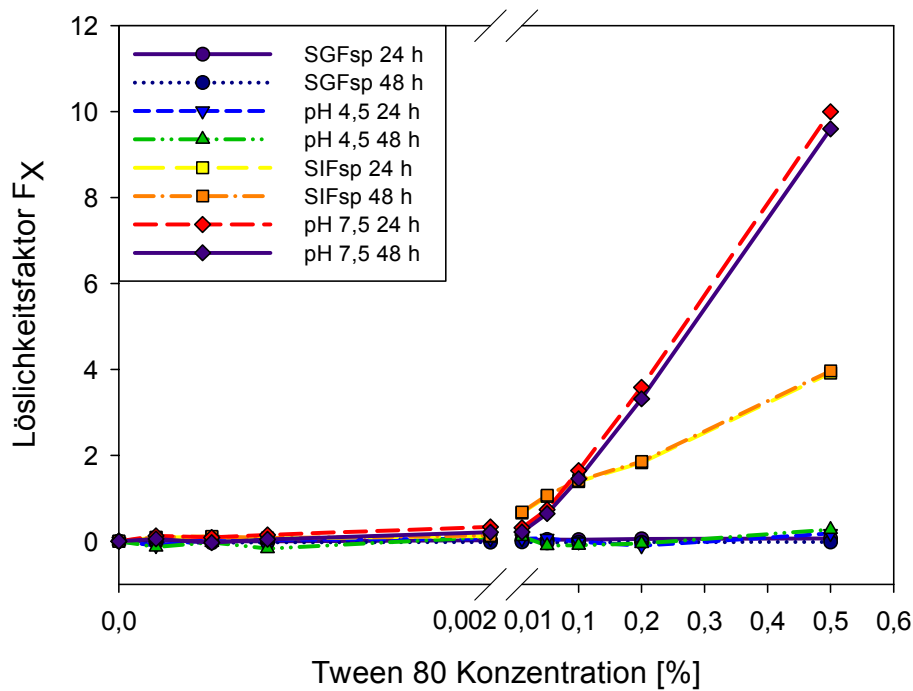


Abbildung 22: Löslichkeitsisothermen von EMD 128130 in verschiedenen Medien, dargestellt als Löslichkeitsfaktor F_x gegen die Konzentration von Tween® 80 in den Medien. ($n = 3$)

EMD 503982 als neutraler und pH-Wert unabhängig löslicher Wirkstoff zeigt in allen Freisetzungsmedien eine annähernd gleiche Löslichkeit. Ab einer Tween® 80 Konzentration von 0,01 % ist eine minimale Verbesserung der Löslichkeit in allen vier untersuchten Medien zu erkennen, siehe Abbildung 23. Bei der höchsten Tween® 80 Konzentration von 0,5 % nimmt der Löslichkeitsfaktor F_x einen Wert von 0,3 bis 0,4 in allen Medien an. Ein Zusatz von Tween® 80 bis 0,5 % führt daher bei EMD 503982 zu keiner wesentlichen Verbesserung der Löslichkeit.

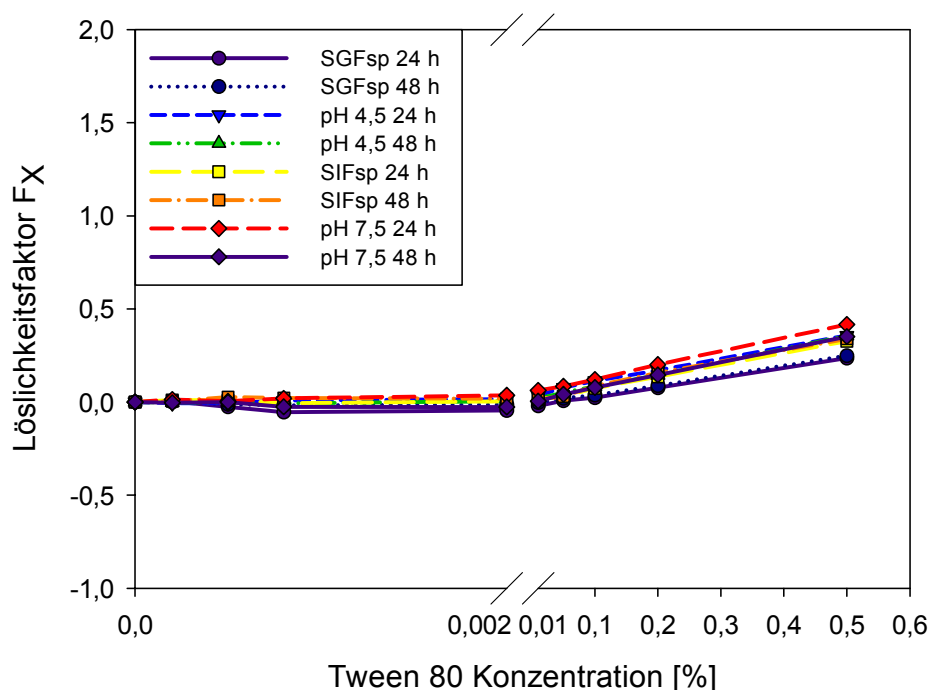


Abbildung 23: Löslichkeitsisothermen von EMD 503982 in verschiedenen Medien, dargestellt als Löslichkeitsfaktor F_x gegen die Konzentration von Tween® 80 in den Medien. ($n = 3$)

Bei EMD 486019 handelt es sich um einen neutralen und stark Hydrolyse empfindlichen Wirkstoff. Bei der Bestimmung des Löslichkeitsfaktor F_x wurde die Konzentration des Hydrolyseproduktes nicht berücksichtigt. Bei der thermodynamischen Löslichkeit wird das Gleichgewicht zwischen gelösten EMD 486019 und ungelösten EMD 486019 durch die Entstehung des Hydrolyseproduktes beeinflusst. Aufgrund der pH-Wert abhängigen Hydrolyse ist eine pH-Wert abhängige Beeinflussung der Gleichgewichtslöslichkeit von EMD 486019 nach 24 bzw. 48 Stunden zu erkennen, siehe Abbildung 24. Die Löslichkeitsisothermen in SGFsp, Phosphatpuffer pH 4,5 und SIFsp zeigen nach 24 Stunden eine starke Verbesserung der Löslichkeit mit steigender Tween® 80 Konzentration. Die Löslichkeitsisothermen nach 48 Stunden zeigen eine Halbierung der Löslichkeit gegenüber dem Wert nach 24 Stunden. Im Vergleich zum Phosphatpuffer pH 7,5 zeigt dessen Löslichkeitsisotherme nach 24 Stunden bereits einen um ein Drittel niedrigeren F_x als in den anderen Medien in Abhängigkeit zur Tween® 80 Konzentration. Die Ursache liegt in einer zunehmenden Hydrolyse von EMD 486019 mit steigendem pH-Wert und zunehmender Zeit. Dabei beeinflusst das in Lösung befindliche Hydrolyseprodukt die Gleichgewichtslöslichkeit von EMD 486019. Dies führt zu einer verringerten Löslichkeit von EMD 486019. Gleichzeitig konkurrieren EMD 486019 und das Hydrolyseprodukt um die Aufnahme in die Tween® 80 Mizellen. Nach 48 Stunden dürfte bereits soviel Hydrolyseprodukt entstanden sein, dass es selbst im Gleichgewicht mit ungelöstem Hydrolyseprodukt liegt. Aufgrund der starken Hydrolyse ist keine eindeutige Aussage über den Einfluss von Tween® 80 auf die Löslichkeit in den Freisetzungsm Medien möglich. Allgemein wurde eine starke Zunahme der Löslichkeit ab einer Konzentration von 0,01 % Tween® 80 in allen Medien beobachtet. Nach 48 Stunden wiesen die Löslichkeitsisothermen eine um die Hälfte reduzierte Löslichkeit auf. Daher ist aufgrund der starken

Hydrolyse kein eindeutiger Rückschluss auf die löslichkeitsverbessernden Eigenschaften von Tween® 80 für EMD 486019 in den Medien möglich.

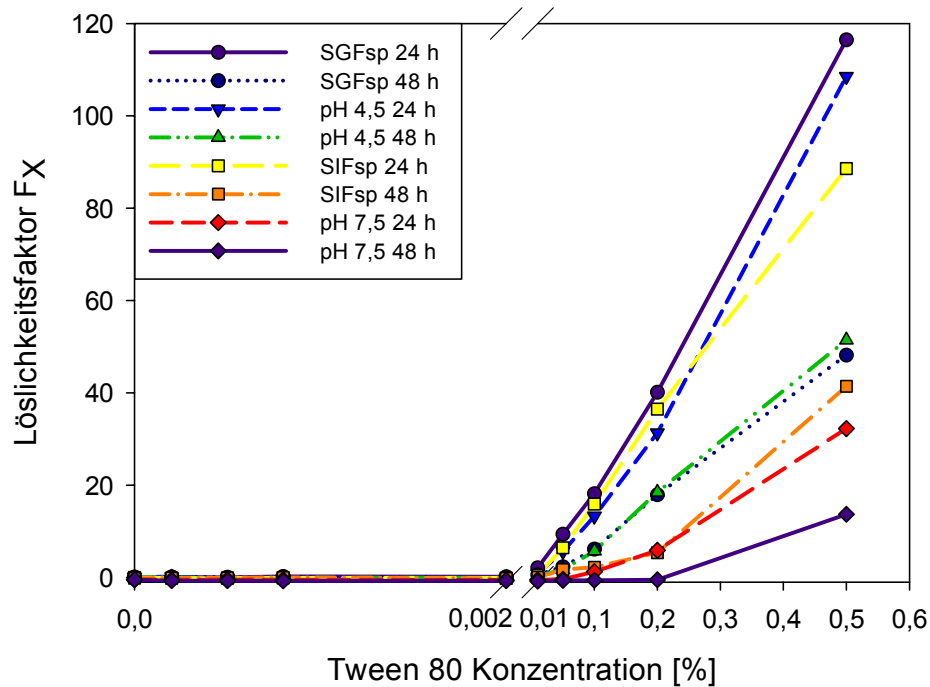


Abbildung 24: Löslichkeitsisothermen von EMD 486019 in verschiedenen Medien, dargestellt als Löslichkeitsfaktor F_x gegen die Konzentration von Tween® 80 in den Medien. ($n = 3$)

Die schwache Base EMD 525544 zeigt im Phosphatpuffer pH 4,5, SIFsp und Phosphatpuffer pH 7,5 eine annähernd identische lineare Erhöhung der Löslichkeit. Der Löslichkeitsfaktor F_x in diesen drei Medien nimmt bei Zusatz von 0,5 % Tween® 80 auf das 110 bis 125 fache gegenüber dem reinen Medium ohne einen Tween® 80 Zusatz zu. In SGFsp hingegen ist nur ein Löslichkeitsfaktor F_x mit einem Wert von 2 zu beobachten, siehe Abbildung 25.

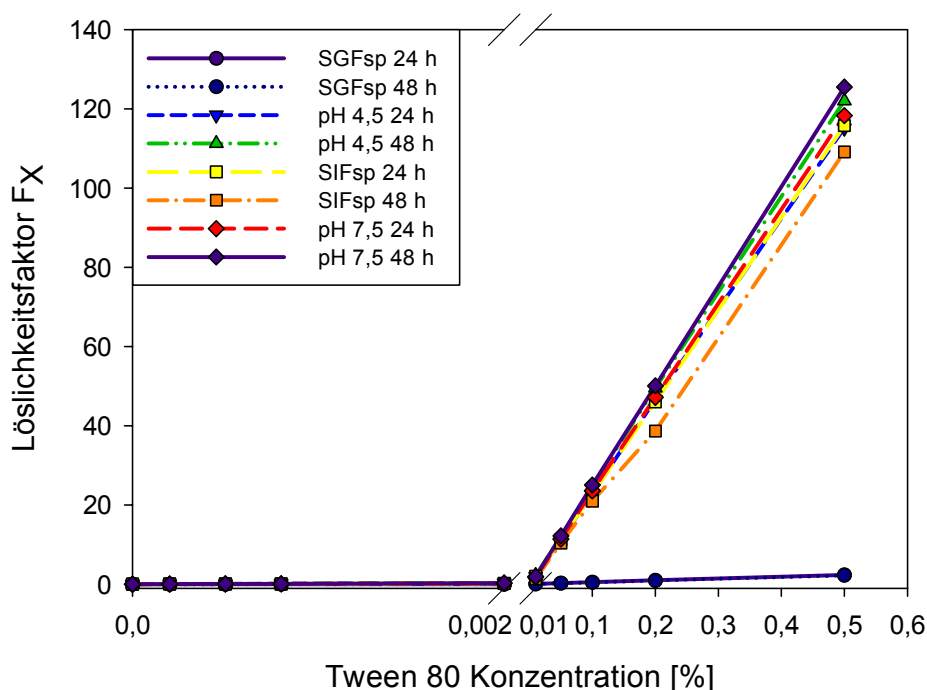


Abbildung 25: Löslichkeitsisothermen von EMD 525544 in verschiedenen Medien, dargestellt als Löslichkeitsfaktor F_x gegen die Konzentration von Tween® 80 in den Medien. ($n = 3$)

Der Zusatz von Tween® 80 zum Freisetzungsmedium kann unabhängig vom Wirkstoff ab einer Konzentration von 0,01 % zu einer Verbesserung der Löslichkeit führen. Eine Verbesserung der Löslichkeit tritt bei Tensiden erst oberhalb der CMC auf. Die CMC von Tween® 80 liegt laut Literatur im Bereich von 0,002 %, anhand der nachfolgend bestimmten Oberflächenspannungen wurde dieser Wert bestätigt bzw. tendieren die Messungen eher auf eine Tween® 80 Konzentration von 0,01 % hin. Daher konnte unterhalb dieser Konzentration kein Einfluss auf F_x beobachtet werden. In Tabelle 13 finden sich beispielhaft die Löslichkeiten der Wirkstoffe in den Medien ohne Tween® 80 und mit dem höchsten Zusatz von 0,5 % Tween® 80 nach 24 Stunden dargestellt. Die Werte für den Löslichkeitsfaktor F_x bei einem Zusatz von 0,01 % und 0,5 % Tween® 80 sind in Tabelle 14 dargestellt.

Tabelle 13: Löslichkeiten nach 24 Stunden in [mg/ml] verschiedener Wirkstoffe in den Medien SGFsp, pH 4,5, SIFsp und pH 7,5 sowie bei einem Zusatz von 0,5 % Tween® 80. ($n = 3$)

	EMD 128130		EMD 503982		EMD 486019		EMD 525544	
	0 %	0,5 %	0 %	0,5 %	0 %	0,5 %	0 %	0,5 %
SGFsp	9,6202	10,259	0,2749	0,3398	0,0035	0,4134	0,01780	0,06000
pH 4,5	3,0549	3,6079	0,2275	0,3087	0,0042	0,4182	0,00024	0,02840
SIFsp	0,1222	0,6006	0,2544	0,3374	0,0042	0,3752	0,00025	0,02886
pH 7,5	0,0516	0,5669	0,2444	0,3461	0,0046	0,2725	0,00024	0,02900

Tabelle 14: Löslichkeitsfaktoren F_x verschiedener Wirkstoffe in den Medien SGFsp, pH 4,5, SIFsp und pH 7,5 bei einem Zusatz von 0,01% und 0,5 % Tween® 80. Der Löslichkeitsfaktor F_x im Medium ohne einen Tween® 80 Zusatz ist nicht dargestellt, da dieser den Wert Null entspricht. ($n = 3$)

	EMD 128130		EMD 503982		EMD 486019		EMD 525544	
	0,01 %	0,5 %	0,01 %	0,5 %	0,01 %	0,5 %	0,01 %	0,5 %
SGFsp	0,03	0,07	-0,02	0,24	2,10	117,11	0,09	2,37
pH 4,5	0,06	0,18	0,03	0,36	0,63	98,57	2,02	117,33
SIFsp	0,66	3,91	0,02	0,33	0,40	88,33	1,98	114,44
pH 7,5	0,31	9,99	0,06	0,42	-0,12	58,24	1,83	119,83

Für ein Medium ohne Tween® 80 Zusatz würde der Löslichkeitsfaktor F_x immer den Wert Null annehmen. Beim Vergleich der Ergebnisse beider Tabellen ergibt sich folgender Rückschluss. In Medien mit einer schlechten Löslichkeit des Wirkstoffes ist eine Vervielfachung der Ausgangslöslichkeit durch einen Tween® 80 Zusatz einfach zu erreichen, während in Medien mit einer hohen Löslichkeit des Wirkstoffes ein Zusatz von Tween® 80 bis zu 0,5 % kaum einen Einfluss zeigt. Die Ursache liegt in der Verteilung des Wirkstoffes zwischen Medium und den Mizellen. Die Mizellen können nur eine bestimmte Menge an Wirkstoff aufnehmen. Daher steigt die Löslichkeit bei zunehmender Konzentration des Tensides oberhalb der CMC linear an. Für den Fall, dass der Wirkstoff eine gute Löslichkeit im Medium besitzt, ist der gelöste Anteil in den Mizellen, bezogen auf die Gesamtlöslichkeit, vernachlässigbar. Zeigt der Wirkstoff, wie EMD 525544, eine sehr schlechte Löslichkeit im Medium, dann kann die gelöste Menge an Wirkstoff durch eine Aufnahme in Mizellen um ein Vielfaches gesteigert werden. Das bedeutet, dass der Löslichkeitsfaktor F_x mit steigendem Zusatz von Tensiden entscheidend von der Grundlöslichkeit des Wirkstoffes im Medium abhängt.

5.1.3 Oberflächenspannung: Einfluss von SDS, Tween® 20 & 80

Der Oberflächenspannung von Freisetzungsmitteln kommt eine besondere Bedeutung zu. Für die Oberflächenspannung von Magensaft und intestinalen Flüssigkeiten findet man stark abweichende Werte im Vergleich zu Wasser. Für Magensaft sind Werte zwischen 35 mN/m bis 45 mN/m beschrieben (Hörter D & Dressman JB 1997). Die im Gastrointestinaltrakt vorhandenen oberflächenaktiven Substanzen wie Gallensalze können als natürliche Tenside angesehen werden (Efentakis M & Dressman JB 1998). Ihr Einfluss auf die Löslichkeit, Benetzung, Oberflächenspannung und Freisetzung ist hinreichend bekannt (Finholt P & Solvang S 1968; Bates TR et al. 1966; Kassern MA et al. 1982; Kararli TT & Gupta VW 1992; Luner PE et al. 1994; Shulman ML et al. 1995; Horozov T & Amaudov L 1999).

Da klassische Freisetzungsmitteln meist keine Tenside enthalten, können diese Medien den Einfluss der Benetzung im Gastrointestinaltrakt nicht wiedergeben.

Anlehnend an die physiologischen Bedingungen wurde die Bestimmung der Oberflächenspannungen in Abhängigkeit der Konzentration an SDS, Tween® 20 und Tween® 80 in den vier ausgewählten Freisetzungsmitteln untersucht, Tabelle 15 - 17.

Tabelle 15: Oberflächenspannung [mN/m] in Wasser, SGFsp, pH 4,5, SIFsp und pH 7,5 in Abhängigkeit von der Tween® 20 Konzentration. (n = 3)

Tween® 20 [m/V]	Oberflächenspannung [mN/m]				
	H2O	SGFsp	pH 4,5	SIFsp	pH 7,5
0,0000%	72,58	72,51	72,21	71,80	72,05
0,0002%	72,17	63,97	68,65	67,10	66,88
0,0005%	65,82	60,27	61,30	59,30	59,88
0,0008%	53,32	58,33	56,76	57,30	56,18
0,0020%	46,70	47,70	48,80	44,34	45,44
0,0100%	42,37	36,33	38,65	40,65	41,02
0,0500%	41,28	32,20	36,98	37,42	39,63
0,1000%	39,87	32,27	36,66	37,00	39,55
0,2000%	39,38	32,39	36,99	37,33	38,97
0,5000%	37,89	32,44	36,19	36,47	38,68

Tabelle 16: Oberflächenspannung [mN/m] in Wasser, SGFsp, pH 4,5, SIFsp und pH 7,5 in Abhängigkeit von der Tween® 80 Konzentration. (n = 3)

Tween® 80 [m/V]	Oberflächenspannung [mN/m]				
	H2O	SGFsp	pH 4,5	SIFsp	pH 7,5
0,0000%	70,99	72,50	72,24	72,10	72,65
0,0002%	60,64	68,95	58,54	68,95	64,99
0,0005%	53,10	60,90	56,08	59,12	55,90
0,0008%	48,64	54,00	52,23	52,79	51,87
0,0020%	43,47	47,36	47,06	48,08	46,87
0,0100%	40,64	41,17	42,63	43,98	41,29
0,0500%	40,21	39,55	41,81	42,53	41,68
0,1000%	40,13	39,26	41,23	41,77	42,89
0,2000%	39,90	38,65	40,85	39,26	41,57
0,5000%	38,43	36,20	37,65	36,77	40,58

Tabelle 17: Oberflächenspannung [mN/m] in Wasser, SGFsp, pH 4,5, SIFsp und pH 7,5 in Abhängigkeit von der SDS Konzentration. (n = 3)

SDS [m/V]	Oberflächenspannung [mN/m]				
	H2O	SGFsp	pH 4,5	SIFsp	pH 7,5
0,0000%	72,64	72,16	71,86	71,98	72,71
0,0005%	72,20	66,19	69,10	71,54	67,60
0,0010%	71,41	62,37	68,31	66,85	64,94
0,0025%	70,11	56,74	63,65	66,54	61,17
0,0050%	67,65	52,71	57,63	58,48	54,56
0,0075%	68,75	47,85	54,45	54,95	51,23
0,0100%	64,69	46,10	51,35	49,51	50,13
0,0250%	59,55	36,98	42,95	43,32	40,27
0,0500%	53,17	36,33	38,73	35,40	35,34
0,1000%	46,03	36,33	38,44	33,59	35,13
0,5000%	37,17	33,53	38,99	34,28	36,28
1,0000%	36,57	35,28	38,07	33,97	36,45

Die Oberflächenspannung der getesteten Freisetzungsmethoden nimmt wie erwartet mit steigendem Tensidzusatz ab. Für die nichtionischen Tenside Tween® 20 und Tween® 80 war der Einfluss der Tensidkonzentration unabhängig vom getesteten Freisetzungsmedium. Bei SDS hingegen nimmt die Oberflächenspannung in reinem Wasser mit steigender Tensidkonzentration signifikant langsamer als in den anderen Medien ab. Dieser Effekt wurde bereits bei der Bestimmung der CMC von SDS in Wasser im Vergleich zur einer 0,15 M NaCl-Lösung beobachtet (Crison JR et al. 1997; Crison JR et al. 1996). Sehr geringe Konzentration an Tween® 20 und Tween® 80 führen zu einer stärkeren Reduktion der Oberflächenspannung als bei einem SDS Zusatz. Eine Konzentration von 0,01 % Tween® 20 oder Tween® 80 ist ausreichend, um physiologische Oberflächenspannungen zwischen 35 und 45 mN/m in allen Medien zu erhalten.

5.1.4 Benetzungswinkel und Tween® 80

Durch Zusatz von Tensiden in Freisetzungsmethoden kommt es zu einer Reduktion der Oberflächenspannung (Lunar PE & Kamp DV 2001; Zhang D et al. 2002). Eine erniedrigte Oberflächenspannung führt nach allgemeiner Vorstellung zu einer besseren Benetzung von Feststoffen. Die Bestimmung des Benetzungswinkels wurde mit zwei ausgewählten Wirkstoffen (EMD 128130 und EMD 503982) sowie auf einer inerten Oberfläche als Referenz durchgeführt (Zhang D et al. 2002; Horozov T & Amaidov L 1999). Ziel war es, die Abhängigkeit des Benetzungswinkels von der Konzentration an Tween® 80 im Freisetzungsmedium zu zeigen. Die Bestimmung erfolgte auf 40 mm planen Presslingen des Wirkstoffes. Aufgrund einer zu hohen Porosität beim EMD 503982 Pressling wurde ein Tropfen Wasser, wie in Abbildung 26 zu sehen, innerhalb von 30 Sekunden von dem Pressling komplett aufgenommen. Zum Vergleich ist auf der rechten Seite der Abbildung

EMD 128130 zu sehen. Dessen Änderung der Tropfenform über 180 Sekunden beruht auf Verdunstungseffekten und nicht auf einer möglichen Porosität des Presslings. Deshalb konnte für EMD 503982 kein Benetzungswinkel bestimmt werden.

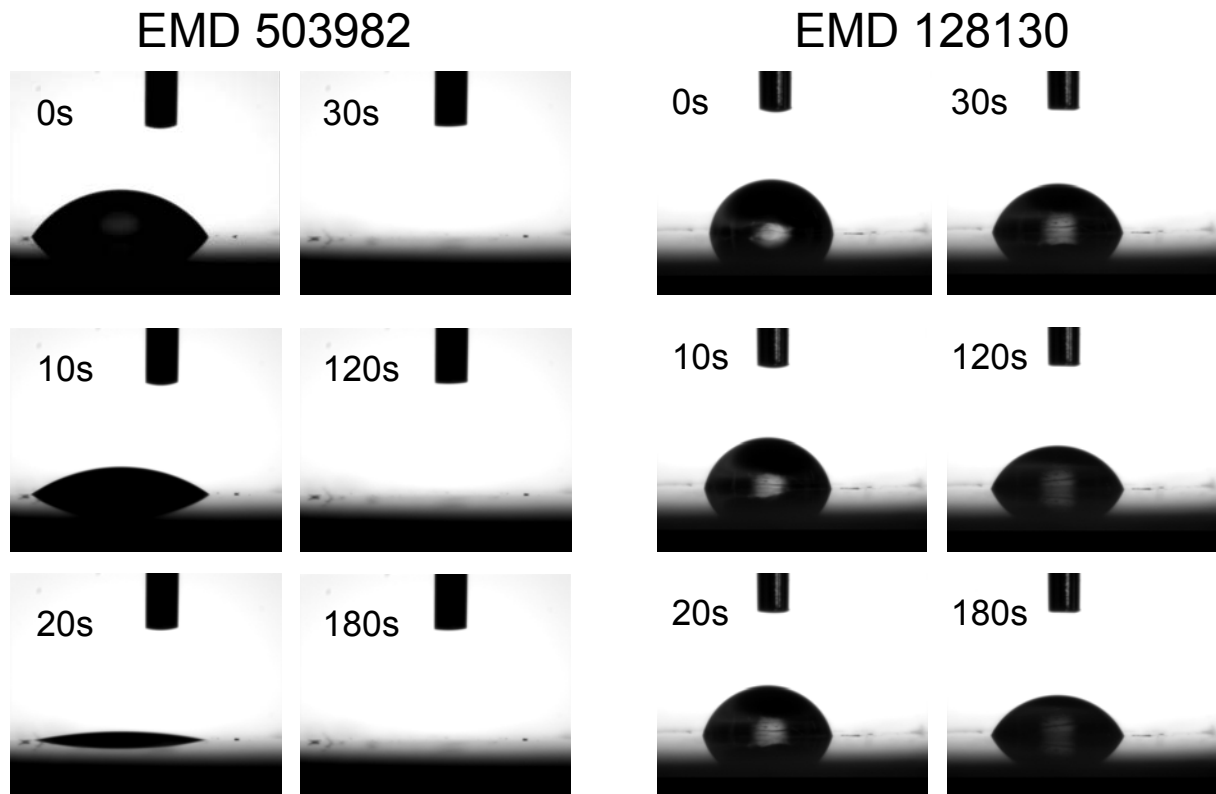


Abbildung 26: Benetzung eines 2 µl Milli-Q Wassertropfen auf dem Wirkstoff EMD 503982 und EMD 128130 über den Zeitraum von 180 Sekunden.

Als Referenz zur Benetzung von EMD 128130 wurde der Benetzungswinkels φ in Abhängigkeit von der Tween® 80 Konzentration in Milli-Q Wasser auf einem inerten silanisierten Kunststoff (DLC-alpha-C:H:Si:O) untersucht, siehe Abbildung 27. Milli-Q Wasser wurde gewählt, weil es bei einer Verdunstung nicht zu einer Aufkonzentration von Pufferbestandteilen im Tropfen kommt. Bis zu einer Konzentration von 0,01 % Tween® 80 in Milli-Q Wasser konnte keine Auswirkung auf den Benetzungswinkel nachgewiesen werden. Die Änderung des Benetzungswinkels über die Messzeit von 180 Sekunden beruht auf Verdunstungseffekten. Ab einer Konzentration größer als 0,01 % Tween® 80 kam es zu einer Reduktion des Benetzungswinkels von ungefähr 74 Grad bis auf 53 Grad bei 0,2 % Tween® 80. Da die gemessenen Oberflächenspannungen aus Kapitel 5.1.3 bei verschiedenen Tween® 80 Konzentrationen unabhängig vom Medium waren, ist ein Rückschluss des ermittelten Benetzungswinkel auf die anderen Medien möglich. Dies gilt nur für inerte Oberflächen, da in diesem Fall keine Interaktion des Mediums mit dem Festkörper zu erwarten ist. Eine messbare Verbesserung der Benetzung ist ab einem Anteil von 0,05 % Tween® 80 im Medium zu erkennen. Während die Oberflächenspannung in allen Medien signifikant bis zu einem Tween® 80 Zusatz von 0,01 % abfällt, ist bei diesen niedrigen Tensidkonzentrationen keine Auswirkung auf die Benetzung nachweisbar.

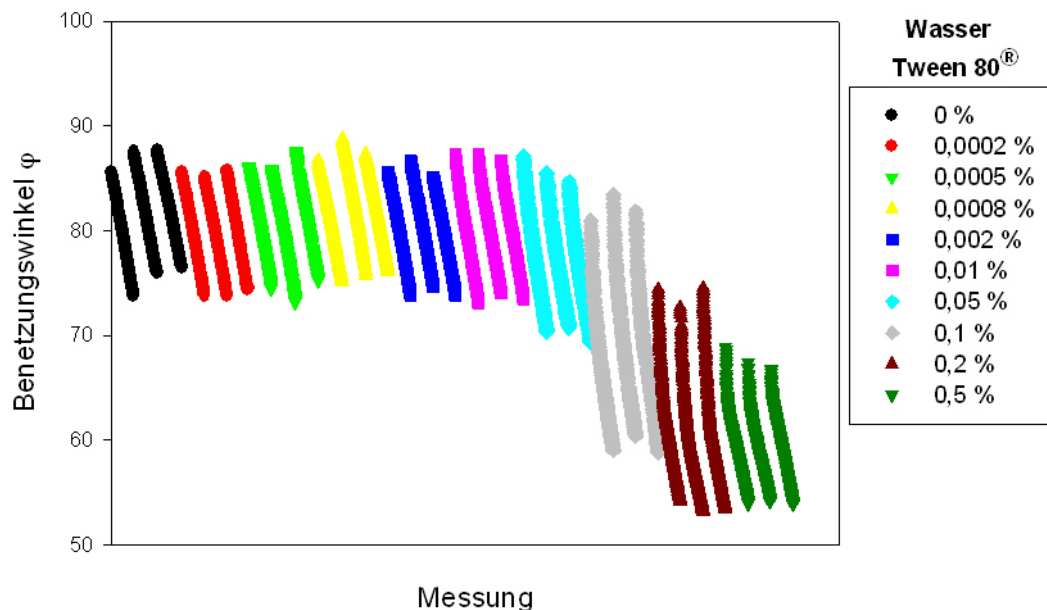


Abbildung 27: Dreifachbestimmung des Benetzungswinkels φ von Milli-Q Wasser mit verschiedenen Tween® 80 Konzentrationen auf einer inerten Kunststoffoberfläche (DLC-alpha-C:H:Si:O). Bei jeder Messung wurde der Verlauf des Benetzungswinkels über 180 Sekunden aufgezeichnet.

Der Benetzungswinkel nimmt ab einer Konzentration von 0,05 % Tween® 80 signifikant auf dem Wirkstoff EMD 128130 bei allen drei Freisetzungsmedien SGFsp, pH 4,5 und SIFsp ab.

In SGFsp lag der Benetzungswinkel bei allen Tween® 80 Konzentrationen unterhalb von 0,05% im Bereich von 49 – 55 Grad. Ab einer Konzentration von 0,05 % Tween® 80 in SGFsp fiel der Benetzungswinkel ohne Abstufungen auf 30 bis 33 Grad, siehe Abbildung 28.

Im Freisetzungsmedium pH 4,5 zeigte sich bei Tween® 80 Konzentrationen unterhalb von 0,01 % ein konstanter Benetzungswinkel im Bereich von 48 bis 51 Grad. Für eine Konzentration von 0,01 % Tween® 80 im Medium wurde ein Benetzungswinkel von 41 Grad bestimmt. Bei einem Zusatz von 0,05 % Tween® 80 fiel der Benetzungswinkel auf 39 Grad. Ab 0,1 % Tween® 80 bis 0,5 % Tween® 80 im Medium blieb der Benetzungswinkel konstant bei 36 bis 37 Grad, siehe Abbildung 29.

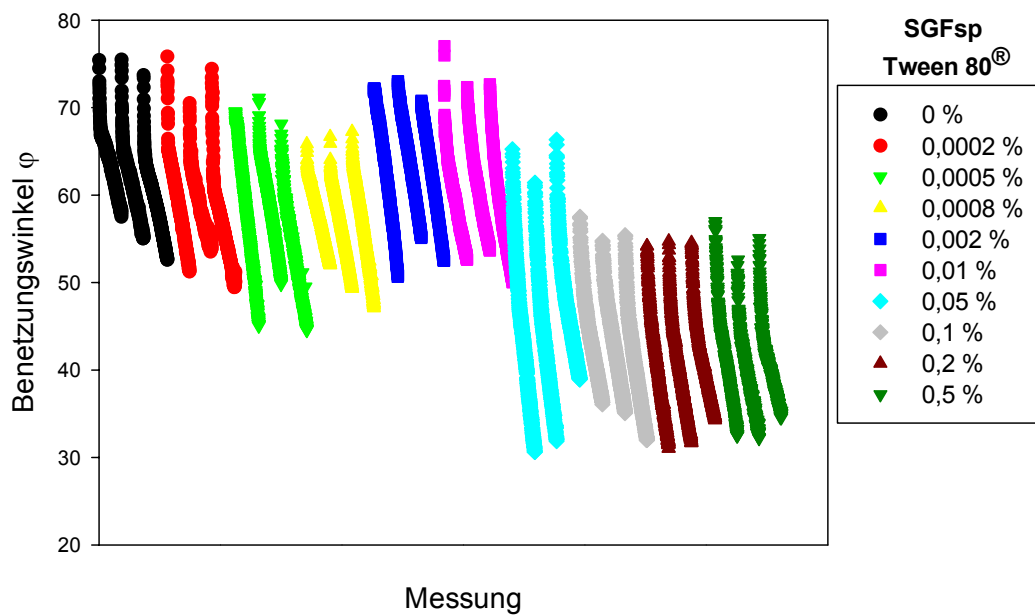


Abbildung 28: Dreifachbestimmung des Benetzungswinkels φ von SGFsp (pH 1,2) mit verschiedenen Tween® 80 Konzentrationen auf einem 40 mm Pressling von EMD 128130 über 180 Sekunden je Messung. ($n = 3$)

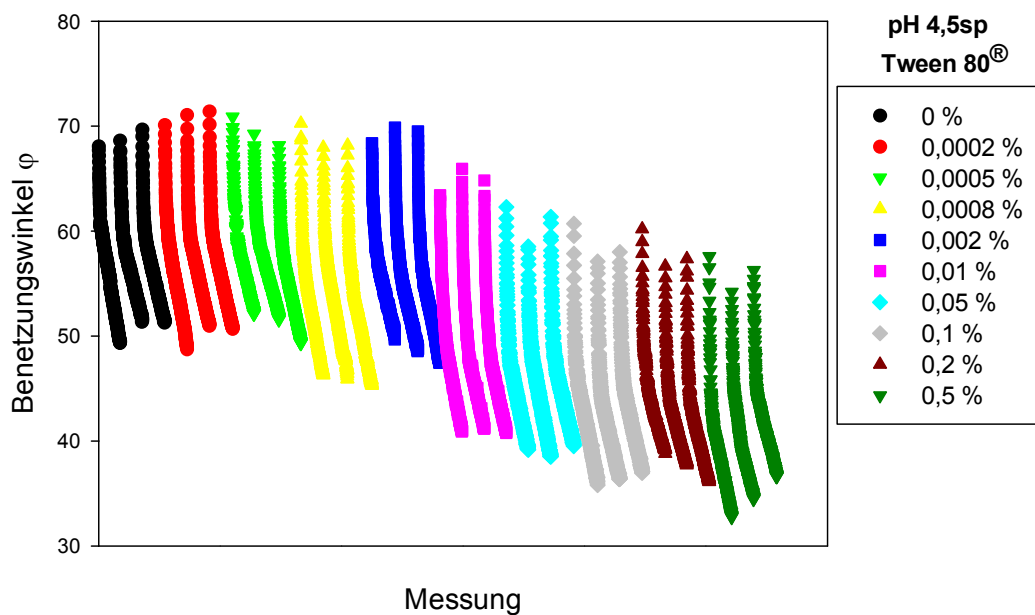


Abbildung 29: Dreifachbestimmung des Benetzungswinkels φ von pH 4,5 (Ph.Eur.) mit verschiedenen Tween® 80 Konzentrationen auf einem 40 mm Pressling von EMD 128130 über 180 Sekunden je Messung. ($n = 3$)

Für SIFsp wurden konstante Benetzungswinkel von 41 bis 43 Grad für Tween® 80 Konzentration bis 0,01 % beobachtet. Bei einem Zusatz von 0,05 % Tween® 80 fiel der Benetzungswinkel auf 37 Grad und ab einer Tween® 80 Konzentration von 0,1 % blieb der Benetzungswinkel konstant bei 31 bis 32 Grad, siehe Abbildung 30.

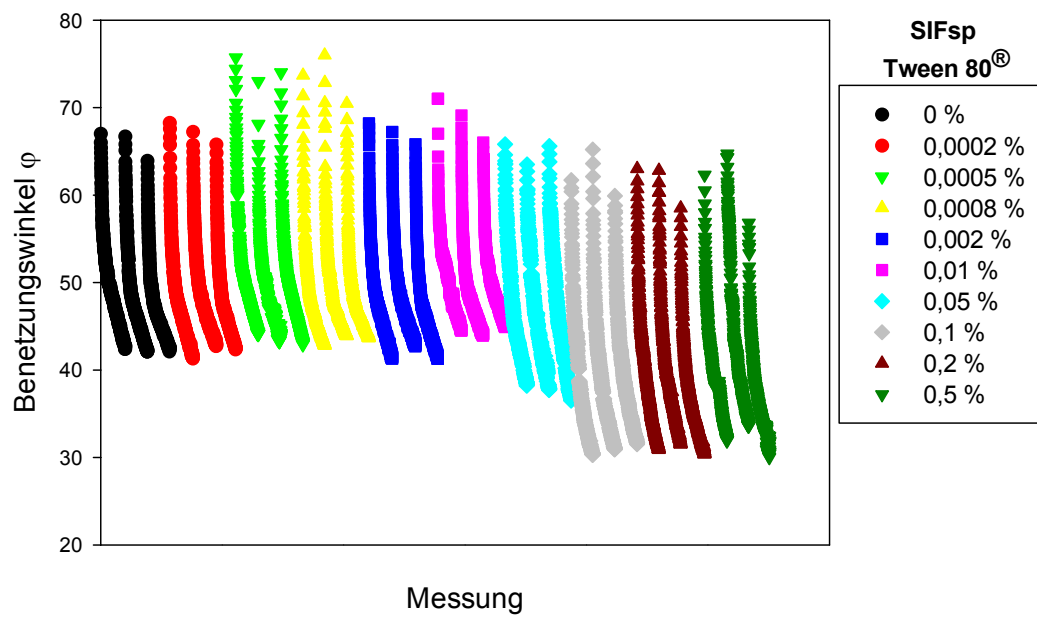


Abbildung 30: Dreifachbestimmung des Benetzungswinkels φ von SIFsp (pH 6,8) mit verschiedenen Tween® 80 Konzentrationen auf einem 40 mm Pressling von EMD 128130 über 180 Sekunden je Messung. ($n = 3$)

Für Tween® 80 Konzentrationen kleiner 0,01 Prozent lagen die Benetzungswinkel in SGFsp und pH 4,5 bei ungefähr 48 bis 52 Grad im Vergleich zu 41 bis 44 Grad bei SIFsp. Der niedrigere Benetzungswinkel von SIFsp beruht auf einer pH-Wert abhängigen Interaktion zwischen Wirkstoff und Medium. Dabei kommt es zur Umwandlung von EMD 128130 in SIFsp, welches als Hydrochlorid vorliegt, zur freien Base.

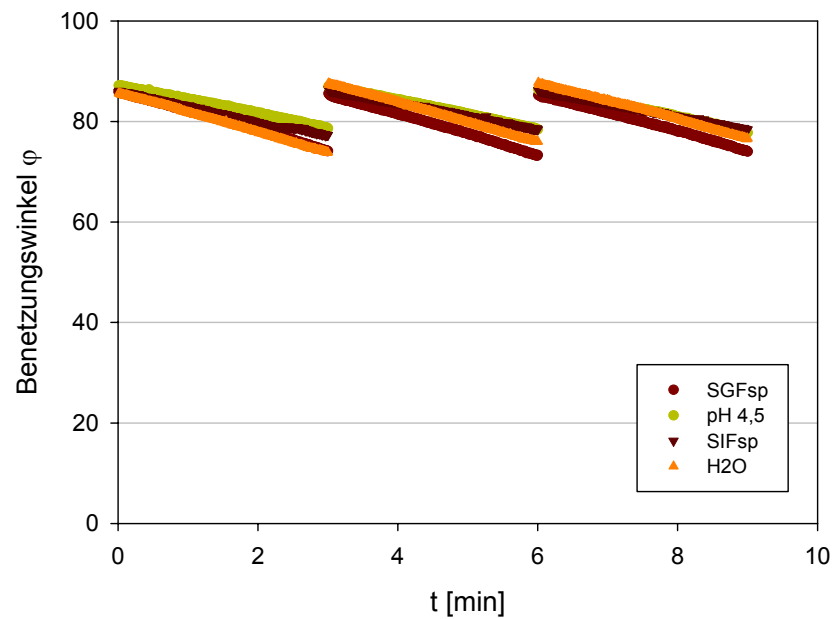


Abbildung 31: Dreifachbestimmung des Benetzungswinkels φ der Freisetzungsmedien SGFsp, pH 4,5, SIFsp und Wasser auf einer inerten Kunststoffoberfläche (DLC- α -C:H:Si:O). ($n = 3$)

Zusätzlich wurde das Benetzungsverhalten der Freisetzungsmedien auf EMD 128130 im Vergleich mit einer inerten Oberfläche untersucht. Alle Medien zeigten ohne einen Zusatz von Tween[®] 80 ein identisches Benetzungsverhalten auf der inerten Oberfläche, siehe Abbildung 31.

Die gleichen Medien, getestet auf dem Wirkstoff EMD 128130, führten zu erheblichen Unterschieden in der Benetzung durch die Medien, siehe Abbildung 32. Die Ursache der unterschiedlichen Benetzung liegt in einer Interaktion zwischen Medium und Wirkstoff. Die Benetzung von Wirkstoffen wird durch die gleichzeitig stattfindende Auflösung beeinflusst, Wasser zeigte auf EMD 128130 die schlechteste Benetzung.

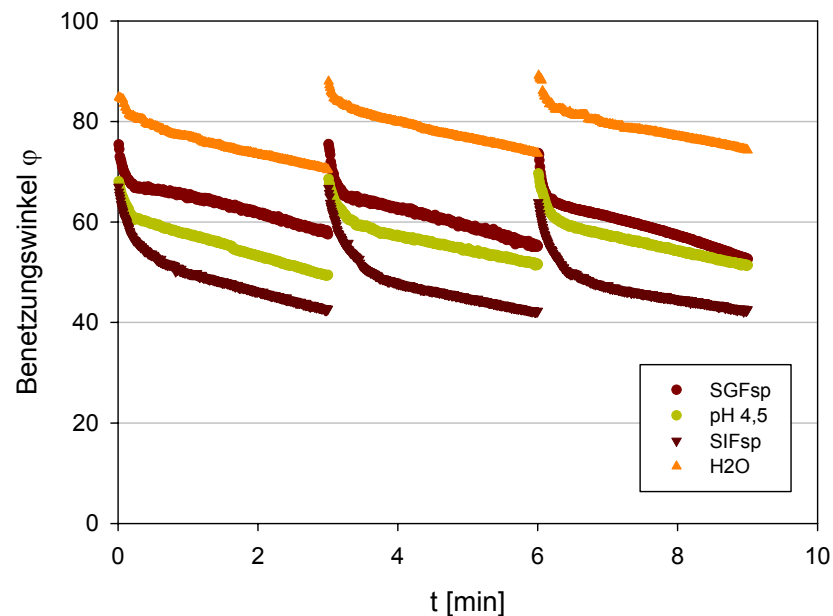


Abbildung 32: Dreifachbestimmung des Benetzungswinkels ϕ der Freisetzungsm Medien SGFsp, pH 4,5, SIFsp und Wasser auf einem 40 mm Pressling von EMD 128130. ($n = 3$)

Die Startwerte für die getesteten Freisetzungsm Medien bei der Bestimmung des Verlaufs des Benetzungswinkels auf EMD 128130 unterscheiden sich. Für die Medien SGFsp, pH 4,5 und SIFsp ist eine pH-Wert abhängige Benetzung von EMD 128130 zu erkennen. Der Verlauf des Benetzungswinkels über 180 Sekunden zeigt in allen Medien während der ersten Sekunden einer jeden Messung zunächst einen starken Abfall des Benetzungswinkels. Dieser Abfall verlangsamt sich bis zum Übergang in einen linearen Bereich. In dem linearen Bereich verläuft die Änderung des Benetzungswinkels annähernd identisch und somit unabhängig vom Medium, da in diesem Bereich die Änderung des Benetzungswinkels durch die Verdunstung bestimmt wird.

Diese ersten Sekunden der Benetzung scheinen ein Maß für die Interaktion der einzelnen Medien mit dem Wirkstoff zu sein. Im Fall von SIFsp fällt der Benetzungswinkel vom Startwert innerhalb der ersten 30 Sekunden um 20 Grad ab. Im Vergleich dazu fällt der Benetzungswinkel in Wasser, SGFsp und pH 4,5 nur um 10 Grad. Die Ursache liegt in einer Umwandlung des Hydrochlorids mit einem pKa-Wert von 7,5 in die freie Base bei einem pH-Wert von 6,8 in SIFsp. Diese Umwandlung beim pH-Wert 6,8 konnte durch Analyse des Rückstandes bei den Löslichkeitsversuchen mittels DSC gezeigt werden. Diese Interaktion auf der Oberfläche führt anscheinend zu einer besseren Benetzung. Im Fall von Wasser verläuft die Änderung des Benetzungswinkels auf dem Wirkstoff EMD 128130 und auf der inerten Oberfläche annähernd identisch, siehe Abbildung 33. Dies deutet auf eine geringe Interaktion des Wirkstoffes mit Wasser hin.

Unterschiede im pH-Wert und das Vorhandensein von Ionen in den Freisetzungsm Medien können einen starken Einfluss auf die Benetzungseigenschaften bei Medien mit identischer Oberflächenspannung haben.

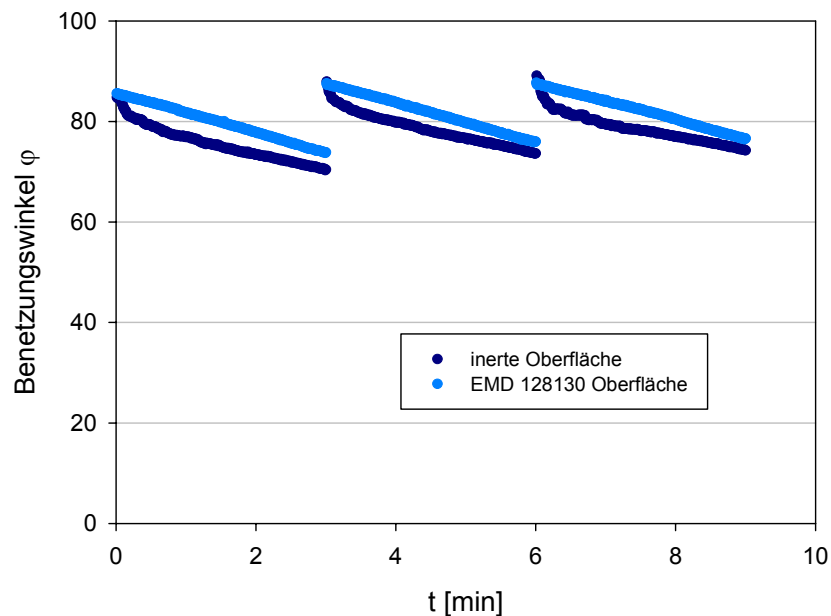


Abbildung 33: Dreifachbestimmung des Benetzungswinkels φ von Wasser auf einem 40 mm Pressling von EMD 128130 und auf einer inerten Kunststoffoberfläche (DLC- α -C:H:Si:O).

5.1.5 Diskussion

Der Einfluss von Tensiden auf die Eigenschaften ausgewählter Freisetzungsmethoden ist vielfältig (Lunar PE & Kamp DV 2001; Shah VP et al. 1989). Die Untersuchung verschiedener Konzentrationen von Tween® 80 in den Freisetzungsmethoden diente der Suche nach einer optimalen Konzentration für die Anwendung in der Durchflusszelle. Dabei wird die Osmolarität durch einen Zusatz von Tween® 80 nicht messbar beeinflusst, da Tween® 80 zu den nichtionischen Tensiden zählt, sich an Grenzflächen anlagert und beim Überschreiten der CMC sich in Form von Mizellen zusammenlagert. Dadurch ist die Zahl der freien Teilchen im Medium zu gering, um die Osmolarität signifikant bei dem gewählten Tween® 80 Konzentrationsbereich zu beeinflussen. Ferner hat ein Tween® 80 Zusatz in den Medien mit Ionenhintergrund keinen Einfluss auf die Leitfähigkeit. Die Leitfähigkeit steigt oberhalb der CMC in Wasser an, dies war anhand geringfügigster Änderungen der Leitfähigkeit gemessen worden, dennoch spielt ein solcher Effekt in den anderen untersuchten Medien keine Rolle. Deren Grundleitfähigkeit liegt um ein Vielfaches höher, so dass eine Änderung der Leitfähigkeit in diesen Medien im Rauschen des Messsignals verschwindet. Eine Verbesserung der Löslichkeit durch Tween® 80 Zusätze konnte für Konzentrationen oberhalb der CMC nachgewiesen werden. Das Ausmaß der Verbesserung ist abhängig von der Grundlöslichkeit des Wirkstoffes im Freisetzungsmedium. Das heißt, für gut lösliche Wirkstoffe kommt es zu keiner signifikanten Erhöhung der Löslichkeit bei einem Tween® 80 Zusatz bis zu 0,5 %. Während bei schlecht löslichen Wirkstoffen durch einen Tween® 80 Zusatz von 0,5 % die Löslichkeit mehr als ver Hundertfacht werden konnte. Da in dieser Arbeit ausschließlich mit einem offenen Durchflusssystem gearbeitet wurde, sind Sinkbedingungen während der Freisetzung meistens gegeben. Dies bedeutet, dass eine Erhöhung der Löslichkeit im Freisetzungsmedium durch einen Tensidzusatz nicht nötig ist, um Sinkbedingungen zu simulieren, wie es häufig in der Blattrührerapparatur praktiziert wird. Bei einem Zusatz von 0,01 %

Tween® 80 zum Freisetzungsmedium wurde bei drei der vier untersuchten Wirkstoffe kein Einfluss auf die Löslichkeit nachgewiesen. Im Fall von EMD 525544 wurde ein Löslichkeitsfaktor F_x im Phosphatpuffer pH 4,5, SIFsp und Phosphatpuffer 7,5 von 2 bestimmt und damit eine Verdreifachung der Löslichkeit. Aufgrund der extrem schlechten Löslichkeit von 0,25 µg/ml des Wirkstoffes in Medien mit einem pH-Wert oberhalb des errechneten pka-Wertes von 3 ist eine Erhöhung der Löslichkeit sogar von Vorteil. Eine Konzentration von 0,25 µg/ml liegt meistens im Grenzbereich für eine quantitative Bestimmung mittels HPLC. Durch die Freisetzung in einem offenen System und einem damit einhergehenden differenziellen Konzentrationsverlaufes, müssen auch niedrigere Konzentrationen als die Sättigungslöslichkeit mit ausreichender Genauigkeit quantifiziert werden. Dies ist bei extrem schlecht löslichen Wirkstoffen schwer möglich, daher ist eine erhöhte Löslichkeit in diesem Fall von Vorteil. Somit führt ein Zusatz von 0,01 % Tween® 80 zum Freisetzungsmedium zu einem „intelligenten Freisetzungsmedium“, indem nur bei extrem schlecht löslichen Wirkstoffen der Tween® 80 Zusatz zu einer Erhöhung der Löslichkeit mit dem Ziel einer besseren Quantifizierung führt. Ein Zusatz von Tween® 80 zu den verschiedenen Medien ergibt jeweils unabhängig vom Medium vergleichbare Oberflächenspannungen. Dies gilt ebenfalls für Tween® 20 jedoch nicht für SDS, bei dem die Oberflächenspannung in Wasser für niedrige SDS Konzentration stets höhere Werte als in den anderen Medien ergab. Bei einem Zusatz von 0,01 % Tween® 80 in den fünf getesteten Medien lag die Oberflächenspannung zwischen 40 und 44 mN/m. Durch Zusatz von 0,01 % Tween® 80 wird demzufolge stets eine physiologische Oberflächenspannung entsprechend dem Magensaft von 35 und 45 mN/m simuliert (Efentakis M & Dressman JB 1998; Lunar PE & Kamp DV 2001). Auch in den anderen Bereichen des Gastrointestinaltraktes ist die Oberflächenspannung durch das Vorhandensein natürlicher Tenside wie Gallensalze reduziert. Der Einfluss von Tween® 80 auf die Benetzung ergab eine starke Abhängigkeit vom Freisetzungsmedium. Der Zusatz von Tween® 80 führt ab einer Konzentration von 0,05 % in allen Medien zu einer besseren Benetzung beim untersuchten Wirkstoff EMD 128130. Auf einer inerten Oberfläche zeigten die untersuchten Medien identische Benetzungseigenschaften. Hingegen treten bei der Benetzung von EMD 128130 zusätzlich Interaktionen wie Auflösungseffekte auf. Dies kann zu erheblichen Unterschieden in der Benetzung von Wirkstoffen im Vergleich zu einer inerten Oberfläche führen.

Für Konzentrationen unter 0,05 % Tween® 80 in den Freisetzungsmedien konnten nur marginale Effekte auf die Benetzung gezeigt werden. Dies ist von Vorteil für die Entwicklung von diskriminierenden Freisetzungsmethoden zur Wirkstoffcharakterisierung. Denn unterschiedliche Benetzungseigenschaften verschiedener Chargen eines Wirkstoffes werden daher durch den Zusatz von 0,01 % Tween 80® nicht nivelliert.

Ein Zusatz von 0,01 % Tween® 80 zum Freisetzungsmedium simuliert eine physiologische Oberflächenspannung ohne andere Eigenschaften des Mediums signifikant zu beeinflussen. In Hinsicht auf ein „intelligentes Freisetzungsmedium“ beeinflusst die gewählte Tween® 80 Konzentration die Löslichkeit nur in geringem Maße. Im Fall von extrem schlecht löslichen Wirkstoffen führt eine geringe Verbesserung der Löslichkeit zu einer besseren Quantifizierung. Damit stellt ein Zusatz von

0,01 % Tween® 80 eine einfache und kostengünstige Optimierung von Freisetzungsmedien für die Durchflusszelle dar.

5.2 Apparent Dissolution: Pulverfreisetzung

5.2.1 Löslichkeitsprofile

Es wurden pH-Wert abhängige Löslichkeitsprofile von vier Wirkstoffen bestimmt. Die Entscheidung fiel auf die unvollständig charakterisierten Entwicklungskandidaten EMD 128130, EMD 503982, EMD 486019 und EMD 525544. Das Ziel war, die Auswirkung verschieden löslicher Wirkstoffe auf die Apparent Dissolution zu untersuchen. Dafür wurde die Löslichkeit mittels verschiedener USP Puffer über einen pH-Bereich von 1 bis 9 bestimmt (Avdeef A et al. 2000; Higuchi T & Connors KA 1965). Damit wurde der durch das BCS geforderte pH-Bereich von 1 bis 7,5 mit abgedeckt (Amidon GL et al. 1995). Die Klassifizierung nach BCS ist abhängig von der höchsten Einzeldosis und der Löslichkeit des Wirkstoffes in dem gesamten pH-Bereich. Dies kann dazu führen, dass zwei Wirkstoffe mit der gleichen Löslichkeit aufgrund ihrer Einzeldosis einmal als gut und der andere Wirkstoff als schlecht löslich klassifiziert werden.

5.2.1.1 EMD 128130

EMD 128130 zeigt als schwache Base eine starke pH-Wert abhängige Löslichkeit. Die Löslichkeit fällt von 10 mg/ml bei einem pH-Wert von 1,2 um über das 1000 fache auf unter 0,01 mg/ml bei einem pH-Wert von 9, siehe Abbildung 34. Aufgrund des pKa Wertes von 7,5 ist die starke Reduktion der Löslichkeit bei einem Wechsel von pH 6,2 auf pH 7,5 zu erklären. Eine Einzeldosis bis zu 2,5 mg von EMD 128130 ist in einem Volumen kleiner gleich 250 ml in einem pH-Bereich von 1,2 bis 7,5 löslich. Entsprechend der „Guidance for Industry 2000“ kann EMD 128130 als gut lösliche Substanz bis zu einer Einzeldosis von 2,5 mg klassifiziert werden.

5.2.1.2 EMD 503982

EMD 503982 zeigt als neutrale Substanz keinen Einfluss des pH-Wertes auf die Löslichkeit, siehe Abbildung 35. Entsprechend der „Guidance for Industry 2000“ kann EMD 503982 als gut lösliche Substanz bis zu einer Einzeldosis von 62,5 mg klassifiziert werden.

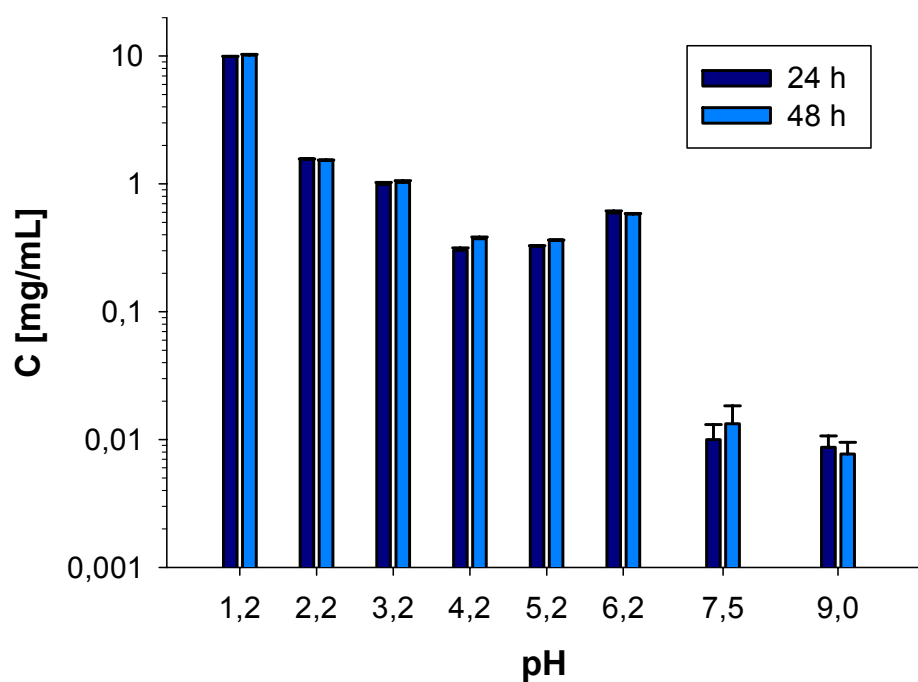


Abbildung 34: pH-Wert abhängiges Löslichkeitsprofil von EMD 128130 (n = 3)

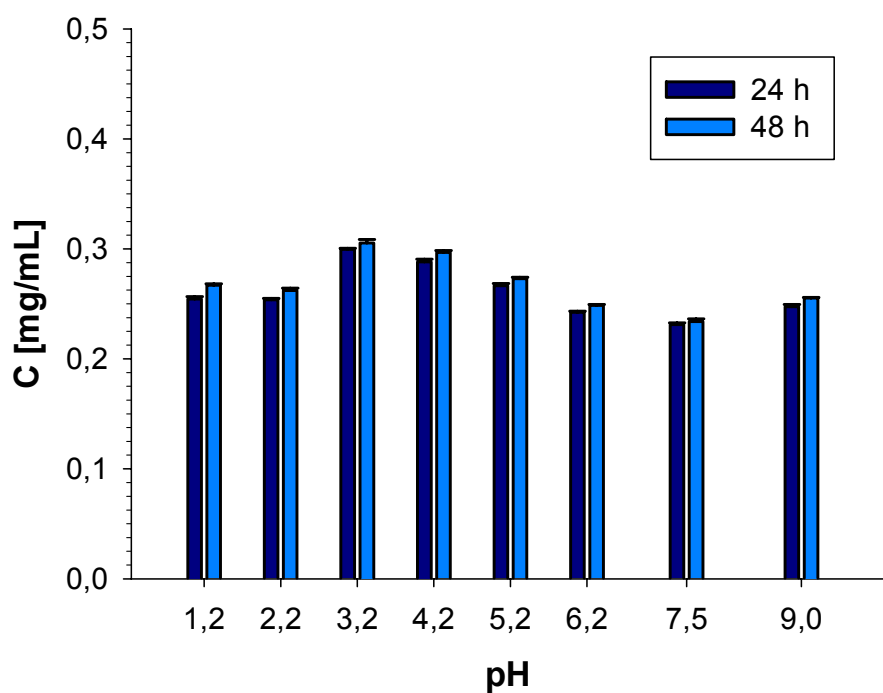


Abbildung 35: pH-Wert abhängiges Löslichkeitsprofil von EMD 503982 (n = 3)

5.2.1.3 EMD 486019

EMD 486019 als neutrale Substanz zeigt in wässrigen Medien eine schnelle Hydrolyse, dies beeinflusst die Löslichkeiten nach 24 bzw. 48 Stunden. Aufgrund der Hydrolyse nimmt die gemessene Löslichkeit nach 48 Stunden im Vergleich zu 24 Stunden ab. Dabei nimmt die gemessene Konzentration an Hydrolyseprodukt zu. Die Hydrolyse ist pH-Wert abhängig, dies ist bei pH-Wert 9 in Abbildung 36 zu erkennen. Während nach 24 bzw. 48 Stunden überhaupt kein Wirkstoff mehr in der Lösung vorhanden war, ist die Konzentration an Hydrolyseprodukt bei pH 9 um das 5 fache erhöht im Vergleich zu einem pH-Wert kleiner als 9. In diesem Fall ist der Wirkstoff quantitativ hydrolysiert, der vorhandene Bodensatz nach 24 bzw. 48 Stunden entspricht demzufolge dem Hydrolyseprodukt. Die Löslichkeit von EMD 486019 liegt zwischen 2 und 5 µg/ml über dem pH Bereich von 1,2 bis 7,5. Entsprechend der „Guidance for Industry 2000“ kann EMD 486019 als gut lösliche Substanz bis zu einer Einzeldosis von 0,5 mg klassifiziert werden.

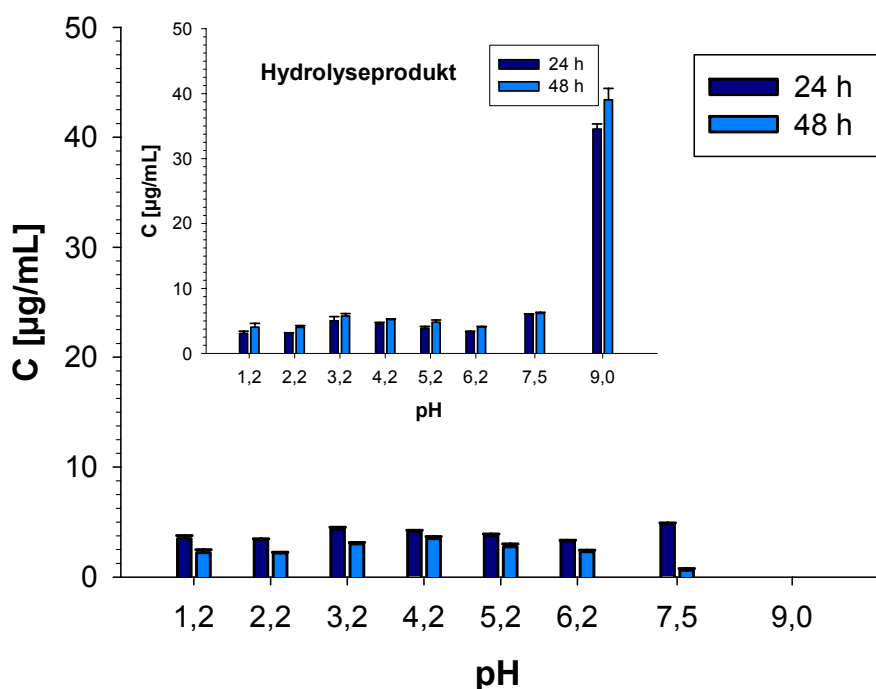


Abbildung 36: pH-Wert abhängiges Löslichkeitsprofil von EMD 486019 mit den entsprechenden Konzentrationen des Hydrolyseproduktes (n = 3)

5.2.1.4 EMD 525544

EMD 525544 zeigt als schwache Base eine starke pH-Wert abhängige Löslichkeit. Absolut betrachtet ist die Löslichkeit im Vergleich zu der schwachen Base EMD 128130 signifikant niedriger. Die Löslichkeit fällt von 15 µg/ml bei einem pH-Wert von 1,2 um über das 100 fache auf unter 0,14 µg/ml bei einem pH-Wert von 9, siehe Abbildung 37. Aufgrund des berechneten pKa Wertes 3 ist die starke Reduktion der Löslichkeit oberhalb von pH 3 zu erklären. Im Bereich von pH 5 bis pH 9 ist die

Löslichkeit konstant auf einem sehr niedrigen Niveau. Entsprechend der „Guidance for Industry 2000“ kann EMD 525544 als gut lösliche Substanz bis zu einer Einzeldosis von 0,03 mg klassifiziert werden. Da eine Einzeldosierung unabhängig von der Arzneiform und Indikation fast ausschließlich oberhalb von 0,03 mg erfolgt, kann EMD 525544 ohne Kenntnis der Einzeldosierung generell als schlecht lösliche Substanz klassifiziert werden.

Im Vergleich zu der Löslichkeit von 0,3 µg/ml in Wasser von Fenofibrat ist die Löslichkeit von EMD 525544 ab einem pH-Wert von 5 mit 0,14 µg/ml niedriger. Fenofibrat wird meistens als klassische Referenz einer extrem schlechtlöslichen Substanz in der pharmazeutischen Entwicklung verwendet (Vogt M et al. 2008), daher gehört EMD 525544 definitiv zu den schlecht löslichen Wirkstoffen.

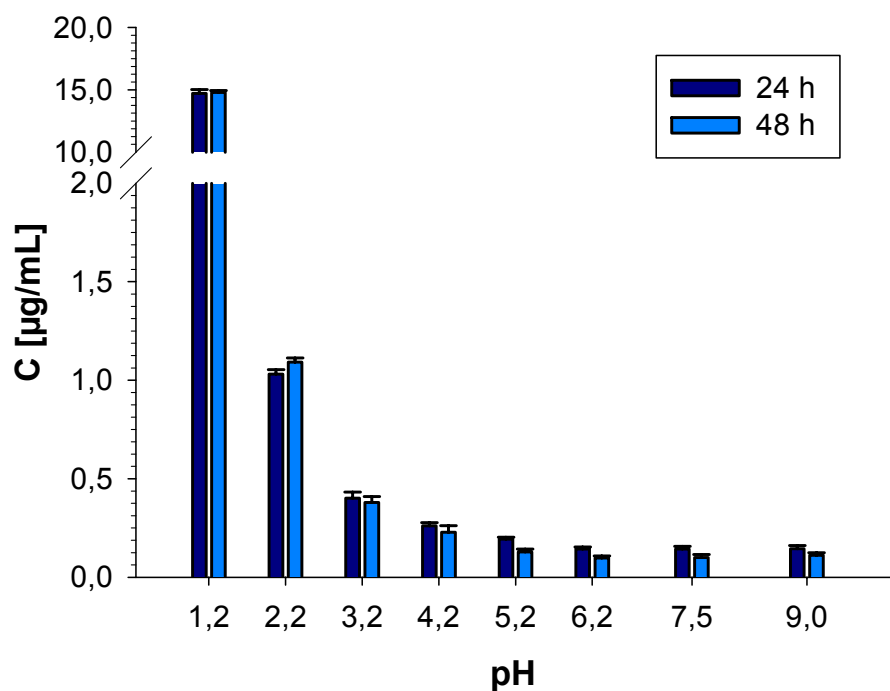


Abbildung 37: pH-Wert abhängiges Löslichkeitsprofil von EMD 525544 (n = 3)

5.2.2 In-vitro Wirkstofffreisetzung

5.2.2.1 Versuchsschema und Methodenwahl

Von den ausgewählten Wirkstoffen wurden jeweils 12 mg über 85 Minuten mit einem Fluss von 16 ml/min bei 37°C in den Medien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺ freigesetzt. Im Fall von schnell auflösenden Wirkstoffen wurde die Freisetzung auf 45 bzw. 60 Minuten verkürzt. Bei allen Bedingungen wurde der Einfluss zweier verschiedener Zellbeschickungen der Pulverzellen gegenübergestellt. In Abbildung 38 ist das Versuchsschema für die Wirkstoffcharakterisierung dargestellt, es wurden die Wirkstoffe EMD 128130, EMD 503982, EMD 486019 und EMD 525544 verwendet.

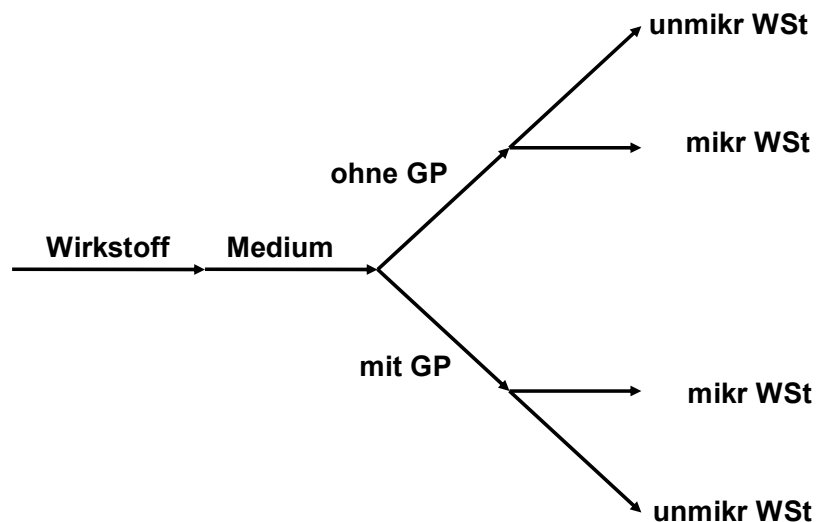


Abbildung 38: Versuchsschema zur Wirkstofffreisetzung mittels „Apparent Dissolution“. Der Wirkstoff (WSt) wurde mikronisiert (mikr) und unmikronisiert (unmikr) in drei verschiedenen Freisetzungsmedien (SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺) mit bzw. ohne Glasperlen (GP) bei der Zellbeschickung untersucht.

Jeder Wirkstoff wurde in 3 verschiedenen Medien mit bzw. ohne Glasperlen freigesetzt, siehe Abbildung 39. Bei der Freisetzung ohne Glasperlen wurde der Wirkstoff direkt in die Pulverzellen eingewogen. Für die Freisetzung mit Glasperlen wurde unter standardisierten Bedingungen der Wirkstoff direkt mit den Glasperlen in der Pulver-/Granulatzelle mittels eines Turbula Mixers gemischt.

Im Fall von EMD 1281230 und EMD 503982 wurde zusätzlich der Einfluss von ungemahlenem im Vergleich zu mikronisiertem Wirkstoff in Abhängigkeit vom Medium und der Zellbeschickung untersucht (Bhattachar SN et al. 2002). Entsprechend des Versuchsschemas ergeben sich 36 Freisetzungsfälle für die 4 Wirkstoffe. Die Ergebnisse sind beispielhaft in den nachfolgenden Abschnitten gegenübergestellt.



Abbildung 39: Zellbeschickung der in Ph.Eur. 2.9.49. monographierten Pulver-/Granulatzelle. Auf der linken Seite die Pulver-/Granulatzelle ohne Glasperlen und auf der rechten Seite die Pulver-/Granulatzelle mit 2 g Glasperlen. Der rote Kreis gibt an, in welchem Bereich in der Zelle der Wirkstoff verteilt vorliegt.

5.2.2.2 pH-Wert Einfluss des Freisetzungsmediums

Der Einfluss des pH-Wertes auf die Freisetzung ist abhängig von den Eigenschaften des Wirkstoffes. Eine erste Einschätzung zum Freisetzungsverhaltenen eines jeden Wirkstoffes kann anhand der pH-Wert abhängigen Löslichkeit aus 5.2.1 geschlossen werden. Es ist daher zu erwarten, dass bei pH-Werten mit einer erhöhten Löslichkeit auch das Freisetzungsverhalten verbessert ist. Dabei ist stets zu beachten, dass nicht nur der pH-Wert einen Einfluss auf das Freisetzungsprofil zeigt, sondern zusätzlich die Zellbeschickung und die Partikelgröße des Wirkstoffes. In Abbildung 40 sind die Freisetzungsprofile für mikronisiertes EMD 128130 in Mischung mit Glasperlen dargestellt. In SIFsp⁺, dem Medium mit der schlechtesten Löslichkeit, wurde eine verlangsamte Freisetzung im Vergleich zu SGFsp⁺ und pH 4,5⁺ beobachtet. Ein Unterschied in der Freisetzung zwischen SGFsp⁺ und pH 4,5⁺ ist nicht zu erkennen, obwohl sich die Löslichkeiten in beiden Medien um den Faktor 4 unterscheiden. Bei SGFsp⁺ und pH 4,5⁺ sind bereits über 90 Prozent von EMD 128130 innerhalb von 3 Minuten freigesetzt. Ein Unterschied ist aufgrund dieser schnellen Freisetzung nicht messbar und physiologisch unbedeutend.

Es ist daher anzunehmen, dass ab einer gewissen Löslichkeit Unterschiede in der Freisetzungskinetik nicht mehr messbar bzw. irrelevant sind.

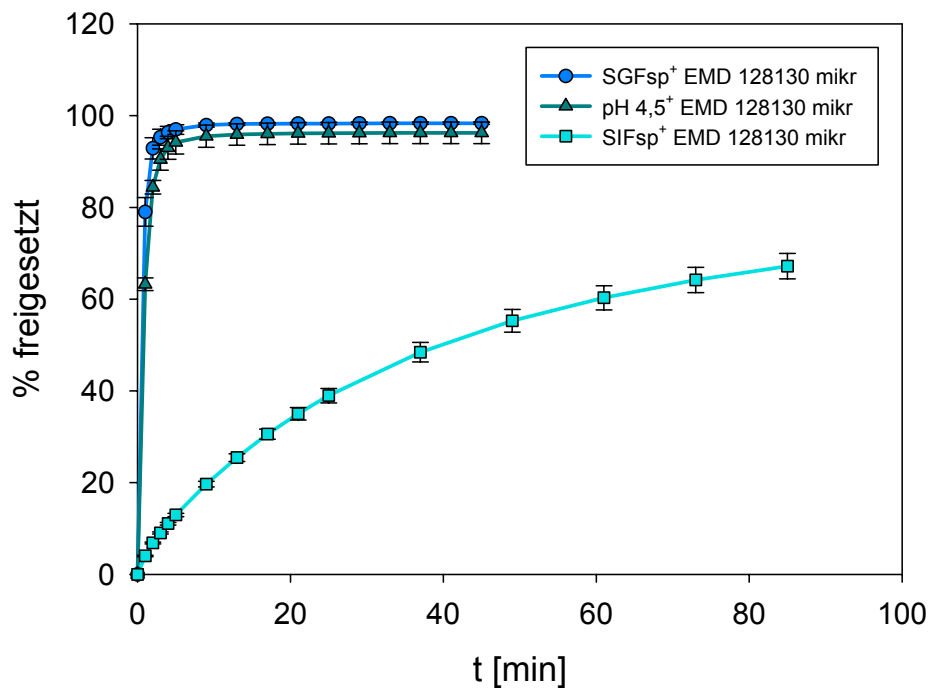


Abbildung 40: Freisetzung von EMD 128130 in den Medien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺, die Zellbeschickung erfolgte mit Glasperlen. (n = 6)

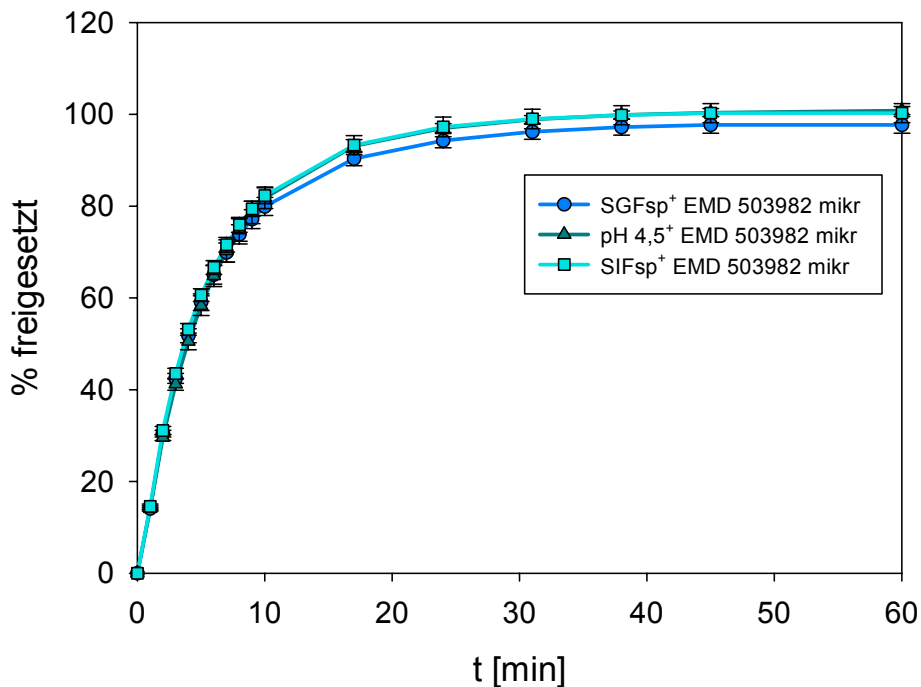


Abbildung 41: Freisetzung von EMD 503982 in den Medien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺, die Zellbeschickung erfolgte mit Glasperlen. (n = 6)

EMD 503982 besitzt als neutrale Substanz die gleiche Löslichkeit im pH-Bereich von 1,2 bis 9 sowie in allen drei Freisetzungsmedien. Daher zeigt die Freisetzung von mikronisiertem EMD 503982 mit

Glasperlen keine Unterschiede im Freisetzungsprofil in Abhängigkeit vom Freisetzungsmedium, siehe Abbildung 41. Innerhalb von 17 Minuten wurden über 90 Prozent des Wirkstoffes freigesetzt, dies entspricht einer schnellen Freisetzung.

EMD 486019 zeigt bei der Freisetzung mit Glasperlen marginale Unterschiede zwischen den Freisetzungsmedien, Abbildung 42. Über einen Zeitraum von 85 Minuten wurden in allen drei Medien 47 bis 55 Prozent des Wirkstoffes freigesetzt. EMD 486019 besitzt eine schlechte Löslichkeit im pH-Bereich von 1,2 bis 9 sowie in den Freisetzungsmedien. Die pH-Wert abhängige Hydrolyse von EMD 486019 beeinflusst die Löslichkeit mit der Zeit, jedoch nicht die Freisetzung, da in einem offenen Durchflusssystem stets frisches Freisetzungsmedium dem ungelösten Feststoff zur Verfügung steht. Nach der Auflösung wird das Freisetzungsmedium direkt mit dem gelösten Wirkstoff abtransportiert. Daher beeinflusst die Hydrolyse nicht die Freisetzung. Bei der HPLC-Analytik wurde das Hydrolyseprodukt und der Wirkstoff gemeinsam erfasst.

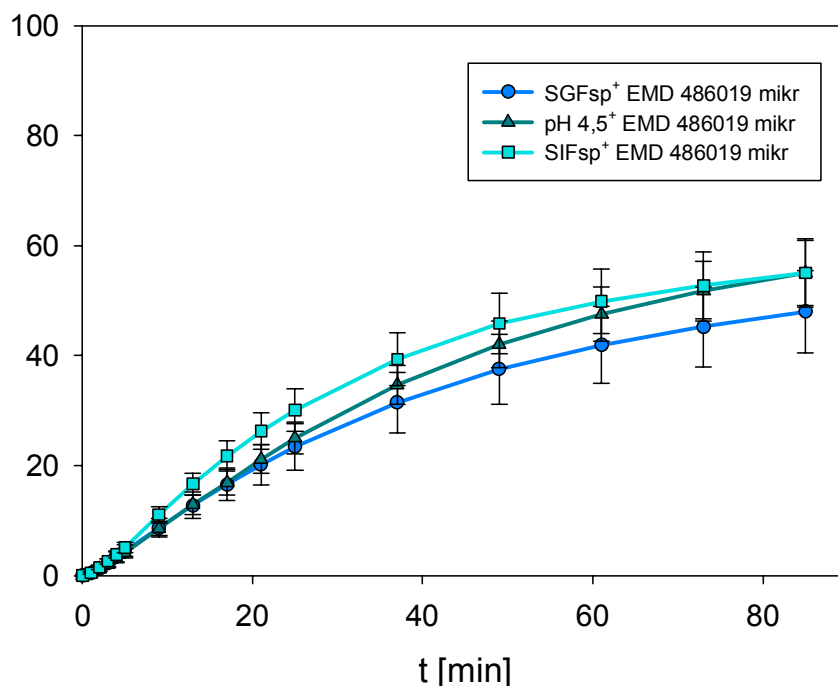


Abbildung 42: Freisetzung von EMD 486019 in den Medien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺, die Zellbeschickung erfolgte mit Glasperlen. (n = 6)

Die schwache Base EMD 525544 zeigt bei der Freisetzung mit Glasperlen über 85 Minuten eine vom pH-Wert des Freisetzungsmediums abhängige Freisetzung. Die Löslichkeit von EMD 525544 nimmt im pH-Bereich von 1,2 bis 9 mit steigendem pH-Wert aufgrund des berechneten pKa-Wertes von 3 stark ab. In den Freisetzungsmedien ist die Löslichkeit in pH 4,5⁺ und SIFsp⁺ annähernd identisch und um den Faktor 70 niedriger als in SGFsp⁺. Dieser Unterschied der Löslichkeiten in den Freisetzungsmedien führt zu einer extrem besseren Freisetzung des Wirkstoffes in SGFsp⁺ im Vergleich zu pH 4,5⁺ und SIFsp⁺, Abbildung 43.

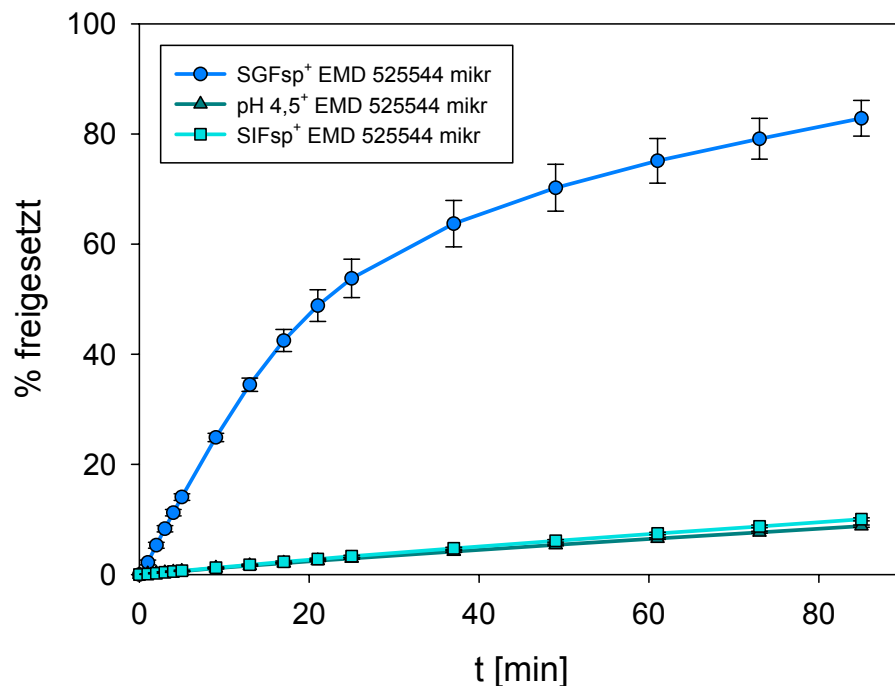


Abbildung 43: Freisetzung von EMD 525544 in den Medien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺, die Zellbeschickung erfolgte mit Glasperlen. (n = 6)

5.2.2.3 Glasperleneinfluss

Unterschiedliche Zellbeschickungen mit reinem Wirkstoff können einen erheblichen Einfluss auf die Freisetzung haben. Daher wurden zwei einfache, für den Laboralltag durchzuführende, Varianten der Zellbeschickung miteinander verglichen. In der Literatur wurden bisher vier verschiedene Zellbeschickungen mit Wirkstoff bei gleichzeitigem Einsatz von Glasperlen untersucht (Zhang GH et al. 1994; Bhattachar SN et al. 2002). Für die Freisetzungen wurde eine Direkteinwaage des Wirkstoffes in die Pulver-/Granulatzelle gegen eine Mischung des Wirkstoffes mit 2 g Glasperlen (ø 1 mm) in der Pulver-/Granulatzelle verglichen.

Der Einfluss der Zellbeschickung auf die Freisetzung der vier Wirkstoffe wurde in SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺ untersucht. Nachfolgend sind die Ergebnisse in SGFsp⁺ und SIFsp⁺ dargestellt.

Der mikronisierte Wirkstoff EMD 128130 zeigt in SGFsp⁺ und SIFsp⁺ eine beschleunigte Freisetzung mit Glasperlen im Vergleich zur Direkteinwaage des Wirkstoffes, siehe Abbildung 44. In SGFsp⁺ sind mit Glasperlen bereits über 90 Prozent innerhalb der ersten 2 Minuten freigesetzt, im Vergleich zu 17 Minuten ohne Glasperlen (Bhattachar SN et al. 2002). In SIFsp⁺ ist eine deutlich verbesserte Freisetzung mit Glasperlen um mehr als das Doppelte zu beobachten. Nach 85 Minuten sind 67 Prozent mit Glasperlen im Vergleich zu 28 Prozent ohne Glasperlen freigesetzt.

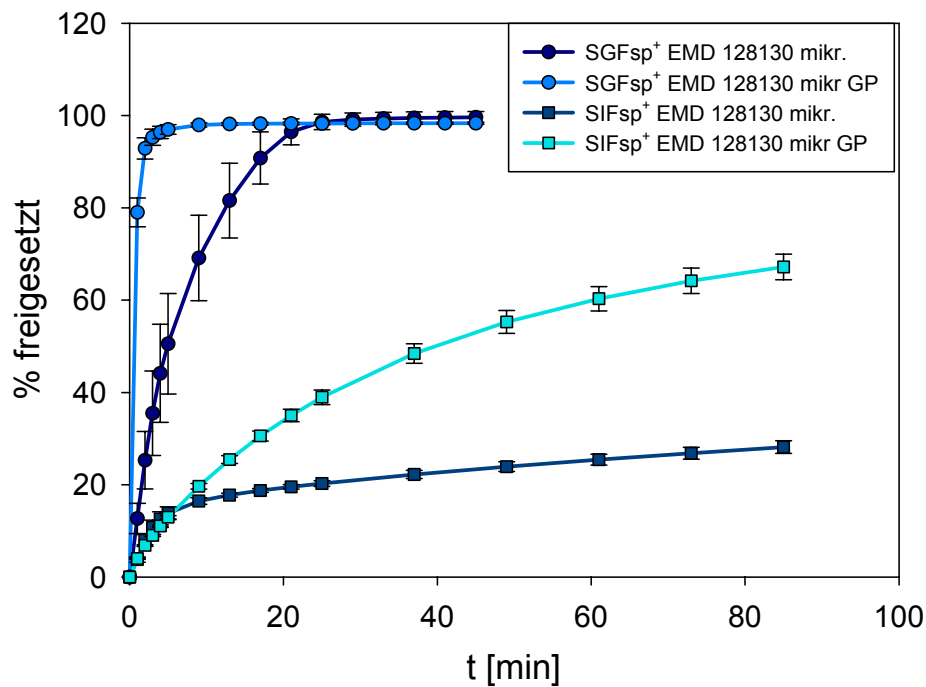


Abbildung 44: Freisetzung von mikronisierten EMD 128130 in SGFsp⁺ und SIFsp⁺. Es wurden zwei verschiedene Zellbeschickungen verglichen, eine Direkteinwaage des Wirkstoffes gegen eine Mischung des Wirkstoffes mit 2 g Glasperlen (GP). (n = 6)

Der mikronisierte Wirkstoff EMD 503982 zeigt in SGFsp⁺ und SIFsp⁺ eine beschleunigte Freisetzung mit Glasperlen im Vergleich zur Direkteinwaage des Wirkstoffes, siehe Abbildung 45. Nach bereits 20 Minuten sind über 90 Prozent des Wirkstoffes in SGFsp⁺ und SIFsp⁺ bei der Mischung mit Glasperlen freigesetzt. Bei der Direkteinwaage des reinen Wirkstoffes sind erst nach 72 Minuten über 90 Prozent des Wirkstoffes freigesetzt. Die Freisetzung zeigt in beiden Medien einen identischen Verlauf.

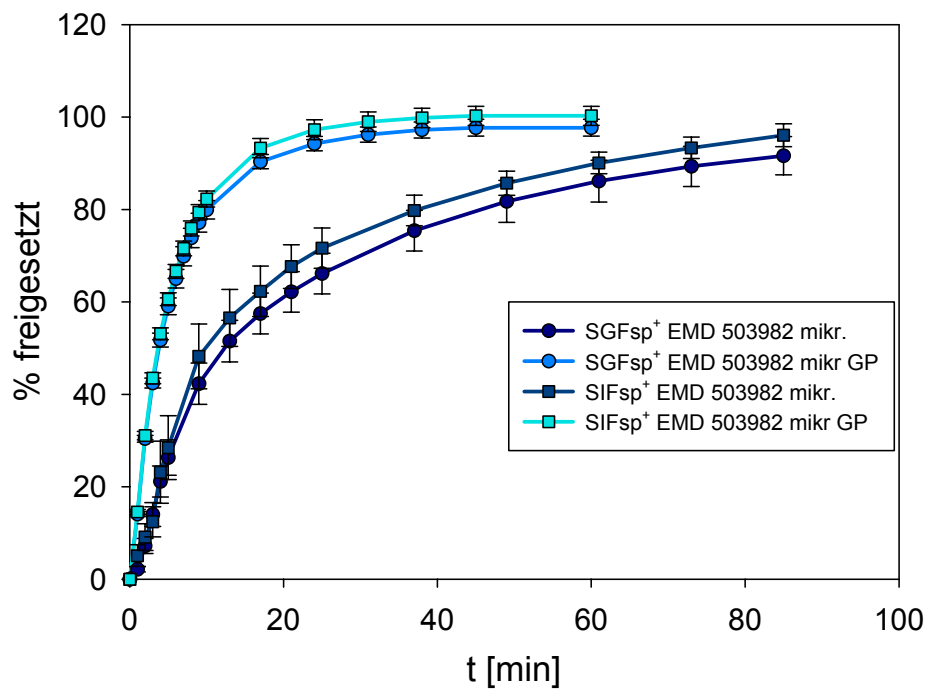


Abbildung 45: Freisetzung von mikronisierten EMD 503982 in SGFsp⁺ und SIFsp⁺. Vergleich von zwei verschiedenen Zellbeschickungen, eine Direkteinwaage des Wirkstoffes gegen eine Mischung des Wirkstoffes mit 2 g Glasperlen (GP). (n = 6)

Der mikronisierte Wirkstoff EMD 486019 zeigt in SGFsp⁺ und SIFsp⁺ ebenfalls eine beschleunigte Freisetzung mit Glasperlen im Vergleich zur Direkteinwaage des Wirkstoffes, siehe Abbildung 46. Nach 85 Minuten sind 48 bzw. 54 Prozent des Wirkstoffes in SGFsp⁺ bzw. SIFsp⁺ bei der Mischung mit Glasperlen freigesetzt. Der reine Wirkstoff zeigt nach 85 Minuten eine Freisetzung von 18 bzw. 21 Prozent in SGFsp⁺ bzw. SIFsp⁺. Die Freisetzung zeigt für beide Medien ohne den Einsatz von Glasperlen einen identischen Verlauf. Der Einfluss der Glasperlen führt zu einer leicht verbesserten Freisetzung in SIFsp⁺ im Vergleich zu SGFsp⁺.

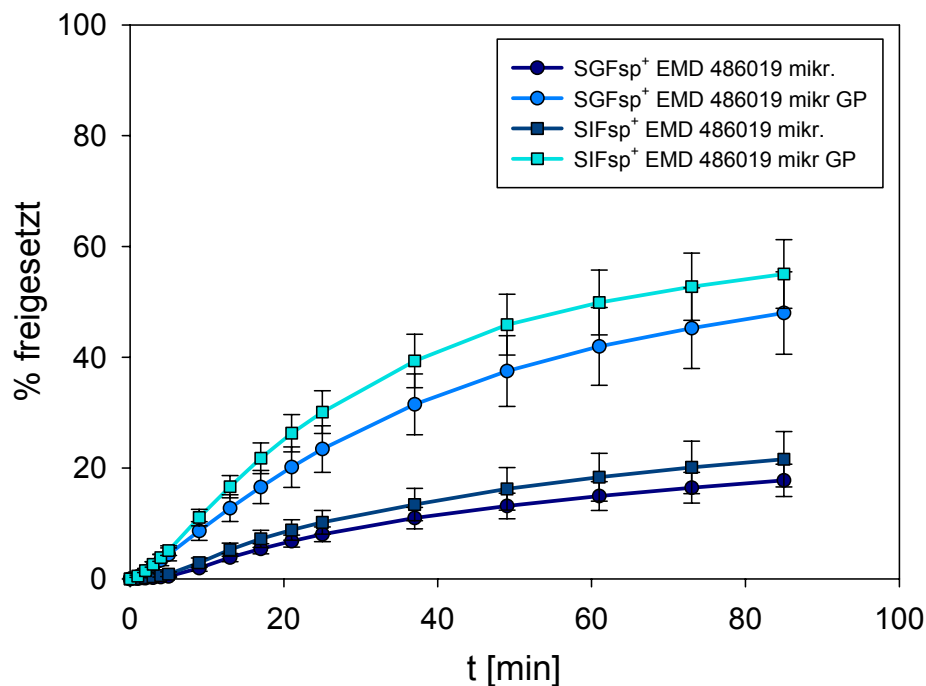


Abbildung 46: Freisetzung von mikronisierten EMD 486019 in SGFsp⁺ und SIFsp⁺. Es wurden zwei verschiedene Zellbeschickungen verglichen, eine Direkteinwaage des Wirkstoffes gegen eine Mischung des Wirkstoffes mit 2 g Glasperlen (GP). (n = 6)

Der mikronisierte Wirkstoff EMD 525544 zeigt in SGFsp⁺ eine beschleunigte Freisetzung mit Glasperlen im Vergleich zur Direkteinwaage des Wirkstoffes, siehe Abbildung 47. In SIFsp⁺ wurde eine vernachlässigbare Verbesserung der Freisetzung mit Glasperlen beobachtet. Hingegen wurde in SGFsp⁺ mit Glasperlen über 80 Prozent freigesetzt, im Vergleich zu 57 Prozent ohne Glasperlen. Die Löslichkeit nach 24 Stunden in SIFsp⁺ beträgt 0,745 µg/ml. Die gemessene Konzentration der letzten Fraktion der Freisetzung ohne Glasperlen beträgt 0,577 µg/ml und 0,807 µg/ml mit Glasperlen. Dies erklärt den geringen Effekt der Glasperlen auf die Freisetzung in SIFsp⁺, denn die Konzentrationen in den einzelnen Fraktionen liegen im Bereich der Sättigungslöslichkeit nach 24 Stunden. Da keine signifikante Übersättigung beim Einsatz von Glasperlen beobachtet wurde, wird die Freisetzung durch die Löslichkeit im Medium beschränkt. Die Freisetzung verläuft in SIFsp⁺ demzufolge linear, denn zu jedem Zeitpunkt entspricht die Konzentration in den einzelnen Fraktionen der Sättigungskonzentration. Dies führt dazu, dass jede Fraktion die gleiche Konzentration an Wirkstoff enthält, daraus ergibt sich dann eine lineare Freisetzung. Würde die Freisetzung weit über die Dauer von 85 Minuten hinausgehen, käme es mit der Zeit zu einer Verlangsamung. Ab einem bestimmten Punkt steht dann weniger Wirkstoff während der Freisetzung für das Erreichen der Sättigungskonzentration in den Fraktionen zur Verfügung. Ab diesem Punkt würde die Freisetzung nicht mehr linear verlaufen.

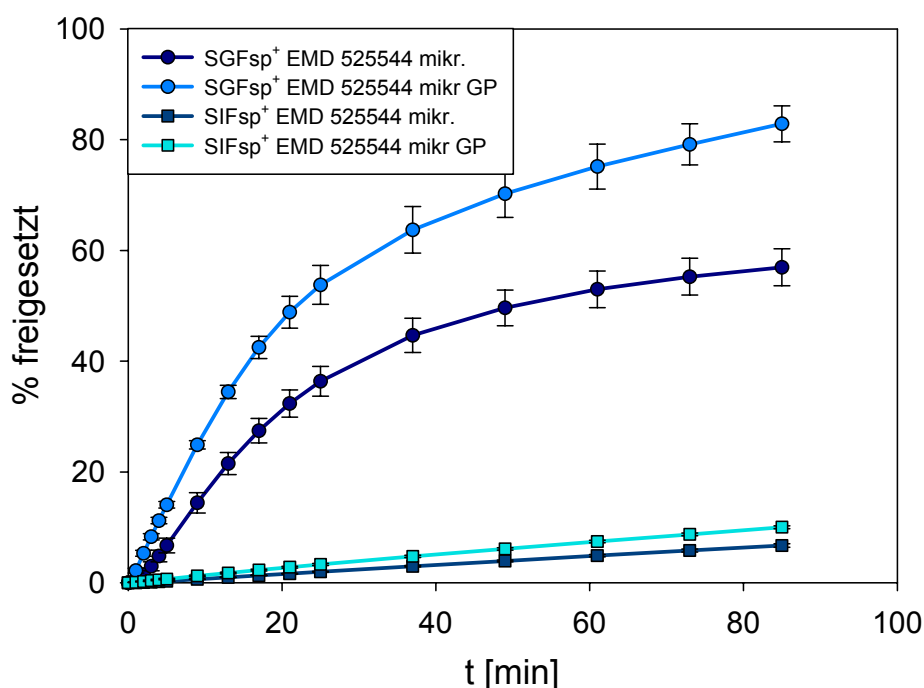


Abbildung 47: Freisetzung von mikronisierten EMD 525544 in SGFsp⁺ und SIFsp⁺. Es wurden zwei verschiedene Zellbeschickungen verglichen, eine Direkteinwaage des Wirkstoffes gegen eine Mischung des Wirkstoffes mit 2 g Glasperlen. (n = 6)

5.2.2.4 Partikelgrößeneinfluss der Wirkstoffe

Neben der Zellbeschickung und den Eigenschaften des Freisetzungsmediums ist die Partikelgröße von entscheidender Bedeutung für die Freisetzung eines Wirkstoffes (Lin SL et al. 1968; Jinno J et al. 1999; Jinno J et al. 2006; Jinno J et al. 2008). Für die Wirkstoffe EMD 128130 und EMD 503982 wurde die Freisetzung einer ungemahlene Ausgangscharge mit einer mikronisierten Produktionscharge verglichen. Von besonderem Interesse ist in der pharmazeutischen Entwicklung die „Apparent Dissolution“ von mikronisierten Wirkstoffen, da nur gemahlene bzw. mikronisierte Wirkstoffe bei der Formulierungsfindung und Marktprodukten verwendet werden. In Abbildung 48 sind Aufnahmen der untersuchten Chargen von beiden Wirkstoffen dargestellt. Die Angabe der zugehörigen Partikelgrößen und Oberflächen finden sich in Tabelle 18.

Tabelle 18: Oberfläche und Partikelgröße von mikronisierten und unmikronisierten Wirkstoffchargen.

	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	BET
EMD 128130 mikronisiert	0,86 µm	1,02 µm	1,26 µm	1,28 m ² /g
EMD 128130 unmikronisiert	39,61 µm	98,84 µm	201,45 µm	0,17 m ² /g
EMD 503982 mikronisiert	1,13 µm	2,44 µm	4,38 µm	2,17 m ² /g
EMD 503982 unmikronisiert	35,78 µm	121,32 µm	214,67 µm	0,38 m ² /g

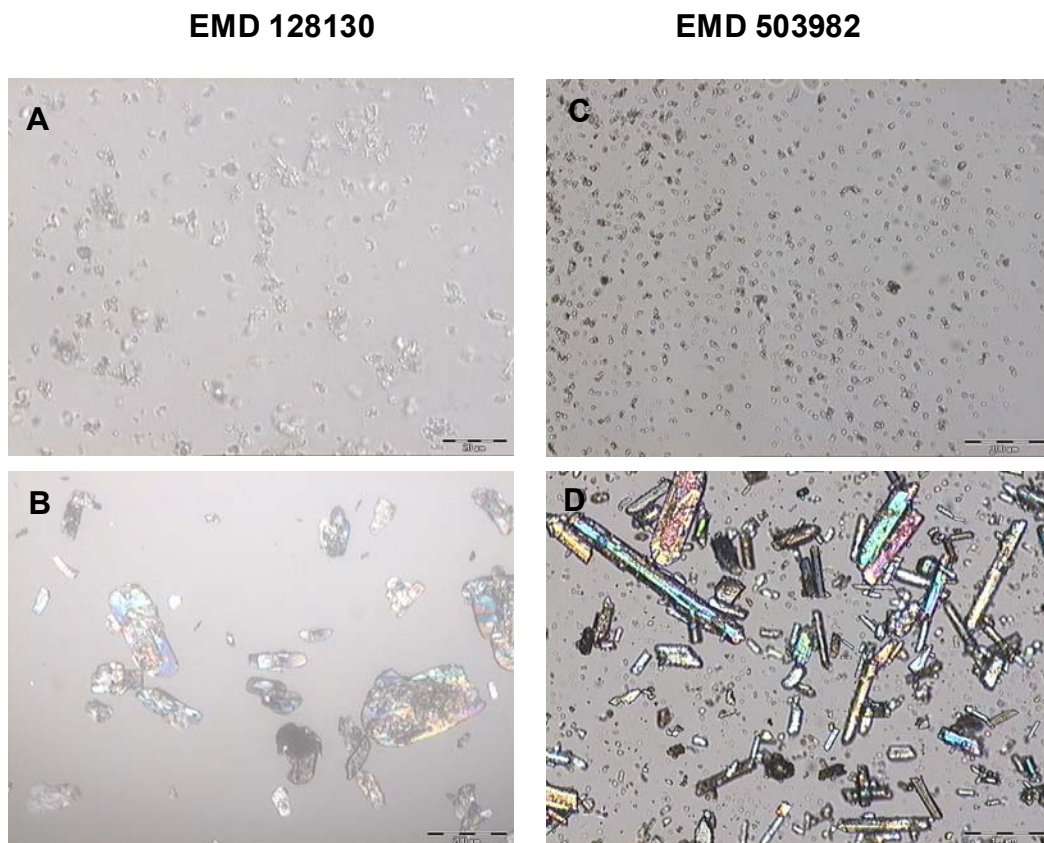


Abbildung 48: Mikroskopische Aufnahmen der mikronisierten (A) und unmikronisierten (B) Chargen von EMD 128130 (20/200 µm) und der mikronisierten (C) und unmikronisierten (D) Chargen (100/100 µm).

Bei EMD 128130 wurde eine ungemahlene Ausgangscharge mit der daraus hergestellten mikronisierten Produktionscharge verglichen, siehe Abbildung 49. Die Freisetzungen der mikronisierten im Vergleich zur unmikronisierten Charge sind annähernd identisch in SGFsp⁺ für die Zellbeschickung mit Glasperlen. Bei der Zellbeschickung ohne Glasperlen wurde dagegen für die mikronisierte und die unmikronisierte Charge eine langsamere Freisetzung beobachtet. Entgegen der anfänglichen Erwartung war die Freisetzung der unmikronisierten Charge besser als die der mikronisierten Charge bei der Zellbeschickung ohne Glasperlen. Die Ursache lag in einem veränderten Benetzungsverhalten, welches visuell in den Pulver-/Granulatzellen beobachtet werden konnte. Durch die verschlechterte Benetzung der mikronisierten Charge kam es in diesem Fall vermehrt zu einer Agglomeratbildung des Wirkstoffes. Die vorhandenen Agglomerate führten zu einer Reduktion der effektiv für die Freisetzung zur Verfügung stehenden Oberfläche und damit zu einer verlangsamten Freisetzung im Vergleich zur unmikronisierten Charge.

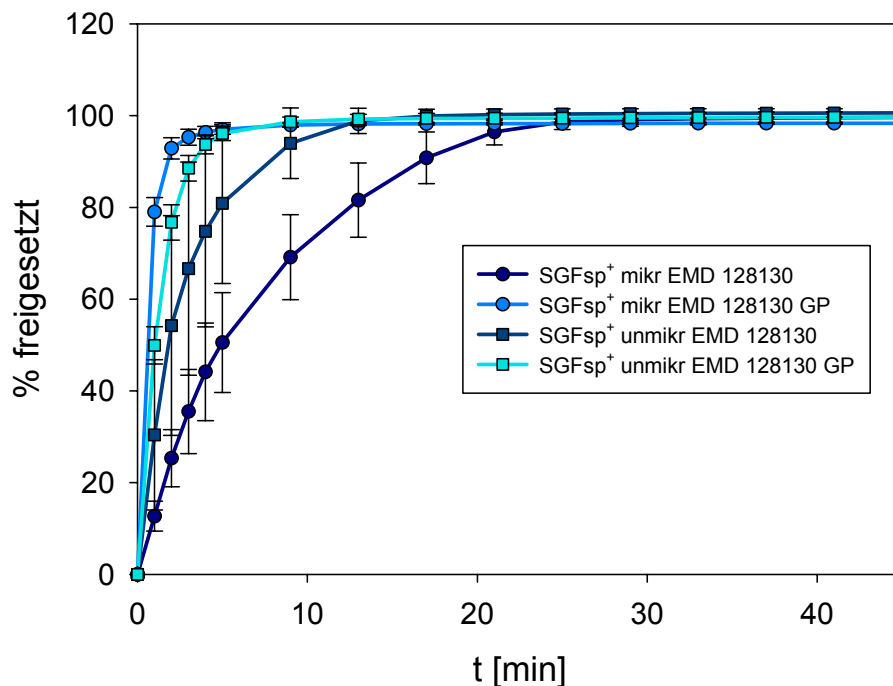


Abbildung 49: Freisetzung von der mikronisierten und der unmikronisierten Ausgangscharge von EMD 128130 in SGFsp⁺. Vergleich zweier Zellbeschickungen mit Wirkstoff und zusätzlichem Einsatz von Glasperlen (GP). (n = 6)

Bei der Freisetzung von EMD 128130 in pH 4,5⁺ wurde kein Unterschied bei der unmikronisierten Charge für beide Zellbeschickungen festgestellt. Die mikronisierte Charge zeigte eine verbesserte Freisetzung für die Zellbeschickung mit Glasperlen, während die Freisetzung der mikronisierten Charge ohne Glasperlen das gleiche Freisetzungsprofil wie die unmikronisierte Charge ohne Glasperlen aufwies, siehe Abbildung 50. Mikronisierte Wirkstoffe neigen aufgrund elektrostatischer Aufladung eher zu einer Aerophilie, einhergehend mit einer schlechteren Benetzung. Dies hat zur Folge, dass die Freisetzung des Wirkstoffes nicht unbedingt trotz größerer Oberfläche verbessert wird im Vergleich zu einer unmikronisierten Charge. Die mit der elektrostatischen Aufladung verbundene Agglomeratbildung während der Freisetzung führt häufig zu einer Reduktion der effektiv für die Freisetzung zur Verfügung stehenden Oberfläche. Durch den Einsatz von Glasperlen bei der Zellbeschickung wird beim Mischvorgang der Wirkstoff auf der Oberfläche der Glasperlen verteilt, dies verhindert eine Agglomeratbildung bei der Freisetzung und damit erhöht sich die effektiv für die Freisetzung zur Verfügung stehende Oberfläche. Daher führt eine Zellbeschickung mit Glasperlen bei mikronisierten Wirkstoffen zu einer verbesserten Freisetzung bei gleichzeitiger Reduktion der Standardabweichung des Freisetzungsprofils.

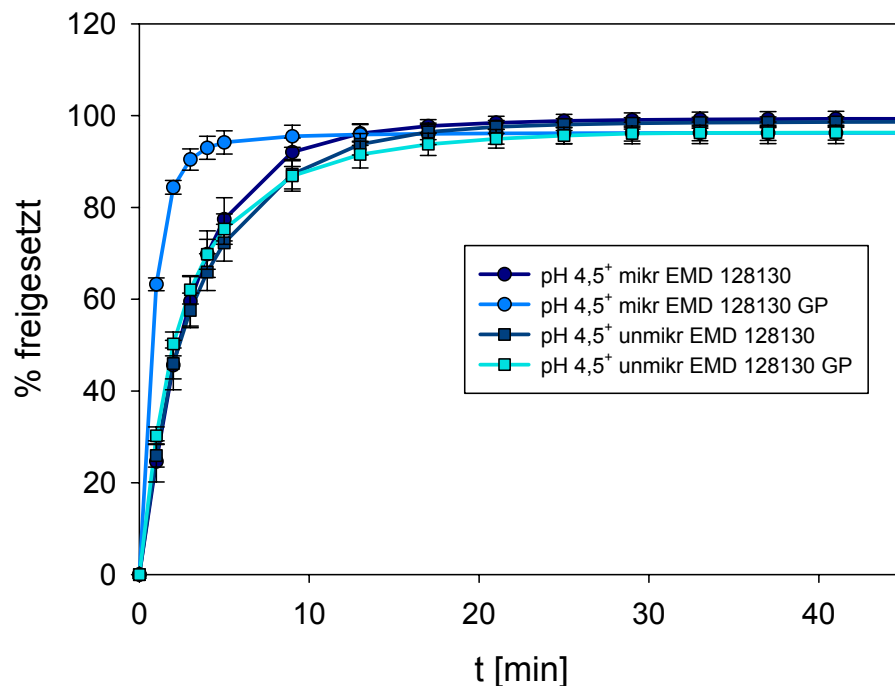


Abbildung 50: Freisetzung von der mikronisierten und der unmikronisierten Ausgangscharge von EMD 128130 in pH 4,5⁺. Vergleich zweier Zellbeschickungen mit Wirkstoff und zusätzlichem Einsatz von Glasperlen (GP). (n = 6)

Die Freisetzung von EMD 128130 in SIFsp⁺ zeigte erhebliche Unterschiede zwischen der unmikronisierten und mikronisierten Charge für beide Zellbeschickungen, Abbildung 51. Die Freisetzung der mikronisierten im Vergleich zur unmikronisierten Charge war bei beiden Zellbeschickungen verbessert. SIFsp⁺ besitzt als Freisetzungsmedium die besten diskriminierenden Eigenschaften, da EMD 128130 in SIFsp⁺ eine um das 30 bzw. 100 fach schlechtere Löslichkeit als in pH 4,5⁺ und SGFsp⁺ aufweist. Für unmikronisiertes EMD 128130 verbessert sich die Freisetzung nach 85 Minuten von 27 auf 39 Prozent beim Einsatz von Glasperlen. Bei mikronisiertem EMD 128130 fiel dieser Effekt weitaus stärker aus, die Freisetzung verbesserte sich von 28 auf 67 Prozent.

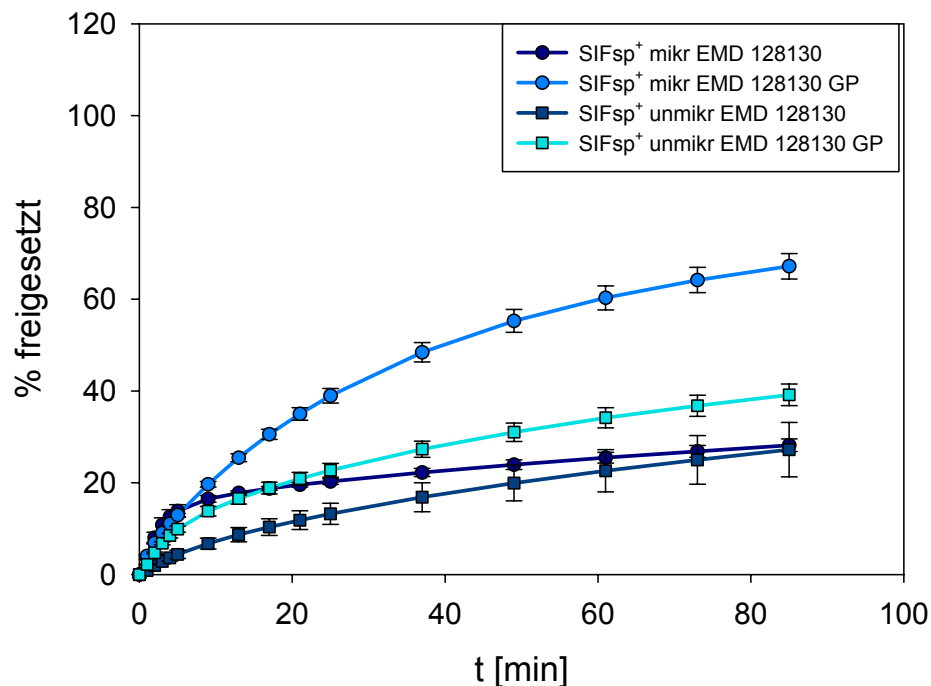


Abbildung 51: Freisetzung von der mikronisierten und der unmikronisierten Ausgangscharge von EMD 128130 in SIFsp⁺. Vergleich zweier Zellbeschickungen mit Wirkstoff und zusätzlichem Einsatz von Glasperlen (GP). (n = 6)

Der Wirkstoff EMD 503982 zeigte in SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺ die gleiche Löslichkeit. Wie erwartet, wurde bei der Freisetzung von mikronisiertem und unmikronisiertem EMD 503982 in den drei getesteten Medien eine identische Freisetzung beobachtet. Beispielhaft für die drei getesteten Freisetzungsmedien werden die Freisetzungsprofile in pH 4,5⁺, anhand Abbildung 52 gezeigt. Die Freisetzung der mikronisierten und unmikronisierten Charge zeigt einen identischen Verlauf bei der Zellbeschickung mit Glasperlen, ohne Glasperlen verläuft in beiden Fällen die Freisetzung langsamer. Die unmikronisierte Charge zeigt eine deutlich bessere Freisetzung als die mikronisierte Charge ohne Glasperlen. Die Ursache liegt in einer schlechteren Benetzung der mikronisierten Charge mit einhergehender Agglomeratbildung des Wirkstoffes während der Freisetzung. Dies führt wie bei EMD 128130 zu einer reduzierten verfügbaren effektiven Oberfläche und damit zu einer verlangsamten Freisetzung. Durch den Einsatz der Glasperlen wird die Agglomeration unterbunden und der Wirkstoff homogen auf der Oberfläche der Glasperlen verteilt. Dadurch erhöht sich die verfügbare Oberfläche für die Freisetzung und dies führt zu einer verbesserten Freisetzung.

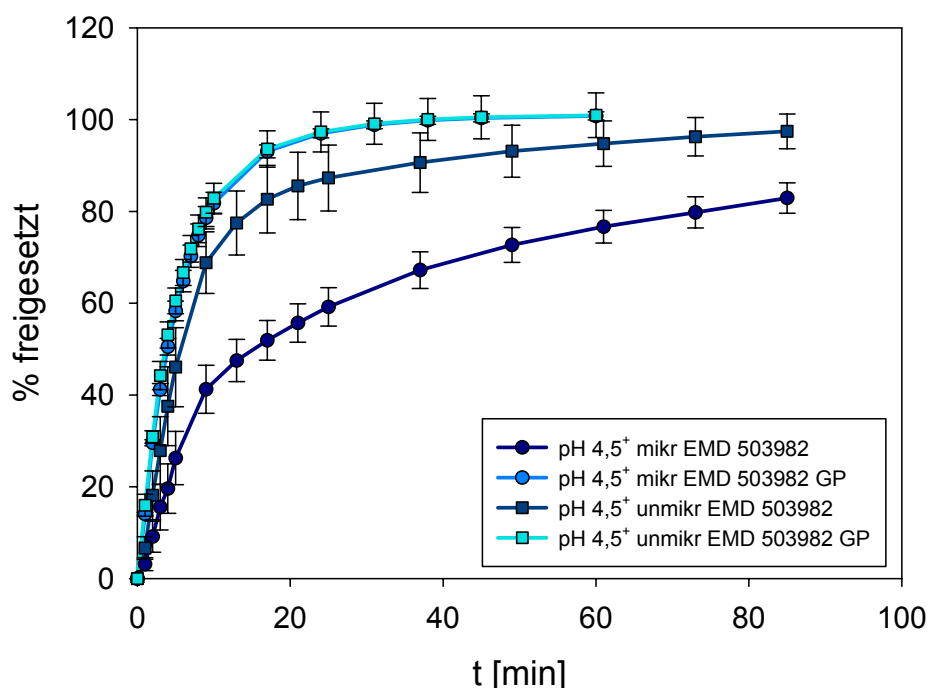


Abbildung 52: Freisetzung von der mikronisierten und der unmikronisierten Ausgangscharge von EMD 503982 in pH 4,5⁺. Vergleich zweier Zellbeschickungen mit Wirkstoff und zusätzlichem Einsatz von Glasperlen (GP). (n = 6)

5.2.2.5 Löslichkeitseinfluss der Wirkstoffe

Alle Wirkstoffe wurden unter identischen Bedingungen freigesetzt. Daher soll nachfolgend ein Zusammenhang zwischen der Löslichkeit (Tabelle 19) und dem Freisetzungsprofil für die „Apparent Dissolution“ gezeigt werden. Um mögliche Einflüsse der Benetzung bzw. Agglomeration des Wirkstoffes auszuschließen wurden die Freisetzungsprofile der mikronisierten Wirkstoffe mit Glasperlen bei der Zellbeschickung miteinander verglichen.

Tabelle 19: Löslichkeiten nach 24 Stunden der Wirkstoffe EMD 128130, EMD 503982, EMD 486019 und EMD 525544 in SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺. (n = 3)

Löslichkeit 24h	EMD 128130	EMD 503982	EMD 486019	EMD 525544
SGFsp ⁺	9,880 [mg/ml]	0,269 [mg/ml]	10,84 [µg/ml]	19,36 [µg/ml]
pH 4,5 ⁺	3,232 [mg/ml]	0,235 [mg/ml]	6,853 [µg/ml]	0,724 [µg/ml]
SIFsp ⁺	0,203 [mg/ml]	0,259 [mg/ml]	5,871 [µg/ml]	0,745 [µg/ml]

Die Freisetzungskinetik in SGFsp⁺ entspricht der Einteilung anhand der Löslichkeiten entsprechend EMD 128130 > EMD 503982 > EMD 525544 > EMD 486019, siehe Abbildung 53. Die Löslichkeit von EMD 128130 ist um das annähernd 37 fache höher im Vergleich zu EMD 503982. Beide Freisetzungskinetiken zeigen eine verhältnismäßig schnelle Kinetik. EMD 128130 war nach 2 Minuten annähernd vollständig freigesetzt, während EMD 503982 innerhalb 23 Minuten quantitativ freigesetzt

wurde. Für mikronisierte Wirkstoffe existiert eine Grenze ($> 10 \text{ mg/ml}$), ab der eine bessere Löslichkeit keinen Einfluss auf die Freisetzung mehr zeigt. Dafür wirken sich Unterschiede in der Löslichkeit ($< 0,1 \text{ mg/ml}$) bei schlecht löslichen Wirkstoffen wie EMD 486019 und EMD 525544 umso stärker auf die Freisetzung aus.

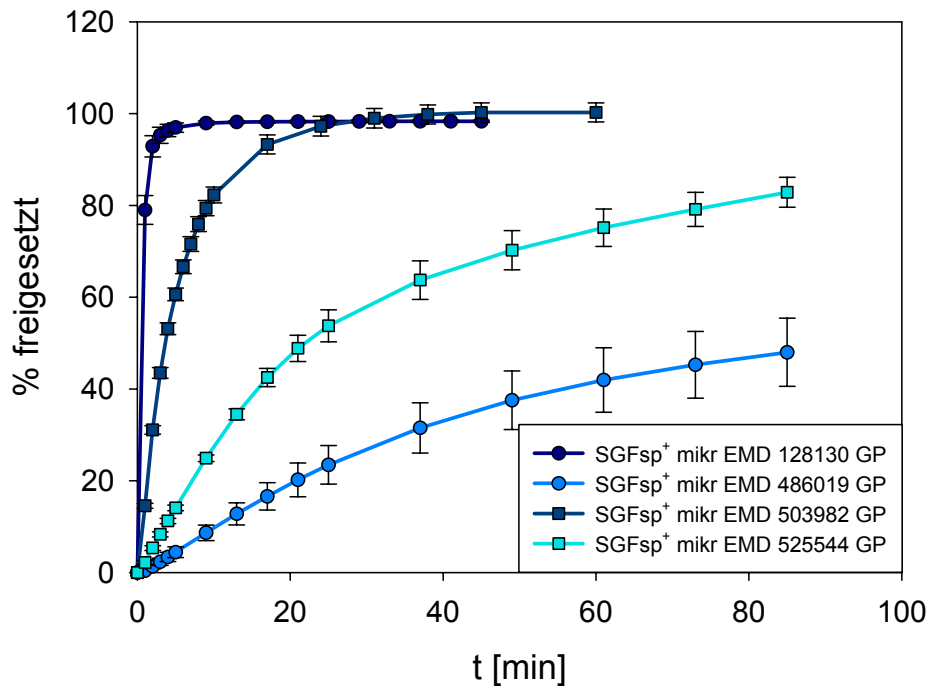


Abbildung 53: Freisetzung von mikronisierten EMD 128130, EMD 486019, EMD 503982 und EMD 525544 in SGFsp⁺, bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen (GP). (n = 6)

Aufgrund der pH-Wert abhängigen Löslichkeit von EMD 128130 und EMD 525544 ändert sich die Freisetzung in SIFsp⁺ im Vergleich zu SGFsp⁺. Die Freisetzungskinetik entspricht wieder der Einteilung anhand der Löslichkeiten in SIFsp⁺ entsprechend EMD 503982 > EMD 128130 > EMD 486019 > EMD 525544, siehe Abbildung 54. Die Freisetzung in pH 4,5⁺ entspricht ebenfalls der Einteilung entsprechend der Löslichkeit, die Daten sind nicht dargestellt.

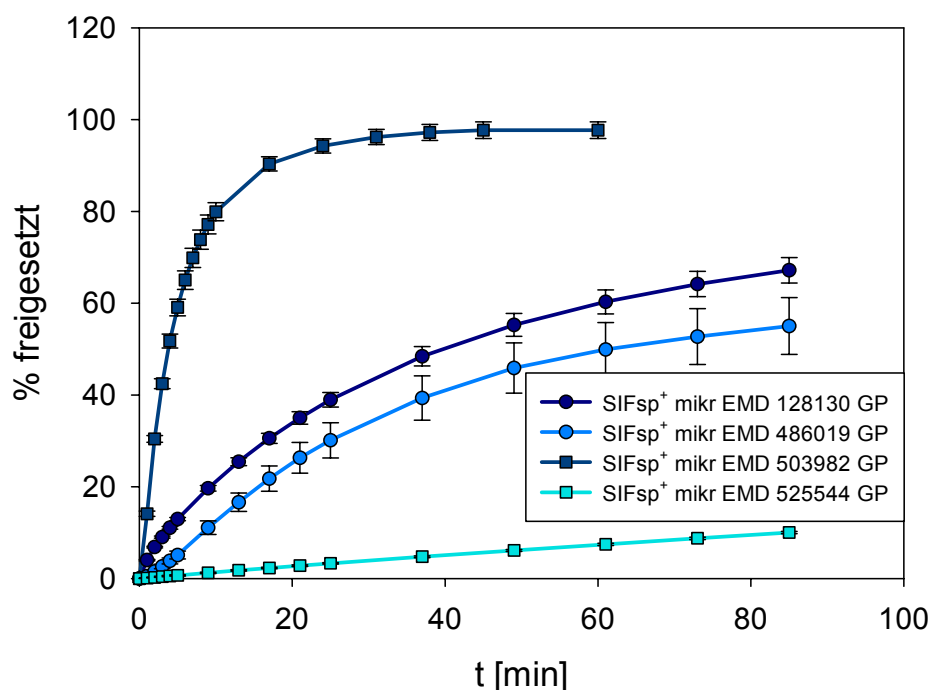


Abbildung 54: Freisetzung von mikronisierten EMD 128130, EMD 486019, EMD 503982 und EMD 525544 in SIFsp⁺, bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen (GP). (n = 6)

Es besteht ein Zusammenhang zwischen der Löslichkeit des Wirkstoffes und der Freisetzung mittels „Apparent Dissolution“. In Abbildung 55 wurde mit logarithmischer Skalierung die Löslichkeit [mg/ml] gegen den Zeitpunkt aufgetragen bei dem 50 Prozent des Wirkstoffes freigesetzt wurden ($t_{50\%}$). Bei EMD 525544 wurde die Freisetzung in pH 4,5⁺ und SIFsp⁺ extrapoliert um den $t_{50\%}$ -Wert zu erhalten. Es besteht ein Zusammenhang zwischen der Löslichkeit der vier getesteten Wirkstoffe EMD 128130, EMD 503982, EMD 486019 und EMD 525544 in den Freisetzungsmitteln SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺. Der mit 1 gekennzeichnete Wert in Abbildung 55 fällt aus der Reihe und steht für EMD 128130 freigesetzt in SIFsp⁺. Die Ursache liegt am pH-Wert 6,8 in Verbindung mit dem pKa-Wert 7,5 von EMD 128130. Dies führt zu einer Umwandlung des Hydrochlorides in die freie Base. Die freie Base liegt unter diesen Bedingungen als hochviskose flüssige Phase vor. Dies führt zu der starken Abweichung aufgrund einer langsameren Freisetzungskinetik der Base im Vergleich zum Hydrochlorid und da die flüssige Phase im Vergleich zu Partikeln eine geringere Oberfläche annimmt.

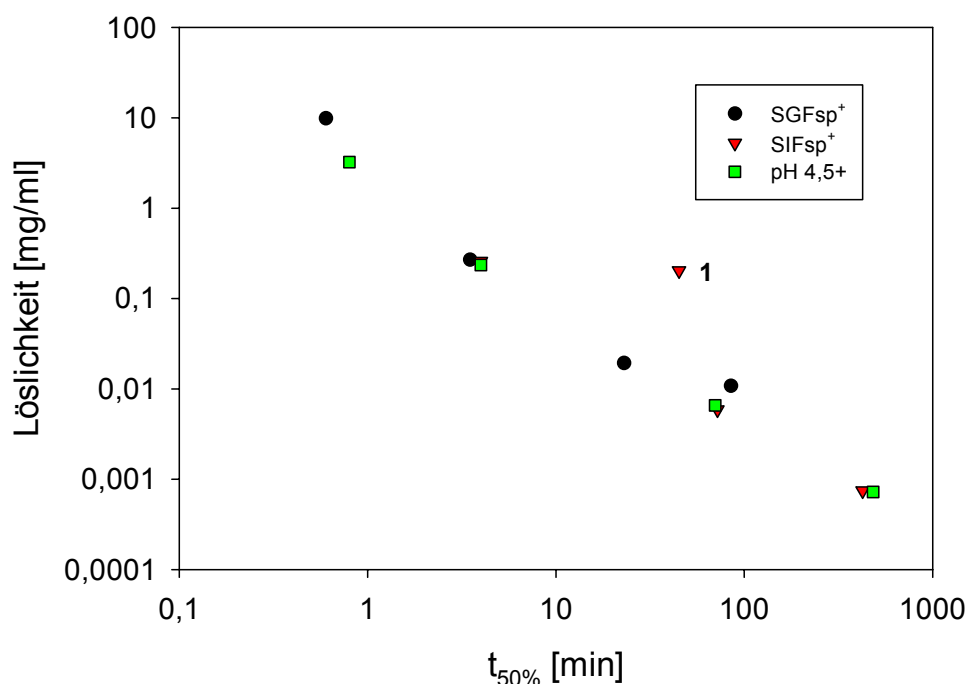


Abbildung 55: Logarithmische Darstellung des Zusammenhanges der Löslichkeit von EMD 128130, EMD 486019, EMD 503982 und EMD 525544 mit dem Zeitpunkt 50 prozentiger Freisetzung ($t_{50\%}$) des Wirkstoffes in SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺.

5.2.2.6 Diskussion

Die Anwendung der „Apparent Dissolution“ bei der Charakterisierung von reinen Wirkstoffen eröffnet neue Möglichkeiten, die Freisetzungskinetik besser zu interpretieren. Die allgemeine These, dass mit einer größeren Oberfläche die Freisetzung steigt, beruht auf idealen Wirkstoffen. In der Realität werden häufig mikronisierte Wirkstoffe verwendet, welche häufig eine elektrostatische Aufladung mit einer vermehrten Aerophilie und damit eine schlechte Benetzung zeigen. Dies beeinflusst durch eine Agglomeratbildung die Freisetzungskinetik im negativen Sinn. Mittels der beiden untersuchten Zellbeschickungsmethoden können solche Effekte unter standardisierten Bedingungen anhand der „Apparent Dissolution“ gezeigt werden. Bei einer Direkteinwaage des Wirkstoffes und anschließender Freisetzung kommt es in dem Fall zu einer verlangsamten Freisetzung des mikronisierten Wirkstoffes im Vergleich zu unmikronisiertem Wirkstoff. Bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen zeigt der Wirkstoff hingegen eine identische bzw. eine verbesserte Freisetzung der mikronisierten im Vergleich zur unmikronisierten Charge. Durch die Glasperlen wird eine mögliche Agglomeratbildung des Wirkstoffes bei der Freisetzung unterbunden. Dies führt zu einer erhöhten effektiv verfügbaren Oberfläche des Wirkstoffes bei der Freisetzung. Daher kann davon ausgegangen werden, dass bei einer Freisetzung mit Glasperlen mindestens identische Ergebnisse erzielt werden wie ohne Glasperlen, meistens ist eine Verbesserung der Freisetzung zu erwarten.

Ab einer gewissen oberen „Grenzlöslichkeit“ sind keine Unterschiede in der Freisetzung technisch mehr bestimmbar, diese Grenze liegt in Abhängigkeit vom Wirkstoff bei einer Löslichkeit von ca. 10 mg/ml. Die diskriminatorischen Eigenschaften einer Freisetzungsmethode nehmen mit

abnehmender Löslichkeit des Wirkstoffes im Freisetzungsmedium zu. Dies konnte an der schwachen Base EMD 128130 gezeigt werden. Während in SGFsp⁺ ein Partikelgrößenunterschied nur einen geringen Einfluss auf die Freisetzung zeigte, war der Partikelgrößenunterschied bei der Freisetzung in SIFsp⁺ sehr deutlich erkennbar.

Wirkstoffe mit einer identischen Löslichkeit in verschiedenen Freisetzungsmedien führen zu einer identischen Freisetzung in den Medien. Dies konnte an EMD 503982 und EMD 486029 gezeigt werden. Bei sehr schlecht löslichen Wirkstoffen kann über einen großen Zeitraum eine lineare Freisetzung beobachtet werden. Die Ursache liegt in der vorhandenen Menge an Wirkstoff in der Pulver-/Granulatzelle. Bei einer offenen Betriebsweise führt dies zu einer Freisetzung in der Nähe der Sättigungslöslichkeit. In dem Fall wird zu jedem Zeitpunkt gleich viel Wirkstoff freigesetzt, die Freisetzung zeigt somit einen linearen Verlauf. Erst wenn die Wirkstoffmenge in der Pulver-/Granulatzelle einen bestimmten Wert unterschreitet verläuft die Freisetzung nicht mehr linear. Denn ab diesem Punkt steht weniger Wirkstoff während der Freisetzung für das Erreichen der Sättigungskonzentration in den Fraktionen zur Verfügung.

Eine Klassifizierung der Wirkstoffe anhand ihrer Löslichkeit in einem Freisetzungsmedium entspricht der Einteilung entsprechend ihrer Freisetzungskinetik mittels „Apparent Dissolution“. Mittels einer logarithmischen Darstellung der Löslichkeit [mg/ml] gegen den Zeitpunkt, an dem 50 Prozent des Wirkstoffes freigesetzt wurden ($t_{50\%}$), konnte der Zusammenhang zwischen Löslichkeit und Freisetzungskinetik gezeigt werden. Kommt es bei einem Wirkstoff während der Freisetzung zu einer Umwandlung auf Grund seiner physikochemischen Eigenschaften, wie zum Beispiel eine Salzbildung oder einer Präzipitation der freien Base/ Säure bei Freisetzung eines Salzes, dann kann nicht unbedingt mehr von der Löslichkeit auf die Freisetzungskinetik geschlossen werden. Das Umwandlungsprodukt ist in diesem Fall thermodynamisch stabiler als der ursprüngliche Wirkstoff, dies führt zu einer schlechteren Freisetzungskinetik.

Durch Kombination der beiden Zellbeschickungen bei der „Apparent Dissolution“ von reinen Wirkstoffen kann der Einfluss von Partikelgrößenunterschieden, der Einfluss des Freisetzungsmediums und ein unterschiedliches Benetzungsverhalten verschiedener Wirkstoffchargen gezeigt werden. Eine Klassifizierung der Wirkstoffe anhand ihrer Freisetzungskinetik und ein Bezug auf ihre Löslichkeit sind möglich.

5.2.3 Hilfsstoffeinfluss auf die Freisetzung physikalischer Mischungen

5.2.3.1 Versuchsschema und Methodenwahl

Es wurden physikalische Mischungen der ausgewählten Wirkstoffe mit drei verschiedenen Hilfsstoffen untersucht. Bei hochdosierten Wirkstoffen, wie zum Beispiel bei Metformin oder Ibuprofen, wird ein geringer Anteil an Hilfsstoff und bei hochpotenten Wirkstoffen, wie Digitoxin oder verschiedenen Neuroleptika, ein hoher Anteil von Hilfsstoff für die Tablettenformulierung verwendet. Daher war es das Ziel mit zwei physikalischen Mischungen die realen Verhältnisse wiederzugeben, welche in festen Formulierungen auftreten können. Somit stellen die beiden gewählten physikalischen Mischungen

zum einen einen Überschuss an Wirkstoff und zum anderen einen Überschuss an Hilfsstoff dar. Die hergestellten Mischungen entsprechen einem Hilfsstoffanteil von 30 Prozent und Mischungen mit einem Hilfsstoffanteil von 90 Prozent. Für die Freisetzung wurden die physikalischen Mischungen dementsprechend eingewogen, so dass der Anteil an Wirkstoff stets 12 mg entsprach. Die Wirkstoffe EMD 128130, EMD 503982, EMD 486019 und EMD 525544 wurden mit emulgierender Stärke, Lutrol® F68 und Chitosan als Hilfsstoffe für die physikalischen Mischungen kombiniert. Die Freisetzung physikalischer Mischungen erfolgte in den Medien SGFsp⁺ und SIFsp⁺ über 60 Minuten mit einem Fluss von 16 ml/min bei 37°C. Die Freisetzungen mit beiden Zellbeschickungen wurden entsprechend dem Versuchsschema in Abbildung 56 durchgeführt. Für die Wirkstoffe EMD 128130 und EMD 503982 wurden jeweils der Einfluss der beiden Partikelgrößen aus der Wirkstoffcharakterisierung auch in den physikalischen Mischungen untersucht. Entsprechend des Versuchsschemas ergeben sich 48 Freisetzungen jeweils für EMD 128130 und EMD 503982, da bei beiden Wirkstoffen zwei verschiedene Partikelgrößen untersucht wurden. Für EMD 486019 und EMD 525544 ergeben sich jeweils 24 Freisetzungen. Die Ergebnisse sind beispielhaft für die gesamten 144 Freisetzungen in den nachfolgenden Abschnitten dargestellt.

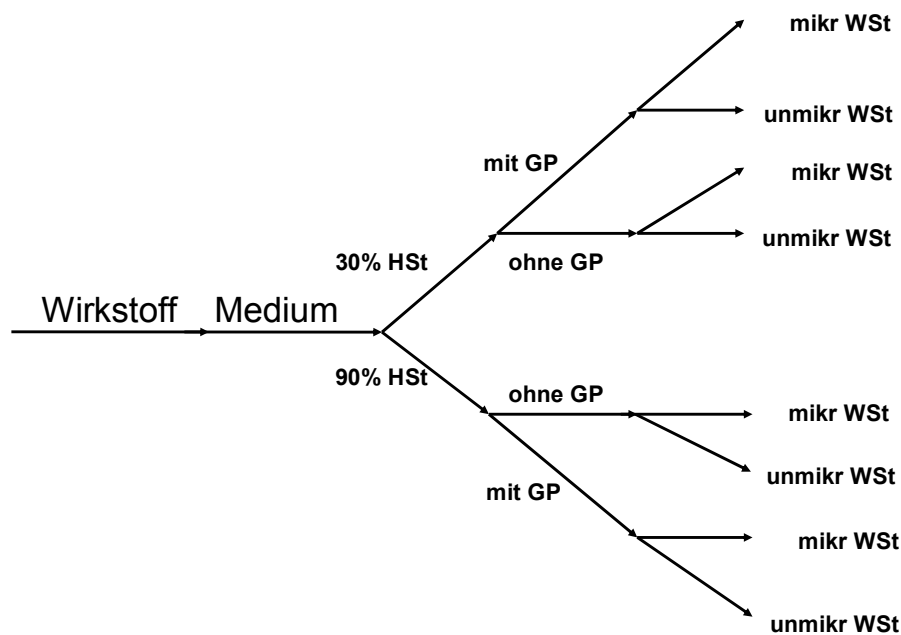


Abbildung 56: Versuchsschema zur Freisetzung physikalischer Mischungen mittels „Apparent Dissolution“. Die physikalischen Mischungen aus Wirkstoff (WSt) und einem Anteil von 30 bzw. 90 Prozent Hilfsstoff (HSt) wurden in den Freisetzungsmedien SGFsp⁺ und SIFsp⁺ mit bzw. ohne Glasperlen (GP) bei der Zellbeschickung untersucht.

5.2.3.2 pH-Wert Einfluss des Freisetzungsmediums

Der Einfluss des pH-Wertes auf die Freisetzung ist zum einen abhängig vom Wirkstoff, zum anderen kann der Hilfsstoff einen sehr großen Effekt auf die Freisetzung ausüben, wenn dieser in Abhängigkeit vom pH-Wert ein unterschiedliches Verhalten zeigt. Das Augenmerk lag auf der Untersuchung des Verhaltens des pH-Wertes vom Freisetzungsmedium auf die Freisetzung von physikalischen Mischungen mit mikronisiertem Wirkstoff. Für den Hilfsstoff Chitosan wurde zum Beispiel bei der

Freisetzung von physikalischen Mischungen mit mikronisiertem EMD 503982 (F1440368) ein pH-Wert abhängiges Verhalten beobachtet. Die Ursache liegt in der pH-Wert abhängigen Löslichkeit von Chitosan, da Chitosan mit einem Deacetylierungsgrad von mehr als 85 Prozent oberhalb eines pH-Wertes von 6,5 nicht mehr als lösliches Polykation vorliegt. Dadurch ist die Freisetzung einer physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 503982 mit 30 Prozent Chitosan ohne Glasperlen in SGFsp⁺ erheblich besser als in SIFsp⁺, Abbildung 57. Der Wirkstoff EMD 503982 zeigt ohne Hilfsstoffe keine Abhängigkeit der Freisetzung vom pH-Wert. In SGFsp⁺ wurde EMD 503982 nach 40 Minuten vollständig freigesetzt, während in SIFsp⁺ zu diesem Zeitpunkt erst 40 Prozent freigesetzt wurden. Daher spielt die Auflösungskinetik des Hilfsstoffes, selbst bei einem Überschuss an Wirkstoff in einer physikalischen Mischung, eine extrem wichtige Rolle. In SIFsp⁺ besitzt Chitosan keine Auflösungskinetik, während in SGFsp⁺ Chitosan vollständig nach 40 Minuten in der Pulver-/Granulatzelle aufgelöst wurde. Die Freisetzung der physikalischen Mischungen ist bei verschiedenen pH-Werten unterschiedlich im Vergleich zu der Freisetzung des reinen Wirkstoffes unter den gleichen Bedingungen. Die verbesserte Freisetzung der physikalischen Mischung in SGFsp⁺ kann durch eine bessere Benetzung erklärt werden. Der Effekt ist identisch dem der Wirkstofffreisetzung mit Glasperlen. Durch den Hilfsstoff wird eine Agglomeratbildung des Wirkstoffes verhindert und gleichzeitig verbessert die Auflösung des Hilfsstoffes zusätzlich die Benetzung. In SIFsp⁺ hingegen geht Chitosan nicht in Lösung, es ist eher eine Quellung zu beobachten, wodurch der Wirkstoff bei seiner Freisetzung behindert wird.

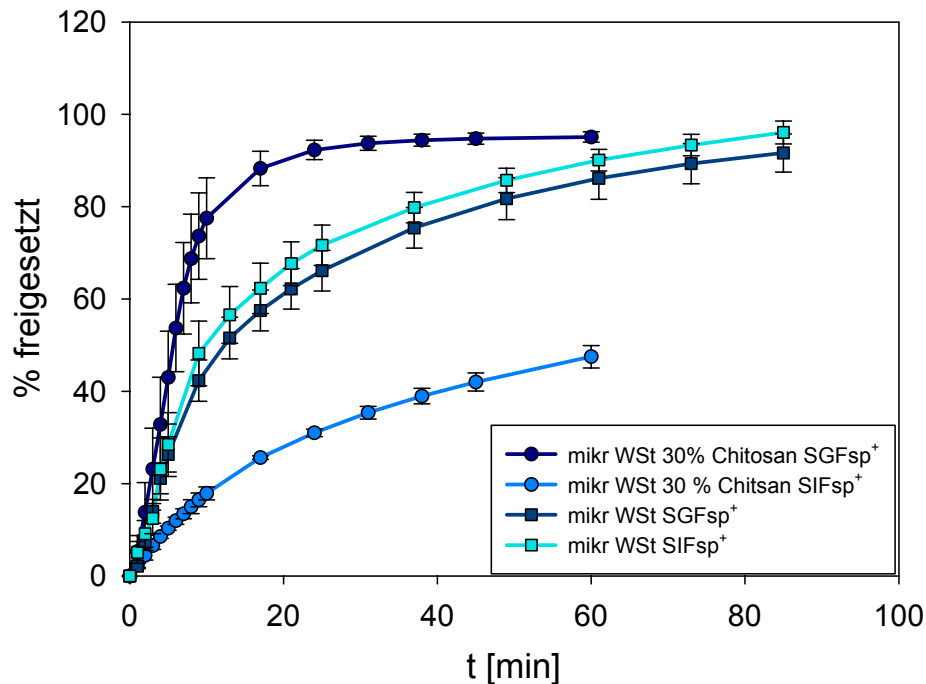


Abbildung 57: Freisetzung einer physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 503982 (mikr WSt) mit einem Anteil von 30 % an Chitosan im Vergleich mit reinem Wirkstoff in SGFsp⁺ und SIFsp⁺ bei einer Zellbeschickung ohne Glasperlen. (n = 6)

Dieser Effekt des pH-Wertes auf die Freisetzung einer physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 503982 mit 30 Prozent Chitosan fällt bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen deutlich verringert aus, Abbildung 58. Die physikalische Mischung zeigte eine minimal verbesserte Freisetzung in SGFsp⁺ im Vergleich zum reinen Wirkstoff, während die physikalische Mischung unter diesen Bedingungen in SIFsp⁺ eine schlechtere Freisetzung als der reine Wirkstoff aufwies. Im Vergleich zu der Freisetzung in SIFsp⁺ ohne Glasperlen in Abbildung 57 führt der Zusatz der Glasperlen zu einer deutlich verbesserten Freisetzung von über 80 Prozent nach 60 Minuten im Vergleich zu 45 Prozent nach 60 Minuten ohne Glasperlen. Durch den Einsatz der Glasperlen ist die Agglomeratbildung von EMD 503982 verhindert. Der Anteil von 30 Prozent Chitosan führt daher in SGFsp⁺ nur zu einer geringfügigen Verbesserung der Freisetzung, wahrscheinlich aufgrund einer zusätzlichen gesteigerten Benetzung. Der negative Einfluss des in SIFsp⁺ unlöslichen Chitosans auf die Freisetzung wird durch den Einsatz von Glasperlen und einer damit einhergehenden vergrößerten effektiven Oberfläche teils kompensiert. Dadurch fällt der Unterschied in der Freisetzung des Wirkstoffes im Vergleich zur physikalischen Mischung in SIFsp⁺ deutlich geringer aus, als bei der Zellbeschickung ohne Glasperlen.

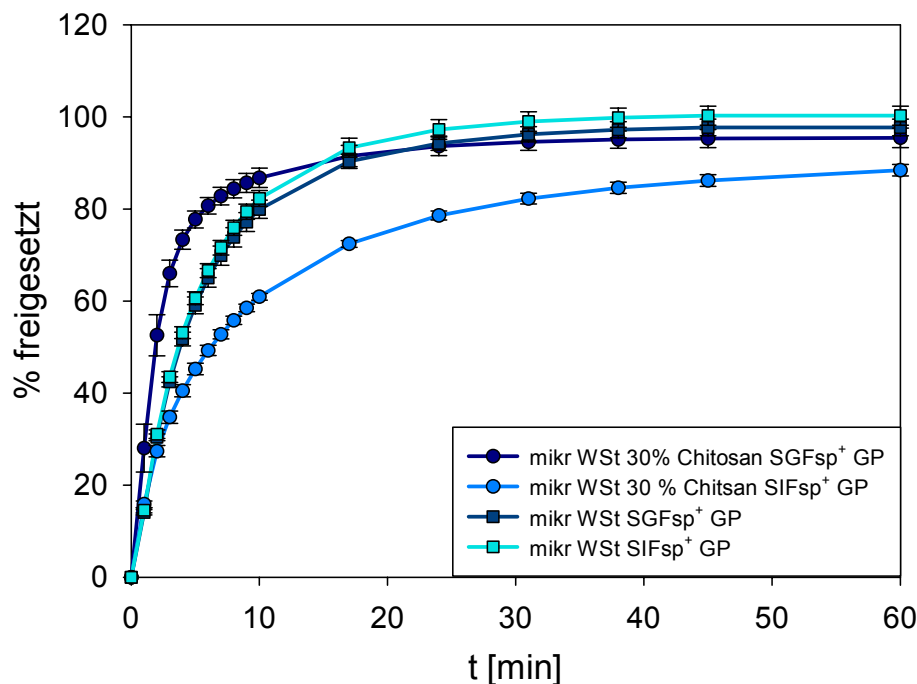


Abbildung 58: Freisetzung einer physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 503982 (mikr WSt) mit einem Anteil von 30 % an Chitosan im Vergleich zum reinen Wirkstoff in SGFsp⁺ und SIFsp⁺ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen (GP). (n = 6)

Für den Hilfsstoff Lutrol F68 als neutrales Polymer wurde bei der Freisetzung von physikalischen Mischungen mit mikronisiertem EMD 503982 (F1440368) kein pH-Wert abhängiges Verhalten beobachtet. Beispielhaft zeigt die Freisetzung einer physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 503982 mit 30 Prozent Lutrol F68 ohne Glasperlen keinen Unterschied in SGFsp⁺ im Vergleich zu SIFsp⁺, Abbildung 59. Diese physikalische Mischung setzt innerhalb der ersten 15 Minuten schneller als der reine Wirkstoff frei. Anschließend verlangsamt sich die Freisetzung so, dass nach 60 Minuten jeweils zwischen 85 und 90 Prozent freigesetzt wurden. Die Ursache für die anfänglich schnelle Freisetzung der physikalischen Mischung liegt in der Auflösung des Hilfsstoffes und der einhergehenden besseren Benetzung, gleichzeitig wird die Agglomeratbildung des mikronisierten Wirkstoffes durch den Hilfsstoff reduziert.

Die Freisetzung der physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 503982 mit 30 Prozent Lutrol F68 mit Glasperlen zeigte keine Unterschiede in SGFsp⁺ im Vergleich zu SIFsp⁺. Beim Vergleich mit dem reinen Wirkstoff waren nur marginale Unterschiede zu erkennen, Abbildung 60.

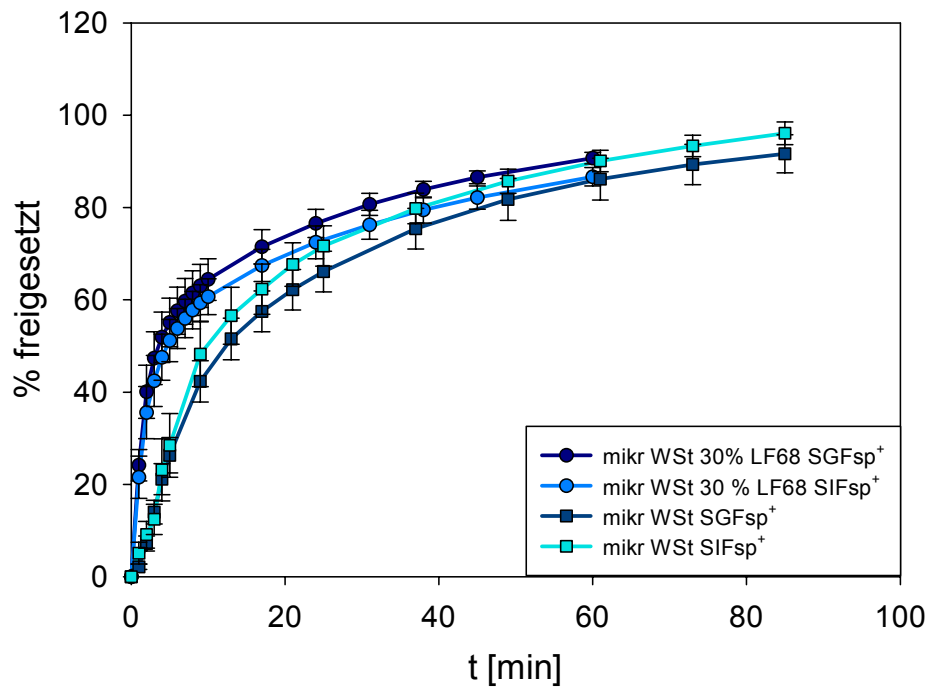


Abbildung 59: Freisetzung einer physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 503982 (mikr WSt) mit einem Anteil von 30 % an Lutrol F68 (LF68) im Vergleich zum reinen Wirkstoff in SGFsp⁺ und SIFsp⁺ bei einer Zellbeschickung ohne Glasperlen. (n = 6)

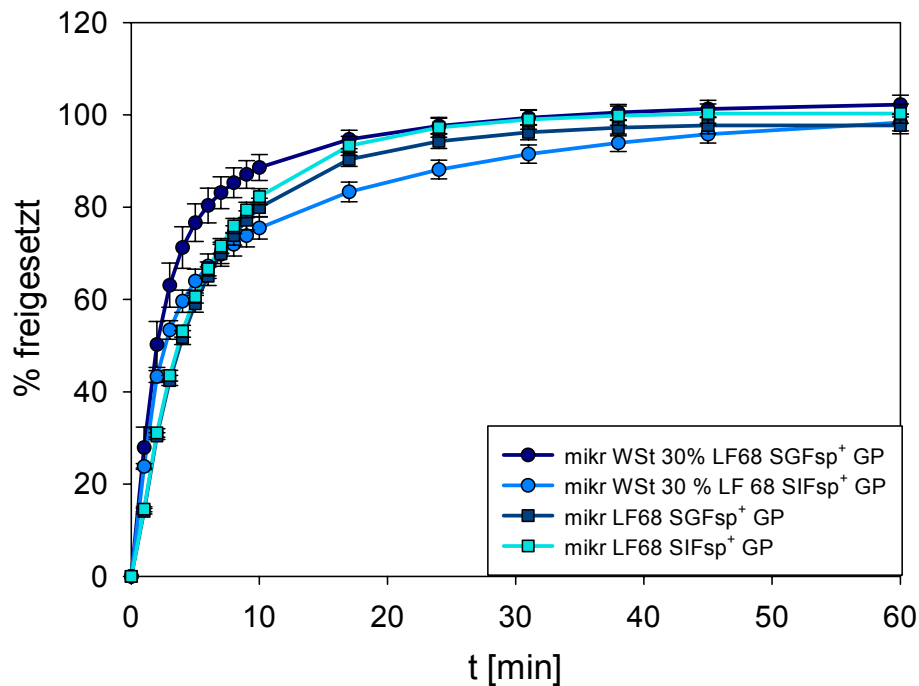


Abbildung 60: Freisetzung einer physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 503982 (mikr WSt) mit einem Anteil von 30 % an Lutrol F68 (LF68) im Vergleich zum reinen Wirkstoff in SGFsp⁺ und SIFsp⁺ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen (GP). (n = 6)

Die Freisetzung von EMD 503982 als physikalische Mischung mit 30 Prozent emulgierende Stärke zeigte keine Abhängigkeit vom pH-Wert und damit eine identische Freisetzung in SGFsp⁺ und SIFsp⁺. Es konnten vernachlässigbar kleine Unterschiede in der Freisetzung der physikalischen Mischung im Vergleich zum reinen Wirkstoff gezeigt werden. Für die Zellbeschickung ohne Glasperlen war eine minimal verlangsamte Freisetzung der physikalischen Mischung im Vergleich zum reinen Wirkstoff innerhalb der ersten 20 Minuten beobachtet worden. Hingegen konnte bei der Zellbeschickung mit Glasperlen eine geringfügig bessere Freisetzung innerhalb der ersten 10 Minuten bei der physikalischen Mischung im Vergleich zum reinen Wirkstoff gezeigt werden. Aufgrund dieses geringen Einflusses der physikalischen Mischung wurden diese Profile nicht dargestellt.

Die Freisetzung physikalischer Mischungen von mikronisiertem EMD 486019 zeigte für Lutrol F68 und emulgierende Stärke keine Abhängigkeit von pH-Wert des Freisetzungsmediums, daher sind diese Daten nicht dargestellt. Bei Chitosan als Hilfsstoff konnte für die 30 prozentige physikalische Mischung ein Einfluss vom pH-Wert gezeigt werden, siehe Abbildung 61. In SIFsp⁺ führt der Zusatz von Chitosan zu einer Verschlechterung der Freisetzung, während in SGFsp⁺ die Freisetzung im Vergleich zum reinen Wirkstoff verbessert wird. Die Ursache für diese Effekte entsprechen den von EMD 503982, indem in SGFsp⁺ das Chitosan die Benetzung fördert und Agglomeration verringert und in SIFsp⁺ führt Chitosan aufgrund seiner Unlöslichkeit unter diesen Bedingungen zu einer Verschlechterung der Freisetzung.

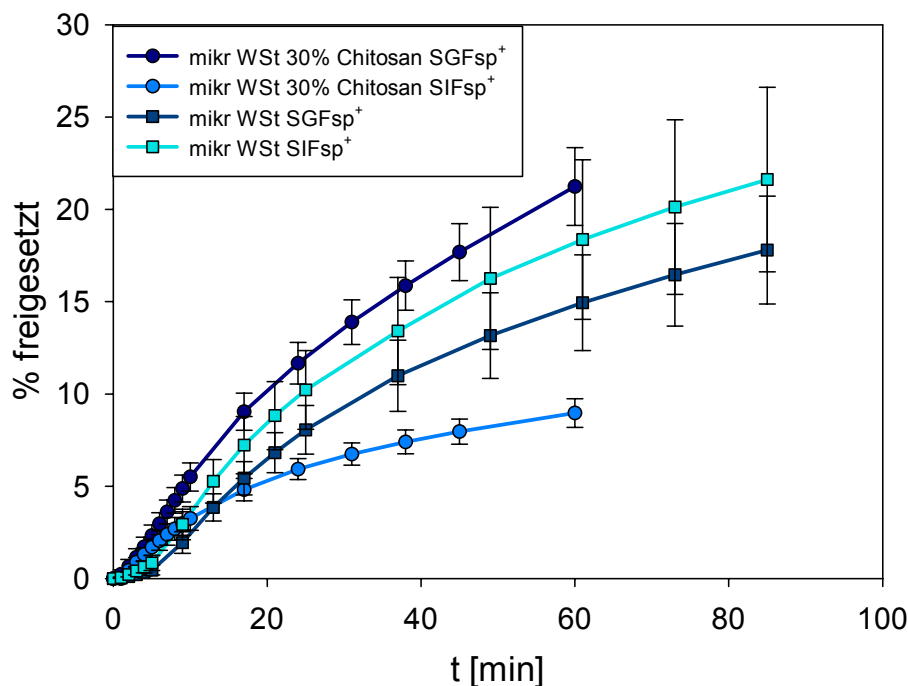


Abbildung 61: Freisetzung einer physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 486019 (mikt WSt) mit einem Anteil von 30 % an Chitosan im Vergleich zum reinen Wirkstoff in SGFsp⁺ und SIFsp⁺ bei einer Zellbeschickung ohne Glasperlen. (n = 6)

Bei den Freisetzen physikalischer Mischungen von EMD 525544 und EMD 128130 mit den drei Hilfsstoffen wurden verschiedene Effekte beobachtet. Eine Beurteilung der pH-Wert abhängigen Eigenschaften von Chitosan anhand dieser Wirkstoffe ist nicht möglich. Da sich die Eigenschaften von Wirkstoff und Hilfsstoff gleichzeitig mit dem pH-Wert ändern, ist eine Zuordnung von beobachteten Effekten unmöglich. Jedoch konnten pH-Wert abhängige Effekte für die pH-Wert unabhängigen Hilfsstoffe Lutrol F68 und emulgierende Stärke nachfolgend gezeigt werden.

Bei der Freisetzung von mikronisiertem EMD 525544 aus physikalischen Mischungen mit einem Hilfsstoffanteil von 30 Prozent konnte für die Hilfsstoffe Chitosan und emulgierende Stärke kein signifikanter Einfluss auf die Freisetzung bei Zellbeschickungen beobachtet werden. Die physikalische Mischung mit 30 Prozent Lutrol F68 zeigte dagegen eine verbesserte Freisetzung bei der Zellbeschickung ohne Glasperlen in SGFsp⁺ im Vergleich zum reinen Wirkstoff, in SIFsp⁺ war kein Unterschied erkennbar, Abbildung 62.

Wie bei der Wirkstoffcharakterisierung festgestellt wurde, liegt die Freisetzung von EMD 525544 in SIFsp⁺ stets im Bereich der Sättigungskonzentration. Ein Hilfsstoff, der keinen Einfluss auf die Sättigungskonzentration zeigt, kann in diesem Fall die Freisetzung nicht verbessern. Der Hilfsstoff zeigt im Gegenteil entweder keinen Effekt oder er verlangsamt die Freisetzung. Aufgrund dieser Tatsache ist zu erklären, dass Chitosan in SIFsp⁺ keinen Einfluss auf die Freisetzung von EMD 525544 im Gegensatz zu der Freisetzung von EMD 503982 mit Chitosan besitzt.

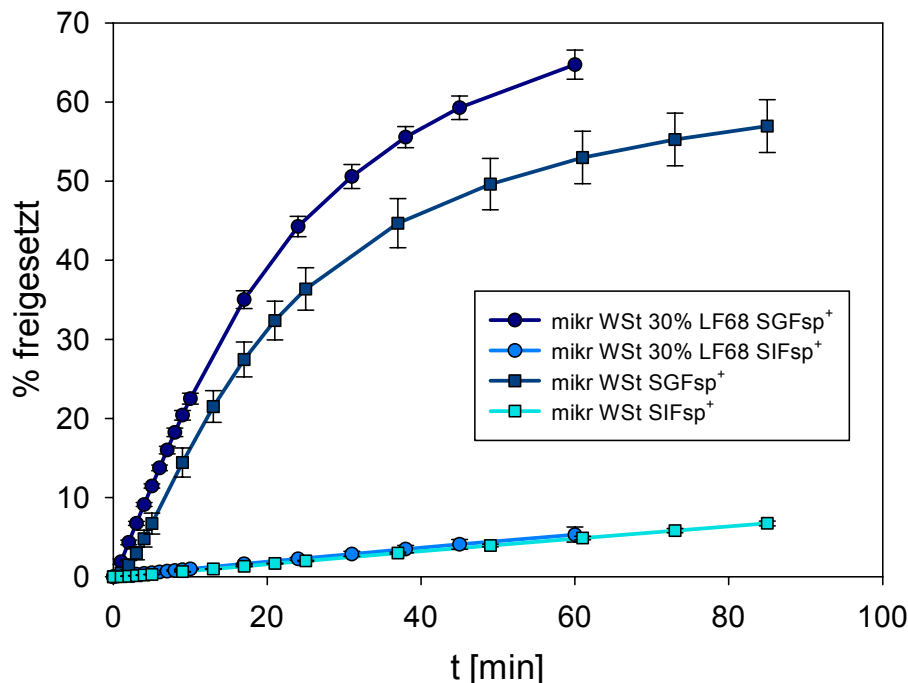


Abbildung 62: Freisetzung einer physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 525544 (mikr WSt) mit einem Anteil von 30 % an Lutrol F68 (LF68) im Vergleich zum reinen Wirkstoff in SGFsp⁺ und SIFsp⁺ bei einer Zellbeschickung ohne Glasperlen.

Bei der Freisetzung von mikronisiertem EMD 128130 aus physikalischen Mischungen mit einem Hilfsstoffanteil von 30 Prozent konnte für die Hilfsstoffe Lutrol F68 und emulgierende Stärke eine signifikante Verbesserung der Freisetzung für Zellbeschickungen ohne Glasperlen beobachtet werden. Abbildung 63 zeigt die Freisetzung von EMD 128130 mit Lutrol F68. In SGFsp⁺ war die physikalische Mischung bereits nach 10 Minuten zu 100 Prozent freigesetzt im Vergleich zu 20 Minuten bei dem reinen Wirkstoff. In SIFsp⁺ waren 40 Prozent nach 60 Minuten freigesetzt, im Gegensatz zu 25 Prozent nach 61 Minuten des reinen Wirkstoffes. Dieser starke Effekt von Lutrol F 68 in SIFsp⁺ beruht nicht auf einem pH-Wert abhängigen Verhalten des Hilfsstoffes. Aufgrund des pH-Wert abhängigen Auflösungsverhaltens des Wirkstoffes wirkt sich der Effekt des Hilfsstoffes in Abhängigkeit vom pH-Wert unterschiedlich stark aus. Die gesteigerte Freisetzung von EMD 128130 in SGFsp⁺ und SIFsp⁺ ist auf eine verbesserte Benetzung und eine verringerte Agglomeratbildung zurückzuführen.

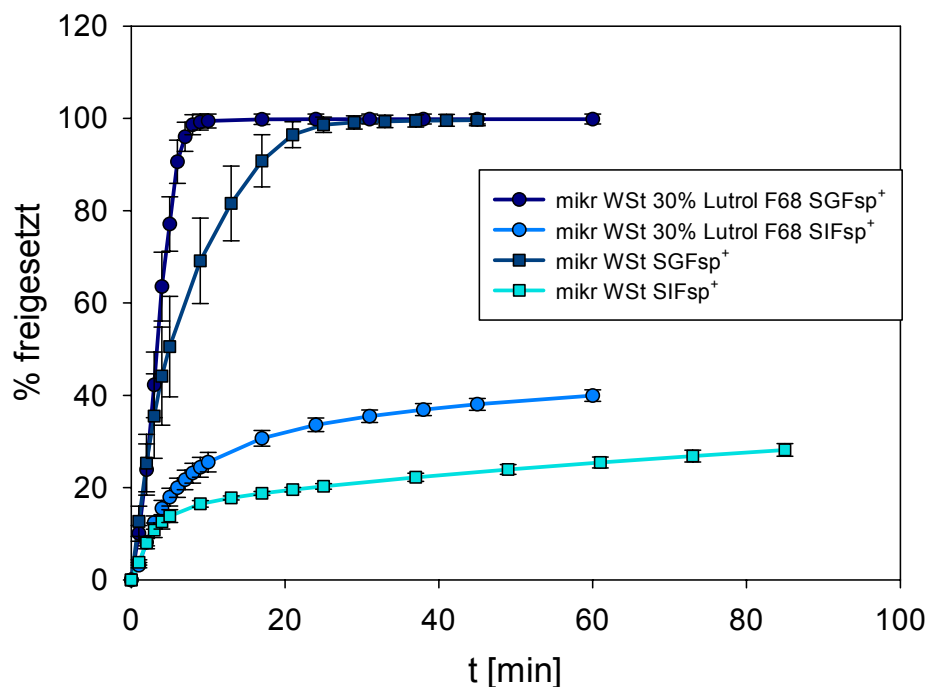


Abbildung 63: Freisetzung einer physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 128130 (mikr WSt) mit einem Anteil von 30 % an Lutrol F68 (LF68) im Vergleich zum reinen Wirkstoff in SGFsp⁺ und SIFsp⁺ bei einer Zellbeschickung ohne Glasperlen. (n = 6)

Bei der Freisetzung von physikalischen Mischungen mit einem Hilfsstoffanteil von 90 Prozent zeigte der Einfluss des pH-Wertes bei Chitosan einen signifikant größeren Effekt als bei einem Anteil von 30 Prozent. Für die Hilfsstoffe Lutrol F68 und emulgierende Stärke konnte wie erwartet auch bei einem Hilfsstoffanteil von 90 Prozent kein unterschiedlicher Einfluss für EMD 503982 und EMD 486019 in Abhängigkeit von pH-Wert des Freisetzungsmediums beobachtet werden. Die beobachteten Effekte bei EMD 128130 und EMD 525544 beruhen auf pH-Wert abhängigen Eigenschaften des Wirkstoffes bei einem Hilfsstoffanteil von 90 %. Daher werden die Ergebnisse in

Kapitel 5.2.3.6 bei der Untersuchung des Einflusses der Hilfsstoffmenge in physikalischen Mischungen auf die Freisetzung diskutiert.

Die Wirkstoffe EMD 128130 und EMD 525544 zeigten entsprechend der Wirkstoffcharakterisierung eine pH-Wert abhängige Freisetzung, während bei EMD 503982 und EMD 486019 die Freisetzung des Wirkstoffes unabhängig vom pH-Wert verläuft. Der Einfluss von Hilfsstoffen in physikalischen Mischungen kann in Abhängigkeit vom pH-Wert zu unterschiedlichen Effekten führen. Am besten kann der Einfluss des Hilfsstoffes an Wirkstoffen gezeigt werden, die selbst unabhängig vom pH-Wert freigesetzt werden. Daher wurden in diesem Kapitel die Ergebnisse von EMD 503982 und EMD 486019, im Gegensatz zu EMD 128130 und EMD 525544, ausführlicher dargestellt.

Die verwendeten Hilfsstoffe Lutrol F68, emulgierende Stärke und Chitosan zeigen ein den chemischen Eigenschaften entsprechendes Verhalten. Für Lutrol F68 sowie für die emulgierende Stärke konnte keine Abhängigkeit vom pH-Wert des Freisetzungsmediums und damit ein pH-Wert abhängiger Einfluss auf die Freisetzung gezeigt werden. Natürlich beeinflussen diese Hilfsstoffe die Freisetzung unter bestimmten Umständen enorm. Dieser Einfluss ist jedoch unabhängig vom pH-Wert, er beruht auf anderen physikalisch chemischen Eigenschaften des Hilfsstoffes. Diese beiden Hilfsstoffe können auch einen unterschiedlichen Einfluß auf die Freisetzung bei verschiedenen pH-Werten besitzen. In diesem Fall liegt die Ursache jedoch in der Abhängigkeit der Freisetzung des Wirkstoffes vom pH-Wert selbst. Aufgrund dessen kommt der Einfluss des Hilfsstoffes in Abhängigkeit vom pH-Wert unterschiedlich stark zum tragen. Das beste Beispiel dafür stellt EMD 128130 dar, bei dem der Effekt von Lutrol F68 signifikant stärker in SiFsp^+ als in SGFsp^+ ausfällt, obwohl Lutrol F68 bei EMD 503982 und EMD 486019 keine pH-Wert abhängigen Eigenschaften zeigt.

Die Apparent Dissolution neutraler Wirkstoffe in physikalischen Mischungen mit Hilfsstoffen, die ein unabhängiges Verhalten vom pH-Wert zeigen, führt unter definierten Bedingungen zu identischen Freisetzungsprofilen bei verschiedenen pH-Werten. Bei Hilfsstoffen, deren Eigenschaft sich mit dem pH-Wert ändert, kann bei der Apparent Dissolution von einer verlangsamten Freisetzung des Wirkstoffes bei einer sinkenden Löslichkeit des Hilfsstoffes in Abhängigkeit vom pH-Wert ausgegangen werden. Für Wirkstoffe (Säuren/Basen), die ein pH-Wert abhängiges Auflösungsverhalten zeigen, nimmt der Effekt des Hilfsstoffes auf die Freisetzung mit sinkender Löslichkeit des Wirkstoffes zu. Die Auswirkung des Anteils an Hilfsstoff in einer physikalischen Mischung auf die Freisetzung eines Wirkstoffes wird in Kapitel 5.2.3.6. näher beschrieben. Grundsätzlich nimmt der Effekt des Hilfsstoffes mit steigendem Anteil in der physikalischen Mischung zu, während geringe Anteile an Hilfsstoff < 30 Prozent nicht zwangsläufig eine Auswirkung auf die Freisetzung zeigen. Bei einem Anteil von > 90 Prozent ist unabhängig von Hilfsstoff ein Einfluss auf die Freisetzung zu erwarten. Der Einfluss des Hilfsstoffes auf die Freisetzung zeigt eine extrem starke Abhängigkeit von der Zellbeschickung. Die Ergebnisse zeigen für die Freisetzung bei einer Zellbeschickung ohne Glasperlen die größte Beeinflussung. Bei schlecht löslichen Wirkstoffen, bei denen die Freisetzung im offenen System im Bereich der Sättigungskonzentration abläuft, wird sich der Einfluss eines pH-Wert abhängigen Hilfsstoffes erst bei einem hohen Anteil des Hilfsstoffes in der physikalischen Mischung zeigen.

5.2.3.3 Glasperleneinfluss

Die beiden verschiedenen Zellbeschickungen beeinflussen in großem Maße die Freisetzung der physikalischen Mischungen. Um einen Bezug zur Freisetzung des reinen Wirkstoffes herstellen zu können, wurden die physikalischen Mischungen unter identischen Bedingungen freigesetzt. Die Direkteinwaage der physikalischen Mischung wurde einer Mischung mit 2 g Glasperlen ($\varnothing$ 1mm) in der Pulver-/Granulatzelle gegenüber gestellt.

Bei der Freisetzung von EMD 128130 in physikalischer Mischung mit 90 Prozent Lutrol F68 wurden signifikante Unterschiede bei der Freisetzung mit Glasperlen im Vergleich zur physikalischen Mischung ohne Glasperlen beobachtet, Abbildung 64. Für die Freisetzung des reinen Wirkstoffes und der physikalischen Mischung konnte eine verbesserte Freisetzung in Anwesenheit der Glasperlen in SIFsp⁺ gezeigt werden. Die Anwesenheit von Glasperlen erhöht die effektive Oberfläche der Probe im Vergleich zu einem Pulverbett bei einer Direkteinwaage.

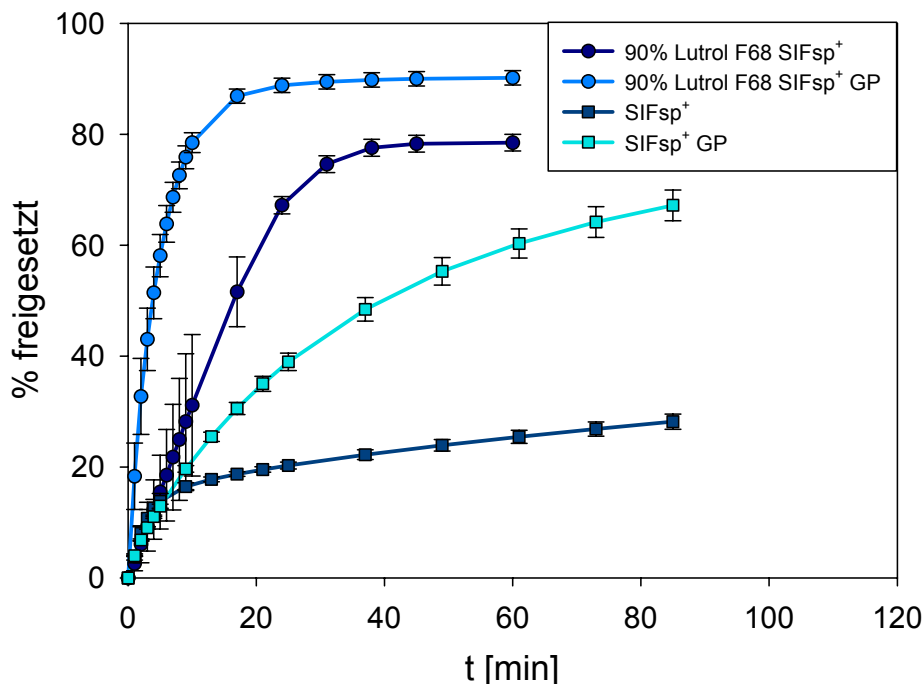


Abbildung 64: Freisetzung einer physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 128130 mit einem Anteil von 90 % an Lutrol F68 (LF68) im Vergleich zum reinen Wirkstoff in SIFsp⁺ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen (GP) sowie ohne GP. (n = 6)

Für die Freisetzung der gleichen physikalischen Mischung von EMD 128130 mit 90 Prozent Lutrol F68 in SGFsp⁺ im Vergleich zum reinen Wirkstoff führte die Anwesenheit von Glasperlen ebenfalls zu einer beschleunigten Freisetzung, Abbildung 65. Bedingt durch die bessere Löslichkeit von EMD 128130 in SGFsp⁺ und der damit einhergehenden schnellen Freisetzungskinetik, fiel der Effekt der Glasperlen geringer aus. Die Freisetzung der physikalischen Mischung und des reinen Wirkstoffes verliefen in Anwesenheit von Glasperlen annähernd identisch, bereits nach 5 Minuten waren über 90 Prozent freigesetzt. Die Freisetzung ohne Glasperlen zeigten ebenfalls ein identisches Profil in SGFsp⁺ im

Gegensatz zu SIFsp⁺ in dem die physikalische Mischung deutlich besser freisetzt. Die Ursache für den Profilverlauf liegt in der schlechten Benetzbarkeit beim reinen Wirkstoff, während bei der physikalischen Mischung die Benetzbarkeit keine Rolle spielt. In dem Fall bestimmt die Menge an Lutrol F68 die Auflösung, dies wird näher in Kapitel 5.2.3.6 erläutert.

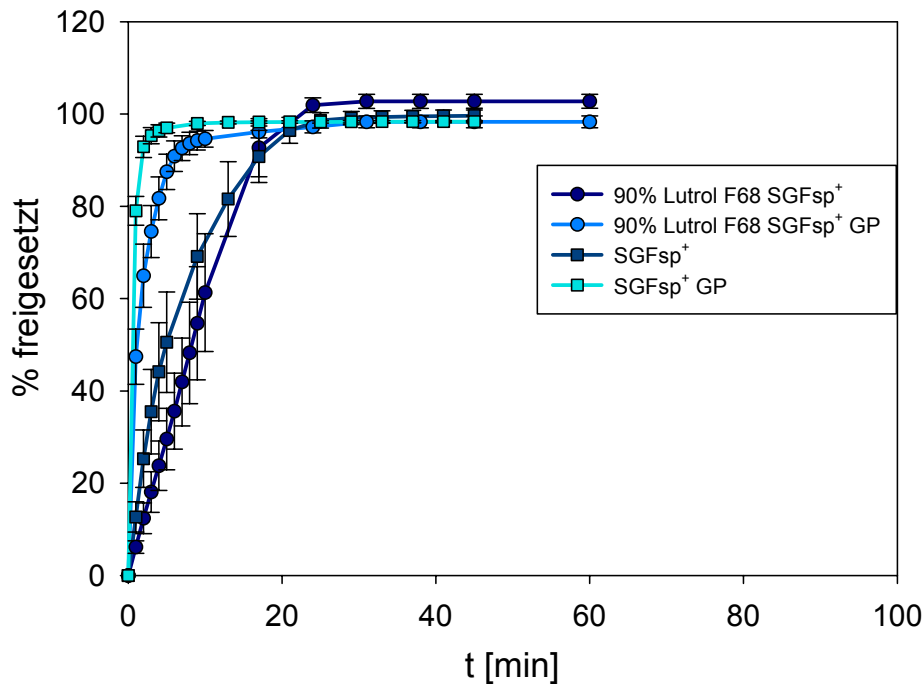


Abbildung 65: Freisetzung einer physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 128130 mit einem Anteil von 90 % an Lutrol F68 (LF68) im Vergleich zum reinen Wirkstoff in SIFsp⁺ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen (GP) sowie ohne GP. (n = 6)

Im Fall der Freisetzung einer physikalischen Mischung von EMD 128130 mit 30 Prozent Lutrol F68 in SGFsp⁺ im Vergleich zum reinen Wirkstoff, zeigte die Anwesenheit von Glasperlen von neuem eine bessere Freisetzung als ohne Glasperlen, Abbildung 66. Die Anwesenheit einer kleinen Menge an Hilfsstoff verbessert daher bereits die Benetzung des Wirkstoffes ausreichend, so dass bereits nach 7 Minuten der komplette Wirkstoff freigesetzt wurde, im Vergleich zu 20 Minuten beim reinen Wirkstoff.

Die Freisetzung einer physikalischen Mischung von EMD 128130 mit 30 Prozent Lutrol F68 in SIFsp⁺ zeigt im Vergleich zum reinen Wirkstoff gleichermaßen eine bessere Freisetzung in Anwesenheit von Glasperlen, Abbildung 67. Die Ursache liegt in der besseren Benetzung des Wirkstoffes.

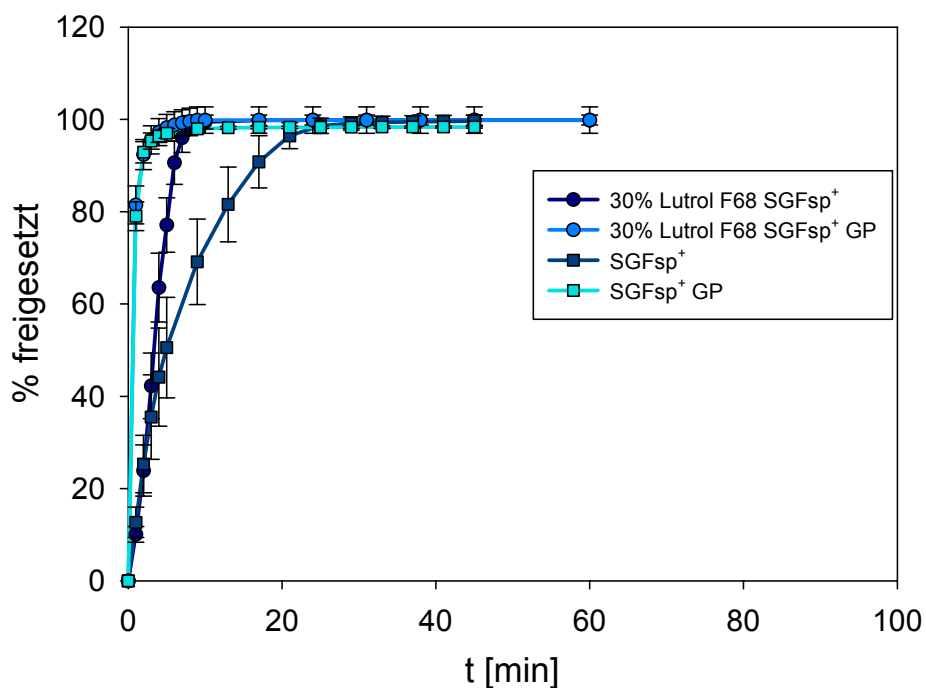


Abbildung 66: Freisetzung einer physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 128130 mit einem Anteil von 30 % an Lutrol F68 (LF68) im Vergleich zum reinen Wirkstoff in SGFsp+ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen (GP) sowie ohne GP. (n = 6)

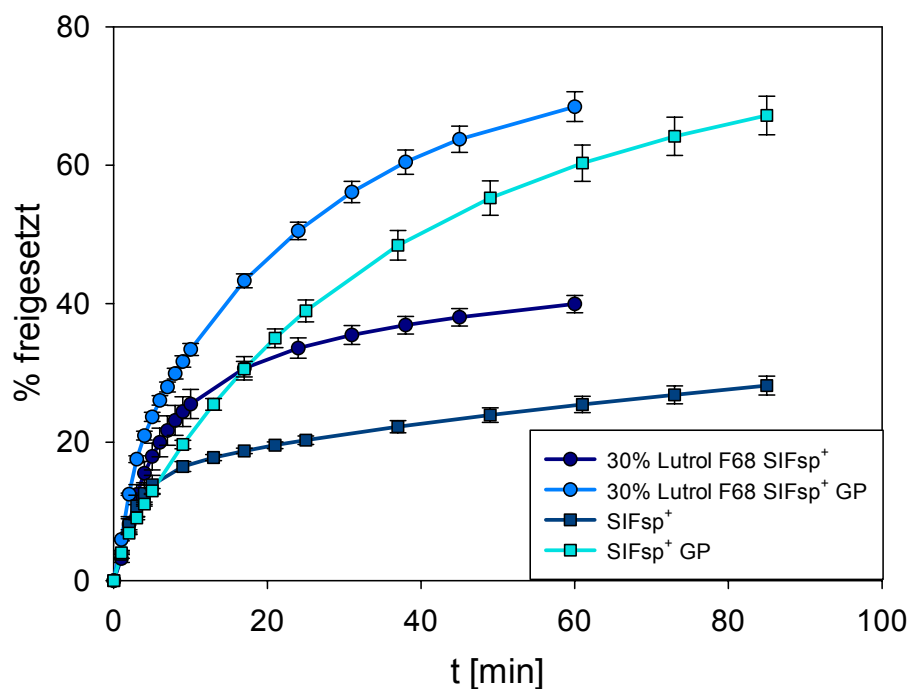


Abbildung 67: Freisetzung einer physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 128130 mit einem Anteil von 30 % an Lutrol F68 (LF68) im Vergleich zum reinen Wirkstoff in SIFsp+ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen (GP) sowie ohne GP. (n = 6)

Auf eine Darstellung der Daten von EMD 128130 in physikalischer Mischung mit emulgierender Stärke wird in diesem Fall verzichtet, da mit emulgierender Stärke vergleichbare Ergebnisse wie mit Lutrol F68 erzielt wurden. Beispielhaft wird in Abbildung 68 die Freisetzung von EMD 128130 in physikalischer Mischung mit 90 Prozent Chitosan in SGFsp⁺ gezeigt. Die Freisetzung der physikalischen Mischung ist stets langsamer als der reine Wirkstoff. Die Anwesenheit von Glasperlen bei der Zellbeschickung beschleunigt die Freisetzung der physikalischen Mischung. Die Ursache der verlangsamten Freisetzung einer physikalischen Mischung mit 90 Prozent Chitosan liegt an den Eigenschaften des Hilfsstoffes. Chitosan findet häufig Anwendung in der Kosmetikindustrie aufgrund seiner viskositätserhöhenden Eigenschaften. Die erhöhte Viskosität verlangsamt die Freisetzung des Wirkstoffes aus der physikalischen Mischung. Zusätzlich wird die Freisetzung durch die Menge sowie durch die Auflösungskinetik von Chitosan stark beeinflusst.

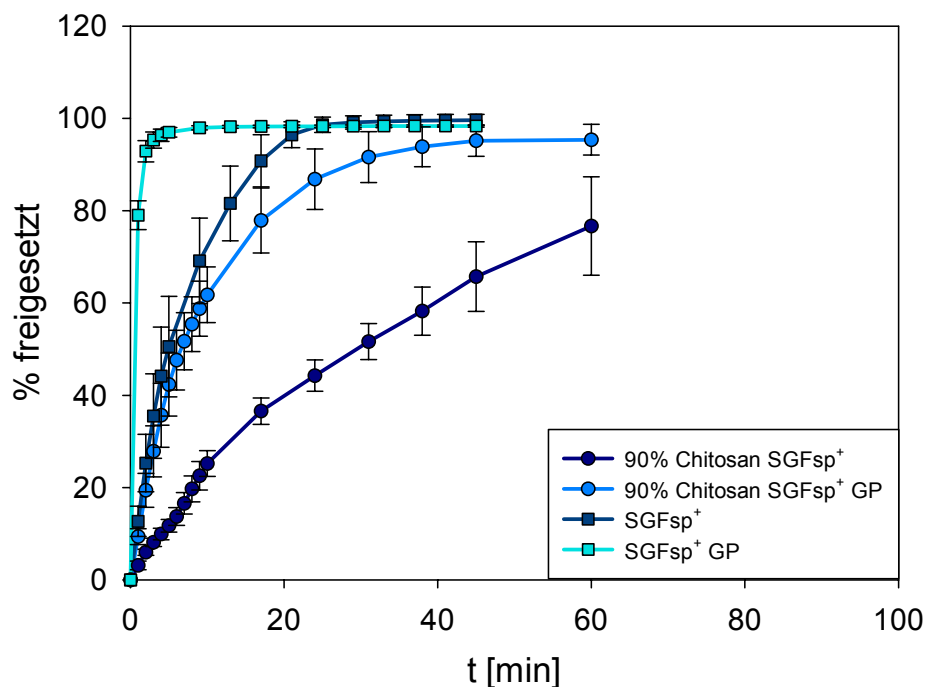


Abbildung 68: Freisetzung einer physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 128130 mit einem Anteil von 90 % an Chitosan im Vergleich zum reinen Wirkstoff in SGFsp⁺ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen (GP) sowie ohne GP. (n = 6)

Unabhängig vom Hilfsstoffgehalt konnte für physikalische Mischungen mit Chitosan in SGFsp⁺ und SIFsp⁺ eine Verbesserung der Freisetzung in Anwesenheit von Glasperlen gezeigt werden. Für die Wirkstoffe EMD 486019, EMD 503982 und EMD 525544 war dies gleichermaßen der Fall.

Beispielhaft werden die Auswirkungen der Zellbeschickung physikalischer Mischungen mit emulgierender Stärke an EMD 503982 gezeigt. EMD 503982 sowie die verwendete emulgierende Stärke verhalten sich unabhängig vom pH-Wert. Bei der Freisetzung konnten daher identische Ergebnisse in SGFsp⁺ und SIFsp⁺ beobachtet werden, nachfolgend sind dementsprechend nur die Ergebnisse in SGFsp⁺ dargestellt.

Bei der Freisetzung einer physikalischen Mischung von EMD 503982 mit einem Anteil von 30 Prozent emulgierender Stärke konnte kein Einfluss des Hilfsstoffes auf die Freisetzung beobachtet werden, Abbildung 69. Entsprechend den Daten der Wirkstoffcharakterisierung wurde für die physikalische Mischung eine verbesserte Freisetzung bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen beobachtet.

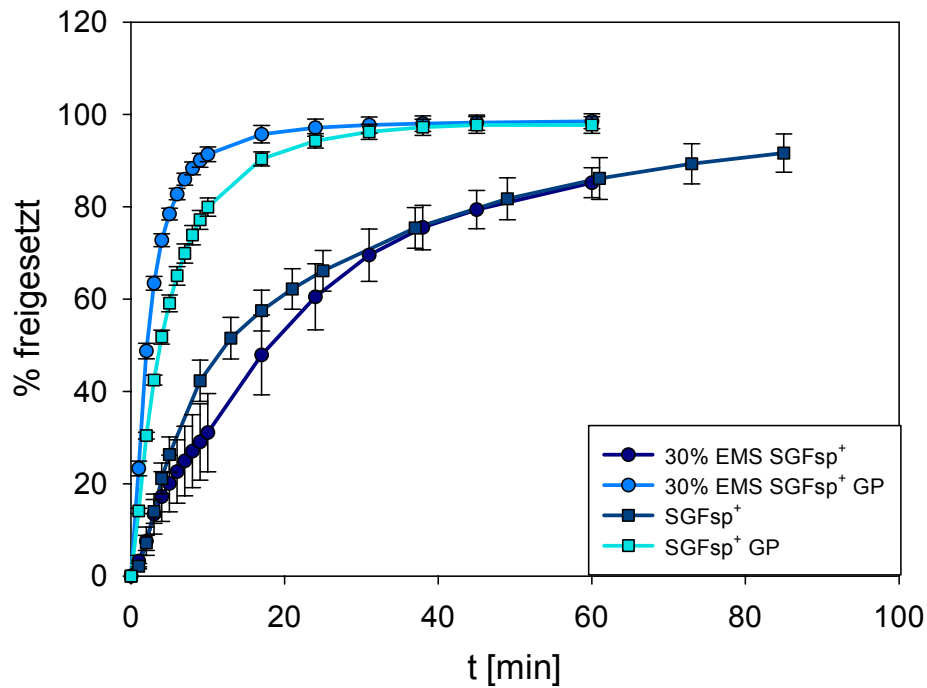


Abbildung 69: Freisetzung einer physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 503982 mit einem Anteil von 30 % an emulgierender Stärke im Vergleich zum reinen Wirkstoff in SGFsp⁺ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen (GP) sowie ohne GP. (n = 6)

Die Freisetzung physikalischer Mischungen von EMD 503982 mit 90 Prozent emulgierender Stärke zeigten gleichfalls ähnliche Profilverläufe des Wirkstoffes im Vergleich zur physikalischen Mischung mit 30 Prozent, Abbildung 70. Die Freisetzung der physikalischen Mischung bei der Zellbeschickung mit Glasperlen zeigt eine geringfügig schnellere Kinetik als der reine Wirkstoff. Im Fall der Freisetzung ohne Glasperlen verläuft das Profil des reinen Wirkstoffes innerhalb der ersten 17 Minuten schneller als die physikalische Mischung, anschließend ist die Freisetzung der physikalischen Mischung bis zum Zeitpunkt von 60 Minuten geringfügig erhöht.

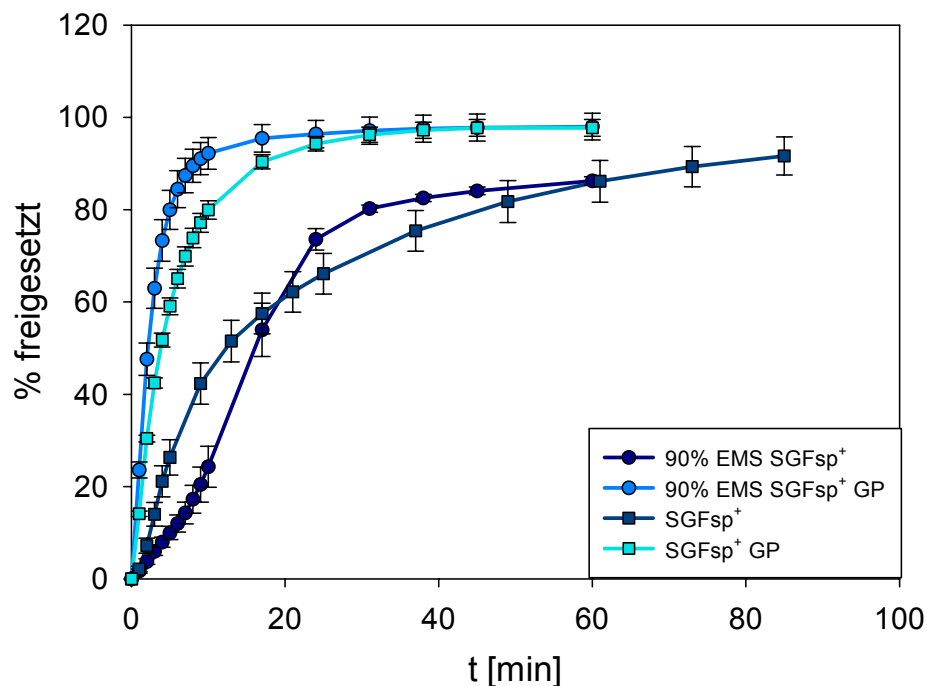


Abbildung 70: Freisetzung einer physikalischen Mischung von mikronisiertem EMD 503982 mit einem Anteil von 90 % an emulgierender Stärke im Vergleich zum reinen Wirkstoff in SGFsp⁺ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen (GP) sowie ohne GP. (n = 6)

Die Anwendung zwei verschiedener Zellbeschickungen für die Apparent Dissolution kann gezielt verwendet werden um Eigenschaften von Hilfsstoffen in physikalischen Mischungen besser zu verstehen bzw. diese Mischungen grundsätzlich zu charakterisieren. Im Allgemeinen kann geschlossen werden, dass die Verwendung von Glasperlen für die Zellbeschickung bei der Apparent Dissolution zu einer beschleunigten Freisetzung im Vergleich zur Direkteinwaage einer physikalischen Mischung führt. Im Speziellen konnten weitere Abhängigkeiten von der Zellbeschickung beobachtet werden. Eine Verbesserung der Freisetzung findet unabhängig vom Anteil des Hilfsstoffes in der physikalischen Mischung statt, das Ausmaß des Effektes ist jedoch entscheidend abhängig vom Hilfsstoffanteil. Die Auswirkung eines Hilfsstoffanteils von 30 % einer physikalischen Mischung auf die Freisetzung kann am besten mit der Zellbeschickung ohne Glasperlen untersucht werden. Bei einer Freisetzung mit Glasperlen wird in diesem Fall der Effekt des Hilfsstoffes häufig nivelliert, was zu einer identischen Freisetzung der physikalischen Mischung im Vergleich mit dem reinen Wirkstoff führt. Daher kann auch die Auswirkung der Auflösungskinetik des Hilfsstoffes auf die Freisetzung bei einer Zellbeschickung ohne Glasperlen am besten beobachtet werden.

5.2.3.4 Partikelgrößeneinfluss der Wirkstoffe

Der Einfluss der Partikelgröße auf die Freisetzung wurde bereits auf der Wirkstoffebene bei EMD 128130 und EMD 503982 untersucht. Von besonderem Interesse ist die Auswirkung der Partikelgröße des Wirkstoffes auf die Freisetzung physikalischer Mischungen. Es wurde untersucht, ob die Anwesenheit eines Hilfsstoffes diese Effekte bestätigt oder vorhandene Unterschiede nivelliert. Die identischen ungemahlene Ausgangschargen sowie die mikronisierten Produktionschargen wurden in physikalischen Mischungen mit EMD 128130 und EMD 503982 jeweils in SGFsp⁺ und SIFsp⁺ untersucht.

In Abbildung 71 ist die Freisetzung physikalischer Mischungen von EMD 128130 in SGFsp⁺ dargestellt. Um einen besseren Vergleich zwischen den beiden Zellbeschickungen zu gewährleisten, wurden die Ergebnisse nebeneinander dargestellt. Auf der linken Seite für die Zellbeschickung ohne Glasperlen und auf der rechten Seite die Zellbeschickung mit Glasperlen. Die Ergebnisse der verwendeten Hilfsstoffe Lutrol F68, emulgierende Stärke und Chitosan mit einem Anteil von 30 bzw. 90 Prozent in der physikalischen Mischung sind dabei gegenübergestellt. Bei allen drei Hilfsstoffen konnten für die physikalischen Mischungen bei der Zellbeschickung mit Glasperlen kein Unterschied in der Freisetzung für unterschiedliche Partikelgrößen des Wirkstoffes gezeigt werden. Entsprechende Ergebnisse wurden auch bei der Zellbeschickung ohne Glasperlen für die physikalischen Mischungen mit 90 Prozent Hilfsstoffanteil gefunden. Die Ergebnisse für die Zellbeschickung ohne Glasperlen und einem Hilfsstoffanteil von 30 Prozent entsprechen für Lutrol F68 und der emulgierende Stärke denen des reinen Wirkstoffes. In diesem Fall war die Freisetzung des unmikronisierten EMD 128130 schneller als die mikronisierte Charge aufgrund einer schlechteren Benetzung.

Die Abbildung 72 zeigt im Gegensatz zu Abbildung 71 die Freisetzung der physikalischen Mischungen von EMD 128130 in SIFsp⁺. Aufgrund der pH-Wert abhängigen Löslichkeit von EMD 128130 konnte bereits auf der Ebene des reinen Wirkstoffes in SIFsp⁺ eine deutlich verlangsamte Freisetzung im Vergleich zu SGFsp⁺ nachgewiesen werden. Dieser grundlegende Einfluss des Freisetzungsmediums wurde bei der Freisetzung der physikalischen Mischungen bestätigt. Allgemein wurde eine verbesserte Freisetzung der physikalischen Mischungen bei der Zellbeschickung mit Glasperlen beobachtet, dies entspricht den Ergebnissen des reinen Wirkstoffes. Für SIFsp⁺ zeigt sich, dass bei physikalischen Mischungen mit 90 Prozent Hilfsstoffanteil keine Nivellierung des Einflusses der Partikelgröße von EMD 128130 beobachtet wurde. Im Gegenteil, der Unterschied zwischen mikronisiertem und unmikronisiertem EMD 128130 fiel bei beiden Zellbeschickungen deutlich stärker als beim reinem Wirkstoff aus, wobei der Effekt ohne Glasperlen größer als mit Glasperlen war. Die Ursache liegt in der langsameren Freisetzung des Hilfsstoffes bei Zellbeschickungen ohne Glasperlen, dadurch kann der Hilfsstoff länger die Freisetzung positiv beeinflussen. Einzig bei der physikalischen Mischung mit 30 Prozent Chitosan und der Freisetzung ohne Glasperlen war kein Unterschied zwischen dem mikronisierten und unmikronisierten Wirkstoff zu erkennen.

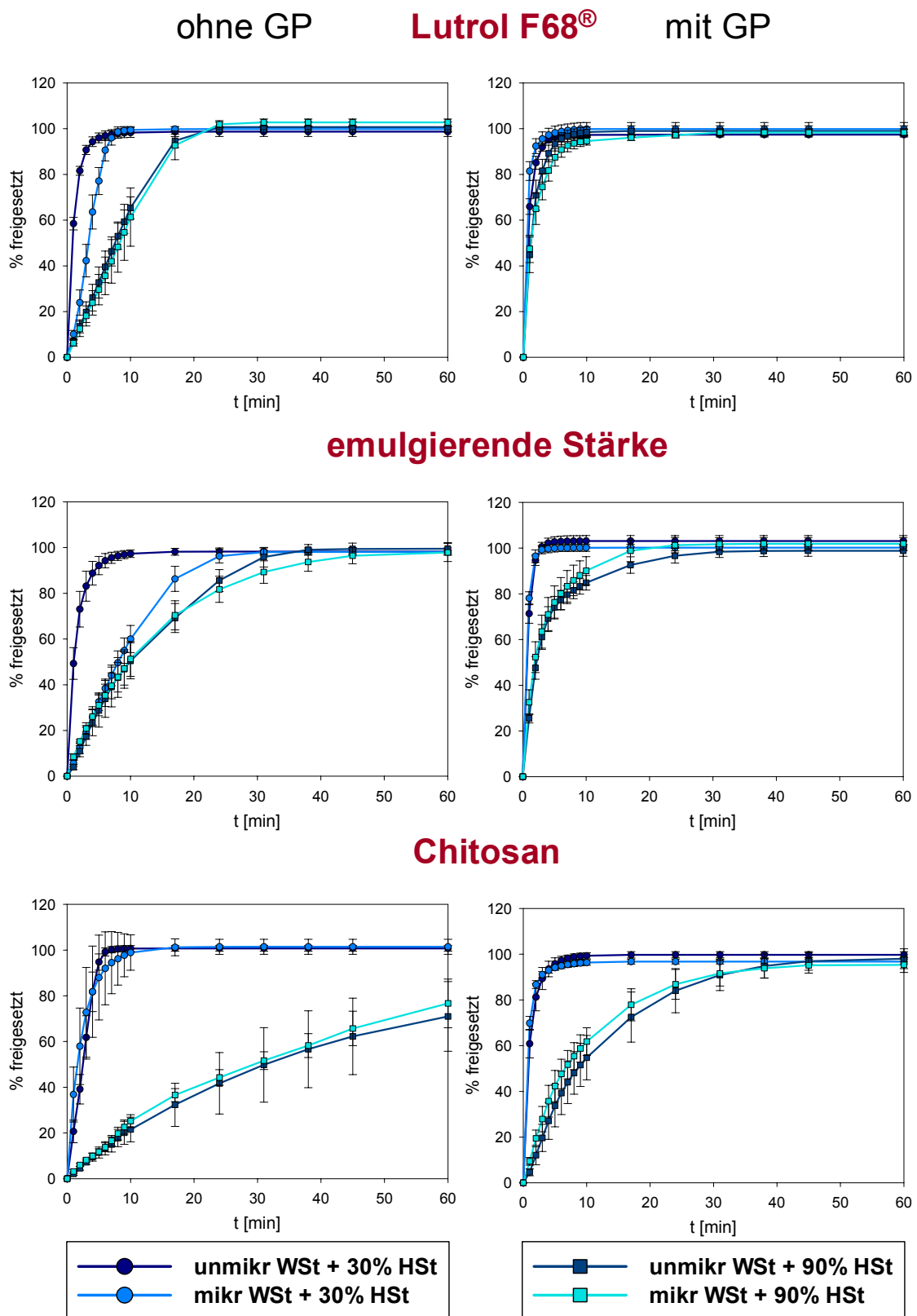


Abbildung 71: Freisetzung physikalischer Mischungen von mikronisiertem sowie unmikronisiertem EMD 128130 mit einem Hilfsstoffanteil von 30 % bzw. 90 % in SGFsp⁺ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen (GP) (rechte Seite) sowie ohne GP (linke Seite). (n = 6)

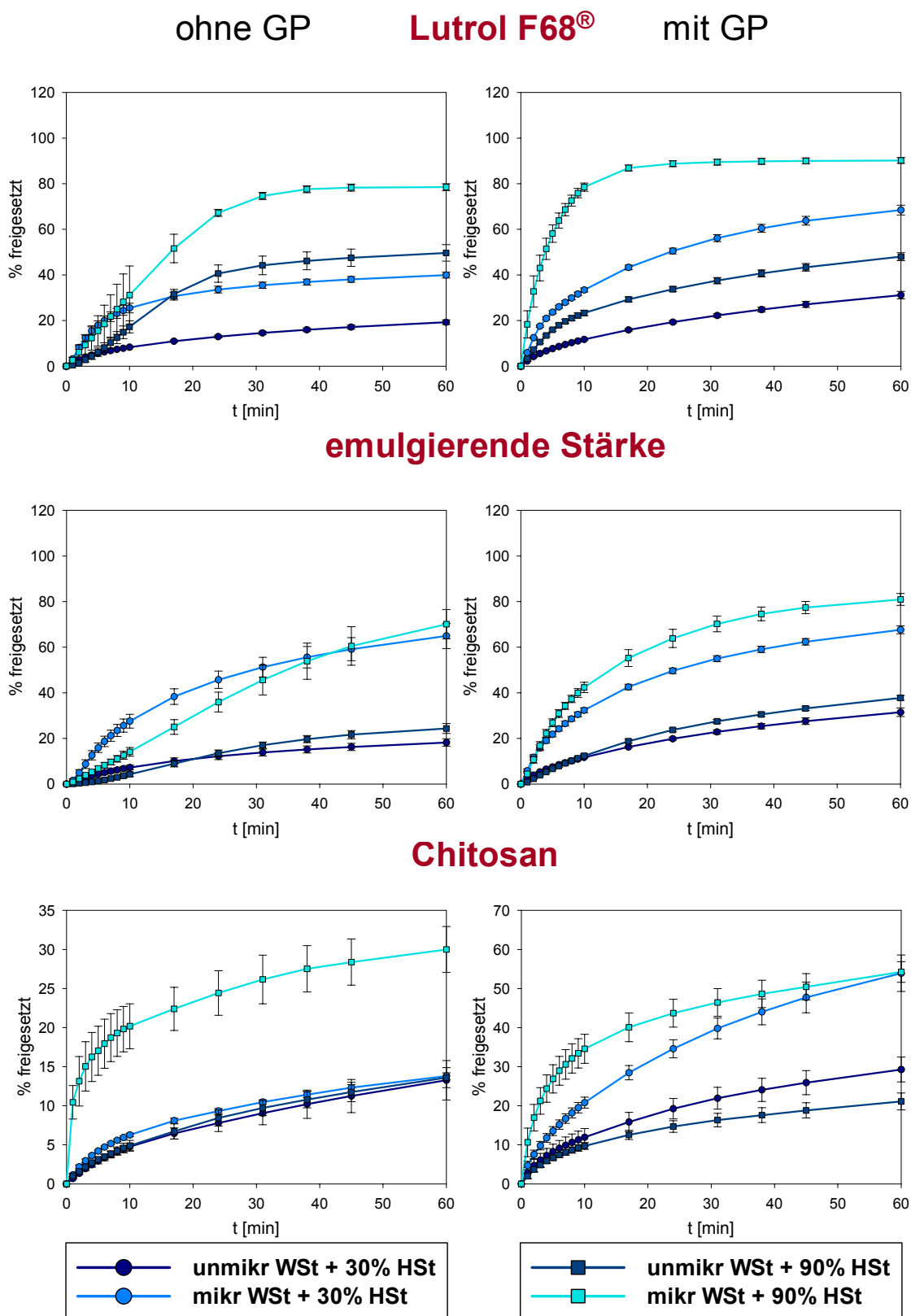


Abbildung 72: Freisetzung physikalischer Mischungen von mikronisiertem sowie unmikronisiertem EMD 128130 mit einem Hilfsstoffanteil von 30 % bzw. 90 % in SIFsp⁺ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen (GP) (rechte Seite) sowie ohne GP (linke Seite). (n = 6)

Wie für EMD 128130 wurde für EMD 503982 der Einfluss der Partikelgröße des Wirkstoffes in verschiedenen physikalischen Mischungen untersucht. In diesem Fall war von großem Interesse, ob die Freisetzung der physikalischen Mischungen mit Lutrol F68 und emulgierender Stärke in SGFsp⁺ sowie SIFsp⁺ in Abhängigkeit von der Partikelgröße identisch verlaufen. Dieser Wirkstoff zeigte bisher aufgrund seiner vom pH-Wert unabhängigen Löslichkeit eine pH-Wert unabhängige Freisetzung. Für Chitosan wurde ein Einfluss des pH-Wertes erwartet, da dieser Hilfsstoff ein pH-Wert abhängiges Verhalten aufweist.

Die Anordnung der Diagramme für EMD 503982 in Abbildung 73 entspricht der Anordnung in Abbildung 71 und 72 von EMD 128130. Auf der linken Seite ist die Zellbeschickung ohne Glasperlen und auf der rechten Seite mit Glasperlen abgebildet. Die Freisetzungen mit dem entsprechenden Hilfsstoff sind untereinander dargestellt. Abbildung 73 zeigt die Freisetzungen aller physikalischen Mischungen von EMD 503982 in SGFsp⁺. Bei der Freisetzung ohne Glasperlen konnten für die physikalischen Mischungen mit 30 Prozent Lutrol F68 bzw. 30 Prozent emulgierende Stärke Unterschiede in der Freisetzung in Abhängigkeit der Partikelgröße von EMD 503982 entsprechend den Ergebnissen des reinen Wirkstoffes beobachtet werden. Dabei war die Freisetzung der physikalischen Mischung mit unmikronisiertem EMD 503982 besser als mit mikronisiertem. Demzufolge führt ein geringer Anteil an Hilfsstoff in der physikalischen Mischung nicht zu einer verbesserten Benetzung des mikronisierten Wirkstoffes im Vergleich zum unmikronisierten Wirkstoff. Bei einem Anteil von 90 Prozent Hilfsstoff konnte bei beiden Zellbeschickungen kein Unterschied in der Freisetzung in Abhängigkeit der Partikelgröße von EMD 503982 beobachtet werden. Für die Zellbeschickung ohne Glasperlen wurden bei der physikalischen Mischung mit Chitosan keine Unterschiede in Bezug auf die Partikelgröße des Wirkstoffes gefunden. Dafür unterschied sich die Freisetzung in Abhängigkeit vom Anteil an Chitosan erheblich, dies wird in Kapitel 5.2.3.6 näher erläutert.

Die in Abbildung 74 gezeigten Freisetzungsprofile der physikalischen Mischungen von EMD 503982 in SIFsp⁺ entsprechen für die Hilfsstoffe Lutrol F68 und emulgierende Stärke wie erwartet den Profilen in SGFsp⁺ aus Abbildung 73. Für Chitosan wurde hingegen bei beiden Zellbeschickungen eine verlangsamte Freisetzung im Vergleich zu SGFsp⁺ gefunden, da es in SIFsp⁺ nicht in Lösung geht. Für die Zellbeschickung ohne Glasperlen konnte kein Einfluss der Partikelgröße des Wirkstoffes sowie vom Anteil des Chitosans in der physikalischen Mischung auf die Freisetzung gefunden werden. Bei der Freisetzung mit Glasperlen zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Freisetzung in Abhängigkeit vom Anteil an Chitosan aber nicht in Abhängigkeit der Partikelgröße von EMD 503982.

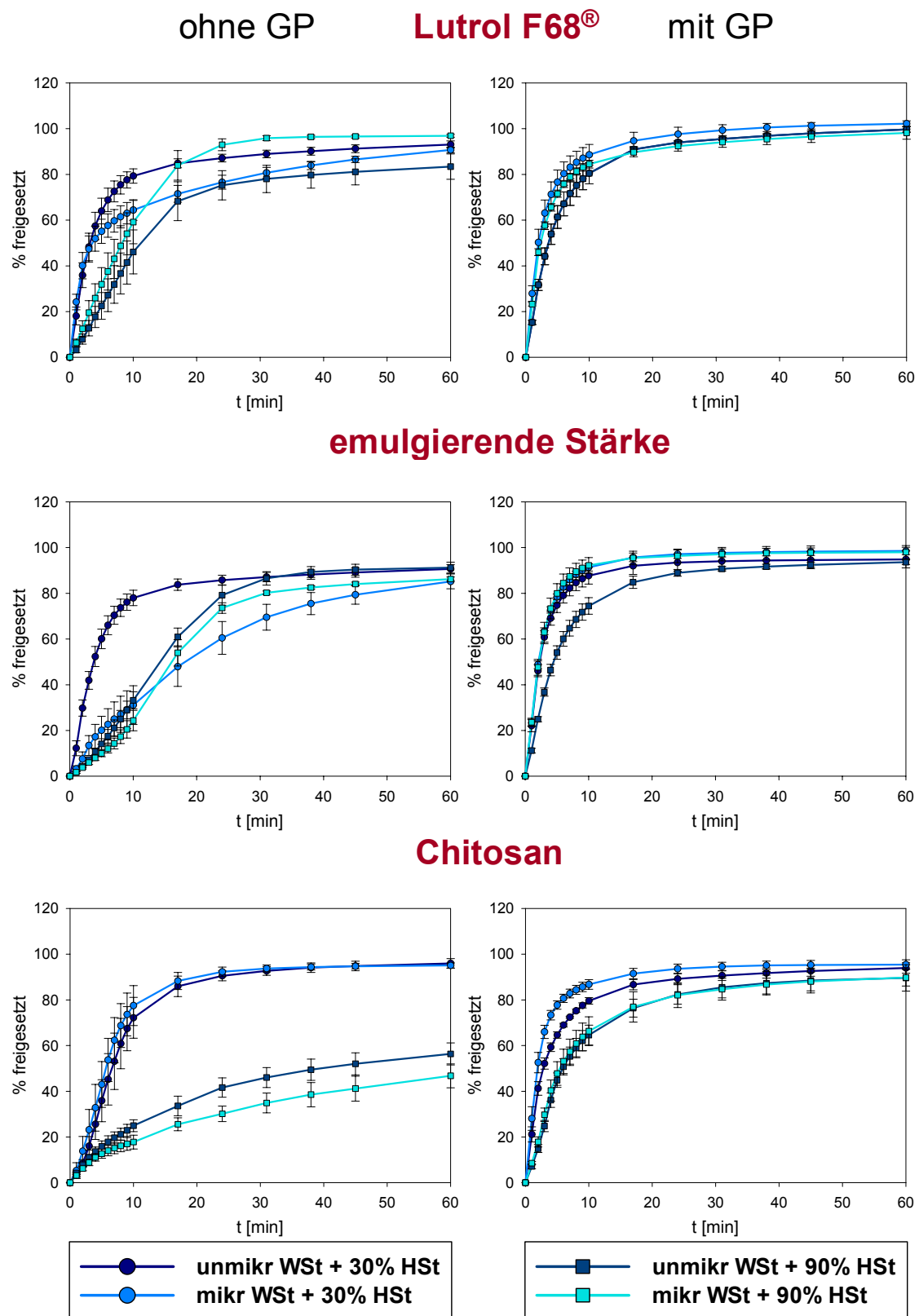


Abbildung 73: Freisetzung physikalischer Mischungen von mikronisiertem sowie unmikronisiertem EMD 503982 mit einem Hilfsstoffanteil von 30 % bzw. 90 % in SGFsp⁺ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen (GP) (rechte Seite) sowie ohne GP (linke Seite). (n = 6)

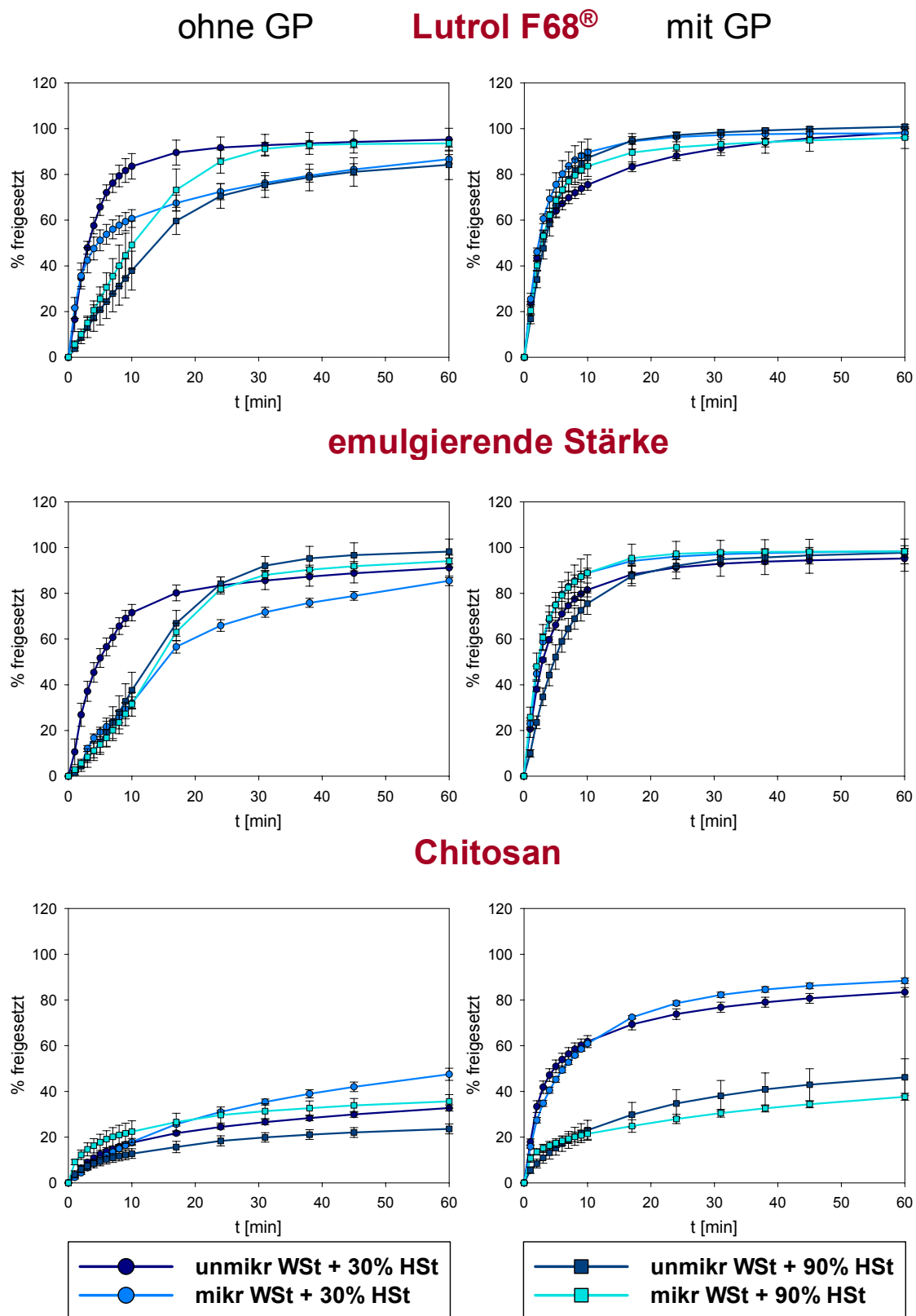


Abbildung 74: Freisetzung physikalischer Mischungen von mikronisiertem sowie unmikronisiertem EMD 503982 mit einem Hilfsstoffanteil von 30 % bzw. 90 % in SIFsp⁺ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen (GP) (rechte Seite) sowie ohne GP (linke Seite). (n = 6)

Der Einfluss der Partikelgröße eines Wirkstoffes auf die Freisetzung aus physikalischen Mischungen ist sehr stark abhängig vom Hilfsstoff, der Löslichkeit sowie dem Anteil an Hilfsstoff in der physikalischen Mischung. Die Effekte werden genauer in den folgenden Kapiteln dargestellt. Allgemein kann für den Einfluss der Partikelgröße des Wirkstoffes folgendes geschlussfolgert werden: Bei einem Hilfsstoffanteil von 90 Prozent wird die Freisetzung vorwiegend vom Auflösungsverhalten des Hilfsstoffes beeinflusst. Dies hat zur Folge, dass unter Bedingungen, bei denen der Wirkstoff an sich eine gute Freisetzung zeigt, Unterschiede in der Partikelgröße des Wirkstoffes keinen Einfluss auf die Freisetzung haben. Zeigt der Wirkstoff hingegen eine schlechte Löslichkeit bzw. eine langsame Freisetzung kann ein hoher Anteil eines löslichen Hilfsstoffes Unterschiede in der Partikelgröße des Wirkstoffes bei beiden Zellbeschickungen deutlich machen. Bei einem hohen Anteil an unlöslichen Hilfsstoffen ist kaum ein Einfluss der Partikelgröße des Wirkstoffes auf die Freisetzung zu erwarten. In diesem Fall wird der Wirkstoff von der Oberfläche der physikalischen Mischung freigesetzt, innerhalb dieser physikalischen Mischung dürfte der Wirkstoff durch Diffusion an die Oberfläche transportiert werden. Physikalische Mischungen mit einem Anteil von 30 Prozent an löslichen Hilfsstoffen verhalten sich bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen wie der reine Wirkstoff. Bei einer Zellbeschickung ohne Glasperlen können durch eine schlechte Benetzung bedingte Effekte teils besser gezeigt werden im Vergleich zum reinen Wirkstoff.

5.2.3.5 Löslichkeitseinfluss der Wirkstoffe

Der Einfluss der Löslichkeit eines Wirkstoffes auf die Freisetzung in physikalischen Mischungen ist besonders für schlecht lösliche Wirkstoffe interessant. Die physikalischen Mischungen stehen stellvertretend für klassische feste Formulierungen wie Tabletten und Kapseln. Der Anteil des Hilfsstoffes hat zusätzlich einen großen Einfluss auf die Freisetzung, dies ist nachfolgend in Kapitel 5.2.3.6 dargestellt. An dieser Stelle werden daher nur die Ergebnisse der Wirkstoffe EMD 128130, EMD 503982, EMD 486019 und EMD 525544 bei einem Hilfsstoffanteil von 90 Prozent und einer Zellbeschickung mit Glasperlen in den Freisetzungsmedien SGFsp⁺ und SIFsp⁺ gegenüber gestellt.

In Abbildung 75 sind die Freisetzungsprofile der vier Wirkstoffe in den physikalischen Mischungen mit Lutrol F68, emulgierende Stärke und Chitosan dargestellt. Die Einteilung der Wirkstoffe anhand ihrer Löslichkeit im Freisetzungsmedium ist in Tabelle 18 dargestellt. Für SGFsp⁺ wurde folgende Einstufung anhand der Löslichkeit gefunden, EMD 128130> EMD 503982> EMD 525544> EMD 486019. Für SIFsp⁺ gilt folgende Reihenfolge EMD 503982> EMD 128130> EMD 486019> EMD 525544. Bei der Freisetzung der reinen Wirkstoffe konnte diese Klassifizierung anhand der Löslichkeiten und der t_{50} -Werte bestätigt werden. Die Freisetzung physikalischer Mischungen mit 30 Prozent Hilfsstoffanteil entsprach dieser Einteilung, daher werden diese Daten hier nicht gezeigt. In SGFsp⁺ zeigten EMD 128130 und EMD 503982 in allen Hilfsstoffen eine identische Freisetzung. Die Freisetzung von EMD 486019 mit Lutrol F68 war signifikant besser als für EMD 525544. Für die Hilfsstoffe emulgierende Stärke und Chitosan war dies umgekehrt und entsprach damit der Einteilung anhand ihrer Löslichkeiten. Die Ursache für die bessere Freisetzung von EMD 486019 mit Lutrol F68 liegt in einer Interaktion des Wirkstoffes mit dem Hilfsstoff. Es kommt zur Bildung eines Eutektikums wodurch die Freisetzung von EMD 486019 enorm verbessert wurde. Diese Interaktion ist nicht in der

Literatur beschrieben, ein ähnlicher Effekt ist für Ibuprofen mit Polyvinylpyrrolidon bekannt. Da alle Wirkstoffe in physikalischer Mischung mit 90 Prozent Lutrol F68 keinen Schmelzpeak mehr in der DSC zeigten, ist ein Nachweis nur anhand der optischen Beobachtung möglich. Die Ursache des fehlenden Schmelzpeaks bei allen Wirkstoffen liegt darin, dass der geringe Wirkstoffanteil in der Schmelze von Lutrol F68 gelöst vorliegt. Daher konnte kein Schmelzpunkt des Wirkstoffes bestimmt werden. Die Annahme, dass es zur Bildung eines Eutektikums kommt, wurde bei der Herstellung der physikalischen Mischung mit 30 Prozent Lutrol F68 und EMD 486019 bestätigt. In diesem Fall kam es zur Bildung einer Schmelze bei Raumtemperatur, es konnte daher in der DSC kein Schmelzpeak von Lutrol F68 nachgewiesen werden, jedoch war ein Peak des Wirkstoffes vorhanden, da dieser im Überschuss vorlag. In SIFsp⁺ stimmt die Einteilung anhand der Löslichkeiten mit der Freisetzung der physikalischen Mischungen bei emulgierender Stärke und Chitosan als Hilfsstoff überein. Bei Lutrol F68 ist die Freisetzung für die Wirkstoffe EMD 128130, EMD 503982 und EMD 486019 weitestgehend identisch. Die Ursache liegt in der Bildung eines Eutektikums bei EMD 486019 mit Lutrol F68. Bei EMD 128130 wird die Freisetzung durch die schnelle Auflösung des Hilfsstoffes begünstigt. Gleichzeitig beeinflusst die Umwandlung von EMD 128130 zur freien Base in SIFsp⁺ die Freisetzung geringfügiger, da durch die schnelle Freisetzung sich weniger Wirkstoff in die Base umwandelt.

Allgemein kann geschlussfolgert werden, dass für physikalische Mischungen mit einem geringen Hilfsstoffanteil von 30 Prozent die Apparent Dissolution unabhängig von der Zellbeschickung der Einteilung nach den Löslichkeiten bzw. der Einteilung anhand der Apparent Dissolution des reinen Wirkstoffes entspricht. Bei physikalischen Mischungen mit einem hohen Anteil von 90 Prozent Hilfsstoff spielen die Eigenschaften des Hilfsstoffes eine viel größere Rolle. Dies hat zur Folge, dass Wirkstoffe mit einer unterschiedlichen Löslichkeit identische Freisetzungsprofile in physikalischen Mischungen zeigen, obwohl sich die reinen Wirkstoffe in ihrer Apparent Dissolution ursprünglich unterscheiden.

Wichtig ist die Überprüfung, ob eine Interaktion zwischen Hilfsstoff und Wirkstoff vorliegt. Dies kann wie im Fall von EMD 486019 mit Lurol F68 die Freisetzung erheblich beeinflussen.

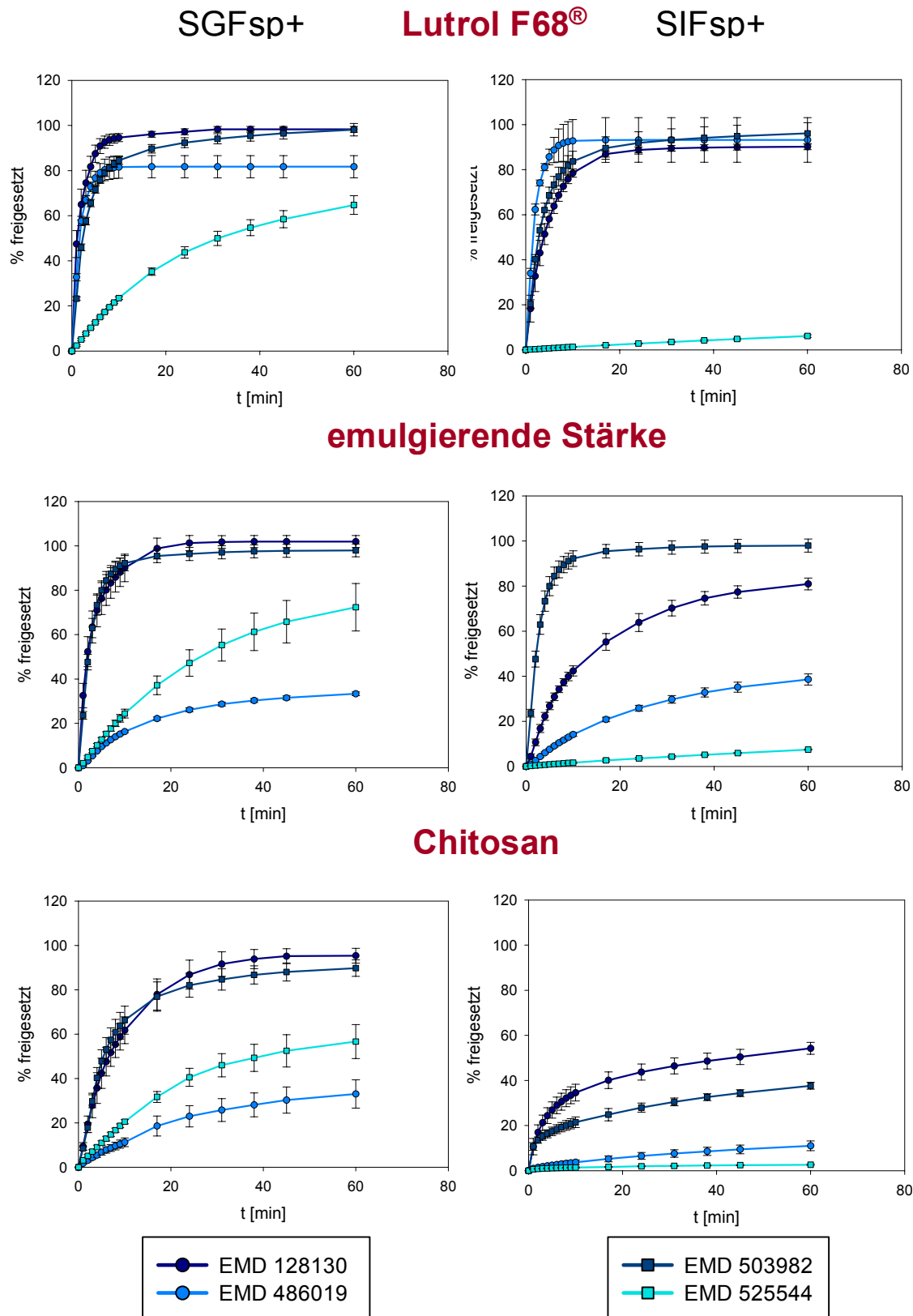


Abbildung 75: Freisetzung physikalischer Mischungen von mikronisiertem EMD 128130, EMD 503982, EMD 486019 und EMD 525544 mit einem Hilfsstoffanteil von 90 % in SGFsp⁺ (linke Seite) sowie in SIFsp⁺ (rechte Seite) bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen. (n = 6)

5.2.3.6 Einfluss der Hilfsstoffmenge

Wie in den vorherigen Kapiteln angedeutet, kann der Anteil an Hilfsstoff einen erheblichen Einfluss auf die Freisetzung des Wirkstoffes haben. Zum einen kann die Freisetzung mit zunehmendem Hilfsstoffgehalt bei gut löslichen Wirkstoffen verlangsamt werden. Zum anderen kann die Freisetzung bei schlecht löslichen Wirkstoffen erheblich mit steigendem Hilfsstoffanteil verbessert werden. Die Eigenschaften der Hilfsstoffart und deren Auswirkung auf die Freisetzung nehmen mit steigendem Hilfsstoffgehalt zu, dieser Einfluss wird im nachfolgenden Kapitel 5.2.3.7 näher betrachtet. In Abbildung 71 bis 75 sind bereits alle Freisetzung von mikronisierten sowie unmikronisierten EMD 128130 und EMD 503982 in den physikalischen Mischungen dargestellt. Beispielfhaft werden bestimmte Effekte der Hilfsstoffmenge in diesem Kapitel erläutert.

In Abbildung 76 ist beispielhaft der Effekt von Chitosan auf die Freisetzung von EMD 128130 in SGFsp⁺ dargestellt. Ein Anteil von 30 Prozent Chitosan in der physikalischen Mischung führt zu keiner Beeinflussung der Freisetzung im Vergleich zum reinen Wirkstoff, während ein Anteil von 90 Prozent die Freisetzung deutlich verlangsamt. Da Chitosan sich langsam in SGFsp⁺ löst und dabei gleichzeitig die Viskosität des Freisetzungsmittels erhöht, kommt es bei einem steigenden Anteil an Chitosan in physikalischen Mischungen zu einer negativen Beeinflussung der Freisetzung.

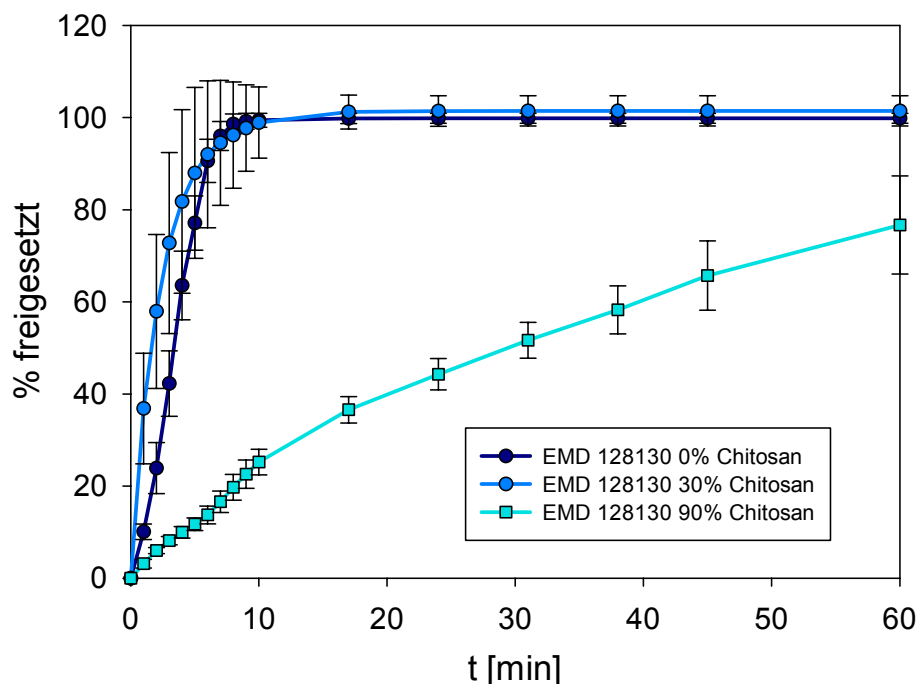


Abbildung 76: Freisetzung von mikronisiertem EMD 128130 und dessen physikalischen Mischungen mit Chitosan in SGFsp⁺ bei einer Zellbeschickung ohne Glasperlen. (n = 6)

Ein steigender Anteil an Hilfsstoff in physikalischen Mischungen, kann wie in Abbildung 77 gezeigt, auch zu einer deutlichen Verbesserung der Freisetzung führen. In diesem Beispiel wird die Freisetzung von EMD 128130 in Anwesenheit von Lutrol F68 in physikalischen Mischungen mit steigendem Anteil verbessert. Die schnelle Auflösung von Lutrol F68 beschleunigt die Freisetzung von EMD 128130 und verringert dadurch die Umwandlung in die freie Base, welche eine schlechtere Freisetzungskinetik besitzt.

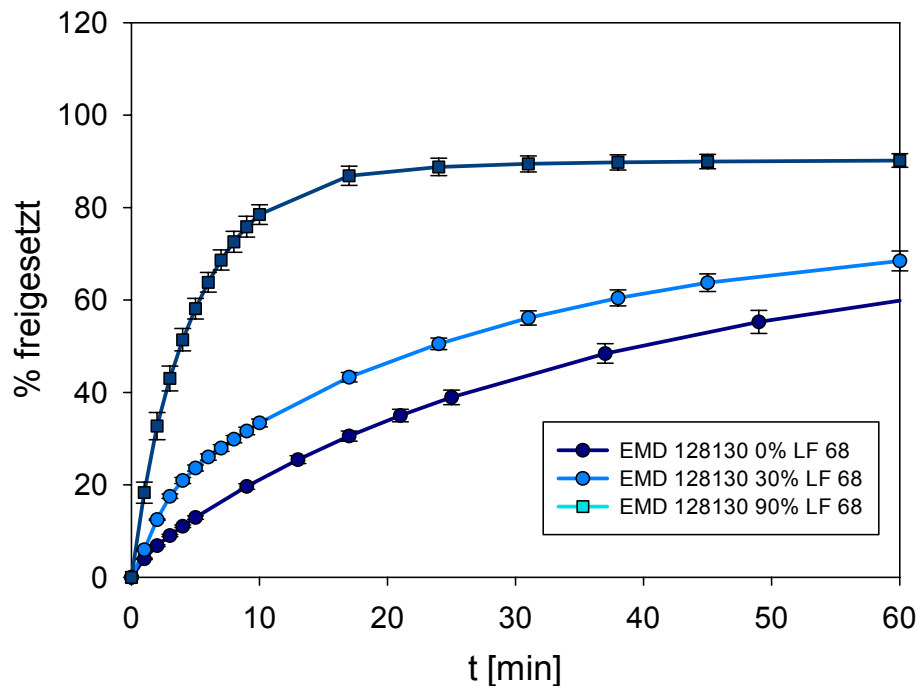


Abbildung 77: Freisetzung von mikronisiertem EMD 128130 und dessen physikalischen Mischungen mit Lutrol F68 (LF68) in SIFsp⁺ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen. (n = 6)

Chitosan zeigte mit steigendem Anteil in physikalischen Mischungen eine Verlangsamung der Freisetzung von EMD 503982 in SIFsp⁺ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen, Abbildung 78. Durch die Mischung mit dem in SIFsp⁺ unlöslichen Chitosan findet die Freisetzung ausschließlich von der Oberfläche der physikalischen Mischung statt. Dies führt zu der langsamen Freisetzung. Allgemein kann gefolgert werden, dass Hilfsstoffe, die eine langsame Auflösung zeigen bzw. unlöslich sind, mit steigendem Anteil in physikalischen Mischungen die Freisetzung verlangsamen.

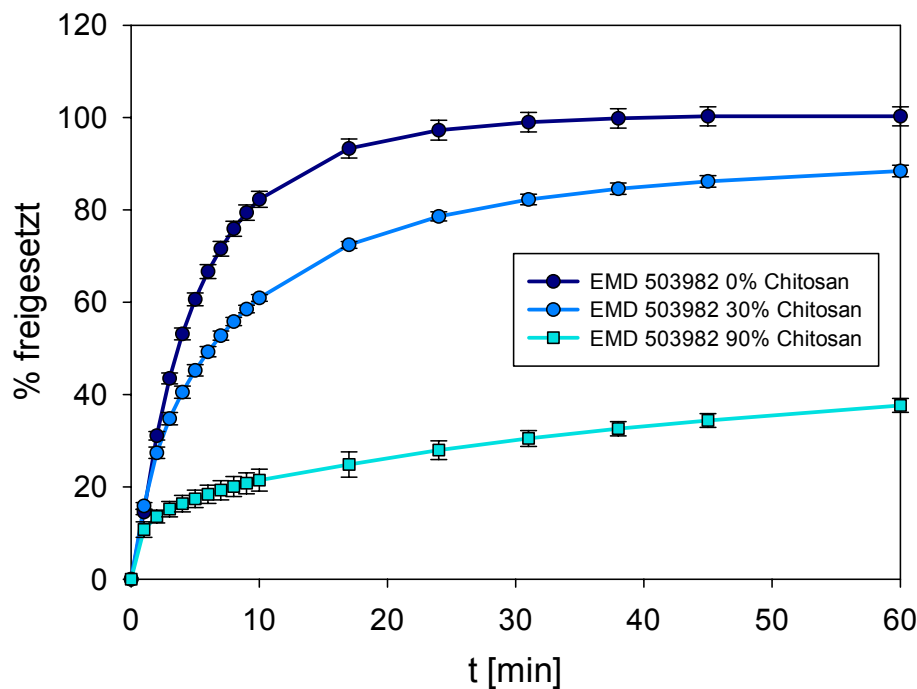


Abbildung 78: Freisetzung von mikronisiertem EMD 5039820 und dessen physikalischen Mischungen mit Chitosan in SIFsp⁺ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen. (n = 6)

Bei der Freisetzung von schwer löslichen Wirkstoffen wie EMD 486019 und EMD 525544 konnten bei einem steigenden Anteil emulgierender Stärke in physikalischen Mischungen keine Auswirkungen auf die Freisetzung beobachtet werden, Abbildung 79 und 80. Auch für die Hilfsstoffe Lutrol F68 und Chitosan wurde in SIFsp⁺ bei der Freisetzung von EMD 525544 kein Einfluss der Hilfsstoffmenge auf die Freisetzung beobachtet.

Hilfsstoffe, die die Löslichkeit eines Wirkstoffes nicht beeinflussen und sich selbst unter den gegebenen Bedingungen auflösen, beeinflussen die Apparent Dissolution schwer löslicher Wirkstoffe nur marginal. Da bei der Apparent Dissolution von schwer löslichen Wirkstoffen das Freisetzungsmedium beim Verlassen der Pulverzelle bereits annähernd gesättigt vorliegt, kann die Freisetzungsrage nicht verbessert werden. Daher kann ein Hilfsstoff, der nicht die Löslichkeit des Wirkstoffes im Freisetzungsmedium erhöht, die Freisetzung des Wirkstoffes nicht positiv beeinflussen. Einzig ein Hilfsstoff, der die Löslichkeit des Wirkstoffes nicht beeinflusst, aber eine extrem langsame Auflösung zeigt bzw. unlöslich ist, könnte die Freisetzung schwer löslicher Wirkstoffe negativ beeinflussen.

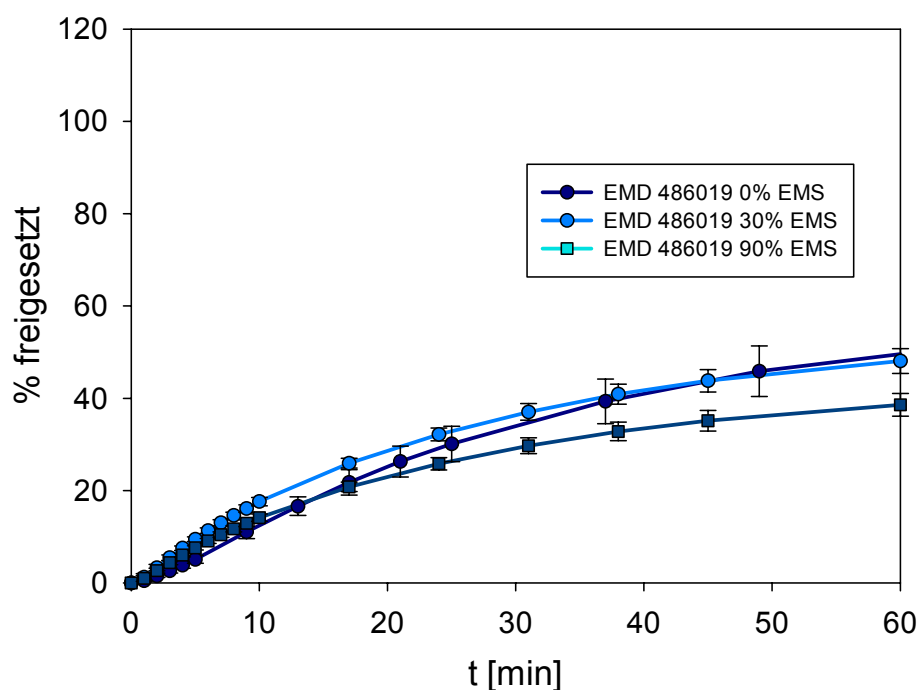


Abbildung 79: Freisetzung von EMD 486019 und dessen physikalischen Mischungen mit emulgierender Stärke (EMS) in SIFsp⁺ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen. (n = 6)

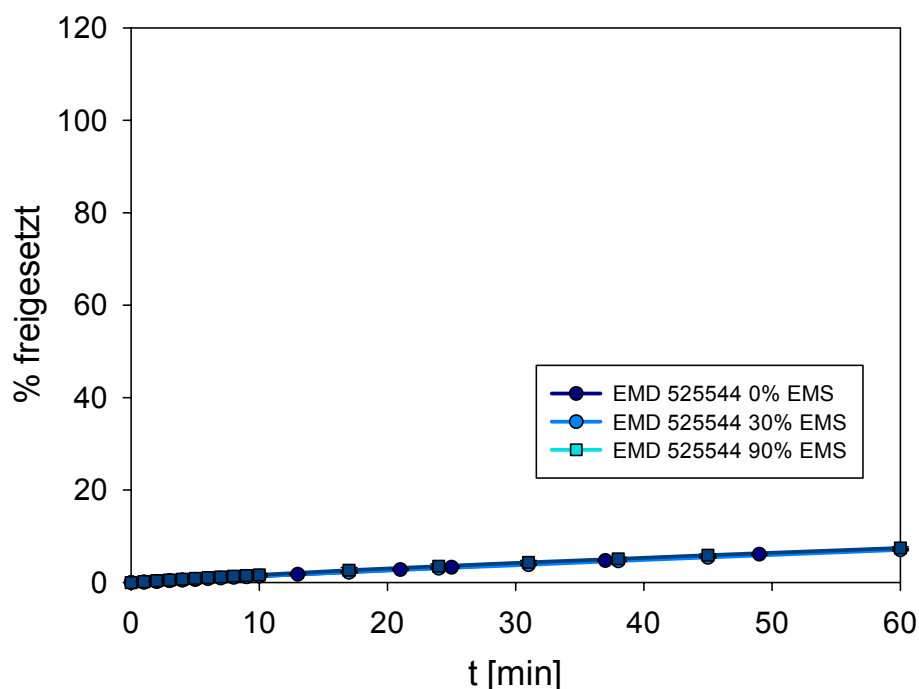


Abbildung 80: Freisetzung von EMD 525544 und dessen physikalischen Mischungen mit emulgierender Stärke (EMS) in SIFsp⁺ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen. (n = 6)

5.2.3.7 Einfluss von der Hilfsstoffart

Neben der Partikelgröße des Wirkstoffes, dem Anteil des Hilfsstoffes in physikalischen Mischungen und dem Freisetzungsmedium sind die Eigenschaften des Hilfsstoffes und die Art des Hilfsstoffes entscheidend für die Freisetzung von physikalischen Mischungen. Hilfsstoffe können unter anderem die Benetzung, die Löslichkeit sowie die Agglomeration von Wirkstoffen während der Freisetzung beeinflussen. Auch das eigene Auflösungsverhalten eines Hilfsstoffes kann die Freisetzung von Wirkstoffen beeinflussen. Bei unlöslichen Hilfsstoffen steht der Wirkstoff innerhalb der physikalischen Mischung nicht der Freisetzung direkt zur Verfügung. In diesem Fall diffundiert der gelöste Wirkstoff innerhalb der physikalischen Mischung an die Oberfläche, bevor er durch das Freisetzungsmedium abtransportiert wird. Dieser Diffusionsschritt verlangsamt die Freisetzung signifikant. Ein sich auflösender Hilfsstoff kann zusätzlich eine Änderung der Viskosität des Freisetzungsmediums hervorrufen und damit die Freisetzung eines Wirkstoffes verändern.

In Abbildung 81 und 82 sind beispielhaft die Freisetzungen von EMD 128130, EMD 503982, EMD 486019 und EMD 525544 in physikalischen Mischungen mit einem 90 prozentigen Anteil der Hilfsstoffe Chitosan, Lutrol F68 und emulgierender Stärke in SGFsp⁺ und SIFsp⁺ bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen dargestellt.

Chitosan zeigt entweder einen geringen Einfluss auf die Freisetzung bei schlecht löslichen Wirkstoffen oder eine Verlangsamung der Freisetzung bei gut löslichen Wirkstoffen in SGFsp⁺. In SIFsp⁺ ist die Freisetzung hingegen bei allen Wirkstoffen teils erheblich verlangsamt, da in SIFsp⁺ Chitosan unlöslich vorliegt. Aufgrund der pH-Wert abhängigen Eigenschaften von Chitosan wird die Freisetzung von neutralen Wirkstoffen wie EMD 503092 und EMD 486019 in SGFsp⁺ im Vergleich zu SIFsp⁺ unterschiedlich stark beeinflusst. Die Ursache der Verlangsamung der Freisetzung von gut löslichen Wirkstoffen in SGFsp⁺ beruht auf einer langsamen Auflösung mit einer Erhöhung der Viskosität durch das Chitosan. Ein Anteil von 30 Prozent Chitosan beeinflusst die Freisetzung der Wirkstoffe in einem viel geringeren Maße bzw. in vielen Fällen nur marginal.

Der Effekt von emulgierender Stärke auf die Freisetzung ist wirkstoffabhängig. Bei schwer löslichen Wirkstoffen kommt es zu keiner Beeinflussung der Freisetzung bzw. konnte in bestimmten Fällen eine verbesserte Freisetzung beobachtet werden. Geringe Mengen an emulgierender Stärke können die Benetzung der Wirkstoffe verbessern, die Daten sind nicht dargestellt. Im Fall von sehr gut löslichen Wirkstoffen kann emulgierende Stärke mit einem steigenden Anteil in den physikalischen Mischungen die Freisetzung verlangsamen. In diesem Fall wird die Freisetzung ausschließlich durch die Auflösung der emulgierenden Stärke bestimmt, siehe Abbildung 71 und 73.

Lutrol F68 zeigt eine ähnliche Auswirkung auf die Freisetzung wie die emulgierende Stärke. Bei den Wirkstoffen EMD 486019 und EMD 525544 konnten keine signifikanten Effekte auf die Freisetzung beobachtet werden. Eine verbesserte Benetzung durch 30% Lutrol F68 in physikalischen Mischungen konnte bei EMD 128130 und EMD 503982 beobachtet werden, Abbildung 59 und 61. Große Mengen

an Lutrol F68 in physikalischen Mischungen haben nicht zwangsläufig einen Einfluss auf die Freisetzung schwer löslicher Wirkstoffe. Im Fall von EMD 486019 und EMD 128130 kam es in SIFsp⁺ zu einer erheblichen Verbesserung der Freisetzung, während bei EMD 525544 kein Effekt beobachtet werden konnte. Auch zeigt sich, dass im Fall von sehr gut löslichen Wirkstoffen die Freisetzung mit steigendem Lutrol F68 Anteil verlangsamt wird, Abbildung 71 und 73.

EMD 525544

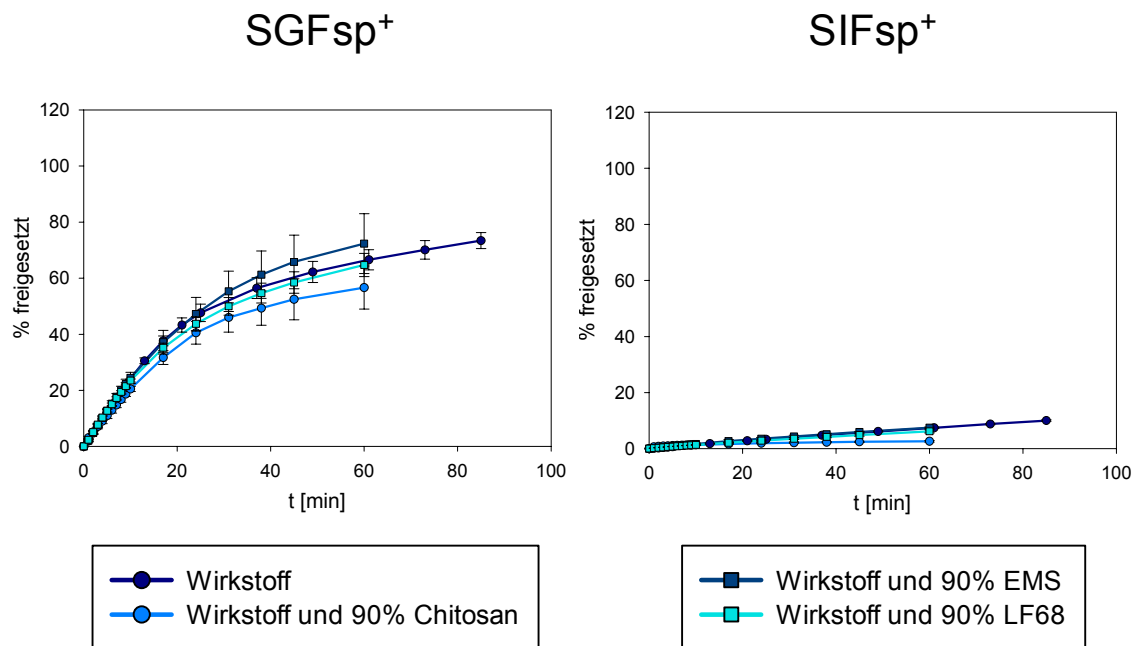


Abbildung 81: Freisetzung physikalischer Mischungen von EMD 525544 mit einem Hilfsstoffanteil von 90 % an Chitosan, Lutrol F68 (LF68) und emulgierender Stärke (EMS) in SGFsp⁺ (linke Seite) und SIFsp⁺ (rechte Seite) bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen. (n = 6)

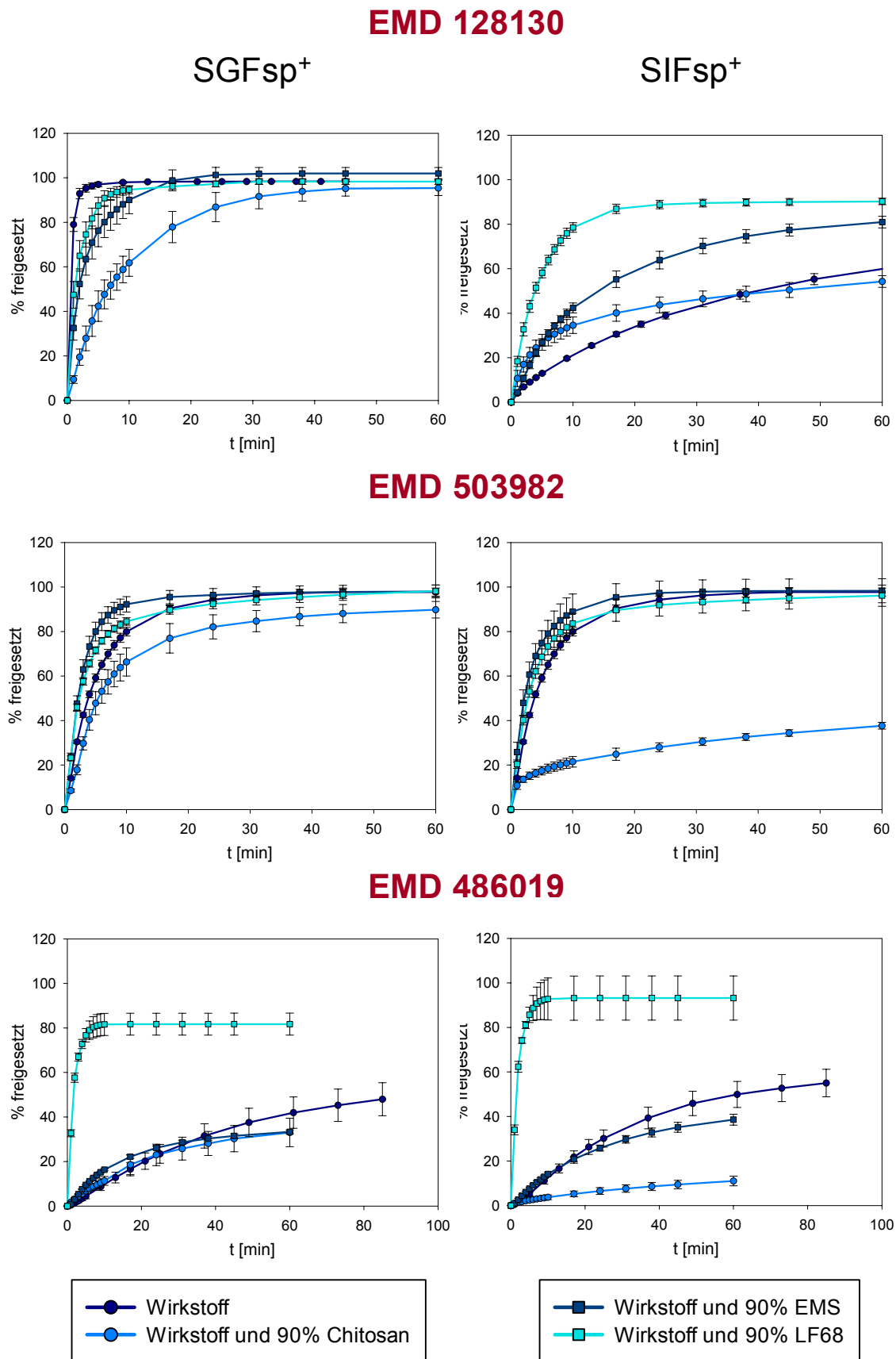


Abbildung 82: Freisetzung physikalischer Mischungen von EMD 128130, EMD 503982 und EMD 4860194 mit einem Hilfsstoffanteil von 90 % an Chitosan, Lutrol F68 (LF68) und emulgierender Stärke (EMS) in SGFsp⁺ (linke Seite) und SIFsp⁺ (rechte Seite) bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen. (n = 6)

5.2.3.8 Diskussion

Hilfsstoffe in physikalischen Mischungen können die Apparent Dissolution von Wirkstoffen auf verschiedenste Art beeinflussen. Bei gut löslichen bzw. schnell freisetzenden Wirkstoffen wird die Freisetzung mit steigendem Hilfsstoffgehalt in der physikalischen Mischung zunehmend durch den Hilfsstoff beeinflusst. Dies hat zur Folge, dass bei einem Anteil von 90 Prozent Hilfsstoff Unterschiede in der Partikelgröße des Wirkstoffes oder ursprüngliche Benetzungsprobleme keinen Einfluss mehr auf die Freisetzung zeigen. Gleichzeitig wird die Freisetzung fast ausschließlich aufgrund des Überschusses an Hilfsstoff durch dessen Auflösungsgeschwindigkeit bestimmt. Dies konnte bei den Wirkstoffen EMD 128130 und EMD 503982 mit den Hilfsstoffen Lutrol F68 und emulgierende Stärke gezeigt werden. Ein Hilfsstoffanteil von 30 Prozent in einer physikalischen Mischung kann bei einer Zellbeschickung ohne Glasperlen zu einer verbesserten Benetzung und damit gesteigerten Freisetzung führen. Unterschiede zwischen zwei Chargen werden dabei nicht nivelliert. Bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen zeigt hingegen die Freisetzung der physikalischen Mischung mit 30 Prozent Hilfsstoff einen ähnlichen Verlauf wie die Freisetzung des Wirkstoffes. Dies wurde bei den Wirkstoffen EMD 128130, EMD 503982, EMD 486019 und EMD 525544 beobachtet.

Im Fall einer Interaktion zwischen Wirkstoff und Hilfsstoff kann die Freisetzung erheblich durch den Hilfsstoff beeinflusst werden. Dies konnte anhand von EMD 486019 gezeigt werden. Durch die Bildung eines Eutektikums von EMD 486019 mit Lutrol F68 wurde eine stark beschleunigte Freisetzung beobachtet. Daher ist stets auf Interaktionen zwischen Wirkstoff und Hilfsstoff zu prüfen.

Für den Fall, dass wie bei der Freisetzung von EMD 128130 eine Umwandlung vom Salz in die freie Base stattfindet, kommt es durch anwesende Hilfsstoffe zu einer stärkeren Beeinflussung der Freisetzung. In den meisten Fällen findet eine Umwandlung zu einer schlechter freisetzenden Form statt. Die Anwesenheit von Hilfsstoffen beeinflusst daher die Geschwindigkeit und das Ausmaß einer Umwandlung erheblich. Vor allem schnell auflösende Hilfsstoffe führen zu einer besseren Freisetzung des Wirkstoffes. Aufgrund dessen wurde die Freisetzung von EMD 128130 in SIFsp⁺ erheblich durch die Anwesenheit von Lutrol F68 bzw. durch emulgierende Stärke gesteigert.

Hilfsstoffe, die nicht die Löslichkeit eines Wirkstoffes beeinflussen und gleichzeitig eine gute Löslichkeit zeigen, beeinflussen die Freisetzung schwer löslicher Wirkstoffe kaum. Dies trifft vor allem auf den Fall zu, dass bereits bei der Freisetzung des reinen Wirkstoffes das Freisetzungsmedium beim Verlassen der Pulver-/ Granulatzelle annähernd gesättigt vorlag.

Die Klassifizierung der Wirkstoffe anhand ihrer Löslichkeit bzw. ihrer Apparent Dissolution ist bei physikalischen Mischungen nicht möglich, da der Einfluss von Hilfsstoffen auf die Freisetzung von Parametern wie Benetzung, Interaktionen, Auflösungskinetik des Hilfsstoffes und den Eigenschaften des Wirkstoffes abhängt. Daher können sich Ergebnisse der Apparent Dissolution zweier Wirkstoffe im Vergleich zur Apparent Dissolution der physikalischen Mischungen mit demselben Hilfsstoff umdrehen.

Physikalische Mischungen in Ansätzen von 400 mg sind gut geeignet um den Einfluss eines Hilfsstoffes auf die Freisetzung von Wirkstoffen zu evaluieren. Gerade in der Präformulierung sind aufgrund der geringen Verfügbarkeit der neuen Wirkstoffe Dissolutionmethoden im small scale Bereich geschätzt, um Vorhersagen für die Formulierungsfindung treffen zu können. Die Apparent Dissolution bietet die Möglichkeit der Qualitätskontrolle von pharmazeutischen Mischungen und

Granulaten vor der Formulierung, so dass der Ausschuss bei Produktionschargen verringert werden kann. Das folgende Praxisbeispiel zeigt die Wichtigkeit der Bewertung von Wirkstoffchargen mittels Apparent Dissolution vor der Formulierung.

5.2.4 Praxisbeispiel: Formulierungsentwicklung

Während der Formulierungsentwicklung wird meistens anhand kleiner Ansätze die optimale Tablettenformulierung evaluiert. Dabei wird unter anderem mittels der klassischen Blattrührer-Apparatur die Freisetzung bestimmt. Wenn eine bestimmte Formulierung weiterverfolgt wird, werden Spezifikationen für die Freisetzung festgelegt und es erfolgt ein Upscale der Herstellung auf größere Ansätze. Dies führte im folgenden Beispiel beim Wirkstoff EMD 503982 zu sehr divergenten Ergebnissen bei der Freisetzung der Entwicklungsformulierung (Formulierung B) im Vergleich zum ersten großen Herstellungsansatz (Formulierung A). Für den Herstellungsansatz wurde eine neue Wirkstoffcharge verwendet, die auf gleiche Weise gewonnen und mikronisiert wurde wie die Entwicklungsformulierung. Beide Wirkstoffchargen unterscheiden sich daher nicht wesentlich in ihrer Partikelgröße sowie in ihrer Oberfläche. Dennoch wurde bei der Freisetzung mittels Blattrührerapparatur in 0,1 N HCl ein erheblicher Unterschied zwischen beiden Formulierungen festgestellt, siehe Abbildung 83. Die Freisetzung erfolgte unter gleichen standardisierten Bedingungen, einzig die Probennahmezeitpunkte unterscheiden sich. Nach 60 Minuten waren 41 Prozent bei Formulierung A im Vergleich zu 79 Prozent bei Formulierung B freigesetzt. Da die Herstellung beider Formulierungen unter identischen Bedingungen erfolgte, wurde die Ursache für die Divergenz der Freisetzungsdaten auf der Wirkstoffebene vermutet. Daher bietet sich die Charakterisierung der beiden mikronisierten Wirkstoffchargen mittels Apparent Dissolution an.

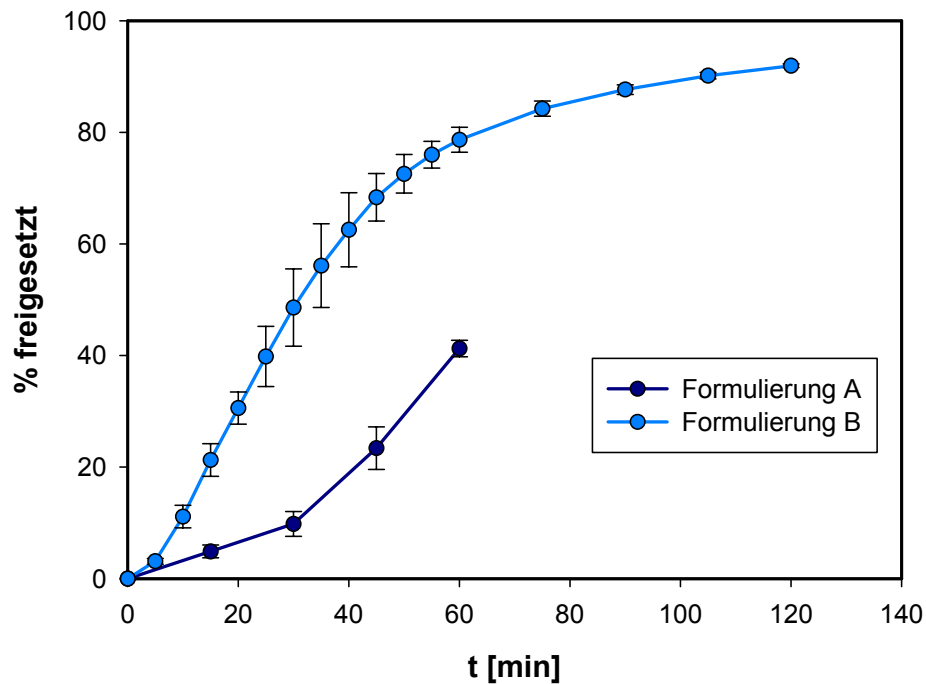


Abbildung 83: Freisetzung einer Entwicklungsformulierung von EMD 503982 (Formulierung B) im Vergleich mit der identischen Formulierung nach einem Upscale (Formulierung A) in 1000 ml 0,1 N HCL mittels einer Blattrührerapparatur bei 50 rpm. (n = 6)

Für die Untersuchung der beiden mikronisierten Wirkstoffchargen wurden physikalische Mischungen (Batch A & B) mit einem Anteil von 30 Prozent des Haupthilfsstoffes aus der Formulierung hergestellt. Dabei enthält Batch A die Wirkstoffcharge von Formulierung A und Batch B die Wirkstoffcharge von Formulierung B. Aufgrund der Erfahrungen mit der Apparent Dissolution können geringe Hilfsstoffmengen die Benetzung von Wirkstoffen zwar verbessern, dennoch werden Unterschiede in der Benetzung zwischen zwei Chargen nicht nivelliert. Falls ein unterschiedliches Benetzungsverhalten der Wirkstoffchargen vorliegt, dürfte dies mittels der Apparent Dissolution erfasst werden. Bei der Freisetzung der physikalischen Mischungen in pH 4,5 wurde bei einer Zellbeschildung ohne Glasperlen ein Unterschied zwischen Batch A und Batch B beobachtet, Abbildung 84. Die langsamere Apparent Dissolution von Batch A im Vergleich zu Batch B deckt sich mit dem Ergebnis Freisetzung von Formulierung A im Vergleich zu Formulierung B. Der Wechsel von 1 N HCl zu pH 4,5 hat keine Auswirkung auf das Freisetzungsverhalten von EMD 503982, dies konnte bereits in diesem Kapitel gezeigt werden.

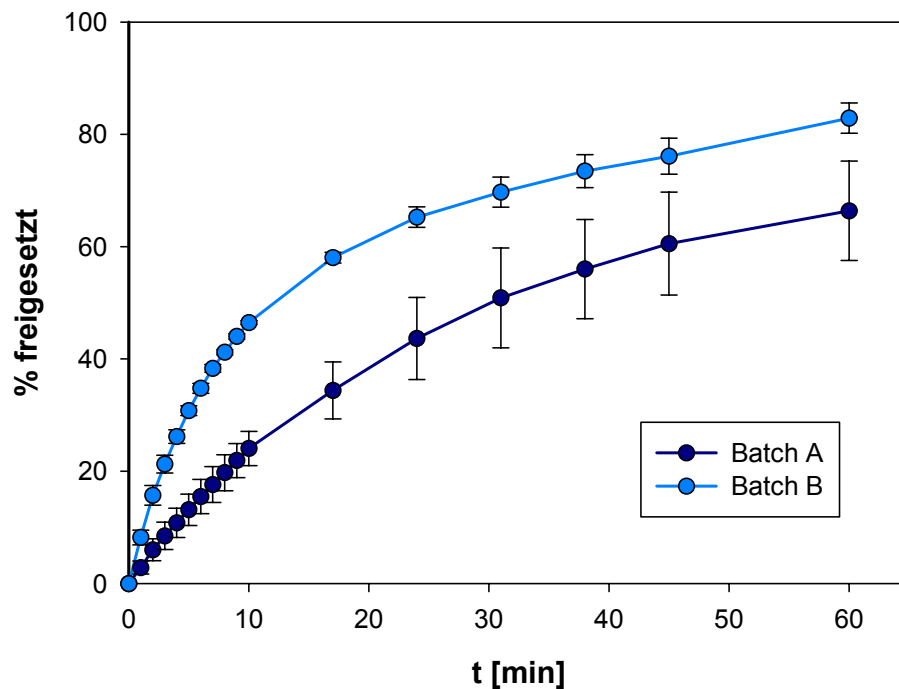


Abbildung 84: Apparent Dissolution physikalischer Mischungen mit 30 Prozent Hilfsstoffanteil zweier verschiedener Wirkstoffchargen von EMD 503982 (Batch A und Batch B) in pH 4,5 bei einer Zellbeschickung ohne Glasperlen. (n = 3)

Bei der Methodenentwicklung der Apparent Dissolution konnte gezeigt werden, dass bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen Benetzungsunterschiede nivelliert werden bzw. wird eine Agglomeratbildung des Wirkstoffes verhindert. Daher müsste die Freisetzung von Batch A und Batch B einen identischen Verlauf bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen zeigen. Bei der Freisetzung von Batch A und Batch B in pH 4,5 bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen wurde diese Annahme nachgewiesen, Abbildung 85. Dadurch konnte die Annahme bestätigt werden, dass die Unterschiede bei der Freisetzung von Formulierung A im Vergleich zu Formulierung B auf der Wirkstoffebene liegt. Eine vergleichbare Partikelgröße und Oberfläche bei verschiedenen Wirkstoffchargen muss demzufolge nicht in einer vergleichbaren Freisetzung resultieren. Unterschiedliche elektrostatische Aufladungen von Wirkstoffchargen können zu Unterschieden bei der Benetzung als auch zu einer Agglomeratbildung des Wirkstoffes während der Freisetzung führen. Dieser Effekt kann sich, wie in diesem Beispiel, bis auf die fertige Tablettenformulierung auswirken.

Die Apparent Dissolution bietet frühzeitig die Möglichkeit, Wirkstoffchargen hinsichtlich ihres Freisetzungsverhaltens zu charakterisieren, um Fehlproduktionen zu verringern.

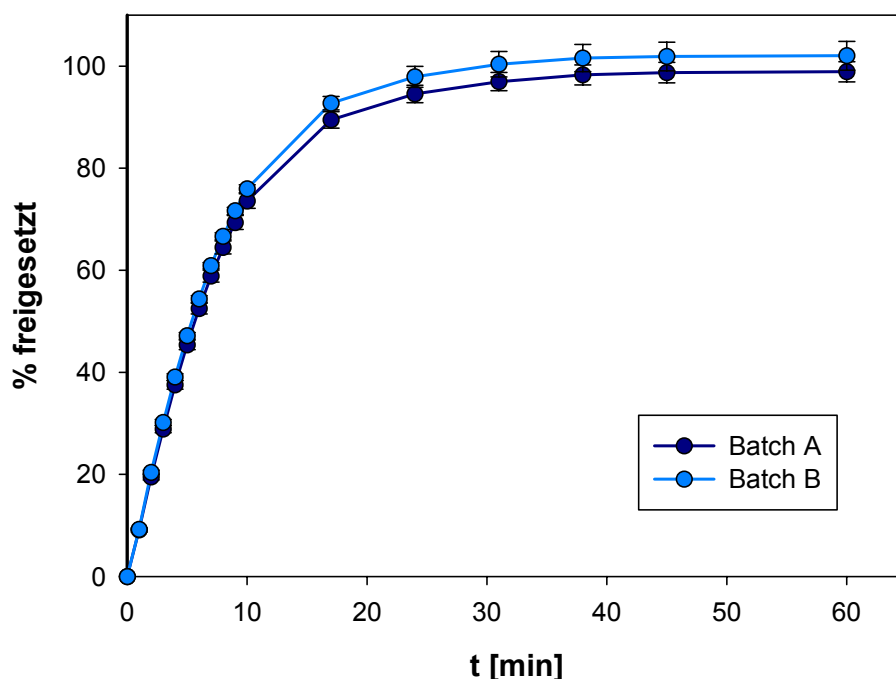


Abbildung 85: Apparent Dissolution physikalischer Mischungen mit 30 Prozent Hilfsstoffanteil zweier verschiedener Wirkstoffchargen von EMD 503982 (Batch A und Batch B) in pH 4,5 bei einer Zellbeschickung mit Glasperlen. (n = 6)

5.3 Entwicklung eines neuen Systems zur Intrinsic Dissolution

5.3.1 Design und Umsetzung eines neuen Zelleinsatzes für Durchflusszellen

Die vorhandenen kommerziellen Systeme gemäß USP oder Ph.Eur. sowie das System von pion zur Intrinsic Dissolution beruhen alle auf dem gleichen Prinzip. Dabei erfolgt die Auflösung von einer konstanten Oberfläche in einem Gefäß verschiedenster Größe. Daher kumuliert in allen Fällen der Wirkstoff während der Freisetzung (Avdeef A & Tsinman O 2008; Berger CM et al. 2007; Forbes RT & Davidson JR 1995; Ghazal HS et al. 2008; Granero GE et al. 2005; Kobayashi Y et al. 2000; Missel PJ et al. 2004; Neervannan S et al. 1994; Peltonen L et al. 2003; Rao VM et al. 1997; Stevens LE & Missel PJ 2006; Sun W et al. 2003; Thompson M et al. 2003; Vreecer F et al. 2003).

Bisher existiert keine Möglichkeit zur Messung der Intrinsic Dissolution in einer Durchflusszelle. Daher stellte sich die Frage der Umsetzung und Entwicklung eines Systems zur Intrinsic Dissolution in Durchflusszellen, dabei wurden verschiedene Ansätze diskutiert. Als Idee wurde die Entwicklung eines Zelleinsatzes zur Intrinsic Dissolution favorisiert und passend für die monographierte Tablettenzelle mit einem Innendurchmesser von 22,6 mm entworfen, Abbildung 86. Die Idee eines Zelleinsatzes bietet den großen Vorteil, dass es sich um keine komplett neue Zelle handelt. Somit kann jedes Durchflusssystem unabhängig vom Hersteller auf einfache Weise auf die Intrinsic Dissolution umgerüstet werden. Der Zelleinsatz besteht aus drei Teilen, einem flexibel austauschbaren Metallinlay

zur Aufnahme des Presslings, einer Kunststoffhalterung mit Aussparungen zur Fixierung des Metallinlays innerhalb der Tablettenzelle und einer Schraube zum Verschließen des Metallinlays von der oberen Seite. Der Entwurf erfolgte mit dem CAD Programm Autodesk Inventor 6. Dies bietet den Vorteil, dass die Einzelteile direkt mittels einer CNC-Fräse automatisch in standardisierter Qualität produziert werden können. Die Oberfläche des Metallinlays wurde vernickelt, um eine Korrosion durch das Freisetzungsmedium zu verhindern. Die genauen technischen Zeichnungen finden sich im Anhang.



Abbildung 86: Zelleinsatz zur *Intrinsic Dissolution* in Durchflussszellen, passend für die monographierte Tablettenzelle (22,6 mm).

5.3.2 Möglichkeiten und Grenzen in der Durchflussszelle

Die Durchflussszelle bietet flexiblere Möglichkeiten der Methodenentwicklung für *Intrinsic Dissolution* als die herkömmlichen Methoden. Die beiden möglichen Betriebsweisen stellen dabei den größten Vorteil dar. Das geschlossene System ist vergleichbar mit den herkömmlichen Methoden der *Intrinsic Dissolution*. Dabei kann das Volumen des Freisetzungsmediums flexibler an die Eigenschaften des Wirkstoffes angepasst werden. Das offene System bietet den weitaus größeren Vorteil, da die Freisetzung immer unter Sinkbedingungen stattfindet und das Freisetzungsmedium während der Freisetzung gewechselt werden kann. Ein Wechsel des Freisetzungsmediums bei der Bestimmung der *Intrinsic Dissolution* ist bei allen anderen Methoden nicht möglich und bisher nicht in der Literatur beschrieben. Das flexibel austauschbare Metallinlay bietet zusätzlich die Möglichkeit von verschieden großen Oberflächen freizusetzen. Dies ist von besonderer Bedeutung in der frühen Phase der pharmazeutischen Entwicklung, denn durch die Verwendung kleinerer Oberflächen kann die Menge an Wirkstoff erheblich reduziert werden. Diese neuen Möglichkeiten sind in den nachfolgenden Abschnitten genauer dargestellt.

Die Grenzen der *Intrinsic Dissolution* in der Durchflussszelle sind abhängig vom Wirkstoff. Dies bedeutet, dass sehr gut lösliche Wirkstoffe bzw. Wirkstoffe mit einer extrem schnellen Freisetzungskinetik die Integrität des Presslings während der Freisetzung nicht gewährleisten. Dieses Problem besteht auch bei den herkömmlichen Methoden. Da bei der Freisetzung im offenen System keine Kumulation des Wirkstoffes stattfindet, liegen deutlich geringere Konzentrationen an

Wirkstoff im Freisetzungsmedium für die Analytik vor. Dies hat zur Folge, je schlechter ein Wirkstoff löslich ist, desto schwieriger wird dessen Quantifizierung mittels HPLC. Demzufolge existiert eine untere Grenze, bei der die Freisetzungskinetik eines Wirkstoffes zu geringe Konzentrationen liefert um quantifiziert zu werden. Dieser untere Grenzbereich wurde empirisch anhand der Löslichkeiten sowie anhand der Freisetzungskinetiken ausgewählter Wirkstoffe ermittelt. Dieser Bereich ist kein absoluter Wert, er dient der Orientierung und ermöglicht die Aussage, dass Wirkstoffe ab einer bestimmten Löslichkeit nicht mehr quantitativ erfasst werden können.

In den nachfolgenden Abschnitten werden die genannten neuen Möglichkeiten sowie die Grenzen der Intrinsic Dissolution in der Durchflussszelle anhand des offenen Systems untersucht. Zusätzlich wurde ein Vergleich zur kommerziellen Distekmethode durchgeführt. Für die Versuche wurden neun Wirkstoffe ausgesucht, dabei handelt es sich um 4 Basen, 2 Säuren und 3 neutrale Wirkstoffe, siehe Tabelle 20.

Tabelle 20: Verwendete Wirkstoffe bei der Intrinsic Dissolution in Durchflussszellen

Säuren	Neutralsubstanz	Basen
Acetylsalicylsäure	Hydrochlorothiazid	Ambroxol HCl
Diclofenac Na	EMD 503982	Ambroxol Base
	Carbamazepin	EMD 128130 HCl
		EMD 128130 Base
		Levomepromazin Maleat
		Trimethoprim

5.3.3 Einfluss des Freisetzungsmediums

Bei basischen bzw. sauren Wirkstoffen zeigt die Freisetzungskinetik sowie die Löslichkeit eine Abhängigkeit vom pH-Wert des Freisetzungsmediums. Es wurden daher bei der Intrinsic Dissolution die Freisetzungsmedien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺ entsprechend der Apparent Dissolution verwendet. Es soll gezeigt werden, dass neutrale Wirkstoffe in den getesteten Freisetzungsmedien die gleiche Freisetzungskinetik besitzen, während Basen und Säuren unterschiedliche Kinetiken in Freisetzungsmedien zeigen. Bei den ermittelten Freisetzungskinetiken handelt es sich um Stoffkonstanten bei den gegebenen Bedingungen, da die Freisetzung von einer konstanten Oberfläche im Vergleich zur Apparent Dissolution erfolgt. Alle Freisetzungen erfolgten in einem offenen System über 40 Minuten bei einer Flussrate von 16 ml/min.

5.3.3.1 Freisetzung ohne Medienwechsel

Die Freisetzung ohne einen Medienwechsel im offenen System zeigt, berechnet als kumulatives Freisetzungsprofil, einen linearen Verlauf wie bei den herkömmlichen Methoden. Aus den gewonnenen Rohdaten des offenen Systems kann auch die Freisetzungsrage gegen die Zeit in einem

differentiellen Freisetzungsprofil dargestellt werden. Beispielhaft sind das kumulative Freisetzungsprofil sowie das differentielle Freisetzungsprofil für den basischen Wirkstoff Ambroxol HCl in Abbildung 87 dargestellt. Die Freisetzungsrates kann bei dem kumulativen Freisetzungsprofil mittels linearer Regression bestimmt werden oder es erfolgt die Berechnung für jede Fraktion aus den Rohdaten. Ambroxol HCl zeigt eine pH-Wert abhängige Freisetzungskinetik. Die Freisetzungsrates je Fraktion, dargestellt im differentiellen Freisetzungsprofil, zeigt keine Änderung der Freisetzungsrates mit zunehmender Zeit. Demzufolge verläuft die Freisetzung bei der Darstellung als kumulatives Freisetzungsprofil linear in allen drei getesteten Freisetzungsmedien, wie in Abbildung 87 gezeigt. Der neutrale Wirkstoff EMD 503982 besitzt eine identische Freisetzungsrates in den Freisetzungsmedien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺, Abbildung 88. Dieses Freisetzungsverhalten entspricht den Ergebnissen der Löslichkeitsversuche sowie der Apparent Dissolution.

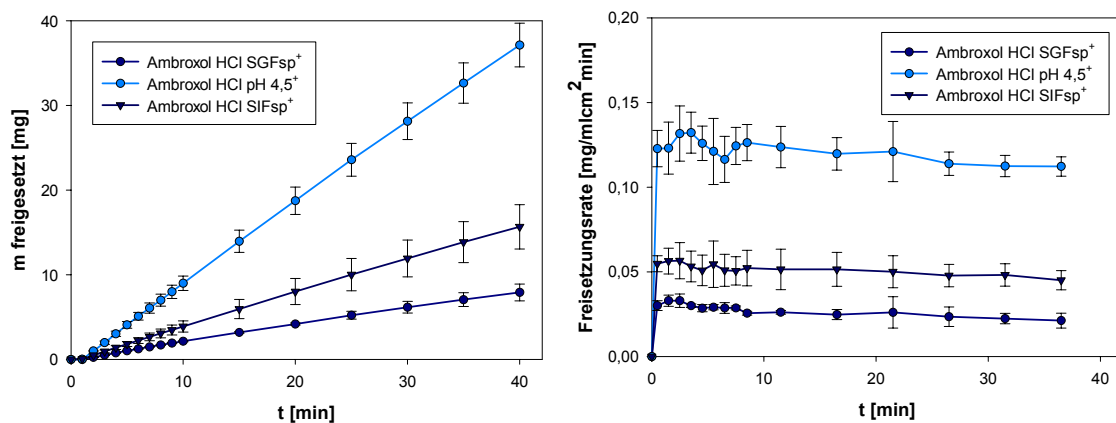


Abbildung 87: *Intrinsic Dissolution von Ambroxol HCl mittels einer Durchflusszelle bei einer Oberfläche von 0,5 cm² (ø 8 mm) in den Freisetzungsmedien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺ bei einer Flussrate von 16 ml/min und 37°C. Gegenüberstellung des kumulativen Freisetzungsprofils auf der linken Seite und des dazugehörigen differentiellen Freisetzungsprofils auf der rechten Seite. (n = 6)*

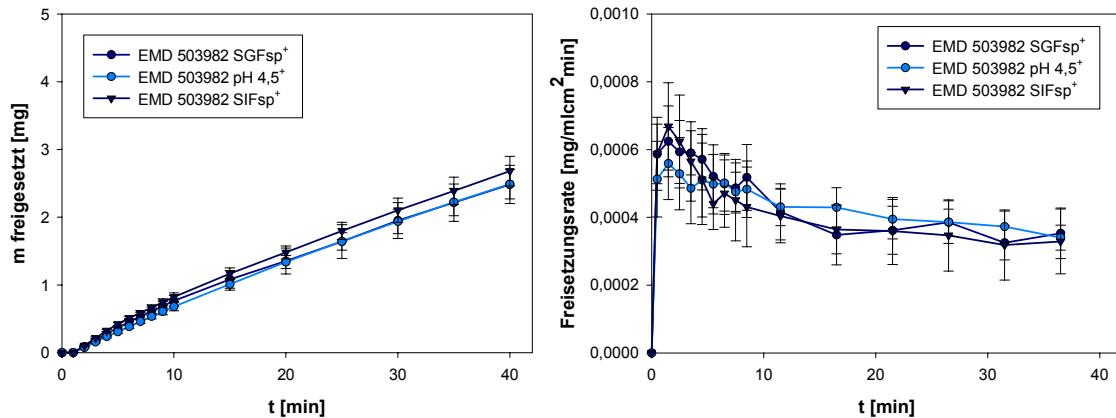


Abbildung 88: Intrinsic Dissolution von EMD 503982 mittels einer Durchflusszelle bei einer Oberfläche von 0,5 cm² (ø 8 mm) in den Freisetzungsmedien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺ bei einer Flussrate von 16 ml/min und 37°C. Gegenüberstellung des kumulativen Freisetzungsprofils auf der linken Seite und des dazugehörigen differentiellen Freisetzungsprofils auf der rechten Seite. (n = 6)

Der basische Wirkstoff EMD 128130 zeigt ähnlich Ambroxol HCl unterschiedliche Freisetzungsraten in den Freisetzungsmedien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺, Abbildung 89. Dieses Freisetzungsverhalten entspricht den Ergebnissen der Löslichkeitsversuche sowie der Apparent Dissolution.

Mit den genannten Wirkstoffen aus Tabelle 20 wurde die Intrinsic Dissolution jeweils in den Freisetzungsmedien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺ durchgeführt. Die mittels linearer Regression aus den kumulativen Freisetzungsprofilen ermittelten Freisetzungsraten sind in Tabelle 22 dargestellt.

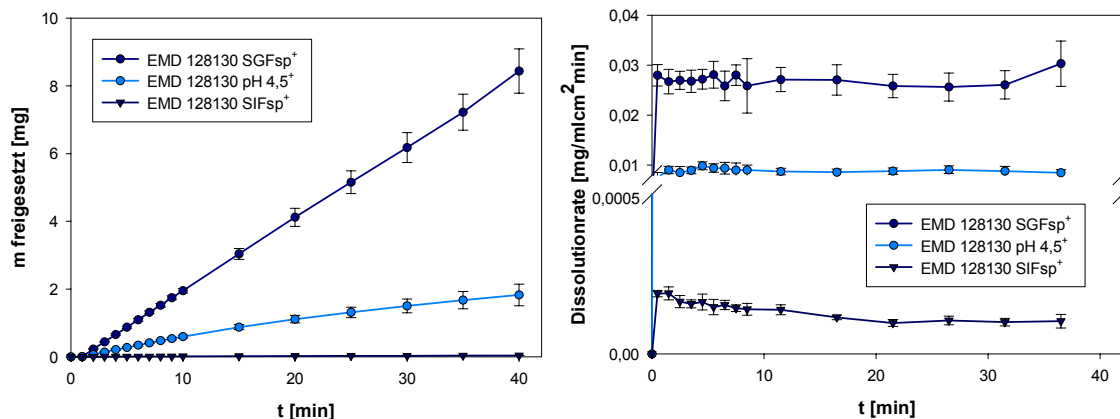


Abbildung 89: Intrinsic Dissolution von EMD 128130 mittels einer Durchflusszelle bei einer Oberfläche von 0,5 cm² (ø 8 mm) in den Freisetzungsmedien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺ bei einer Flussrate von 16 ml/min und 37°C. Gegenüberstellung des kumulativen Freisetzungsprofils auf der linken Seite und des dazugehörigen differentiellen Freisetzungsprofils auf der rechten Seite. (n = 6)

5.3.3.2 Freisetzung mit Medienwechsel (Kombinationsmethode)

Nachdem gezeigt werden konnte, dass die Freisetzung von einer konstanten Oberfläche in einem Durchflusszellensystem funktioniert, wird nun ein Vorteil dieser Technik betrachtet. Der Wechsel des Freisetzungsmediums bei einem offenen System bietet den Vorteil, im Vergleich zu allen herkömmlichen Techniken, dass während einer Freisetzung mehrere Freisetzungskinetiken bestimmt werden können. Daher wurde eine kombinierte Methode gewählt, bei der 3 Freisetzungsmedien während einer Freisetzung untersucht werden. Es wurden dieselben Wirkstoffe verwendet wie bei der Methode ohne Medienwechsel sowie die gleichen Freisetzungsmedien, um im nachfolgenden Kapitel die Vergleichbarkeit der Daten zu prüfen. Dabei wurden in einem Fall die Medien entsprechend dem physiologischen pH-Verlauf im Gastrointestinaltrakt von SGFsp⁺ über pH 4,5⁺ zu SIFsp⁺ gewechselt. Im anderen Fall wurden die Freisetzungsmedien in der umgekehrten unphysiologischen Reihenfolge untersucht. Bei dem Wechsel von einem zum anderen Freisetzungsmedium kommt es zu einer Mischung der beiden Freisetzungsmedien in der Tablettenzelle. In diesem Fall kann die freigesetzte Menge an Wirkstoff dieser Fraktion keinem Freisetzungsmedium zugeordnet werden. Daher wird die Fraktion, bei der ein Wechsel des Freisetzungsmediums erfolgt, nicht bei der Auswertung berücksichtigt. Diese Fraktion entspricht bei der gewählten Methode einem Volumen von 64 ml aufgrund der Flussrate von 16 ml/min und einer Dauer von 4 Minuten. Da das Gesamtvolumen der monographierten Tablettenzelle 16 ml entspricht, wird das Freisetzungsmedium mindestens 4-mal bei der Nichtberücksichtigung des verdrängten Volumens durch den Zelleinsatz und der Glasperlen ausgetauscht werden. Dies gewährleistet, dass in den Fraktionen nach einem Medienwechsel das Freisetzungsmedium in der Zelle quantitativ ausgetauscht wurde und somit keine überlagerten Effekte von zwei Freisetzungsmedien bestimmt werden.

Abbildung 90 zeigt die Intrinsic Dissolution von Ambroxol HCl mit der Kombinationsmethode. Auf der rechten Seite das differentielle Freisetzungsprofil, bei dem die Freisetzungsrates gegen die Zeit aufgetragen wurde und auf der linken Seite das zugehörige kumulative Freisetzungsprofil mit der freigesetzten Menge an Wirkstoff gegen die Zeit. Nach 20 bzw. 40 Minuten erfolgte der Wechsel von einem zum nächsten Freisetzungsmedium. Im kumulativen Freisetzungsprofil ist sehr gut der Wechsel des Freisetzungsmediums nach 20 bzw. 40 Minuten zu erkennen. Das differentielle Freisetzungsprofil von Ambroxol HCl zeigt für den physiologischen Wechsel des Freisetzungsmediums von SGFsp⁺ über pH 4,5⁺ nach SIFsp⁺ stets ein Plateau der Freisetzungsrates für das entsprechende Freisetzungsmedium. Im Fall der unphysiologischen Reihenfolge stellt sich nach dem Wechsel des Freisetzungsmediums von SIFsp⁺ nach pH 4,5⁺ kein Plateau ein (roter Kreis), sondern die Freisetzungsrates nimmt weiter ab. Die Ursache liegt in der Umwandlung des Ambroxol HCl in die freie Base während der Freisetzung in SIFsp⁺. Dies konnte bereits bei der Freisetzung ohne einen Medienwechsel beobachtet werden. Die freie Base entsteht in Form von Nadeln auf der Oberfläche des Presslings. Abbildung 91 zeigt die Oberfläche des Presslings vor und nach der Freisetzung in SIFsp⁺. Nach einem Wechsel des Freisetzungsmediums von SIFsp⁺ zu pH 4,5⁺ ändert sich daher die Freisetzungsrates mit der Zeit bevor sich ein Plateau einstellt. Zunächst überlagern sich 2 Prozesse, zum einen die Auflösung von Ambroxol HCl und zum anderen die Auflösung der Nadeln der freien Base. Daher kann sich erst eine konstante Freisetzungsrates einstellen, wenn die Nadeln der freien

Base aufgelöst sind. Die Identität der Nadeln wurde mittels DSC, NIR und per Ramanmikroskopie bestimmt. Abbildung 92 zeigt einen Ausschnitt aus den Ramanspektren der Nadeln im Vergleich zu Ambroxol HCl und der freien Base.

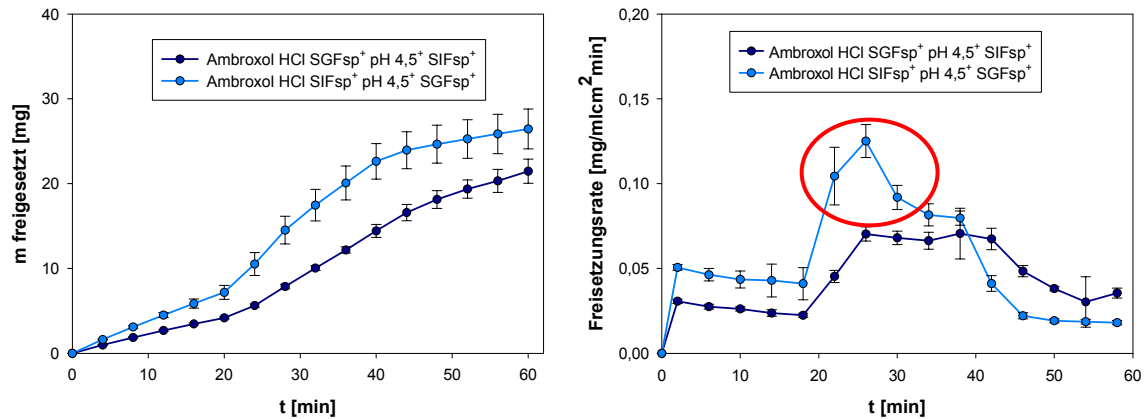


Abbildung 90: Kombinationsmethode der Intrinsic Dissolution von Ambroxol HCl mittels einer Durchflusszelle bei einer Oberfläche von 0,5 cm² (ø 8 mm). Die Freisetzungsmedien wurden in der Reihenfolge SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺ sowie in der Reihenfolge SIFsp⁺, pH 4,5⁺ und SGFsp⁺ bei einer Flussrate von 16 ml/min und 37°C untersucht. Gegenüberstellung des kumulativen Freisetzungsprofils auf der linken Seite und des dazugehörigen differentiellen Freisetzungsprofils auf der rechten Seite. (n = 6)

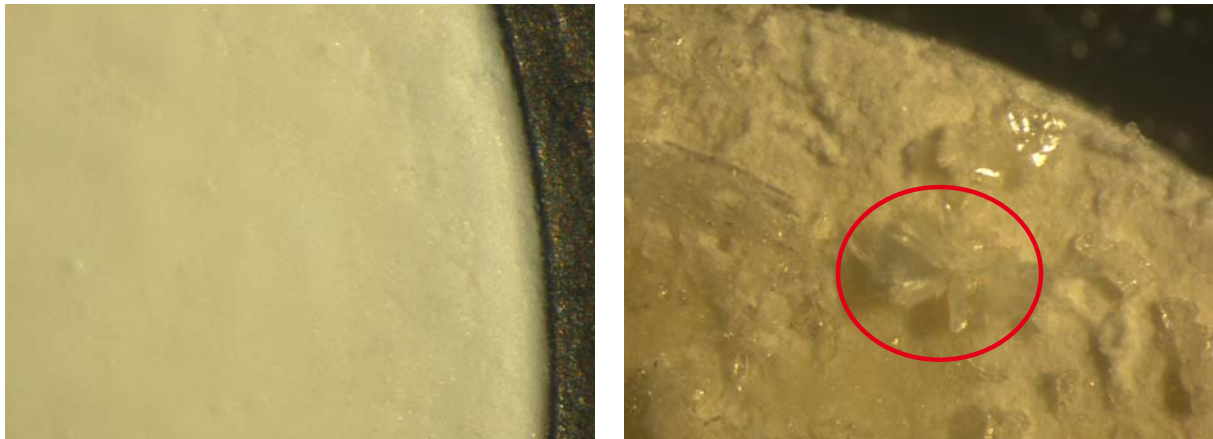


Abbildung 91: Auf der linken Seite die mikroskopische Aufnahme eines Ambroxol HCl Pressling vor der Freisetzung in SIFsp⁺. Auf der rechten Seite der Pressling nach einer 40-minütigen Freisetzung in SIFsp⁺. Der rote Kreis markiert die bei der Freisetzung entstandenen Kristallnadeln, bestehend aus der freien Base des Ambroxols.

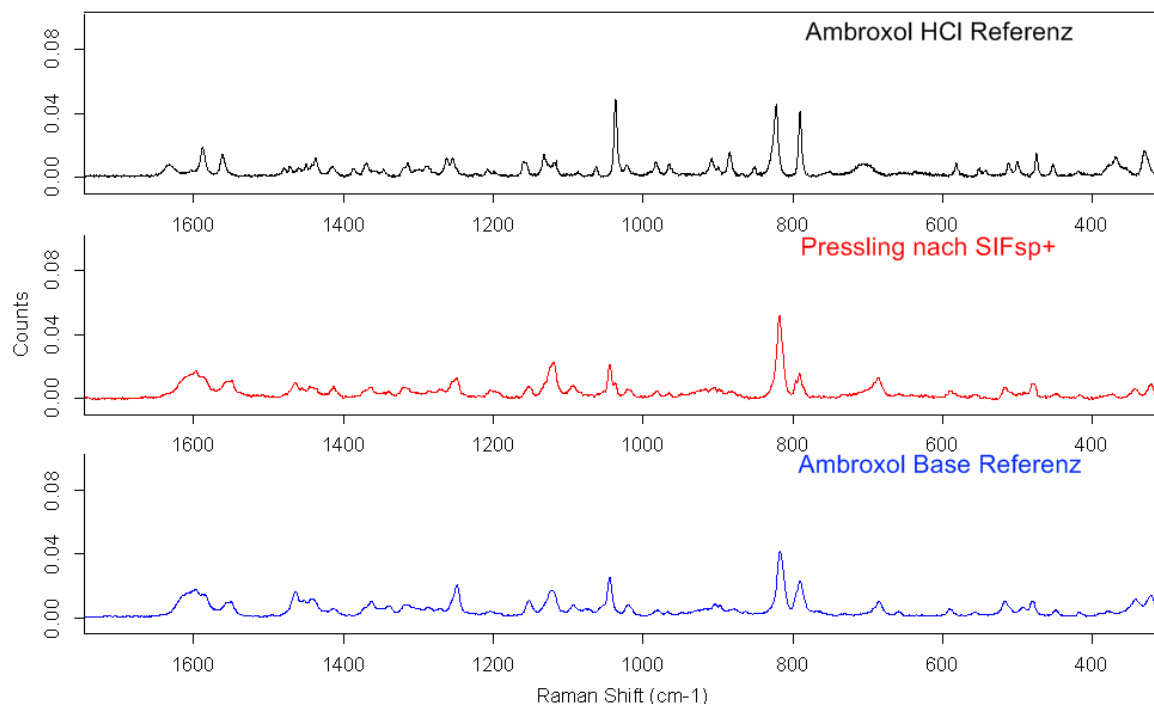


Abbildung 92: Ausschnitt der Ramanspektren von Ambroxol HCl, der freien Base von Ambroxol sowie von entstandenen Kristallnadeln auf einem Ambroxol HCl Pressling nach 40 minütiger Freisetzung in SIFsp^+ .

Die Intrinsic Dissolution des neutralen Wirkstoffes EMD 503982 mittels der Kombinationsmethode ergab identische Freisetzungskinetiken in den untersuchten Freisetzungsmedien, Abbildung 93. Das differentielle Freisetzungsprofil zeigt bei einem Wechsel des Freisetzungsmediums nach 20 bzw. 40 Minuten keinen Einfluss auf die Freisetzungskinetik. Daher zeigt das kumulative Freisetzungsprofil eine lineare Freisetzung. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Löslichkeiten sowie der Apparent Dissolution.

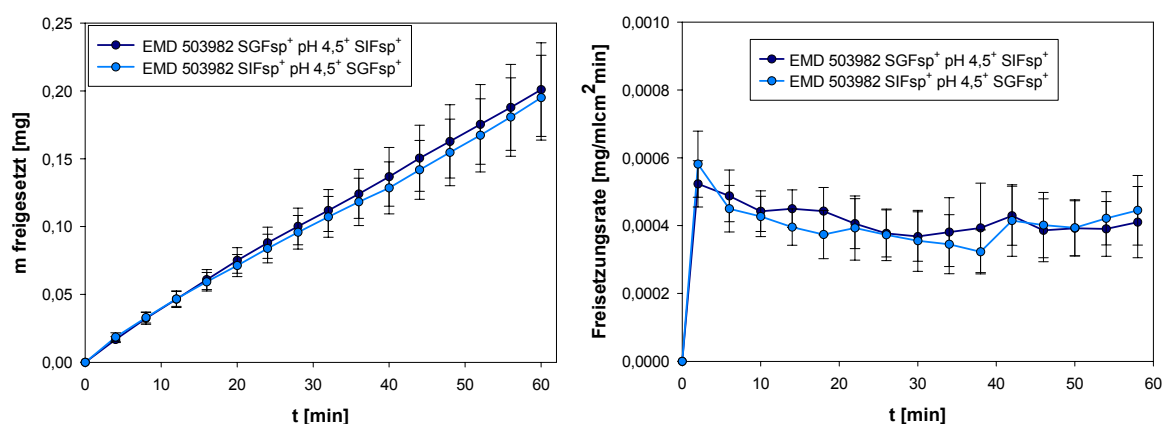


Abbildung 93: Kombinationsmethode der Intrinsic Dissolution von EMD 503982 mittels einer Durchflusszelle bei einer Oberfläche von $0,5 \text{ cm}^2$ ($\varnothing 8 \text{ mm}$). Die Freisetzungsmedien wurden in der Reihenfolge SGFsp^+ , pH 4,5⁺ und SIFsp^+ sowie in der Reihenfolge SIFsp^+ , pH 4,5⁺ und SGFsp^+ bei einer Flussrate von 16 ml/min und 37°C untersucht. Gegenüberstellung des kumulativen Freisetzungsprofils auf der linken Seite und des dazugehörigen differentiellen Freisetzungsprofils auf der rechten Seite. ($n = 6$)

Bei EMD 128130 kann die pH-Wert abhängige Freisetzungskinetik anhand der Intrinsic Dissolution mittels der Kombinationsmethode gut nachgewiesen werden. Die Abbildung 94 zeigt auf der rechten Seite das differentielle und auf der linken Seite das kumulative Freisetzungsprofil. Bei beiden Profilen ist der Wechsel von einem zum anderen Freisetzungsmedium sehr gut nachzuvollziehen aufgrund der unterschiedlichen Freisetzungskinetik in den Freisetzungsmedien. Das differentielle Freisetzungsprofil zeigt sehr gut die konstanten Freisetzungsraten für die Fraktionen der einzelnen Freisetzungsmedien. Die Freisetzungsraten der Fraktion bei 20 bzw. 40 Minuten nach einem Medienwechsel liegt zwischen zwei Plateaus, da in dieser das Freisetzungsmedium ausgetauscht wird und somit eine Mischung aus 2 Medien bestimmt wurde. Da die nachfolgenden Fraktionen identische Freisetzungsraten aufweisen, bestätigt dies die Dauer von 4 Minuten für einen quantitativen Medienwechsel.

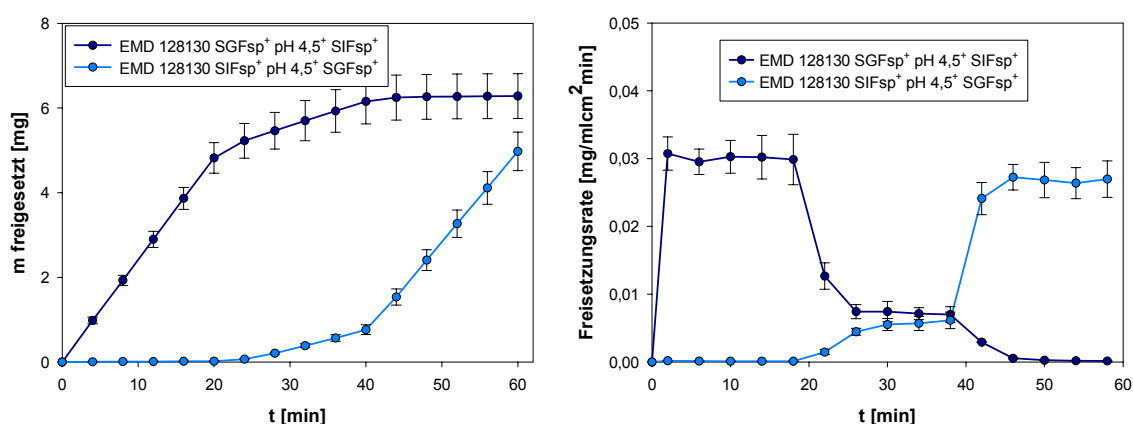


Abbildung 94: Kombinationsmethode der Intrinsic Dissolution von EMD 128130 mittels einer Durchflusszelle bei einer Oberfläche von $0,5 \text{ cm}^2$ ($\varnothing 8 \text{ mm}$). Die Freisetzungsmedien wurden in der Reihenfolge SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺ sowie in der Reihenfolge SIFsp⁺, pH 4,5⁺ und SGFsp⁺ bei einer Flussrate von 16 ml/min und 37°C untersucht. Gegenüberstellung des kumulativen Freisetzungsprofils auf der linken Seite und des dazugehörigen differentiellen Freisetzungsprofil auf der rechten Seite. (n = 6)

Die Intrinsic Dissolution der anderen Wirkstoffe aus Tabelle 20 wurde unter gleichen Bedingungen mittels der Kombinationsmethode durchgeführt. Die Ermittlung der Freisetzungsraten erfolgte nicht mittels linearer Regression, sondern aus dem Mittelwert der Freisetzungsraten des differentiellen Freisetzungsprofils für jedes Freisetzungsmedium. Diese erhaltenen Freisetzungsraten werden im nachfolgenden Kapitel in Tabelle 22 mit den Freisetzungsraten der Intrinsic Dissolution ohne Mediumwechsel verglichen.

5.3.3.3 Vergleichbarkeit der Daten

Der neu entwickelte Zelleinsatz zur Intrinsic Dissolution in Durchflusszellen ermöglicht die Bestimmung der Freisetzungsrates bzw. Freisetzungskinetik (D-Rate). Klassisch wird die Freisetzungsrates bei allen herkömmlichen Methoden mittels linearer Regression aus dem linearen Freisetzungsprofil ermittelt. Diese Bestimmung der Freisetzungsrates wurde auch bei der Freisetzung mit dem neuen Zelleinsatz in der Durchflusszelle für die Freisetzung ohne einen Wechsel des Freisetzungsmediums angewandt. Die Bestimmung der Freisetzungsrates mittels der Kombinationsmethode erfolgte auf eine andere Weise. Da die Intrinsic Dissolution in der Durchflusszelle mit der offenen Betriebsweise erfolgte, konnte die Freisetzungsrates direkt aus den Rohdaten für jede einzelne Fraktion ermittelt werden. Anschließend wurde der entsprechende Mittelwert aller Fraktionen eines Freisetzungsmediums gebildet. Fraktionen, in denen ein Medienwechsel erfolgte, wurden bei der Bestimmung der Freisetzungsrates nicht berücksichtigt.

Die Kombinationsmethode unterscheidet sich von der Methode ohne einen Medienwechsel in der Gesamtdauer, der Dauer je Fraktion sowie der Anzahl der Fraktionen bezogen auf ein Freisetzungsmedium, siehe Tabelle 21.

Tabelle 21: Übersicht zu den Fraktionen der Intrinsic Dissolution Methode ohne (linke Seite) und mit (rechte Seite) Medienwechsel.

Fraktion t [min]	Medium	Fraktion t [min]	Medium
0 – 1	1	0 – 4	1
1 – 2	1	4 – 8	1
2 – 3	1	8 – 12	1
3 – 4	1	12 – 16	1
4 – 5	1	16 – 20	1
5 – 6	1	20 – 24	Mediumwechsel
6 – 7	1	24 – 28	2
7 – 8	1	28 – 32	2
8 – 9	1	32 – 36	2
9 – 10	1	36 – 40	2
10 – 15	1	40 – 44	Mediumwechsel
15 – 20	1	44 – 48	3
20 – 25	1	48 – 52	3
25 – 30	1	52 – 56	3
30 – 35	1	56 – 60	3
35 – 40	1		

Gerätespezifisch konnten maximal 16 Fraktionen je Freisetzung bestimmt werden, daher unterscheiden sich die Anzahl der Messpunkte bei beiden Methoden erheblich. Die Bestimmung der Freisetzungsrates mittels der Methode ohne Medienwechsel beruht auf 16 Messwerten. Bei der Kombinationsmethode stehen für das erste Freisetzungsmedium 5 Messwerte und für die beiden anderen Freisetzungsmedien 4 Messwerte zur Verfügung. Ein Vergleich der ermittelten Freisetzungsrates der beiden Methoden soll zeigen, dass mit weniger Messpunkten und bei gleichzeitigem Wechsel des Freisetzungsmediums während der Freisetzung vergleichbare Daten erhalten werden. Die ermittelten Freisetzungsrates der beiden Methoden sind in Tabelle 22 dargestellt, in dieser Tabelle sind alle untersuchten Wirkstoffe aufgeführt. In der Spalte Medium finden sich die 3 getesteten Freisetzungsmedien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺. In der nächsten Spalte ist das Bestimmtheitsmaß der linearen Regression von der Intrinsic Dissolution Methode ohne Medienwechsel angegeben, die ermittelte Freisetzungsrates (D-Rate) berechnet als [mg/min] findet sich in der folgenden Spalte. Die Spalten Kombi enthalten die berechneten Freisetzungsrates der Kombinationsmethode zum einen für die Freisetzung mit Medienwechsel von SGFsp⁺ über pH 4,5⁺ nach SIFsp⁺ (SGF-SIF) und für den Medienwechsel von SIFsp⁺ über pH 4,5⁺ nach SIFsp⁺ (SIF-SGF). In der Spalte Kombi AV ist der Mittelwert der beiden Freisetzungsrates aus den beiden Kombinationsmethoden wiedergegeben.

Tabelle 22: Intrinsic Dissolution: Gegenüberstellung der ermittelten Freisetzungsraten (D-Rate) [mg/min] ohne Medienwechsel mit den Freisetzungsraten der Kombinationsmethode mit Medienwechsel in physiologischer Richtung (SGF-SIF) und unphysiologischer Richtung (SIF-SGF). (n = 6 bzw. * n = 5)

Wirkstoff	Medium	Normal	D-Rate	Kombi	Kombi	Kombi
		y = mx R ²		SGF – SIF D-Rate	SIF – SGF D-Rate	AV D-Rate
Levomepromazin	SGFsp ⁺	0,9985	0,2466	0,2467	0,2128	0,2298
	pH 4,5 ⁺	0,9984	0,0555	0,0561	0,0708	0,0635
	Maleat SIFsp ⁺	0,9737*	0,0665*	0,0633	0,0701	0,0667
Trimethoprim	SGFsp ⁺	0,9979	0,1096	0,1022	0,1095	0,1059
	pH 4,5 ⁺	0,9995	0,1108	0,2548	0,1009	0,1779
	SIFsp ⁺	0,9990	0,0296	0,0449	0,0266	0,0358
Hydrochlorothiazid	SGFsp ⁺	0,9978*	0,0231*	0,0230*	0,0332*	0,0281
	pH 4,5 ⁺	0,9986	0,0326	0,0239*	0,0424*	0,0332
	SIFsp ⁺	0,9978	0,0290	0,0250*	0,0331*	0,0291
Carbamazepin	SGFsp ⁺	0,9944	0,0090	0,0091	0,0057	0,0074
	pH 4,5 ⁺	0,9983	0,0086	0,0074	0,0068	0,0071
	SIFsp ⁺	0,9963	0,0081	0,0079	0,0096	0,0088
Diclofenac Na	SGFsp ⁺	0,9413	0,0002	0,0004	0,0035	0,00195
	pH 4,5 ⁺	0,6861	0,0204	0,0006	0,0237	0,01215
	SIFsp ⁺	0,9934*	0,3849*	0,0236	0,434	0,2288
Acetylsalicylsäure	SGFsp ⁺	0,9986	0,1722	0,1280	0,1094	0,1187
	pH 4,5 ⁺	0,9996	0,1762	0,1672	0,1536	0,1604
	SIFsp ⁺	0,9980	0,1895	0,2400	0,1766	0,2083
EMD 128130	SGFsp ⁺	0,9976	0,2061	0,2410	0,2149	0,2280
	pH 4,5 ⁺	0,9974	0,0682	0,0580	0,0436	0,0508
	SIFsp ⁺	0,9896	0,0010	0,0022	0,0010	0,0016
EMD 128130 Base	SGFsp ⁺	0,9987	0,2112	0,1911	0,1957	0,1934
	pH 4,5 ⁺	0,9908	0,0337	0,0515	0,0242	0,0379
	SIFsp ⁺	0,9943	0,0009	0,0010	0,0005	0,0007
Ambroxol HCl	SGFsp ⁺	0,9978	0,2037	0,2088	0,1559	0,1824
	pH 4,5 ⁺	0,9979	0,5915	0,5507	0,7568	0,6537
	SIFsp ⁺	0,9989	0,3946	0,3047	0,3541	0,3319
Ambroxol Base	SGFsp ⁺	0,5507	0,4096	1,074	2,0750	1,5745
	pH 4,5 ⁺	0,9993	0,1556	0,326	0,1397	0,2326
	SIFsp ⁺	0,9997	0,0242	0,0192	0,0223	0,0208
EMD 503982	SGFsp ⁺	0,9910	0,0033	0,0038	0,0033	0,0035
	pH 4,5 ⁺	0,9938	0,0033	0,0030	0,0028	0,0029
	SIFsp ⁺	0,9899	0,0035	0,0032	0,0036	0,0034

Die ermittelten Freisetzungsraten der Kombinationsmethode sind vergleichbar mit den Werten der Methode ohne Medienwechsel. Einzig vier Ausnahmen bei Ambroxol HCl, Ambroxol Base, Trimethoprim und Diclofenac Na liegen vor. Diese Ausnahmen beziehen sich jeweils nur auf ein Freisetzungsmedium der drei getesteten Medien. Die Ursachen für die Ausnahmen sind Umwandlungen des Wirkstoffes an der Oberfläche des Presslings, was zu einer Beeinflussung der Freisetzung bei der Kombinationsmethode nach einem Medienwechsel führt.

Trimethoprim zeigt beim Wechsel des Freisetzungsmediums von SGFsp⁺ nach pH 4,5⁺ eine höhere Freisetzungskinetik, als mit der Methode ohne Medienwechsel bestimmt wurde. Die Ursache in diesem Fall liegt in der Bildung eines Hydrochloridsalzes von Trimethoprim in SGFsp⁺, welches nach dem Wechsel zum Freisetzungsmedium pH 4,5⁺ eine schnellere Freisetzungsrates zeigt. Beim Wechsel von SIFsp⁺ auf pH 4,5⁺ wurde keine erhöhte Freisetzungskinetik in pH 4,5⁺ bestimmt, da in SIFsp⁺ kein Hydrochlorid entstehen kann.

Die Base von Ambroxol wandelt sich in SGFsp⁺ in das Hydrochlorid um, welches eine langsamere Freisetzungskinetik als die freie Base aufweist. Da bei der Kombinationsmethode die Freisetzungsrates aus dem Mittelwert der Fraktionen über einen kürzeren Zeitraum bestimmt wird, ist in diesem Ausnahmefall ein Vergleich der ermittelten Freisetzungsrates der beiden Methoden nicht möglich. Die Umwandlung der Ambroxol Base in das Hydrochlorid wird im Kapitel 5.3.6 „Bestimmung von Salzänderungen“ besprochen.

Die abweichende Freisetzungsrates von Ambroxol HCl nach dem Wechsel von SIFsp⁺ zum Freisetzungsmedium pH 4,5⁺ beruht auf der Bildung der freien Base in Form von Nadeln auf der Oberfläche in SIFsp⁺, Abbildung 91. Diese wird zusätzlich in pH 4,5⁺ neben Ambroxol HCl freigesetzt, dadurch wird eine erhöhte Freisetzungsrates bestimmt.

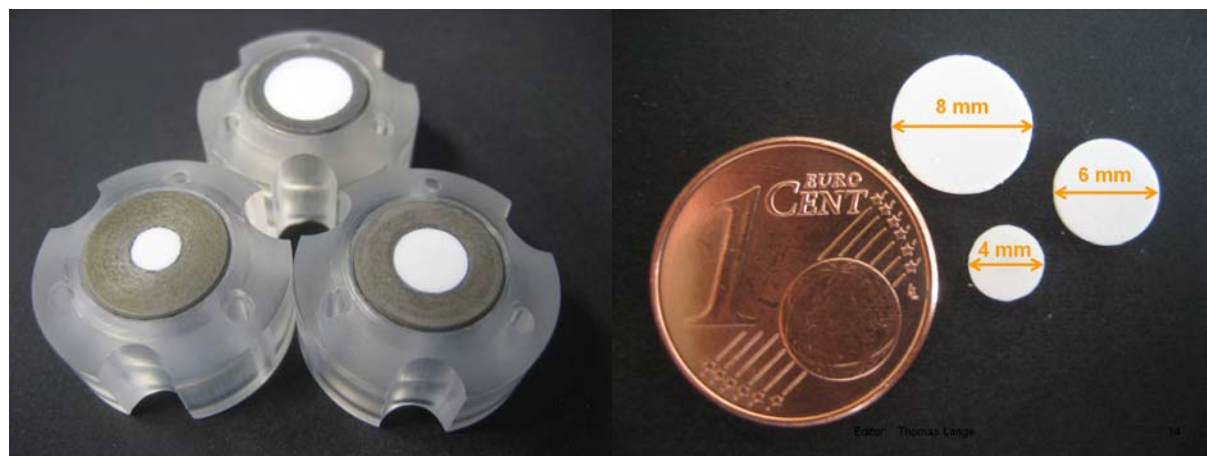
Im Fall von Diclofenac Na wurde nach dem Wechsel von SGFsp⁺ zu pH 4,5⁺ eine langsamere Freisetzungsrates bestimmt im Vergleich zur Freisetzung ohne Medienwechsel. Die Ursache liegt in einer Umwandlung des Natriumsalzes in SGFsp⁺ in die freie Säure des Diclofenac's, welche eine extrem langsame Freisetzungskinetik zeigt.

5.3.3.4 Freisetzung von verschieden großen Oberflächen

Der entwickelte Zelleinsatz bietet die Möglichkeit auf einfache Weise das Metallinlay, welches den Pressling enthält, auszutauschen. Dadurch kann von verschieden großen Oberflächen die Freisetzungsrates bestimmt werden, Tabelle 23. Das Ziel besteht darin, den Wirkstoffbedarf für die Intrinsic Dissolution mittels kleinerer Presslinge zu reduzieren. Es erfolgte eine Dreifachbestimmung der Freisetzungsrates der Wirkstoffe mit den Metallinlays (4 und 6 mm). Die Freisetzungsrates wurden in den Freisetzungsmedien SGFsp⁺ und SIFsp⁺ durchgeführt. In Abbildung 95 sind beispielhaft die verschiedenen Größen der Presslinge dargestellt.

Tabelle 23: Abmessungen der Presslinge für die Intrinsic Dissolution in Durchflussszellen

Durchmesser [mm]	4	6	8
Oberfläche [cm ²]	0,126	0,283	0,502

**Abbildung 95: Wirkstoffpresslinge zur Intrinsic Dissolution in Durchflussszellen.**

Die Abbildung 96 zeigt die Freisetzung des Wirkstoffes EMD 128130 in SGFsp⁺ von verschiedenen großen Oberflächen mit einem Durchmesser von 4, 6 und 8 mm. Die Freisetzung nimmt wie erwartet mit steigender Oberfläche zu. Aus den Freisetzungprofilen wurde die Freisetzungsrates durch lineare Regression, ohne eine Berücksichtigung der Oberfläche, bestimmt. Anschließend wurde die ermittelte Freisetzungsrates gegen die Oberfläche des Presslings aufgetragen. Dies erfolgte für die untersuchten Freisetzungsmidien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺. Mittels linearer Regression wurde der Zusammenhang zwischen der Oberfläche und der Freisetzungsrates des Presslings betrachtet. Wie in Abbildung 97 anhand des Bestimmtheitsmaßes zu erkennen ist, existiert ein linearer Zusammenhang zwischen der Oberfläche des Presslings und der davon freigesetzten Menge an Wirkstoff. Im Fall von SIFsp⁺ zeigt das Bestimmtheitsmaß mit $R^2 = 0,9805$ einen guten Wert, trotz einer sehr langsamen Freisetzungskinetik von EMD 128130. Die geringen Mengen an freigesetztem Wirkstoff in SIFsp⁺ sind nicht mehr mit ausreichender analytischer Genauigkeit zu quantifizieren, daraus ergibt sich ein größerer Fehler und ein Limit für die Quantifizierbarkeit. Dennoch kann man noch von einem linearen Zusammenhang sprechen. Zu beachten ist, dass bei Freisetzungsnicht die Kriterien der Linearität von HPLC-Methoden angewandt werden können.

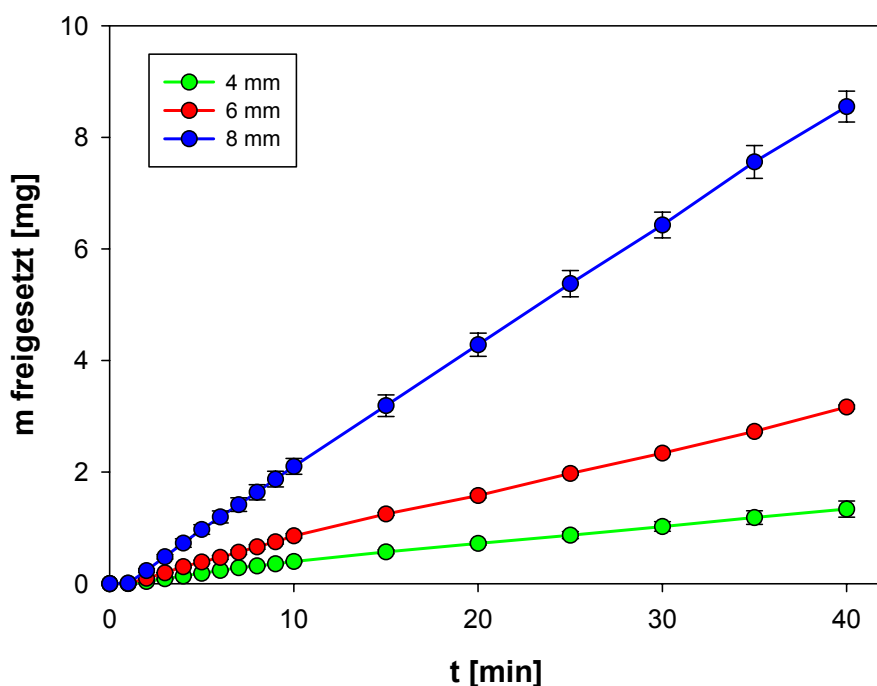


Abbildung 96: Intrinsic Dissolution von EMD 128130 mittels einer Durchflusszelle von verschiedenen großen Oberflächen mit einem Presslingsdurchmesser von 4, 6 und 8 mm in SGFsp⁺. (4 und 6 mm mit n = 3, 8 mm mit n = 6)

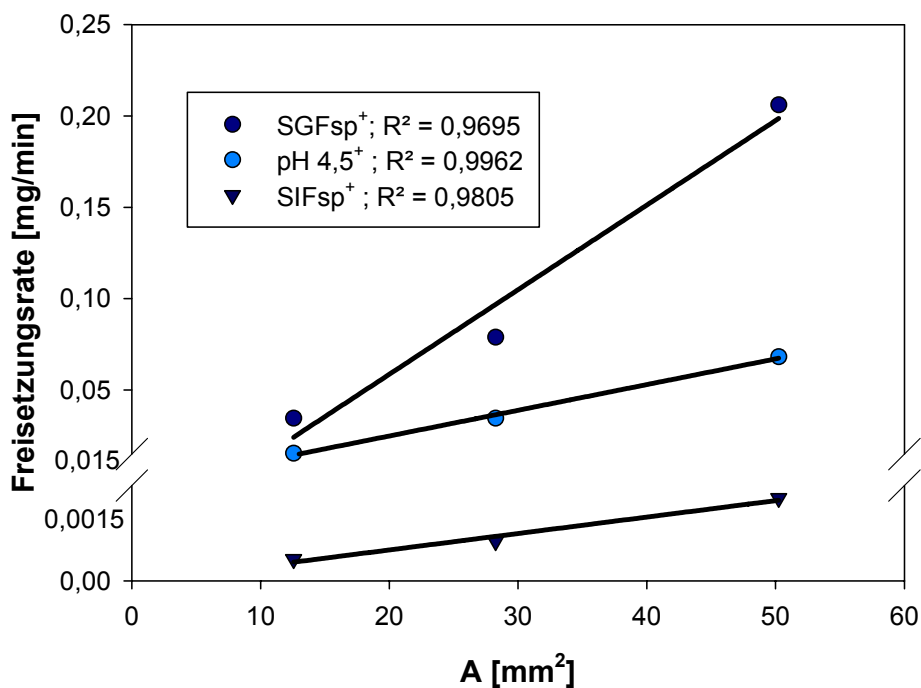


Abbildung 97: Korrelation der Presslingsoberfläche mit der Freisetzungsrates des Presslings für EMD 128130 in den Freisetzungsmitteln SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺.

Die Intrinsic Dissolution von Ambroxol HCl in SGFsp⁺ von verschiedenen großen Oberflächen mit einem Durchmesser von 4, 6 und 8 mm nimmt mit steigender Oberfläche in SGFsp⁺ zu, Abbildung 98. Wie für EMD 128130 wurden die Freisetzungsraten aus den Profilen ermittelt und mittels linearer Regression der Zusammenhang zwischen der Oberfläche und der Freisetzungsrates in den Freisetzungsmedien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺ bestimmt, Abbildung 99. Ambroxol HCl zeigt in allen Freisetzungsmedien einen linearen Zusammenhang zwischen der Oberfläche und der davon freigesetzten Menge an Wirkstoff.

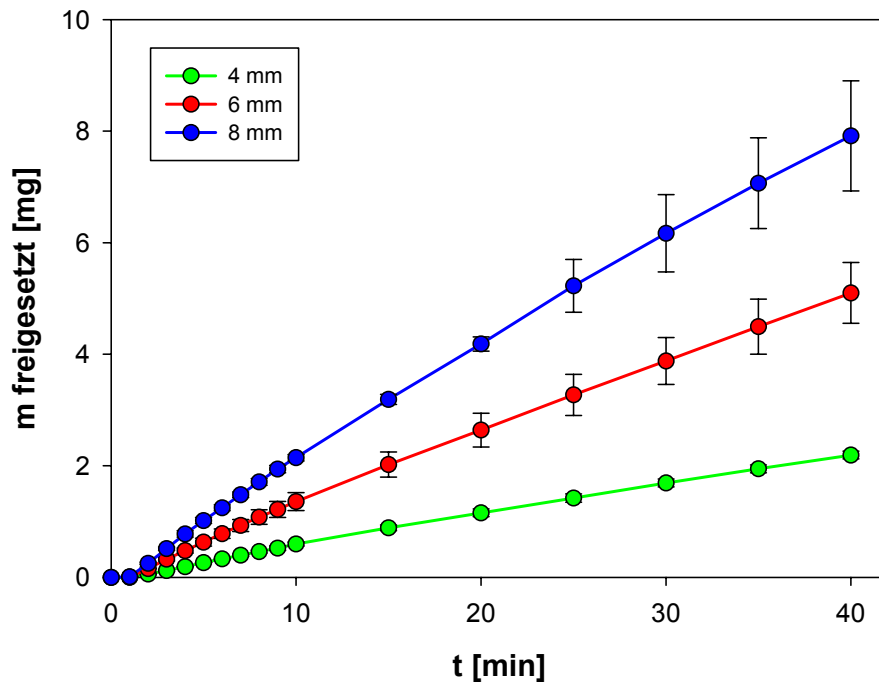


Abbildung 98: *Intrinsic Dissolution von Ambroxol HCl mittels einer Durchflussszelle von verschiedenen großen Oberflächen mit einem Presslingsdurchmesser von 4, 6 und 8 mm in SGFsp⁺. (4 und 6 mm mit n = 3, 8 mm mit n = 6)*

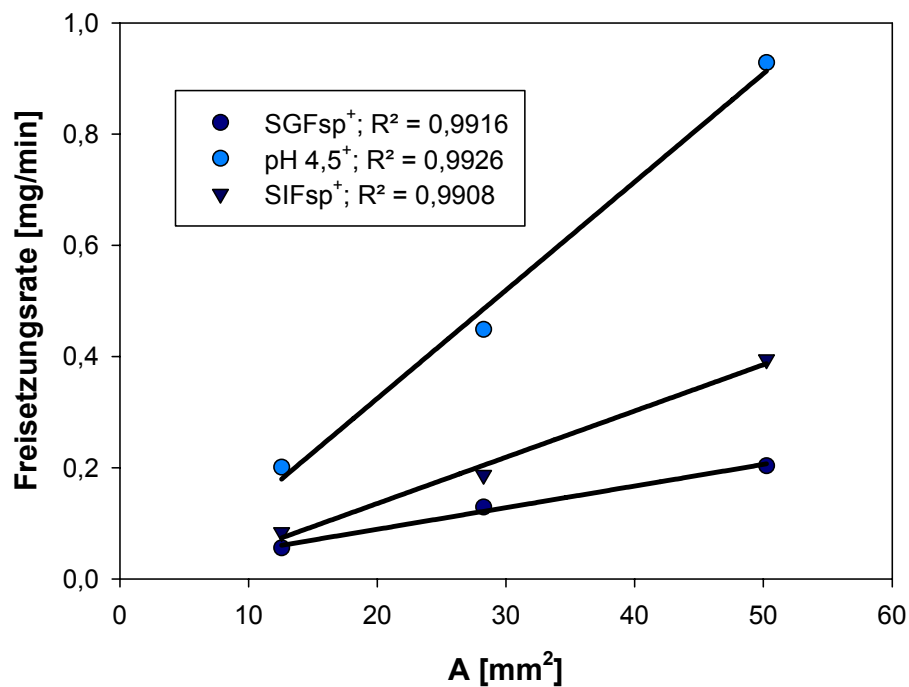


Abbildung 99: Korrelation der Presslingoberfläche mit der Freisetzungsrate des Presslings für Ambroxol HCl in den Freisetzungsmedien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺.

Die Korrelation der Presslingoberfläche mit der Freisetzungsrate des Presslings wurde anhand weiterer Wirkstoffe aus Tabelle 20 mit den Freisetzungsmedien SGFsp⁺ und SIFsp⁺ untersucht. Die ermittelten Freisetzungsraten der verschiedenen großen Presslingsoberflächen, sowie die Korrelation der Freisetzungsrate mit Presslingsoberfläche sind in Tabelle 24 aufgeführt. Die Korrelation zeigt bei allen Wirkstoffen eine lineare Abhängigkeit der Freisetzungsrates des Presslings mit der Presslingsoberfläche. Dies ermöglicht einen Vergleich der Freisetzungsraten von verschiedenen Presslingsoberflächen. Durch den Einsatz kleinerer Oberflächen kann nun die Menge an Wirkstoff bei der Charakterisierung deutlich bis auf das vierfache reduziert werden. Bei Wirkstoffen mit einer extrem schlechten Freisetzungskinetik ist die Bestimmung der Freisetzungsrates von kleineren Oberflächen nicht möglich, da die Quantifizierung des freigesetzten Wirkstoffes in diesem Fall nicht gewährleistet ist.

Tabelle 24: Überblick über die ermittelten Freisetzungsraten (D-Rate) [mg/min] mittels Intrinsic Dissolution in der Durchflusszelle von verschiedenen Oberflächen und die Korrelation der Presslingsoberfläche mit der Freisetzungsrate.

Wirkstoff	Medium	8 mm		6 mm		4 mm		4/6/8
		D-Rate	R ²	D-Rate	R ²	D-Rate	R ²	R ²
EMD 128130	SGFsp ⁺	0,2061	0,9979	0,0790	0,9984	0,0346	0,9938	0,9695
	pH 4,5 ⁺	0,0682	0,9974	0,0346	0,9960	0,0155	0,9932	0,9962
	SIFsp ⁺	0,0013*	0,9798	0,00062	0,9822	0,00035	0,9327	0,9805
Ambroxol HCl	SGFsp ⁺	0,2037	0,9978	0,1293	0,9985	0,0560	0,9978	0,9916
	pH 4,5 ⁺	0,9287**	0,9982	0,4489	0,9986	0,2010	0,9985	0,9926
	SIFsp ⁺	0,3946	0,9989	0,1871	0,9989	0,0840	0,9987	0,9908
Levomepromazin	SGFsp ⁺	0,2466	0,9984	0,1600	0,9989	0,0813	0,9951	0,9992
Maleat	SIFsp ⁺	0,0665	0,9737	0,0315	0,9958	0,0169	0,9963	0,9931
Trimethoprim	SGFsp ⁺	0,1096	0,9977	0,0538	0,9909	0,0244	0,9711	0,9934
	SIFsp ⁺	0,0296	0,9990	0,0143	0,9983	0,0085	0,9987	0,9751
Hydrochlorothiazid	SGFsp ⁺	0,0231*	0,9978	0,0106	0,9711	0,0035	0,9584	0,9962
	SIFsp ⁺	0,0290	0,9978	0,0147	0,9988	0,0075	0,9849	0,9915
Carbamazepin	SGFsp ⁺	0,0090	0,9944	0,0048	0,9960	0,0026	0,9925	0,9932
	SIFsp ⁺	0,0081	0,9963	0,0047	0,9981	0,0022	0,9870	0,9999
Diclofenac Na	SGFsp ⁺	0,0002	0,9413	Nicht quantifizierbar!				
	SIFsp ⁺	0,3849*	0,9934	0,2408	0,9925	0,1422	0,9938	0,9999
Acetylsalicylsäure	SGFsp ⁺	0,1722	0,9986	0,0934	0,9988	0,0463	0,9944	0,9977
	SIFsp ⁺	0,1895	0,9980	0,1039	0,9982	0,0548	0,9993	0,9965

5.3.3.5 Diskussion

Mit dem neu entwickelten Zelleinsatz konnte erstmals gezeigt werden, dass Intrinsic Dissolution in Durchflusszellen möglich ist. Bei der Freisetzung im offenen System zeigten die ausgewählten Wirkstoffe eine lineare Freisetzung, aus der die Freisetzungsrate bestimmt werden kann. Anhand der HPLC Daten kann eine untere Grenze abgeleitet werden, ab der die Quantifizierung des freigesetzten Wirkstoffes nicht mehr mittels HPLC machbar ist. Diese Grenze wird von vielen Faktoren des Wirkstoffes beeinflusst, vor allem die Löslichkeit, die Freisetzungskinetik, die polymorphe Form und der Absorptionskoeffizient des Wirkstoffes sind dafür entscheidend. Da sich diese Eigenschaften spezifisch bei jedem Wirkstoff unterscheiden, kann kein absoluter Grenzwert postuliert werden, ab dem Intrinsic Dissolution nicht mehr mittels HPLC quantifiziert werden kann. Anhand der HPLC-Daten kann grundsätzlich die Aussage getroffen werden, dass Freisetzungsraten > 0,01 mg/min gut quantifizierbar sind. Freisetzungsraten zwischen 0,01 mg/min und 0,0025 mg/min können mit einer abnehmenden Genauigkeit (Präzision) quantifiziert werden. Freisetzungsraten unterhalb von 0,0025 mg/min können nur zur Orientierung mit größerem Fehler angegeben werden und unterhalb von 0,0001 mg/min wird eine Detektion mittels HPLC-UV unmöglich. Anstatt der Angabe der

Freisetzungskinetiken bzw. Freisetzungsraten kann auch die Löslichkeit eines Wirkstoffes herangezogen werden um Grenzen für die Detektion mittels HPLC festzulegen. Die Angabe von Löslichkeiten als mögliche Grenze ist wesentlich ungenauer als die Angabe von Freisetzungskinetiken. Ein Wirkstoff besitzt unter definierten Bedingungen nur eine Löslichkeit, jedoch zeigen verschiedene Salze eines Wirkstoffes bei gleicher Löslichkeit unterschiedliche Freisetzungsraten. Demzufolge ist ein Rückschluss auf die Freisetzungskinetik bzw. das Festlegen einer Grenze, ab der eine Quantifizierung der Intrinsic Dissolution mittels HPLC nicht mehr möglich ist, nicht sehr starr zu sehen. Daher beruht die Festlegung von Löslichkeitswerten als mögliche Grenze auf den neutralen Wirkstoffen Hydrochlorothiazid, Carbamazepin und EMD 503982, denn diese Wirkstoffe liegen nicht als Salz vor. Wirkstoffe mit Löslichkeiten $> 0,2$ mg/ml können gut mittels HPLC nach einer Intrinsic Dissolution quantifiziert werden. Löslichkeiten zwischen $0,2$ mg/ml und $0,05$ mg/ml können mit abnehmender Präzision quantifiziert werden. Für Wirkstoffe mit Löslichkeiten im Bereich zwischen $0,05$ mg/ml und $0,005$ mg/ml kann nicht vorhergesagt werden, ob eine Quantifizierung mittels HPLC nach einer Intrinsic Dissolution möglich ist. Für Löslichkeiten $< 0,005$ mg/ml ist eine Quantifizierung ausgeschlossen. Diese Angaben als Grenzwerte gelten nur für die Intrinsic Dissolution in einer Durchflusszelle mit einer Flussrate von 16 ml/min und einer Presslingsoberfläche von $0,5$ cm², Tabelle 25. Bei einem geschlossenen System sind Angaben von Grenzwerten nicht erforderlich, da der Wirkstoff während der Freisetzung kumuliert, wodurch eine Quantifizierung erleichtert wird.

Tabelle 25: Grenzwerte für die Quantifizierung durch HPLC von freigesetzten Wirkstoffen mittels Intrinsic Dissolution im offenen System bei Durchflusszellen (16 ml/min.; $0,5$ cm²).

	Freisetzungsrate [mg/min]	Löslichkeit [mg/ml]
gut detektierbar	$> 0,01$	$> 0,2$
detektierbar	$0,0025 - 0,01$	$0,05 - 0,2$
abhängig vom Wirkstoff	$0,0025 - 0,0001$	$0,005 - 0,05$
nicht detektierbar	$< 0,0001$	$< 0,005$

Eine Bestimmung der Freisetzungsraten eines Wirkstoffes in verschiedenen Freisetzungsmethoden kann mittels der entwickelten Kombinationsmethode während einer Freisetzung an einem einzigen Pressling erfolgen. Die dabei erhaltenen Freisetzungsraten entsprechen den einzeln bestimmten Freisetzungsraten ohne Medienwechsel. Durch die Kombinationsmethode werden der Zeitaufwand und der Wirkstoffbedarf bei der Bestimmung von Freisetzungsraten reduziert.

Für den Fall, dass eine Umwandlung des Wirkstoffes auf dem Pressling stattfindet, können die ermittelten Freisetzungsraten von den einzeln bestimmten Freisetzungsraten abweichen. Ein Indiz für eine Umwandlung kann mittels der Kombinationsmethode ermittelt werden, indem die Freisetzung mit entgegengesetzter Reihenfolge wiederholt wird. Es empfiehlt sich die Kombinationsmethode mit beiden Reihenfolgen durchzuführen, im Vergleich zur einzeln bestimmten Freisetzungsraten kann so der Bedarf an Wirkstoff immerhin um 30 Prozent reduziert werden.

Der Einsatz von kleineren Presslingsoberflächen bietet neben der Kombinationsmethode eine zusätzliche Möglichkeit den Wirkstoffbedarf bei der Bestimmung von Freisetzungskinetiken zu reduzieren. Es konnte gezeigt werden, dass die Freisetzungsraten von verschiedenen Presslingsoberflächen vergleichbar sind. Dadurch können Daten, die von verschiedenen großen Presslingsoberflächen bestimmt wurden, bedenkenlos miteinander verglichen bzw. umgerechnet werden.

Der entwickelte Zelleinsatz zur Intrinsic Dissolution bietet neue flexible Möglichkeiten bei der Methodenentwicklung, wie die Kombinationsmethode oder das offene bzw. geschlossene System in Durchflussszellen. Erstmals besteht die Möglichkeit, variabel verschieden große Presslingsoberflächen in einem System zu nutzen und damit die Methodenentwicklung an die Bedürfnisse anzupassen.

5.3.4 Korrelation zwischen der Durchflussszelle und der Distekmethode

Unter den bisher erhältlichen Systemen zur Intrinsic Dissolution hat sich die in der USP monographierte Distekmethode am weitesten in der Industrie etabliert. Von großem Interesse ist die Untersuchung der Übertragbarkeit von Freisetzungsraten der Distekmethode auf die Durchflussszelle und umgekehrt (Avdeef A & Tsinman O 2008; Nicklasson M et al. 1991; Pena MH et al. 2003). Daher wurden in diesem Kapitel die Freisetzungsraten verschiedener Wirkstoffe der Distekmethode mit den Freisetzungsraten der Wirkstoffe in der Durchflussszelle verglichen. Die gewählten Methodenparameter für den Vergleich sind in Tabelle 26 aufgeführt.

Tabelle 26: Gegenüberstellung der Methodenparameter für die Intrinsic Dissolution mittels der Distekmethode im Vergleich zur Durchflussszelle.

	Distek	Durchflussszelle
Presslingsoberfläche	0,5 cm ² (ø 8 mm)	
Wiederholungen	n = 6	
Freisetzungsmedium	Phosphatpuffer pH 4,5 (Ph.Eur.) mit 0,01% Tween [®] 80	
Methodendauer	120 min.	40 min.
Umdrehungszahl	50 rpm	-
Flussrate	-	16 ml/min

Die mit beiden Methoden ermittelten Freisetzungsraten [mg/ml] der untersuchten Wirkstoffe wurden gegeneinander in Abbildung 100 aufgetragen. Dabei wurde der Wert von Ambroxol HCl im rechten Diagramm bei der linearen Regression nicht mit berücksichtigt, da Ambroxol HCl in pH 4,5⁺ eine deutlich bessere Freisetzungskinetik im Vergleich zu den anderen untersuchten Wirkstoffen ausweist und somit das Bestimmtheitsmaß überproportional beeinflusst.

Es konnte gezeigt werden, dass die mit beiden Methoden ermittelten Freisetzungsraten der untersuchten Wirkstoffe linear miteinander korrelieren. Dabei unterscheiden sich die Freisetzungsraten der beiden Methoden um den Faktor 2.

In Tabelle 27 sind die Freisetzungsraten der Durchflusszelle im Vergleich mit der Distekmethode der untersuchten Wirkstoffe dargestellt. Bei Diclofenac Na konnte keine Freisetzungsrates mit der Distekmethode bestimmt werden, da sich Diclofenac Na im Freisetzungsmedium pH 4,5⁺ in die freie Säure umwandelt. Auf die Umwandlung von Diclofenac Na in die freie Säure wird näher in Kapitel 5.3.6.3 eingegangen.

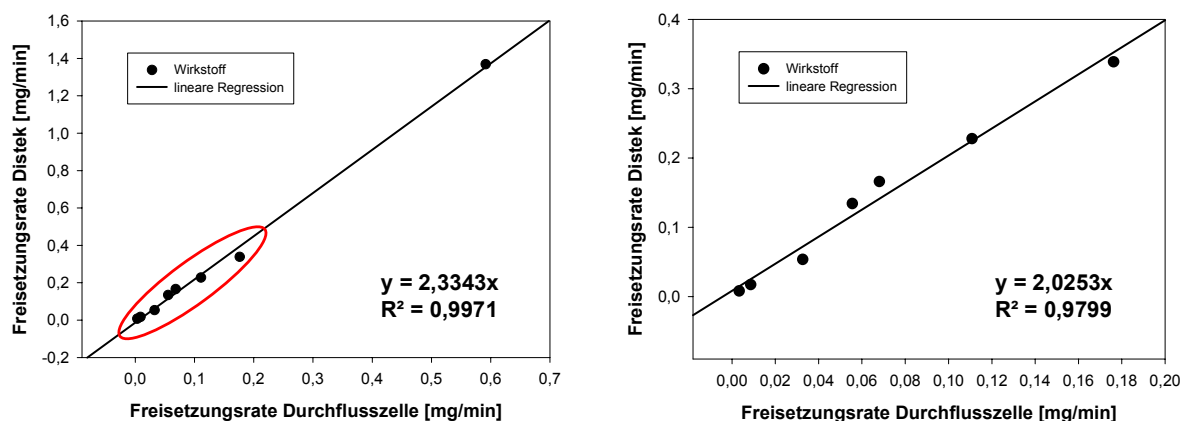


Abbildung 100: Korrelation der Freisetzungsraten verschiedener Wirkstoffe der Distekmethode mit den in der Durchflusszelle ermittelten Freisetzungsraten in pH 4,5⁺ bei einer Presslingsoberfläche von 0,5 cm². (n = 6)

Tabelle 27: Freisetzungsraten der Intrinsic Dissolution mittels der Distekmethode im Vergleich zur Durchflusszelle. (n = 6)

	Durchflusszelle [mg/min]	Distekmethode [mg/min]
Ambroxol HCl	0,5915	1,3690
EMD 128130	0,0682	0,1660
Trimethoprim	0,1108	0,2280
Carbamazepin	0,0086	0,0174
Levomepromazin Maleat	0,0555	0,1344
Hydrochlorothiazid	0,0326	0,0538
Diclofenac Na	0,0204	Nicht möglich!
Acetylsalicylsäure	0,1762	0,3390
EMD 503982	0,0033	0,0082

5.3.5 Korrelation der Freisetzungsrates mit der Löslichkeit

Das DLV wird bei der Methodenentwicklung von Freisetzungen in der Blattrührerapparatur bestimmt, dabei wird die zu erwartende Freisetzung anhand der thermodynamischen Löslichkeit abgeschätzt. Es ist demzufolge von großem Interesse, zu überprüfen, ob anhand der thermodynamischen Löslichkeit auf die Freisetzung in der Durchflusszelle geschlossen werden kann. Daher wurden die intrinsischen Freisetzungsraten der Wirkstoffe in den untersuchten Freisetzungsmedien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und

SIFsp⁺ gegen die thermodynamische Löslichkeit in den Freisetzungsmedien nach 24 Stunden aufgetragen. Wie in Abbildung 101 zu erkennen, scheint eine Tendenz zwischen Löslichkeit und Freisetzungsrate zu existieren. Auf der linken Seite der Abbildung 101 ist die Löslichkeit gegen die Freisetzungsrates aufgetragen. Auf der rechten Seite wurde die Löslichkeit gegen die Freisetzungsrates mit logarithmierten Achsen aufgetragen. In der logarithmischen Darstellung kann tendenziell ein Zusammenhang zwischen Löslichkeit und Freisetzungsrates bestätigt werden. Jedoch ist keine genaue Vorhersage möglich, da beispielsweise Wirkstoffe mit einer ähnlichen Freisetzungsrates von ungefähr 0,2 mg/min sich in ihrer Löslichkeit um den Faktor 2 unterscheiden können, siehe linke Seite der Abbildung 101. Dies erklärt die schlechte Korrelation mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,8719$. Das war zu erwarten, denn ein Wirkstoff kann in Form von verschiedenen Salzen unterschiedliche Freisetzungskinetiken bei identischer thermodynamischer Löslichkeit in einem Freisetzungsmedium aufweisen. Daher kann nicht direkt aus der thermodynamischen Löslichkeit auf die Freisetzungsrates geschlossen werden, die Ausnahme sind neutrale Wirkstoffe.

Eine grundsätzliche Aussage über ein mögliches Freisetzungsverhalten ist dennoch anhand der thermodynamischen Löslichkeit möglich. Die Aussage beschränkt sich jedoch nur darauf, ob eine schnelle, mittlere oder langsame Freisetzungsrates zu erwarten ist.

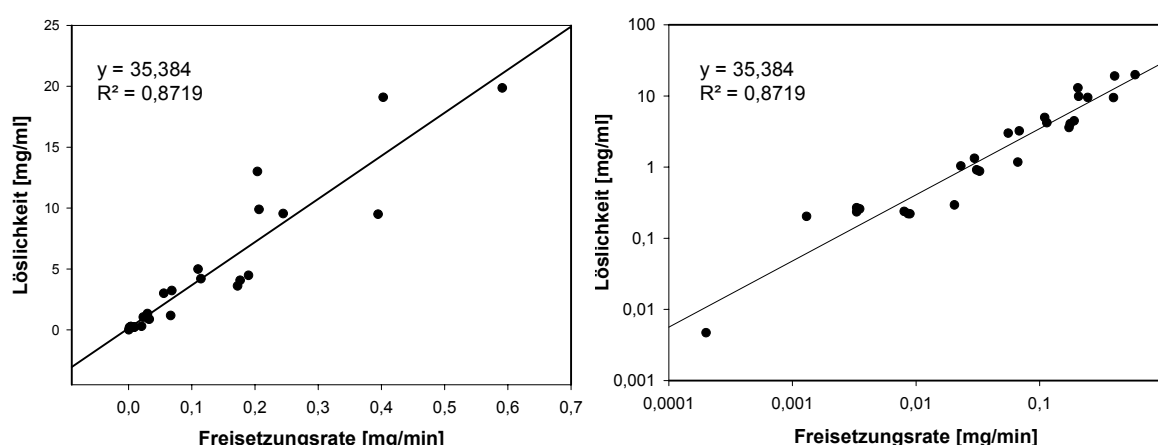


Abbildung 101: Korrelation der Freisetzungsrates aus der Durchflusszelle für verschiedene Wirkstoffe in den Freisetzungsmedien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺ mit der thermodynamischen Löslichkeit der Wirkstoffe in den Freisetzungsmedien nach 24 Stunden. ($n = 6$)

5.3.6 Anwendung: Bestimmung von Salzänderungen

Während der Freisetzung von Wirkstoffen kann es zur Umwandlung des Wirkstoffsalzes in eine andere Form kommen. Der häufigste Fall ist die Umwandlung eines Wirkstoffsalzes in die freie Base in Freisetzungsmedien mit einem pH-Wert oberhalb des p_{ka}-Wertes des Wirkstoffes. Eine solche Umwandlung kann einen erheblichen Einfluss auf die Freisetzung der Arzneiformulierung haben, denn die Freisetzungsrates der Ausgangsform im Vergleich zur entstandenen neuen Form unterscheiden sich in den meisten Fällen signifikant voneinander.

Der entwickelte Zelleinsatz zur Bestimmung der Freisetzungsrates bietet erstmals die Möglichkeit der Bestimmung dieser Umwandlungskinetik mit einem differentiellen Freisetzungsprofil. Dies ermöglicht

die offene Betriebsweise der Durchflusszelle, dabei wird die Freisetzungsrates über die Zeit aufgetragen. Dadurch konnte die Umwandlungskinetik eines Wirkstoffsalzes in eine andere Form erfasst und ein physikalisches Modell zur Umwandlungskinetik aufgestellt und geprüft werden.

5.3.6.1 Modell der Umwandlungskinetik

Aufgrund der Freisetzung mit einer offenen Betriebsweise in der Durchflusszelle, konnte im differentiellen Freisetzungsprofil die Freisetzungsrates gegen die Zeit aufgetragen werden. Da während der Freisetzung die Oberfläche des Wirkstoffes konstant bleibt, ergibt sich normalerweise für einen Wirkstoff eine konstante Freisetzungsrates über die Zeit. Wandelt sich ein Wirkstoff jedoch auf dieser konstanten Oberfläche von der Form A mit der Freisetzungsrates (D_A) in die Form B mit der Freisetzungsrates (D_B) während der Freisetzung um, kann dies anhand einer sich ändernden Freisetzungsrates beobachtet werden. Aufgrund solcher in der Literatur beschriebener Beobachtungen wurde in dieser Arbeit eine theoretische Grundlage für die Umwandlungskinetik entwickelt (Lehto P et al. 2008; Chen LR et al. 2003; Aaltonen J et al. 2006).

Eine solche Änderung der Freisetzungsrates über die Zeit konnte bei den Wirkstoffen Ambroxol HCl, Diclofenac Na und der freien Base von EMD 128130 unter bestimmten Bedingungen beobachtet werden, diese Fälle werden nachfolgend im Einzelnen beschrieben.

Das Modell der Umwandlungskinetik geht von der Umwandlung einer Form A mit der Freisetzungsrates (D_A) in eine Form B mit der Freisetzungsrates (D_B) an der Oberfläche des Presslings aus. Betrachtet man beide Formen neutral, ohne dass eine Umwandlung stattfindet, würde das differentielle Freisetzungsprofil für beide Formen eine konstante Freisetzungsrates zeigen, Abbildung 102. Auf diese Weise ermittelte Freisetzungsrates wurden bereits beispielhaft für EMD 128130 gezeigt und bei mehreren Wirkstoffen bestimmt. Würde theoretisch an der Oberfläche eine Mischung der Form A und Form B im Verhältnis 1:1 vorliegen, ergäbe sich ebenfalls eine konstante Freisetzungsrates über die Zeit, die dem Mittelwert der Freisetzungsrates der Form A und B entspräche, Abbildung 102.

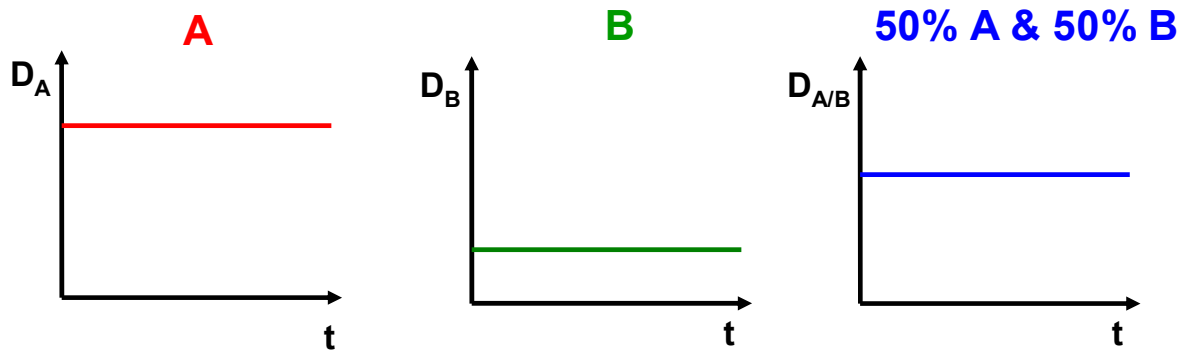


Abbildung 102: Theoretischer Verlauf des differentiellen Freisetzungsprofils der Intrinsic Dissolution in einem offenen Durchflusssystem. Die Freisetzungsrates D der Form A und der Form B ist gegen die Zeit t aufgetragen. Im Fall einer Mischung der Form A und Form B im Verhältnis 50 : 50 entspricht die Freisetzungsrates $D_{A/B}$ dem Mittelwert der Freisetzungsrates D_A und D_B .

Kommt es zu einer Umwandlung von Form A zu Form B an der Presslingsoberfläche, wobei Form B eine andere Freisetzungsrates als Form A aufweist, würde sich die Freisetzungsrates D_t permanent während der Umwandlung ändern. Dieses Verhalten wurde bereits bei den genannten Wirkstoffen beobachtet. Das heißt, bei der Umwandlung der Form A in die Form B erhält man eine sich zeitlich ändernde Freisetzungsrates D_t , wie in Abbildung 103. Dabei nimmt zunächst die Freisetzungsrates exponentiell ab, bis sich die Freisetzungsrates auf ein konstantes Niveau einpendelt.

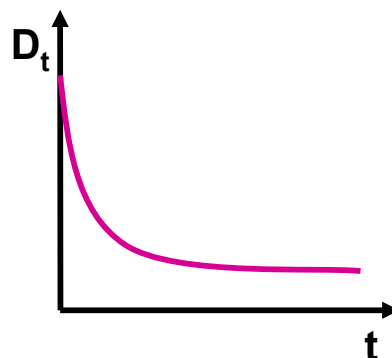


Abbildung 103: Die theoretische Freisetzungsrates D_t für die Intrinsic Dissolution bei einer offenen Betriebsweise ändert sich zeitabhängig aufgrund einer Umwandlung des Wirkstoffes an der Oberfläche des Presslings in eine andere Form mit einer langsameren Freisetzungsrates.

Unter der Annahme, dass anfangs nur die Form A an der Oberfläche vorhanden war und am Ende quantitativ die Form B an der Oberfläche vorliegt, entspricht der Verlauf der sich ändernden Freisetzungsrates D_t genau der Umwandlungskinetik in Abbildung 104. Da diese Umwandlungskinetik einer physikalischen Grundlage entspricht, soll diese im aufgestellten Modell verifiziert werden. Die Annahme, dass die Umwandlung an der Oberfläche auf der Grundlage der Kinetik erster Ordnung erfolgt, soll mit dem Modell bestätigt werden. Dann könnte die Freisetzungsrates D_t zukünftig zu jedem Zeitpunkt t aus den Messdaten extrapoliert und bewertet werden.

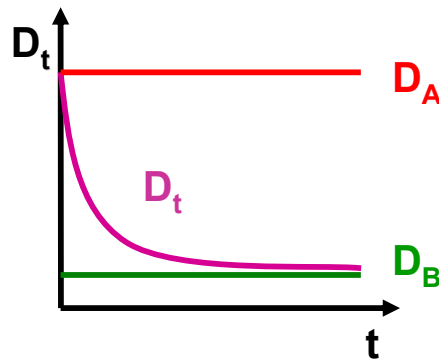


Abbildung 104: Darstellung der Freisetzungsrates D_t bei einer Umwandlung des Wirkstoffes von Form A an der Oberfläche des Presslings in die Form B und Angabe der theoretischen Freisetzungsrates D_A und D_B für die Form A und B.

Zunächst muss für das Modell ein Zusammenhang für die Zusammensetzung der Form A und Form B an der konstanten Oberfläche bei der Umwandlung zu einem Zeitpunkt t beschrieben werden. Der Oberflächenanteil der Form A (X_A) und der Oberflächenanteil der Form B (X_B) bilden das Verhältnis von Form A und Form B an der Oberfläche wieder. X_A setzt sich zu jedem Zeitpunkt bei einer Umwandlung wie in Gleichung 19 beschrieben zusammen. Dabei entspricht A der Oberfläche von Form A und B der Oberfläche von Form B. Da die Gesamtoberfläche während der Freisetzung konstant bleibt und anfangs nur die Form A an der Oberfläche vorhanden war, entspricht A_0 der Oberfläche von A zum Zeitpunkt $t = 0$ und damit der Gesamtoberfläche.

$$X_A = \frac{A}{A+B} = \frac{A}{A_0} \quad \text{Gleichung 19}$$

Aufgrund der konstanten Oberfläche während der Freisetzung entspricht die Summe des Oberflächenanteils X_A und X_B dem Wert 1, siehe Gleichung 20. In Gleichung 21 wurde zur Vereinfachung nach X_B umgestellt.

$$1 = X_A + X_B \quad \text{Gleichung 20}$$

$$X_B = 1 - X_A \quad \text{Gleichung 21}$$

Die zeitliche Änderung der Verhältnisse/ Zusammensetzung von Form A zu Form B an der Oberfläche während der Freisetzung, ist in Abbildung 105 anhand einer Beispielberechnung für X_A veranschaulicht. Während mit zunehmender Zeit die Oberfläche der Form A sich verkleinert (rotes Quadrat) nimmt die Oberfläche der Form B zu (grünes Quadrat), bis die gesamte Oberfläche aus Form B besteht.

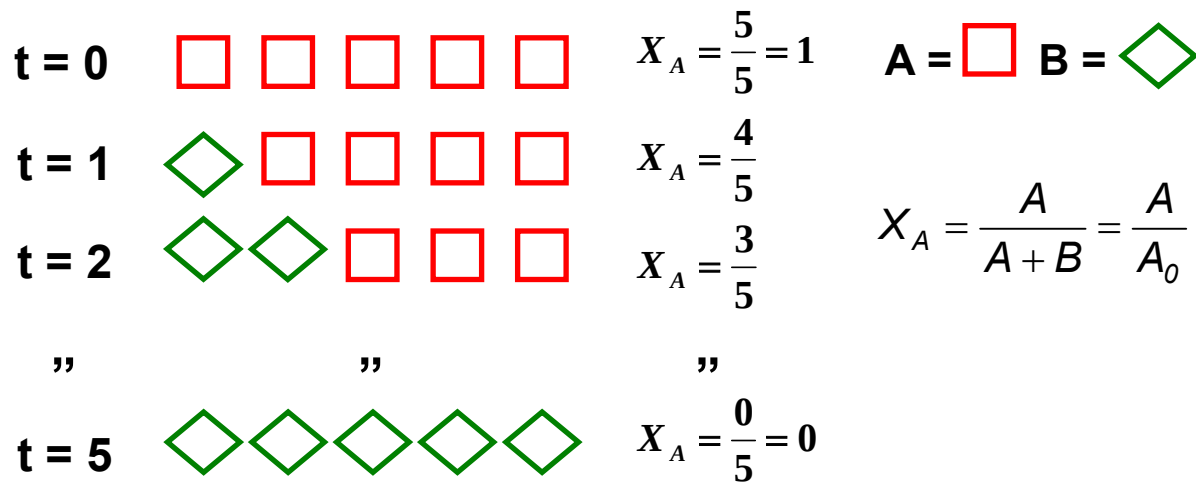


Abbildung 105: Darstellung der Abnahme des Anteils von Form A an der Oberfläche des Presslings und gleichzeitige Zunahme der Form B an der Oberfläche mit der Zeit während einer Umwandlung. X_A entspricht dem Oberflächenanteil der Form A an der Gesamtoberfläche, während A_0 der Oberfläche von Form A zum Zeitpunkt $t = 0$ entspricht.

Demzufolge entspricht die Freisetzungsrates D_t zu einem definierten Zeitpunkt in Abbildung 104 der Summe des Oberflächenanteils X_A multipliziert mit der entsprechenden Freisetzungsrates D_A und dem Oberflächenanteil X_B multipliziert mit der Freisetzungsrates D_B , siehe Gleichung 22. Die Gleichung 23 wird durch Einsetzen von Gleichung 21 erhalten. Zwecks vereinfachter Darstellung wurde Gleichung 23 zur Gleichung 24 umgestellt.

$$D_t = X_A \times D_A + X_B \times D_B \quad \text{Gleichung 22}$$

$$D_t = X_A \times D_A + (1 - X_A) \times D_B \quad \text{mit } X_B = 1 - X_A \quad \text{Gleichung 23}$$

$$D_t = X_A \times (D_A - D_B) + D_B \quad \text{Gleichung 24}$$

Für die Umwandlung der Form A in Form B wird eine Kinetik erster Ordnung angenommen. Die Kinetik erster Ordnung beschreibt üblicherweise katalytische oder radioaktive Zerfallsprozesse. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist in diesem Fall ausschließlich von der Konzentration des zerfallenden Stoffes abhängig. Somit kann die Kinetik erster Ordnung auf die Umwandlung von Form A zu Form B adaptiert werden, da der Oberflächenanteil X_A die Freisetzungsrates D_t genau in dieser Art und Weise beeinflusst. Eine Änderung des Oberflächenanteils X_A ist demzufolge ausschlaggebend für D_t . Die Umwandlung kann als Zerfall der Form A betrachtet werden. Somit beschreibt D_t den Umwandlungsprozess auf Grundlage der Kinetik erster Ordnung. Das heißt, mit abnehmendem X_A nimmt die Freisetzungsrates D_t ab, bis keine Form A mehr an der Oberfläche vorliegt und somit eine vollständige Umwandlung in Form B erfolgt ist. In Gleichung 25 ist die Kinetik erster Ordnung dargestellt. Nach einer Umformung erhält man die Gleichung 26. Durch eine weitere Umformung zu Gleichung 27, erhält man den Quotienten A/A_0 der laut Gleichung 19 X_A entspricht.

$$\ln[A] = -akt + \ln[A_0] \quad \text{mit } a = 1 \quad \text{Gleichung 25}$$

$$\ln \left[\frac{A}{A_0} \right] = -kt \quad \text{Gleichung 26}$$

$$\frac{A}{A_0} = e^{-kt} = X_A \quad \text{Gleichung 27}$$

Durch Einsetzen der Gleichung 27 in die Gleichung 24 erhält man die Gleichung 28, welche die Umwandlungskinetik von Form A in Form B beschreibt. Die Umwandlungskinetik kann demzufolge vereinfacht durch die Gleichung 29 beschrieben werden.

$$D_t = (D_A - D_B) \times e^{-kt} + D_B \quad \text{Gleichung 28}$$

$$Y = Y_0 \times e^{-kt} + C \quad \text{Gleichung 29}$$

Dieses hergeleitete Modell beschreibt die Umwandlungskinetik von einer Form A in eine Form B anhand der Kinetik erster Ordnung, wie sie bei der Intrinsic Dissolution mit dem entwickelten Zelleinsatz in einem offenen Durchflusssystem im differentiellen Freisetzungsprofil beobachtet werden konnte. Da klassisch Intrinsic Dissolution in einem geschlossenen System erfolgt, wird nachfolgend das aufgestellte Modell an dieses System angepasst. Diese Anpassung ist ohne weiteres möglich. In einem geschlossenen System kumuliert der Wirkstoff, dadurch kann durch eine einfache Integration der Gleichung 28 in den Grenzen 0 und t ein kumulatives System beschrieben werden. Die Integration ist in Gleichung 30 gezeigt. Nach einer Umformung wird die Umwandlungskinetik in einem kumulativen System durch Gleichung 31 beschrieben.

$$\int_0^t Y_0 \times e^{-kt} + D_B = \left[-\frac{Y_0}{k} \times e^{-kt} + D_B t \right]_0^t = -\frac{Y_0}{k} \times e^{-kt} + D_B t + \frac{Y_0}{k} \quad \text{Gleichung 30}$$

$$C_t = C_0 \times (1 - e^{-kt}) + D_B t \quad \text{mit} \quad C_0 = \frac{D_A - D_B}{k} = \frac{Y_0}{k} \quad \text{Gleichung 31}$$

Das aufgestellte Modell wurde nachfolgend mit real bestimmten Daten von Ambroxol HCl, Diclofenac Na und der Base von EMD 128130 durch Kurvenanpassung überprüft.

5.3.6.2 Ambroxol Base

Bei der Intrinsic Dissolution der freien Base von Ambroxol wurde unerwartet in SGFsp⁺ eine sich ändernde Freisetzungsrates über die Zeit beobachtet. Die ermittelte Freisetzungsrates zeigt im differentiellen Freisetzungsprofil einen Verlauf für D_t entsprechend dem Modell. Die Freisetzungsrates der Base von Ambroxol nimmt in SGFsp⁺ innerhalb von 15 Minuten exponentiell vom Ausgangswert auf ein niedrigeres Plateau ab, Abbildung 106. Das Plateau entspricht der Freisetzungsrates von Ambroxol HCl in SGFsp⁺, welche in Abbildung 106 mit dargestellt wurde. Entsprechend des Modells erfolgte die Umwandlung der Base von Ambroxol in eine andere Form, in diesem Fall das Hydrochloridsalz von Ambroxol. Um die Umwandlung der Base in das Hydrochlorid zu bestätigen, wurde die Presslingsoberfläche der Base von Ambroxol vor und nach der Freisetzung im Ramanmikroskop untersucht, Abbildung 107. Die Kurvenanpassung zur Überprüfung des aufgestellten Modells zeigt einen übereinstimmenden Verlauf mit den bestimmten Freisetzungsrates.

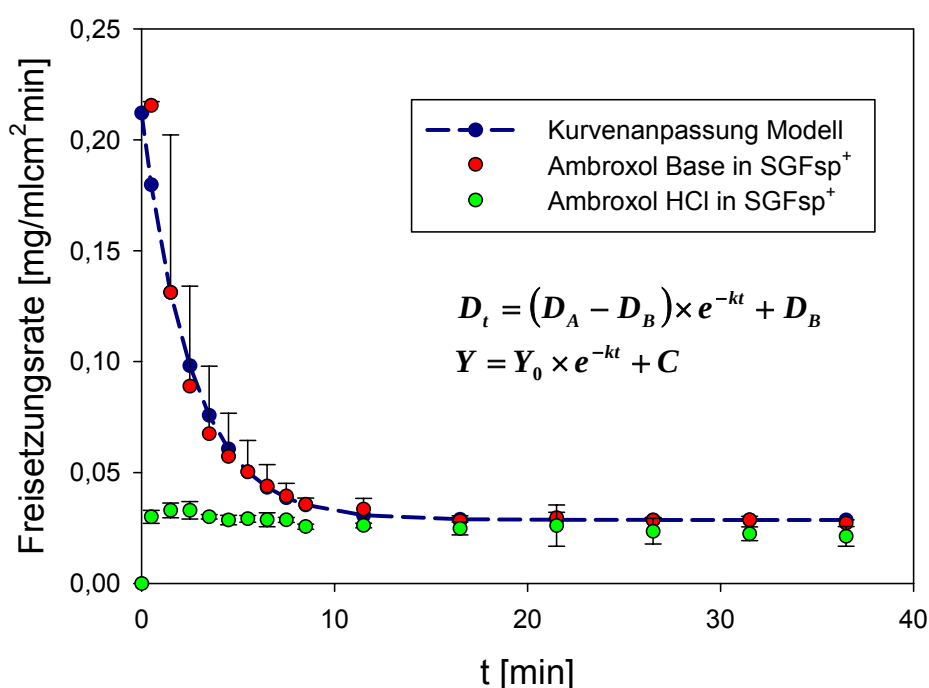


Abbildung 106: *Differentielles Freisetzungsprofil der Intrinsic Dissolution von Ambroxol HCl und der freien Base von Ambroxol mittels einer Durchflussszelle in SGFsp⁺. Es erfolgte eine Kurvenanpassung des Modells zur Umwandlungskinetik an das Freisetzungsprofil der freien Base von Ambroxol. (n = 6)*

Im Ramanmikroskop konnte bestätigt werden, dass nach der Freisetzung der Base in SGFsp⁺ an der Oberfläche des Presslings das Hydrochloridsalz vorlag. Als zweite Methode wurde der Pressling mittels NIR im Reflexionsmodus vor und nach der Freisetzung in SGFsp⁺ vermessen, Abbildung 108. Es zeigt sich auch im NIR, dass das Hydrochlorid an der Oberfläche nach der Freisetzung vorliegen muss. Da die Eindringtiefe der NIR Strahlung unbekannt ist, überlagern sich jedoch die Signale der Base und des entstandenen Hydrochlorids auf der Oberfläche. Daher konnte nur im Wellenzahlbereich von 4400 bis 5000 im Spektrum das Hydrochlorid mittels der 2. Ableitung nachgewiesen werden.

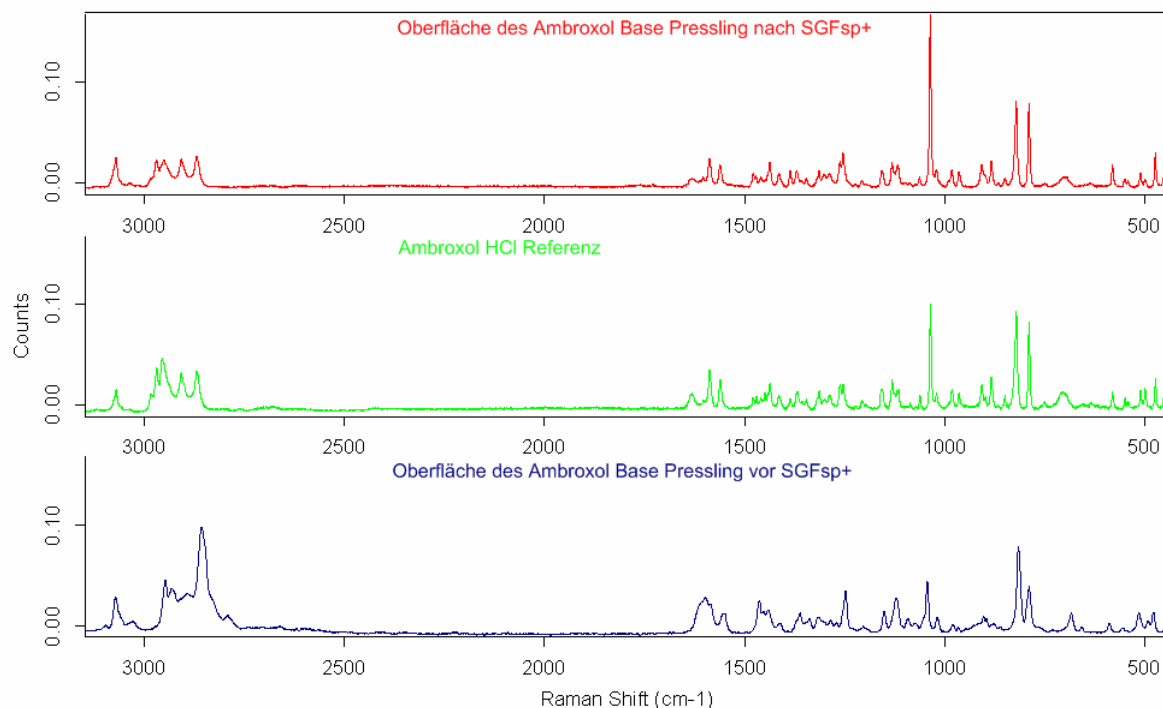


Abbildung 107: Ramanspektren der Presslingsoberfläche der freien Base von Ambroxol vor und nach der Intrinsic Dissolution in SGFsp⁺ im Vergleich mit Ambroxol HCl als Referenz. (n = 3)

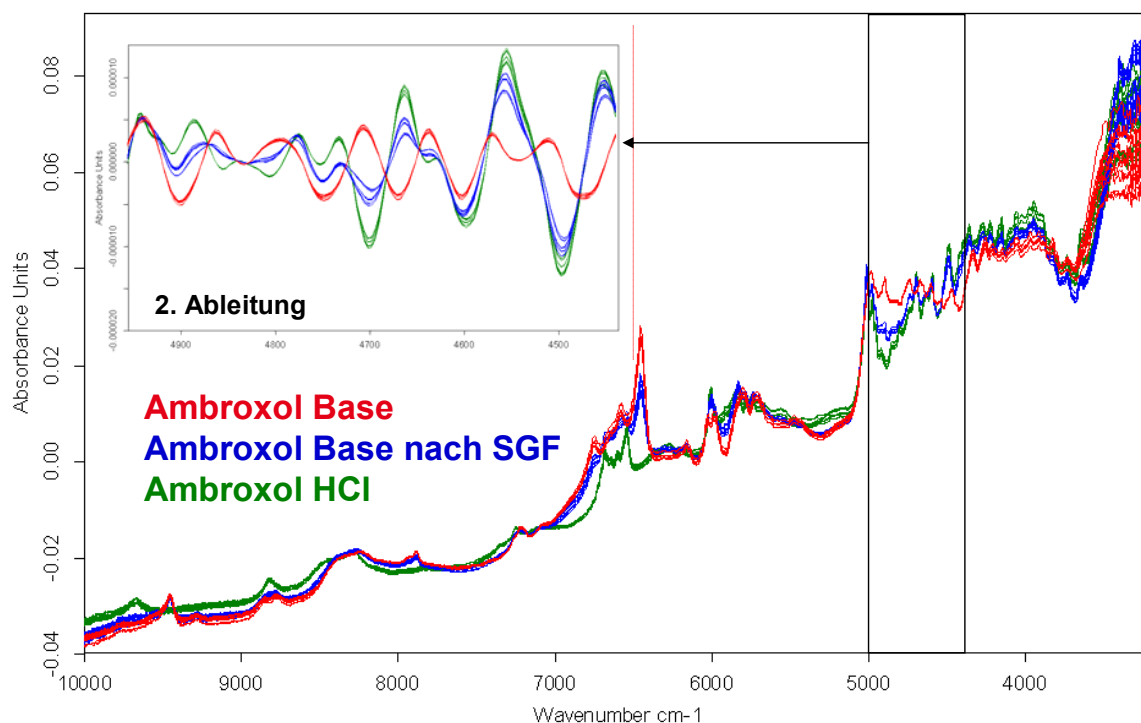


Abbildung 108: NIR-Spektren der Presslingsoberfläche der freien Base von Ambroxol vor und nach der Intrinsic Dissolution in SGFsp⁺ im Vergleich mit Ambroxol HCl als Referenz. (n = 6)

Die Freisetzungsdaten wurden in das kumulative Profil umgerechnet und eine Kurvenanpassung mit dem integrierten Modell durchgeführt, Abbildung 109. Die Kurvenanpassung des integrierten Modells entspricht erwartungsgemäß den tatsächlich ermittelten Werten. Damit beschreibt das Modell die Umwandlung einer Form in eine andere Form für das differentielle Freisetzungsprofil und das integrierte Modell beschreibt das kumulative Freisetzungsprofil.

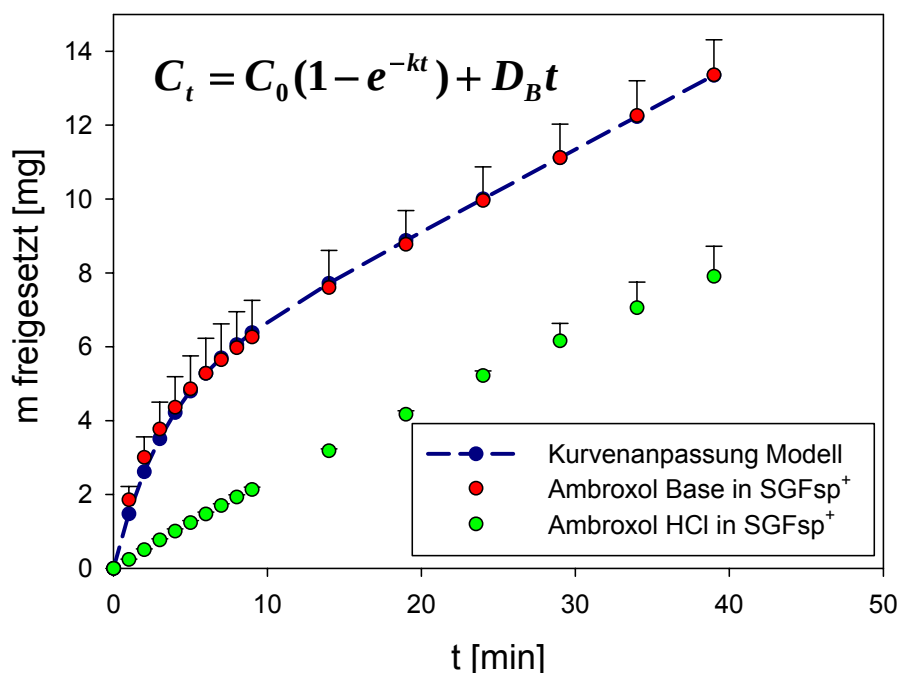


Abbildung 109: Kumulatives Freisetzungsprofil der Intrinsic Dissolution von Ambroxol HCl und der freien Base von Ambroxol mittels einer Durchflusszelle in SGFsp⁺. Es erfolgte eine Kurvenanpassung des integrierten Modells zur Umwandlungskinetik an das Freisetzungsprofil der freien Base von Ambroxol. (n = 6)

5.3.6.3 Diclofenac Natrium

Diclofenac Na zeigte bei der Intrinsic Dissolution in pH 4,5 eine sich ändernde Freisetzungsrate mit der Zeit entsprechend dem aufgestellten Modell. Daher wurde eine Kurvenanpassung an die ermittelten differentiellen und kumulativen Daten vorgenommen, Abbildung 110. Die Kurvenanpassung des differentiellen und kumulativen Freisetzungsprofils an das Modell verläuft deckungsgleich zu den bestimmten Werten. Bei der Freisetzung von Diclofenac Na in pH 4,5 entsteht bei der Umwandlung an der Oberfläche die freie Säure. Der Nachweis der entstandenen Säure von Diclofenac erfolgte im Ramanmikroskop (Abbildung 111) und mittels NIR an der Oberfläche der Presslinge vor und nach der Freisetzung in pH 4,5 (Abbildung 112). In Abbildung 113 sind NIR Spektren verschiedener physikalischer Mischungen von Diclofenac Na mit der freien Säure dargestellt. Anhand dessen kann das entstandene Spektrum nach der Freisetzung von Diclofenac Na der Säure zugeordnet werden. Da die freie Säure von Diclofenac in Form von Nadeln an der Oberfläche während der Freisetzung entstand, konnten diese Nadeln auch mittels DSC untersucht werden. Der Schmelzpunkt der Nadeln entspricht dem der freien Säure, dies bestätigt die Umwandlung vom Natriumsalz in die freie Säure.

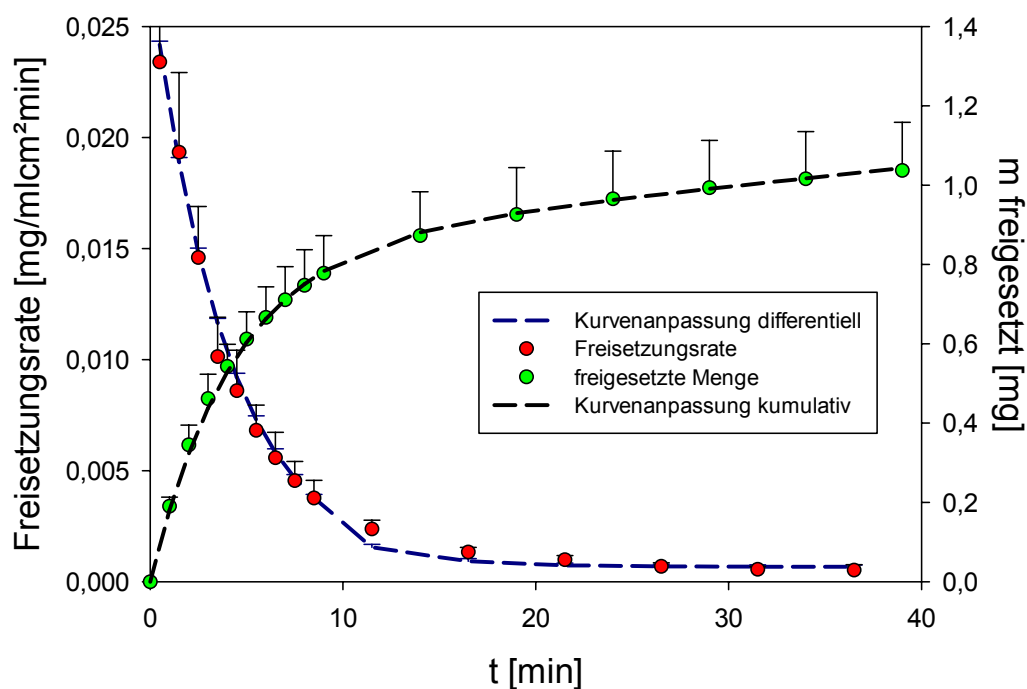


Abbildung 110: Differentielles und kumulatives Freisetzungsprofil der Intrinsic Dissolution von Diclofenac Na mittels einer Durchflusszelle in pH 4,5. Es erfolgte jeweils eine Kurvenanpassung an das Modell zur Umwandlungskinetik. ($n = 6$)

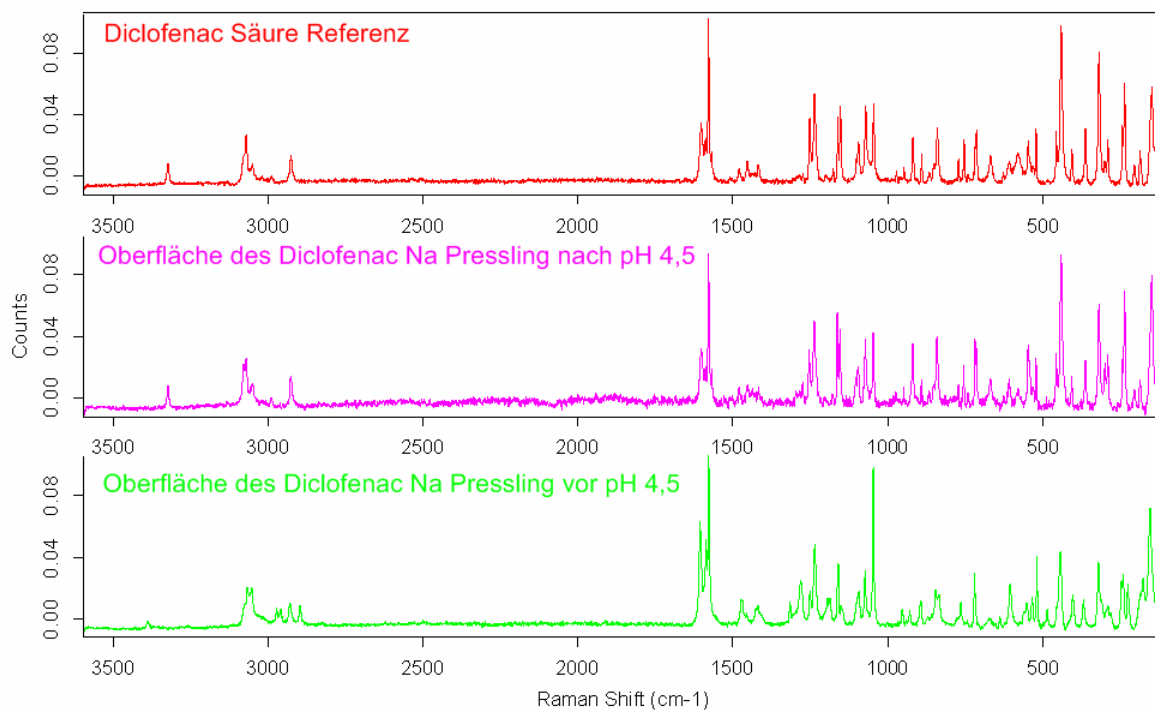


Abbildung 111: Ramanspektren der Presslingsoberfläche von Diclofenac Na vor und nach der Intrinsic Dissolution in pH 4,5 im Vergleich mit der freien Säure von Diclofenac als Referenz. ($n = 3$)

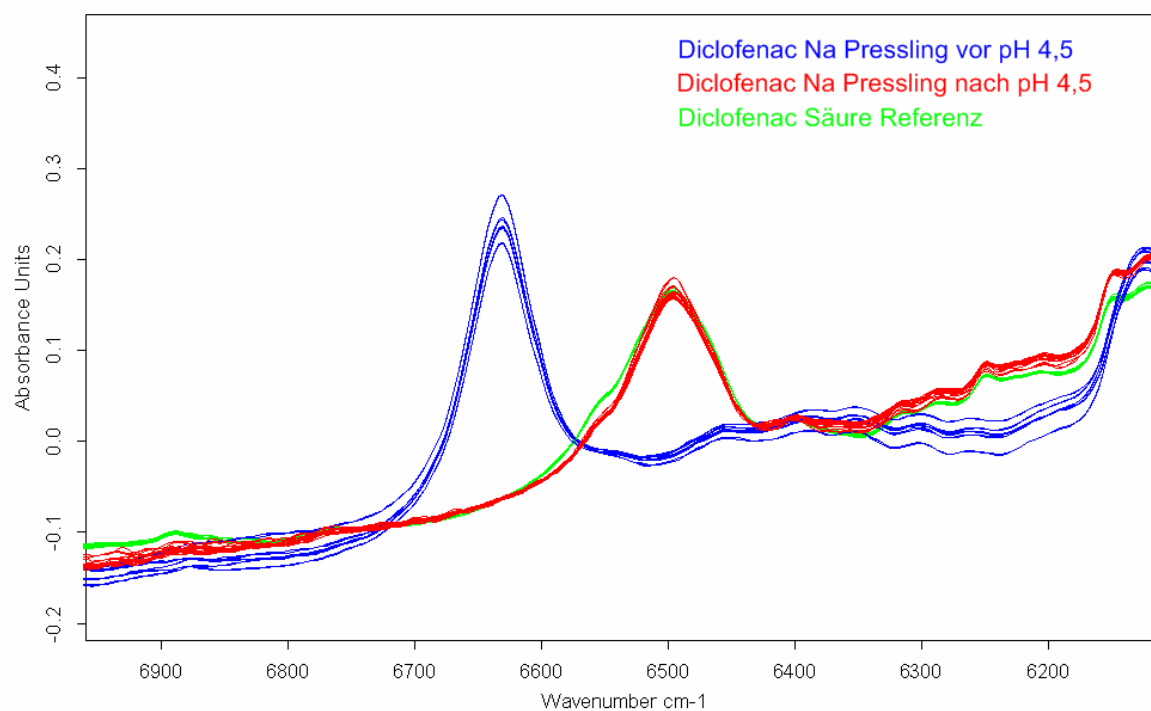


Abbildung 112: Ausschnitt aus den NIR-Spektren der Presslingoberfläche der von Diclofenac Na vor und nach der Intrinsic Dissolution in pH 4,5 im Vergleich mit der freien Säure von Diclofenac als Referenz. (n = 6)

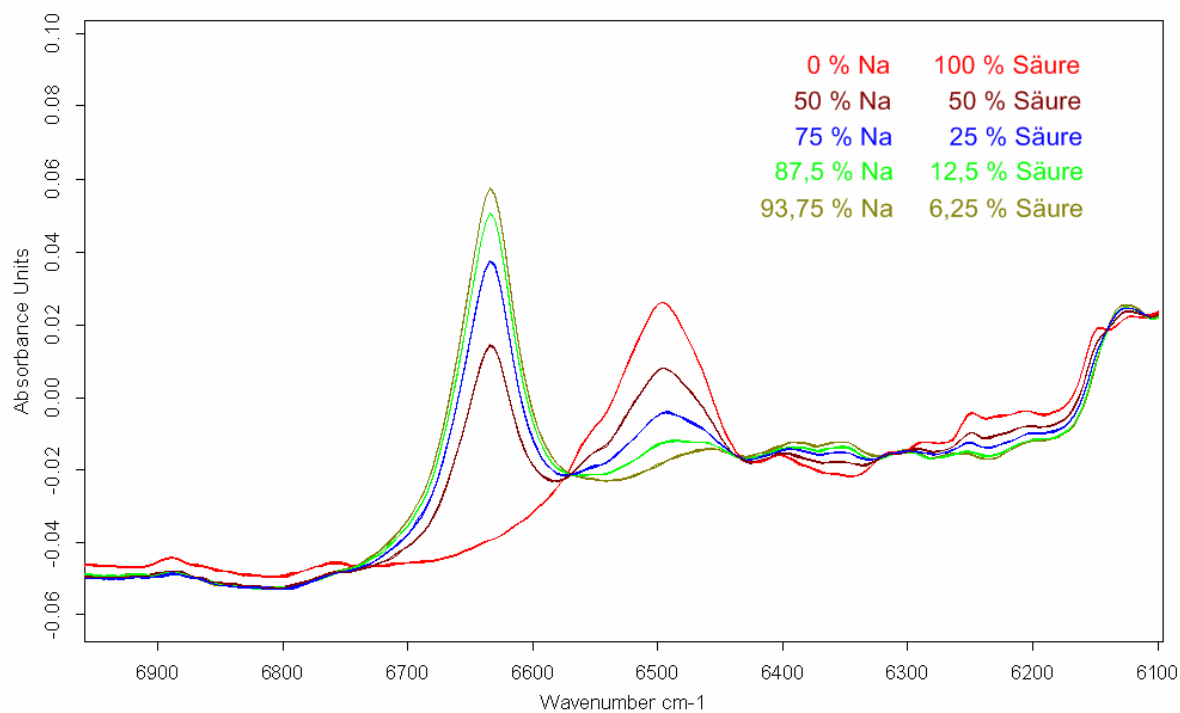


Abbildung 113: Ausschnitt aus den NIR-Spektren verschiedener physikalischer Mischungen von Diclofenac Na mit der freien Säure von Diclofenac. (n = 6)

Bei weiteren Untersuchungen konnte eine Abhängigkeit der Umwandlungskinetik in pH 4,5 von der Phosphatkonzentration gezeigt werden, bei den ermittelten Daten erfolgte jeweils eine Kurvenanpassung, Abbildung 114. Zusätzlich wurde die Freisetzung der freien Säure von Diclofenac in 0,1 molaren Phosphatpuffer pH 4,5 gezeigt. Mit steigendem Phosphatgehalt konnte kein Einfluss auf die Freisetzung der Säure nachgewiesen werden, daher werden die anderen Freisetzungsprofile der Säure hier nicht gezeigt. Mit steigender Phosphatkonzentration nimmt in pH 4,5 die Freisetzungsrate von Diclofenac Na am Zeitpunkt $t = 0$ ab, dies führt bei der Kurvenanpassung zu einem sinkenden Y_0 , Tabelle 28. Die Geschwindigkeitskonstante k steigt hingegen mit steigender Phosphatkonzentration bis zu einem Phosphatgehalt von 0,15 Mol, ab diesem Phosphatgehalt erreicht die Geschwindigkeitskonstante k ein Plateau. Die Konstante C nimmt bis zu einer Konzentration von 0,175 Mol an Phosphat auf ein Plateau ab.

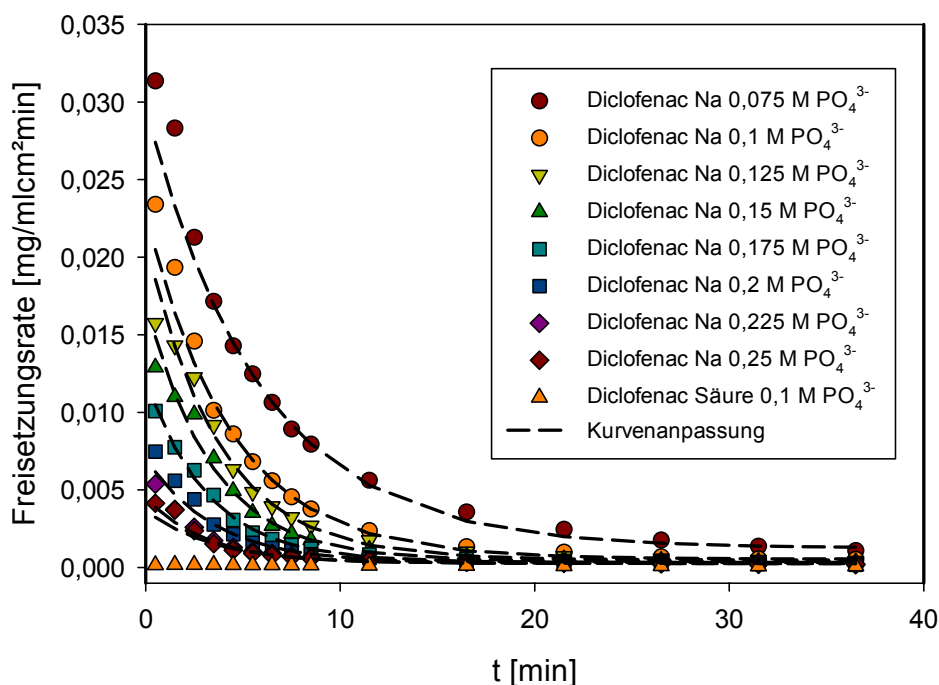


Abbildung 114: Differenzielles Freisetzungsprofil der Intrinsic Dissolution von Diclofenac Na mittels einer Durchflusszelle in pH 4,5 bei verschiedenen Phosphatkonzentrationen. Es erfolgte jeweils eine Kurvenanpassung an das Modell zur Umwandlungskinetik. ($n = 6$)

Tabelle 28: Ermittelte Konstanten Y_0 , k und C der Kurvenanpassung an das Modell zur Umwandlungskinetik von Diclofenac Na bei pH 4,5 in Abhängigkeit zur Phosphatkonzentration.

	Phosphatkonzentration in Mol							
	0,075	0,1	0,125	0,15	0,175	0,2	0,225	0,25
Y_0	0,02848	0,02236	0,02069	0,01679	0,01186	0,00682	0,0042	0,00345
k	0,1695	0,2276	0,2693	0,2947	0,31192	0,2841	0,3181	0,2862
C	0,00124	0,00054	0,00049	0,00038	0,00033	0,00025	0,00027	0,00025

Der Einfluss der Phosphatkonzentration auf die Konstanten Y_0 , k und C ist in Abbildung 115 dargestellt. Daraus kann abgeleitet werden, dass bei Überschreiten einer Grenzkonzentration von Phosphat im Medium kein Einfluss mehr auf die Konstanten k und C zu beobachten ist, während Y_0 mit steigender Phosphatkonzentration weiter abnimmt. Aufgrund des Zusammenhangs zwischen C und Y_0 würde Y_0 bei weiter steigenden Phosphatkonzentrationen maximal bis auf den Wert Null als untere Grenze abfallen. Dies bedeutet, dass in einem Phosphatpuffer pH 4,5 mit steigendem Phosphatgehalt die Umwandlung des Natriumsalzes von Diclofenac in die freie Säure bzw. Unterschiede zwischen den beiden Formen durch das Phosphat beeinflusst und nivelliert werden.

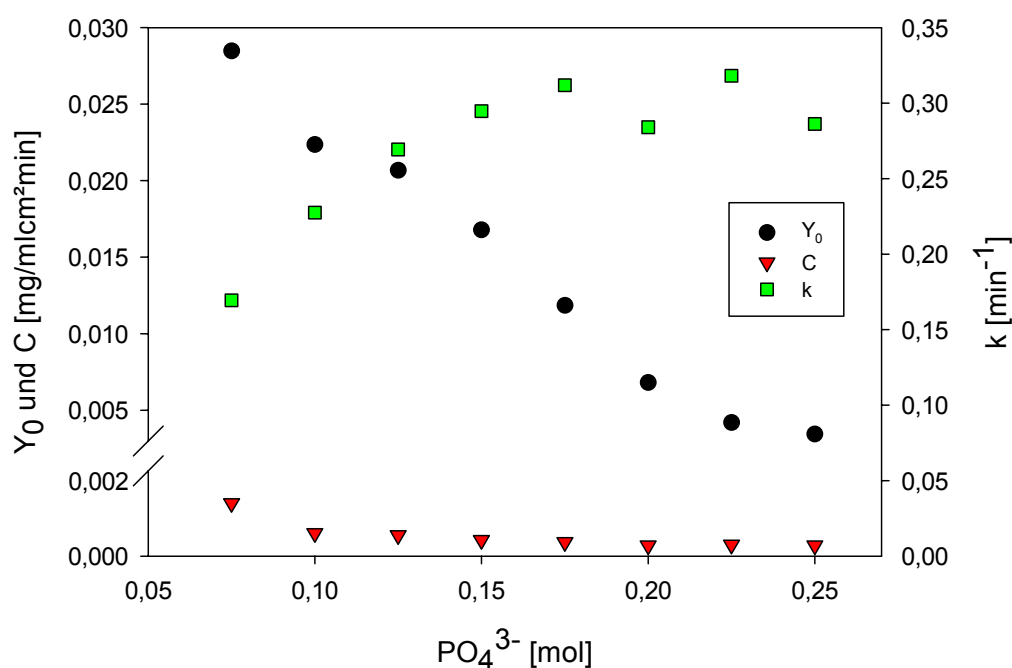


Abbildung 115: Darstellung der durch Kurvenanpassung an das Modell zur Umwandlungskinetik ermittelten Konstanten Y_0 , C und k der differentiellen Freisetzungsprofile von Diclofenac Na in Abhängigkeit der Phosphatkonzentration bei pH 4,5.

5.3.6.4 EMD 128130 (Base)

Bei der Intrinsic Dissolution der freien Base von EMD 128130 in einen Phosphatpuffer pH 6,8 konnte in Abhängigkeit vom Phosphatgehalt ein Einfluss auf die Umwandlungskinetik in eine andere Form beobachtet werden. Die Identität der bei der Umwandlung entstandenen Form auf der Oberfläche des Presslings konnte jedoch nicht mittels Raman und NIR aufgeklärt werden. Da die gebildete Form als äußerst dünne Schicht vorlag, war es nicht möglich die Form mittels NIR zu detektieren. Während der Ramanmessung schmolz die Probe im Laser und konnte daher ebenfalls nicht bestimmt werden. Es wird somit die Entstehung eines Phosphatsalzes vermutet, da keine weiteren Ionen im Freisetzungsmittel vorlagen. Die Abbildung 116 zeigt das differentielle Freisetzungsprofil der Base von EMD 128130 im Puffer pH 6,8 bei verschiedenen Phosphatkonzentrationen. Dabei nimmt die

Freisetzungsrates zum Zeitpunkt $t = 0$ mit steigender Phosphatkonzentration ab. Bei einer Phosphatkonzentration von 0,02 M ist nur noch eine geringfügig abnehmende Freisetzungsrates mit der Zeit zu beobachten.

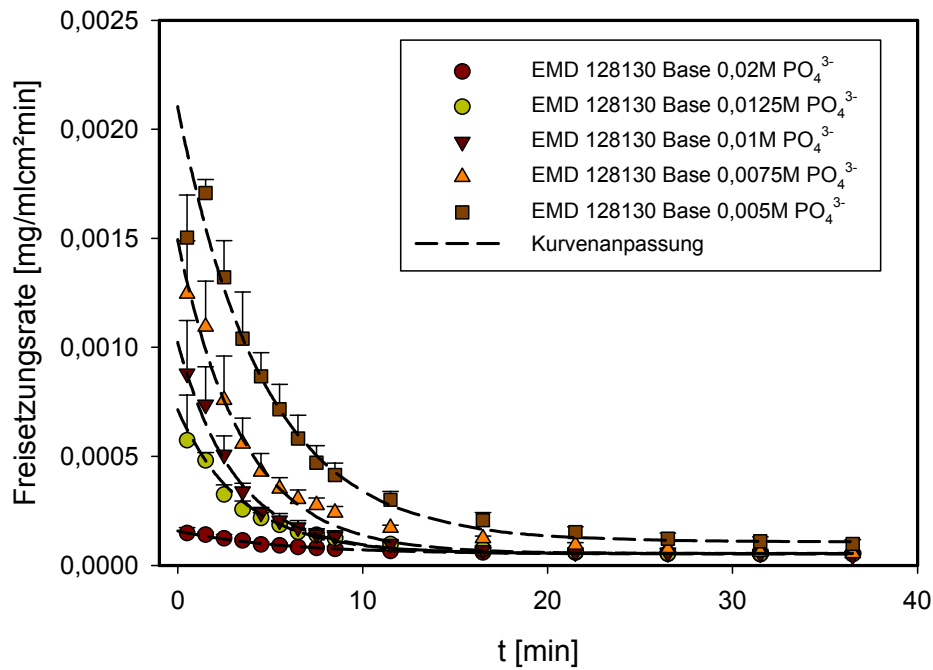


Abbildung 116: Differenzielles Freisetzungsprofil der Intrinsic Dissolution der Base von EMD 128130 mittels einer Durchflusszelle in pH 6,8 bei verschiedenen Phosphatkonzentrationen. Es erfolgte jeweils eine Kurvenanpassung an das Modell zur Umwandlungskinetik. ($n = 6$)

In Abbildung 117 wird die Kurvenanpassung des integrierten Modells an die kumulativen Freisetzungsprofile der Umwandlung der freien Base von EMD 128130 gezeigt. Die Kurvenanpassung beschreibt anschaulich eine Übereinstimmung mit den ermittelten Daten. Um die Qualität der Kurvenanpassung an das differentielle und kumulative Freisetzungsprofil eindeutig zu bewerten, sind in Abbildung 118 beispielhaft für eine 0,01 molare Phosphatkonzentration die gemessenen Daten den durch Kurvenanpassung ermittelten Daten gegenübergestellt und mittels linearer Regression auf Konsistenz überprüft. Es zeigt sich, dass die Kurvenanpassung an das differentielle sowie an das kumulative Profil mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,988 bzw. 0,997 sehr gut mit den Messdaten korreliert. Dabei ist darauf zu achten, dass die aus der linearen Regression erhaltene Gleichung $y=mx$, für m im Idealfall den Wert 1 annimmt. Die Daten bestätigen, dass das aufgestellte Modell die Umwandlungskinetik einer Form in eine andere beschreibt, wobei die Kurvenanpassung an das kumulative Profil allgemein eine bessere Korrelation als im differentiellen Profil zeigt.

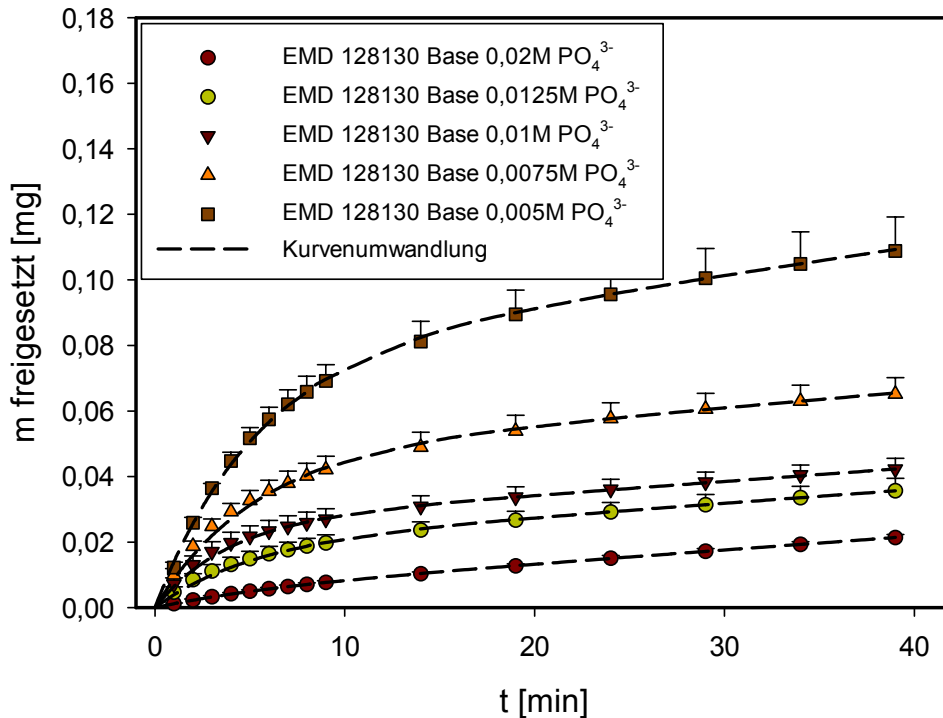


Abbildung 117: Kumulatives Freisetzungsprofil der Intrinsic Dissolution der Base von EMD 128130 mittels einer Durchflusszelle in pH 6,8 bei verschiedenen Phosphatkonzentrationen. Es erfolgte jeweils eine Kurvenanpassung an das integrierte Modell zur Umwandlungskinetik. ($n = 6$)

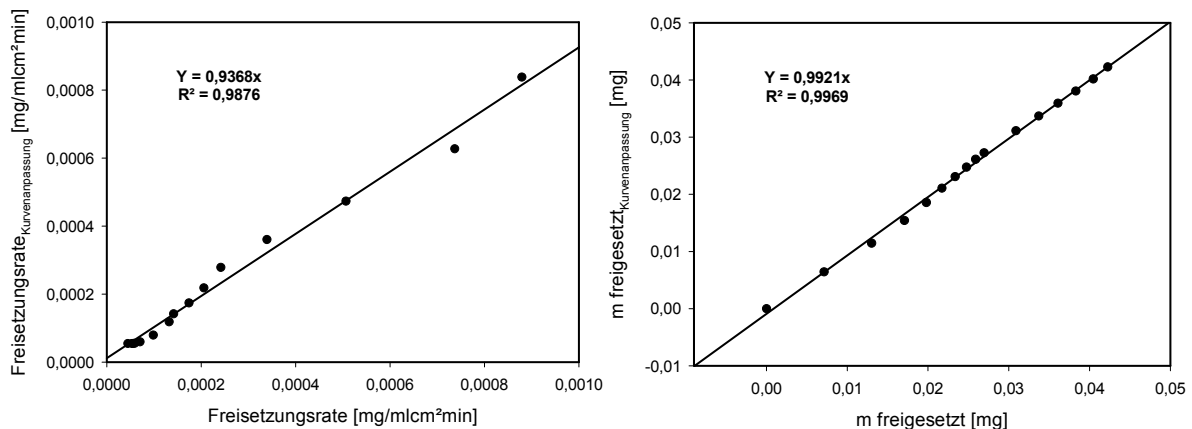


Abbildung 118: Korrelation der durch Kurvenanpassung ermittelten Werte mit den real bestimmten Werten für das differentielle (linke Seite) und das entsprechende kumulative Freisetzungsprofil (rechte Seite) der freien Base von EMD 128130 in pH 6,8 bei einer 0,01 molaren Phosphatkonzentration. ($n = 6$)

In der Tabelle 29 sind die ermittelten Bestimmtheitsmaße sowie die Werte für m aus der Korrelation der Kurvenanpassung des Modells mit den gemessenen Daten für das differentielle und kumulative Freisetzungsprofil dargestellt. Anhand der Werte ist zu erkennen, dass bei der Kurvenanpassung an das kumulative Freisetzungsprofil bessere Ergebnisse als an das differentielle Freisetzungsprofil erhalten wurden. Die Ursache liegt in Schwankungen der Messwerte, die durch das Aufsummieren der Daten für das kumulative Freisetzungsprofil weniger ins Gewicht fallen als beim differentiellen Freisetzungsprofil. Bei der untersuchten Base von Ambroxol sowie bei Diclofenac Na wurden ähnliche Ergebnisse erzielt, diese Ergebnisse sind nicht dargestellt.

Tabelle 29: Ermittelte Werte für R^2 und m aus der Korrelation der gemessenen Daten mit der Kurvenanpassung an das Modell für das differentielle und kumulative Freisetzungsprofil.

		Phosphatkonzentration in Mol				
		0,02	0,0125	0,01	0,0075	0,005
differentiell	R^2	0,9928	0,9811	0,9876	0,9763	0,9698
	m	1,0166	0,9511	0,9368	0,9347	0,9843
kumulativ	R^2	0,9999	0,9964	0,9964	0,9949	0,9993
	m	0,9986	0,9929	0,9906	0,9941	0,9997

Die bei der Kurvenanpassung ermittelten Konstanten Y_0 , k und C bei verschiedenen Phosphatkonzentrationen sind in Tabelle 30 und in Abbildung 119 dargestellt. Während Y_0 mit steigender Phosphatkonzentration abnimmt bleibt C bei Phosphatkonzentrationen oberhalb von 0,0075 Mol konstant, k zeigt hingegen ein Maximum bei einer 0,01 molaren Phosphatkonzentration.

Tabelle 30: Ermittelte Konstanten Y_0 , k und C der Kurvenanpassung der differentiellen Freisetzungsprofile an das Modell der Umwandlungskinetik von der Base EMD 128130 bei pH 6,8 in Abhängigkeit zur Phosphatkonzentration.

		Phosphatkonzentration in Mol				
		0,005	0,0075	0,01	0,0125	0,02
Y_0		0,00178	0,00120	0,00092	0,00053	0,00011
k		0,193	0,227	0,313	0,241	0,180
C		0,000106	0,000060	0,000054	0,000053	0,000052

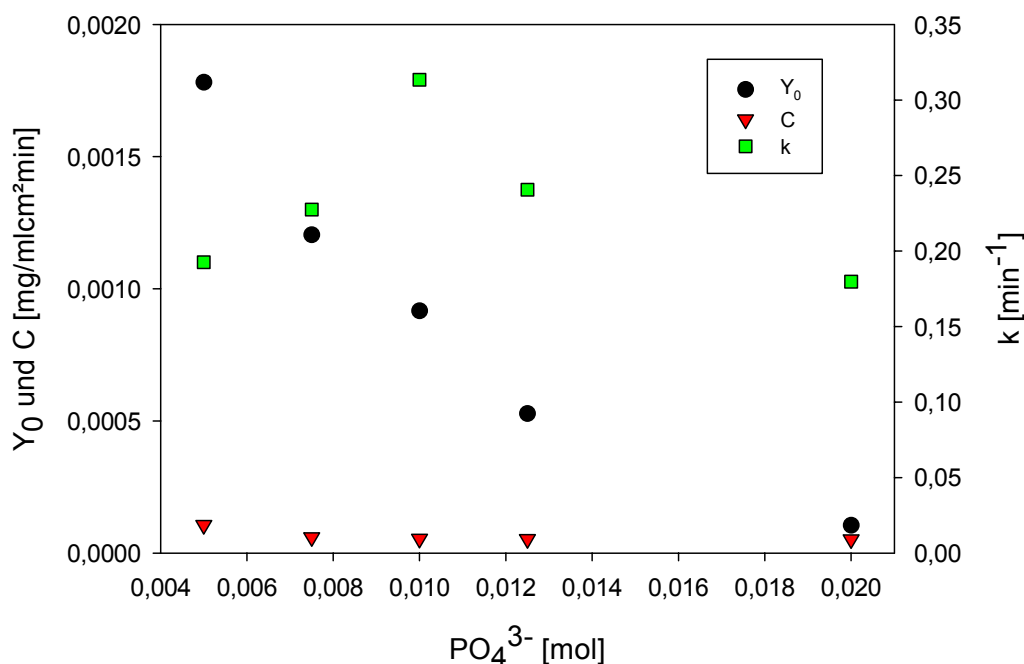


Abbildung 119: Darstellung der durch Kurvenanpassung an das Modell der Umwandlungskinetik ermittelten Konstanten Y_0 , C und k der differentiellen Freisetzungsprofile der Base von EMD 128130 in Abhängigkeit der Phosphatkonzentration bei pH 6,8.

5.3.6.5 Diskussion

Die bei der Intrinsic Dissolution im offenen Durchflusssystem beobachteten Änderungen der Freisetzungsraten mit zunehmender Zeit beruhen auf einer Kinetik erster Ordnung. Dabei konnte nachgewiesen werden, dass die Änderung der Freisetzungsraten auf einer Umwandlung einer Form A an der Oberfläche des Presslings in eine andere Form B mit einer anderen Freisetzungsraten beruht. Da sich bei der Umwandlung die Zusammensetzung der beiden Formen auf der Oberfläche des Presslings zeitlich ändert, wurde dafür ein mathematischer Zusammenhang aufgestellt. Durch Kombination dieser Gesetzmäßigkeit mit der Kinetik erster Ordnung wurde ein Modell zur Beschreibung der Umwandlungskinetik aufgestellt. Dieses Modell, sowie dessen in den Grenzen 0 bis t integrierte Form wurde mittels Kurvenanpassung an gemessene Daten überprüft. Es konnte gezeigt werden, dass mit diesem Modell die Umwandlung einer Form in eine andere Form beschrieben werden kann. Somit konnte bewiesen werden, dass die Umwandlungskinetik in wässrigen Medien auf Grundlage der Kinetik erster Ordnung verläuft. Mittels des aufgestellten Modells kann die Geschwindigkeitskonstante k bei definierten Bedingungen bestimmt werden. Das Modell ermöglicht auch anhand der Messdaten die Bestimmung der Konstanten Y_0 und C , aus welchen die Freisetzungsraten D_A und D_B abgeleitet werden können. Auf Grundlage dieser Konstanten können Einflüsse von Ionen auf die Freisetzung, beziehungsweise auf die Umwandlungskinetik nachgewiesen werden. Beispielhaft konnte für Diclofenac Na in pH 4,5 und für die Base von EMD 128130 in pH 6,8 ein Einfluss der Phosphatkonzentration auf die Freisetzung gezeigt werden. Mit steigender

Phosphatkonzentration nahm in beiden Fällen Y_0 ab. Für den Fall das C unabhängig von der Phosphatkonzentration ist, nimmt demzufolge nur die D_A mit steigendem Phosphatgehalt ab. C fällt jedoch zunächst mit steigender Phosphatkonzentration, erst ab dem Überschreiten einer bestimmten Konzentration an Phosphat bleibt C konstant. Dies bedeutet, dass bei Phosphatkonzentrationen unterhalb dieser „Grenzkonzentration“ keine quantitative Umwandlung an der Oberfläche des Presslings erfolgt, sondern eine Gleichgewichtseinstellung zwischen beiden Formen mit einer bestimmten Zusammensetzung stattfindet. Auch können zukünftig Auswirkungen verschiedener Parameter wie Temperatur, pH-Wert oder die Flussrate auf die Umwandlungskinetik anhand der Geschwindigkeitskonstante k untersucht werden. Anhand der Korrelation der Kurvenanpassung des Modells an die Daten des differentiellen und kumulativen Freisetzungsprofils konnte stets für das kumulative Freisetzungsprofil eine bessere Korrelation gefunden werden. Dieser Unterschied beruht auf Schwankungen der Messdaten, die im differentiellen Freisetzungsprofil einen größeren Einfluss als im kumulativen Freisetzungsprofil zeigen. Durch die Summierung der Messdaten beim kumulativen Freisetzungsprofil können die Schwankungen bei verschiedenen Messzeitpunkten nivelliert werden. Dabei sinkt gleichzeitig der Einfluss einer einzelnen Schwankung auf das Freisetzungsprofil mit der Zeit.

Die Erkenntnis, dass eine sich ändernde Freisetzungsrates auf einer Umwandlung des Wirkstoffes beruht, ist von enormem Vorteil für die Charakterisierung von neuen Wirkstoffen. Somit kann zukünftig ohne aufwendige Analytik die Umwandlung eines Wirkstoffes auf Grundlage des aufgestellten Modells mittels Intrinsic Dissolution untersucht und bewertet werden.

5.4 Permeationsstudien mit Caco 2 Zellen

5.4.1 Konzentrationsabhängigkeit der Wirkstoffpermeation

Für die Bewertung der Permeation der Wirkstoffe EMD 128130 und EMD 503982 wurde die Abhängigkeit des Permeationskoeffizienten der Wirkstoffe von der Konzentration der Wirkstoffe bestimmt. Die ermittelten Permeationskoeffizienten dienen als Grundlage, um den Einfluss von Hilfsstoffen auf die Permeation zu untersuchen. Bei dem Versuch wurde die Permeation des Wirkstoffes durch einen Zellmonolayer von apikal nach basolateral (ab) und basolateral nach apikal (ba) untersucht. Dies ermöglicht einen Rückschluss auf die Resorption des Wirkstoffes sowie eine Gruppierung des Wirkstoffes anhand seiner Permeabilität. Zunächst wurde die optimale Zellzahl für die Kultivierung bestimmt. Dafür wurden 100000, 150000 und 250000 Zellen ausgesät und nach 2 Wochen Kultivierung die Permeation der beiden Wirkstoffe von apikal nach basolateral bestimmt. Bei beiden Wirkstoffen konnte kein Einfluss der Zellzahl auf die Permeation nachgewiesen werden, daher wurden in den nachfolgenden Versuchen stets 150000 Zellen ausgesät.

5.4.1.1 EMD 128130

EMD 128130 zeigte über 3 Stunden eine lineare Permeation bei drei verschiedenen Konzentrationen des Wirkstoffes für ab und ba, Abbildung 120. Anhand der Permeation wurde der Permeationskoeffizient für jede eingesetzte Wirkstoffkonzentration bestimmt, Tabelle 31. Die ermittelten Permeationskoeffizienten für ab bzw. ba entsprechen einer mittleren Permeation, da P_{app} einen Wert zwischen 1 und 10 [10^{-6} cm/s] annimmt. Die permeierte Menge an EMD 128130 pro Zeiteinheit dQ/dt zeigte wie erwartet einen linearen Zusammenhang mit der eingesetzten Wirkstoffkonzentration im Donorkompartiment.

Tabelle 31: Permeationskoeffizienten (P_{app}) von apikal nach basolateral (ab) und basolateral nach apikal (ba) von EMD 128130 im Caco 2 Zellmodell.

Wirkstoffkonzentration im Donorkompartiment	P_{app} [10^{-6} cm/s]	
	ab	Ba
0,0509 $\mu\text{mol/ml}$	$2,86 \pm 0,21$	$5,58 \pm 0,35$
0,1018 $\mu\text{mol/ml}$	$3,16 \pm 0,11$	$5,57 \pm 0,12$
0,1527 $\mu\text{mol/ml}$	$3,66 \pm 0,20$	$5,96 \pm 0,52$

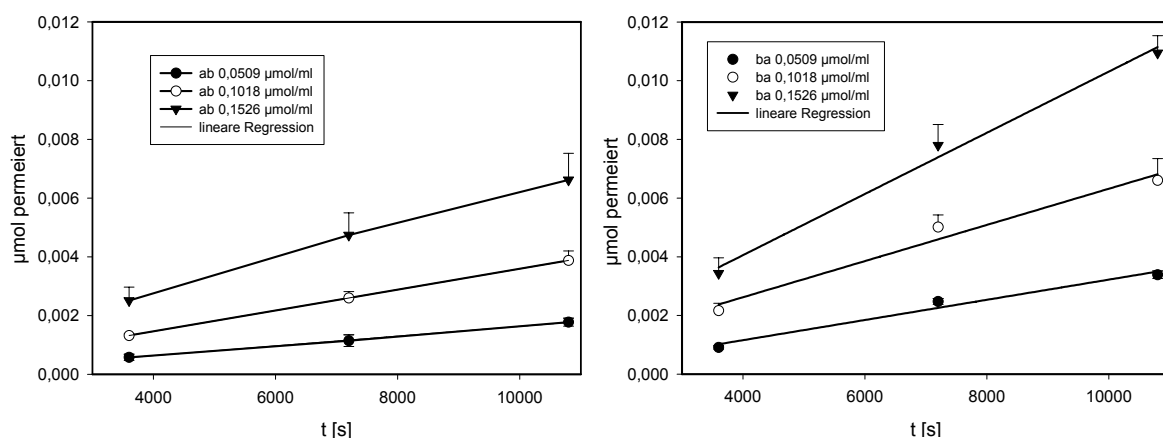


Abbildung 120: Permeation verschiedener Konzentrationen von EMD 128130 von apikal nach basolateral (ab, linke Seite) und basolateral nach apikal (ba, rechte Seite). ($n = 3$)

5.4.1.2 EMD 503982

EMD 503982 zeigte über 3 Stunden wie EMD 128130 eine lineare Permeation für drei verschiedene Konzentrationen des Wirkstoffes für ab und ba, Abbildung 121. Die ermittelten Permeationskoeffizienten für beide Transportrichtungen sind in Tabelle 32 dargestellt. Der Permeationskoeffizient für ab entspricht einer schlechten Permeation. Für die Permeation von ba wurde ein um das zehnfache höherer Permeationskoeffizient festgestellt, dieser entspricht einer guten Permeation. Die Divergenz bei den Permeationskoeffizienten deutet auf einen aktiven Transort von der basolateralen Seite zur apikalen Seite hin. Daher könnte EMD 503982 ein Substrat für P-gp

darstellen. Dieser Verdacht konnte bei Caco 2 Versuchen, die nicht Bestandteil dieser Arbeit waren, bestätigt werden. Die permeierte Menge an EMD 503982 pro Zeiteinheit dQ/dt zeigte wie erwartet einen linearen Zusammenhang mit der eingesetzten Wirkstoffkonzentration im Donorkompartiment.

Tabelle 32: Permeationskoeffizienten (P_{app}) von apikal nach basolateral (ab) und basolateral nach apikal (ba) von EMD 503982 im Caco 2 Zellmodell.

Wirkstoffkonzentration im Donorkompartiment	P_{app} [10^{-6} cm/s]	
	ab	ba
0,116 $\mu\text{mol/ml}$	$0,52 \pm 0,024$	$7,51 \pm 0,601$
0,232 $\mu\text{mol/ml}$	$0,44 \pm 0,035$	$7,50 \pm 0,356$
0,348 $\mu\text{mol/ml}$	$0,40 \pm 0,22$	$7,74 \pm 0,433$

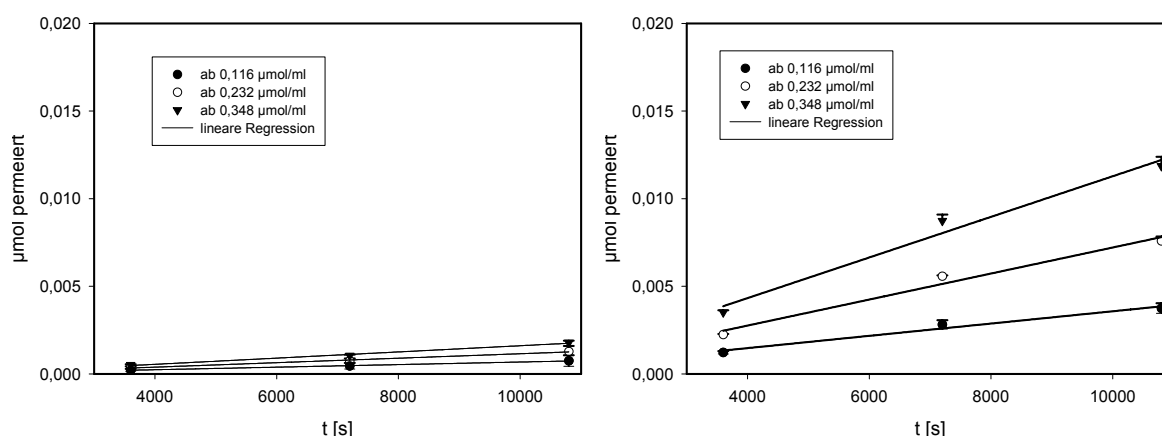


Abbildung 121: Permeation verschiedener Konzentrationen von EMD 503982 von apikal nach basolateral (ab, linke Seite) und basolateral nach apikal (ba, rechte Seite). ($n = 3$)

5.4.2 Einfluss der Hilfsstoffe auf die Wirkstoffpermeation

Die bei der Apparent Dissolution verwendeten Hilfsstoffe Chitosan, Lutrol F 68 und emulgierende Stärke wurden hinsichtlich ihres Einflusses auf die Permeation der Wirkstoffe EMD 128130 und EMD 503982 von apikal nach basolateral untersucht. Es wurde für drei verschiedene Hilfsstoffkonzentrationen die Wirkstoffpermeation bestimmt, da während der Apparent Dissolution im offenen Durchflusssystem zu verschiedenen Zeitpunkten unterschiedliche Konzentration an Hilfsstoff gelöst vorliegen. Dies entspricht den Verhältnissen in-vivo, da je nach Freisetzung der Arzneiform im Gastrointestinaltrakt unterschiedlich viel Wirkstoff und Hilfsstoff gelöst vorliegen. Der Einfluss von Lutrol F68 und emulgierender Stärke auf die Permeation des Wirkstoffes wurde für Konzentrationen von 250 $\mu\text{g/ml}$, 1000 $\mu\text{g/ml}$ und 2500 $\mu\text{g/ml}$ untersucht. Bei Chitosan wurden Konzentrationen von 25 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$ und 75 $\mu\text{g/ml}$ getestet. Die niedrigeren Konzentrationen von Chitosan sind durch die schlechte Löslichkeit beim physiologischen pH-Wert bedingt.

Da Chitosan einen Einfluss auf die Öffnung von tight junctions besitzt und auch cytotoxische Effekte (Bruesewitz C et al. 2006) beschrieben wurden, wurde für Chitosan ein Alama Blue Test durchgeführt. Chitosan zeigte bei den untersuchten Konzentrationen keine cytotoxischen Effekte.

5.4.2.1 Hilfsstoffeinfluss EMD 128130

In Abbildung 122 sind die ermittelten P_{app} mit Hilfsstoff im Vergleich mit dem Wirkstoff EMD 128130 bei einer Wirkstoffkonzentration von 58 $\mu\text{g/ml}$ dargestellt. Es zeigt sich, dass die Hilfsstoffe keinen signifikanten Einfluss auf den P_{app} und damit auf die Permeation des Wirkstoffes haben. Die bestimmten P_{app} sind in Tabelle 33 aufgeführt. Einzig der P_{app} mit 2500 $\mu\text{g/ml}$ emulgierender Stärke ist geringfügig niedriger als der Wirkstoff EMD 128130 ohne Hilfsstoff. Diese Abweichung liegt im Bereich möglicher Schwankungen.

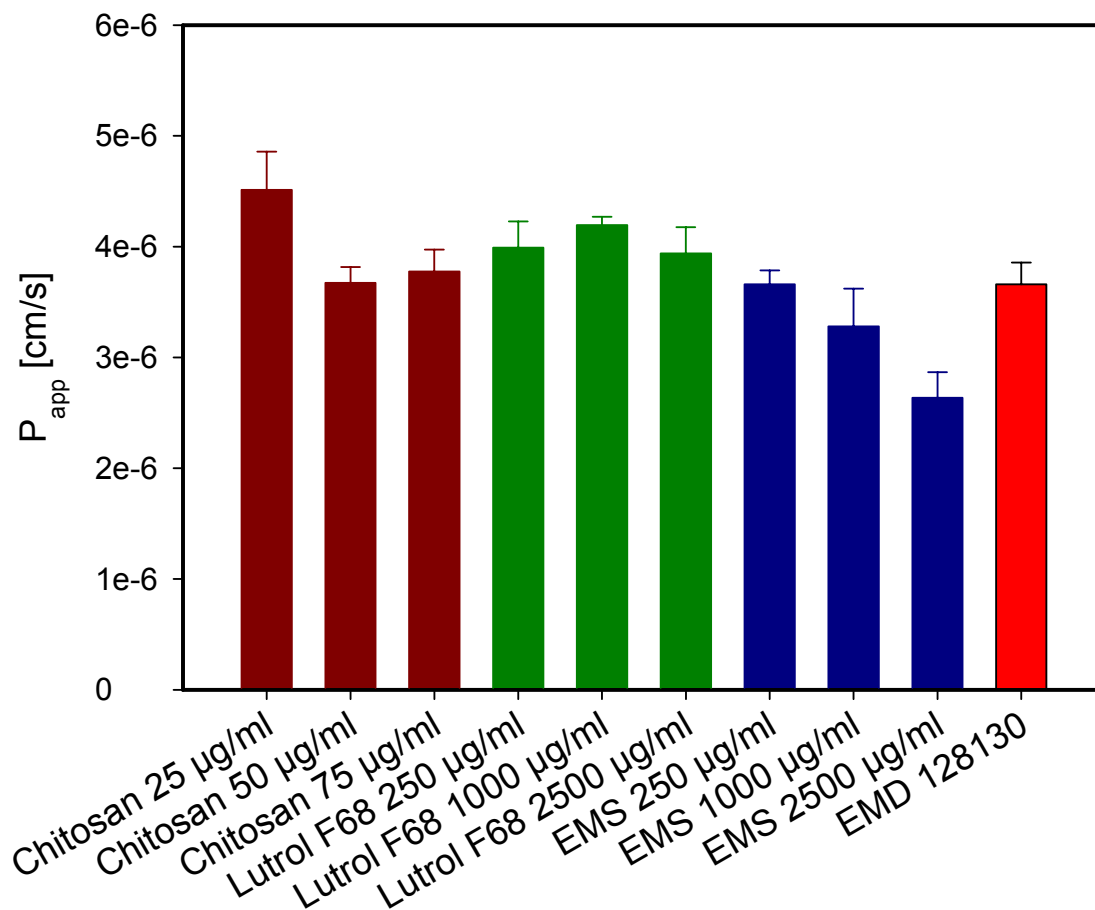


Abbildung 122: Permeationskoeffizienten (P_{app}) von EMD 128130 in Anwesenheit verschiedener Konzentrationen von Chitosan, Lutrol F 68 und emulgierender Stärke (EMS). ($n = 3$)

Tabelle 33: Permeationskoeffizienten (P_{app}) von EMD 128130 in Anwesenheit verschiedener Hilfsstoffe.

	$C_{\text{Hilfsstoff}} [\mu\text{g/ml}]$	$P_{app} [10^{-6} \text{cm/s}]$
Chitosan	25	$4,51 \pm 0,35$
Chitosan	50	$3,67 \pm 0,14$
Chitosan	75	$3,78 \pm 0,20$
Lutrol F 68	250	$3,99 \pm 0,24$
Lutrol F 68	1000	$4,19 \pm 0,08$
Lutrol F 68	2500	$3,94 \pm 0,24$
EMS	250	$3,66 \pm 0,13$
EMS	1000	$3,28 \pm 0,34$
EMS	2500	$2,64 \pm 0,23$
EMD 128130	---	$3,66 \pm 0,20$

5.4.2.2 Hilfsstoffeinfluss EMD 503982

Die Abbildung 123 zeigt die P_{app} mit Hilfsstoff im Vergleich zum Wirkstoff EMD 503982 bei einer Wirkstoffkonzentration von 159,7 $\mu\text{g/ml}$. Wie bei EMD 128130 wurde kein Einfluss der Hilfsstoffe auf den P_{app} und damit auf die Permeation des Wirkstoffes gefunden. Die bestimmten P_{app} sind in Tabelle 34 aufgeführt. Da es sich bei EMD 503982 um ein P-gp Substrat handelt, hätte eine Beeinflussung von P-gp durch einen der untersuchten Hilfsstoffe zu einer verstärkten Permeation führen müssen. Solch ein Effekt wurde nicht beobachtet, daher dürfte keiner der Hilfsstoffe mit P-gp interagieren.

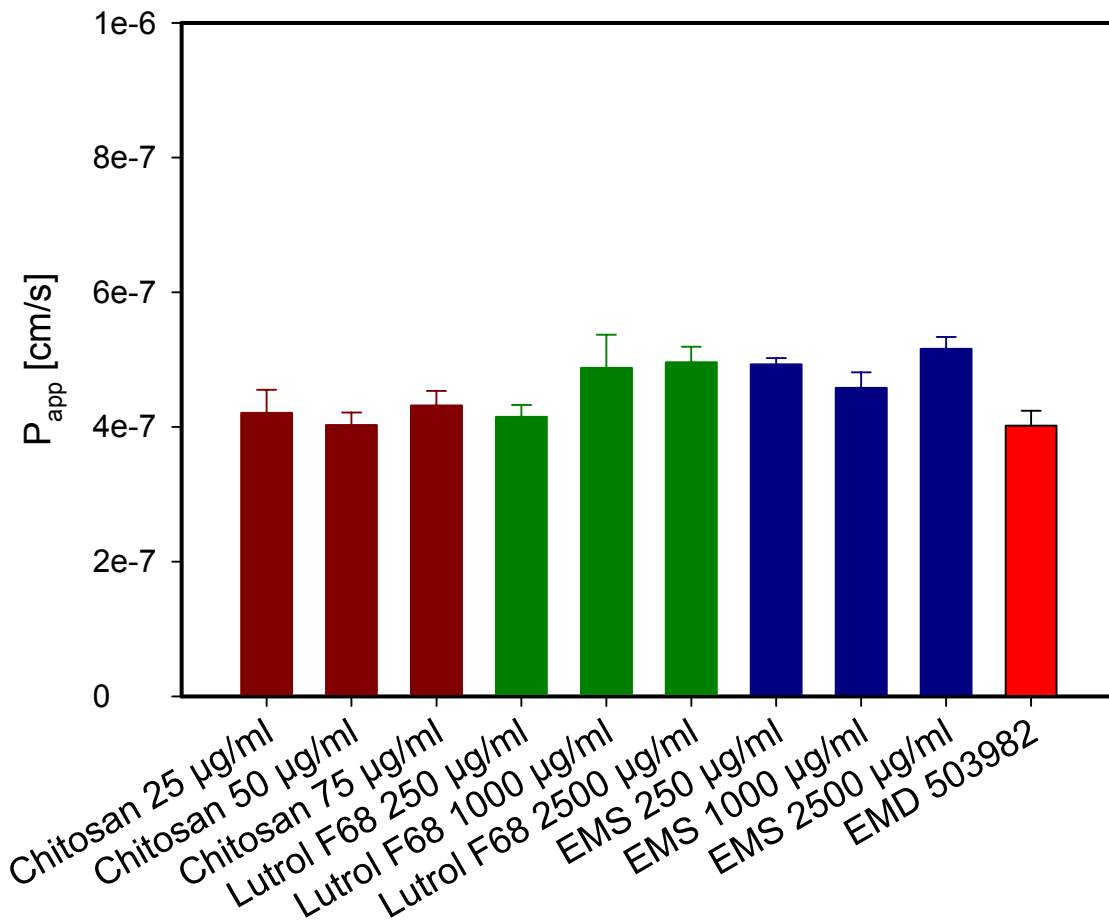


Abbildung 123: Permeationskoeffizienten (P_{app}) von EMD 503982 in Anwesenheit verschiedener Konzentrationen von Chitosan, Lutrol F 68 und emulgierender Stärke (EMS). ($n = 3$)

Tabelle 34: Permeationskoeffizienten (P_{app}) von EMD 503982 in Anwesenheit verschiedener Hilfsstoffe.

	$C_{\text{Hilfsstoff}}$ [µg/ml]	P_{app} [10^{-6} cm/s]
Chitosan	25	$0,421 \pm 0,034$
Chitosan	50	$0,403 \pm 0,019$
Chitosan	75	$0,432 \pm 0,021$
Lutrol F 68	250	$0,415 \pm 0,018$
Lutrol F 68	1000	$0,488 \pm 0,049$
Lutrol F 68	2500	$0,496 \pm 0,023$
EMS	250	$0,493 \pm 0,093$
EMS	1000	$0,458 \pm 0,023$
EMS	2500	$0,516 \pm 0,018$
EMD 503982	---	$0,402 \pm 0,022$

5.4.3 Diskussion

Neben dem Einfluss von Hilfsstoffen auf die Freisetzung eines Wirkstoffes ist auch der Einfluss verwendeter Hilfsstoffe in Formulierungen auf die Permeation eines Wirkstoffes von Interesse. Üblicherweise wird bei der Formulierungsfindung nicht die Auswirkung der verwendeten Hilfsstoffe auf die Permeation untersucht. Zukünftig werden Hilfsstoffe immer gezielter aufgrund ihrer Beeinflussung der Freisetzung bei der Formulierungsentwicklung eingesetzt. Somit ist die Kenntnis vom Einfluss der Hilfsstoffe auf die Permeation neben der Beeinflussung der Freisetzung von besonderem Interesse, da dies direkt die Bioverfügbarkeit des Wirkstoffes beeinflussen kann.

Die beiden untersuchten Wirkstoffe besitzen unterschiedliche Permeationskoeffizienten. Wobei EMD 128130 mit $P_{app} \sim 3 \cdot 10^{-6} \text{ cm/s}$ eine mittlere Permeation und EMD 503982 mit $P_{app} \sim 0,45 \cdot 10^{-6} \text{ cm/s}$ eine schlechte Permeation von apikal nach basolateral zeigt, Abbildung 124. Für die Permeation von basolateral nach apikal wurden bei EMD 128130 ein geringfügig höherer $P_{app} \sim 5,70 \cdot 10^{-6} \text{ cm/s}$ und bei EMD 503982 ein 16 fach höherer $P_{app} \sim 7,57 \cdot 10^{-6} \text{ cm/s}$ im Vergleich zu apikal nach basolateral nachgewiesen. Für EMD 503982 konnte bei Versuchen, die nicht Bestandteil dieser Arbeit waren, nachgewiesen werden, dass EMD 503982 ein Substrat für P-gp darstellt. Dies führte zu der Divergenz der P_{app} in Abhängigkeit von der Permeationsrichtung. Der leicht erhöhte P_{app} bei EMD 128130 für basolateral nach apikal kann auf einen schwachen unspezifischen Efflux des Wirkstoffes hinweisen, dies wurde jedoch nicht weiter untersucht.

Bei beiden Wirkstoffen konnte kein Einfluss der Hilfsstoffe auf die Permeation von apikal nach basolateral nachgewiesen werden. Das ausgewählte Chitosan zeigte entgegen der Erwartung keinen Einfluss auf die Permeation. Es wurde ein Chitosan in GMP Qualität verwendet, da diese Qualität für pharmazeutische Produkte gefordert wird. Da es sich um ein Biopolymer handelt, entspricht das gewählte Chitosan nicht denen, die üblicherweise in wissenschaftlichen Veröffentlichungen verwendet werden. Die untersuchten Hilfsstoffe interagieren nicht mit P-gp, da kein Einfluss auf die Permeation von EMD 503982 als P-gp Substrat nachgewiesen werden konnte. Aufgrund dieser Erkenntnis empfiehlt sich für EMD 503982 eine immediate release Formulierung, denn durch eine schnelle Freisetzung kann lokal eine höhere Konzentration des Arzneistoffes vorliegen. Das kann zu einer Sättigung von P-gp bei der Resorption führen und somit könnte die Bioverfügbarkeit gesteigert werden.

Allgemein kann für die untersuchten Hilfsstoffe geschlussfolgert werden, dass ihr Einsatz während der Formulierungsfindung keinen Einfluss auf die Permeation von Wirkstoffen zeigt. Aufgrund der Eigenschaften der Hilfsstoffe kann die Freisetzung gezielt beeinflusst werden. Dieser Effekt kann unabhängig von einer veränderten Permeation, Auswirkungen auf die Resorption haben und somit die Bioverfügbarkeit beeinflussen.

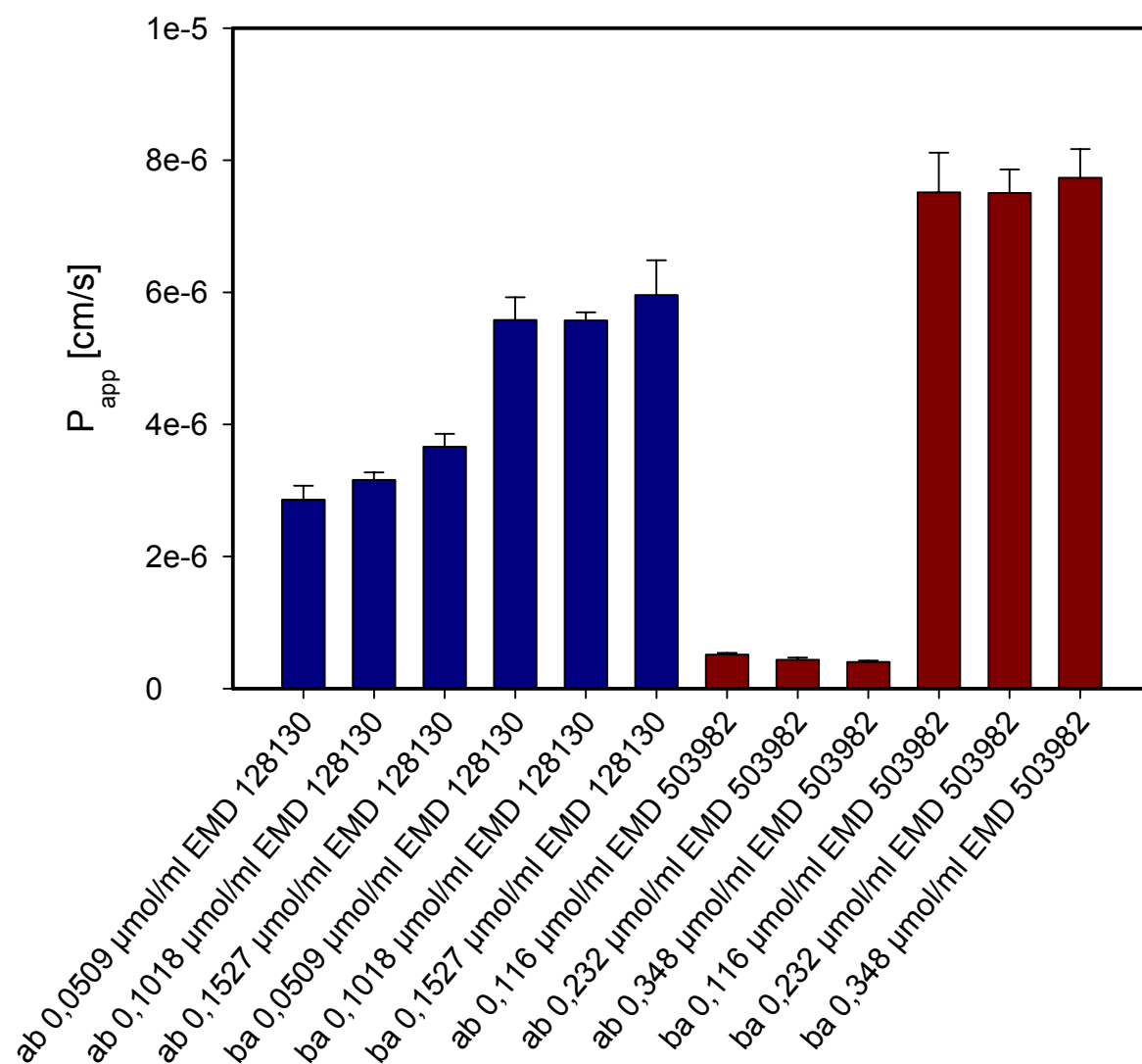


Abbildung 124: Permeationskoeffizienten (P_{app}) von EMD 128130 und EMD 503982 von apikal nach basolateral (ab) und basolateral nach apikal (ba) bei verschiedenen Konzentrationen. ($n = 3$)

6 Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Arbeit stand die Entwicklung und Anwendung neuer Methoden für die in-vitro Wirkstofffreisetzung in Durchflussszellen mit einer offenen Betriebsweise im Vordergrund.

1) Auswahl und Charakterisierung eines Freisetzungsmediums mit Tensid für Durchflussszellen

Während der Charakterisierung und Entwicklung eines optimalen Freisetzungsmediums für Durchflussszellen erwies sich eine Standardkonzentration von 0,01 % Tween® 80 im Freisetzungsmedium als optimal. Weiter konnte die gängige Hypothese für die untersuchten Wirkstoffe widerlegt werden, dass Tensidzusätze im Freisetzungsmedium unterhalb der CMC die Benetzung fördern. Die Wahl fiel auf das nichtionische Tensid Tween® 80, da dieses im Gegensatz zum häufig verwendeten SDS und CTAB zu keiner Ionenpaarbildung neigt und nichtionische Tenside niedrigere CMCs aufweisen. Bei SDS konnte sogar eine Ionenpaarbildung mit EMD 128130 nachgewiesen werden, außerdem ist eine Interaktion mit Chitosan laut Literatur bekannt (Barreiro-Iglesias R et al. 2005; Thongngam M & McClements DJ 2004; Thongngam M & McClements DJ 2005). Erst bei Konzentrationen von Tween® 80 oberhalb der CMC in wässrigen Medien wurde auf dem Wirkstoff EMD 128130 und auf einer inerten Oberfläche eine Auswirkung auf die Benetzung beobachtet. Weiter ist die Benetzung von Wirkstoffen von der Löslichkeit bzw. vom pH-Wert abhängig. Wahrscheinlich geht mit abnehmender Löslichkeit meist eine schlechtere Benetzung einher, dies müsste in weiteren Versuchen genauer geprüft werden.

Anhand von Löslichkeitsisothermen wurde der Einfluss von Tween® 80 in den Freisetzungsmedien SGFsp⁺, pH 4,5⁺ und SIFsp⁺ bei EMD 128130, EMD 503982, EMD 486019 und EMD 525544 untersucht. Zusätzlich wurde die Oberflächenspannung, Leitfähigkeit und die Osmolarität in den Freisetzungsmedien in Abhängigkeit von Tween® 80 bestimmt. Aufgrund dieser Daten wurde ein Zusatz von 0,01 % Tween® 80 als optimal für Freisetzungsmedien in Durchflussszellen bei einer offenen Betriebsweise festgelegt. Eine Konzentration von 0,01 % Tween® 80 erhöht die Löslichkeit von schlecht löslichen Arzneistoffen und verbessert damit deren Quantifizierung, während bei gut löslichen Wirkstoffen kein Einfluss auf die Löslichkeit beobachtet wurde. Ein Zusatz von Tween® 80 in wässrigen Medien führt stets zu einer Oberflächenspannung des Freisetzungsmediums entsprechend der physiologischen Oberflächenspannung, ohne signifikant die Benetzung zu beeinflussen. Unterschiede bei der Benetzung verschiedener Wirkstoffchargen werden mit 0,01 % Tween® 80 nicht nivelliert. Außerdem zeigt die gewählte Tensidkonzentration keinen Einfluss auf die Osmolarität und Leitfähigkeit.

2) Apparent Dissolution (scheinbare Freisetzung): Einflüsse und Entwicklung einer Routinemethode

Anhand eines Versuchsschemas wurde die Auswirkung verschiedener Parameter auf die Apparent Dissolution untersucht. Es wurden zwei Probenbeschickungen aus praxisrelevanten Gründen

miteinander verglichen. Diese können später in der Routine eingesetzt werden. Neben der Charakterisierung der reinen Wirkstoffe wurden physikalische Mischungen mit den Hilfsstoffen Chitosan, Lutrol F68 und emulgierender Stärke und deren Auswirkung auf die Freisetzung untersucht. Bei der Freisetzung der reinen Wirkstoffe konnten Effekte wie eine unterschiedliche Benetzung verschiedener Wirkstoffchargen oder Partikelgrößenunterschiede in Abhängigkeit der Probenbeschickung aufgeklärt werden. Auch in physikalischen Mischungen mit einem Hilfsstoffanteil von 30 Prozent sind diese Unterschiede nachweisbar. Erst bei einem höheren Anteil an Hilfsstoffen können Unterschiede in der Partikelgröße oder der Benetzung vor allem bei schnell freisetzenen Wirkstoffen nivelliert werden. In diesem Fall beeinflussen vor allem die Hilfsstoffe das Freisetzungsprofil. Ist der Wirkstoff hingegen schlecht löslich, kann dies dazu führen, dass unabhängig vom Hilfsstoff oder dem Hilfsstoffanteil in der physikalischen Mischung kein Einfluss auf die Freisetzung zu beobachten ist. Hilfsstoffe wie Chitosan, welche ein vom pH-Wert abhängiges Verhalten zeigen, beeinflussen die Freisetzung somit in Abhängigkeit vom pH-Wert. Dies hat zur Folge, dass neutrale Arzneistoffe in physikalischer Mischung mit Chitosan erhebliche Unterschiede in der Freisetzung bei verschiedenen pH-Werten besitzen. Eine Klassifizierung von Hilfsstoffen hinsichtlich ihrer Auflösungsgeschwindigkeit ist in physikalischen Mischungen mittels schnell freisetzenen Arzneistoffen möglich. Es konnte gezeigt werden, dass Unterschiede in der Freisetzung bei Formulierungen bereits auf der Stufe der Apparent Dissolution charakterisiert werden können. Somit können frühzeitig eventuelle Chargenschwankungen durch eine Charakterisierung der inneren Phase bei Tabletten oder von Granulaten vor der Tablettierung erkannt werden. Ein weiterer Vorteil physikalischer Mischungen liegt in der sehr kleinen Ansatzmenge von 400 mg und der einfachen Handhabung, um Effekte von Hilfsstoffen auf Formulierungen abschätzen zu können.

3) Intrinsic Dissolution (innere Auflösungsgeschwindigkeit): Evaluation neuer Möglichkeiten

Die Entwicklung eines Systems zur Bestimmung der Intrinsic Dissolution in Durchflusszellen führte zu einem universellen neuen Zelleinsatz für die bereits in der USP und Ph.Eur. monographierte 22,6 mm Tablettenzelle. Der Zelleinsatz stellt die günstigste und gleich auch die flexibelste Lösung dar. Mit dem Zelleinsatz kann jedes kommerziell erhältliche Durchflusssystem einfach für die Intrinsic Dissolution umgerüstet werden. Mit 9 verschiedenen Wirkstoffen wurde der Zelleinsatz evaluiert. Neben dem klassischen Ablauf der Intrinsic Dissolution wurde eine Kombinationsmethode entwickelt, bei der erstmals während der Bestimmung einer Freisetzungsrates das Freisetzungsmedium gewechselt wird. Somit kann ein pH-Gradient, wie er physiologisch im Gastrointestinaltrakt vorkommt, direkt am Wirkstoff untersucht werden. Die mit der Kombinationsmethode erhaltenen Freisetzungsrates entsprechen denen ohne einen Medienwechsel. Für Presslingsoberflächen von 0,128 cm² bis 0,5 cm² konnte ein linearer Zusammenhang zwischen der Oberfläche und der Freisetzungsrates nachgewiesen werden. Durch die Kombinationsmethode und einer flexiblen Wahl der Presslingsoberfläche kann zukünftig die Wirkstoffmenge bei der Bestimmung von Freisetzungsrates gezielt reduziert werden. Somit eignet sich der Zelleinsatz gerade für neue Wirkstoffkandidaten, sowie für einen Salz- oder Polymorphiescreen, da die vorhandenen Mengen an Substanz in diesen Fällen den limitierenden Faktor bei der Charakterisierung darstellen. Der neue

Zelleinsatz ermöglicht bei identischem oder geringerem Substanzbedarf, im Vergleich zu den herkömmlichen Methoden, eine viel umfangreichere und sogar schnellere Charakterisierung. Um die Vergleichbarkeit der Daten von der Durchflusszelle mit anderen Methoden der Intrinsic Dissolution gewährleisten zu können, wurde eine Korrelation mit der häufig verwendeten Distekmethode nachgewiesen. Somit ist eine Übertragbarkeit von Ergebnissen zwischen den Methoden möglich. Die Freisetzung von konstanten Oberflächen ermöglicht die Charakterisierung von gut löslichen Wirkstoffen mit der Durchflusszelle, welches klassisch ein Nachteil dieser Technik war.

Weiter konnte anhand des differentiellen Freisetzungsprofils der Intrinsic Dissolution, die physikalische Gesetzmäßigkeit für Salzumwandlungen bzw. Umwandlungen verschiedener Formen während einer Freisetzung hergeleitet werden. Die bei den Umwandlungen messbaren Umwandlungskinetiken verlaufen auf Grundlage der Kinetik erster Ordnung. Dies konnte mittels Kurvenanpassung an das aufgestellte Modell anhand von 3 Wirkstoffen bestätigt werden. Mit dieser Erkenntnis ist es zukünftig möglich ohne einen großen instrumentellen Aufwand auf Grundlage des differentiellen Freisetzungsprofils eine Umwandlung von Wirkstoffen während einer Freisetzung zu charakterisieren.

4) Untersuchung des Einflusses ausgewählter Hilfsstoffe auf die Permeation im Caco 2 Modell

Es erfolgte eine Bestimmung der P_{app} von EMD 128130 und 503982 sowie die Untersuchung des Einflusses der Hilfsstoffe Chitosan, Lutrol F68 und emulgierender Stärke auf deren Permeation.

Der Einfluss der Hilfsstoffe auf die Permeation ist neben dem Einfluss auf die Apparent Dissolution bedeutsam um Auswirkungen auf die Bioverfügbarkeit abschätzen zu können. Erhöht ein Hilfsstoff signifikant die Freisetzung und Permeabilität, kann dies zu einer verbesserten Bioverfügbarkeit führen. Bei der Dosierung einer Arzneiform muss die Permeation berücksichtigt werden, um nicht das therapeutische Fenster zu verlassen. Die untersuchten Hilfsstoffe zeigten unabhängig von deren Konzentration keinen Einfluss auf die Permeation, dies gilt auch für das untersuchte Chitosan. Da Chitosan ein Biopolymer darstellt und in verschiedensten Spezifikationen erhältlich ist, kann es durchaus die Permeation, wie es in der Literatur beschrieben ist, fördern. Der Einfluss von Hilfsstoffen auf die Permeation wird in Zukunft eine immer stärkere Rolle spielen. Da immer neue Hilfsstoffe für eine bessere Freisetzung eingesetzt werden, muss zugleich abgeklärt werden, ob diese Hilfsstoffe eine Auswirkung auf die Permeation und damit die Bioverfügbarkeit haben.

Ausblick:

Anhand der Erkenntnisse der Apparent Dissolution und der Intrinsic Dissolution wurde ein Entscheidungsbaum für die Charakterisierung von Wirkstoffen mit der Durchflusszelle aufgestellt, siehe Anhang. Dieser Entscheidungsbaum wird als Grundlage für die zukünftige Wirkstoffcharakterisierung mittels der Durchflusszelle dienen. Die Freisetzungsraten der Intrinsic Dissolution korrelieren nicht mit der thermodynamischen Löslichkeit der Wirkstoffe. Unterschiedliche Benetzungseigenschaften und Partikelgrößenunterschiede bei verschiedenen Wirkstoffchargen besitzen einen großen Einfluss auf die Apparent Dissolution. Dies führt dazu, dass die strikten Grenzen des BCS für die Vorhersage der Bioverfügbarkeit verschwimmen werden. Anstatt der

Angabe der Löslichkeit des Wirkstoffes, bietet sich die Freisetzungsrates für die Klassifizierung von Wirkstoffen an. Dies ermöglicht auch eine bessere Differenzierung von verschiedenen Salzen oder polymorphen Formen, denn diese können identische thermodynamische Löslichkeiten bei unterschiedlichen Freisetzungsrates zeigen. Jedoch hat sich das BCS nach Amidon mit der Angabe der Löslichkeit für die Klassifizierung von Wirkstoffen durchgesetzt. Schon S.A. Kaplan untersuchte im Jahr 1972 Freisetzungsrates von verschiedenen Wirkstoffkandidaten bei Hoffmann-La Roche in Bezug zu deren Bioverfügbarkeit (Kaplan SA 1972). Damals wurden drei Grenzwerte für Freisetzungsrates definiert, ohne wie beim BCS die maximale therapeutische Dosis zu berücksichtigen. Ein gesteigertes Interesse an der Bestimmung von Freisetzungsrates während der letzten Jahre, vor allem für verschiedene Salze und polymorphe Formen, wird dazu führen, dass Freisetzungsrates in Zukunft bei der Klassifizierung mittels BCS berücksichtigt werden (Yu LX et al. 2004). Für diesen Fall bietet der entwickelte Zelleinsatz die optimale Lösung.

Literaturverzeichnis

1. (2008) *Rote Liste*.
2. AALTONEN J, HEINÄNEN P, PELTONEN L, KORTEJÄ H, TANNINEN VP, CHRISTIANSEN L, HIRVONEN J, YLIRUUSI J & RANTANEN J (2006) In Situ Measurement of Solvent-Mediated Phase Transformations During Dissolution Testing. *J Pharm Sci*, **95**, pp. 2730-2737.
3. ADSON A, RAUB TJ, BURTON TS, BARSUHN CL, HILGERS AR, ADUS AL & HO NF (1994) Quantitative approaches to delineate paracellular diffusion in cultured epithelial cell monolayers. *J Pharm Sci*, **83**, pp. 1529-1536.
4. AMIDON GL, LENNERNÄS H., SHAH VP & CRISON JR (1995) A theoretical basis for a biopharmaceutics drug classification: correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm Res*, **12**, pp. 413-420.
5. ARTURSSON AND KARLSSON (1991) Correlation between Oral Drug Absorption in Humans and Apparent Permeability Coefficients in Human Intestinal (Caco-2) Cells. *Biochem Bioph Res Co*, **175**, pp. 880-885.
6. ARTURSSON P (1990) Epithelial transport of drugs in culture. I: a model for studying the passive diffusion of drugs over intestinal absorptive (Caco-2) cells. *J Pharm Sci*, **79**, pp. 476-482.
7. ARTURSSON P (1991) Cell cultures as models for drug absorption across the intestinal mucosa. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, **8**, pp. 305-330.
8. ARTURSSON P, KARLSSON J, OCKLIND G & SCHIPPER N (1996) Studying transport processes in absorptive epithelia. Epithelial Cell Culture: A Practical Approach. *Oxford University Press*, pp. 111-133.
9. ARTURSSON P, PALM K & LUTHMAN K (2001) Caco-2 monolayers in experimental and theoretical predictions of drug transport. *Adv Drug Deliv Rev*, **46**, pp. 27-43.
10. AVDEEF A, BERGER CM & BROWNELL C (2000) pH-Metric Solubility. 2: Correlation Between the Acid-Base Titration and the Saturation Shake-Flask Solubility-pH Method. *Pharm Res*, **17**, pp. 85-89.
11. AVDEEF A & TSINMAN O (2008) Miniaturized Rotating Disk Intrinsic Dissolution Rate Measurement: Effects of Buffer Capacity in Comparisons to Traditional Wood's Apparatus. *Pharm Res*, **25**, pp. 2613-2627.
12. BARREIRO-IGLESIAS R, ALVAREZ-LORENZO C & CONCHEIRO A (2005) Chitosan/Sodium Dodecylsulfate Interactions. *J Therm Anal Cal*, **82**, pp. 499-505.
13. BATES TR, GILBALDI M & KANIG JL (1966) Solubilizing properties of bile salt solutions I: Effect of temperature and bile salt concentration on solubilization of glutethimide, griseofulvin and hexestrol. *J Pharm Sci*, **55**, pp. 191-199.
14. BAUER KH (1990) Polymere: Einsatz in der pharmazeutischen Industrie. *Deutsche Apothekerzeitung*, **130**, pp. 447-462.
15. BERGER CM, TSINMAN O, VOLOBOY D, LIPP D, STONES S & AVDEEF A (2007) Miniaturized intrinsic dissolution rate (Mini-IDR™) measurement of griseofulvin and carbamazepine. *Dissolut. Tech.*, **14**, pp. 39-41.
16. BEYSSAC E & LAVIGNE J (2005) Dissolution Study of Active Pharmaceutical Ingredients Using the Flow Through Cell Apparatus USP 4. *Dissolut. Tech.*, **12**, pp. 23-25.

17. BHATTACHAR SN, DESCHENES LA & WESLEY JA (2006) Solubility: it's not just for physical chemists. *Drug Discov Today*, **11**, pp. 1012-1018.
18. BHATTACHAR SN, WESLEY JA, FIORITTO A, MARTIN PJ & BABU SR (2002) Dissolution testing of a poorly soluble compound using the flow-through cell dissolution apparatus. *Int J Pharm*, **236**, pp. 135-143.
19. BROWN W (2005) Apparatus 4 Flow Through Cell: Some Thoughts on Operational Characteristics. *Dissolut. Tech.*, **12**, pp. 28-30.
20. BRUESEWITZ C, FUNKE A, KUHLAND U, WAGNER T & LIPP R (2006) Comparison of permeation enhancing strategies for an oral factor Xa inhibitor using the Caco 2 cell monolayer model. *Eur J Pharm Biopharm*, **64**, pp. 229-237.
21. BRUNAUER S, DEMING LS, DEMING WE & TELLER E (1940) On a Theory of the van der Waals Adsorption of Gases. *J Am Chem Soc*, **62**, pp. 1723-1732.
22. BRUNAUER S, EMMET TH & TELLER E (1938) Adsorption of Gases in Multimolecular Layers. *J Am Chem Soc*, **60**, pp. 309-319.
23. BRUNER L & TOLLOCZKO S (1900) Über die Auflösungsgeschwindigkeit fester Körper. *Z Phys Chem*, **35**, pp. 283-290.
24. CHEN LR, WESLEY JA, BHATTACHAR SN, RUIZ B, BAHASH K & BABU SR (2003) Dissolution Behavior of a Poorly Water Soluble Compound in the Presence of Tween 80. *Pharm Res*, **20**, pp. 797-801.
25. CHIAPPETTA DA & SOSNIK A (2007) Poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide) block copolymer micelles as drug delivery agents: Improved hydrosolubility, stability and bioavailability of drugs. *Eur J Pharm Bio*, **66**, pp. 303-317.
26. CRISON JR, SHAH VP, SKELLY JP & AMIDON GL (1996) Drug Dissolution into Micellar Solutions: Development of a Convective Diffusion Model and Comparison to the Film Equilibrium Model with Application to Surfactant-Facilitated Dissolution of Carbamazepine. *J Pharm Sci*, **85**, pp. 1005-1011.
27. CRISON JR, WEINER ND & AMIDON GL (1997) Dissolution Media for In Vitro Testing of Water-Insoluble Drugs: Effect of Surfactant Purity and Electrolyte on In Vitro Dissolution of Carbamazepine in Aqueous Solutions of Sodium Lauryl Sulfate. *J Pharm Sci*, **86**, pp. 384-388.
28. DOKOUMETZIDIS A & MACHERAS P (2006) A century of dissolution research: From Noyes and Whitney to the Biopharmaceutics Classification System. *Int J Pharm*, **321**, pp. 1-11.
29. DRENNEN JK & LODDER RA (1993) *Advances in Near-Infrared Measurement*. JAI Press Inc., Greenwich.
30. DRESSMAN JB & FLEISHER D (1986) Mixing tank model for predicting dissolution rate control for oral absorption. *Pharm Sci*, **75**, pp. 109-116.
31. DRESSMAN JB, MIDON GL, R, REPPAS C & SHAH VP (1998) Dissolution testing as a prognostic for oral drug absorption: Immediate release dosage forms. *Pharm Res*, **15**, pp. 11-22.
32. EFENTAKIS M & DRESSMAN JB (1998) Gastric Juice as a dissolution medium: Surface tension and pH. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, **23**, pp. 97-102.
33. FINE KD, SANTA ANA CA & PORTER JL (1995) Effect of changing intestinal flow rate on a measurement of intestinal permeability. *Gastroenterology*, **4**, pp. 983-989.
34. FINHOLT P & SOLVANG S (1968) Dissolution Kinetics of Drugs in Human Gastric Juice: The Role of Surface Tension. *J Pharm Sci*, **57**, pp. 1322-1326.

35. FORBES RT & DAVIDSON JR (1995) Dissolution kinetics and solubilities of p-aminosalicylic acid and its salts. *Int J Pharm*, **126**, pp. 199-208.
36. FOTAKI N & REPPAS C (2005) The Flow Through Cell Methodology in the Evaluation of Intraluminal Drug Release Characteristic. *Dissolut.Tech.*, **12**, pp. 17-21.
37. FRICKER G & MILLER DS (2002) Relevance of Multidrug Resistance Proteins for Intestinal Drug Absorption in vitro and in vivo. *Pharmacology and Toxicology*, **90**, pp. 5-13.
38. GALIA E, NICOLAIDES E, HÖRTER D, LÖBENBERG R, REPPAS C & DRESSMAN JB (1998) Evaluation of various dissolution media for predicting in vivo performance of class I and II drugs. *Pharm Res*, **15**, pp. 698-705.
39. GHAZAL HS, DYAS AM, FORD JL & HUTCHEON GA (2008) In vitro evaluation of the dissolution behaviour of itroconazole in bio-relevant media. *Int J Pharm*.
40. GOTTWALD W & WACHTER G (1997) *Wachter IR-Spektroskopie für Anwender*. Weinheim Wiley VCH.
41. GRANERO GE, RAMACHANDRAN C & AMIDON GL (2005) Dissolution and solubility behavior of fenofibrate in sodium lauryl sulfate solutions. *Drug Dev Ind Pharm*, **31**, pp. 917-922.
42. GRAY VA, BROWN CK, DRESSMAN JB & LEESON J (2000) A New General Information Chapter on Dissolution. *Pharmacopeial Forum*, **27**, pp. 3432-3439.
43. HIGUCHI T (1961) Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension. *J Pharm Sci*, **50**, pp. 874-875.
44. HIGUCHI T (1963) Mechanismen of Sustained-Action Medication. Theoretical Analysis of Rate of Release of Solid Drugs Dispersed in Solid Matrices. *J Pharm Sci*, **52**, pp. 1145-1149.
45. HIGUCHI T & CONNORS KA (1965) *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*.
46. HIXSON AW & CROWELL JH (1931) Dependence of Reaction Velocity upon Surface and Agitation. *Ind Eng Chem*, **23**, pp. 923 & 1002-931 & 1009.
47. HODSON A & WILKINSON KA (2005) Simultaneous Sampling and HPLC Injection from Apparatus 4 using a Dual Sampling Rack. *Dissolut.Tech.*, **12**, pp. 44-45.
48. HOROZOV T & AMAUDOV L (1999) A Novel Fast Technique for Measuring Dynamic Surface and Interfacial Tension of Surfactant Solutions at Constant Interfacial Area. *J Colloid Interface Sci*, **219**, pp. 99-109.
49. HÖRTER D & DRESSMAN JB (1997) Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Adv Drug Deliv Rev*, **25**, pp. 3-14.
50. HU J, KYAD A, KU V, ZHOU P & CAUCHON N (2005) A Comparison of Dissolution Testing on Lipid Soft Gelatin Capsules Using USP Apparatus 2 and Apparatus 4. *Dissolut.Tech.*, **12**, pp. 6-9.
51. JINNO J, KAMADA N, MIYAKE M & KIMURA T (2008) In vitro-in vivo correlation for wet-milled tablet of poorly water-soluble cilostazol. *J Control Release*, **130**, pp. 29-37.
52. JINNO J, KAMADA N, MIYAKE M & TOSHIKIRO KIMURA (2006) Effect of particle size reduction on dissolution and oral absorption of a poorly water-soluble drug, cilostazol, in beagle dogs. *J Control Release*, **111**, pp. 56-64.
53. JINNO J, OH DM, CRISON JR & AMIDON GL (1999) Dissolution of Ionizable Water-Insoluble Drugs: The Combined Effect of pH and Surfactant. *Int J Pharm Sci*, **89**, pp. 268-274.

54. KAPLAN SA (1972b) Biopharmaceutical Considerations in Drug Formulation Design and Evaluation. *Drug Met Rev*, **1**, pp. 15-33.
55. KAPLAN SA (1972a) Biopharmaceutical Considerations in Drug Formulation Design and Evaluation. *Drug Met Rev*, **1**, pp. 15-33.
56. KARARLI TT & GUPTA VW (1992) Solubilization and dissolution properties of a leucotriene-D4 antagonist in micellar solutions. *J Pharm Sci*, **81**, pp. 482-485.
57. KARLSSON J, UNGELL A, GRASJO J & ARTURSSON P (1999) Paracellular drug transport across intestinal epithelia: influence of charge and induced water flux. *Eur J Pharm Sci*, **1**, pp. 47-56.
58. KASSERN MA, MATTHA AG, EL-NIMR AEM & OMAR SM (1982) Study on the influence of sodium taurocholate (STC) and sodium glycocholate (SGC) on the mass transfer of certain drugs. *Int J Pharm*, **12**, pp. 1-9.
59. KAUFFMAN JS (2005) Qualification and Validation of USP Apparatus 4. *Dissolut. Tech.*, **12**, pp. 41-43.
60. KOBAYASHI Y, ITO S, ITAI S & YAMAMOTO K (2000) Physicochemical properties and bioavailability of carbamazepine polymorphs and dihydrate. *Int J Pharm*, **193**, pp. 137-146.
61. KORSMEYER RW & PEPPAS NA (1981) Effect of the morphology of hydrophylic polymeric matrices on the diffusion and release of water soluble drugs. *J Membr Sci*, **9**, pp. 211-227.
62. KRÄMER J & STIPPLER E (2005) Experience with USP Apparatus 4. *Dissolut. Tech.*, **12**, pp. 33-39.
63. LANGENBUCHER F (1972) Linearization of dissolution rate curves by the Weibull distribution. *J Pharm Pharmacol*, **24**, pp. 979-981.
64. LANGENBUCHER F (1976) Parametric Representation of dissolution-rate curves by RRSBW distribution. *Pharm Ind*, **38**, pp. 472-477.
65. LANGENBUCHER F, BENZ D, KÜRTH W & OTZ M (1989) Standardized Flow-cell Method as an Alternative to Existing Pharmacopoeial Dissolution Testing. *Pharm Ind*, **51**, pp. 1276-1281.
66. LEHTO P, AALTONEN J, NIEMELÄ P, RANTANEN J, HIRVONEN J, TANNINEN VP & PELTONEN L (2008) Simultaneous measurement of liquid-phase and solid-phase transformation kinetics in rotating disc and channel flow cell dissolution devices. *Int J Pharm*, **363**, pp. 66-72.
67. LENNERNÄS H. (1995) Does fluid flow across the intestinal mucosa affect quantitative oral drug absorption? Is it time for a reevaluation? *Pharm Res*, pp. 1573-1582.
68. LENNERNÄS H. (1998) Human intestinal permeability. *J Pharm Sci*, pp. 403-410.
69. LIN SL, MENIG J & LACHMAN L (1968) Interdependence of physiological surfactant and drug particle size on the dissolution behavior of water-insoluble drugs. *Int J Pharm Sci*, **57**, pp. 2143-2148.
70. LIPINSKI CA (2000) Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *J Pharmacol Toxicol*, **44**, pp. 235-249.
71. Little AC. A Users Perspective On Dissolution. [1]. 1999. Dissolution Discussion Group. Ref Type: Conference Proceeding
72. LOBENBERG R & AMIDON GL (2000) Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system: new scientific approaches to international regulatory standards. *Eur.J.Pharm.Biopharm.*, **50**, pp. 3-12.

73. LOO T W, BARLETT C & CLARKE DM (2004) The drug-binding pocket of the human multidrug resistance P-glycoprotein is accessible to the aqueous medium. *Biochemistry*, **43**, pp. 12081-12089.
74. LUNAR PE & KAMP DV (2001) Wetting characteristics of media emulgating gastric fluids. *Int J Pharm*, **212**, pp. 81-91.
75. LUNER PE, BABU SR & RADEBAUGH GW (1994) The effects of bile salts and lipids on the physicochemical behavior of gemfibrozil. *Pharm Res*, **11**, pp. 1755-1760.
76. MADARA JL (1998) Tight junction dynamics: is paracellular transport regulated? *Cell*, pp. 497-498.
77. MALL S, BUCKTON G & RAWLINS DA (1996) Slower dissolution rates of sulphamerazine in aqueous sodium dodecyl sulphate solutions than in water. *Int J Pharm*, **131**, pp. 41-46.
78. MISSEL PJ, STEVENS LE & MAUGER JW (2004a) Dissolution of Anecortave Acetate in a Cylindrical Flow Cell: Re-Evaluation of Convective Diffusion/Drug Dissolution for Sparingly Soluble Drugs. *Pharm Dev Technol*, **9**, pp. 453-459.
79. MISSEL PJ, STEVENS LE & MAUGER JW (2004b) Reexamination of Convective Diffusion/Drug Dissolution in a Laminar Flow Channel: Accurate Prediction of Dissolution Rate. *Pharm Res*, **21**, pp. 2300-2306.
80. MUN S, DECKER EA & MCCLEMENTS DJ (2005) Influence of Droplet Characteristics on the Formation of Oil-in-Water Emulsions Stabilized by Surfactant-Chitosan Layers. *Langumir*, **21**, pp. 6228-6234.
81. MURA P, ZERROUK N, MENNINI N, MAESTRELLI F & CHEMTOB C (2003) Development and characterization of naproxen-chitosan solid systems with improved drug dissolution properties. *Eur J Pharm Sci*, **19**, pp. 67-75.
82. MUZZARELLI C, TOSI G, FRANCESCANGELI O & MUZZARELLI RAA (2003) Alkaline chitosan solutions. *Carbo Res*, **338**, pp. 2247-2255.
83. National Starch & Chemicals. Technical Service Bulletin for Purity Gum 2000. 2001. Ref Type: Catalog
84. NEERVANNAN S, DIAS LS, SOUTHHARD MZ & STELLA VJ (1994) A Convective-Diffusion Model for Dissolution of Two Non-interacting Drug Mixtures from Co-compressed Slabs Under Laminar Hydrodynamic Conditions. *Pharm Res*, **11**, pp. 1288-1295.
85. NELSON E (1957) Solution rate of theophylline salts and effects from oral administration. *J Am Pharm Assoc*, **46**, pp. 607-614.
86. NERNST W (1904) Theorie der Reaktionsgeschwindigkeit in heterogenen Systemen. *Z Phys Chem*, **47**, pp. 52-55.
87. NICKLASSON M, ORBE A, LINDBERG J, BORGA B, MAGNUSSON AB, NILSSON G, AHLGREN R & JACOBSON L (1991) A collaborative study of the in vitro dissolution of phenacetin crystals comparing the flow through method with the USP paddle method. *Int J Pharm*, **69**, pp. 255-264.
88. NOYES AA & WHITNEY WR (1897) The rate of solution of solid substances in their own solutions. *J Am Chem*, **19**, pp. 930-934.
89. PAPPENHEIMER JR & REISS KZ (1987) Contribution of solvent drag through intercellular junctions to absorption of nutrients by the small intestine of the rat. *J Membr Biol*, pp. 123-136.

90. PELTONEN L, LILJEROTH P, HEIKKILÄ T, KONTTURI K & HIRVONENA J (2003) Dissolution testing of acetylsalicylic acid by a channel flow method correlation to USP basket and intrinsic dissolution methods. *Eur J Pharm Sci*, **19**, pp. 395-401.
91. PENA MH, ALVARADO YV, DOMINGUEZ-RAMINREZ AM & ARROYO ARC (2003) Comparison of Dissolution Profiles for Albendazole Tablets Using USP Apparatus 2 and 4. *Drug Dev Ind Pharm*, **29**, pp. 777-784.
92. PERNAROWSKI M, WOO W & SEARL RO (1968) Continuous flow apparatus for the determination of the dissolution characteristics of tablets and capsules. *J Pharm Sci*, **57**, pp. 1419-1421.
93. PRADO AGS, MACEDO JL, DIAS SCL & DIAS JA (2004) Calorimetric studies of the association of chitin and chitosan with sodium dodecyl sulfate. *Colloids Surf.B: Biointerf.*, **35**, pp. 23-27.
94. RAO VM, LIN M, LARIVE CK & SOUTHARD MZ (1997) A Mechanistic Study of Griseofulvin Dissolution into Surfactant Solutions under Laminar Flow Conditions. *Int J Pharm Sci*, **86**, pp. 1132-1137.
95. REGE PR, GARMISE RJ & BLOCK LH (2003a) Spray-dried chitinosans Part I: preparation and characterization. *Int J Pharm*, **252**, pp. 41-51.
96. REGE PR, GARMISE RJ & BLOCK LH (2003b) Spray-dried chitinosans Part II: in vitro drug release from tablets made from spray-dried chitinosans. *Int J Pharm*, **252**, pp. 53-59.
97. REHKI GS, F.M.S.P.L.L.A.L. & EDDINGTON ND (1997) Evaluation of in vitro release rate and in vivo absorption characteristics of four metoprolol tartrate immediate-release tablet formulations. *Pharm Dev Technol*, **2**, pp. 11-24.
98. SCHNEPEL (1980) Physikalische Methoden der Chemie: Raman-Spektroskopie. *Chemie in unserer Zeit*, **14**, pp. 158-167.
99. SHAH VP, KONECNY JJ, EVERETT RL, MCCULLOUGH B, NOORIZADEH AC & SKELLY JP (1989) In Vitro Dissolution Profile of Water-Insoluble Drug Dosage Forms in the Presence of Surfactants. *Pharm Res*, **6**, pp. 612-618.
100. SHAH VP, SIEWERT M, DRESSMAN JB, MOELLER H & BROWN CK (2002) Dissolution/In Vitro Release Testing of Special Dosage Forms. *Dissolution Technologies*, **9**, pp. 1-5.
101. SHULMAN ML, JACOBSON MC, CARLSON RJ, SYNOVEC RE & YOUNG TE (1995) Dissolution Behavior and Surface Tension Effects of Organic Compounds in Nucleating Cloud Droplets. *Geophys Res Lett*, **23**, pp. 277-280.
102. SIEWERT M, DRESSMAN JB, BROWN C & SHAH VP (2003) FIP/AAPS Guidelines for Dissolution/ In Vitro Release Testing of Novel/Special Dosage Form. *Dissolution Technologies*, **10**, pp. 6-15.
103. SINGER SJ & NICOLSON GL (1972) Fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, pp. 720-731.
104. STEVENS LE & MISSEL PJ (2006) Impact of Density Gradients on Flow-Through Dissolution in a Cylindrical Flow Cell. *Pharm Dev Technol*, **11**, pp. 529-534.
105. SUN W, LARIVE CK & SOUTHARD MZ (2003) A Mechanistic Study of Danazol Dissolution in Ionic Surfactant Solution. *Int J Pharm Sci*, **92**, pp. 424-435.
106. TAIPALENSUU J, TORNBOLM H, LINDBERG G, EINARSSON G, SJÖQUIST F, MELHUS H, GARBERG G, SJÖSTRÖM B, LUNDGREN B & ARTURSSON P (2001) Correlation of Gene Expression of Ten Efflux Proteins of ATPBinding Cassette Transporter Family in Normal

- Human Jejunum and in Human Intestinal Epithelial Caco-2 Cell Monolayers. *J Pharmacol Exp Ther*, **299**, pp. 164-170.
107. THE UNITED STATES PHARMACOPEIA CONVENTION (2008) *USP 31 - NF 26*.
108. THEWS G & VAUPEL P (2005) *Vegetative Physiologie*, 5 edn. Springer.
109. THOMPSON M, WILKINS SJ, COMPTON RG & VILES HA (2003) Channel flow cell studies on the evaluation of surface pretreatments using phosphoric acid or polymaleic acid for calcite stone protection. *J Colloid Interface Sci*, **259**, pp. 338-345.
110. THONGNGAM M & MCCLEMENTS DJ (2004) Characterization of Interactions between Chitosan and an Anionic Surfactant. *J.Agric.Food Chem.*, **57**, pp. 987-991.
111. THONGNGAM M & MCCLEMENTS DJ (2005) Influence of pH, Ionic Strength, and Temperature on Self-Association and Interactions of Sodium Dodecyl Sulfate in the Absence and Presence of Chitosan. *Langumir*, **21**, pp. 79-86.
112. VOGT M, KUNATH K & DRESSMAN JB (2008) Dissolution enhancement of fenofibrate by micronisation, cogrinding and spray-drying: Comparison with commercial preparations. *Eur J Pharm Biopharm*, **68**, pp. 283-288.
113. VRECER F, VRBINC M & MEDEN A (2003) Characterization of piroxicam crystal modifications. *Int J Pharm*, **256**, pp. 3-15.
114. WALTER AND KISSEL (1995) Heterogeneity in the human intestinal cell line Caco-2 leads to differences in transepithelial transport. *Eur J Pharm Sci*, **3**, pp. 215-230.
115. WARREN PB & BUCHANAN M (2001) Kinetics of surfactant dissolution. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, **6**, pp. 287-293.
116. WOOD JH, SYARTO JE & LETTERMAN H (1965) Improved Holder for Intrinsic Dissolution Rate Studies. *J Pharm Sci*, **54**, pp. 1068.
117. YALKOWSKY SH & MISHRA DS (1992) Ideal solubility of a solid solute: effect of heat capacity assumptions. *Pharm Res*, **9**, pp. 958-959.
118. YALKOWSKY SH & PINAL R (1993) Estimation of the aqueous solubility of complex organic molecules. *Chemosphere*, **26**, pp. 1239-1261.
119. YANG M, VELAGA S, YAMAMAMOTO H, TAKEUCHI H, KAWASHIMA Y, HOVGAARD L, WEERT M & FROKJAER F (2007) Characterisation of salmon calcitonin in spray-dried powder for inhalation Effect of chitosan. *Int J Pharm*, **331**, pp. 176-181.
120. YU LX, CARLIN AS, AMIDON GL & HUSSAIN AS (2004a) Feasibility studies of utilizing intrinsic dissolution rate to classify drugs. *Int J Pharm*, **270**, pp. 221-227.
121. YU LX, CARLINA AS, AMIDON GL & HUSSAIN AS (2004b) Feasibility studies of utilizing disk intrinsic dissolution rate to classify drugs. *Int J Pharm Sci*, **27**, pp. 221-227.
122. ZHANG D, FLORY JH, PANMAI S, BATRA U & KAUFMAN MJ (2002) Wettability of pharmaceutical solids: its measurement and influence on wet granulation. *Colloids and Surfaces A: Physicochem.Eng.Aspects*, **206**, pp. 547-554.
123. ZHANG GH, VADINO WA, YANG TT, CHO WP & CHAUDRY IA (1994) Evaluation of the flow-through cell dissolution apparatus: effects on flow rate, glass beads and tablet position on drug release from different type of tablets. *Drug Dev Ind Pharm*, **20**, pp. 2063-2078.
124. ZOLNIK BS, RATON JL & BURGESS DJ (2005) Application of USP Apparatus 4 and In Situ Fiber Optic Analysis to Microsphere Release Testing. *Dissolut.Tech.*, **12**, pp. 11-14.

Publikationen

Patent

Lange T, Partheil A

Vorrichtung zur Aufnahme eines Feststoffes in einer Messzelle.
zur Annahme eingereicht

Poster

Lange T, Partheil A, Fricker G

Can in-vitro dissolution profiles be described with the bateman function?

6th World Meeting on Pharmaceutics and Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology
Barcelona (2008)

Lange T, Partheil A, Fricker G

Solubility Effects of a Low Soluble New Chemical Entity (NCE) on Apparent Dissolution
Controlled Release Society, German Chapter
Halle (2009)

Lange T

Dissolution of NCEs in a Flow-Through-Cell
Science Day
Darmstadt (2009)

Vortrag

Lange T,

In-vitro Wirkstofffreisetzung mittels eines Durchflusssystems. Bewertung der Auswirkung von
Partikelgröße und Wirkstoff-Hilfsstoffmischungen mit Lutrol F68.
USP-IV Workshop, Fa. Sotax
Basel (2007)

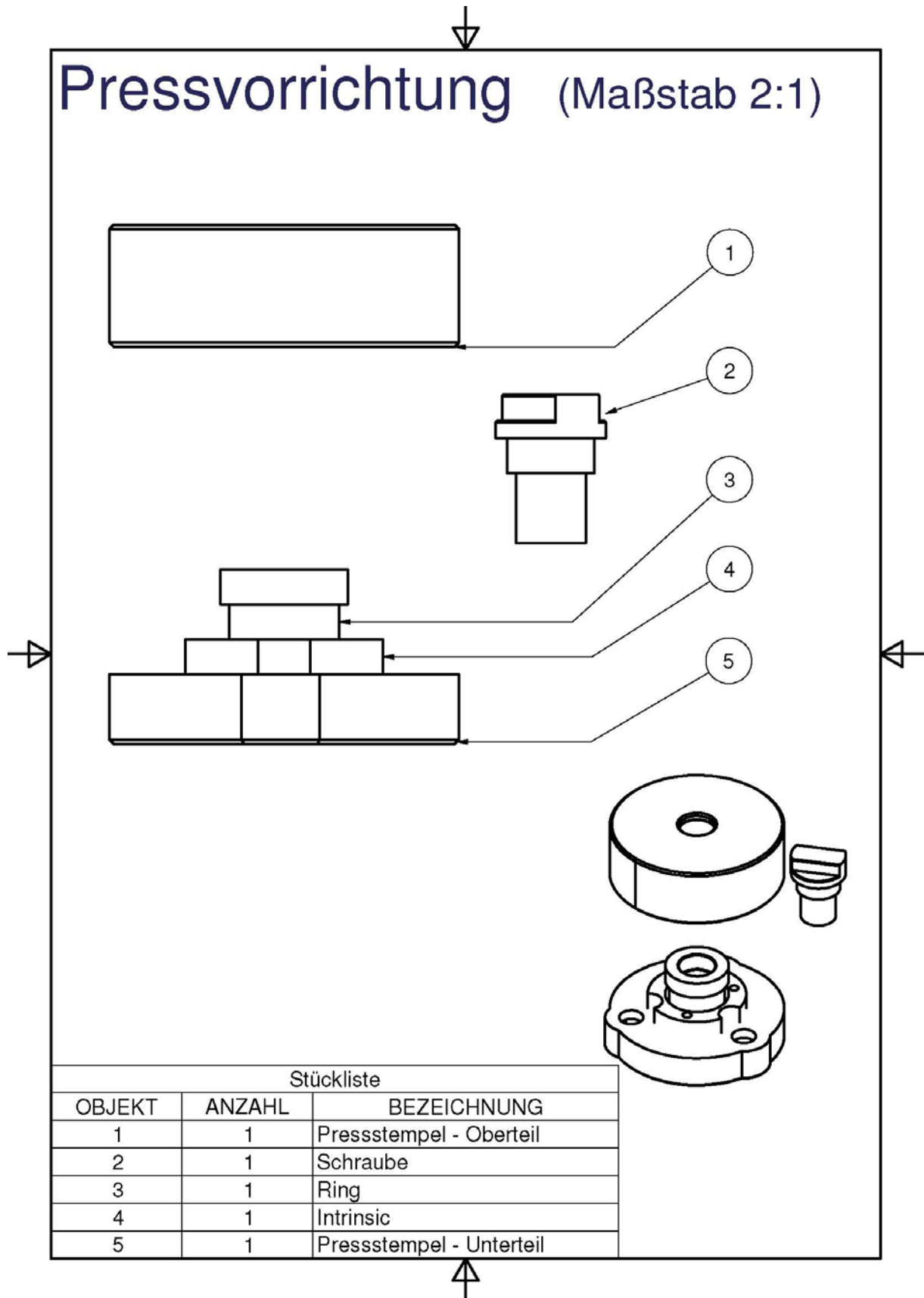
Lange T

The Flow Through Cell as Innovative Tool for Intrinsic Dissolution. Opportunities and Limits.
USP-IV Workshop, Fa. Sotax
Basel (2008)

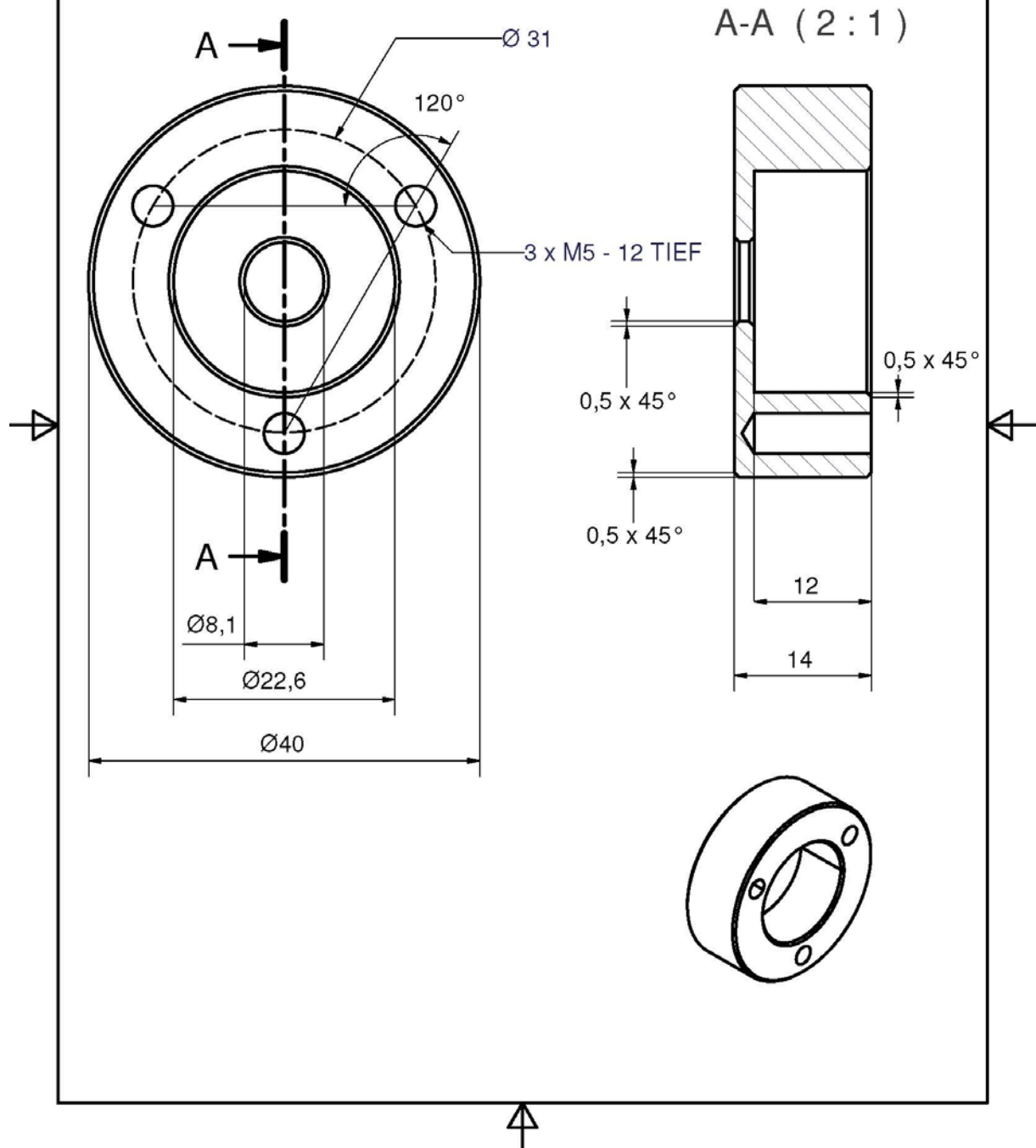
Lange T

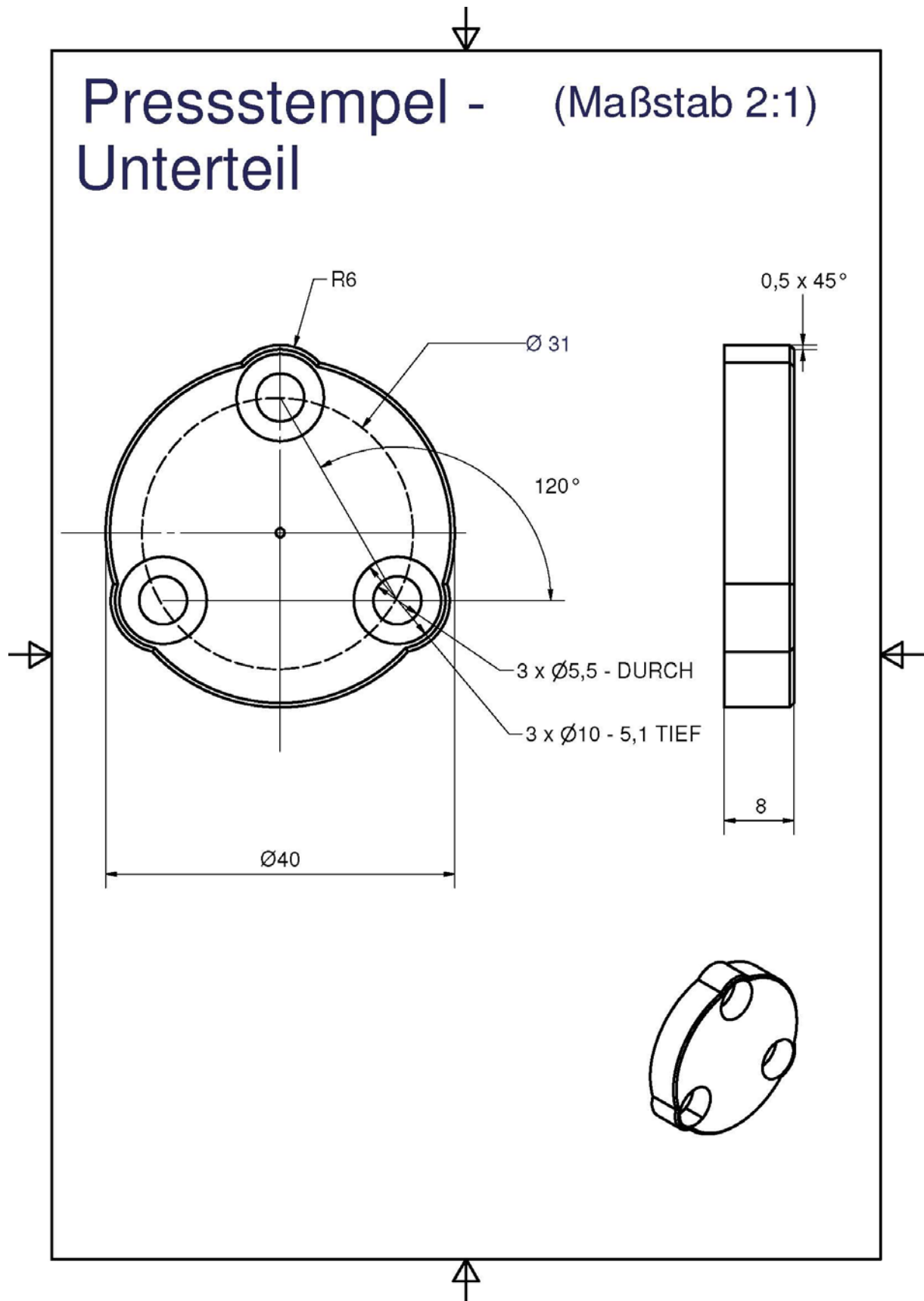
Intrinsic Dissolution: New Possibilities for the Pharmaceutical Development.
Knowledge Forum Merck Serono
(Darmstadt 2008)

Anhang

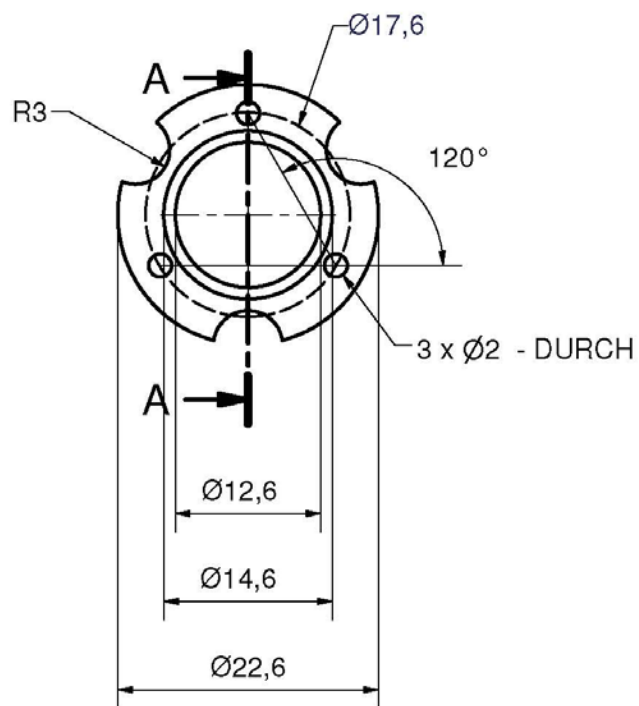


Presstempel - (Maßstab 2:1) Oberteil

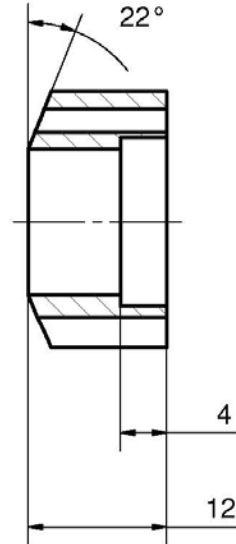


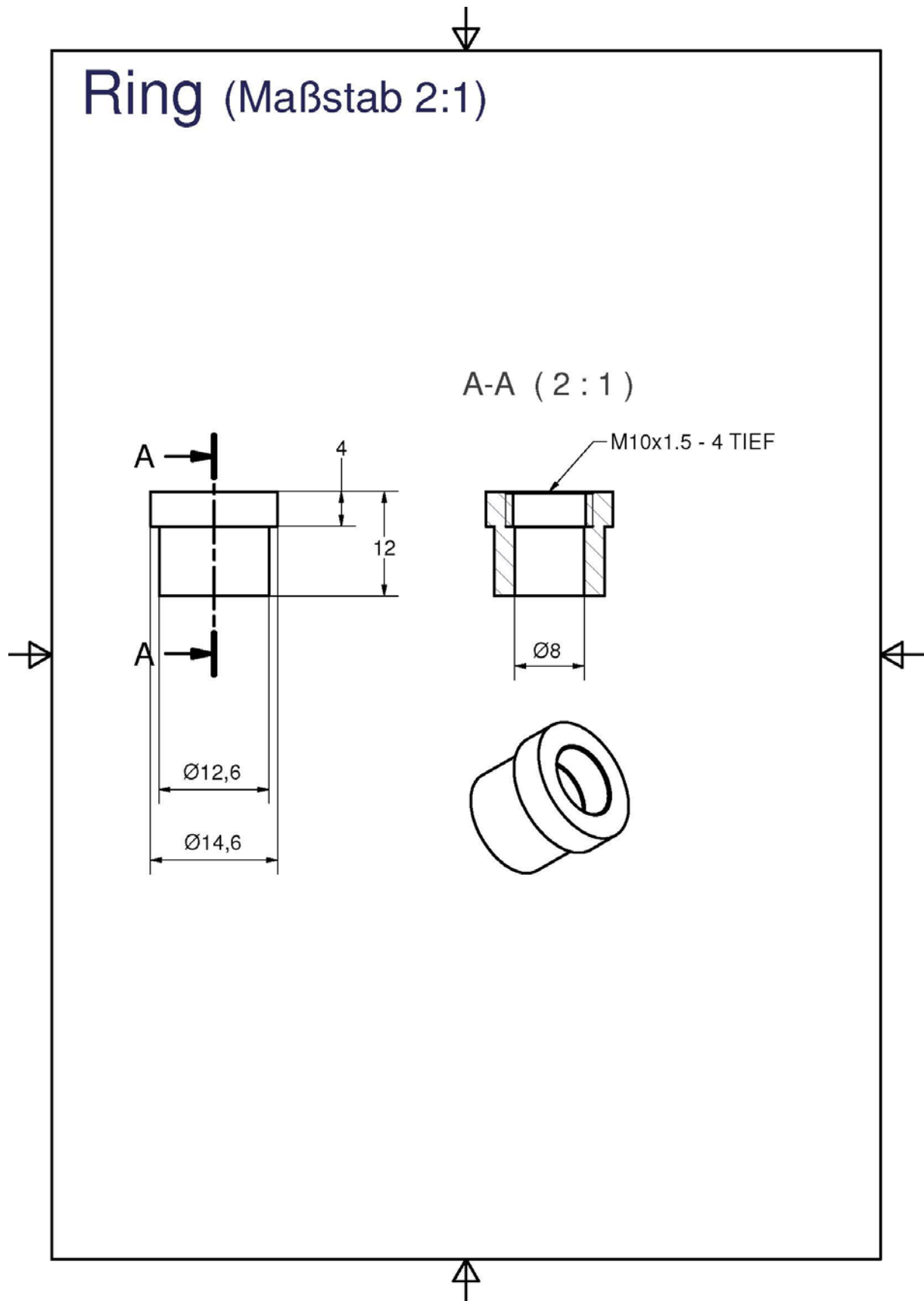


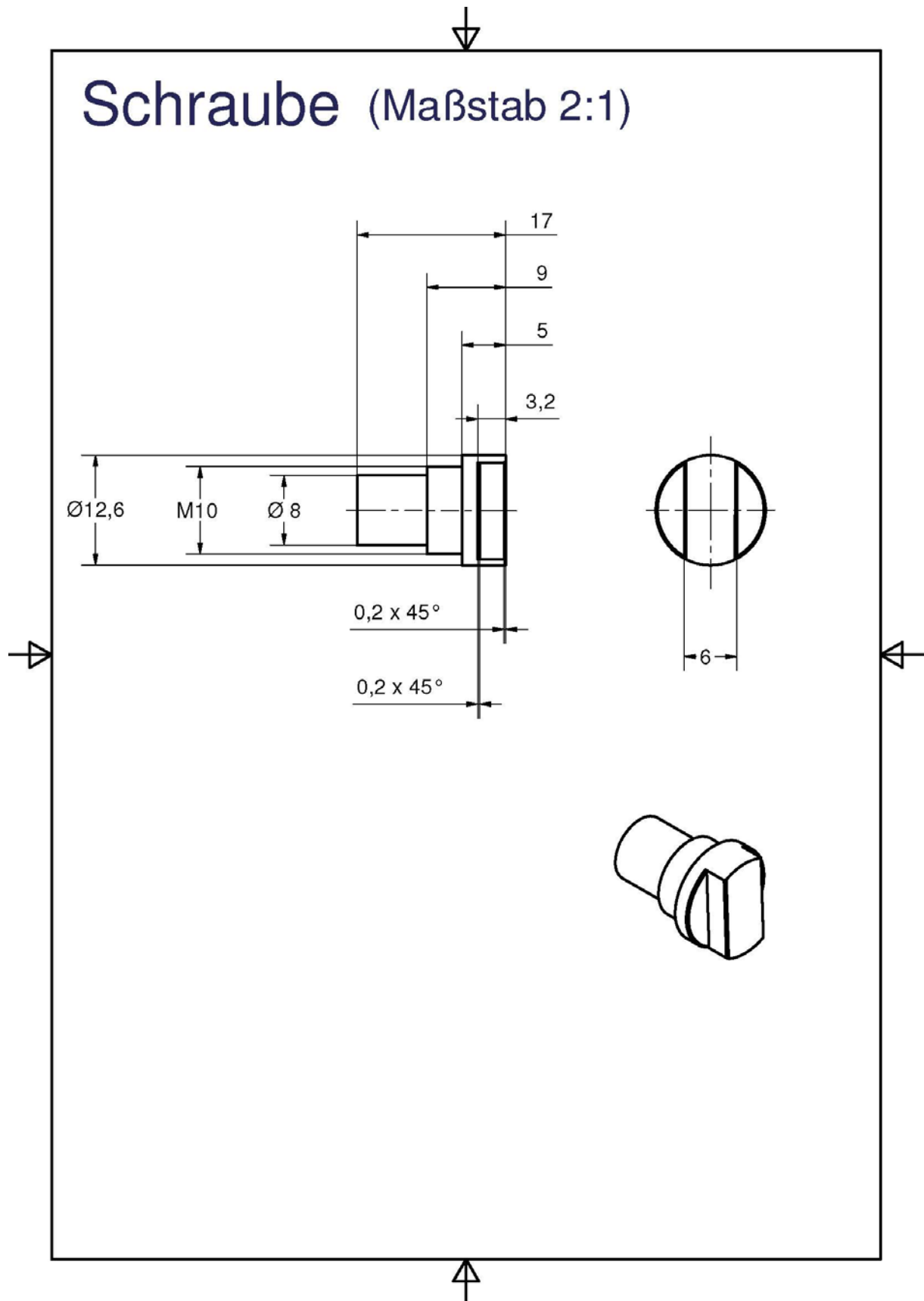
Intrinsic (Maßstab 2:1)



A-A (2:1)







Wirkstoffcharakterisierung in der Durchflusszelle:

In den verschiedenen Stadien während der Entwicklung bietet die Bestimmung der Auflösungskinetik eines Wirkstoffes die einzige Möglichkeit Aussagen über das Auflösungsverhalten von polymorphen Formen, Pseudopolymorphen, Salzen oder verschiedenen Chargen zu zeigen. Dafür stehen zwei Methoden, die Apparent Dissolution und die Intrinsic Dissolution zur Verfügung. Die hier dargestellte Entscheidungshilfe mit Entscheidungsbaum dient der Unterstützung bei der Methodenwahl entsprechend der jeweiligen Fragestellung.

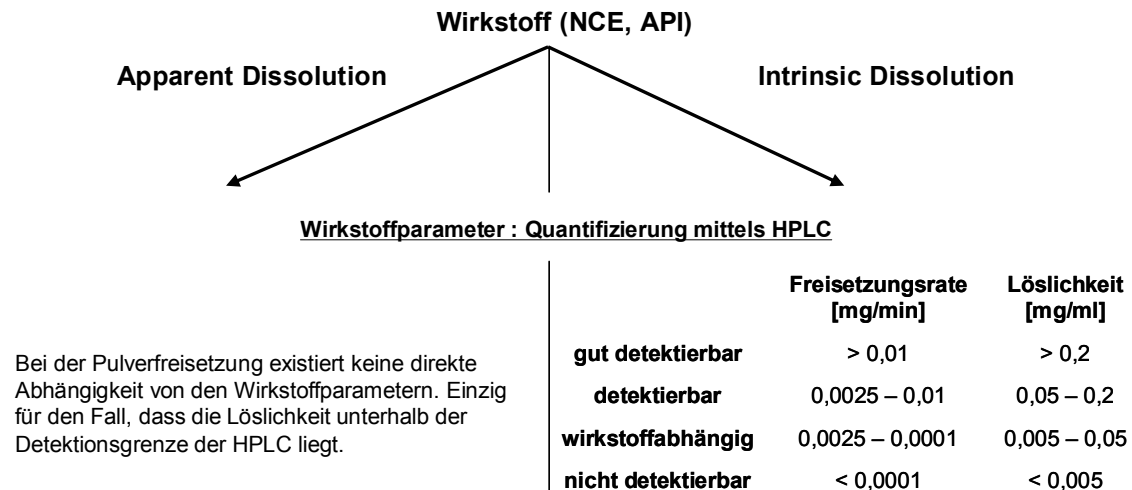
1. **Anfrage:** Bestimmung der Freisetzung eines Wirkstoffes (vers. Auftraggeber)
2. **Aufgabenstellung:** Es ist wichtig abzuklären welche Problematik besteht.
 - Vergleich zweier Wirkstoffchargen (Synthese, Herstellerwechsel, Mikronisierung)
 - Vergleich vers. Polymorphe, Pseudopolymorphe oder Salze
 - Wirkstoffcharakterisierung ohne einen Vergleich
 - Charakterisierung einer Umwandlung (z.B. Salzform)
 - Ursachensuche bei Unterschieden zwischen zwei Formulierungen
3. **Methodenwahl:** Apparent Dissolution oder Intrinsic Dissolution?

Intrinsic Dissolution: Freisetzung von einer konstanten Oberfläche

 - physikochemische Charakterisierung
 - Vergleich von Chargen, Polymorphen oder Salzen (Bestimmung einer Stoffkonstante)

Apparent Dissolution: Freisetzung von Pulvern-/Granulaten

 - Einfluss von Hilfsstoffen
 - Einfluss der Partikelgröße
 - Vergleich von Chargen, Polymorphen oder Salzen (vers. Partikelgröße und Oberfläche berücksichtigen)
4. **Wirkstoff:** Fragen zum Wirkstoff:
 - Wieviel Wirkstoff steht zur Verfügung?
 - Existiert eine HPLC-Methode?
 - Besitzt der Wirkstoff ein Chromophor?
 - Löslichkeit des Wirkstoffes?
 - Welche Freisetzungsmethoden? (Absprache mit Auftraggeber)
 - Welchen pKa-Wert und log P besitzt der Wirkstoff?
 - Stabilität des Wirkstoffes in wässrigen Medien?
 - In welche Gefahrenklasse gehört der Wirkstoff? (G4 ist nicht möglich)
5. **Analytik:** Die Analytik erfolgt ausschließlich mittels HPLC.
 Standard HPLC-Methode mit Standardsäule (Purospher STAR RP-18e 5 µm):
 Puffer pH 2,6: 3,45 g NaH₂PO₄
 1,732 ml ortho Phosphorsäure (85%)
 ad 5 l mit Milli Q Wasser
 FM A: 800 ml Puffer pH 2,6 und 200 ml ACN
 FM B: 100 ml Puffer pH 2,6 und 900 ml ACN
 ➔ Isokratische Methode: FM A und FM B Zusammensetzung bei 1,6 ml/min optimieren um eine Retentionszeit zwischen 1,75 und 3 min zu erhalten.



<u>Wirkstoffbedarf</u>		
Wirkstoffmenge abhängig von:	Oberfläche	Wirkstoff je Pressling
• Probenbeschickung mit Glasperlen < 12 mg	0,5 cm ² (ø 8 mm)	50 – 120 mg
• ohne Glasperlen 6 – 200 mg	0,28 cm ² (ø 6 mm)	25 – 60 mg
• Charakterisierung → 12 mg	0,126 cm ² (ø 4 mm)	12,5 – 30 mg
• Vergleich → höchste Dosierung		

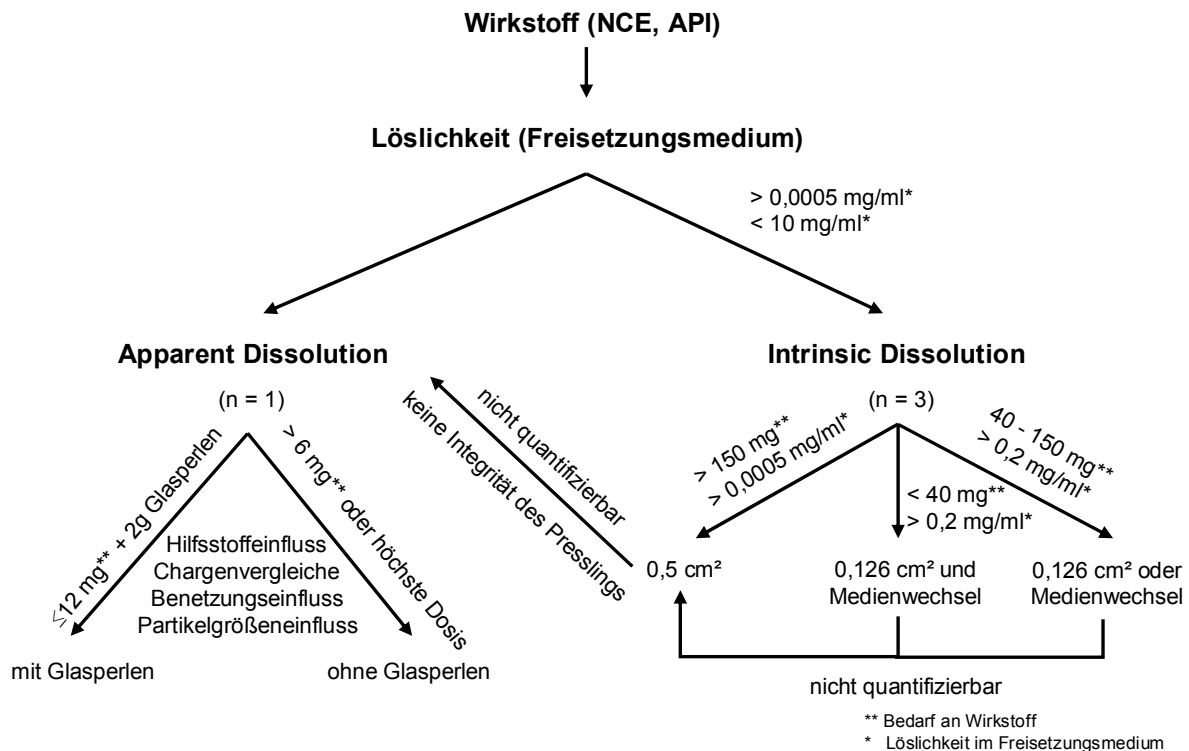
<u>Methode</u>		
	ohne Glasperlen	mit Glasperlen
Dauer	15 – 85 min (∞)	
Fraktionen	15/16	
Temperatur	37 °C	
Flussrate	16 ml/min (8 – 50 ml/min)	
	Normale Methode	Kombi Methode
Dauer	15 – 85 min (∞)	15 – 60 min (∞)
Fraktionen	15/16	15/16 abzüglich einer je Medienwechsel
Temperatur		37 °C
Flussrate	16 ml/min (8 – 50 ml/min)	

Freisetzungsmedium

physiologisch: wässrige Medien pH 1 - 7,5
 akademisch: wässrige Medien pH 1 – 12 und ethanolhaltige Medien

(Das Medium ist umso diskriminierender je geringer die Löslichkeit des Wirkstoffes)

<u>Löslichkeit</u>		<u>Löslichkeit</u>	
< 5,0 µg/ml	→ Sättigung des Freisetzungsmediums	< 10 mg/ml	→ Integrität des Pressling gewährleistet
< 0,2 mg/ml	→ Diskriminierende Methode	< 20 mg/ml	→ Wirkstoffabhängig
< 5,0 mg/ml	→ Wirkstoffabhängige Methode	> 20 mg/ml	→ Integrität des Presslings ist nicht gewährleistet → Apparent Dissolution
> 10 mg/ml	→ Keine diskriminierende Methode bzw. Unterschiede technisch nicht messbar und daher unbedeutend für in-vivo.	Eine niedrigere Pufferkapazität im Medium führt zu größeren Unterschieden beim Vergleich vers. Salzformen.	



Tipps zur Auswertung Apparent Dissolution:

Partikelgrößeneinfluss: < 0,1 mg/ml* gut messbar
0,1 – 0,2 mg/ml* messbar
0,2 – 4,5 mg/ml* abhängig vom Partikelgrößenunterschied
> 4,5 mg/ml* nicht messbar

→ Beschickung mit Glasperlen

Benetzungseinfluss: Vergleich Zellbeschickung mit und ohne Glasperlen, mit Glasperlen werden Benetzungseinflüsse reduziert.

→ schlechte Benetzung: Beschickung mit Glasperlen

Chargenvergleich: Vergleich Zellbeschickung mit und ohne Glasperlen:

- 1) Profile bei beiden Beschickungen identisch → äquivalente Chargen
- 2) Unterschiedliche Freisetzungsprofile ohne Glasperlen und mit Glasperlen identische Freisetzungsprofile → Benetzungsunterschied
- 3) Unterschiedliche Freisetzungsprofile ohne Glasperlen und mit Glasperlen → Partikelgrößenunterschied

Hilfsstoffeinfluss: Abhängig vom Hilfsstoffanteil:
< 30 % Hilfsstoffanteil → Einfluss auf die Benetzung
> 90 % Hilfsstoffanteil → Freisetzung^ψ bei gut löslichen Wirkstoffen (> 0,2 mg/ml*)

Tipps zur Auswertung Intrinsic Dissolution:

- 1) Zeitlich ändernde Freisetzungsrates → Umwandlungskinetik (Raman oder XRD)
- 2) Peak anstatt ein Plateau nach Medienwechsel bei der Kombinationsmethode
→ Umwandlung auf der Oberfläche (meist in Form von Nadeln)