
Pharmazeutische Chemie

U N T E R S U C H U N G E N Z U R
B I O V E R F Ü G B A R K E I T
D E S D I G O X I N

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des
Doktorgrades der Naturwissenschaften
im Fachbereich Chemie
der Westfälischen Wilhelms-Universität
zu Münster

vorgelegt von
Günter Ollenschläger
aus Troisdorf

Dekan: Professor Dr. W. Müller-Warmuth
Referent: Professor Dr. Th. Eckert
Korreferent: Professor Dr. Dr. h.c. K.E. Schulte

Datum der mündlichen Prüfung: 19., 20., 21. 12. 1977

Inhaltsverzeichnis

| | Seite | |
|----------|--|----|
| 1. | Einleitung und Problemstellung | 1 |
| 1.1. | Zum Begriff der Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen | 1 |
| 1.2. | In-vivo-Verfügbarkeit schwerlöslicher Arzneistoffe nach oraler Applikation | 8 |
| 2. | Untersuchungen zur In-vitro-Verfügbar- keit des Digoxin als Feststoff-Disper- sion mit Hydroxyalkylxanthinen | 13 |
| 2.1. | Möglichkeiten zur Optimierung der Di- goxin-Verfügbarkeit | 13 |
| 2.2. | Verwendete Substanzen | 21 |
| 2.2.1. | Digoxin | 21 |
| 2.2.2. | Hydroxyalkylxanthine | 21 |
| 2.3. | Herstellung der Feststoff-Dispersionen | 23 |
| 2.4. | Prüfungen der Feststoff-Dispersionen | 25 |
| 2.5. | Bestimmung der Löslichkeit und Lösungs- geschwindigkeit | 26 |
| 2.5.1. | Bestimmung der Löslichkeit | 26 |
| 2.5.2. | Bestimmung der Lösungsgeschwindigkeit | 27 |
| 2.5.3. | Ergebnis | 28 |
| 2.5.3.1. | Löslichkeit | 28 |
| 2.5.3.2. | Lösungsgeschwindigkeit | 31 |
| 2.5.4. | Diskussion | 38 |
| 2.6. | Untersuchungen zur Kennzeichnung von Zu- bereitungen aus Digoxin und Hydroxypropyltheobromin | 40 |
| 2.6.1. | Infrarot-Spektroskopische Untersuchungen | 40 |
| 2.6.2. | Polarisationsmikroskopische Untersuchungen der Feststoff-Dispersion | 47 |

| | | |
|----------|---|-----|
| 3. | Untersuchungen zur In-vivo-Verfügbarkeit von Digoxin als Feststoff-Dispersion mit Hydroxypropyltheobromin | 49 |
| 3.1. | Einleitung und Problemstellung | 49 |
| 3.2. | Tiermodell | 51 |
| 3.3. | Verwendete Substanzen | 53 |
| 3.3.1. | ³ H-Digoxin | 53 |
| 3.3.2. | Feststoff-Dispersion | 54 |
| 3.4. | Tierversuche | 57 |
| 3.4.1. | Methodik zur Bestimmung der In-vivo-Verfügbarkeit | 57 |
| 3.4.2. | Applikation und Probennahme | 71 |
| 3.5. | Ergebnis | 73 |
| 3.5.1. | Berechnung der Aktivität | 73 |
| 3.5.2. | Blutspiegel | 73 |
| 3.5.3. | Harnspiegel | 81 |
| 3.6. | Diskussion | 85 |
| 4. | Untersuchungen zur Wirkstoff-Freigabe von magensaftresistent überzogenen Hartgelatine kapseln | 94 |
| 4.1. | Einleitung und Problemstellung | 94 |
| 4.1.1. | Beeinflussung der Digoxin-Verfügbarkeit durch Hydrolyse | 94 |
| 4.1.2. | Magensaftresistente Filmüberzüge | 95 |
| 4.1.2.1. | Acrylharz-Lacke | 96 |
| 4.1.2.2. | Celluloseacetatphthalat (CAP) | 98 |
| 4.1.2.3. | Hydroxypropylmethylcellulosephthalat (HPMCP) | 99 |
| 4.1.3. | Problemstellung | 101 |
| 4.2. | Magensaftresistent überzogene Hartgelatinesteck kapseln | 103 |
| 4.2.1. | Beschreibung der Kapseln | 103 |

| | | |
|----------|---|-----|
| 4.2.2. | Beschreibung der Überzüge | 103 |
| 4.2.3. | Beschreibung der Überzugstechnik | 104 |
| 4.2.4. | Messung der scheinbaren Schichtdicke von HP-50-Überzügen | 105 |
| 4.3. | In-vitro-Untersuchung der Wirkstoff- Freigabe | 108 |
| 4.3.1. | Methodik | 108 |
| 4.3.2. | Ergebnis | 109 |
| 4.3.3. | Diskussion | 113 |
| 4.3.3.1. | Abhängigkeit der Wirkstoff-Freigabe von der Auftragsmenge | 113 |
| 4.3.3.2. | Abhängigkeit der Wirkstoff-Freigabe vom pH-Wert | 115 |
| 4.4. | In-vivo-Untersuchungen der Wirkstoff- Freigabe mit Hilfe der pH-Endoradiosonde | 116 |
| 4.4.1. | Methodik | 116 |
| 4.4.2. | Ergebnis | 118 |
| 4.4.3. | Diskussion | 121 |
| 5. | Experimenteller Teil | 123 |
| 6. | Zusammenfassung | 132 |
| 7. | Literaturverzeichnis | 135 |

1. Einleitung und Problemstellung

1.1. Zum Begriff der Bioverfügbarkeit
von Arzneistoffen

Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit arzneilich wirksamer Substanzen nehmen heute bei der Entwicklung neuer Medikamente und Darreichungsformen einen breiten Raum ein.

Dem Begriff Bioverfügbarkeit werden unterschiedliche Bedeutungen zugeschrieben, da er von zwei Fachrichtungen, Pharmazie und Medizin, verwendet und je nach Fachgebiet verschieden definiert wird.

Die hierdurch entstandene Konfusion läßt es notwendig erscheinen, den Begriff Bioverfügbarkeit zum Zweck einer sinnvollen Verwendung klar zu umreißen und seine inhaltlichen Bedeutungen zu differenzieren.

Unter Verfügbarkeit eines Arzneistoffs wurde ursprünglich (OSER, 1945) das prozentuale Verhältnis der Urinausscheidung nach Gabe einer Testdosis zur Urinausscheidung nach Gabe der Substanz als wäßrige Lösung verstanden (1).

In dieser Form ist der Begriff jedoch nur begrenzt anzuwenden, da die Definition nur wasserlösliche Substanzen und nur das Ausmaß, nicht aber die Geschwindigkeit berücksichtigt, mit der der Arzneistoff verfügbar wird.

Somit wurde für die Verwendung des Begriffs als pharmazeutischer Qualitätsparameter eine umfassendere Definition notwendig, die folgendermaßen abgefaßt wurde:

"Die Bioverfügbarkeit eines Arzneistoffs gibt die relative Menge an, die nach Applikation einer Zubereitung in Abhängigkeit von Zeit und Dosis die systemische Zirkulation erreicht" (vgl. 2 - 6).

Während der Begriff im Sinne dieser Definition auf Arzneiformulierungen anzuwenden ist, deren Wirkstoff nach Resorption in den Blutkreislauf gelangt, werden andere Darreichungsformen, wie sie z.B. teilweise bei lokaler Anwendung gegeben sind, inhaltlich nicht erfaßt.

Außerdem werden pharmakodynamische Aspekte der Bioverfügbarkeit in dieser Definition unberücksichtigt gelassen. Um diesem Gesichtspunkt gerecht zu werden, wurde von medizinischer Seite eine weitere Deutung des Begriffs in folgender Weise vorgeschlagen:

"Die Bioverfügbarkeit eines Arzneistoffs gibt die relative Menge an, die in Abhängigkeit von Zeit und Dosis am Ort der Wirkung vorliegt und einen biologischen Effekt ausübt" (vgl. 7 - 10).

Diese Ausweitung des Begriffs auf eine Erfassung der Arzneistoff-Konzentration am Ort der Wirkung macht es in vielen Fällen unmöglich, die Bioverfügbarkeit als Maß für den Einfluß einer Formulierung auf die therapeutische

Wirkung einer Arzneisubstanz zu verwenden, und zwar aus folgenden Gründen:

1. Der Wirkort ist meistens nicht faßbar, insbesondere wenn damit die biologischen Rezeptoren gemeint sind.
2. Die eigentliche biologische Wirkform ist in vielen Fällen unbekannt.
3. Die quantitative Bestimmung der Wirkstoff-Konzentration ist in anderen Kompartimenten als dem Blut nicht immer durchzuführen.
4. Auf das Pharmakon wirken zu viele, nicht immer zu differenzierende Einflüsse auf dem Weg zum Wirkort ein, so daß Unterschiede der Bioverfügbarkeit nicht ohne weiteres als Funktion der Arzneiform erkannt werden können oder Formulierungen mit unterschiedlicher In-vitro-Freigabe nicht zu Konzentrations- und Wirkungsunterschieden führen.

Trotz dieser Unzulänglichkeiten hat die amerikanische Food and Drug Administration in ihrer offiziellen Definition die verschiedenen Begriffsinterpretationen zusammengefaßt und Bioverfügbarkeit folgendermaßen definiert:

"Die Bioverfügbarkeit eines Wirkstoffs aus einer Zubereitung ist als die Geschwindigkeit und das Ausmaß zu definieren, mit denen der Wirkstoff in das Blutkompartiment resorbiert wird oder am Ort der Wirkung vorliegt" (11).

Die Verwendung des Begriffs Bioverfügbarkeit im Sinne der beschriebenen Definitionen kann jedoch dann problematisch werden, wenn er als ein pharmazeutisch-technologischer Qualitätsparameter benutzt wird, da die Bioverfügbarkeit eines Arzneistoffs sowohl von den physikalischen Eigenschaften der Darreichungsform als auch vom physiologischen Verhalten des Organismus beeinflusst wird und diese wechselseitigen Einflüsse in den seltensten Fällen hinsichtlich ihres jeweiligen Ausmaßes voneinander zu trennen sind.

Deshalb wurden zur technologischen Charakterisierung von Arzneizubereitungen zahlreiche In-vitro-Modelle entwickelt (vgl. 12, 13), mit denen unter standardisierten Bedingungen die "In-vitro-Verfügbarkeit" von Arzneisubstanzen, d.h. Wirkstoff-Freigabe und -Auflösung sowie evtl. der Durchtritt durch Kunstmembranen, bestimmt wird, um so Vorausagen über die "In-vivo-Verfügbarkeit" - die Bioverfügbarkeit - machen zu können. Hierbei liegt das Hauptproblem solcher In-vitro-Tests darin, Ergebnisse zu erzielen, die direkte Korrelationen zu den In-vivo-Verhältnissen ermöglichen.

Aufgrund der zu Mißverständnissen führenden Kombinationen der unterschiedlichsten Inhalte des Begriffs Bioverfügbarkeit und der daraus resultierenden Unsicherheit bei Verwendung des Begriffs erscheint es sinnvoll, den Versuch zu

machen, Bioverfügbarkeit neu zu definieren, indem die einzelnen Begriffsinhalte differenziert werden [vgl. BOZLER, (14)]⁷ und zueinander in Korrelation gesetzt werden (siehe Schema 1-1).

Der Begriff Verfügbarkeit kann somit unterteilt werden in:

1. In-vitro-Verfügbarkeit oder Technologische Verfügbarkeit,

d.h. Freigabe und Auflösung der Wirksubstanz aus einer Arzneiform - auch Pro-Drug - und Durchtritt durch eine künstliche Membran im Verhältnis zu einer Standard-Arzneiform in einem Prüfmedium unter definierten Bedingungen in Abhängigkeit von Dosis und Zeit;

2. In-vivo-Verfügbarkeit ohne Resorption in den Blutkreislauf,

d.h. Freigabe der Wirksubstanz aus einer Arzneiform im Verhältnis zu einer Standard-Arzneiform in

- a) Körperflüssigkeiten wie Tränenflüssigkeit, Speichel, Magen-Darm-Saft, Blut und Liquor nach intravasaler, intracardialer und subarachnoidaler Applikation;
- b) Körperhöhlen und Gelenken, z.B. nach intraperitonealer oder intraarticulärer Applikation;
- c) Geweben nach topischer, intradermaler, subcutaner, intramuskulärer Applikation;

3. In-vivo-Verfügbarkeit nach Resorption,

d.h. Konzentration der Wirksubstanz einer bestimmten

Arzneiform nach Resorption im Verhältnis zu einer Standard-Arzneiform in Körperflüssigkeiten, Geweben und Ausscheidungen;

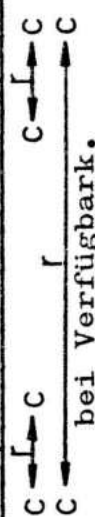
4. Pharmakodynamische Verfügbarkeit,

d.h. Konzentration der biologisch wirksamen Form einer Arzneisubstanz am Wirkort (Rezeptor) oder pharmakologischer (pharmakodynamischer, toxischer) Effekt nach Applikation einer Arzneiform im Verhältnis zu einer Standard-Arzneiform.

Der Vorteil der vorgeschlagenen Differenzierung liegt einmal darin, daß bei den einzelnen Verfügbarkeiten die Systeme, in denen die Wirkstoff-Konzentrationen gemessen werden (Freigabe-Modell, Blut, Urin usw.), hinsichtlich der auf die Substanz einwirkenden Faktoren deutlicher charakterisiert sind und daß dadurch die Einflüsse pharmakotechnischer und biologischer Parameter auf die Verfügbarkeit differenziert und eindeutig interpretiert werden können.

Die beschriebenen Definitionen für die verschiedenen Verfügbarkeiten haben zudem den Vorzug, hinsichtlich ihrer Bestimmungsmethodiken und Interpretierbarkeit eindeutig bestimmten Fachrichtungen zugeordnet werden zu können, so daß der gleichzeitige Gebrauch unterschiedlicher Definitionen des Begriffs Bioverfügbarkeit vermieden wird. Ein weiterer Vorteil ist darin zu sehen, daß im Gegensatz zu früheren Definitionen sämtliche Applikationsformen in die Definition einbezogen werden (siehe Schema 1-1).

| | In-vitro-Verfügbarkeit | In-vivo-Verfügbarkeit ohne Resorption in den Blutkreislauf | In-vivo-Verfügbarkeit nach Resorption | Pharmakodynamische Verfügbarkeit |
|------------------|------------------------|--|---------------------------------------|----------------------------------|
| Oral | | Mund Magen Darm | | |
| Rectal | Wirkstoff- | Rectum | <u>Körperflüssigkeiten</u> | Biologischer Rezeptor |
| Vaginal | Freigabe-, | Vagina | z. B. | bzw. |
| Parenteral | Lösungs-, | Blutkreislauf | Blutkreislauf | Pharmakodynamischer |
| a) intravasal | Verteil- | Liquor cerebrospinalis | ohne Blut der | oder |
| b) extravasal | lungs- | Körperhöhlen | Pfortader, | Toxischer |
| Dermatica | Modelle | Gewebe (außer Oberflächengewebe) | Galle | Effekt |
| Augenarzneien | | Epidermis | <u>Gewebe</u> | |
| Augenarzneien | | Mucosa | Ausscheidungen: | |
| Ohrarzneien | | Cornea | Urin | |
| | | Conjunctiva | Faeces | |
| | | Ohrepithel | | |
| | | Trommelfell | | |
| | | Mucosa des Respirationstraktes | | |
| Nasenarzneien | | Alveolen | | |
| Aerosole | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| Applikationsform | In-vitro-Modell | Ort der Wirkstoff-Freigabe | Pharmakokinetisches Kompartiment | Wirkort |



c = Konzentration an verfügbarem Wirkstoff r = Korrelationsfaktor

Schema 1-1: Die Differenzierung der Bioverfügbarkeit in Bezug auf die verschiedenen Applikationsformen

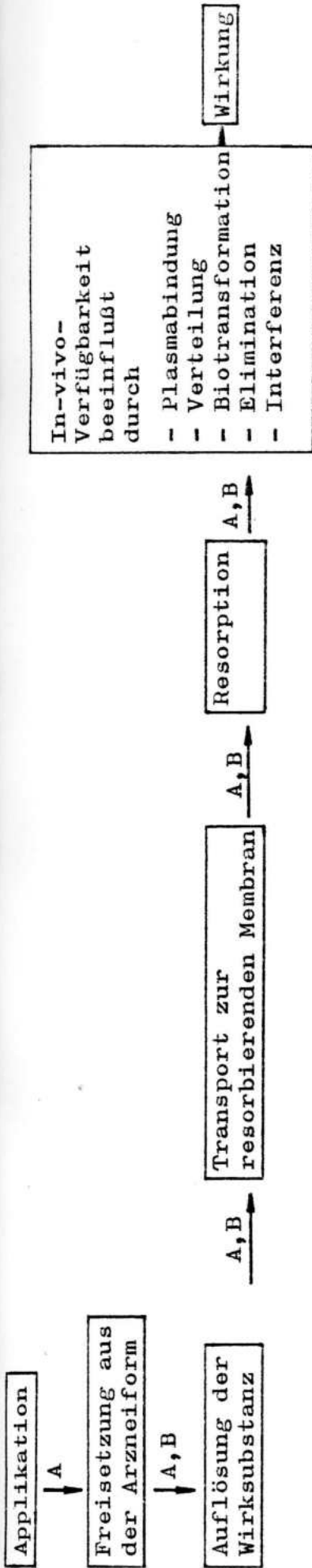
1.2. In-vivo-Verfügbarkeit schwerlöslicher Arznei-
stoffe nach oraler Applikation

Besondere Bedeutung erlangen Untersuchungen zur Verfügbarkeit solcher Substanzen, bei denen nach oraler Applikation bei identischer chemischer Konstitution Unterschiede hinsichtlich ihrer Pharmakodynamischen Verfügbarkeit auftreten können.

Die Gründe für solche therapeutischen Ungleichwertigkeiten sind außer in individuellen physiologischen und pathologischen Faktoren hauptsächlich im physikalischen Zustand und der Darreichungsform dieser Substanzen zu suchen (siehe Schema 1-2).

Verschiedene Anforderungen sind deshalb an eine Zubereitung zur oralen Applikation zu stellen, damit der Arzneistoff eine optimale und reproduzierbare In-vivo-Verfügbarkeit hat und dadurch gezielt zur Wirkung kommt:

1. gleichmäßige und vollständige Freigabe der Wirksubstanz aus der Arzneiform,
2. vollständige und schnelle Auflösung im Milieu des Magen-Darm-Traktes,
3. Stabilität des Wirkstoffs gegenüber den pH-Verhältnissen, Enzymen und Bakterien des Magen-Darm-Traktes,
4. ungehinderter Transport zu den resorbierenden Epithelien.



In-vivo-Verfügbarkeit beeinflusst durch

- Plasmabindung
- Verteilung
- Biotransformation
- Elimination
- Interferenz

Geschwindigkeitsbestimmende Faktoren:

A - individuelle Faktoren:

- Füllungszustand des Magen-Darm-Traktes
- Magen-Darm-Peristaltik
- Beschaffenheit des Magen-Darm-Inhaltes
- pH-Verhältnisse
- Enzymmuster
- Oberfläche der resorbierenden Epithelien
- pathologische Veränderungen

B - galenische Faktoren:

- Lösungscharakteristika der Wirksubstanz
- bedingt durch:
- Teilchengröße
- Polymorphie
- Adsorption
- Komplexbildung
- Applikationsform (Tablette, Kapsel, Magensaftresistenz u.a.)
- Hilfsstoffe (Komplexbildner, Hydrophobie, Solubilisator u.a.)

Stabilität

Gegenüber:

- pH
- Enzymen

Schema 1-2: Geschwindigkeitsbestimmende Faktoren für die In-vivo-Verfügbarkeit vor Resorption bei peroraler Applikation

Ziel der galenischen Forschung muß es sein, die einem Wirkstoff adäquate Zubereitungsform zu schaffen, die die beschriebenen Anforderungen erfüllt, um dadurch galenisch bedingte Wirkungsunterschiede weitestgehend zu vermeiden.

Gerade Arzneistoffe, die aufgrund ihres physikalischen Zustands langsam oder nur unvollständig in wäßrigen Medien in Lösung gehen, bereiten hier Schwierigkeiten, und es liegt eine umfangreiche Literatur über Versuche zur Lösung solcher Verfügbarkeitsprobleme bei den verschiedensten schwerlöslichen Arzneistoffen vor (Übersichtsartikel: 15, 16).

Therapeutische Ungleichwertigkeiten fallen insbesondere bei Substanzen ins Gewicht, deren therapeutische Breite besonders gering ist. Das herzwirksame Glykosid *D i g o x i n* ist ein charakteristisches Beispiel für einen schwerlöslichen Arzneistoff mit geringer therapeutischer Breite. Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit des Digoxin nehmen deshalb in der Literatur einen breiten Raum ein (Übersichtsartikel: 17 - 20).

Im Verlauf der Bemühungen, die Therapie mit Digitalis, die erstmals 1785 von W. WITHERING vorgeschlagen wurde (21), durch Verwendung der reinen Wirksubstanz des Fingerhuts gezielter vornehmen zu können, wurde 1930 von S. SMITH das Cardenolid-Glykosid Digoxin aus den Blättern von *Digitalis lanata* (Scrophulariaceae) erstmalig isoliert (22).

Seitdem hat sich Digoxin aufgrund seiner im Vergleich zu anderen Herzglykosiden gleichmäßigeren und besser steuerbaren Wirkung zum Standardpräparat bei der Dauertherapie der Herzinsuffizienz entwickelt (vgl. 23).

Schwierigkeiten bei der oralen Applikation fester Digoxin-Zubereitungen wurden jedoch offensichtlich, als LINDENBAUM und Mitarbeiter 1971 feststellten, daß die Verwendung von Digoxin-Tabletten gleichen Gehalts verschiedener Hersteller als auch verschiedener Chargen des gleichen Herstellers zu unterschiedlichen Blutspiegeln führten (24). Seitdem ist über entsprechende therapeutische Ungleichwertigkeiten fester Digoxin-Arzneiformen vielfach berichtet worden (25 - 29, Übersicht bei 20).

Hierbei zeigten sich Korrelationen zwischen Partikelgröße bzw. der Löslichkeit des Digoxin in verschiedenen Zubereitungen, also der In-vitro-Verfügbarkeit, einerseits und der In-vivo-Verfügbarkeit des Digoxin, der Konzentration in Blut und Urin, andererseits (27, 28, 30, 31).

Da außerdem eine direkte Korrelation zwischen In-vivo- und pharmakodynamischer Verfügbarkeit, d.h. dem Wirkungsgrad bzw. der Digoxin-Intoxikation, besteht (19, 32), bilden die Löslichkeitsunterschiede aufgrund der geringen therapeutischen Breite des Glykosids ein erhebliches Problem bei der Medikation.

Einen zusätzlichen Risikofaktor für die therapeutische

Gleichwertigkeit stellt die mangelnde Säurestabilität des Digoxin-Moleküls dar (33 - 35).

Da der niedrige pH-Wert des Magensaftes die Hydrolyse des Glykosids bewirken und so die Digoxin-Verfügbarkeit mindern kann, muß für die perorale Applikation des Glykosids möglichst eine Darreichungsform geschaffen werden, die ausreichenden Schutz vor Hydrolyse bietet. Üblicherweise werden hierzu feste Zubereitungen mit magensaftresistenten Filmüberzügen beschichtet, die jedoch ihrerseits die Verfügbarkeit der inkorporierten Wirkstoffe durch ungenügende oder zu späte Freisetzung im Milieu des Darm-Traktes reduzieren können.

In der vorliegenden Arbeit sollen In-vitro- und In-vivo-Untersuchungen zu diesen Problemfaktoren der Verfügbarkeit fester Digoxin-Zubereitungen beschrieben und Möglichkeiten zu ihrer Lösung aufgezeigt werden.

2. Untersuchungen zur In-vitro-Verfügbarkeit des Digoxin als Feststoff-Dispersion mit Hydroxyalkylxanthin

2.1. Möglichkeiten zur Optimierung der Digoxin-Verfügbarkeit

Die Resorption von Substanzen, die durch passive Diffusion aus dem Magen-Darm-Trakt aufgenommen werden, wie dies höchstwahrscheinlich auch für Digoxin gilt (36), ist nach dem 1. Fick'schen Diffusionsgesetz direkt proportional zu der gelösten Substanzmenge.

$$dq = D \cdot A \cdot \frac{dc}{dx} \cdot dt$$

dq = Substanzmenge
 D = Diffusionskoeffizient
 A = Querschnittsfläche
 dc/dx = Konzentrationsgefälle
 dt = Zeit

Deshalb sind bei schwerlöslichen Arzneistoffen, die durch passive Diffusion resorbiert werden, Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit die begrenzenden Faktoren für Ausmaß und Geschwindigkeit der Resorption.

Diese Löslichkeitsparameter sind abhängig von der Partikelgröße eines schwerlöslichen Stoffs, da

1. die Löslichkeit mit abnehmender Partikelgröße zunimmt nach

$$\log \frac{s}{s_0} = \frac{2 \cdot \gamma \cdot V}{2,303 \cdot R \cdot T \cdot r} \quad (37)$$

- s = Löslichkeit sehr kleiner Partikel
s₀ = Löslichkeit sehr großer Partikel
γ = Oberflächenspannung der Partikel
V = molares Volumen
R = allgemeine Gaskonstante
T = absolute Temperatur
r = Radius der Partikel

2. die Lösungsgeschwindigkeit zur Oberfläche eines Festkörpers direkt proportional ist nach

$$\frac{dc}{dt} = k \cdot A \cdot (c_s - c_t) \quad (38, 39)$$

- dc/dt = Auflösungsgeschwindigkeit
k = Geschwindigkeitskonstante
A = Oberfläche des ungelösten Feststoffs
c_s = Konzentration der gesättigten Lösung
(Löslichkeit des Feststoffs)
c_t = Konzentration des gelösten Stoffs zur Zeit t

Infolgedessen führt die Partikelverkleinerung bei schwerlöslichen Wirkstoffen über eine Verbesserung der Löslichkeit zur Erhöhung der Resorptionsquote, also zur Verbesserung der In-vivo-Verfügbarkeit. Dies konnte für Digoxin nachgewiesen werden, und zwar nach Applikation

von Digoxin-Präparaten, bei denen die Partikelgröße stark reduziert war (25, 31) bzw. das Glykosid in gelöster Form vorlag (40 - 43).

Zahlreiche Techniken werden zur Zerkleinerung schwer wasserlöslicher Festsubstanzen verwendet, z.B. Strahlen-, Kugel-, Kolloidmühlen, Ultraschall-Mikronisierung, Präzipitation aus organischen Lösungsmitteln, Gefrier- und Sprühtrocknung. Obwohl man auf diese Weise Teilchen geringster Größe erhalten kann, sind solche Methoden nicht universell zu verwenden. Es ist z.B. schwierig, mit mechanischen Methoden Partikelgrößen unter 10 μ zu gewinnen; die Verwendung organischer Lösungsmittel ist wegen toxiologischer Bedenklichkeit umstritten. Auch kann es dazu kommen, daß nach einfacher Partikelverkleinerung eine Verschlechterung der Löslichkeit eintritt (44), da die große Oberfläche eines mikrofeinen Pulvers bei apolaren Substanzen zu Erhöhung der Oberflächenenergie und der Van der Waal'schen Kräfte führt und dadurch Aggregatbildung und schlechte Benetzbarkeit hervorrufen kann.

Gerade die letztgenannten Schwierigkeiten werden vermieden, wenn man schwerlösliche Stoffe mittels Zubereitung als **F e s t s t o f f - D i s p e r s i o n** solubilisiert. Feststoff-Dispersionen bestehen normalerweise aus einem sehr leicht wasserlöslichen Trägerstoff, in dem eine schwerlösliche Wirksubstanz in feinsten Form

dispergiert ist. Der Verteilungsgrad der in die Matrix inkorporierten Substanz kann sogar so hoch sein, daß der Wirkstoff in molekularer Form vorliegt (45). Hieraus ergibt sich, daß der so vorgelöste Stoff in wäßrigen Medien schneller und in höherer Konzentration in Lösung geht (46).

Zusätzlich zur Partikelverkleinerung können in Feststoff-Dispersionen folgende Effekte die Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit schwerlöslicher Substanzen verbessern:

1. Eine weitgehende Stabilität des Verteilungsgrades infolge homogener Verteilung der schwerlöslichen Substanz in der Matrix;
2. die Möglichkeit des Auftretens besser löslicher polymorpher Formen der schwerlöslichen Substanz;
3. eine ausgezeichnete Benetzbarkeit der schwerlöslichen Substanz dadurch, daß die Matrix sehr schnell in Lösung geht;
4. ein lösungsvermittelnder Effekt des wasserlöslichen Trägers, der durch die enge Verbindung mit der schwerlöslichen Substanz zustande kommt.

Die Herstellung von Feststoff-Dispersionen kann nach zwei Methoden erfolgen:

Nach der Lösungsmethode werden die Komponenten in einem geeigneten Medium gelöst; anschließend wird das Lösungsmittel entfernt, wobei die Dispersion ausfällt (Kopräzipitat).

Nach der Schmelzmethode werden Träger und Wirkstoff zusammen geschmolzen und anschließend zum Erstarren abgeschreckt oder langsam abgekühlt.

Die Anwendung von Feststoff-Dispersionen wurde bei schwerlöslichen Herzglykosiden bis jetzt nur selten beschrieben.

CHIOU und RIEGELMAN (47) berichteten über eine Feststoff-Dispersion aus Digitoxin in Polyäthylenglykol 6000. Die Wasserlöslichkeit des so verarbeiteten Glykosids war beträchtlich vergrößert im Vergleich zur mikrokristallinen Reinsubstanz.

Auch Polyvinylpyrrolidon eignet sich als Träger für Digitoxin (48) sowie für Digoxin (19). Bei diesen Systemen wurde nachgewiesen, daß die Optimierung des Lösungsverhaltens eine Wirkungssteigerung der Glykoside bedingt. Als ein weiteres Verfahren wurde die Herstellung von Einbettungen des Digitoxin und Digoxin in Methylcellulose durch Sprühtrocknung beschrieben (49, 50). Es konnte hier für Digitoxin gezeigt werden, daß die Lösungsverbesserung auf das Vorliegen eines nichtkristallinen Zustandes in der Matrix zurückzuführen ist (50).

In jüngster Zeit wurden Kopräzipitate von Digitoxin und Digoxin in Desoxycholsäure bzw. einem Polymerisat aus Äthylenoxid und Propylenoxid beschrieben, die zur Löslich-

keitserhöhung der Glykoside führten (51). Während die LD 50 des Digitoxin mittels dieser Zubereitungen bei Mäusen signifikant erhöht wurde, konnte für Digoxin keine Resorptionserhöhung nachgewiesen werden.

Die bisher eingesetzten Trägersubstanzen für Feststoff-Dispersionen sind ohne pharmakologische Eigenwirkung und stellen in diesem Sinn lediglich pharmazeutische Hilfsstoffe dar, oder sie haben, wie im Fall der Desoxycholsäure, eine nicht erwünschte andersartige Wirkung als der inkorporierte schwerlösliche Stoff.

Die im Rahmen dieser Arbeit beschriebenen Feststoff-Dispersionen unterscheiden sich von den bisherigen Systemen dadurch, daß als Trägersubstanzen Stoffe mit pharmakologischer Eigenwirkung verwendet werden.

Ein solches System ist nur in solchen Fällen sinnvoll, wo Träger und inkorporierte Substanzen synergistische oder gleichgerichtete pharmakologische Wirkungen haben.

Gerade Herzglykoside werden häufig mit synergistisch wirkenden Substanzen kombiniert, unter anderem mit Hydroxyalkylxanthinen, leicht wasserlöslichen Derivaten von Theophyllin und Theobromin. Solche Kombinationen werden zur Therapie der Herzinsuffizienz verwendet und sind bei verschiedenen Formen dieser Krankheit einer reinen Digi-

talistherapie überlegen (52 - 54).

Unter Herzinsuffizienz versteht man jegliche Einschränkung der Förderleistung des Herzens und die damit verbundene Unfähigkeit, das Gleichgewicht zwischen venösem Angebot und Bedarf der Peripherie aufrechtzuhalten. Die ungenügende Förderleistung ist primär bedingt durch Kontraktionsschwäche des Myocard, die unter anderem durch Schädigung der Herzmuskulatur aufgrund von Minderdurchblutung bei Koronarinsuffizienz oder bei chronischer Druck- und Volumen-Belastung auftreten kann.

Die Therapie erfolgt einmal symptomatisch mit Herzglykosiden, die besonders beim insuffizienten Herzen durch direkte Wirkung auf die Herzmuskelfaser die Kontraktilität verbessern und dadurch zu erhöhtem Schlagvolumen und Ökonomisierung der Herzarbeit führen.

Zum anderen kann eine kausale Therapie mit Vasodilatoren und Broncholytika erfolgen, z.B. mit Hydroxylalkylxanthinen (52 - 54), die direkt an der glatten Muskulatur von Gefäßen und Bronchien angreifen (55) und so erhöhte Koronardurchblutung und Widerstandsminderung im Lungenkreislauf bewirken können (55, 56). Zusätzlich haben die Vertreter dieser Stoffklasse synergistisch zu Digitalisglykosiden diuretische (54) und geringe positiv-inotrope Wirkung (57) und üben, im Gegensatz zu der Muttersubstanz Theophyllin, keinen zentralerregenden Effekt aus (56).

Somit erscheint eine kombinierte Therapie mit Digoxin und Hydroxyalkylxanthenen gerade bei Herzinsuffizienz aufgrund von Koronarinsuffizienz und bei Rechtsinsuffizienz (Cor pulmonale) angebracht zu sein.

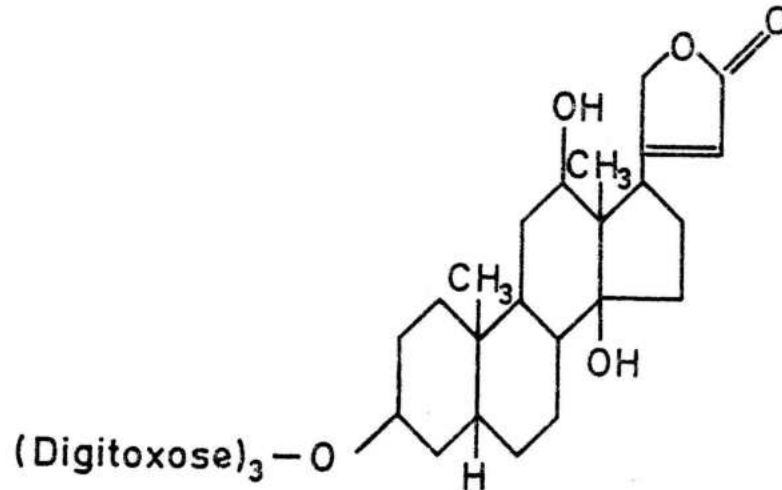
Zur Vermeidung von möglichen Intoxikationen wird das für Digitalisglykoside übliche Dosierungsschema auch auf die Hydroxyalkylxanthin - Therapie angewendet, wobei die Menge des applizierten Xanthin-Derivates um ein Vielfaches größer ist als die des Glykosids. Ein solches Massenverhältnis bietet im Hinblick auf eine Zubereitung als Feststoff-Dispersion eine wesentliche Voraussetzung dafür, daß das schwerlösliche Digoxin in dieser Darreichungsform optimal in die Trägersubstanz inkorporiert und dadurch solubilisiert wird (45).

Im folgenden Kapitel sollen Herstellung und analytische Prüfung von Feststoff-Dispersionen aus Digoxin und Hydroxyalkylxanthenen sowie Untersuchungen zur In-vitro-Verfügbarkeit des Digoxin in diesen Zubereitungen beschrieben werden.

Eine Feststoff-Dispersion, bei der der Träger eine zur inkorporierten Substanz synergistische Wirkung hat, ist bis jetzt nur einmal beschrieben worden. Es handelt sich dabei um ein System aus Khellin und Dihydroxypropyltheophyllin (58).

2.2. Verwendete Substanzen

2.2.1. Digoxin



Digoxin ist in Wasser nahezu unlöslich, das Schmelzintervall liegt bei 240 - 255° C (59).

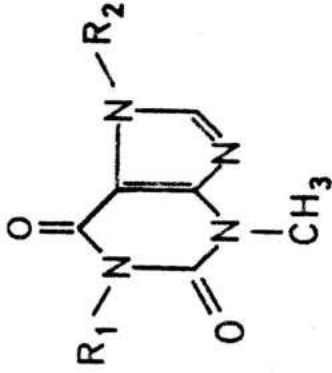
2.2.2. Hydroxyalkylxanthine

Als Trägersubstanzen wurden solche Hydroxyalkylxanthine ausgewählt, die gute Wasserlöslichkeit und einen möglichst niedrigen Schmelzpunkt besitzen.

Außerdem beschränkt sich die Auswahl auf Substanzen, die in Kombination mit Herzglykosiden angewendet werden.

Die Hydroxyalkylxanthine sind in Tab. 2-1 aufgeführt.

Hydroxyalkylxanthine



| Substanz | R ₁ | R ₂ | Schmelzinter- vall - °C - (60) | Wasserlös- lichkeit -g/ml- (60) |
|----------------------------|---|--|--------------------------------------|--|
| Hydroxypropyltheobromin | - CH ₂ - CH - CH ₃ OH | - CH ₃ | 141 - 144 | ca. 1/3 |
| Dihydroxypropyltheophyllin | - CH ₃ | - CH ₂ - CH - CH ₂ OH OH | 160 - 163 | ca. 1/10 |
| Hydroxyäthyltheophyllin | - CH ₃ | - CH ₂ - CH ₂ OH | 161 - 164 | ca. 1/17 |
| Hydroxypropyltheophyllin | - CH ₃ | - CH ₂ - CH - CH ₃ OH | 133 - 136 | ca. 1/1 |

Tab. 2-1

2.3. Herstellung der Feststoff-Dispersionen

Die Feststoff-Dispersionen wurden im Verhältnis 1 + 100 (G/G) - Digoxin/Hydroxyalkylxanthin - hergestellt.

Zu diesem Zweck wurde die Trägersubstanz jeweils im Paraffinbad klar geschmolzen und das gepulverte Digoxin (Sieb 6 - DAB 7) unter Rühren in die Schmelze eingegeben. Es löste sich sofort klar im geschmolzenen Hydroxyalkylxanthin. Zur homogenen Verteilung des Glykosids wurde die klare Schmelze 15 Minuten lang unter kontinuierlichem Rühren auf einer Temperatur gehalten, die nicht höher als 5° C über dem Schmelzintervall des jeweiligen Hydroxyalkylxanthin-Derivates lag. Danach wurde die Schmelze unter beständigem Rühren im Paraffinbad bis zum Erstarren abgekühlt und lag dann bei den Monohydroxyalkylxanthinen als weiße, undurchsichtige, kompakte Masse vor. Anschließend wurde die Feststoff-Dispersion zerkleinert.

Während die Feststoff-Dispersionen mit den Monohydroxyalkylxanthinen beim Abkühlen unterhalb ihrer Erstarrungstemperatur sofort in den festen Zustand übergingen, bildete sich bei Dihydroxypropyltheophyllin unterhalb der Schmelztemperatur von 160° C zunächst eine hochvisköse Schmelze. Diese erstarrte auch bei stärkstem Rühren nicht zu einer festen, undurchsichtigen Dispersion, sondern zu einer transparenten Glasschmelze, die erst

beim Zerkleinern in eine undurchsichtige Feststoff-Dispersion übergang.

Auch mit Hydroxypropyltheophyllin und Hydroxypropyltheobromin ließen sich transparente Glasschmelzen herstellen, und zwar indem die klaren Schmelzen auf eine Glasplatte gegossen und auf $- 8^{\circ}$ C unterkühlt wurden. Die so hergestellten unterkühlten Schmelzen wandelten sich im Laufe der Zeit langsam zu undurchsichtigen Feststoff-Dispersionen um.

Mit Hydroxyäthyltheophyllin ließ sich eine transparente Glasschmelze nicht herstellen.

2.4. Prüfungen der Feststoff-Dispersionen

Zunächst wurde untersucht, ob das in die Hydroxyalkylxanthine inkorporierte Digoxin trotz Hitzebelastung während des Schmelzvorgangs unzersetzt geblieben war. Hierzu bot sich ein dünnschichtchromatografisches Verfahren zur Bestimmung von Herzglykosiden nach STEIN-EGGER und VAN DER WALT an (61). Durch einen Vergleich der Feststoff-Dispersionen mit nicht erhitzten Mischungen gleicher Zusammensetzung zeigte sich nach scharfer Trennung der Substanzen, daß eine Zersetzung des Glykosids nicht eingetreten war.

Weiterhin wurden die Feststoff-Dispersionen auf die homogene Verteilung des Digoxin hin untersucht.

Hierzu wurden jeweils aus einer Gesamtmenge von 10 g sechs Proben gezogen und nach Vorschrift des DAB 7 - DDR (62) auf den Gehalt an Digoxin geprüft. In allen Fällen war das Glykosid homogen in der Matrix verteilt.

In gleicher Weise wurde mit reinen Mischungen entsprechender Zusammensetzung verfahren, die zum Vergleich bei Bestimmungen der Löslichkeitscharakteristika der Feststoff-Dispersionen verwendet wurden.

2.5. Bestimmung der Löslichkeit und
Lösungsgeschwindigkeit

Zur Bestimmung der Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit von Digoxin als Reinsubstanz sowie in Form von reinen Mischungen und Feststoff-Dispersionen mit Hydroxyalkylxanthenen wurde eine modifizierte Auflösungsapparatur nach SOUDER und ELLENBOGEN (63) benutzt.

Die Proben wurden vor den Untersuchungen durch Sieb 6 - DAB 7 gegeben und lagen somit in Korngrößen von unter 160 μ vor.

Die Badtemperatur in der Auflösungsapparatur betrug 37° C; die Umdrehung der Untersuchungsgläser 40 - 50 UpM. Als Prüf Flüssigkeit wurde Phosphatpuffer, pH 6,5 - Ionenkonzentration 1/15 mol. - verwendet.

2.5.1. Bestimmung der Löslichkeit

Untersucht wurden Digoxin als Reinsubstanz sowie reine Mischungen und Feststoff-Dispersionen aus Digoxin und Hydroxypropyltheobromin. Die Proben wurden in Mengen von - bezogen auf Digoxin - 0,25 mg bis 15 mg / ml Lösungsmittel in 4 ml Prüf Flüssigkeit 1 Stunde lang in der Auflösungsapparatur bewegt.

Jede Probe wurde danach sofort durch einen Membranfilter der Porengröße 0,22 μ filtriert.

Der gelöste Anteil an Digoxin jeder Probe wurde spektral-photometrisch nach BALJET (64) in der von KÜSSNER, REIFF und VOIGTLÄNDER angegebenen Modifikation (65) bestimmt.

2.5.2. Bestimmung der Lösungsgeschwindigkeit

Untersucht wurden Digoxin als Reinsubstanz, reine Mischungen und Feststoff-Dispersionen aus Digoxin und Hydroxypropyltheobromin, Hydroxyäthyltheophyllin, Hydroxypropyltheophyllin sowie Feststoff-Dispersionen aus Digoxin und Dihydroxypropyltheophyllin.

Proben von - bezogen auf Digoxin - 0,25 mg / ml

Lösungsmittel wurden jeweils in 4 ml Pufferlösung gegeben (entsprechend 100 mg Dispersion bzw. Mischung / Probe).

In bestimmten Zeitabständen wurde der in den Proben gelöste Anteil an Digoxin nach Filtration durch Membranfilter, Porengröße 0,22 μ , nach der BALJET-Methode bestimmt.

2.5.3. Ergebnis

2.5.3.1. Löslichkeit

Untersuchungen zur Löslichkeit wurden am Beispiel des Hydroxypropyltheobromin durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2-1 und Abbildung 2-1 dargestellt. Es zeigt sich, daß Hydroxypropyltheobromin sowohl bei der reinen Mischung als auch bei der Feststoff-Dispersion mit Digoxin einen lösungsvermittelnden Effekt auf das Glykosid ausübt.

Die Löslichkeit des Digoxin nach einer Schüttelzeit von einer Stunde steigt bei beiden Systemen in Abhängigkeit von der Menge an Hydroxyalkylxanthin linear an, bis die Löslichkeit des Hydroxypropyltheobromin überschritten wird. Eine Löslichkeitserhöhung des Digoxin ist somit bei den beschriebenen Versuchsbedingungen oberhalb einer Vorlage von 1000 mg Hydroxypropyltheobromin, entsprechend 10 mg Digoxin, nicht mehr möglich.

Die Löslichkeit des Digoxin ist bei der Feststoff-Dispersion wesentlich größer als bei der reinen Mischung.

Während bei der Feststoff-Dispersion (Kurve 3) bei Vorlage von 1000 mg Hydroxypropyltheobromin, entsprechend 10 mg Digoxin / ml Lösungsmittel nach 1 Stunde 3,7 mg Digoxin / ml gelöst sind, liegen bei der Mischung (Kurve 2) 1,3 mg / ml und bei der Reinsubstanz (Kurve 1) 0,1 mg / ml gelöst vor.

| Zubereitung | Digoxin-Vorlage-mg / ml- | Digoxin - gelöst | |
|----------------------|--------------------------|------------------|-------|
| | | -mg / ml- | % |
| Reinsubstanz | 0,25 | 0,031 | 12,4 |
| | 1,0 | 0,04 | 4,0 |
| | 2,5 | 0,062 | 2,48 |
| | 5,0 | 0,093 | 1,86 |
| | 10,0 | 0,098 | 0,98 |
| | 15,0 | 0,102 | 0,68 |
| | Mischung | 0,25 | 0,045 |
| 0,5 | | 0,08 | 16,0 |
| 1,0 | | 0,15 | 15,0 |
| 2,5 | | 0,33 | 13,2 |
| 5,0 | | 0,66 | 13,2 |
| 7,5 | | 0,99 | 13,2 |
| 10,0 | | 1,3 | 13,0 |
| Feststoff-Dispersion | 0,25 | 0,235 | 94 |
| | 0,5 | 0,275 | 55 |
| | 0,7 | 0,280 | 40 |
| | 1,0 | 0,405 | 40,5 |
| | 2,5 | 0,955 | 38,2 |
| | 5,0 | 1,90 | 38 |
| | 7,5 | 2,85 | 38 |
| | 10,0 | 3,66 | 36,6 |
| | 12,5 | 3,72 | 29,8 |
| | 15,0 | 3,75 | 25 |

Tab. 2-1: Löslichkeit von Digoxin
als Reinsubstanz, Mischung und Feststoff-
Dispersion mit Hydroxypropyltheobromin
(1 + 100) - Lösungszeit 1 Std.

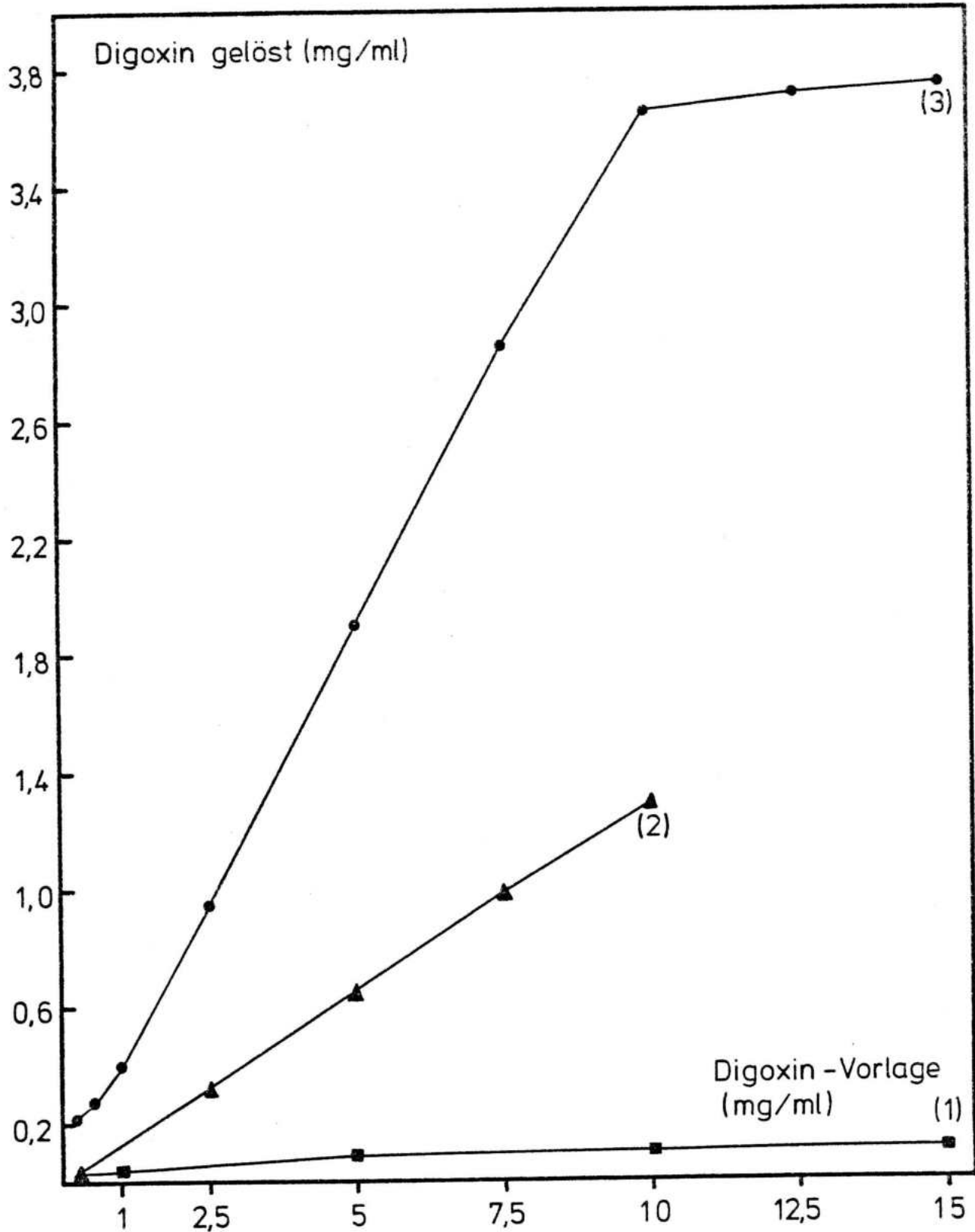


Abb. 2-1: Löslichkeit von Digoxin (mg / ml Lösungsmittel)

- 1 Reinsubstanz - Digoxin
- 2 Mischung - Digoxin + Hydroxypropyltheobromin (1 + 100)
- 3 Feststoff-Dispersion - Digoxin + Hydroxypropyltheobromin (1 + 100)

2.5.3.2. Lösungsgeschwindigkeit

Die Ergebnisse der Bestimmungen der Lösungsgeschwindigkeit sind in Tabelle 2-2 und den Abbildungen 2-2 bis 2-5 dargestellt.

Bei allen untersuchten Hydroxyalkylxanthinen zeigt sich, daß durch Feststoff-Dispersionen die Lösungsgeschwindigkeit gegenüber reinen Mischungen und der Reinsubstanz beträchtlich erhöht ist.

Bei den verwendeten Monohydroxyalkylxanthinen (Abb. 2-2 bis 2-4, Kurve 3) liegt innerhalb der ersten 5 Minuten nach Beginn des Versuchs 100 % des eingesetzten Digoxin gelöst vor. Bei Dihydroxypropyltheophyllin (Abb. 2-5, Kurve 2) lösen sich dagegen höchstens 87 % unter den beschriebenen Versuchsbedingungen.

In Abhängigkeit von der Zeit zeigen die einzelnen Hydroxyalkylxanthine dann unterschiedliches Löslichkeitsverhalten.

Während bei Hydroxypropyltheobromin (Abb. 2-2) und Hydroxyäthyltheophyllin (Abb. 2-3) die 100%ige Löslichkeit des Digoxin über 30 Minuten bestehen bleibt und dann innerhalb von 3 Stunden auf 95 % bzw. 85 % absinkt, fällt bei Hydroxypropyltheophyllin (Abb. 2-4) die Löslichkeit bereits nach 5 Minuten innerhalb von 3 Stunden auf 55 % ab.

Bei Dihydroxypropyltheophyllin (Abb. 2-5) fällt die Löslichkeit von 87 % nach 5 Minuten auf 37 % nach 3 Stunden ab.

Dieser Rückgang erklärt sich durch die zeitabhängige Ausfällung des Digoxin aus den übersättigten Lösungen, die dadurch langsam trübe werden.

Bei Lösungen der Feststoff-Dispersionen mit Hydroxypropyltheobromin und Hydroxyäthyltheophyllin, die durch die nur geringfügige Verminderung der Glykosid-Löslichkeit klar bleiben, konnte unter dem Mikroskop im polarisierten Licht das Auftreten kleinster Kristallite beobachtet werden.

Die Feststoff-Dispersionen wurden nach 1, 6, 12 Monaten bei Lagerung unter verschiedenen Bedingungen nochmals auf die Lösungsgeschwindigkeit hin untersucht. Hierbei zeigte sich kein Hinweis auf Alterungserscheinungen unter normalen Lagerungsbedingungen.

Die Untersuchungen der reinen Mischungen ergaben, daß die Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit des Digoxin durch die verschiedenen Monohydroxyalkylxanthine ziemlich gleichartig beeinflußt werden.

Während die Löslichkeit des Glykosids als Reinsubstanz in Abhängigkeit von der Zeit langsam ansteigt und nach 1 Stunde etwa dieselbe Löslichkeit wie nach 3 Stunden, nämlich ca. 0,03 mg / ml bei einer Vorlage von 0,25 mg / ml vorliegt, ist bei den Mischungen das Maximum der Digoxin-Löslichkeit, ca. 0,035 - 0,05 mg / ml, schon in den ersten Minuten erreicht.

| Digoxin-Zubereitung | Digoxin - gelöst - (in % der Vorlage) nach | | | | | | | |
|----------------------|--|------|------|------|------|------|----------|--|
| | 1 | 5 | 15 | 30 | 60 | 120 | 180 Min. | |
| Reinsubstanz | | 5,2 | 9,6 | 10,4 | 11,6 | 12,4 | 13,5 | |
| Mischung mit H P T B | 13,2 | 13,6 | 14,0 | 14,6 | 18,0 | 20,8 | 22,0 | |
| FSD | 97,9 | 99,5 | 99,8 | 99,6 | 93,0 | 92,2 | 89,0 | |
| Mischung mit H E T P | 15,7 | 16,0 | | 16,2 | 15,9 | 16,0 | 16,0 | |
| FSD | | 99,5 | 98,3 | 97,4 | 90,5 | 84,5 | 84,0 | |
| Mischung mit H P T P | 12,4 | 13,2 | 13,8 | 14,3 | 14,9 | 17,5 | 18,6 | |
| FSD | | 99,8 | 95,1 | 88,9 | 82,0 | 68,0 | 55,3 | |
| FSD mit D P T P | 87,0 | 85,5 | 75,5 | 58,0 | 49,8 | 42,5 | 37,2 | |

Abkürzungen:

- FSD - Feststoff-Dispersion
- H P T B - Hydroxypropyltheobromin
- H E T P - Hydroxyäthyltheophyllin
- H P T P - Hydroxypropyltheophyllin
- D P T P - Dihydroxypropyltheophyllin

Tab. 2-2: Lösungsgeschwindigkeit von Digoxin als Zubereitung mit Hydroxyalkylxanthenen (Mischungsverhältnis = 1 + 100, Vorlage: 0,25 mg Digoxin / ml Lösungsmittel)

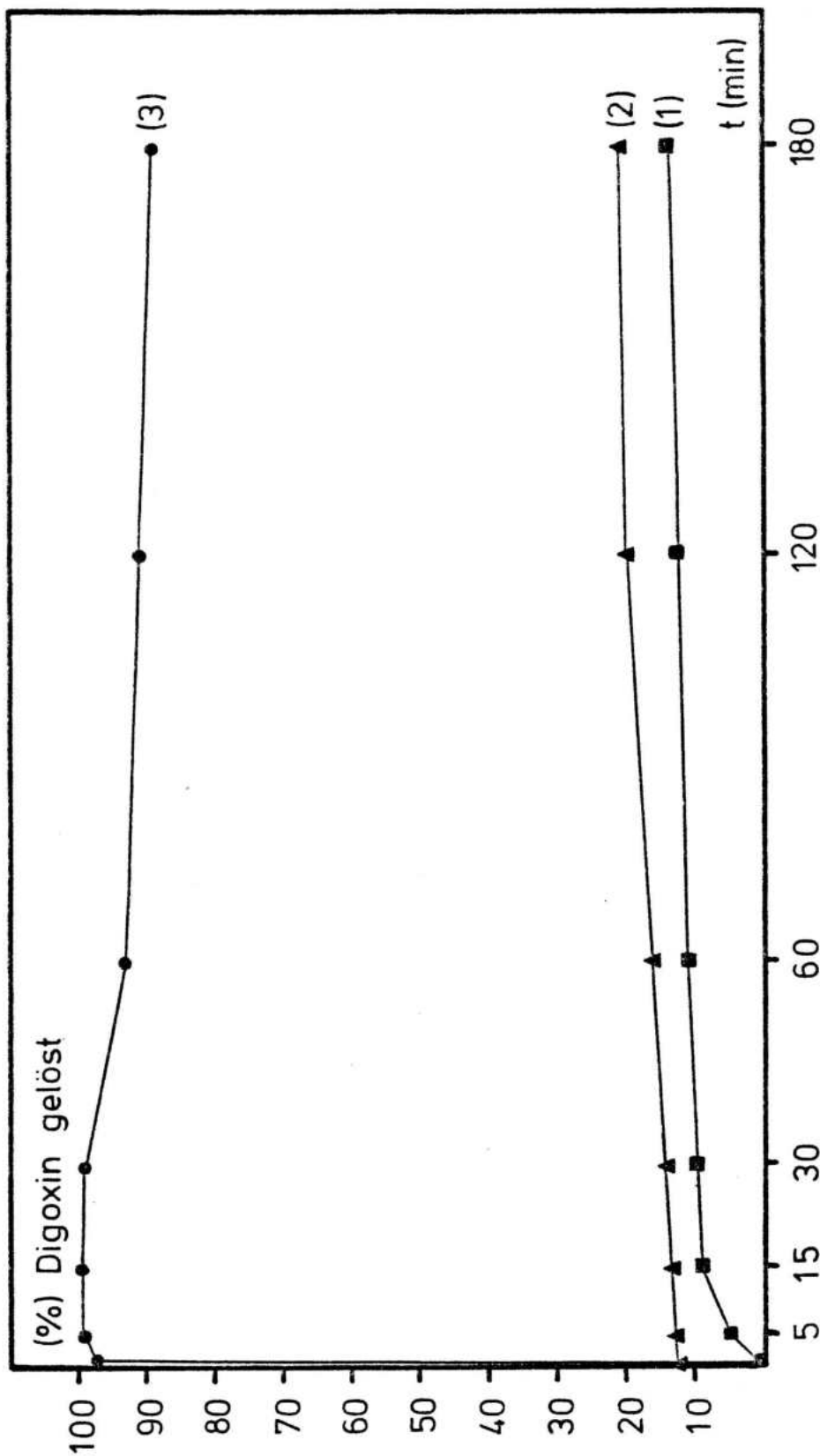


Abb. 2-2: Hydroxypropyltheobromin

Lösungsgeschwindigkeit

von 0,25 mg Digoxin /

ml Lösungsmittel

1 Reinsubstanz - Digoxin

2 Mischung - Digoxin + Hydroxypropyltheobromin (1 + 100)

3 Feststoff-Dispersion - Digoxin + Hydroxypropyltheobromin (1 + 100)

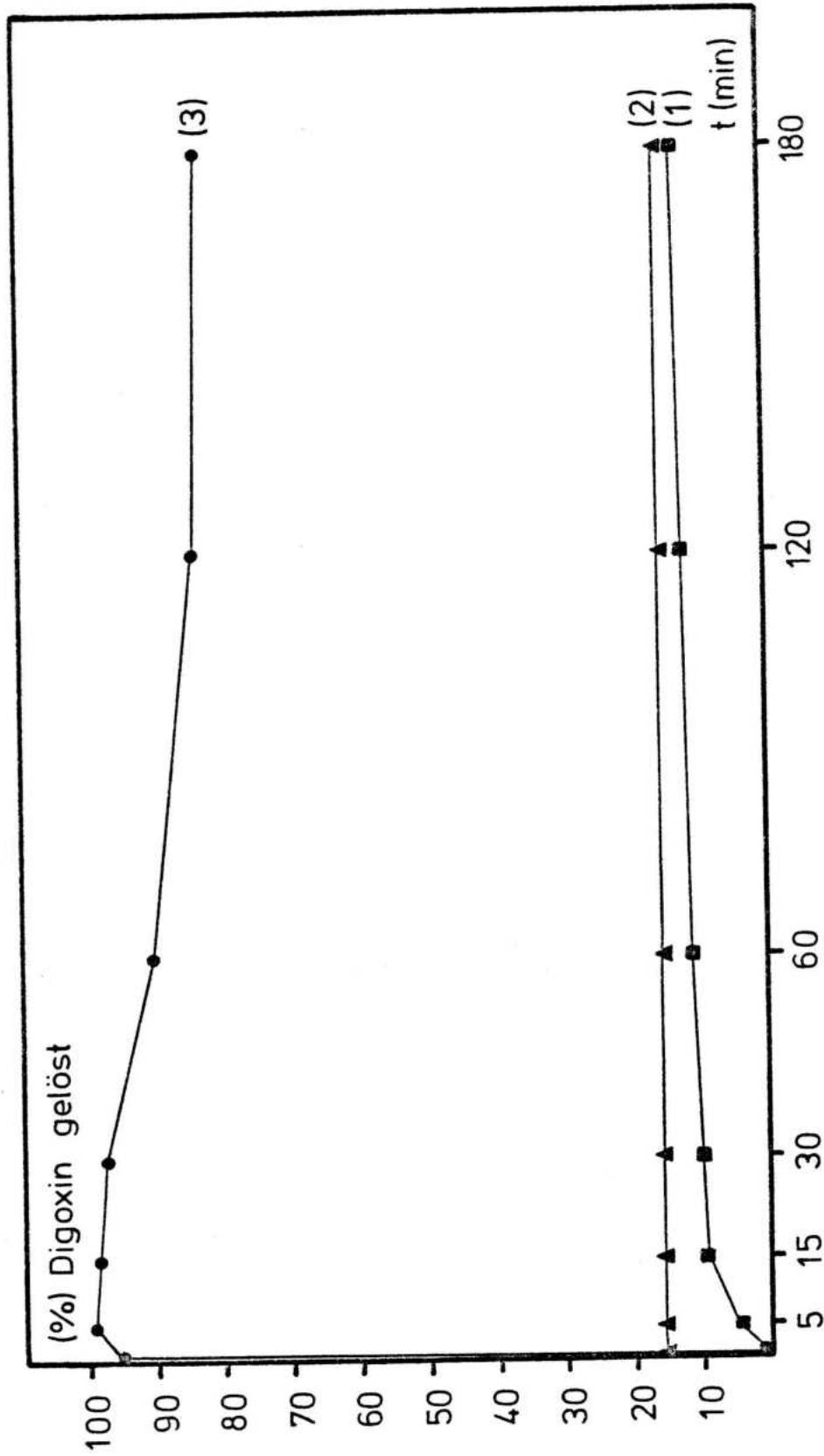


Abb. 2-3: Hydroxyäthyltheophyllin

Lösungsgeschwindigkeit

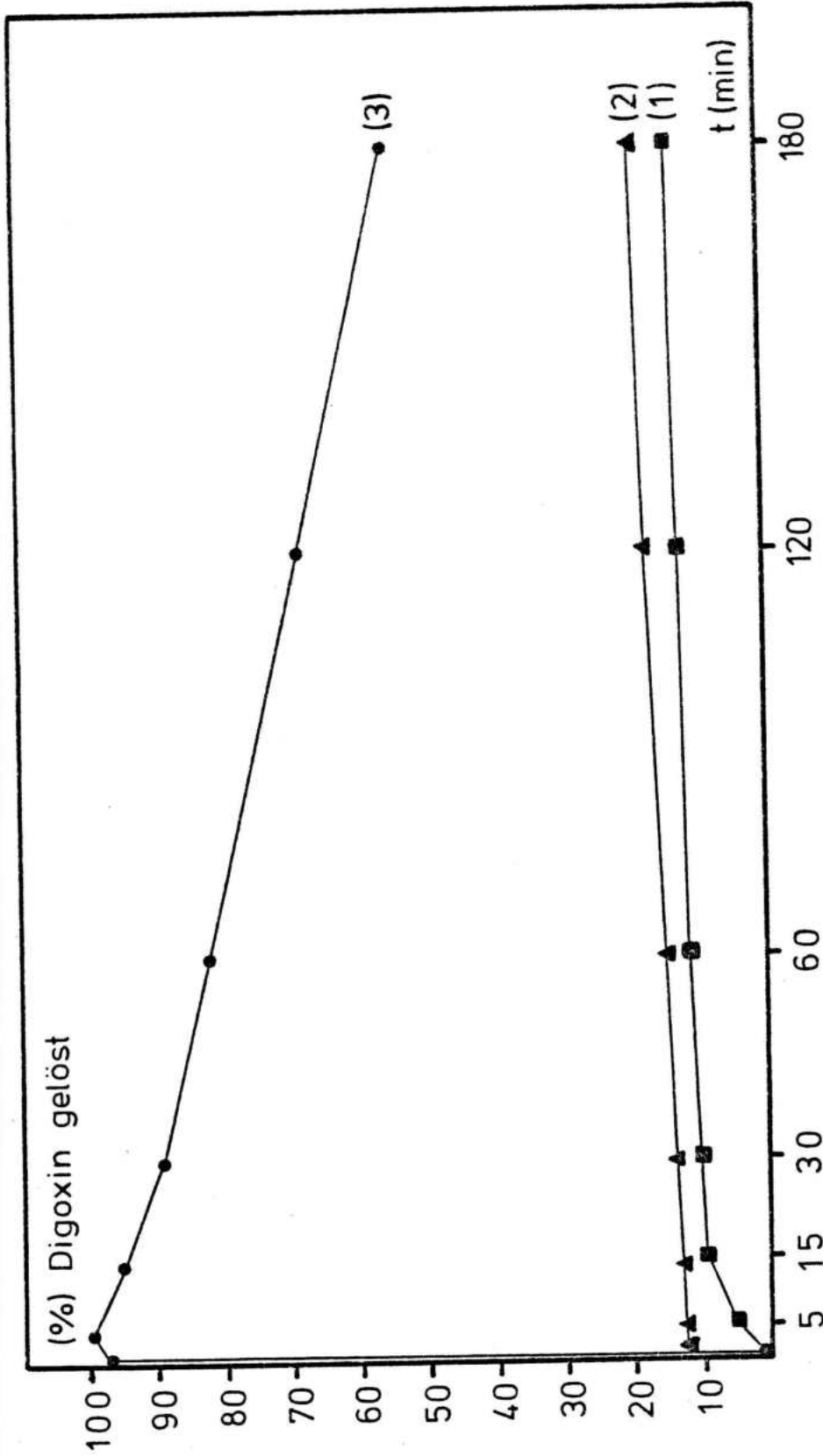
von 0,25 mg Digoxin /

ml Lösungsmittel

1 Reinsubstanz - Digoxin

2 Mischung - Digoxin + Hydroxy-
äthyltheophyllin (1 + 100)

3 Feststoff-Dispersion - Digoxin +
Hydroxyäthyltheophyllin (1 + 100)



- 1 Reinsubstanz - Digoxin
- 2 Mischung - Digoxin + Hydroxypropyltheophyllin (1 + 100)
- 3 Feststoff-Dispersion - Digoxin + Hydroxypropyltheophyllin (1 + 100)

Abb. 2-4: Hydroxypropyltheophyllin
Lösungsgeschwindigkeit
von 0,25 mg Digoxin /
ml Lösungsmittel

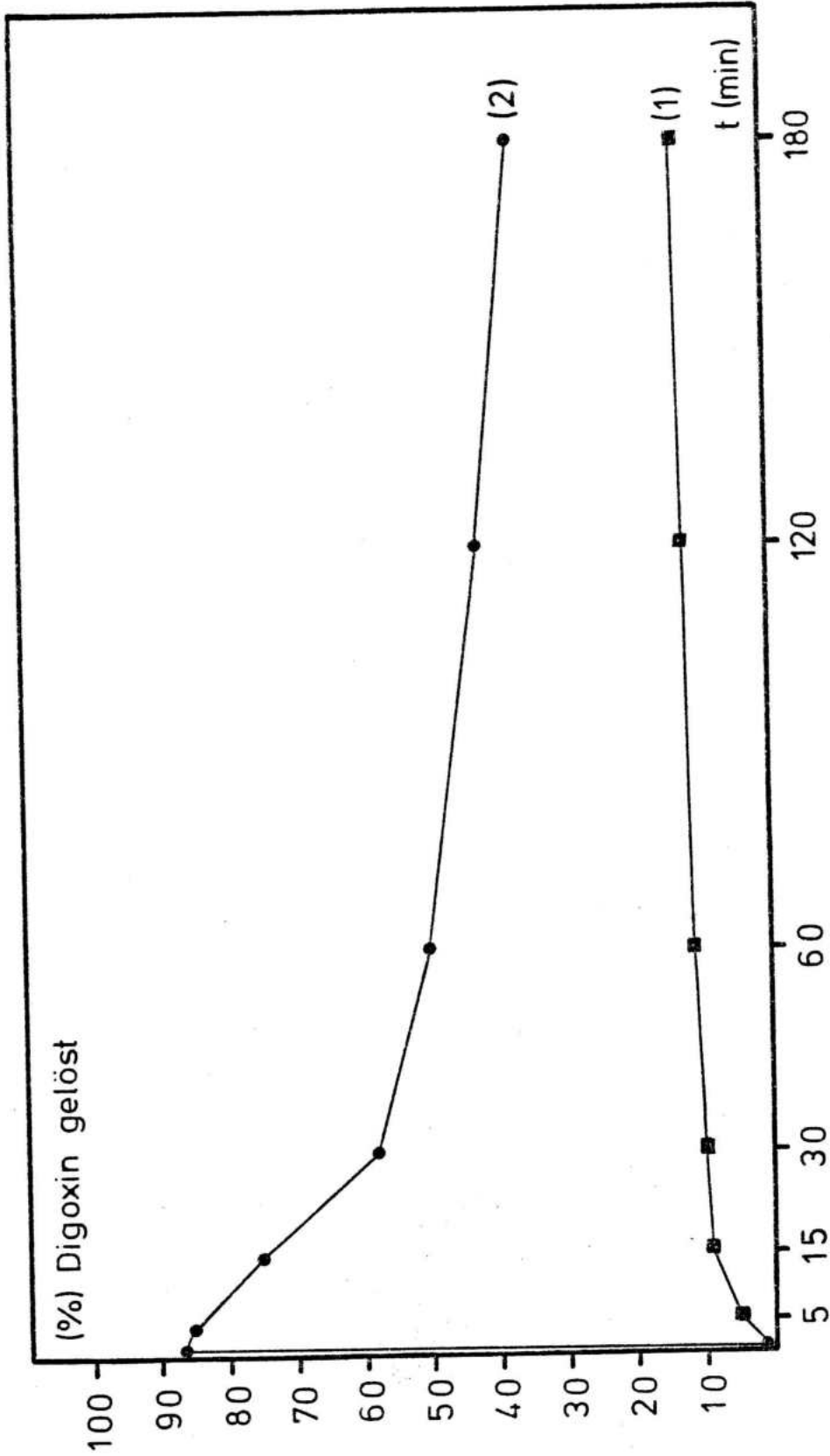


Abb. 2-5: Dihydroxypropyltheophyllin
Lösungsgeschwindigkeit
von 0,25 mg Digoxin /
ml Lösungsmittel

1 Reinsubstanz - Digoxin
2 Feststoff-Dispersion - Digoxin +
Dihydroxypropyltheophyllin
(1 + 100)

2.5.4. Diskussion

Die Fähigkeit von Alkylxanthin-Derivaten, mit den unterschiedlichsten Stoffen wasserlösliche Komplexe bilden zu können, ist seit langem bekannt und für zahlreiche Substanzen beschrieben worden (66 - 68).

Wie die Untersuchungen zum Löslichkeitsverhalten von Zubereitungen aus Digoxin und Hydroxyalkylxanthinen ergeben haben, gehört auch Digoxin zu diesen Substanzen. Die Frage, wodurch diese Solubilisation hervorgerufen wird, soll in einem folgenden Abschnitt aufgrund von Untersuchungen zur Kennzeichnung der Digoxin-Zubereitungen diskutiert werden.

Das bei den Feststoff-Dispersionen im Verhältnis zu den Mischungen nochmals wesentlich verbesserte Löslichkeitsverhalten des Digoxin wird anscheinend durch den sehr hohen Dispersitätsgrad der schwerlöslichen Substanz im wasserlöslichen Träger hervorgerufen. Dieser physikalische Zustand bewirkt die in den Abb. 2-1 bis 2-5 dargestellte Erhöhung der Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit des Digoxin in der Weise, daß die ansonsten schwerlösliche Substanz bei Einbringen in ein wäßriges Milieu sofort gelöst wird.

Die Löslichkeit fällt je nach Art des verwendeten Trägers früher oder später ab.

Die Untersuchungen haben gezeigt, daß von den beschriebenen Systemen die Feststoff-Dispersion mit Hydroxypropyltheobromin aufgrund ihres Lösungsprofils und ihrer Stabilität für eine sinnvolle praktische Anwendung zur Erhöhung der Verfügbarkeit des Digoxin am besten geeignet ist.

2.6. Untersuchungen zur Kennzeichnung von Zubereitungen aus Digoxin und Hydroxypropyltheobromin

2.6.1. IR-Spektroskopische Untersuchungen

Die Löslichkeitserhöhung des Digoxin in wäßrigen Lösungen von Hydroxypropyltheobromin läßt auf eine Wechselwirkung zwischen dem Glykosid und dem Hydroxyalkylxanthin-Derivat schließen. Es könnte sich dabei um intermolekulare Wasserstoff-Brückenbildung oder Dipol-Dipol-Wechselwirkungen handeln, wobei die zur Komplexbildung befähigte aktive Gruppe des Digoxin neben den zahlreichen Hydroxylgruppen des Moleküls im ungesättigten Lacton-Ring des Aglykons zu sehen wäre. Als Bindungspartner könnten die Carbonylgruppen des Hydroxypropyltheobromin fungieren.

Zahlreiche Verfahren werden zur Identifizierung von organischen Komplexen verwendet (Übersicht bei 69). Zur Charakterisierung intermolekularer Wechselwirkungen aufgrund von Wasserstoff-Brücken-Bildung wird außerdem vielfach die Infrarot-Spektroskopie benutzt (70), da Lage und Form der Banden von funktionellen Gruppen, die an solchen Bindungen beteiligt sind, häufig gegenüber der Reinsubstanz verändert sind (71).

Außerdem lassen sich mittels IR-Spektroskopie polymorphe

Zustände einer Substanz nachweisen (72).

Da möglicherweise die im Vergleich zur physikalischen Mischung verbesserte Digoxin-Löslichkeit der Feststoff-Dispersion auf löslichen polymorphen Formen des Glykosids beruhen könnte, bot sich die Methodik auch in dieser Hinsicht an.

Es wurden IR-Spektren von folgenden Substanzen und Zubereitungen als Kaliumbromid-Preßlinge aufgenommen (siehe Abb. 2-6 bis 2-8):

1. Digoxin,
2. Hydroxypropyltheobromin,
3. Feststoff-Dispersion aus 1. und 2. im Verhältnis 1 + 100,
4. Feststoff-Dispersion aus 1. und 2. im Verhältnis 1 + 1,
5. Mischung aus 1. und 2. im Verhältnis 1 + 1.

Die Spektren der Reinsubstanzen stimmen insgesamt mit bekannten IR-Spektren des Digoxin (73) und Hydroxypropyltheobromin (74) überein.

Das Spektrum der Feststoff-Dispersion 1 + 100 ist identisch mit dem des reinen Hydroxypropyltheobromin, da bei ungefähr gleicher Lage der charakteristischen Banden die Digoxin-Peaks beim vorliegenden Mengenverhältnis überlagert werden.

Das Spektrum der Feststoff-Dispersion 1 + 1, die analog zur Zubereitung 1 + 100 hergestellt wurde, und in der ein Teil des Digoxin im Hydroxyalkylxanthin gelöst ist, der größere Anteil des Glykosids aber ungelöst neben dem Xanthin-Derivat vorliegt, stimmt mit dem Spektrum der physikalischen Mischung 1 + 1 überein.

Der Vergleich der Spektren zeigt, daß die charakteristischen Banden der Zubereitungen 1 + 1 im Bereich zwischen 3200 cm^{-1} und 3600 cm^{-1} sowie zwischen 1625 cm^{-1} und 1725 cm^{-1} durch Verschmelzen der entsprechenden Peaks der beiden Reinsubstanzen (Digoxin: $3300 - 3600\text{ cm}^{-1}$, 1725 cm^{-1} ; Hydroxypropyltheobromin: $3200 - 3500\text{ cm}^{-1}$, $1625 - 1725\text{ cm}^{-1}$) entstanden sind. Es läßt sich deshalb keine eindeutige Aussage über für die beschriebenen binären Systeme charakteristische Bindungsverhältnisse machen. Die Tatsache, daß Wasserstoff-Brücken auch schon bei den Reinsubstanzen vorhanden sind, macht es aber wahrscheinlich, daß diesen Bindungen eine wesentliche Rolle bei der Solubilisation des Digoxin zukommt.

Für polymorphe Zustände des Digoxin oder des Hydroxypropyltheobromin in der Feststoff-Dispersion lassen sich in den Spektren keine Hinweise finden; sogar bei dem Xanthin-Derivat treten trotz der bekannten Fähigkeit dieser Substanz, aus Schmelzen in verschiedenen polymorphen Formen zu kristallisieren (75, 76), keine für

diese Zustandsformen charakteristischen Veränderungen des Spektrums auf. Möglicherweise werden ursprünglich vorhandene polymorphe Formen während der Herstellung der Feststoff-Dispersion durch das Zerkleinern oder durch die Verpressung der Zubereitung zu Kaliumbromid-Tabletten wieder in die Ausgangsform zurückverwandelt.

Da die IR-Spektren keine weiteren Interpretationen über den physikalischen Zustand des Digoxin in der Feststoff-Dispersion und damit Hinweise auf den Mechanismus der Solubilisation erlauben, wurden zur weiteren Charakterisierung polarisationsmikroskopische Untersuchungen vorgenommen.

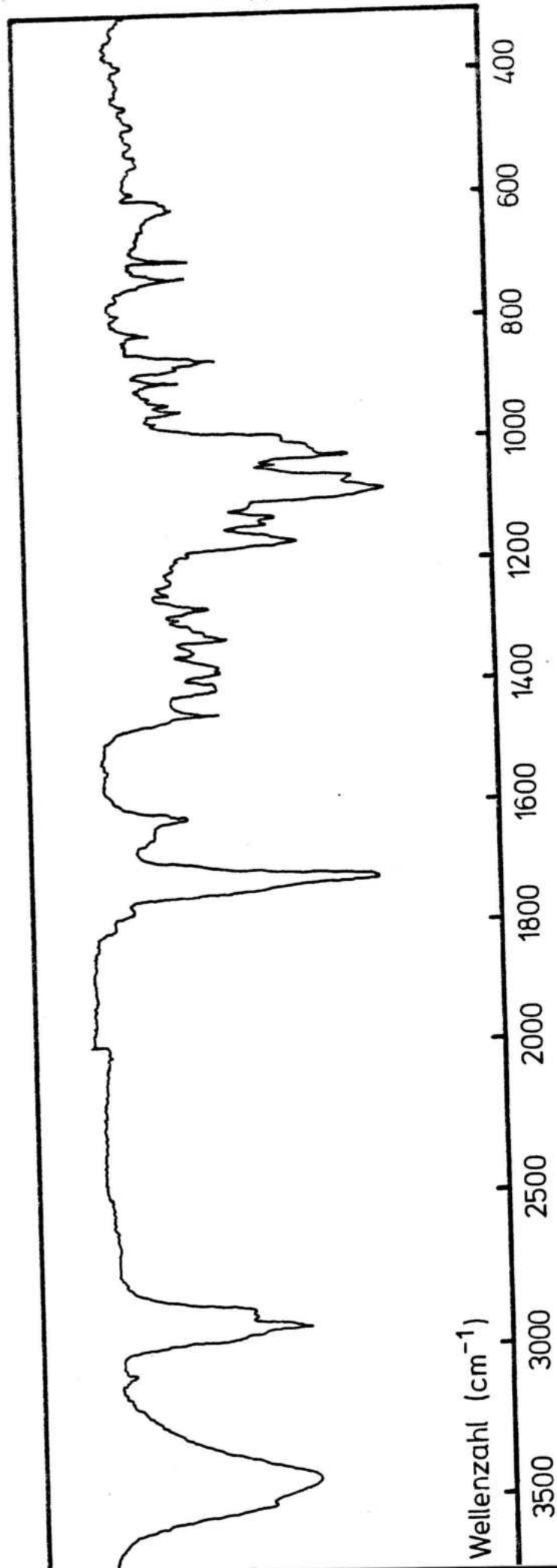


Abb. 2-6: IR-Spektrum von Digoxin

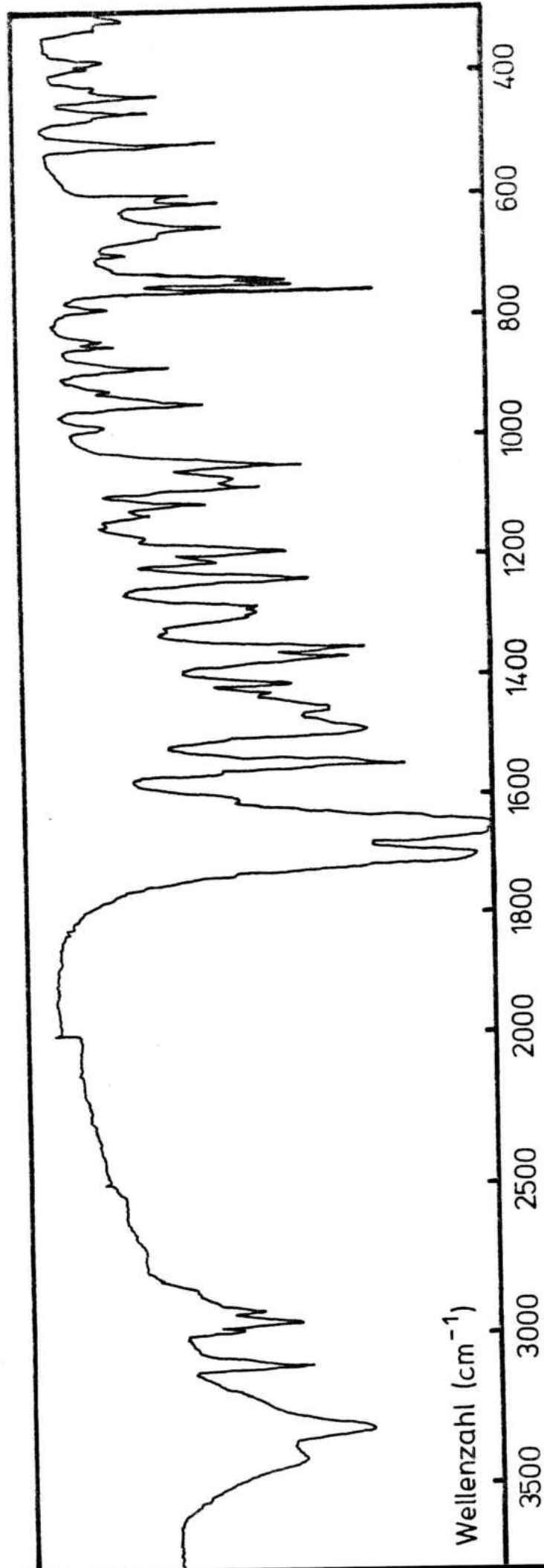


Abb. 2-7: IR-Spektrum von Hydroxypropyltheobromin bzw.
der Feststoff-Dispersion Digoxin/Hydroxypropyltheobromin (1 + 100)

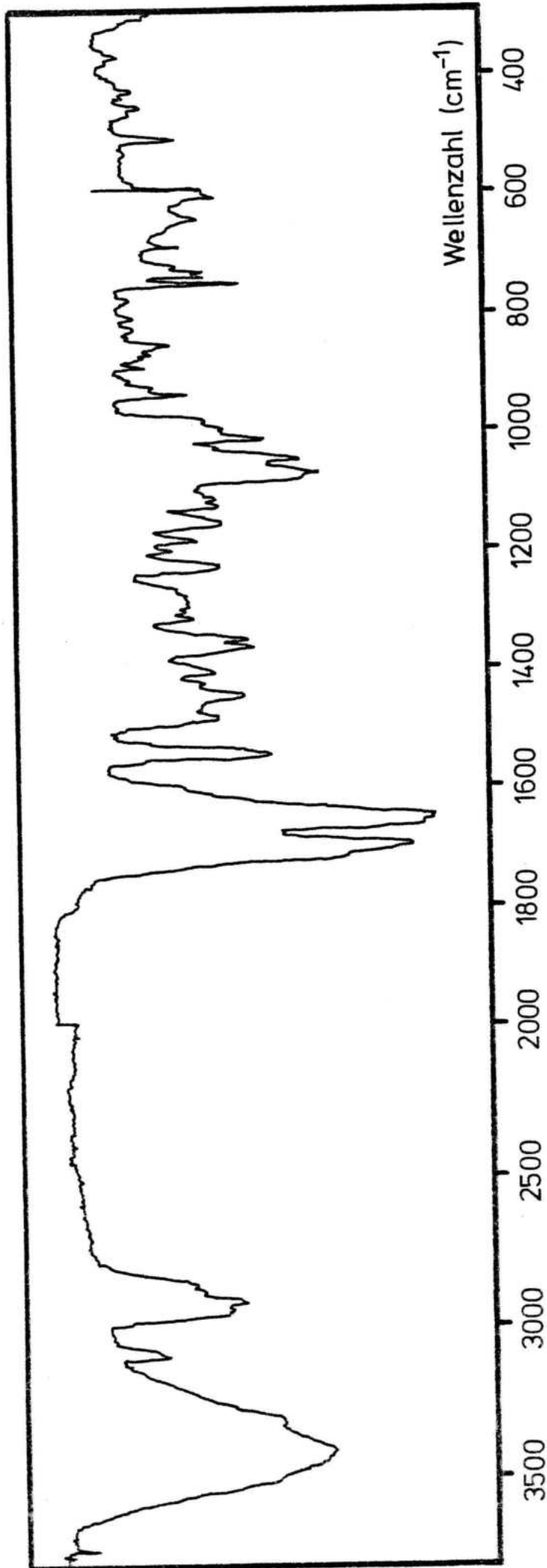


Abb. 2-8: IR-Spektrum der Feststoff-Dispersion bzw.
der Mischung Digoxin/Hydroxypropyltheobromin (1 + 1)

2.6.2. Polarisationsmikroskopische Untersuchungen der Feststoff-Dispersion

Bekanntlich kann die in eine Feststoff-Dispersion inkorporierte Substanz in verschiedenen physikalischen Zuständen vorliegen, z.B. als Mischkristall mit dem Trägerstoff oder in einer Glasschmelze zusammen mit dem Träger in amorphem Zustand. Möglich ist aber auch eine amorphe bis molekulare Verteilung der schwerlöslichen Substanz im kristallinen Träger (45).

Eine Differenzierung zwischen amorphen und kristallinen Zuständen ist mittels polarisiertem Licht möglich.

Amorphe Substanzen sind normalerweise isotrop, d.h. ihre Eigenschaften, z.B. die Lichtbrechung beim Durchstrahlen, sind richtungsunabhängig. Dagegen zeigen kristalline Zustände Anisotropie und somit im Gegensatz zu der amorphen Substanz Doppelbrechung des einfallenden Lichtstrahls. Kristalle leuchten deshalb im Polarisationsmikroskop zwischen gekreuzten Nicols vielfarbig auf, während amorphe Bereiche dunkel bleiben.

Gerade in dem Fall, wo sich bei einem binären System in einem Spektrum die charakteristischen Banden leicht überlagern, bietet sich diese Methodik zur Charakterisierung des physikalischen Zustands an.

Zu diesem Zweck wurde das Verhalten der Feststoff-Dispersion beim Erstarren aus der Schmelze im polarisierten Licht untersucht.

Auf dem Heiztischmikroskop wurde feinstgepulvertes Digoxin in geschmolzenes Hydroxypropyltheobromin gegeben und die Mischung bis zum vollständigen Verschwinden kristalliner Bezirke erhitzt.

Beim Erstarren der Schmelze stellten sich im polarisierten Licht unterschiedliche Bereiche dar.

Digoxinfreie Bezirke wandelten sich unterhalb einer Temperatur von ca. 90° C unmittelbar in farbige Kristalle um. Dagegen setzte in Mischbereichen mit beiden Komponenten eine Kristallisation sehr verzögert ein und schritt nur langsam fort. Noch nach Tagen waren hier neben farbigen Kristall-Bereichen dunkle isotrope Bezirke zu sehen, die dann im Laufe der Zeit von Kristallen überwuchert wurden. Im Gegensatz dazu trat bei reinem Hydroxypropyltheobromin unter identischen Bedingungen sofort vollständige Kristallisation ein.

Dieses Verhalten läßt den Schluß zu, daß sowohl das Glykosid als auch der Teil des Hydroxypropyltheobromin, welcher Digoxin gelöst enthält, zunächst einmal in amorpher Form in der restlichen kristallinen Trägermasse verteilt sein kann, da bei mikrokristalliner Verteilung oder bei Bildung von Mischkristallen die Kristallisation einheitlich und kontinuierlich hätte vor sich gehen müssen; eine molekulare Verteilung ist nach diesen Untersuchungen jedoch nicht auszuschließen.

Es erscheint somit wahrscheinlich, daß der beschriebene Zustand des Digoxin in wäßrigem Milieu eine molekulare oder kolloidale Lösung des Glykosids in Form eines übersättigten Systems bewirkt.

3. Untersuchungen zur In-vivo-Verfügbarkeit
von Digoxin als Feststoff-Dispersion mit
Hydroxypropyltheobromin

3.1. Einleitung und Problemstellung

Die "In-vivo-Verfügbarkeit nach Resorption" eines Arzneistoffs in einer Zubereitung gibt die Geschwindigkeit und das Ausmaß an, mit denen der Wirkstoff in den großen Kreislauf - mit Ausnahme des Pfortaderblutes während der Resorptionsphase - gelangt (modifiziert nach 77).

Die Verfügbarkeit im Sinne dieser Definition hängt bei allen peroral applizierten Arzneisubstanzen von den die In-vitro-Verfügbarkeit bestimmenden Parametern, wie Teilchengröße, Polymorphie und galenischer Zubereitung, ab. Speziell bei schwer wasserlöslichen Wirkstoffen werden Ausmaß und Geschwindigkeit der Resorption aus dem Magen-Darm-Trakt weitgehend durch Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit bestimmt.

Diese Zusammenhänge sind ausführlich in den Kapiteln 1 und 2 behandelt worden.

Bei der Entwicklung neuer Arzneizubereitungen muß es das Bestreben sein, die Ergebnisse von Untersuchungen zur In-vitro-Verfügbarkeit durch In-vivo-Versuche zu bestätigen.

Die im In-vitro-Versuch ermittelten Löslichkeitscharakteristika des Digoxin in Form der Feststoff-Dispersion mit Hydroxypropyltheobromin (1 + 100) ließen den Schluß zu, daß das Glykosid bei Applikation dieser Zubereitung auch in vivo unmittelbar, gleichmäßig und mit einer hohen Freigaberate gelöst wird und damit die Voraussetzung für eine gute und reproduzierbare In-vivo-Verfügbarkeit bietet.

Solche In-vivo-Untersuchungen werden im folgenden Kapitel am Beispiel der Ratte dargestellt.

3.2. Tiermodell

Die Mehrzahl der bekannten vergleichenden Untersuchungen zur In-vivo-Verfügbarkeit von Digoxin-Zubereitungen mit unterschiedlicher Glykosid-Löslichkeit sind am Menschen vorgenommen worden (19, 29, 78, 79, Übersichtsartikel: 17, 18, 20). Bei der Neuentwicklung einer Darreichungsform muß jedoch häufig, speziell in der ersten Entwicklungsphase, auf das Tiermodell zurückgegriffen werden. Hierbei muß das Modell einen Vergleich mit menschlichen Verhältnissen zulassen, wenn auch Korrelationen zwischen verschiedenen Spezies nur begrenzt möglich sind. Vor allem sollen Parameter, die die In-vivo-Verfügbarkeit beeinflussen, beim Tier ähnlich wie beim Menschen deutlich werden.

So wurden z.B. nach Applikation von Digoxin-Zubereitungen unterschiedlicher Löslichkeit beim Hund entsprechende Unterschiede des Digoxin-Serum-Spiegels beobachtet (MEROTTI et al., 40). STUPAK und BATES berichteten über signifikante Unterschiede der LD 50 bei Ratten nach Gabe von Digitoxin-Zubereitungen entsprechender Löslichkeit (48).

Bei dem System Digoxin/Hydroxypropyltheobromin sind solche vergleichenden Bestimmungen der Toxizität aufgrund der bekannten Digitalis-Resistenz der Ratte (80) nicht möglich, da bei dem Konzentrationsverhältnis der Feststoff-Dispersion (100 + 1) die Eigenwirkung des Xanthin-Derivates mit der des Digoxin interferiert - LD 50 bei

der Ratte nach intraperitonealer Applikation:

Digoxin: ca. 10 mg / kg (81),

Hydroxypropyltheobromin: 612 ± 33 mg / kg (82).

Da die Ratte von den zu Versuchszwecken üblicherweise verwendeten Kleintieren unabhängig von ihrer relativen Unempfindlichkeit gegenüber Herzglykosiden dem Menschen in Bezug auf Pharmakokinetik und Metabolismus der Glykoside am meisten ähnelt (vgl. 83), wurden die Untersuchungen zur In-vivo-Verfügbarkeit an der Ratte vorgenommen, und zwar durch Vergleich der Digoxin-Konzentration in Blut und Urin nach Applikation der Feststoff-Dispersion und verschiedener Standardzubereitungen.

Als Tiermaterial dienten männliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht von 150 bis 170 g.

Die Tiere wurden nach streng zufälliger Zuteilung - randomization - (84) auf Gruppen zu 5 bis 7 Tieren aufgeteilt und in Einzelkäfigen gehalten.

Um etwa gleiche Verhältnisse im Gastro-Intestinal-Trakt der Versuchstiere zu schaffen und die Resorption durch Speisebrei nicht negativ zu beeinflussen, wurde den Tieren 16 Stunden vor der Applikation bis 5 Stunden danach kein festes Futter, jedoch Wasser nach Belieben zugeteilt.

3.3. Verwendete Substanzen

3.3.1. ³H-Digoxin

Die Bestimmung der Digoxin-Konzentration in Blut und Urin erfolgte durch Aktivitätsmessungen nach Gabe von ³H-Digoxin.

Zu diesem Zweck mußte zunächst ein Digoxin mittlerer Aktivität aus hochaktivem ³H-Digoxin und nicht markierter Substanz hergestellt werden.

Dieses Produkt diente als Ausgangssubstanz für die markierte Feststoff-Dispersion und als Standardsubstanz zur Bestimmung der In-vivo-Verfügbarkeit.

Zur Herstellung des Digoxin mittlerer Aktivität wurden 50 mg nicht markierten Digoxins (Merck) in einer Äthanol-Benzol-Mischung (9:1 - ml / ml) gelöst und mit 0,81 mg Digoxin [³H(G)], Gesamtaktivität 4,46 mCi (NEN) in 5 ml der gleichen Mischung versetzt. Das ³H-Digoxin war durch katalytischen Austausch mit Tritium-Wasser hergestellt und mittels Säulen-Verteilungs-Chromatographie gereinigt worden; die radiochemische Reinheit betrug 97 %. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abdestilliert, der Rückstand getrocknet, zerkleinert und quantitativ bzw. qualitativ untersucht.

Durch Impulszählung im Szintillationszähler wurde eine Aktivität von 89,2 μ Ci / mg Digoxin ermittelt.

Zur Bestimmung der radiochemischen Reinheit des Produkts wurden Radiochromatogramme erstellt und mit einem unter identischen Bedingungen gewonnenen Radiochromatogramm der aktiven Ausgangssubstanz verglichen. Es zeigte sich, daß die Hitzebelastung während Destillation und Trocknung nicht zu aktiven Zersetzungsprodukten geführt hatte (Abb. 3-1).

3.3.2. Feststoff-Dispersion

Die Feststoff-Dispersion wurde im Verhältnis 1 + 100 aus markiertem Digoxin und Hydroxypropyltheobromin nach der beschriebenen Schmelzmethode hergestellt. Anschließend wurde die Zubereitung auf Homogenität und Reinheit untersucht.

Zur Bestimmung der Homogenität wurden Proben des Produktes spektralphotometrisch nach BALJET und im Szintillationsmesser durch Impulszählung untersucht; den Ergebnissen zufolge war das ^3H -Digoxin homogen in der Träger-substanz verteilt.

Außerdem mußte untersucht werden, ob durch die Hitzebelastung beim Schmelzvorgang ein Tritiumaustausch zwischen Digoxin und Hydroxypropyltheobromin stattgefunden hatte. Hierzu wurden Radiochromatogramme erstellt und die Lage

des Hydroxyalkylxanthin-Derivates im UV-Licht, die des Digoxin durch Ansprühen mit dem beschriebenen Antimon(III)-chlorid-Sprühreagenz bestimmt. Anschließend wurde die Verteilung der Radioaktivität mit einem Radiochromatogramm-Scanner ermittelt.

Wie aus Abb. 3-2 ersichtlich, war nur an der Stelle des Digoxin-Flecks Aktivität zu finden. Ein Tritiumaustausch hatte demnach nicht stattgefunden.

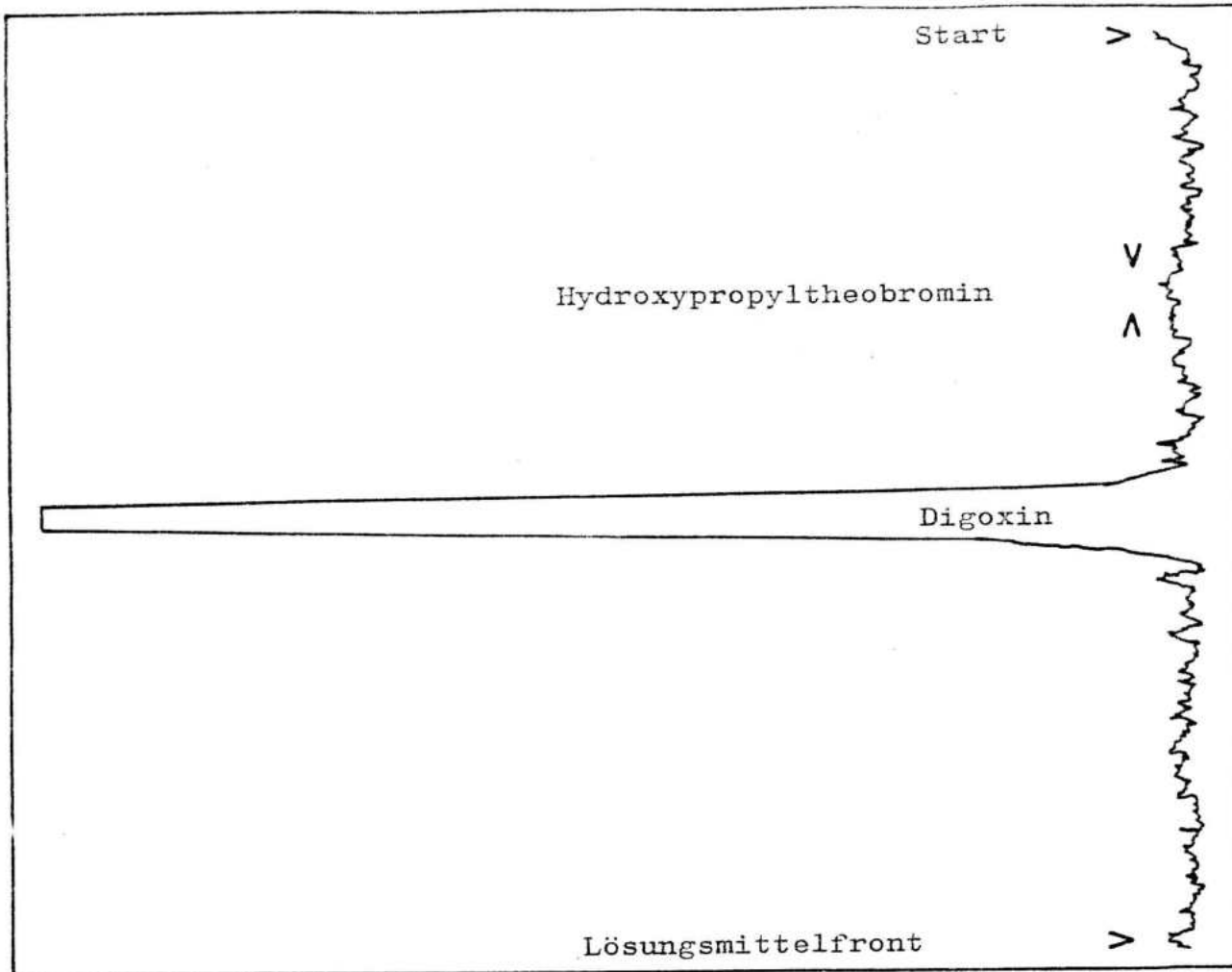


Abb. 3-2: Radiochromatogramm der Feststoff-Dispersion ^3H -Digoxin/Hydroxypropyltheobromin (1 + 100)

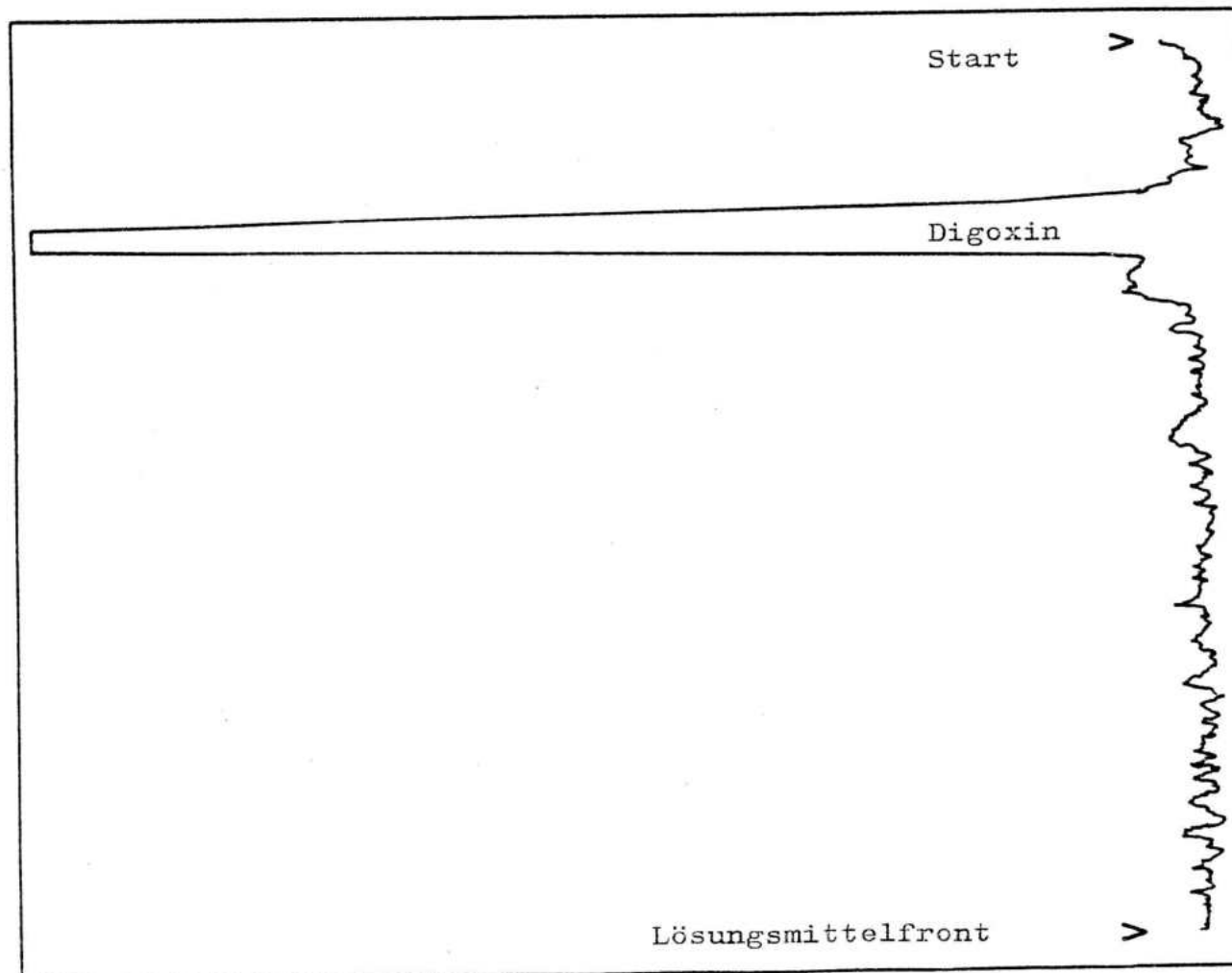


Abb. 3-1: Radiochromatogramm von Digoxin $^3\text{H}(\text{G})$ - (NEN), verdünnt mit Digoxin (Merck)

3.4. Tierversuche

3.4.1. Methodik zur Bestimmung der In-vivo-Verfügbarkeit

Man unterscheidet bei der In-vivo-Verfügbarkeit Absolute und Relative Verfügbarkeit.

Zur Bestimmung der Absoluten In-vivo-Verfügbarkeit wird die zu testende Darreichungsform mit einer intravenös gegebenen Standardzubereitung verglichen, für die Relative Verfügbarkeit wird eine beliebige andere Darreichungsform gewählt.

Nach intravenöser Applikation erhält man bei der Ratte nur dann eindeutig reproduzierbare Ergebnisse, wenn einer der größeren Venenstämme, z.B. die V. jugularis, kanüliert wird, da bei Injektion in feinere Venen, z.B. die Schwanzvene, die Gefahr besteht, anstatt ins Gefäß in das circumvasale Gewebe zu applizieren.

Außerdem erscheint es sinnvoll, bei Testung einer Zubereitung zur peroralen Applikation mit Standards, die auf demselben Applikationsweg verabreicht werden, zu vergleichen. Aus diesen Gründen wurde die Relative In-vivo-Verfügbarkeit mit peroralen Standardzubereitungen bestimmt.

Je nach Natur der zu untersuchenden Arzneisubstanz werden als Vergleichs-Zubereitungen üblicherweise wäßrige oder äthanolische Lösungen oder standardisierte Suspensionen des Arzneistoffs verwendet.

Im letzteren Fall dienen als Suspensionsmittel hauptsächlich leicht visköse Lösungen von Cellulose-Derivaten, z.B. Methylcellulose-Lösungen, die in Konzentrationen unter 1 % die inkorporierte Wirksubstanz für eine ausreichende Dosierungsgenauigkeit genügend homogen suspendiert halten und die Resorption aufgrund der niedrigen Viskosität nicht nennenswert beeinflussen können.

Zur Verdeutlichung des durch den physikalischen Zustand des Digoxin in der Feststoff-Dispersion erzielten Effekts wurden als Vergleich verschiedene Standardzubereitungen verwendet:

1. eine Suspension von feinst gepulvertem Digoxin in 0,5 %iger wäßriger Methylcellulose-Lösung (0,25 mg / ml),
2. eine Lösung von Digoxin in einer Mischung aus Äthanol-96%- und Wasser (1 + 2 - ml / ml) in gleicher Konzentration.

Somit konnten Unterschiede der In-vivo-Verfügbarkeit des Digoxin als Feststoff-Dispersion im Vergleich zu Darreichungsformen, in denen das Glykosid in fester bzw. in gelöster Form vorlag, dargestellt werden. Solche durch die Arzneiform bedingten Unterschiede könnten jedoch auch durch einen Einfluß des gleichzeitig applizierten Hydroxyalkylxanthin-Derivats auf die Digoxin-Pharmakokinetik vorgetäuscht werden. Während solche Interaktionen der beiden Substanzen beim Menschen nicht auftreten (85), konnte dies für die Ratte noch nicht nachgewiesen werden.

Aus diesem Grund wurde eine Standardzubereitung mit dem Digoxin/Hydroxypropyltheobromin-Gewichtsverhältnis der Feststoff-Dispersion appliziert, nämlich

3. eine Suspension von feinstgepulvertem Digoxin in 0,5 %iger wäßriger Methylcellulose-Lösung (0,25 mg / ml) mit 25 mg Hydroxypropyltheobromin-Zusatz / ml.

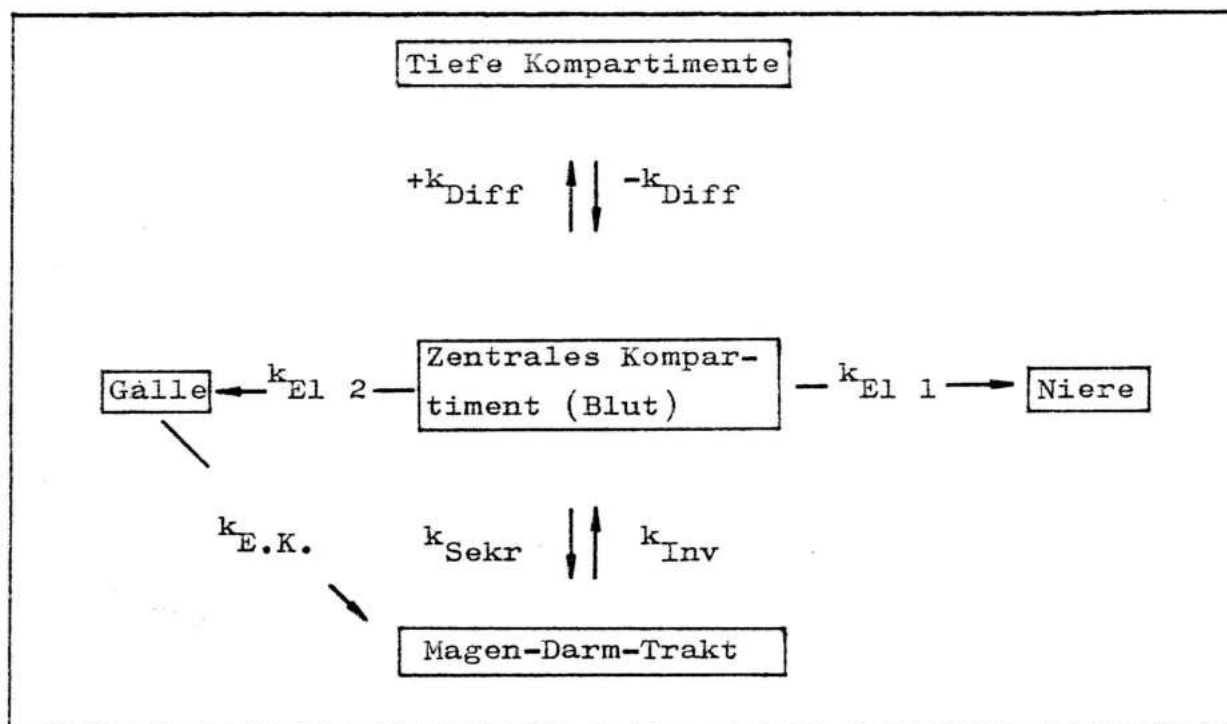
Die Berechnung der In-vivo-Verfügbarkeit aufgrund von Blutspiegelwerten erfolgt im allgemeinen durch Vergleich der Flächen unter den Blutspiegelkurven. Dies ist bei Beachtung des "Gesetzes der korrespondierenden Flächen" von DOST (86) möglich, wobei die Fläche "s" unter der Blutspiegelkurve direkt proportional zu der im Blut erscheinenden Dosismenge a, umgekehrt proportional zur Eliminationskonstante k_{E1} und unabhängig von der Applikationsart ist.

$$s = \frac{a}{k_{E1}}$$

Voraussetzung für die Anwendbarkeit des Gesetzes bei peroraler Applikation ist, daß die Substanz schnell und vollständig resorbiert wird und sich schnell ein Verteilungsgleichgewicht (steady state) einstellt (86).

Wegen des ausgeprägten enterohepatischen Kreislaufs von Digoxin bei der Ratte (87 - 89) sind diese Voraussetzungen hier jedoch nicht gegeben. Die Halbwertszeit der Radioaktivität nach Gabe von ^3H -Digoxin beträgt in der Ratten-Galle 22 Stunden (89). Daraus folgt, daß die Substanz noch Tage nach der Applikation über den enterohepatischen Kreislauf zwischen Blut-Leber-Galle-Darm-Blut zirkuliert. Zusätzlich tritt bei der Ratte eine Gleichgewichtseinstellung zwischen intra- und extravasalen Kompartimenten nur sehr langsam ein (87), und das Glykosid wird außer über die Gallenwege und die Niere zusätzlich direkt über die Darmmucosa in Umkehrung der Resorptions-Diffusion ausgeschieden (87).

Wie das folgende Schema (Schema 3-1) verdeutlicht, ist die Einstellung des Radioaktivitätsblutspiegels nach Gabe von ^3H -Digoxin von einer Vielzahl sich gegenseitig beeinflussender kinetischer Parameter abhängig, so daß der Flächenvergleich zur Bestimmung der In-vivo-Verfügbarkeit ausscheidet.



Schema 3-1: Pharmakokinetik von Digoxin und seinen Metaboliten bei der Ratte

Geschwindigkeitskonstanten:

- | | |
|------|--|
| Inv | - Invasion aus dem Magen-Darm-Trakt |
| Diff | - Diffusion in und aus tiefe(n) Kompartimente(n) |
| El 1 | - Elimination in die Niere |
| El 2 | - Elimination in die Galle |
| Sekr | - Sekretion in den Darm |
| E.K. | - Enterohepatischer Kreislauf |

Eine zweite Bestimmungsmöglichkeit liegt in der Messung der Radioaktivitätsabnahme im Magen-Darm-Trakt (88, 90).

Um hiermit bei einem Vergleich von Digoxin-Zubereitungen unterschiedlicher In-vitro-Verfügbarkeit zu einem eindeutigen Ergebnis zu kommen, muß bei der Ratte eine Gallenfistel angelegt werden, um den enterohepatischen

Kreislauf auszuschalten, da sonst ein Großteil des resorbierten Digoxin nach einiger Zeit über die Gallenwege wieder in den Darm ausgeschieden wird. So fanden sich nach intraduodener Applikation von ^3H -Digoxin innerhalb der ersten 4 Stunden in der Ratten-Galle 23 % der applizierten Dosis (91). Dies würde bei dem Vergleich Digoxin-Feststoff-Dispersion, -Lösung, -Suspension bedeuten, daß von der Darreichungsform mit der besseren In-vitro-Verfügbarkeit entsprechend schneller als von den Zubereitungen mit geringerer Digoxin-Löslichkeit ein Teil über den enterohepatischen Kreislauf wieder in den Darm gelangt. Da zwischen noch nicht resorbierter und schon wieder ausgeschiedener Substanz nicht zu differenzieren ist - ca. 62 % der biliären Aktivität der ersten 4 Stunden bestehen aus unverändertem Digoxin (91) -, wird der Aktivitätsunterschied im Magen-Darm-Trakt beim Vergleich von Zubereitungen unterschiedlicher Digoxin-Löslichkeit sehr schnell nivelliert werden. Aufgrund der unphysiologischen Belastung der Versuchstiere durch eine Gallenfistel und einer möglichen Beeinflussung der Digoxin-Pharmakokinetik durch ein für den Eingriff erforderliches Betäubungsmittel, wurde auch diese Methodik nicht angewandt.

Vielmehr wurden zur Bestimmung der In-vivo-Verfügbarkeit des Digoxin nach Gabe der Feststoff-Dispersion folgende Parameter herangezogen:

1. Qualitativer Vergleich hinsichtlich Ausmaß
und Zeit der Maximalkonzentrationen mit den
Standardzubereitungen

Die Bestimmung der In-vivo-Verfügbarkeit aufgrund der Maximalkonzentrationen im Blut ist nur in Verbindung mit anderen Bestimmungsparametern, z.B. der kumulativen Harnausscheidungsrate, zulässig, da Ausmaß und Zeit der Maximalkonzentration sehr leicht zu beeinflussen sind, z.B. durch den Füllungszustand des Magen-Darm-Traktes (92).

Unter den standardisierten Bedingungen der beschriebenen Versuche lassen sich aber, vor allem in Zusammenhang mit den anderen Bestimmungsmethoden, interessante Aussagen zur Relation der Resorption zwischen den verschiedenen Zubereitungen machen.

Zusätzlich könnten Ausmaß und Zeit der Maximalkonzentrationen durch den enterohepatischen Kreislauf insofern beeinflusst werden, als eine hohe Digoxin-Resorptionsrate über diesen Kreislauf die Aktivität im Blut aufschaukelt und dadurch eine zu hohe und zu lange andauernde Maximalkonzentration bewirkt.

In Bezug auf das Ausmaß der Maxima scheint dies aber nicht der Fall zu sein, da aus Untersuchungen von BUCHTELA und Mitarbeitern (90) hervorgeht, daß nach peroraler Applikation von ^3H -Digoxin an Ratten die Radioaktivität im

Darm bis über die erste Stunde hinaus linear abfällt, daß also in dieser Zeit, in der bei den vorliegenden Untersuchungen die Blutspiegelmaxima erreicht werden, nur resorbiert, aber nicht in den Darm ausgeschieden wird.

Die Zeit der Maximalkonzentration kann dagegen durchaus beeinflußt werden, so daß die Maxima bei einer optimalen Digoxin-Resorption lange konstant bleiben, also ein Plateau bilden.

2. Vergleich von Invasion und Elimination des Digoxin nach Gabe der verschiedenen Zubereitungen

Die Form der Blutspiegelkurve nach peroraler Applikation ist von einer Vielzahl gleichzeitig ablaufender Vorgänge abhängig, wovon die Geschwindigkeiten, mit denen Invasion und Elimination vor sich gehen, die primär bestimmenden Faktoren sind.

Im Idealfall, d.h. bei schneller und vollständiger Resorption aus dem Magen-Darm-Trakt (vgl. 86), entspricht die Blutspiegelkurve der BATEMAN-Funktion (93), die sich folgendermaßen darstellen läßt:

$$c = \frac{c_o \cdot k_{Inv}}{k_{Inv} - k_{El}} \cdot (e^{-k_{El} \cdot t} - e^{-k_{Inv} \cdot t})$$

c = Blutspiegel zur Zeit t
 c_o = Anfangsblutspiegel
 k_{Inv} = Invasionskonstante
 k_{El} = Eliminationskonstante

Unter Idealbedingungen gestattet diese Funktion quantitative Aussagen über die zu jedem beliebigen Zeitpunkt im Blut vorliegende Substanzkonzentration.

Wie aus Schema 3-1 hervorgeht, werden Invasion und Elimination beim System Digoxin/Ratte wesentlich von den übrigen kinetischen Parametern, speziell der Rückresorption über den enterohepatischen Kreislauf und der Sekretion in den Darm, beeinflusst, deren Auswirkungen mittels der Blutspiegelwerte hinsichtlich ihres Ausmaßes nicht quantitativ zu differenzieren sind.

Unter Berücksichtigung dieser Interdependenzen ist bei dem beschriebenen System ein Vergleich der pharmakokinetischen Parameter in qualitativer Hinsicht sinnvoll, da zu beobachtende Unterschiede primär Löslichkeitsbedingt sind.

2.1. Invasion

Die Invasionskonstante k_{Inv} beschreibt bei peroraler Applikation den zeitlichen Ablauf der Resorption des Pharmakons aus dem Magen-Darm-Trakt.

Außer von den erwähnten kinetischen Parametern (s. Schema 3-1) wird sie beeinflusst von physiologischen Faktoren, wie Magen-Darm-Motilität, Verweildauer der Arzneiform in bestimmten Darmabschnitten, Unterschieden der Resorptionskapazität verschiedener Darmbereiche, und von

der galenischen Beschaffenheit der applizierten Arzneiform, wobei Freigabe- und Löslichkeitscharakteristik besonders bei schwerlöslichen Substanzen eine wesentliche Rolle spielen.

Beim Tiermodell Ratte wird die Resorption des Digoxin überlagert von gleichzeitiger Ausscheidung in den Darm über den enterohepatischen Kreislauf und die Sekretion durch die Darmwand. Der letztgenannte Faktor ruft die biphasische Digoxin-Resorption der Ratte (87) hervor; es können hier nämlich zwei aufeinanderfolgende Invasionskonstanten bestimmt werden, weil der Nettotransport ins Blut durch die gegenläufige Sekretion im Laufe der Zeit immer kleiner wird (87). Außerdem haben die einzelnen Darmabschnitte unterschiedliche Resorptionskapazitäten (87); aus diesen Gründen kann man bei einer Invasionskonstante, die aus den Blutspiegelwerten ermittelt wird, nur von einer "scheinbaren Invasionskonstanten" sprechen, die nur zum qualitativen Vergleich der verschiedenen Arzneiformen herangezogen werden kann.

Die Invasionskonstante k_{Inv}

$$\frac{dy}{dt} = k_{Inv} \cdot y_0 \quad - 1 -$$

läßt sich graphisch mittels der Differenzwertbestimmung (back-projection) ermitteln (94).

Hierzu wird in der semilogarithmischen Darstellung der lineare absteigende Teil der Blutspiegelkurve zur Ordinate extrapoliert. Die Werte der tatsächlichen Konzentrationspunkte des aufsteigenden Astes werden von den entsprechenden Werten der extrapolierten Gerade subtrahiert (Differenzwertbestimmung). Die Steigung der von den Differenzwerten gebildeten Gerade entspricht der Invasionskonstanten.

Aus der Invasionskonstanten läßt sich die Invasionshalbwertszeit t_{50} , die Zeitspanne, in welcher der Blutspiegel y_0 jeweils auf das Doppelte des betrachteten Wertes ansteigt, direkt berechnen:

$$t_{50} = \frac{\ln 2}{k_{\text{Inv}}} \quad - 2 -$$

wobei diese Formel, wie folgt, abgeleitet wird.

Aus Formel - 1 - folgt

$$y = y_0 \cdot e^{k_{\text{Inv}} \cdot t} \quad - 3 -$$

bei t_{50} ist $y = 2y_0$, und es gilt

$$2y_0 = y_0 \cdot e^{k_{\text{Inv}} \cdot t_{50}} \quad - 4 -$$

daraus ergibt sich durch Logarithmieren

$$\ln 2 = k_{\text{Inv}} \cdot t_{50} \quad - 5 -$$

und durch Umformen Formel - 2 -.

2.2. Elimination

Die Eliminationskonstante k_{E1} ist ein Maß dafür, mit welcher Geschwindigkeit ein Arzneistoff aus einem Kompartiment - im vorliegenden Fall dem zentralen Blut-Kompartiment - entfernt wird.

$$-\frac{dy}{dt} = k_{E1} \cdot y_0 \quad - 6 -$$

daraus folgt

$$y = y_0 \cdot e^{-k_{E1} \cdot t} \quad - 7 -$$

Es handelt sich bei der Konstante um eine Individuum- und Substanzabhängige Größe (vgl. 95), die normalerweise unabhängig von der Konzentration der Substanz in einem betrachteten Kompartiment ist.

Dies gilt bei peroraler Applikation, wenn die Substanz einheitlich resorbiert wird und keinem enterohepatischen Kreislauf unterliegt.

Die Eliminations-Halbwertzeit t_{50} , d.h. die Zeitspanne, in welcher der Blutspiegel y_0 jeweils auf die Hälfte des betrachteten Wertes absinkt, ergibt sich entsprechend der Invasions-Halbwertzeit nach

$$t_{50} = \frac{\ln 2}{k_{E1}} \quad - 8 -$$

Es erscheint einleuchtend, daß die Zeit, in der die Maximalkonzentration y_0 auf die Hälfte abgefallen ist, bei einer Substanz, die einem enterohepatischen Kreislauf unterliegt, direkt davon abhängt, in welchem Ausmaß und wie lange die Substanz durch diesen Kreislauf geschleust wird.

Dies trifft gerade für das System Digoxin/Ratte zu, wobei Ausmaß und Zeit des enterohepatischen Kreislaufs zur Resorptionsquote direkt proportional sein werden.

Eine Digoxin-Zubereitung mit hoher Resorptionsquote wird somit eine Verlängerung der Eliminationshalbwertzeit bewirken, so daß mögliche Unterschiede der pharmakokinetischen Parameter der verschiedenen Digoxin-Zubereitungen Rückschlüsse auf das Ausmaß der Digoxin-Resorption zulassen.

Wie aus Formel - 7 - hervorgeht, beschreibt die Eliminationskonstante eine Funktion 1. Ordnung. Das bedeutet, daß k_{El} aus einer Blutspiegelkurve, deren abfallender Teil exponentiell verläuft, direkt bestimmt werden kann. Eine reine Exponentialfunktion wird graphisch in linearem Raster als Hyperbel dargestellt, in halblogarithmischem Raster als Gerade.

Die Blutspiegelkurven wurden zur Bestimmung der jeweiligen Eliminationskonstante in halblogarithmischem Raster (Abb. 3-4) aufgetragen, um zu ermitteln, in welchem Bereich die Kurven nach 1. Ordnung abfallen.

Die Neigungen der so ermittelten Geraden sind identisch mit k_{El} , so daß aus den die Geraden bestimmenden Funktionswerten (y/t) die Eliminationskonstanten berechnet werden können.

$$k_{El} = \frac{\ln y_1 - \ln y_2}{t_2 - t_1} \quad (95)$$

Weiter wurde die In-vivo-Verfügbarkeit ermittelt durch

3. Vergleich der kumulativen Ausscheidung von aktivem Digoxin und Digoxin-Metaboliten im Urin nach Gabe von Feststoff-Dispersion und äthanolisch-wäßriger Lösung

Die kumulative Aktivitäts-Ausscheidung wurde nach folgendem Berechnungsschema ermittelt:

$$GA_{t(n)} = \frac{Akt_{t(1+2+\dots+n-1)} + Akt_{t(n)}}{Akt_{Dosis}} \cdot 100$$

$GA_{t(n)}$ = Gesamtausscheidung zur Zeit $t(n)$ - in % der applizierten Dosis

$Akt_{t(n)}$ = Aktivität des über den Zeitraum $t(n)$ gesammelten Urins

Akt_{Dosis} = Aktivität der applizierten Dosis

3.4.2. Applikation und Probennahme

Zur Bestimmung von Blut- und Urinspiegel wurde den Versuchstieren pro 100 g Körpergewicht 0,25 mg ^3H -Digoxin bzw. entsprechend 25 mg Feststoff-Dispersion, jeweils gelöst in 1 ml Flüssigkeit, mittels starrer Magensonde appliziert.

Für die Blutuntersuchungen erhielten 20 Tiere die Feststoff-Dispersion, die unmittelbar vor jeder Applikation in der entsprechenden Menge Leitungswasser gelöst wurde.

Je 10 Tiere bekamen die äthanolisch-wäßrige Digoxin-Lösung bzw. die Digoxin-Suspension in Methylcellulose-Lösung mit oder ohne Hydroxypropyltheobromin-Zusatz.

Zur Bestimmung der in den Urin ausgeschiedenen Aktivitätsmenge erhielten je 7 Tiere die Feststoff-Dispersion in Leitungswasser gelöst bzw. die äthanolisch-wäßrige Lösung. Nach der Applikation wurden die Versuchstiere einzeln in Stoffwechselkäfigen gehalten.

Zur Blutentnahme wurde bei den Ratten nach Kappen der Schwanzspitzen in definierten Zeitabständen Blut aus den Schwanzvenen gewonnen.

Die Blutproben mußten zur Radioaktivitätszählung aufgeschlossen werden. Hierzu wurden jeweils 50 μl Vollblut sofort nach der Entnahme im Zählgefäß mit einem Lösungsmittel für Gewebeteile versetzt und über einen längeren Zeitraum inkubiert. Nach vollständiger Lösung des Blutes

wurde die Probe mit Wasserstoffperoxid entfärbt, nach einer gewissen Zeit mit Szintillationsflüssigkeit versetzt und zur Gleichgewichtseinstellung 24 Stunden aufbewahrt.

Die einzelnen Proben wurden 20 Minuten im Szintillationszähler gemessen, mit einer Standardlösung bekannter Radioaktivität versetzt (innerer Standard) und abermals gezählt.

3.5. Ergebnisse

3.5.1. Berechnung der Aktivität

Die Aktivität der Proben (in μCi) wurde nach folgenden Berechnungsschemata aus den gemessenen Zerfallsraten ermittelt.

A = Gemessene Impulsrate der Probe ohne Standard (cpm)

B = Gemessene Impulsrate der Probe mit Standard (cpm)

C = Bekannte Zerfallsrate des Standards (dpm)

$$\text{Me\ssausbeute der Probe : D} = \frac{(B-A) \cdot 100}{C} \quad (\%)$$

$$\text{Absolute Zerfallsrate der Probe : Z} = \frac{A \cdot 100}{D} \quad (\text{dpm})$$

Da $2,22 \cdot 10^6$ dpm 1 μCi entsprechen, gilt

$$\text{Akt}_{\text{abs}} = \frac{A \cdot 100}{2,22 \cdot 10^6 \cdot D} = \frac{A \cdot 10^{-4}}{2,22 \cdot D} \quad (\mu\text{Ci})$$

3.5.2. Blutspiegel

Die Ergebnisse der Blutspiegel-Untersuchungen sind in den Tabellen 3-1 bis 3-4 und in den Abb. 3-3 und 3-4 dargestellt.

Die Tabellen sind, wie folgt, aufgeteilt:

Spalte 1 : t (h) - Zeitpunkt der Blutentnahme (in Std.)

nach peroraler Applikation

Spalte 2 : MW ($\text{dpm} \cdot 10^{-3} \cdot \text{ml}^{-1}$) - Mittelwert der experimentell ermittelten Ergebnisse

Spalte 3 : Akt_{abs} ($\mu\text{Ci} \cdot 10^4 \cdot \text{ml}^{-1}$) - Gesamtaktivität in 1 ml Vollblut

Spalte 4 : N - Anzahl der dem Mittelwert zugrunde liegenden Einzelwerte EW

Spalte 5 : SD - Standardabweichung vom Mittelwert in Spalte 2, berechnet nach

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (EW - MW)^2}{N - 1}}$$

Spalte 6 : SD_{rel} (%) - relative Standardabweichung, berechnet nach

$$\frac{SD \cdot 100}{MW}$$

Die Ergebnisse sind graphisch in Abb. 3-3 in linearem Raster als mittlere Gesamtaktivität / ml Vollblut gegen die Zeit aufgetragen.

Die Kurven stellen die Blutspiegelkurven folgender Zubereitungen dar:

- Kurve 1 - ^3H -Digoxin als Suspension ohne Zusatz von Hydroxypropyltheobromin,
- Kurve 2 - ^3H -Digoxin als äthanolisch-wäßrige Lösung,
- Kurve 3 - ^3H -Digoxin als Suspension mit Zusatz von Hydroxypropyltheobromin,
- Kurve 4 - ^3H -Digoxin als Feststoff-Dispersion.

Tab. 3-1: Digoxin-Suspension ohne Hydroxypropyltheobromin
Gesamtaktivität in 1 ml Vollblut bei 10 Ratten
nach Gabe von 0,25 mg ³H-Digoxin/100 g Körperge-
wicht (Kurve 1)

| t (h) | MW (dpm·10 ⁻³ ·ml ⁻¹) | Akt _{abs} (μCi·10 ⁴ ·ml ⁻¹) | N | SD | SD _{rel} |
|-------|--|--|----|-------|-------------------|
| 0,25 | 6,59 | 29,7 | 7 | 2,48 | 37,64 |
| 0,5 | 16,275 | 73,3 | 9 | 3,282 | 20,17 |
| 1 | 24,55 | 111,6 | 9 | 5,902 | 24,04 |
| 1,5 | 28,5 | 127 | 9 | 9,06 | 32,12 |
| 2 | 28,50 | 128,4 | 10 | 9,96 | 34,96 |
| 3 | 24,35 | 109,7 | 8 | 6,98 | 28,67 |
| 5 | 18,71 | 84,3 | 8 | 3,935 | 21,03 |
| 7 | 15,48 | 69,7 | 9 | 4,77 | 30,8 |
| 9 | 9,02 | 40,6 | 4 | 3,86 | 42,89 |
| 24 | - | - | - | - | - |

Tab. 3-2: Digoxin-Lösung (Kurve 2)

| t (h) | MW (dpm·10 ⁻³ ·ml ⁻¹) | Akt _{abs} (μCi·10 ⁴ ·ml ⁻¹) | N | SD | SD _{rel} |
|----------------|--|--|----|------|-------------------|
| 0,08 $\bar{3}$ | 11,06 | 49,8 | 7 | 1,12 | 10,1 |
| 0,25 | 18,29 | 82,4 | 7 | 1,82 | 9,95 |
| 0,5 | 28,37 | 127,8 | 7 | 5,84 | 20,57 |
| 1 | 36,7 | 165,3 | 9 | 8,8 | 24,0 |
| 2 | 37,36 | 168,5 | 9 | 8,6 | 23,0 |
| 3 | 33,33 | 150,1 | 9 | 9,56 | 28,73 |
| 5 | 27,89 | 125,6 | 9 | 8,6 | 30,79 |
| 6 | 24,42 | 110 | 10 | 2,82 | 11,55 |
| 7 | 21,73 | 97,86 | 8 | 4,92 | 22,65 |
| 9 | 17,12 | 77,1 | 6 | 5,39 | 31,49 |
| 24 | 6,05 | 27,3 | 8 | 2,2 | 36,4 |

Tab. 3-3: Digoxin-Suspension mit Hydroxypropyltheobromin (1+100)

Gesamtaktivität in 1 ml Vollblut bei 10 Ratten nach Gabe von 0,25 mg ^3H -Digoxin + 25 mg Hydroxypropyltheobromin / 100 g Körpergewicht (Kurve 3)

| t (h) | MW (dpm. 10^{-3} .ml $^{-1}$) | Akt _{abs} ($\mu\text{Ci} \cdot 10^4$.ml $^{-1}$) | N | SD | SD _{rel} |
|-------|----------------------------------|---|----|-------|-------------------|
| 0,5 | 32,92 | 148,2 | 8 | 3,03 | 9,2 |
| 1 | 40,13 | 180,75 | 6 | 6,36 | 15,86 |
| 2 | 40,19 | 181,02 | 7 | 15,48 | 38,52 |
| 3 | 38,15 | 172 | 7 | 9,02 | 23,67 |
| 5 | 31,31 | 141,1 | 9 | 7,9 | 25,2 |
| 6 | 28,5 | 128,4 | 10 | 8,05 | 28,24 |
| 7 | 27,15 | 122,3 | 8 | 7,0 | 25,79 |
| 8 | 26,61 | 110,88 | 5 | 3,93 | 15,98 |
| 24 | 9,54 | 43 | 6 | 1,63 | 17,08 |

Tab. 3-4: Feststoff-Dispersion aus ^3H -Digoxin und Hydroxypropyltheobromin (1+100)

Gesamtaktivität in 1 ml Vollblut bei 20 Ratten nach Gabe von 25 mg / 100 g Körpergewicht (Kurve 4)

| t (h) | MW (dpm. 10^{-3} .ml $^{-1}$) | Akt _{abs} ($\mu\text{Ci} \cdot 10^4$.ml $^{-1}$) | N | SD | SD _{rel} |
|----------------|----------------------------------|---|----|------|-------------------|
| 0,08 $\bar{3}$ | 13,5 | 60,8 | 9 | 2,26 | 16,76 |
| 0,25 | 22,35 | 100,7 | 8 | 5,91 | 26,45 |
| 0,5 | 36 | 162,2 | 16 | 7,31 | 20,29 |
| 1 | 43,77 | 197,2 | 15 | 9,1 | 20,89 |
| 1,5 | 46,9 | 211,24 | 15 | 9,28 | 19,79 |
| 2 | 48,2 | 217,09 | 15 | 8,13 | 16,86 |
| 3 | 47,36 | 213,4 | 16 | 9,1 | 19,2 |
| 5 | 44,74 | 201,5 | 15 | 8,07 | 18,04 |
| 7 | 42,85 | 193 | 16 | 4,08 | 9,56 |
| 9 | 40,65 | 183 | 10 | 8,73 | 21,48 |
| 24 | 30,09 | 135,5 | 16 | 5,3 | 17,75 |

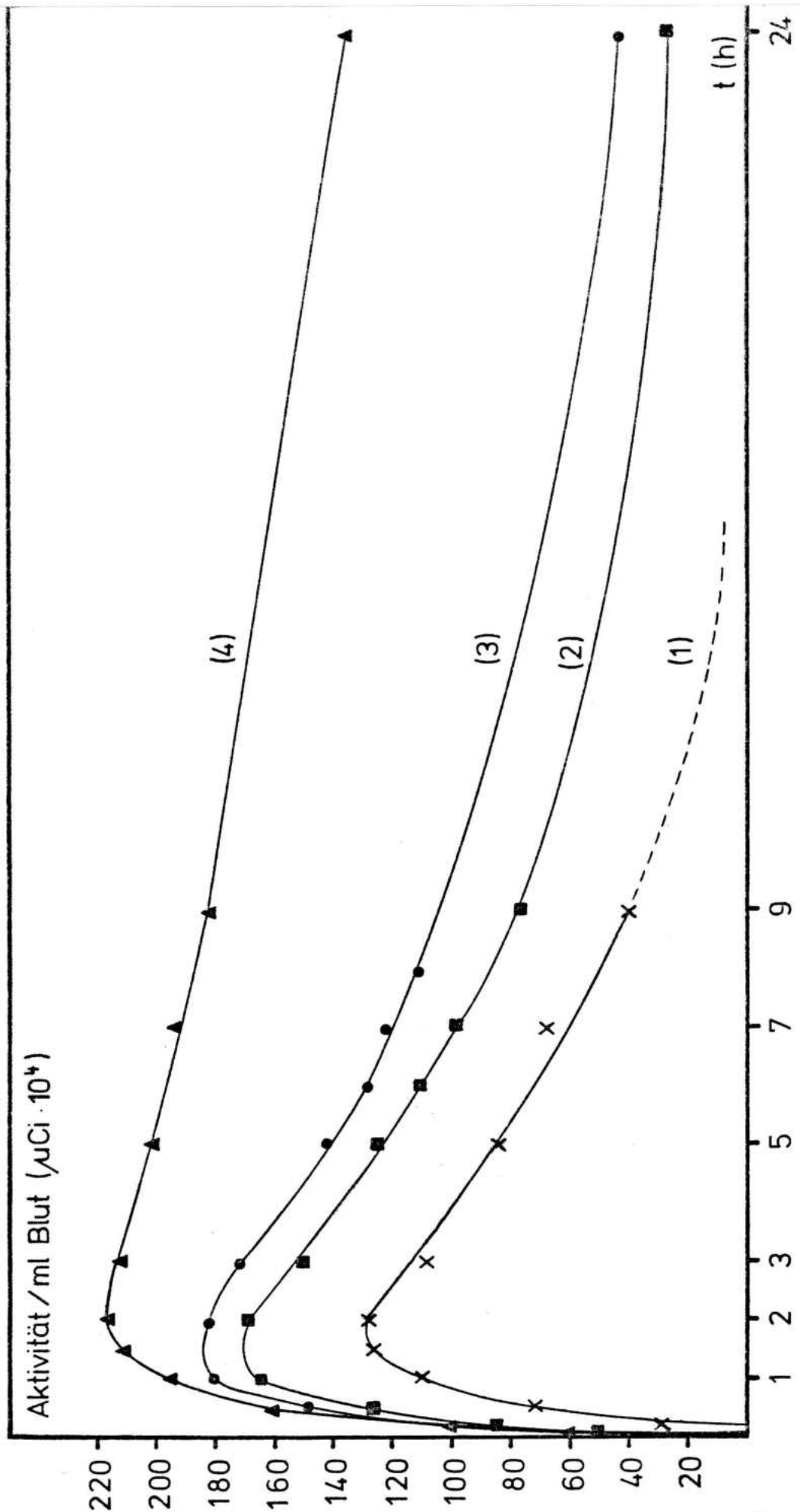


Abb. 3-3: Blutspiegelkurven bei der Ratte nach Gabe von ^3H -Digoxin in Form einer Suspension ohne Hydroxypropyltheobromin (Kurve 1), Lösung in Äthanol-Wasser-Gemisch (Kurve 2), Suspension mit Hydroxypropyltheobromin (Kurve 3), Feststoff-Dispersion mit Hydroxypropyltheobromin (Kurve 4)

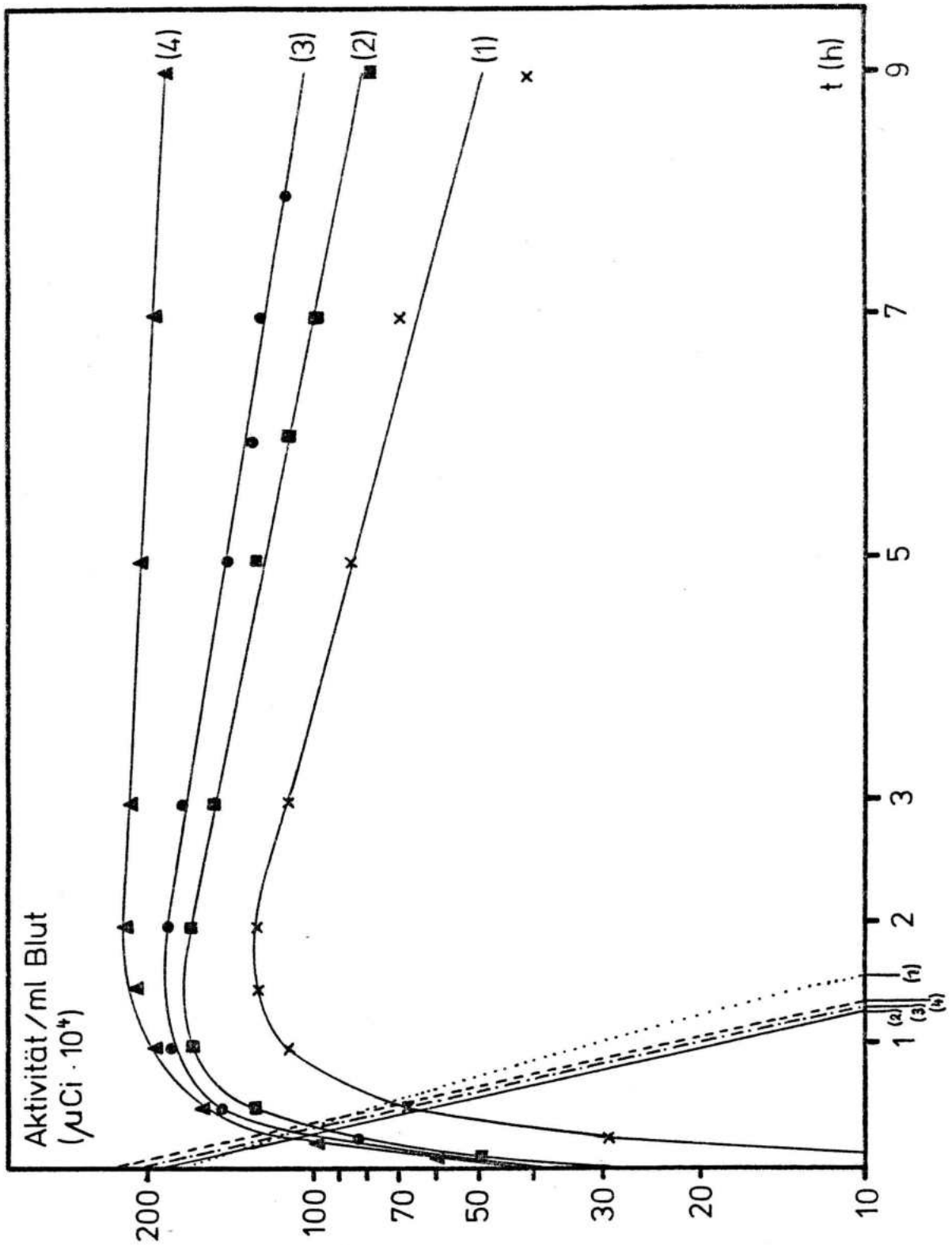


Abb. 3-4: Blutspiegelkurven (s. Abb. 3-3)
in halblogarithmischem Raster

Ordinate - logarithmisch : Aktivität
Abszisse - linear : Zeit

Die mittels Differenzwertbildung bestimmten scheinbaren Invasionskonstanten und die Invasions-Halbwertzeiten sind in Tab. 3-5 dargestellt.

Tab. 3-5: Scheinbare Invasionskonstanten (k_{Inv}) und Invasions-Halbwertzeiten (t_{50})

| Darreichungsform | k_{Inv} (h^{-1}) | t_{50} (h) |
|--|------------------------|--------------|
| Digoxin-Suspension <u>ohne</u> Hydroxypropyl- theobromin | 1,74 | 0,4 |
| Digoxin-Lösung | 2,21 | 0,313 |
| Digoxin-Suspension <u>mit</u> Hydroxypropyl- theobromin | 2,2 | 0,315 |
| Feststoff-Dispersion | 2,36 | 0,29 |

Wie in Abb. 3-4 zu sehen ist, zeigen die Blutspiegelkurven in halblogarithmischer Darstellung geradlinigen Verlauf.

Aus den Mittelwerten (Tab. 3-1 bis 3-4) ließ sich dieser Verlauf eindeutig bestimmen für die Kurven 1 bis 3 zwischen der 2. und 9. Stunde nach Applikation, für Kurve 4 zwischen der 3. und 24. Stunde.

Somit konnten für diese Zeiträume die in Tab. 3-6 aufgeführten Eliminationskonstanten (k_{El}) und Eliminations-Halbwertzeiten (t_{50}) ermittelt werden.

Tab. 3-6: Eliminationskonstanten (k_{El}) und Eliminations-Halbwertzeiten (t_{50})

| Darreichungsform | k_{El} (h^{-1}) | t_{50} (h) |
|---|-----------------------|--------------|
| Digoxin-Suspension <u>ohne</u> Hydroxypropyltheobromin | 0,135 | 5,13 |
| Digoxin-Lösung | 0,103 | 6,73 |
| Digoxin-Suspension <u>mit</u> Hydroxypropyltheobromin | 0,09 | 7,7 |
| Feststoff-Dispersion | 0,025 | 27,73 |

Wie aus den Tabellen 3-1 bis 3-4 hervorgeht, ist die Streuung der Blutspiegelwerte nach Gabe von 3H -Digoxin in Form der Suspension ohne Hydroxypropyltheobromin wesentlich größer als nach Gabe der Lösung, der Suspension mit Hydroxypropyltheobromin und der Feststoff-Dispersion (arithmetische Mittel der relativen Standardabweichungen in gleicher Reihenfolge: 30 %; 23 %; 22,2 %; 18,8 %).

Die Blutspiegelkurven erreichen ihre Maxima

1. bei Gabe der Suspension ohne Hydroxypropyltheobromin 1,5 bis 2 Stunden nach Applikation,
2. bei Gabe von Lösung bzw. Suspension mit Hydroxypropyltheobromin 1 bis 2 Stunden nach Applikation und
3. bei Gabe der Feststoff-Dispersion 1,5 bis 3 Stunden nach Applikation, wobei das Maximum der Lösung schon zwischen 0,5 und 1 Stunde überschritten wird.

Die Höhe der Maxima beträgt

1. bei Gabe der Suspension ohne Hydroxypropyltheobromin
128,4 $\mu\text{Ci} \cdot 10^{-4}$ /ml Vollblut, entsprechend 76,2 % des
Maximalwertes der Lösung;
2. bei Gabe der Lösung 168,5 $\mu\text{Ci} \cdot 10^{-4}$, entsprechend 100 %;
3. bei Gabe der Suspension mit Hydroxypropyltheobromin
181,02 $\mu\text{Ci} \cdot 10^{-4}$, entsprechend 107 %;
4. bei Gabe der Feststoff-Dispersion 217,09 $\mu\text{Ci} \cdot 10^{-4}$,
entsprechend 128,83 %.

3.5.3. Harnspiegel

Die Ergebnisse der Untersuchungen zur kumulativen Harnausscheidung von ^3H -Digoxin und seinen Metaboliten bei Ratten sind in den Tabellen 3-7 und 3-8 und in Abb. 3-5 dargestellt.

Die Tabellen sind folgendermaßen aufgeteilt:

Spalte 1 : t(h) - Urin-Sammelintervall in Stunden

Spalte 2 : Mittelwerte der experimentell ermittelten
Einzelwerte, dargestellt als % Aktivität
der applizierten Dosis

Spalte 3 : N - Anzahl der Tiere

Spalte 4 : SD - Standardabweichungen vom Mittelwert

Spalte 5 : SD_{rel} - relative Standardabweichungen
vom Mittelwert

In Abb. 3-4 ist die Urinausscheidung in Prozent der applizierten Dosis kumulativ gegen die Zeit aufgetragen.

Kurve 1 : Mittlere Ausscheidung nach Gabe von ^3H -Digoxin als Lösung

Kurve 2 : Mittlere Ausscheidung nach Gabe der Feststoff-Dispersion.

Tab. 3-7: Kumulative Harnausscheidung der Gesamtaktivität nach Gabe von 0,25 mg ^3H -Digoxin/100 g Körpergewicht in Form von äthanolisch-wäßriger Lösung

| t (h) | MW (% d.appl.Dos.) | N | SD | SD _{rel} |
|-------|--------------------|---|------|-------------------|
| 8 | 6,72 | 7 | 0,92 | 13,63 |
| 24 | 11,43 | 7 | 0,78 | 6,83 |
| 48 | 13,5 | 7 | 1,59 | 11,77 |
| 72 | 14,22 | 7 | 1,48 | 10,39 |
| 100 | 14,8 | 7 | 2,09 | 13,9 |
| 124 | 15,13 | 7 | 1,43 | 9,43 |
| 144 | 15,38 | 6 | 1,67 | 10,87 |

Tab. 3-8: Kumulative Harnausscheidung der Gesamtaktivität nach Gabe von 25 mg Feststoff-Dispersion/ 100 g Körpergewicht

| t (h) | MW (% d.appl.Dos.) | N | SD | SD _{rel} |
|-------|--------------------|---|------|-------------------|
| 8 | 11,05 | 7 | 2,41 | 21,8 |
| 24 | 15,21 | 7 | 2,54 | 16,7 |
| 48 | 17,7 | 7 | 3,24 | 18,28 |
| 72 | 18,83 | 7 | 3,41 | 18,1 |
| 100 | 19,7 | 7 | 3,58 | 18,17 |
| 124 | 20,39 | 6 | 3,39 | 19,26 |
| 144 | 20,78 | 6 | 3,9 | 19,25 |

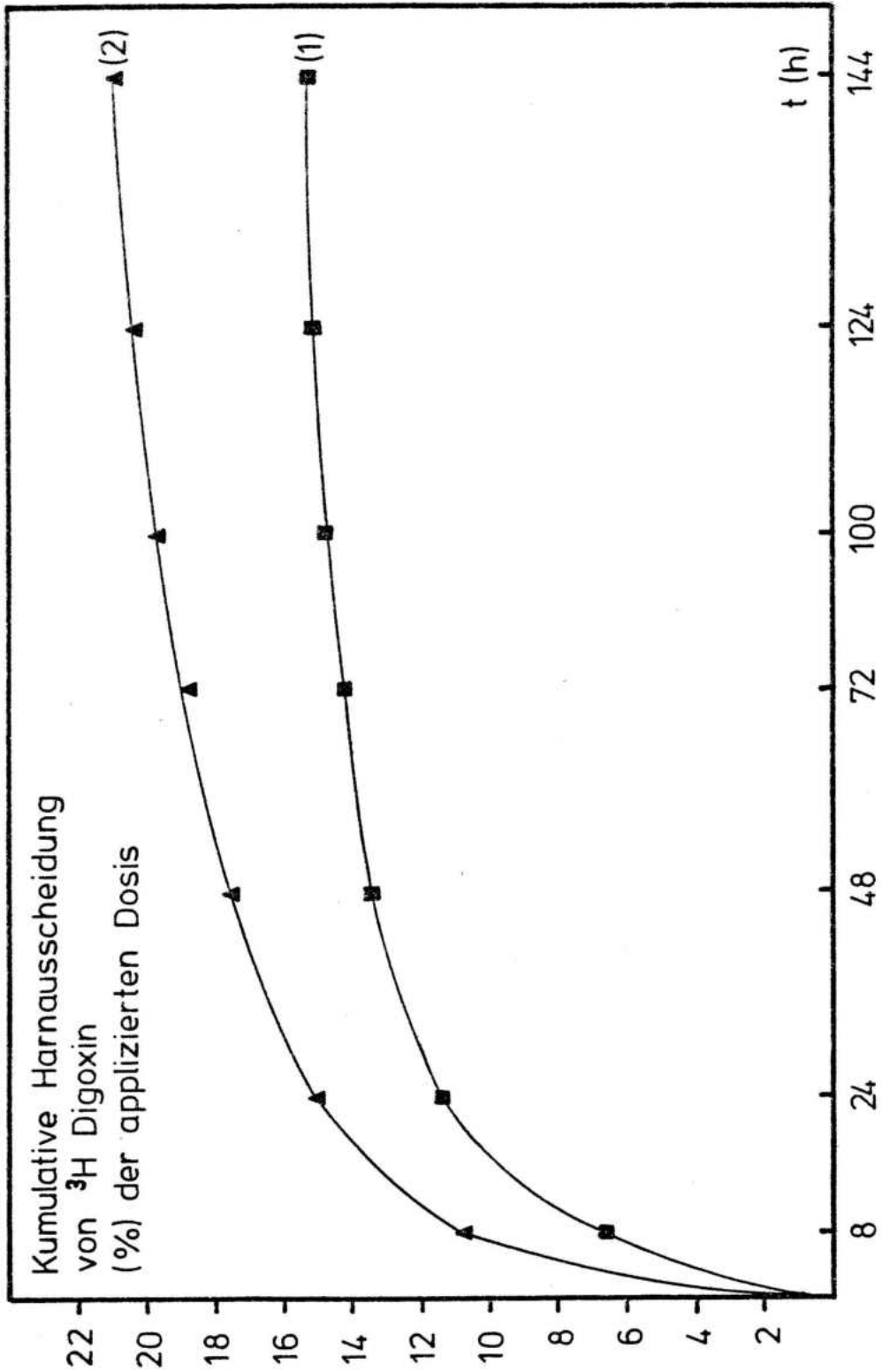


Abb. 3-5: Kumulative Harnausscheidung bei der Ratte nach Gabe von ^3H -Digoxin in Form einer Lösung in Äthanol-Wasser-Gemisch (Kurve 1), Feststoff-Dispersion mit Hydroxypropyltheobromin (Kurve 2)

Der Vergleich der kumulativen Harnausscheidung der Gesamtaktivität nach Gabe der äthanolisch-wäßrigen Digoxin-Standard-Lösung und der Feststoff-Dispersion ergibt eine um den Faktor 1,35 höhere Ausscheidungsquote nach Gabe der Feststoff-Dispersion.

Dies wurde folgendermaßen ermittelt:

1. durch gravimetrischen Vergleich der Flächen unter den kumulativen Ausscheidungskurven,
2. durch Quotienten-Bildung der mittleren Gesamtausscheidung 144 Stunden nach Applikation.

Der Vergleich der Radioaktivität im Vollblut zu bestimmten Zeitpunkten nach Applikation von ^3H -Digoxin in Form der verschiedenen Zubereitungen macht deutlich, wie die unterschiedliche Löslichkeit des Glykosids die Resorption beeinflusst.

So zeigen die Ergebnisse, daß das Digoxin nach Gabe der Suspension ohne Hydroxypropyltheobromin am schlechtesten verfügbar ist. Der ungünstige Lösungszustand bewirkt, daß die Invasion des Glykosids in das Blutkompartiment später einsetzt (Abb. 3-3) als bei den anderen Darreichungsformen und auch mit geringerer Geschwindigkeit vor sich geht, da hier die Lösungsgeschwindigkeit der Festsubstanz für die Resorption der begrenzende Schritt ist. Aus der insgesamt geringeren Löslichkeit des festen Digoxin resultieren die längste Invasions-Halbwertszeit, die geringste Maximalaktivität und die kürzeste Eliminations-Halbwertszeit der untersuchten Zubereitungen.

Im Gegensatz hierzu zeigen die Blutspiegelkurven der übrigen Darreichungsformen ein anderes Bild. Bemerkenswert ist, daß die Kinetik des Digoxin bei Gabe als Festsubstanz zusammen mit Hydroxypropyltheobromin nicht mit der Kinetik des Digoxin als Suspension ohne Zusatz übereinstimmt, sondern weitgehend der der äthanolisch-wäßrigen Lösung entspricht. Vorausgesetzt, daß

dieser Effekt nicht von systematisch kleinerer Partikelgröße des Digoxin innerhalb der Schwankungen der Korngröße herrührt, muß der Zusatz von Hydroxypropyltheobromin eine Resorptionserhöhung bewirken.

Folgende Mechanismen können hierfür diskutiert werden:

1. die solubilisierende Eigenschaft des Hydroxyalkylxanthin-Derivates (siehe Kapitel 2);
2. verbesserte Aufnahme von Digoxin aus dem Magen-Darm-Trakt in Form eines aktiven Ko-Transportes;
3. Behinderung der Digoxin-Elimination durch kompetitive Verdrängung von metabolisierenden Enzymen und dadurch erhöhte Anflutung des Glykosids.

Der beschriebene Effekt scheint spezieabhängig zu sein, da er beim Menschen nicht nachgewiesen werden konnte (85).

Beim Vergleich zwischen der äthanolisch-wäßrigen Digoxin-Lösung und der Feststoff-Dispersion lassen die sehr ähnlichen Invasionshalbwertzeiten darauf schließen, daß das Glykosid nach Applikation dieser beiden Zubereitungen im Gastro-Intestinaltrakt im selben Lösungszustand vorliegt. Dies könnte zunächst den Schluß nahelegen, daß beide Darreichungsformen einen identischen Kurvenverlauf hervorrufen würden.

Dem widersprechen jedoch die Unterschiede in

1. Höhe und Ausdehnung der Maximalaktivitäten,
2. Eliminationshalbwertzeit,
3. kumulativer Harnausscheidung.

Die Ergebnisse sprechen übereinstimmend dafür, daß das Glykosid nach Gabe der Feststoff-Dispersion besser als nach Gabe der Lösung resorbiert wird.

Eine Erklärung hierfür könnte darin liegen, daß das Digoxin im weiteren Verlauf der Darm-Passage bei den beiden Präparationen in unterschiedlichen physikalischen Zuständen vorliegt.

Es ist nämlich wahrscheinlich, daß das Glykosid nach Applikation der äthanolisch-wäßrigen Lösung im Magen-Darm-Trakt schneller wieder ausgefällt wird als nach Gabe der Feststoff-Dispersion. Im In-vitro-Versuch läßt sich zeigen, daß das Digoxin die Tendenz hat, in Abhängigkeit von der Zeit aus übersättigten Lösungen auszufallen, wobei die solubilisierenden Eigenschaften des Hydroxypropyltheobromin das Glykosid länger in Lösung zu halten vermögen. Dies könnte die Voraussetzung dafür sein, daß ein größerer Anteil des applizierten Digoxin zur Resorption gelangt. Vorstellbar ist auch, daß diese Unterschiede im Löslichkeitsverhalten zwischen äthanolischer Digoxin-Lösung und Feststoff-Dispersion in vivo noch größer sind als im einheitlichen Milieu der In-vitro-Versuche.

Eine Solubilisation des Digoxin durch Zubereitung in Form einer Feststoff-Dispersion muß jedoch nicht unbedingt die Resorptionserhöhung des Glykosids zur Folge haben, wie u.a. Versuche mit Poloxalkol gezeigt haben (51). Die

Verwendung dieses Poly(oxyäthylen)-poly(oxypropylen)-Polymers als Trägersubstanz für Digoxin-Feststoff-Dispersionen führte trotz Verbesserung der Glykosid-Löslichkeit durch Anlagerung an den Träger zur Verminderung der Digoxin-Resorption.

Die Digoxin-Feststoff-Dispersionen mit Hydroxyalkylxanthinen als Träger unterscheiden sich somit entscheidend von dieser Art Feststoff-Dispersionen, da z.B. Hydroxypropyltheobromin im Gegensatz zu solch hochmolekularen, nicht resorbierbaren Trägersubstanzen das Digoxin sowohl zu solubilisieren als auch vollständig im Magen-Darm-Trakt zur Resorption freizugeben vermag.

In Übereinstimmung mit der Vorstellung, daß das Digoxin bei der Magen-Darm-Passage aus äthanolisch-wäßrigen Lösungen teilweise ausfällt, steht die Beobachtung zahlreicher Autoren, daß das Glykosid bei Applikation solcher Zubereitungen nur unvollständig verfügbar wird (siehe Tabelle 3-9).

| Literatur-Stelle | Verfügbarkeit | Darreichungsform | Anzahl der Patienten | Nachweismethode |
|------------------|---------------|--|----------------------|-----------------|
| 96 | ca. 80 % | 1-2mg Digoxin/ml Äthanol 95 % | 7 | 5-Tage-Stuhl |
| 79 | 79,2 % | 0,6 mg Digoxin in einer Zubereitung von 0,03 mg/ml Äthanol 20% + 150 ml Wasser | 11 | 6-Tage-Urin |
| 29 | 75 % (57-96) | 0,5 mg Digoxin/ml Äthanol 40 % + 25 ml Wasser | 8 | 10-Tage-Urin |
| 97 | 65 % | 0,75 mg Digoxin in einer Zubereitung von 0,05 mg/ml Äthanol 10 % + 100 ml Wasser | 8 | 6-Tage-Urin |
| 98 | 93 % | 0,5 mg Digoxin in einer Zubereitung von 2 ml Propylenglykol 40 %, Äthanol 10 % + 200 ml Wasser | 4 | 10-Tage-Urin |

Tab. 3-9: In-vivo-Verfügbarkeit von Digoxin nach Applikation äthanolischer wäßriger Lösungen im Humanversuch

WAGNER (17) diskutiert hierfür folgende Gründe:

1. Hydrolyse des Digoxin durch Magensäure,
2. intestinale Metabolisierung,
3. Verteilungskoeffizient zwischen Darmlumen
und Darmepithel,
4. First-pass-Effekt,
5. Window-Effekt.

Fraglich ist jedoch, ob diese Parameter das Ausmaß der nicht resorbierten Digoxin-Mengen allein erklären können.

Vielmehr wäre als wesentliche Ursache an eine Kombination aus dem Window-Effekt und dem in der Literatur noch nicht diskutierten Ausfällungs-Effekt zu denken. Der sogenannte Window-Effekt besteht darin, daß Digoxin in unterschiedlichen Abschnitten des Magen-Darm-Traktes verschieden gut resorbiert wird. Obwohl anscheinend auch noch in unteren Darmabschnitten Digoxin resorbiert werden kann - zumindest wurde dies im Colon transversum festgestellt (99) -, wird die Hauptmenge vom Duodenum aufgenommen. In den distalen Darmteilen wird dagegen wesentlich weniger Digoxin resorbiert (19).

Fällt das Digoxin - wie postuliert - in Abhängigkeit von der Zeit während der Magen-Darm-Passage aus der äthanolisch-wäßrigen Lösung aus, wird durch Einschränkung der am Ort der optimalen Resorptionsbedingungen gelöst vorliegenden Substanzmenge die Resorptionsquote reduziert. Da die Magen-Passage-Zeit interindividuellen Schwankungen

unterliegt und die Ausfällung zeitabhängig sein wird, kommt es zu den vor allem von JOHNSON und Mitarbeitern (29) betonten unterschiedlichen Resorptionsquoten, die somit durch die Interdependenz von Window- und Ausfällungs-Effekt hervorgerufen werden könnten. Auch vergleichende Human-Untersuchungen an β -Acetyl-Digoxin (79) scheinen in diese Richtung zu weisen. FLASCH gibt hier eine Verfügbarkeit von 94 % nach peroraler Gabe einer äthanolisch-wäßrigen β -Acetyl-Digoxin-Lösung an und von 79,2 % nach Digoxin-Gabe gleicher Zubereitung. RIETBROCK und Mitarbeiter (87, 88) dagegen konnten nach intraduodenaler Gabe beider Glykoside in identischer Zubereitung bei Ratten keine signifikanten Unterschiede der Resorptionsquoten feststellen. Vorausgesetzt, diese unterschiedlichen Ergebnisse sind nicht durch verschiedenartige Metabolisierung der Glykoside im Darm von Ratte bzw. Mensch bedingt, ließen sich die dann widersprechenden Ergebnisse mit Hilfe der Überlegungen zur Ausfällung in Einklang bringen.

Da β -Acetyl-Digoxin aufgrund seiner Kristallstruktur besser wasserlöslich als Digoxin ist (vgl. 19), wird es in einer wäßrig-äthanolischen Lösung besser in Lösung bleiben als Digoxin. Bei intraduodenaler Gabe (87, 88) werden diese Löslichkeitsunterschiede nicht zum Tragen kommen, weil bei direkter Applikation an den Ort der optimalen Resorption beide Glykoside vor Beginn einer Ausfällung quantitativ resorbiert werden.

Zusätzlich zu den die unterschiedlichen relativen Resorptionsquoten charakterisierenden Ergebnissen unterscheiden sich die beschriebenen Zubereitungen dadurch, daß unterschiedliche Streuungen der Blutspiegelwerte um den Mittelwert auftreten. Der signifikante Unterschied zwischen der Streuung nach Gabe der Suspension ohne Hydroxypropyltheobromin einerseits bzw. der äthanolisch-wäßrigen Lösung und Feststoff-Dispersion andererseits ist einmal darauf zurückzuführen, daß trotz weitestgehender Homogenisierung des festen Digoxin in der Suspension Partikel unterschiedlicher Korngröße vorliegen. Zum anderen könnte dieser Unterschied in Übereinstimmung mit den vorher diskutierten Versuchsergebnissen mit der geringeren Resorptionsquote des festen Digoxin begründet werden, da bekanntlich die Schwankungen der Resorption umso geringer sind, je höher die Resorptionsquote ist (100). Diese auf Humanverhältnisse bezogene Aussage scheint somit auch auf die Verhältnisse bei der Ratte anwendbar zu sein. Auch der Unterschied der Streuungen von äthanolisch-wäßriger Lösung und Feststoff-Dispersion, obwohl aufgrund unterschiedlich großer Tiergruppen nicht signifikant, könnte hierin seine Ursache haben.

Die bei den Harnausscheidungsversuchen auftretenden Standardabweichungen haben keine Signifikanz, sie beruhen vielmehr auf technischen Nachteilen der Stoffwechsel-

käfige, bei denen unterschiedliche, nicht erfaßbare Mengen Urin von Wandungen und Kot absorbiert werden.

Abschließend soll die Übertragbarkeit der erzielten Ergebnisse auf Humanverhältnisse diskutiert werden.

Vergleicht man die Resultate von Untersuchungen beim Menschen zur Verfügbarkeit des Digoxin nach Applikation von Tabletten bzw. äthanolisch-wäßrigen Lösungen [vgl. Zusammenstellung bei (78): Verfügbarkeit nach Gabe von Tabletten ca. 70 - 85 % der Verfügbarkeit nach Gabe von Lösungen] mit den beschriebenen Ergebnissen, so liegen die Unterschiede zwischen der Digoxin-Suspension ohne Zusatz und der Lösung bei der Ratte in der gleichen Größenordnung. Dies legt den Schluß nahe, daß die bei der Ratte wesentlich erhöhte Digoxin-Verfügbarkeit der Feststoff-Dispersion beim Menschen zu einer analogen Verbesserung der Resorptionsquote führen könnte.

Jedoch bleibt eine endgültige Untersuchung der Verfügbarkeits-Optimierung des Digoxin durch die Feststoff-Dispersion mit Hydroxypropyltheobromin dem Humanversuch vorbehalten.

4. Untersuchungen zur Wirkstoff-Freigabe von
magensaftresistent überzogenen Hartgelatine-
kapseln

4.1. Einleitung und Problemstellung

4.1.1. Beeinflussung der Digoxin-Verfügbarkeit
durch Hydrolyse

Zum Schutz vor dem Einfluß der Magensäure werden Arznei-
stoffe, die in saurem Milieu leicht hydrolysiert werden,
bei peroraler Applikation üblicherweise in Form von ma-
gensaftresistenten Zubereitungen gegeben.

Zu diesen Substanzen gehören unter anderem Cardenolid-
Glykoside, deren glykosidische Äthergruppen säureemp-
findlich sind.

Untersuchungen von DEUCHER, 1897, ergaben, daß die Wirk-
samkeit von Herzglykosiden nach Inkubation in saurem
Magensaft herabgesetzt wird (101). Dies gilt auch für
Digoxin; es konnte nachgewiesen werden, daß das Glykosid
im Magensaft und in Pufferlösungen bei pH-Werten zwischen
1 und 3 in Abhängigkeit von Azidität und Zeit hydrolysiert
wird (34, 35). Hierbei kommt es zur Spaltung der Glykosid-
bindungen, wodurch unter extremen Bedingungen 75 % des
Digoxin zu Digoxigenin abgebaut werden können (35),
dessen Herzaktivität nur ein Zehntel der des Digoxin
beträgt (102).

Da die Azidität des Magensaftes in Abhängigkeit von Nüchternzustand, Zusammensetzung der Nahrung und anderen Faktoren starken Schwankungen unterliegt (103) und pH-Werte zwischen 1 und 3 durchaus physiologisch sind, müssen Einbußen der Digoxin-Verfügbarkeit durch hydrolytischen Abbau berücksichtigt und durch eine spezielle Formulierung verhindert werden. Hierfür bietet es sich an, Digoxin oder Zubereitungen von Digoxin, z.B. die beschriebenen Feststoff-Dispersionen, in Hartgelatinekapselform zu füllen und mit Filmüberzügen magensaftresistent zu machen. Hartgelatinekapselform bieten hier im Gegensatz zu Tabletten den Vorteil, daß keine für die Löslichkeit des Glykosids nachteilige Verpressung notwendig ist. Außerdem schützt die Gelatinehülle weitgehend vor Feuchtigkeit und Lösungsmitteln, mit denen die Arzneiform beim Überziehen mit magensaftresistenten Überzügen in Berührung kommt.

4.1.2. Magensaftresistente Filmüberzüge

Filmüberzüge, die heutzutage bei Hart- und Weichgelatinekapselform angewandt werden, sind halb- oder vollsynthetische Polymere mit einer mehr oder weniger großen Zahl von Carboxylgruppen. Die Auflösung der Filme erfolgt durch Ionisation der Carboxylgruppen im schwach sauren bis neutralen Milieu des oberen Dünndarms und wird durch folgende Parameter beeinflusst:

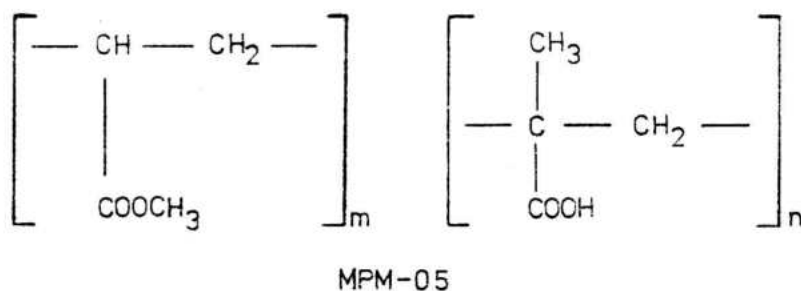
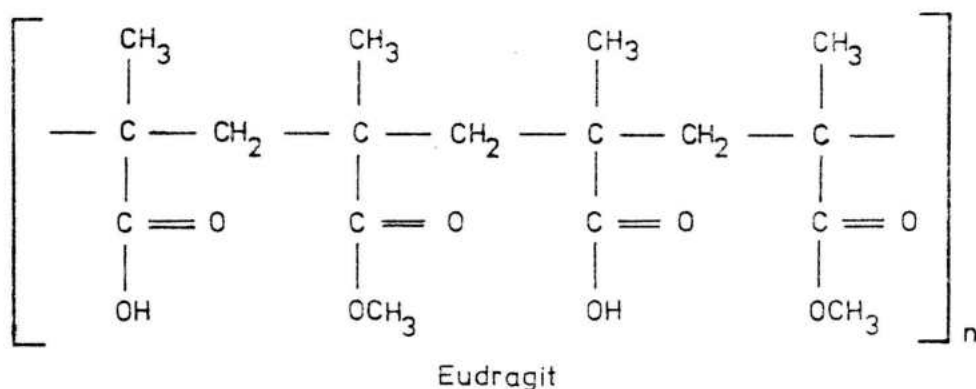
1. Eigenlöslichkeit des polymeren Grundgerüsts
2. Dissoziationskonstanten der Carboxylgruppen
3. Potentieller Ionisationsgrad (= Anzahl der Carboxylgruppen)
4. Aktueller Ionisationsgrad (= durch den Auflösungs-
vorgang dem Medium zugänglich gemachte Carboxyl-
gruppen, abhängig von hydrophilen oder hydrophoben
Substituenten des Films oder dem Zusatz von Weich-
machern).

Als Filmüberzüge werden im industriellen Maßstab im wesentlichen zwei, durch das chemische Grundgerüst verschiedene Substanzgruppen verwendet:

1. Acrylharz-Lacke
2. Cellulose-Phthalsäure-Ester-Derivate

4.1.2.1. Acrylharz-Lacke

Magensaftresistente Acrylharzlacke sind anionische Polymerisate aus Methacrylsäure und Methacrylsäureestern (z.B. Eudragit L, S^R) sowie aus Methacrylsäure und Acrylsäureestern (z.B. MPM-05).



Durch Variation des Gehalts an Methacrylsäure erhält man Produkte, die sich bei unterschiedlichen pH-Werten lösen.

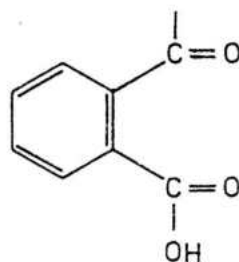
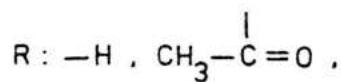
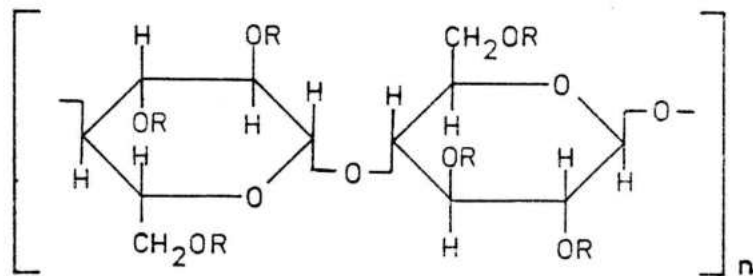
So löst sich Eudragit L^R mit einem Methacrylsäure-Gehalt von 50 % bei pH-Werten über 6, Eudragit S^R, dessen Methacrylsäure-Gehalt 30 % beträgt, bei pH-Werten über 7 (104), und MPM-05 (Methacrylat-Methacrylsäure-Copolymer), Methacrylsäure-Gehalt 42,5-55 %, löst sich bei pH-Werten über 5 (105).

Zur Anwendung bei Hartgelatine-Kapseln scheinen Vertreter dieser Stoffklasse allerdings weniger geeignet zu sein,

da die Lackfilme, z.B. von Eudragit L und S, aufgrund der Eigenelastizität der Gelatine kapsel einer starken mechanischen Krafteinwirkung nicht standhalten (106).

4.1.2.2. Celluloseacetatphthalat (CAP)

Celluloseacetatphthalat aus der Reihe der Cellulose-phthalsäure-Ester ist ein vielfach verwendeter Filmüberzug, der bei Tabletten, aber auch bei Gelatine-Kapseln zur Anwendung gekommen ist (107, 108). CAP ist ein gemischter Partialester der Cellulose, der aus Cellulose-triacetat nach partieller Hydrolyse durch Umsetzung mit Phthalsäureanhydrid gewonnen wird.



| | | |
|-----------------|---------|-------|
| Acetyl-Gehalt | 17-23 % | |
| Phthalat-Gehalt | 30-40 % | (104) |

Die Hydrolyse tritt an leicht angreifbaren Stellen des Cellulose-triacetat-Moleküls ein. In diese stereochemisch labilen Positionen tritt der Phthalatrest und ist somit sehr hydrolyseanfällig.

Verschiedene Arzneibücher (USP XIX, JP VIII, Ph. Helv. VI) lassen deshalb den Gehalt an freier Säure, berechnet als Phthalsäure, bestimmen.

CAP löst sich in Pufferlösungen von pH 5,7 bis pH 5,8 (109). Durch Hydrolyse nimmt jedoch der potentielle Ionsationsgrad und somit die Löslichkeit bei diesen pH-Werten ab.

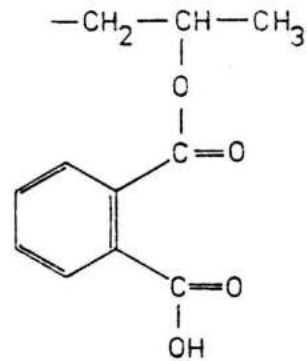
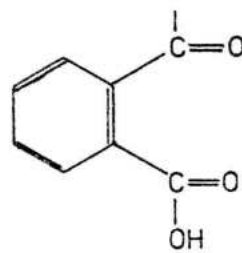
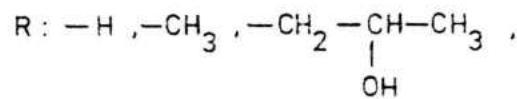
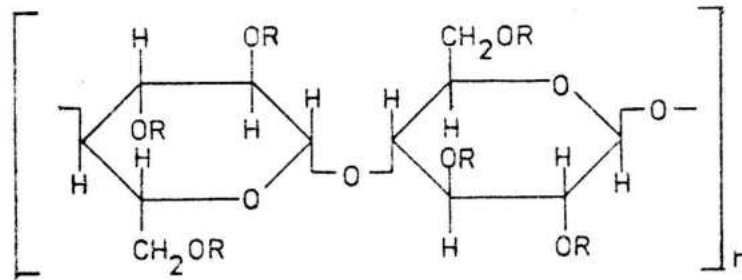
CAP wird als Filmüberzug mit Weichmacherzusatz verwendet, da die Substanz wegen ihres Mangels an hydrophilen Substituenten sehr spröde ist (109).

4.1.2.3. Hydroxypropylmethylcellulosephthalat (HPMCP)

HPMCP ist ein neuentwickeltes Produkt aus der Reihe der Cellulose-Phthalsäure-Ester, das durch Veresterung von Hydroxypropylmethylcellulose mit Phthalsäureanhydrid gewonnen wird (104).

Durch Substitution an leicht angreifbaren Positionen der Cellulose durch Methyl- und Hydroxypropyl-Gruppen entsteht ein stabiles Grundgerüst, in dem die Phthalatreste wesentlich stärker als in CAP gebunden sind.

HPMCP neigt somit nicht zur Hydrolyse.



HPMCP liegt in mehreren durch ihren Substitutionsgrad zu unterscheidenden Varietäten vor, z.B.:

| | | | |
|-------|----------------------|-----------|--|
| HP 50 | Methoxyl-Gehalt | 20 - 25 % | |
| | Hydroxypropyl-Gehalt | 8 - 12 % | |
| | Phthalat-Gehalt | 20 - 27 % | |
| HP 55 | Methoxyl-Gehalt | 18 - 22 % | |
| | Hydroxypropyl-Gehalt | 6 - 10 % | |
| | Phthalat-Gehalt | 27 - 35 % | |

(104)

HP-50 löst sich bei pH-Werten über 5,0, HP-55 bei pH-Werten über 5,5 (104). Der oben erwähnte Einfluß der verschiedenen Substituenten auf die Löslichkeit der beiden Überzüge tritt hier in Erscheinung, auch im Vergleich zu CAP.

Der Zusatz von Weichmachern bei der Verwendung als Filmüberzug ist meist nicht notwendig, da HPMCP aufgrund seiner hydrophilen Substituenten die nötige Eigenplastizität besitzt.

HPMCP kann somit aufgrund seiner Stabilität, Plastizität und Löslichkeit bei physiologischen pH-Werten dem CAP als Filmüberzug überlegen sein (109, 110).

4.1.3. Problemstellung

Bei der Verwendung von magensaftresistenten Filmüberzügen hat man folgende Möglichkeiten, um die applizierten Wirkstoffe im Darm gezielt aus der Zubereitung freizusetzen:

1. Variation von Überzugssubstanz und Weichmacher,
2. Variation der Schichtdicke.

Ziel dieses Kapitels soll es sein, zunächst im In-vitro-Versuch zu ermitteln, inwieweit sich bei Verwendung von

HP-50 als Filmüberzug die Schichtdicke auf die Freigabezeit des Kapselinhaltes auswirkt. Diese Ergebnisse sollen mit analogen Untersuchungen an CAP, über die bereits früher berichtet wurde (111), verglichen werden.

Weiterhin soll bestimmt werden, wie sich bei Überzügen aus HP-50 und CAP der Zusatz von Weichmachern auf die Freigabezeit auswirkt.

Außerdem soll untersucht werden, inwieweit die bei den verwendeten In-vitro-Methoden zur Bestimmung der Wirkstoff-Freigabe erzielten Ergebnisse mit den In-vivo-Ergebnissen zu korrelieren sind.

Solche Untersuchungen sind gerade im Hinblick auf die speziellen Belange der Feststoff-Dispersion aus Digoxin und Hydroxypropyltheobromin notwendig, da das Glykosid dieser Zubereitung im wäßrigen Milieu sofort vollständig in Lösung geht und im gelösten Zustand wesentlich anfälliger gegen Hydrolyse sein wird als Digoxin in fester Form. Somit wird eine optimale Verfügbarkeit dann erreicht werden, wenn das inkorporierte Digoxin einerseits vor Magensaft geschützt wird, andererseits schnellstmöglich nach Eintritt ins Duodenum, dem Ort der maximalen Resorption, freigegeben wird.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zur Wirkstoff-Freigabe sollen deshalb eine Aussage gestatten, welcher der betrachteten Überzugstoffe in welcher Form eine optimale Digoxin-Verfügbarkeit gewährleistet.

4.2. Magensaftresistent überzogene Hartgelatine-
Steckkapseln[⊠]

4.2.1. Beschreibung der Kapseln

Hartgelatine-Steckkapseln der Größe I (snap-fit, Firma CAPSUGEL, Basel) wurden mit feingepulvertem Glutaminsäurehydrochlorid gefüllt.

4.2.2. Beschreibung der Überzüge

1. Überzüge ohne Weichmacher

Überzug, bestehend aus reinem CAP bzw. aus reinem HP-50.

2. Überzüge mit Weichmacher

Überzug, bestehend aus einem ersten Überzug zur Verbesserung der Haftfähigkeit, bestehend aus

| | |
|----------------|---------------|
| CAP bzw. HP-50 | 2,0 mg/Kapsel |
|----------------|---------------|

| | |
|------------------------------|---------------|
| Hydroxymethylpropylcellulose | 0,8 mg/Kapsel |
|------------------------------|---------------|

und

einem anschließenden zweiten Überzug, dessen Menge je nach den in den Versuchen beschriebenen Auftragsstärken wechselte, bestehend aus

⊠ Ich danke der Firma Sanol Schwarz-Monheim für das Überziehen und die In-vitro-Testung der Gelatine-kapseln.

| | |
|--------------------|------|
| CAP bzw. HP-50 | 80 % |
| 1,2-Propylenglykol | 5 % |
| Cera alba | 5 % |
| Tween 60 | 10 % |

Die Verwendung des Vorlackes dient einer Verbesserung der Haftfähigkeit des magensaftresistenten Überzuges auf der Gelatineoberfläche. Kapseln, die ohne diesen Vorlack überzogen wurden, zeigen nach Lagerung und mechanischer Belastung den sogenannten "Bohenschaleneffekt", d.h. ein Absplittern des Überzuges von der Kapseloberfläche. Insbesondere Kapseln, die mit CAP ohne Weichmacher überzogen wurden, sind für praktische Zwecke ungeeignet, weil dieser Überzug viel zu empfindlich ist. Erst durch Auftragen eines Vorlackes und bei CAP durch Zusatz von Weichmachern wird die für die großtechnische Herstellung erforderliche Stabilität und Lagerfähigkeit erreicht.

4.2.3. Beschreibung der Überzugstechnik

Die Kapseln wurden in einer Wirbelschichtsprühanlage nach Wurster überzogen. Das verwendete Gerät war mit einer Zweistoffdüse (Flüssigkeit, Luft) ausgestattet. Die Zulufttemperatur wurde so geregelt, daß die Ablufttemperatur etwa Raumtemperatur erreichte. Je nach Größe der verwendeten Wurster-Anlage wurde mit unterschiedlicher

Sprühgeschwindigkeit aufgetragen, da die Geschwindigkeit in erster Linie apparaturabhängig ist. Beim Auftragen von Vor- und Hauptüberzügen wurde unmittelbar anschließend an den ersten Überzug der zweite aufgetragen, ohne daß das Füllgut aus der Anlage herausgenommen wurde. Nach beendetem Überziehen wurden die Kapseln mindestens 3 Tage bei Raumtemperatur gelagert, bevor die Auflösungsbestimmungen durchgeführt wurden. Dieses ist wichtig, weil unmittelbar nach dem Überziehen noch keine reproduzierbaren Werte für die Auflösungszeit erhalten werden.

4.2.4. Messung der scheinbaren Schichtdicke von HP-50-Überzügen

Die Berechnung der erforderlichen Menge an Überzugsmaterial wurde aufgrund der Oberfläche der Hartgelatine kapsel $G. 1 = 4,06 \text{ cm}^2$ durchgeführt. Die geringe Menge von HP-50, die bei den Kapseln mit Weichmacher im Vorlack enthalten war, wurde bei diesen Berechnungen außer acht gelassen, weil dem Vorlack infolge der geringen Schichtdicke noch keine magensaftresistente Eigenschaft zukommt. Die überzogenen Kapseln wurden anschließend mit einem Lichtschnittmikroskop (Fa. Zeiss) auf die Stärke des Filmüberzuges untersucht.

Zur Bestimmung der Dicke einer transparenten Schicht mit dem Lichtschnittmikroskop wird ein feines Lichtband auf die Oberfläche der Schicht projiziert. Da das Lichtband teils an der Oberfläche, teils an der Unterseite reflektiert wird, werden im Okular des Mikroskops zwei Lichtbänder sichtbar, deren Abstand ein Maß für die relative Schichtdicke ist. Aus dieser "scheinbaren Schichtdicke" läßt sich unter Berücksichtigung des Brechungsindex des Systems die wahre Schichtdicke berechnen. Auf diese Korrektur wurde jedoch verzichtet, weil der Brechungsindex der Überzüge in den einzelnen Fällen nicht genau bekannt war. Bei den angegebenen, auf diese Weise ermittelten Schichtdicken handelt es sich also um die "scheinbare Schichtdicke".

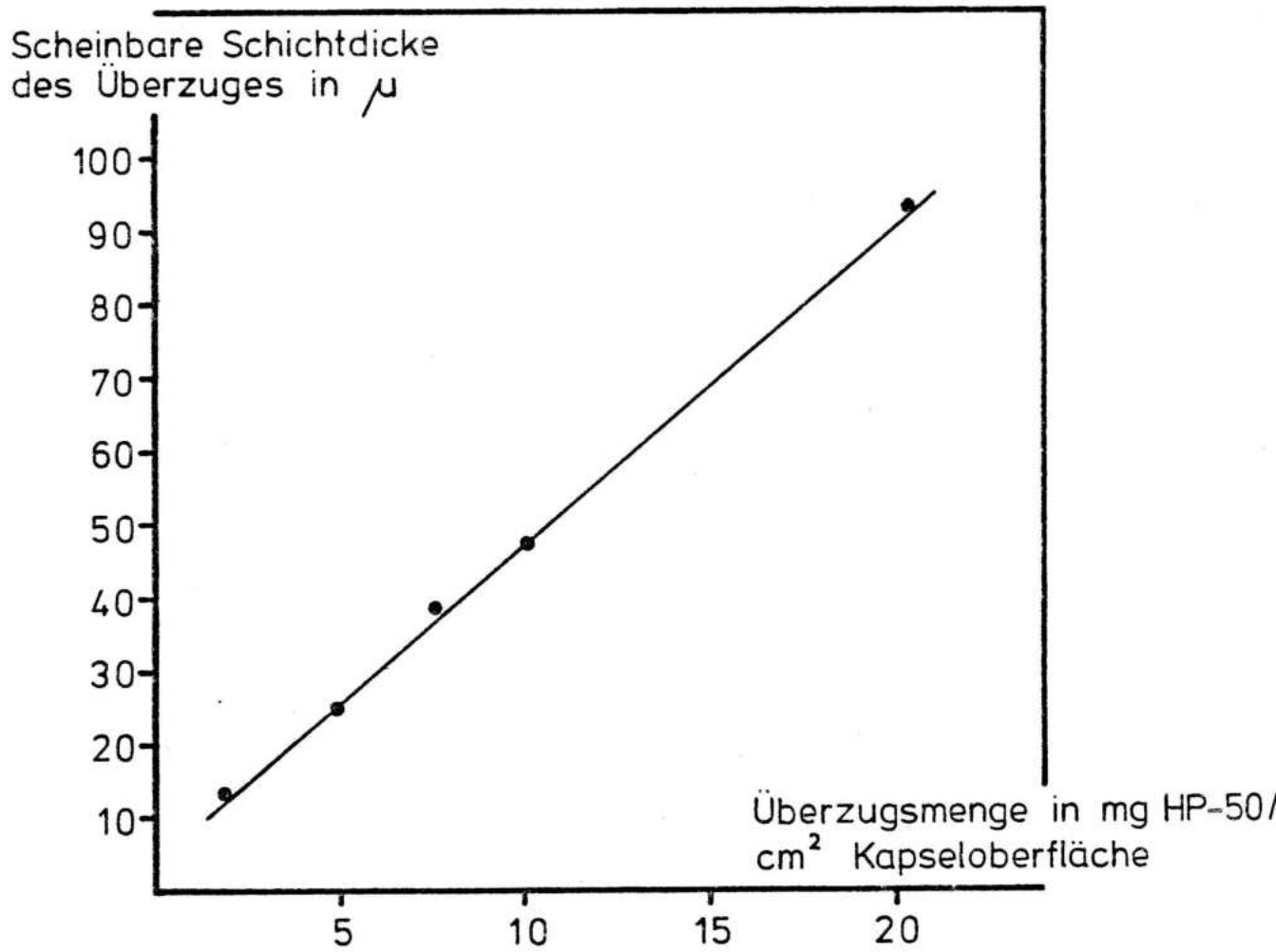


Abb. 4-1: Scheinbare Schichtdicke der HP-50-Überzüge in Abhängigkeit von der Überzugsmenge

4.3. In-vitro-Untersuchung der Wirkstoff-Freigabe

4.3.1. Methodik

Für die Untersuchungen wurde das Gerät zur Bestimmung der Zerfallszeit von Tabletten nach DAB 7, Ziffer 87, ohne Scheiben benutzt. Das Öffnen der Kapseln wurde mittels einer in die Prüf Flüssigkeit gegebenen Glaselektrode registriert, da das aus der Kapsel austretende Glutaminsäurehydrochlorid einen pH-Abfall des Lösungsmediums bewirkt (111).

Zur Bestimmung des Einflusses der Auftragsmenge von HP-50 und CAP auf die Freigabezeit wurden Kapseln mit HP-50 oder CAP, mit und ohne Weichmacher-Zusatz, in Auftragsmengen von 1 bis 20 mg / cm² überzogen. Als Prüf Flüssigkeit diente künstlicher Darmsaft ohne Fermente, pH 6,5, Ionenkonzentration = 1/15 mol, von 37° C.

Für die Untersuchungen zum Einfluß des pH-Wertes auf die Freigabezeit wurden als Prüf Flüssigkeiten Phosphatpuffer (Ionenkonzentration 1/15 mol.) der pH-Werte 5,5 - 6,0 - 6,5 verwendet.

Die zu prüfenden Kapseln wurden mit CAP bzw. mit HP-50, jeweils ohne Weichmacher und in einer Auftragsmenge von 5 mg / cm² überzogen.

4.3.2. Ergebnis

Die Ergebnisse der Untersuchungen zum Einfluß der Auftragsmenge von HP-50 und CAP auf die Freigabezeit sind in den Tabellen 4-1 und 4-2 und in Abbildung 4-2 dargestellt.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zum Einfluß des pH-Wertes auf die Freigabezeit sind in Abbildung 4-3 dargestellt.

Tab. 4-1: Wirkstoff-Freigabe in Abhängigkeit von der Auftragsmenge
HP-50- bzw. CAP-Überzüge ohne Zusatz von Weichmachern

| Auftrags- menge (mg/cm ²) | Beginn der Wirkstoff-Freisetzung (min) | | | |
|---|--|--------|-------|--------|
| | HP-50 | | CAP | |
| | M.W. | S.D. | M.W. | S.D. |
| 1 | 1,27 | 0,1224 | 1,43 | 0,2854 |
| 2 | 1,86 | 0,1905 | 2,48 | 0,2907 |
| 3 | 2,85 | 0,6548 | 3,65 | 0,2664 |
| 5 | 3,47 | 0,5196 | 5,12 | 0,4862 |
| 7,5 | 4,61 | 0,2325 | 6,86 | 0,8491 |
| 10 | 6,38 | 0,2097 | 8,88 | 0,7397 |
| 15 | 7,63 | 0,4002 | 12,78 | 1,3649 |
| 20 | 9,53 | 0,9397 | 16,87 | 1,9155 |

M.W. = Mittelwert

S.D. = Standardabweichung

Die Ergebnisse sind Mittelwerte von jeweils 7 - 15 Einzelversuchen.

Tab. 4-2: Wirkstoff-Freigabe in Abhängigkeit von der Auftragsmenge
HP-50- bzw. CAP-Überzüge mit Zusatz von Weichmachern

| Auftrags- menge (mg/cm ²) | Beginn der Wirkstoff-Freisetzung (min) | |
|---|--|-------|
| | HP-50 | CAP ‡ |
| | M.W. | M.W. |
| 0 | 0,86 | 1,1 |
| 1 | | 2,4 |
| 2 | | 2,8 |
| 3 | | 2,9 |
| 4 | | 4,0 |
| 5 | 3,61 | 5,2 |
| 7,5 | 5,16 | 7,1 |
| 10 | 6,8 | 8,4 |
| 20 | 9,86 | 15,0 |

‡ Bis auf den 20 mg-Wert entstammen sämtliche Werte für CAP der Literaturstelle 111.

Die Ergebnisse sind Mittelwerte von jeweils durchschnittlich 10 Einzelversuchen.

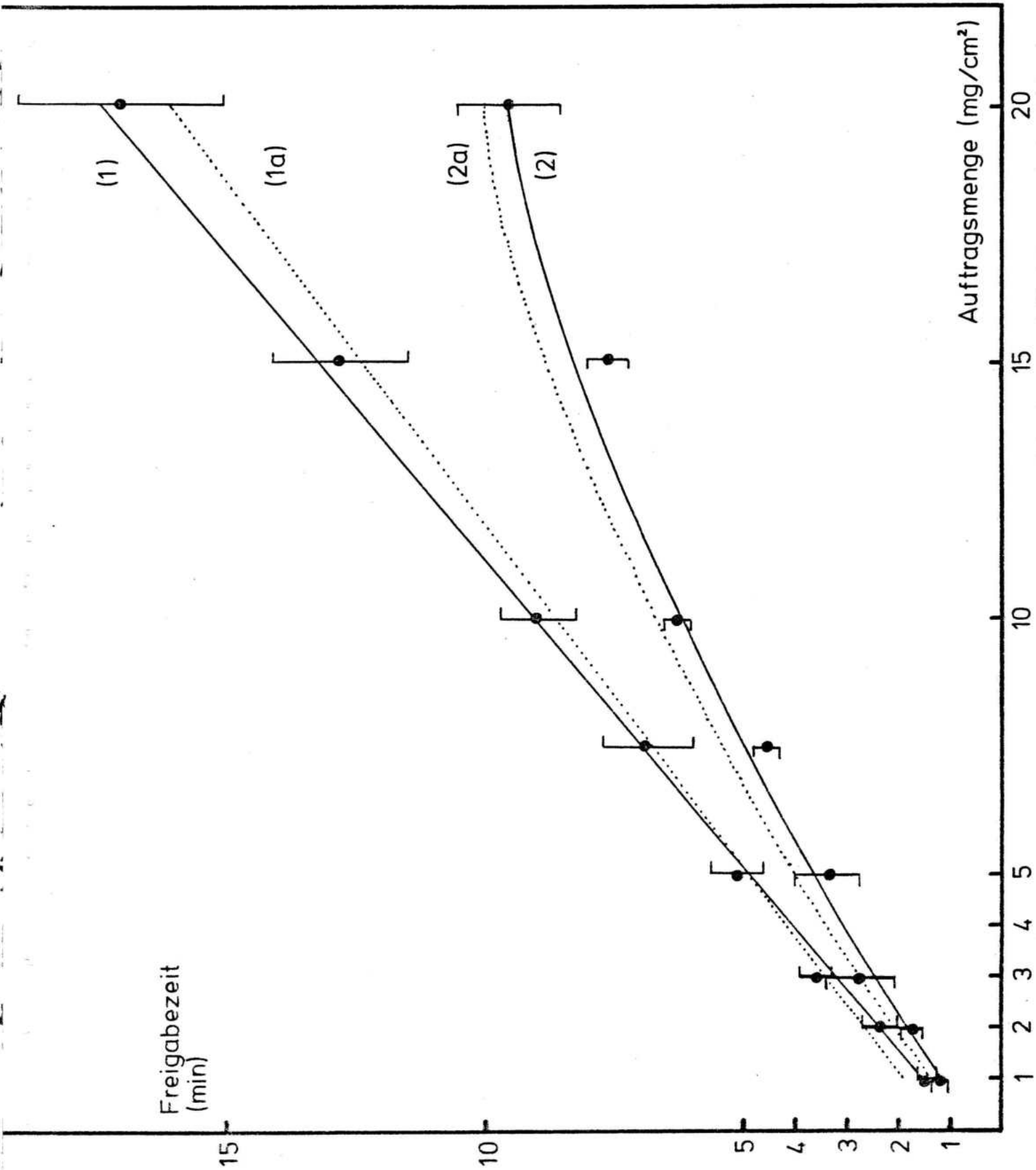


Abb. 4-2: Abhängigkeit der Freigabezeit von der Auftragsmenge (Bestimmung in vitro, pH 6,5)

- 1 CAP ohne Weichmacher
- 1a CAP mit Weichmacher
- 2 HP 50 ohne Weichmacher
- 2a HP 50 mit Weichmacher

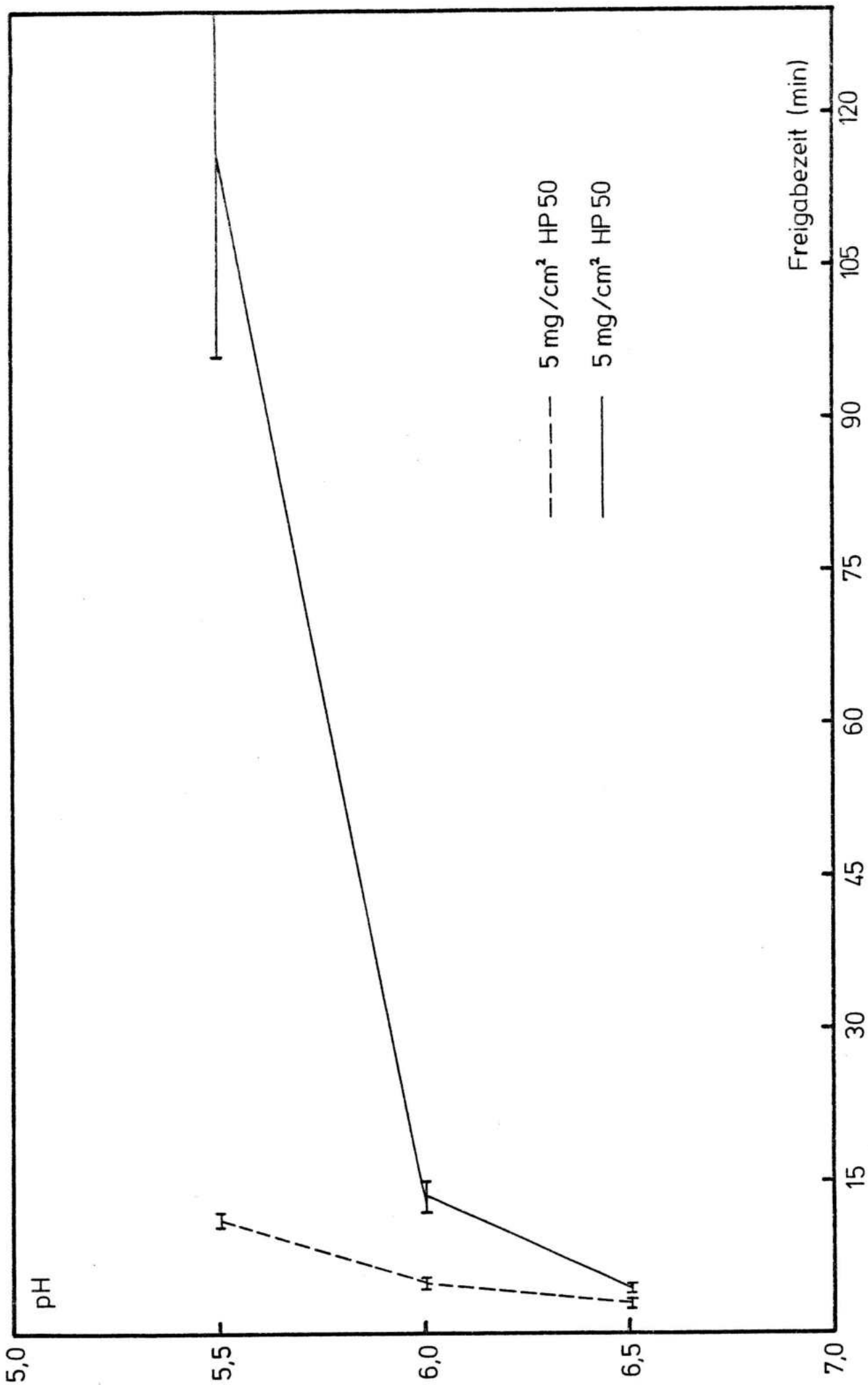


Abb. 4-3: Abhängigkeit der Freigabezeit vom pH-Wert der Prüfliquidität

4.3.3. Diskussion

4.3.3.1. Abhängigkeit der Wirkstoff-Freigabe von der Auftragsmenge

Vergleich zwischen HP-50- und CAP-Überzügen

(Abb. 4-2)

Es zeigen sich interessante Unterschiede im Freigabeverhalten der Filme, die sich mit dem Einfluß der verschiedenen Substituenten auf die Löslichkeit der Überzüge erklären lassen.

Während CAP aufgrund seiner Acetylgruppen hydrophob ist, ermöglichen die hydrophilen Methoxy- und Hydroxypropoxy-Gruppen die Solvataion des HP-50 im wäßrigen Medium und beeinflussen damit die Ionisation der Carboxylgruppen des HP-50 positiv. Durch diese Erhöhung der aktuellen Ionisation lösen sich die Überzüge aus HP-50 in der verwendeten Pufferlösung von pH 6,5 insgesamt schneller als die aus CAP, bzw. man benötigt zur Erzielung gleicher Auflösungszeiten bei HP-50 Filme größerer Schichtdicken.

Da HP-50 durch seine hydrophilen Reste Eigenplastizität besitzt, tritt zusätzlich in wäßrigem Milieu ein Erweichungseffekt hinzu, der allerdings erst bei größeren Schichtdicken (bei Auftragsmengen über 10 mg / cm^2) die Lösungsgeschwindigkeit im Sinne einer schnelleren Wirkstoff-Freigabe maßgebend beeinflusst.

Dies führt dazu, daß die Funktionskurve der Freigabezeit von CAP in Abhängigkeit von der Auftragsmenge einen **l i n e a r e n** Verlauf (Kurve 1), die von HP-50 dagegen einen **n i c h t l i n e a r e n** (Kurve 2) aufweist, der bei Schichtdicken über 10 mg / cm^2 Auftragsmenge deutlich manifest wird. Bei Überzügen aus HP-50 verringert sich also die Zunahme der Freigabezeit mit ansteigender Schichtdicke.

Während sich die Funktionskurve von CAP mit und ohne Weichmacher durch die Gleichung einer Gerade mathematisch darstellen läßt, kann der Verlauf der HP-50-Kurve (ohne Weichmacher) folgendermaßen formuliert werden:

$$y = 0,65 x + 0,65 - 0,011 x^2$$

y = Freigabezeit

x = Auftragsmenge in mg / cm^2

Der Subtrahent $0,011 x^2$ stellt den "Plastizitätsterm" von HP-50 unter den gegebenen Versuchsbedingungen dar. Der Funktionsgleichung liegen Einzelwerte zugrunde, die innerhalb der Standardabweichungen der Mittelwerte liegen.

Es handelt sich bei der angegebenen Funktionsgleichung um ein mathematisches Modell, das für jede neue Bedingung neu zu formulieren wäre.

Die Untersuchungen an Überzügen mit Weichmachern zeigen, daß deren Zusatz keinen nennenswerten Einfluß auf die Freigabegeschwindigkeit ausübt (Kurven 1a und 2a).

4.3.3.2. Abhängigkeit der Wirkstoff-Freigabe vom pH-Wert (Abb. 4-3)

Es zeigt sich, daß Überzüge aus HP-50 in allen verwendeten Pufferlösungen insgesamt schneller gelöst werden als solche aus CAP. Der Polaritätsunterschied und der damit verbundene Plastizitätsunterschied der beiden Substanzen tritt erwartungsgemäß besonders bei pH-Werten im Bereich um pH 5,5 in Erscheinung, wo der Unterschied in der Freigabezeit besonders groß ist.

Da pH-Werte um 5,5 im oberen Dünndarm durchaus physiologisch sind, bietet die Substanz HP-50 gerade im Hinblick auf Verfügbarkeitsprobleme wesentliche Vorteile gegenüber CAP, wenn die rasche Freisetzung eines Wirkstoffs aus einer magensaftresistenten Zubereitung sofort nach Eintritt in den Darm erstrebt wird.

4.4. In-vivo-Untersuchungen der Wirkstoff-Freigabe
mit Hilfe der pH-Endoradiosonde

4.4.1. Methodik

Für die In-vivo-Untersuchungen wurden Hartgelatine-
steckkapseln (siehe Abschnitt 4.2) mit Weichmacher-
Zusatz verwendet. Jede der zu untersuchenden Gelatine-
kapseln wurde nach dem Gemini-Verfahren (111 - 113) mit
einer pH-Endoradiosonde gekoppelt.



Abb. 4-4: Gelatinekapsel an pH-Endoradiosonde
gekoppelt - Gemini-Verfahren -
(vergrößert - zweifach)

Die pH-Endoradiosonde (Heidelberger Kapsel, Telefunken A.G.) ist ein kleiner verschluckbarer Hochfrequenzsender (8x18 mm), der seine Sendefrequenz in Abhängigkeit vom pH-Wert seiner Umgebung ändert. Das die Sendefrequenz bestimmende pH-Meßsystem des Senders besteht aus einer außen angebrachten und als Meßelektrode dienenden Antimon-Ringelektrode und einer Silberchlorid-Bezugselektrode, die zugleich als Batterielektrode dient. Die zwischen den beiden Elektroden bestehende Potential-Differenz ist abhängig vom pH-Wert an der äußeren Antimon-Elektrode und wird als frequenzmodulierte Meßspannung einem Transistor zugeführt. Die frequenzmodulierte Ausstrahlung des Senders, die somit abhängig vom pH-Wert an der Antimon-Elektrode ist, wird von einer Gürtelantenne aufgenommen, die um den Leib der Versuchsperson gelegt ist. Die von der Antenne aufgenommene Strahlung wird von einem Empfänger verstärkt, umgeformt und von einem Schreiber registriert.

Die Inbetriebnahme des Senders erfolgt durch Aktivierung seiner Batterie, indem man den Sender in 0,9 % NaCl-Lösung einbringt. Sodann wird das Sende-Kapsel-Empfänger-System mit Hilfe von Pufferlösungen von pH 1 und pH 7 geeicht.

Die Ergebnisse beziehen sich auf Untersuchungen mit 5 gesunden Probanden, die 6 Stunden vor Beginn der Versuche keine feste Nahrung zu sich genommen hatten.

Der Beginn der Wirkstoff-Freigabe ist die Zeit, die die Gelatine kapsel braucht, um nach Eintritt in den Dünndarm den inkorporierten Wirkstoff freizugeben.

4.4.2. Ergebnis

In Abbildung 4-5 sind einige Originalkurven nach Applikation von Gelatinekapiteln mit HP-50-Überzügen exemplarisch dargestellt. Die Ergebnisse der In-vivo-Untersuchungen sind in den Tabellen 4-3 und 4-4 und in Abbildung 4-6 aufgeführt.

Tab. 4-3: Einfluß der Auftragsmenge von CAP auf die Freigabezeit in vivo (111)

| Auftragsmenge von CAP (mg/cm ²) | Anzahl der Versuche | Beginn der Wirkstoff-Freigabe im Darm Grenzwerte in min | Mittelwert (min) |
|---|---------------------|--|------------------|
| 2 | 5 | 2 - 18 | 8 |
| 5 | 3 | 38 - 50 | 44 |
| 10 | 2 | 45 - 65 | 55 |
| 20 | 3 | 150 - 160 | 154 |

Tab. 4-4: Einfluß der Auftragsmenge von HP-50 auf die Freigabezeit in vivo

| Auftragsmenge von HP-50 (mg/cm ²) | Anzahl der Versuche | Beginn der Wirkstoff-Freigabe im Darm Grenzwerte in min | Mittelwert (min) |
|---|---------------------|--|------------------|
| 2 | 3 | 7 - 13 | 9 |
| 5 | 4 | 5 - 40 | 22 |
| 7,5 | 4 | 15 - 40 | 27 |
| 10 | 6 | 10 - 120 | 68 |
| 20 | 5 | 45 - 105 | 65 |
| 40 | 4 | 40 - 90 | 75 |

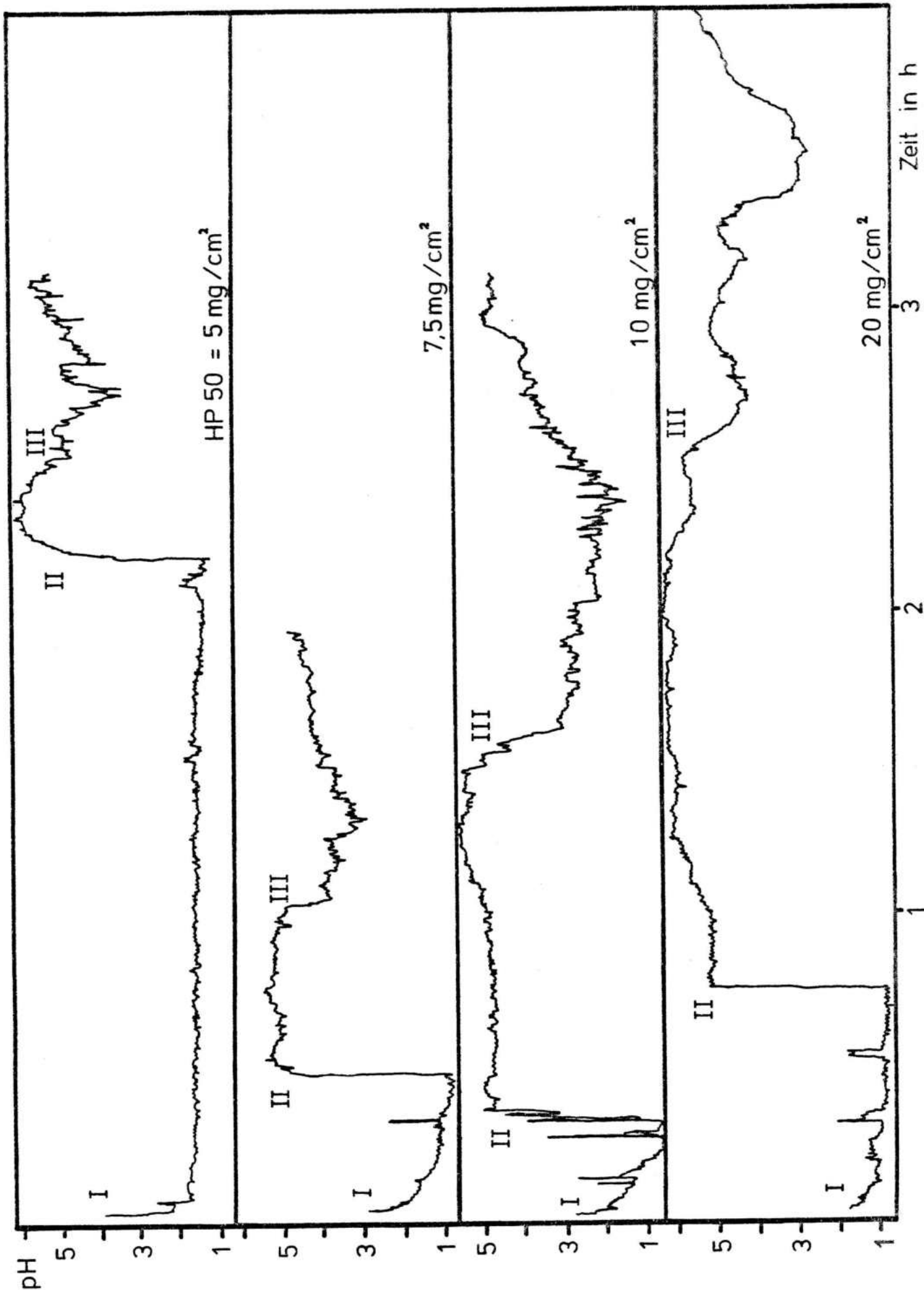


Abb. 4-5: Wirkstoff-Freigabe in Abhängigkeit von der Überzug-Auftragsmenge HP-50 (Originalkurven der pH-Endoradiosonde)
I - Eintritt der Kapsel in den Magen
II - Eintritt in das Duodenum
III - Beginn der Wirkstoff-Freigabe

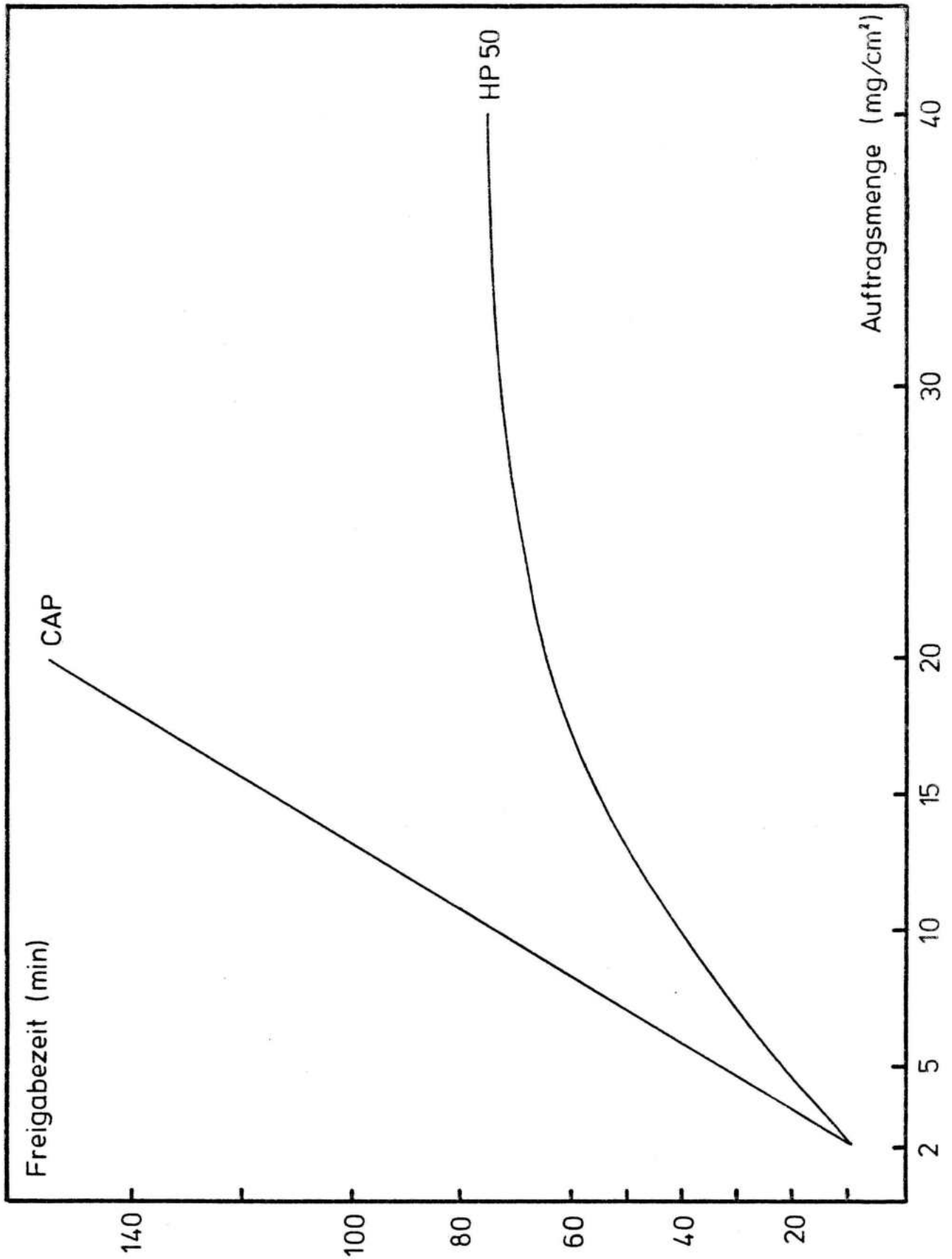


Abb. 4-6: Abhängigkeit der Freigabezeit von der Auftragsmenge (Bestimmung in vivo mit der pH-Endoradiosonde)

4.4.3. Diskussion

Im Hinblick auf die Abhängigkeit der Freigabezeit von der Auftragsstärke zeigt sich eine weitgehende Übereinstimmung der In-vivo-Ergebnisse mit den In-vitro-Resultaten, vor allem in Bezug auf den für den jeweiligen Filmüberzug charakteristischen Kurvenverlauf (siehe Abb. 4-2, 4-6). Während die CAP-Kurve linear mit der Auftragsstärke ansteigt, nimmt die Funktionskurve der HP-50-Überzüge mit zunehmender Schichtdicke einen asymptotischen Verlauf, sie geht ab einer Auftragsmenge von $20 \text{ mg} / \text{cm}^2$ nahezu in die Horizontale über. Die Freigabezeit nimmt also nicht-proportional zur Schichtdicke zu und läßt sich oberhalb der Auftragsmenge von $20 \text{ mg} / \text{cm}^2$ durch eine Verstärkung des Films nicht mehr verlängern. Dieser Effekt ist in vivo viel stärker ausgeprägt als in vitro, wobei dies vor allem darauf zurückzuführen sein dürfte, daß in vivo wegen der langen Verweildauer der Kapseln im Medium des Gastro-Intestinal-Traktes die oben erwähnten Einflußgrößen, insbesondere der durch die Plastizitätseffekte erhöhte aktuelle Ionisationsgrad von HP-50, wesentlich stärker in Erscheinung treten können.

Die Ergebnisse zeigen übereinstimmend, daß bei Verwendung für eine Zubereitung der Feststoff-Dispersion Digoxin/Hydroxypropyltheobromin ein HP-50-Überzug einem solchen aus CAP vorzuziehen ist, da die mit HP-50 über-

zogenen Kapseln den Wirkstoff bei allen gebräuchlichen Schichtdicken über 2 mg / cm^2 Auftragsmenge wesentlich schneller freigeben und dadurch eine günstigere Voraussetzung für eine optimale Digoxin-Verfügbarkeit bieten.

Außerdem haben Schwankungen des pH-Wertes zwischen 5,0 und 6,5, die physiologisch die Norm sind, auf die Löslichkeit des HP-50 einen wesentlich geringeren Einfluß als auf die des CAP. Bei Filmüberzügen aus CAP ist die Freigabezeit nach Absinken des pH's unter 6,0 stark verzögert, wodurch bei Verwendung für Digoxin-Zubereitungen die Freigabe des Glykosids aus der magensaftresistenten Darreichungsform und damit die Verfügbarkeit des Wirkstoffs nicht mehr zu steuern wäre. Deshalb ist vor allem in Hinblick auf die geringe therapeutische Breite des Digoxin eine magensaftresistente Überzugsubstanz mit der Freigabecharakteristik des HP-50 vorzuziehen.

5. Experimenteller Teil

5.1. Dünnschichtchromatographische Untersuchungen
der Digoxin-Zubereitungen

Als Chromatographierplatten wurden Kieselgel-Fertigplatten mit Fluoreszenzindikator, 20 x 20 (Merck K 60 - F 254), verwendet.

Es wurden Lösungen von Digoxin (Merck) und Hydroxyalkylxanthinen, sowie von Mischungen und Feststoff-Dispersionen aus Digoxin und den einzelnen Hydroxyalkylxanthinen aufgetragen. Als Lösungsmittel diente eine Mischung aus Chloroform und Methanol 1 : 1 (ml / ml). Als Fließmittel wurde die obere Phase einer Mischung von Essigester - Pyridin - Wasser, 5 : 1 : 4 (ml / ml), verwendet.

Nach dem Entwickeln wurden die Platten 3 Minuten lang auf 100° C erhitzt.

Unter UV-Bestrahlung zeigten die Hydroxyalkylxanthine blaue Fluoreszenz.

Zur Detektion des Digoxin wurden die Platten mit einer gesättigten Lösung von Antimontrichlorid in Chloroform besprüht. Nach kurzem Erhitzen der besprühten Platten nahmen die Digoxin-Flecken eine graue Färbung an.

5.2. Prüfung der Digoxin-Zubereitungen
auf Gehalt und Homogenität

Zur Erstellung von Eichkurven wurde nach Vorschrift des DAB 7 - DDR (62) 1 mg Digoxin in 25 ml Methanol gelöst und von dieser Stammlösung entsprechende Verdünnungen hergestellt. 5,00 ml dieser Lösungen wurden jeweils mit 15,00 ml Natriumpikrat-Reagenzlösung versetzt und mit Methanol zu 25,00 ml aufgefüllt. Nach Zusatz der Reagenzlösung wurde die Lösung 20 Minuten unter Lichtausschluß aufbewahrt und in einer Schichtdicke von 1 cm bei 20° C und einer Wellenlänge von 490 nm gegen einen Leerwert gemessen (Zeiss-Photometer PMQ 3). Die Messungen wurden in Abständen von 5 Minuten je zweimal wiederholt. Die höchste ermittelte Extinktion wurde den Berechnungen zugrunde gelegt.

Die verwendeten Hydroxyalkylxanthine störten die quantitative Bestimmung nicht.

Natriumpikrat-Reagenzlösung

1,8 g Pikrinsäure werden in 50 ml Äthanol (96 % Vol.) und 30 ml Wasser in einem 100 ml-Meßkolben gelöst. Nach Zufügen von 12,5 ml 0,1 N-Natronlauge wird mit Wasser aufgefüllt.

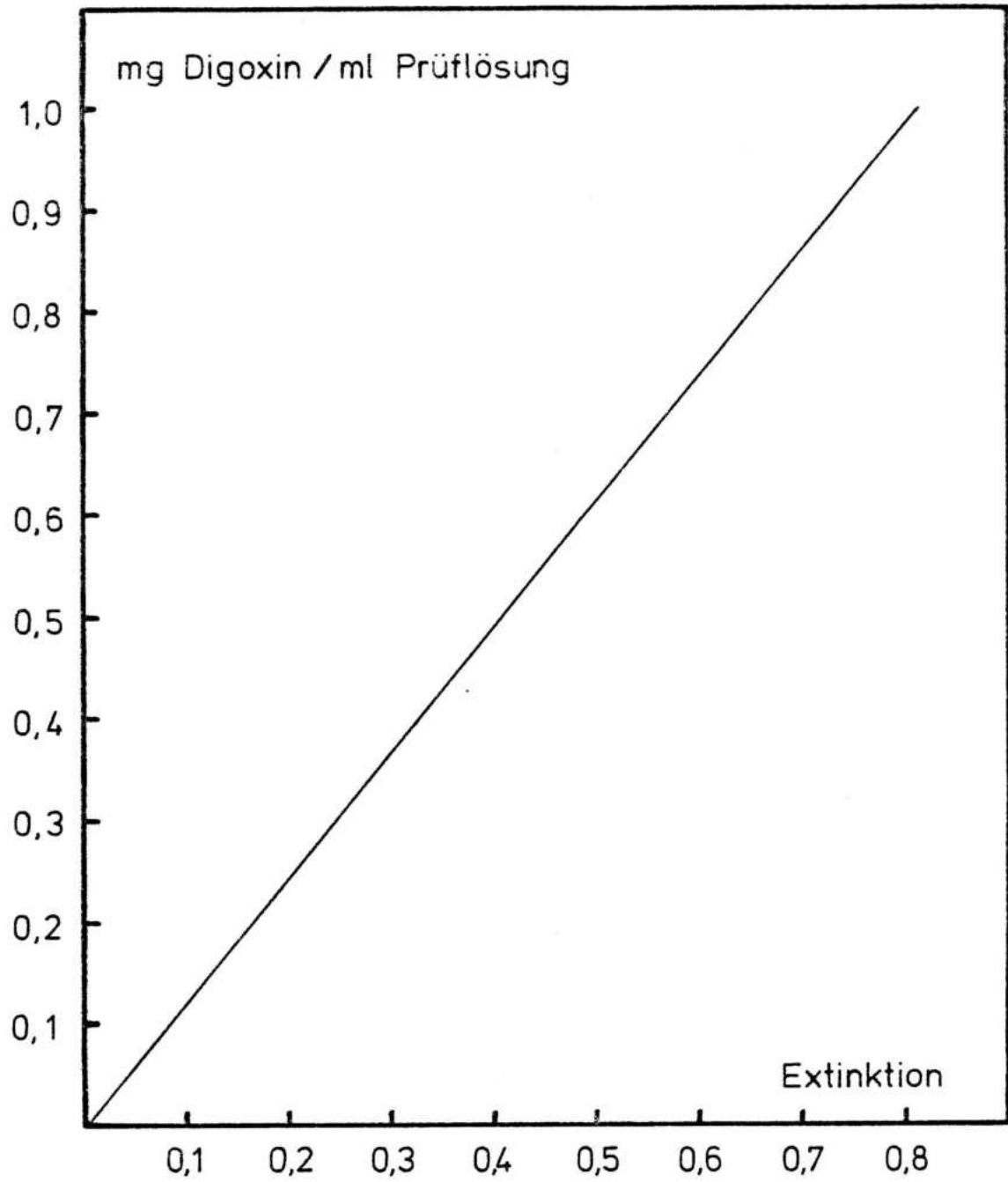


Abb. 5-1: Eichkurve von Digoxin (siehe Abschnitt 5.2)

5.3. Bestimmung der Digoxin-Löslichkeit und
-Lösungsgeschwindigkeit

Als Auflösungsapparatur wurde eine modifizierte Apparatur nach SOUDER und ELLENBOGEN (63) verwendet. Bei dieser Apparatur drehen sich 30 genormte Untersuchungs-
gläser in einem Wasserbad bei einer kontinuierlichen
Umdrehungsgeschwindigkeit kopfüber um eine waagerechte
Achse. Die Untersuchungsgläser sind mit Glasstopfen
versehen und haben eine Länge ohne Stopfen von 14 cm
und einen inneren Durchmesser von 1,5 cm. Ihr Fassungs-
vermögen beträgt 20 ml einer wäßrigen Lösung.

Das Lösungsmedium - künstlicher Duodenalsaft ohne
Enzyme, pH 6,5 - hatte folgende Zusammensetzung:

| | | |
|--|----|----------|
| $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ | | 3,56 g |
| $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ | | 7,28 g |
| Wasser | ad | 1000 ml. |

Zum Abtrennen gelösten Digoxins von ungelöster Substanz
dienten Membranfilter der Porengröße 0,22 μ
(Firma Millipore).

5.4. Infrarotspektroskopische und polarisations-
mikroskopische Untersuchungen der
Digoxin-Zubereitungen

Zur IR-spektroskopischen Untersuchung wurden Preßlinge der zu testenden Zubereitungen mit Kaliumbromid zur Spektroskopie (Merck) im Massenverhältnis 1 + 200 hergestellt. Die Spektrogramme wurden mit einem Grating Infrared Spectrometer 457 von Perkin Elmer aufgenommen.

Die mikroskopischen Untersuchungen wurden mit einem Laboratoriumsmikroskop "Diapan" mit Polarisationsrichtung und Heiztisch (Steuergerät TC 400) der Firma Reichert, Wien, vorgenommen.

5.5. Herstellung von markiertem Digoxin

50 mg Digoxin (Merck), pulverisiert, wurden in 200 ml einer Äthanol-Benzol-Mischung (9 : 1 - ml : ml) bei Raumtemperatur gelöst und mit 0,81 mg Digoxin $[^3\text{H} \text{ (G)}]$ (= 4,46 mCi) - Hersteller: New England Nuclear, Boston - in entsprechender Lösung versetzt.

Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abdestilliert, der Rückstand 30 Minuten im Trockenschrank bei 80° C und 24 Stunden im Vakuum bei Raumtemperatur getrocknet und anschließend pulverisiert.

5.6. Dünnschichtchromatographische Untersuchungen
der ^3H -Digoxin-Zubereitungen

Die DC-Untersuchungen wurden entsprechend den Untersuchungen an nicht markierten Substanzen vorgenommen (siehe Abschnitt 5.1.). Abweichend von dieser Vorschrift wurde als Fließmittel für reines ^3H -Digoxin eine Mischung aus Chloroform und Methanol (9 : 1 - ml / ml) in Anlehnung an die Methodik des Herstellers verwendet (Abb. 3-1). Nach der Bestimmung der Substanzflecken - von Hydroxypropyltheobromin im UV-Licht, von Digoxin nach Besprühen mit gesättigter chloroformiger Antimon-(III)chlorid-Lösung - wurden die radioaktiven Zonen der Chromatogramme mit einem Radiochromatogramm-Scanner (LB 2721, Fa. Berthold, Wildbad) aufgezeichnet.

5.7. Applizierte Zubereitungen

Die verschiedenen Zubereitungen wurden mittels Schlundsonde verabreicht.

5.7.1. ^3H -Digoxin-Lösung

Pro 100 g Körpergewicht wurde 1 ml einer Lösung von 0,25 mg ^3H -Digoxin / ml Lösungsmittel appliziert. Als Lösungsmittel wurde eine Mischung aus Äthanol (96 %)

und Wasser - 1 + 1 (ml / ml) - verwendet, in die die entsprechende Menge feinst gepulverten ^3H -Digoxins eingegeben wurde. Die Mischung wurde bis zur vollständigen Lösung des Glykosids 12 Stunden bei Raumtemperatur geschüttelt.

5.7.2. ^3H -Digoxin-Suspensionen

Mit derselben Glykosid-Konzentration wie unter 5.7.1. beschrieben (0,25 mg / ml) wurden Suspensionen mit und ohne Zusatz von Hydroxypropyltheobromin hergestellt. Hierzu wurde Methylcellulose in Wasser (0,5 g / 100 ml) eingestreut und zum Quellen 24 Stunden in der Kälte stehen gelassen.

12 Stunden vor Applikation wurde die entsprechende Menge feinst gepulverten ^3H -Digoxins in das Suspensionsmittel eingestreut und durch kontinuierliches Rühren - auch während der Entnahme mit der Schlundsonde - homogen verteilt.

Zur Herstellung der Suspension mit Hydroxypropyltheobromin-Zusatz wurden je ml Suspension 25 mg des Hydroxyalkylxanthin-Derivates gelöst.

5.7.3. Feststoff-Dispersion mit ^3H -Digoxin

Für jedes Tier wurde pro 100 g Körpergewicht 25 mg Feststoff-Dispersion ^3H -Digoxin/Hydroxypropyltheobromin abgewogen und unmittelbar vor der Applikation mit der entsprechenden Menge (1 ml / 25 mg) Leitungswasser versetzt.

Die Feststoff-Dispersion löste sich sofort vollständig klar im Lösungsmittel.

5.8. Tiermaterial

Männliche Wistar-Ratten, 150 - 170 g, wurden von der Firma Wünderlich, Altenberge, geliefert und mit Altromin-Trockenfutter und Leitungswasser gefüttert.

5.9. Aufbereitung und Messung der Blutproben

50 μl Vollblut wurden sofort nach der Gewinnung in einem Kunststoff-Szintillations-Meßgerät (Fa. Zinsser) mit 1 ml Soluene-350 (special tissue solubilizer, "Packard") versetzt. Nach leichtem Umschütteln wurde die Mischung 24 Stunden bei 50° C bis zur vollständigen Lösung des Blutes inkubiert. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurden 0,2 ml Isopropanol und 0,2 ml Wasserstoffperoxid

(30 %) hinzugegeben, der Schraubverschluß des Meßgefäßes wurde nur leicht aufgedreht, die Probe vorsichtig geschüttelt und 2 Std. bei 40° C inkubiert. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurden 15 ml Permablend III als Szintillationsflüssigkeit zugegeben.

- Herstellung von Permablend III: 5,5 g Permablend III "Packard" (91 % PPO = 2,5 Diphenyloxazol; 9 % bis MSB = p-bis-(o-Methylstyryl)-Benzol) werden in 1 l Toluol gelöst. -

Nach 24 Std. Gleichgewichtseinstellung wurde die Probe im Flüssigkeitszintillationsmesser (Isocap 300, Fa. Nuclear Chicago) gegen einen inneren Standard (Tritiiertes Toluol "Packard") gemessen. Die Meßzeit betrug jeweils 20 Minuten.

5.10. Aufbereitung der Urinproben

Urin wurde über Zeitintervalle bis zu 144 Stunden nach Applikation gesammelt, durch Papierfilter klar filtriert und auf ein bestimmtes Volumen mit Wasser aufgefüllt.

100 µl einer solchen Urinverdünnung wurden im Zählgefäß mit 15 ml Flüssigkeitszintillator-Fertiglösung Instagel (Fa. Packard) gemischt und nach 2 Stunden Gleichgewichtseinstellung gegen einen inneren Standard gemessen.

6. Zusammenfassung

Die Resorption von Digoxin, speziell nach peroraler Applikation fester Zubereitungen, ist bekanntlich uneinheitlich und unvollständig und stellt somit wegen der geringen therapeutischen Breite des Glykosids einen erheblichen Risikofaktor der Digitalistherapie dar. Die Ursachen hierfür liegen primär in der Schwerlöslichkeit und Säureempfindlichkeit des Pharmakons.

Mit der vorliegenden Arbeit wurde der Versuch unternommen, einen Beitrag zur Lösung dieser Verfügbarkeitsprobleme zu leisten.

Zur Erhöhung der Digoxin-Löslichkeit als Voraussetzung für eine quantitative Resorption wurde das System der Feststoff-Dispersionen angewandt, wobei als Trägersubstanzen für das schwerlösliche Glykosid erstmalig keine pharmakodynamisch inerten Stoffe, sondern solche mit zum Digoxin synergistischer Wirkung, nämlich leicht wasserlösliche Hydroxyalkylxanthine, vorgeschlagen wurden. Die Herstellung dieser Systeme erfolgte nach dem Schmelzverfahren; zur Charakterisierung ihrer solubilisierenden Eigenschaften wurden Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit des Digoxin bestimmt.

Von vier untersuchten Systemen mit verschiedenen Hydroxyalkylxanthinen erwies sich die Feststoff-Dispersion aus Digoxin und Hydroxypropyltheobromin (Massen-

verhältnis 1 + 100) in Bezug auf ihre solubilisierenden Eigenschaften als optimal, es wurde hiermit schnelle und vollständige Glykosid-Löslichkeit erreicht.

Als Ursache für die Solubilisation wurde neben der direkten lösungsvermittelnden Wirkung des Hydroxyalkyl-xanthin-Derivates der physikalische Zustand der Zubereitung, nämlich amorphe oder molekulare Verteilung des Digoxin im kristallinen Träger, wahrscheinlich gemacht, wodurch in wäßrigem Milieu ein übersättigtes System molekular und kolloidal gelösten Digoxins zustande kommt.

Im Tierversuch an der Ratte wurde nach Verfütterung von galenischen Zubereitungen mit tritiummarkiertem Digoxin nachgewiesen, daß die erhöhte Löslichkeit des Glykosids der Feststoff-Dispersion im Vergleich zu analog zusammengesetzten physikalischen Mischungen und zu reinem Digoxin eine wesentlich verbesserte In-vivo-Verfügbarkeit bedingt.

Feste Zubereitungen des hydrolyseempfindlichen Digoxin werden zum Schutz vor der Magensäure häufig mit magensaftresistenten Filmüberzügen beschichtet. Da Digoxin nur im Duodenum optimal resorbiert wird, ist ein Überzug notwendig, der das Glykosid sofort nach Verlassen des Magens optimal freigibt.

Es waren deshalb Untersuchungen zur Frage der Wirkstoff-Freigabe bei magensaftresistent überzogenen Darreichungsformen erforderlich. Hierzu wurden Hartgelatinekapselformen verwendet, die einerseits mit Celluloseacetatphthalat (CAP), andererseits mit Hydroxypropylmethylcellulosephthalat (HP-50) überzogen waren. Für diese Arzneiformen wurde die Abhängigkeit der Wirkstoff-Freigabe von der Schichtdicke der Filmüberzüge und vom pH-Wert des Lösungsmediums in vitro bestimmt und die Versuchsergebnisse mit Resultaten verglichen, die am Menschen mit der pH-Endoradiosonde ermittelt wurden. Hierbei zeigte sich, daß für die Digoxin-Medikation HP-50 als magensaftresistente Überzugssubstanz vorzuziehen ist. Als charakteristische Unterschiede zwischen HP-50 und CAP wurde festgestellt, daß Überzüge aus HP-50 bei den physiologischen pH-Werten des oberen Dünndarms wesentlich schneller als solche aus CAP den inkorporierten Wirkstoff freigeben. Zum anderen nimmt die Freigabezeit von mit HP-50 überzogenen Kapseln nichtproportional, bei CAP proportional zur Schichtdicke zu. Das unterschiedliche Freigabeverhalten wurde auf die im Vergleich zu CAP besseren Plastizitätseigenschaften des HP-50 zurückgeführt, die auf dessen andersartigen chemischen Struktur beruhen.

7. Literaturverzeichnis

1. OSER, B.L., MELNICK, D., HOCHBERG, M.:
Ind.Eng.Chem., Anal.Ed. 17, 405 (1945)
2. LEVY, G., in "Prescription Pharmacy" von J.B. SPROWLS,
S. 31 - 94, Lippincott Co., Philadelphia (1963)
3. RITSCHER, W.A.: "Angewandte Biopharmazie", S. 199,
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1973)
4. SCHNIEDERS, B.: Arzneim.Forsch. 26, 158 (1976)
5. STRICKER, H.: Pharm. Ind. 36, 198 (1974)
6. WAGNER, J.G.: "Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics", S. 12, Drug Intelligence Publications, Hamilton, Ill. (1971)
7. CURRY, S.H.: "Drug Disposition and Pharmacokinetics", S. 114, Blackwell Scientific Publications, Oxford (1974)
8. DENGLER, H.J.: Intern. 15, 13 (1974)
9. GARRETT, E.R.: zit. bei K.H. Frömming, Pharm. Ztg. 121, 1633 (1976)
10. WEBER, E., GUNDERT-REMY, U.: Arzneim.Forsch. 25, 1158 (1975)
11. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, Washington (1973),
zit. bei K.H. Frömming, Pharm.Ztg. 121, 1633 (1976)
12. DIBBERN, H.-W., WIRBITZKI, E.: Pharm.Ztg. 116, 1848 (1971)

13. STRICKER, H.: Pharm.Ind. 38, 232, 289 (1976)
14. BOZLER, G.: zit. bei K.H. Frömming, Dtsch.Ap.Ztg. 117, 544 (1977)
15. RITSCHER, W.A.: "Angewandte Biopharmazie", S. 591 - 596, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1973)
16. WAGNER, J.G.: "Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics", S. 133 - 139, Drug Intelligence Publications, Hamilton, Ill. (1971)
17. WAGNER, J.G.: Amer.Heart J. 88, 133 (1974)
18. COLAIZZI, J.L.: J.Amer.Pharm.Ass. NS 15, 43 (1975)
19. RIETBROCK, N.: Arzneim.Forsch. 26, 135 (1976)
20. SIM, S.K.: Amer.J.Hosp.Pharm. 33, 44 (1976)
21. WITHERING, W.: "An Account of the Foxglove, and Some of its Medical Uses: With Practical Remarks on Dropsy and Other Diseases" in "Classics of Cardiology" von F.A. Willius und T.E. Keys (Herausg.), Band 1, S. 231 ff, Henry Schuman, Inc., New York (1941)
22. SMITH, S.: J.Chem.Soc. 1930, 508
23. SCHOLZ, H., in: "Pharmakotherapie-Klinische Pharmakologie" von G. Fülgraff und D. Palm (Herausg.), S. 36, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1975)
24. LINDENBAUM, J., MELLOW, M.H., BLACKSTONE, M.O., BUTLER, V.P.: New Engl.J.Med. 285, 1344 (1971)

25. SHAW, T.R.D., HOWARD, M.R., HAMER, J.: Lancet 1972, II, 303
26. STEWARD, M.J., SIMPSON, E.: Lancet 1972, II, 541
27. LINDENBAUM, J., BUTLER, V.P., MURPHY, J.E., CRESSWELL, R.M.: Lancet 1973, I, 1215
28. JOHNSON, B.F., GREER, H., McCRERIE, J., BYE, C., FOWLE, A.: Lancet 1973, I, 1473
29. JOHNSON, B.F., BYE, C., LADER, S.: Postgrad.Med.J. 50, 62 (1974)
30. SHAW, T.R.D., CARLESS, J.E., HOWARD, M.R., RAYMOND, K.: Lancet 1973, II, 208
31. JOUNELA, A.J., PENTIKÄINEN, P.J., SOTHMANN, A.: Europ.J.Clin.Pharmacol. 8, 365 (1975)
32. CHAMBERLAIN, D.A.: Postgrad.Med.J. 50, 29 (1974)
33. LINGNER, K., KÜSSNER, W.: Arzneim.Forsch. 12, 835 (1962)
34. KASAHARA, K., RUIZ-TORRES, A.: Klin.Wschr. 47, 1109 (1969)
35. KUHLMANN, J., ABSHAGEN, U., RIETBROCK, N.: Naunyn-Schmiedebergs Arch.Pharmacol. 276, 149 (1973)
36. DWENGER, A.: Arzneim.Forsch. 23, 1439 (1973)
37. MARTIN, A.N., SWARBRICK, J., CAMMARATA, A.: "Physikalische Pharmazie", übersetzt von L. Ehrhardt, S. 302, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1975)

38. NOYES, A.A., WHITNEY, W.R.: J.Amer.Chem.Soc. 19, 930 (1897)
39. HIXSON, A.W., CROWELL, J.H.: Ind.Eng.Chem. 23, 923 (1931)
40. MEROTTI, G.C., GHIRARDI, P., MARZO, A., PARENTI, M.A.: Boll.Soc.Ital.Biol.Sper. 50, 1612 (1974)
41. JOHNSON, B.F., BYE, C., LADER, S.: Postgrad.Med.J. 50, 62 (1974)
42. MALLIS, G.I., SCHMIDT, D.H., LINDENBAUM, J.: Clin.Pharmacol.Ther. 18, 761 (1975)
43. JOHNSON, B.F., BYE, C., JONES, G., SABEY, G.A.: Clin.Pharmacol.Ther. 19, 746 (1976)
44. LIN, S.-L., MENIG, J., LACHMAN, L.: J.Pharm.Sci. 57, 2143 (1968)
45. CHIOU, W.L., RIEGELMAN, S.: J.Pharm.Sci. 60, 1281 (1971)
46. GOLDBERG, A.H., GIBALDI, M., KANIG, J.L.: J.Pharm.Sci. 54, 1145 (1965)
47. CHIOU, W.L., RIEGELMAN, S.: J.Pharm.Sci. 60, 1569 (1971)
48. STUPAK, E.I., BATES, T.R.: J.Pharm.Sci. 62, 1806 (1973)
49. NÜRNBERG, E.: Habilitationsschrift, Universität Marburg (1970)
50. NÜRNBERG, E.: Pharm.Ind. 38, 74 u. 228 (1976)
51. REDDY, R.K., KHALIL, S.A., GOUDA, M.W.: J.Pharm.Sci. 65, 1753 (1976)

52. EMICH, R.: Wien.med.Wschr. 110, 665 (1960)
53. RIEDERER, J.: Med.Mschr. 15, 309 (1961)
54. MANNS, K.-J., LEDERBOGEN, K.: Ärztl.Forsch. 19, 493 (1965)
55. UHLENBROOCK, K., SCHWEER, M.: Arzneim.Forsch. 9, 229 (1959)
56. GIERTZ, H. OBERDORF, A., RUMMEL, W.: Arzneim.Forsch. 6, 457 (1956)
57. KUSCHINSKY, G., MUSCHOLL, E.: Arzneim.Forsch. 8, 14 (1958)
58. ABD-ELFATTAH, S., DAABIS, N.A., EL-BANNA, H.M.: Pharm.Ind. 38, 93 (1976)
59. Biochemica Merck, Darmstadt (1976)
60. Compendium Chemikalien Knoll, Ludwigshafen (1969)
61. SEINEGGER, E., VAN DER WALT, J.H.: Pharm.Act.Helv. 36, 599 (1961)
62. DAB 7 - DDR (1964)
63. SOUDER, J.C., ELLENBOGEN, W.C.: Drug.Stand. 26,77 (1958)
64. BALJET, H.: Schweiz.Apoth.Ztg. 56, 71 u. 89 (1918)
65. KÜSSNER, W. REIFF, F., VOIGTLÄNDER, H.W.: Arch.Pharm. 288, 284 (1955)
66. BOLTON, S., GUTTMANN, D., HIGUCHI, T.: J.Amer.Pharm. Ass., Sci. Ed. 46, 38 (1957)
67. ZOGLIO, M.A., MAULDING, H.V.: J. Pharm. Sci. 59, 215 (1970)

68. EL-SHIBINI, H.A.M., ABD-ELFATTAH, S., MOTAWI, M.M.: Pharmazie 27, 570 (1972)
69. ROHDEWALD, P., WELLMANN, H.: Pharm.Ztg. 118, 1440 (1973)
70. PIMENTEL, G.C., McCLELLAN, A.L.: "The Hydrogen Bond", S. 67 ff, W.H. Freeman Comp., San Francisco und London (1960)
71. WILLIAMS, D.H., FLEMING, I.: "Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie", übersetzt von B. Zeeh, S. 55 ff, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1971)
72. HALEBLIAN, J., McCRONE, W.: J.Pharm.Sci. 58, 911 (1969)
73. BELL, F.K.: J.Amer.Pharm.Ass., Sci. Ed. 49, 277 (1960)
74. GOENECHEA, S.: Habilitationsschrift, Universität Bonn (1969)
75. KUHNERT-BRANDSTÄTTER, M.: "Thermomicroscopy in the Analysis of Pharmaceuticals", S. 144, Pergamon Press, Oxford (1971)
76. ECKERT, Th., MÜLLER, J.: "Zur Kinetik des Polymorphie-Verhaltens in unterkühlten Schmelzen von Hydroxy- bzw. Oxo-alkyl-Xanthinen", Diskussionsvortrag, Hauptversammlung der Dtsch.Pharm. Gesellsch., Frankfurt (1976)
77. AMER. PHARM. ASS., Academy of Pharmaceutical Sciences (Herausgeber): "Richtlinien für biopharmazeutische Studien beim Menschen", Washington, D.C. (1972) - deutsche Übersetzung: Medizinisch Pharmazeutische Studiengesellschaft, Frankfurt/M (1975), S. 61

78. NYBERG, L., ANDERSON, K.-E., BERTLER, A.: Acta Pharm. Suecica 11, 471 (1974)
79. FLASCH, H.: Klin.Wschr. 53, 873 (1975)
80. HERMANN, I., REPKE, K.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp.Path.Pharmak. 247, 19 (1964)
81. BARNES, C.D., ELTHERINGTON, L.G.: "Drug Dosage in Laboratory Animals", S. 82, University of California Press, Berkeley und Los Angeles (1966)
82. CHEMIEWERK HOMBURG: Firmenprospekt über Cordabromin-Digoxin, Frankfurt/M (1972)
83. LAUTERBACH, F.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmak. exp.Path. 263, 26 (1969)
84. THER, L.: "Grundlagen der experimentellen Arzneimittelforschung", S. 11, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1965)
85. OCHS, H., BODEM, G., DENGLER, H.J.: Klin.Wschr. 52, 637 (1974)
86. DOST, F.H.: "Grundlagen der Pharmakokinetik", S. 156 ff, Thieme Verlag, Stuttgart (1968)
87. RIETBROCK, N., ABSHAGEN, U., v.BERGMANN, K.: "Rationelle Therapie mit Digoxin und Derivaten, Grundlagen der Therapie", Boehringer Mannheim Schriftenreihe, Mannheim (1972)
88. RIETBROCK, N., ABSHAGEN, U., v. BERGMANN, K., KEWITZ, H.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmacol. 274, 171 (1972)

89. ABSHAGEN, U., v. BERGMANN, K., RIETBROCK, N.:
Naunyn-Schmiedebergs Arch.Pharmacol. 275, 1 (1972)
90. BUCHTELA, K., HACKL, H., KÖNIGSTEIN, M.,
SCHLÄGER, J.: Wien.Med.Wschr. 118, 86 (1968)
91. v. BERGMANN, K., ABSHAGEN, U., RIETBROCK, N.:
Naunyn-Schmiedebergs Arch.Pharmacol. 273, 154 (1972)
92. SANCHEZ, N., SHEINER, L.B., HALKIN, H., MELMON, K.L.:
Br.Med.J. 4, 132 (1973)
93. BATEMAN, H.: Proc.Cambridge Phil.Soc. 15, 423 (1910)
94. RITSCHHEL, W.A.: "Angewandte Biopharmazie", S. 93 f,
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart
(1973)
95. GLADTKE, E., v. HATTINGBERG, H.M.: "Pharmakokinetik",
S. 15 ff, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-
New York (1973)
96. DOHERTY, J.E., PERKINS, W.H., MITCHELL, G.K.:
Arch.Intern.Med. 108, 87 (1961)
97. GREENBLATT, D.J., DUHME, D.W., KOCH-WESER, J.,
SMITH, T.W.: N.Engl.J.Med. 289, 651 (1973)
98. HUFFMANN, D.H., AZARNOFF, D.L.: J.Amer.Med.Assoc.
22, 957 (1972)
99. BODEM, G., WIRTH, K., OCHS, H.: Inn.Med. 2, 110 (1975)
100. GROSSE-BROCKHOFF, F., zitiert bei Wolf, S.:
Pharm.Ztg. 122, 728 (1977)

101. DEUCHER, P.: Dtsch.Arch.Klin.Med. 58, 47 (1897)
102. KRONEBERG, G.: Naunyn-Schmidebergs Arch.exp.Path. Pharmak. 237, 222 (1959)
103. HENNING, N., KINZLMEIER, H., KIMBEL, K.H.: Gastroenterologia 81, 284 (1954)
104. Katalog Pharmazeutischer Hilfsstoffe, Basel (1974)
105. TANABE SEIYAKU CO. LTD.: Firmenprospekt über MPM-05, Osaka (1971)
106. ROTHGANG, G.: Pharm.Ind. 29, 869 (1967)
107. CORDES, G.: Pharm.Ind. 31, 328 (1969)
108. RITSCHHEL, W.A.: "Angewandte Biopharmazie", S. 400, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1973)
109. SHINETSU CHEMICAL CO.: Firmenprospekt über HPMCP, Tokyo (1970)
110. EHRHARDT, L., HARTMANN, V., PATT, L.: Apoth.Ztg. 112, 2005 (1972)
111. ECKERT, Th., CORDES, G., SEIDEL, R.: Arzneim. Forsch. 21, 1403 (1971)
112. ECKERT, Th., ROTHGANG, G., SEIDEL, R.: Arzneim. Forsch. 18, 372 (1968)
113. ECKERT, Th., WIDMANN, A., SEIDEL, R.: Arzneim. Forsch. 19, 821 (1969)

Die vorliegende Arbeit wurde unter Anleitung von Herrn Professor Dr. Th. Eckert am Institut für Pharmazeutische Technologie der Westfälischen Wilhelms-Universität erstellt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Th. Eckert für die Überlassung des Themas, die zahlreichen Anregungen und Diskussionen und die überaus freundliche Unterstützung während der Anfertigung dieser Dissertation.

Herrn Professor Dr. Dr. h.c. K. E. Schulte danke ich für die Anregungen zur Durchführung der Tierversuche und für die Möglichkeit, daß diese Untersuchungen im Isotopenlabor des Instituts für Pharmazeutische Chemie der Westfälischen Wilhelms-Universität vorgenommen werden konnten.

Herrn Dr. G. Henke und Frl. G. Meyer möchte ich für die Anleitung und Unterstützung bei den tierexperimentellen Versuchen herzlich danken.

Dem Verband der Chemischen Industrie sei für das Chemiefonds-Stipendium für Doktoranden aus der Stiftung Stipendien-Fonds ebenfalls gedankt.

Lebenslauf

Günter Ollenschläger

geboren am

3. März 1951

in

Bonn - Beuel

Familienstand

verheiratet seit 23. 5. 1975 mit
Ingrid Ollenschläger, geb. Müller

Eltern

Dipl.-Kaufmann Dr. rer. pol.
Günter Ollenschläger und
Hildegard, geb. Klein

Ausbildungsgang

1957 - 1961

Kath. Volksschule Troisdorf

1961 - 1969

Staatl. Gymnasium Siegburg

10. 6. 1969

Reifeprüfung in Siegburg

Sept. 1969 - Aug. 1971

Apothekerpraktikant in der
Alten Apotheke in Troisdorf

15. 9. 1971

Pharmazeutische Vorprüfung in Köln

Okt. 1971 - April 1975

Studium der Pharmazie in Münster

ab Okt. 1973

Studium der Medizin

11. 10. 1973

1. Abschnitt der Pharmazeutischen
Prüfung

8. 4. 1975

2. Abschnitt der Pharmazeutischen
Prüfung

1. 5. 1975

Beginn der Dissertation am Institut
für Pharmazeutische Technologie der
Universität Münster bei Prof.
Dr. Th. Eckert

30. 5. 1975

Approbation zum Apotheker

31. 8. 1977

Ärztliche Vorprüfung