

**Lipidartige Formulierungen zur Verbesserung  
der Bioverfügbarkeit schwer löslicher  
Arzneistoffe**

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades  
der Naturwissenschaften

Vorgelegt beim Fachbereich Chemische und Pharmazeutische  
Wissenschaften der Johann Goethe-Universität  
in Frankfurt am Main

Von  
Karen Schamp  
aus Mainz

Frankfurt 2002  
(D F 1)

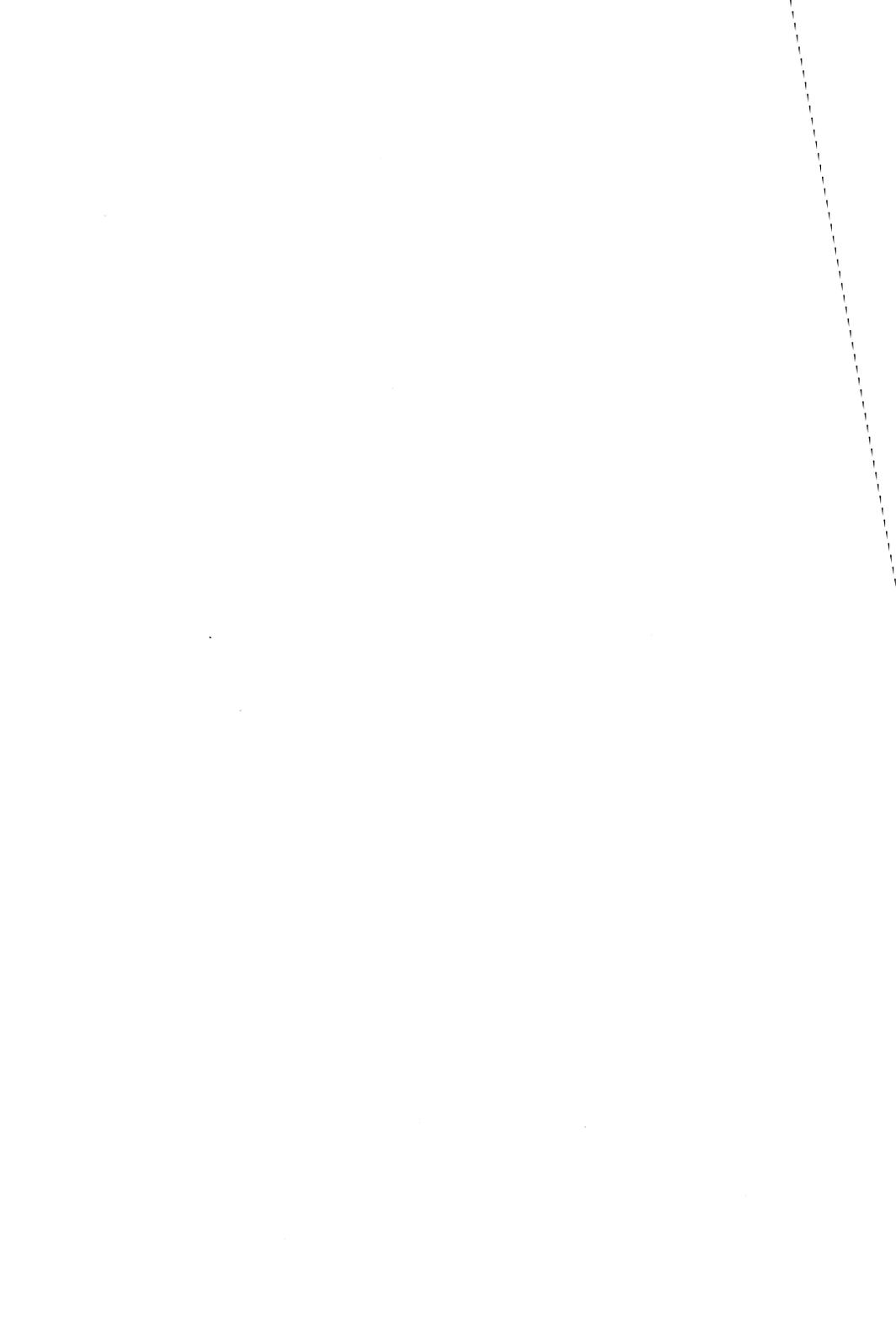
Vom Fachbereich Chemische und Pharmazeutische  
Wissenschaften der Johann Wolfgang Goethe-Universität  
als Dissertation angenommen.

Dekan: Herr Prof. Dr. W. E. Müller

Gutachter: Frau Prof. Dr. J. B. Dressman  
Herr Prof. Dr. B.C. Lippold

Datum der Disputation: 08. Oktober 2002

**Meinen Eltern**



Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Oktober 1998 bis Oktober 2001 in der Merck KGaA in Darmstadt in Zusammenarbeit mit der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main unter der Leitung von Frau Professor Dr. Jennifer B. Dressman.

Ich danke Frau Prof. J.B. Dressman sehr herzlich für die interessante Themenstellung, ihre stets motivierende Begeisterung und fachliche Unterstützung in allen Stadien meiner Arbeit und die höchst angenehme und freundliche Atmosphäre, die sie in ihrem Arbeitskreis verbreitet und in deren Genuss ich bei jedem Besuch in Frankfurt und mehreren gemeinsamen Kongressteilnahmen kommen durfte.

Meinem firmeninternen Betreuer Herrn Dr. Sven-Alexander Schreder danke ich für die Bereitstellung hervorragender Arbeitsbedingungen, die gewährte Freiheit bei der Gestaltung der Arbeit, seine unkomplizierte Art und eine gute Zusammenarbeit.

Ein herzlicher Dank geht an die Mitarbeiter der Merck KGaA für ihre stete Hilfsbereitschaft bei allen technischen und analytischen Fragestellungen, die mir während der drei Jahre begegneten. Ganz besonders möchte ich mich an dieser Stelle bei Frau Kerstin Ammer, Herrn Thomas Frank, Herrn Reiner Vonderschmitt und Frau Claudia Wildner bedanken!

Allen Mitgliedern des Arbeitskreises danke ich für die schönen Stunden in Frankfurt, München, Paris, Eisenach und Denver und die zahlreichen Tassen Kaffee, die wir in gemütlicher Runde getrunken haben.

Den Korrekturlesern dieser Arbeit Herrn Thomas Frank, Frau Ingrid Kilian, Herrn Stefan Kohn und Herrn Christian Leuner sei ganz herzlich für das gewissenhafte Lesen der Arbeit und ihre kritischen Kommentare gedankt.

Frau Dr. T. Kurz danke ich für die Überlassung der Exceltabelle nach Fedors.

Ich danke der Firma Merck für die Finanzierung dieser Arbeit und die Ermöglichung mehrerer Kongressteilnahmen.



## Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	I
Abbildungsverzeichnis .....	IX
Tabellenverzeichnis .....	XIII
Abkürzungsverzeichnis .....	XV
1 Einleitung .....	1
1.1 Die Löslichkeitsproblematik .....	1
1.2 Allgemeine Ansätze in der Löslichkeitsproblematik .....	4
1.3 Lipidartige Hilfsstoffe .....	7
1.4 Lipidartige Arzneiformen im Produktionsmaßstab.....	10
1.5 In-vitro- und In-vivo-Prüfung von schwer löslichen Arzneistoffen .....	11
1.5.1 Ziel von In-vitro-In-vivo-Korrelationen .....	11
1.5.2 Simulation der in Vivo-Bedingungen.....	12
2 Zielsetzung .....	15
3 Materialien und Methoden .....	17
3.1 Verwendete Materialien .....	17
3.1.1 Arzneistoffe.....	17
3.1.2 Lösungs- und Fließmittel .....	17
3.1.3 Materialien zur Herstellung der Formulierungen .....	18
3.1.4 Materialien zur Herstellung der Freisetzungsmitteln .....	19
3.2 Verwendete Geräte und Software.....	20
3.3 Methoden.....	22
3.3.1 HPLC (In-vitro-Untersuchungen) .....	22
3.3.1.1 EMD 57033 .....	22
3.3.1.2 Danazol .....	22
3.3.2 Herstellung von EMD 57033 aus dem Prodrug EMD 82571 .....	23
3.3.2.1 Herstellungsprotokoll von EMD 57033 für eine Teilcharge .....	23
3.3.2.2 Vereinigung der Einzelchargen durch erneutes Lösen .....	24
3.3.2.3 Bestimmung der Korngrößenverteilung der Endcharge mittels Laserbeugung .....	25
3.3.3 Stabilitätsuntersuchungen .....	25
3.3.3.1 Stabilität des trockenen Wirkstoffs EMD 57033 im Lichttestgerät .....	25
3.3.3.2 Stabilität einer Wirkstofflösung bei Tageslicht.....	25

## Inhaltsverzeichnis

3.3.3.3	Stabilität bei unterschiedlichen pH-Werten .....	26
3.3.3.4	Stabilität einer Wirkstofflösung in Wärme .....	26
3.3.4	Bestimmung des logP von EMD 57033 .....	26
3.3.4.1	Shake-flask-Methode.....	26
3.3.4.2	HPLC- Methode.....	27
3.3.5	Löslichkeitsuntersuchungen.....	28
3.3.5.1	Löslichkeiten in herkömmlichen Lösungsmitteln .....	28
3.3.5.2	Löslichkeiten in Freisetzungsmitteln .....	29
3.3.6	Herstellung der Formulierungen .....	30
3.3.6.1	Herstellung der Standardrezeptur.....	30
3.3.6.2	Flüssig gefüllte Hartkapseln.....	31
3.3.6.3	Sprüherstarrung (EMD 57033) .....	34
3.3.6.4	Herstellung der Weichkapseln (Danazol).....	37
3.3.7	Bestimmung der Wirkstoffgehalte in den Formulierungen .....	37
3.3.8	Bestimmung der CMC der Formulierungen .....	38
3.3.9	Löslichkeiten in Freisetzungsmitteln mit Hilfsstoffzusatz .....	38
3.3.10	Untersuchung des Freisetzungsverhaltens.....	39
3.3.10.1	Herstellung der Freisetzungsmitteln .....	39
3.3.10.2	Freisetzungsbedingungen und Probenahme .....	42
3.3.11	Lagerbedingungen und Untersuchungen nach Lagerung .....	42
3.3.11.1	Lagerbedingungen.....	42
3.3.11.2	Freisetzungsuntersuchungen .....	42
3.3.11.3	Mikroskopische Untersuchung.....	43
3.3.12	Löslichkeiten von EMD 57033 in halbfesten Formulierungen .....	43
3.3.12.1	DSC- Methode.....	43
3.3.12.2	Extrapolation auf Raumtemperatur .....	44
3.3.13	Pharmakokinetische Untersuchungen .....	44
3.3.13.1	Bestimmung des Wirkstoffgehaltes der Muster.....	44
3.3.13.2	Versuchsbedingungen und Behandlungsschema.....	45
3.3.13.3	Quantitative Plasmabestimmung von EMD 57033 (HPLC).....	45
4	Ergebnisse der Untersuchungen mit der Modellsubstanz EMD 57033 .....	47
4.1	Die Modellsubstanz EMD 57033.....	47
4.1.1	Wichtiges über EMD 57033 .....	47
4.1.2	Herstellung von EMD 57033.....	49

## Inhaltsverzeichnis

4.1.2.1	Ausbeute .....	49
4.1.2.2	Korngrößenverteilung .....	49
4.1.3	Die Stabilität der Substanz .....	49
4.1.3.1	Stabilität der trockenen Substanz im Lichttestgerät .....	49
4.1.3.2	Stabilität einer Wirkstofflösung bei Tageslicht.....	50
4.1.3.3	Stabilität einer Wirkstofflösung bei unterschiedlichen pH-Werten .	50
4.1.3.4	Stabilität einer Wirkstofflösung in Wärme .....	50
4.1.4	Bestimmung des logP.....	51
4.1.4.1	Shake-flask.....	51
4.1.4.2	HPLC-Methode.....	51
4.1.5	Löslichkeitsuntersuchungen mit EMD 57033 .....	52
4.1.5.1	Löslichkeiten in Standardlösungsmitteln versus Kohäsionsparameter .....	52
4.1.5.2	Löslichkeiten in Freisetzungsmedien (37°C).....	53
4.1.5.3	Löslichkeiten in Na-Laurylsulfat-Lösungen .....	53
4.2	Das Problem und die Aufgabenstellung.....	54
4.2.1	Homogenität der Standardrezeptur.....	54
4.2.2	Freisetzung der Standardrezeptur .....	54
4.2.3	Die These .....	56
4.2.4	Theorien zur Hilfsstoffwahl .....	57
4.3	Verbesserte Formulierungen für EMD 57033.....	58
4.3.1	Vorversuche zur Herstellung flüssig befüllter Hartkapseln.....	58
4.3.1.1	Hygroskopizität der Formulierungen .....	58
4.3.1.2	Schlauchadsorption .....	59
4.3.1.3	Dosiergenauigkeit des Dispensers .....	59
4.3.1.4	Dichtebestimmungen.....	59
4.3.2	Rezeptur aus PEG und Sorbitol (PEGSorb) .....	60
4.3.2.1	Verfestigung flüssiger PEG´s durch Zusatz von Sorbitlösung.....	60
4.3.2.2	Entwicklung der Formulierungen PEGSorb/I und PEGSorb/II .....	62
4.3.2.3	Wirkstoffgehalt der PEGSorb/I- bzw PEGSorb/II-Kapseln .....	63
4.3.2.4	Freisetzungsverhalten direkt nach Herstellung.....	64
4.3.2.5	Freisetzungsrates.....	65
4.3.2.6	Freisetzungsverhalten nach Lagerung.....	66
4.3.3	Rezeptur aus Gélucire 44/14 und Soluphor P (Gélu*) .....	68

## Inhaltsverzeichnis

4.3.3.1	Zusammensetzung von Gélu+.....	68
4.3.3.2	Wirkstoffgehalt der Gélu <sup>+</sup> -Formulierung.....	69
4.3.3.3	Freisetungsverhalten der Gélu <sup>+</sup> -Formulierung .....	70
4.3.3.4	Kritische Mizellbildungskonzentration der Formulierung.....	71
4.3.3.5	Untersuchung der Metastabilitätsgrenzen von EMD 57033 in wässrigen Medien .....	72
4.3.3.6	Theorien zum Auflösungsprozess der Formulierung.....	73
4.3.3.7	Freisetzungsrate von EMD 57033 aus der Gélu <sup>+</sup> -Formulierung....	74
4.3.3.8	Freisetungsverhalten von Gélu <sup>+</sup> nach Lagerung .....	74
4.3.4	Rezeptur aus Gélucre 50/13 und Solphor P (Gélu5+).....	75
4.3.4.1	Zusammensetzung von Gélu5+.....	75
4.3.4.2	Wirkstoffgehalt der Gélu5 <sup>+</sup> -Kapseln.....	76
4.3.4.3	Freisetungsverhalten Gélu 5 <sup>+</sup> in verschiedenen Medien und Freisetzungsrate.....	76
4.3.4.4	Freisetungsverhalten von Gélu5 <sup>+</sup> in SGF <sup>+</sup> nach Lagerung.....	77
4.3.5	Rezepturen mit Vitamin E TPGS .....	79
4.3.5.1	Eigenschaften und Struktur von Vitamin E TPGS.....	79
4.3.5.2	VitE <sup>+</sup> -Rezeptur.....	79
4.3.5.3	Wirkstoffgehalt der VitE <sup>+</sup> -Kapseln.....	81
4.3.5.4	Freisetungsverhalten der VitE <sup>+</sup> -Formulierung .....	81
4.3.5.5	Freisetzungsrate der VitE <sup>+</sup> -Formulierung.....	82
4.3.5.6	Kritische Mizellbildungskonzentration der Formulierung.....	82
4.3.5.7	Freisetungsverhalten nach Lagerung.....	83
4.3.5.8	Formulierung VitE (ohne Zusatz eines Lösungsvermittlers).....	84
4.3.5.9	Wirkstoffgehalt der VitE-Kapseln .....	85
4.3.5.10	Freisetungsverhalten und Freisetzungsrate der VitE-Formulierung .....	85
4.3.5.11	Fazit aus dem Vergleich von VitE <sup>+</sup> und VitE .....	86
4.3.6	Die Formulierung G4P6.....	87
4.3.6.1	Zusammensetzung von G4P6 .....	87
4.3.6.2	Herstellung der G4P6-Formulierung.....	88
4.3.6.3	Wirkstoffgehalt der G4P6-Kapseln.....	88
4.3.6.4	Freisetzung (frisch und nach Lagerung) .....	88
4.3.6.5	Kritische Mizellbildungskonzentration der Formulierung G4P6.....	90

## Inhaltsverzeichnis

4.3.7	Sprüherstarrungsprodukt G5P2.....	92
4.3.7.1	Homogenität des Sprüherstarrungsproduktes .....	93
4.3.7.2	Entwicklung und Freisetungsverhalten .....	93
4.3.7.3	Kritische Mizellbildungskonzentration der Formulierung G5P2.....	95
4.3.8	Sprüherstarrungsprodukt mit einem wasserlöslichen Tensid (Lutrol)....	96
4.3.8.1	Homogenität des Sprüherstarrungsproduktes .....	97
4.3.8.2	Freisetungsverhalten der LutlmPre (frisch und gelagert) .....	98
4.3.8.3	Kritische Mizellbildungskonzentration der Formulierung LutlmPre99	
4.3.9	Bestimmung der Löslichkeiten von EMD 57033 in den Hilfsstoffen ...	100
4.3.9.1	DSC-Methode.....	100
4.3.9.2	Extrapolation auf Raumtemperatur.....	101
4.4	Ergebnisse der pharmakokinetischen Untersuchungen in Beagles .....	102
4.4.1	Wirkstoffgehalte der Muster.....	103
4.4.2	Absolute Bioverfügbarkeiten der unterschiedlichen Formulierungen .	103
4.4.3	In-vitro-In-vivo-Korrelationen nach USP Standard .....	106
4.4.4	Level C-Korrelationen .....	108
4.4.4.1	Korrelation der Freisetzungsrates mit $C_{max}$ .....	108
4.4.4.2	Korrelation der Freisetzungsrates mit $t_{max}$ .....	108
4.4.4.3	Korrelation der Freisetzungsrates mit der AUC .....	109
4.5	Zusammenfassung der Ergebnisse mit EMD 57033 .....	110
5	Ergebnisse der Untersuchungen mit Danazol.....	113
5.1	Wichtiges über Danazol .....	113
5.1.1	Pharmakologie und Handelspräparate.....	113
5.1.2	Pharmakokinetik.....	113
5.1.3	Physikochemische Eigenschaften von Danazol.....	114
5.1.4	Stabilität der Substanz.....	114
5.1.4.1	Stabilität einer Wirkstofflösung bei Tageslicht.....	114
5.1.4.2	Stabilität einer Wirkstofflösung bei unterschiedlichen pH-Werten	
	114	
5.1.4.3	Stabilität einer Wirkstofflösung in Wärme .....	115
5.1.5	Löslichkeitsuntersuchungen.....	115
5.1.5.1	Löslichkeiten in Standardlösungsmitteln versus Kohäsionsparameter .....	115
5.1.5.2	Löslichkeiten in Freisetzungsmedien (37°C).....	116

## Inhaltsverzeichnis

5.2	Die Standardrezeptur für Danazol.....	116
5.2.1	Homogenität der Standardrezeptur.....	117
5.2.2	Freisetzung einer Standardrezeptur .....	117
5.3	Verbesserte Formulierungen für Danazol .....	119
5.3.1	Einleitung.....	119
5.3.2	Vorversuche zur Herstellung flüssig befüllter Hartkapseln.....	119
5.3.2.1	Hygroskopizität.....	119
5.3.2.2	Schlauchadsorption .....	119
5.3.3	Die Formulierung VitE für Danazol .....	120
5.3.3.1	Zusammensetzung der VitE .....	120
5.3.3.2	Wirkstoffgehalt der VitE-Kapseln .....	120
5.3.3.3	Freisetzungsverhalten der VitE-Rezeptur in verschiedenen Freisetzungsmedien .....	120
5.3.3.4	Einfluss der Erstarrungsrate .....	121
5.3.4	Voruntersuchungen mit dem Hilfsstoff Gélucire 44/14 .....	123
5.3.4.1	Gélucire 44/14 .....	123
5.3.4.2	Freisetzungsverhalten und Erstarrungsrate.....	123
5.3.4.3	Die Kombination von Gélucire 44/14 mit PEG 2000 .....	124
5.3.4.4	Zusammenfassung der Voruntersuchungen mit Gélucire 44/14 .	125
5.3.5	Rezeptur aus Gélucire 44/14 und Soluphor P (Gélu <sup>+</sup> ) .....	125
5.3.5.1	Zusammensetzung von Gélu <sup>+</sup> .....	126
5.3.5.2	Wirkstoffgehalt.....	126
5.3.5.3	Freisetzungsverhalten in unterschiedlichen Freisetzungsmedien 126	
5.3.6	Die Gélu <sup>+</sup> -Rezeptur mit halber Danazolkonzentration (2x25 mg).....	127
5.3.6.1	Zusammensetzung.....	128
5.3.6.2	Wirkstoffgehalt.....	128
5.3.6.3	Freisetzungsverhalten in SGF <sup>+</sup> (frisch und gelagert) .....	128
5.3.6.4	Vergleich der Konzentrationsverläufe zwischen Gélu <sup>+</sup> (50 mg) und Gélu <sup>+</sup> (2x25 mg) .....	129
5.3.7	Die flüssige Zubereitung für Danazol: LaSoPe .....	131
5.3.7.1	Das Pouton-Schema .....	131
5.3.7.2	Entwicklung und Zusammensetzung der flüssigen Zubereitung .	132
5.3.7.3	Freisetzungsuntersuchungen .....	135

## Inhaltsverzeichnis

5.3.8	Abschließender Vergleich der einzelnen Konzentrationsprofile .....	137
5.4	Zusammenfassung der Ergebnisse mit Danazol.....	138
6	Diskussion .....	141
7	Zusammenfassung und Ausblick .....	149
	Zusammenstellung der Rohdaten .....	153
	Literaturverzeichnis .....	165
	Lebenslauf .....	177

# Inhaltsverzeichnis

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Grobe Einteilung lipidartiger Formulierungen nach Pouton (die Übergänge sind fließend) .....	9
Abb. 2: Umsetzung von EMD 82571 zu EMD 57033. ....	23
Abb. 3: Befüllen der Hartgelatinekapselform mit geschmolzener halbflüssiger Zubereitung mittels Dispenser. ....	33
Abb. 4: Der Mini- Spray- Dryer von Büchi. ....	35
Abb. 5: Anordnung zur Sprüherstarrung. ....	36
Abb. 6: Strukturformel von EMD 57033. ....	48
Abb. 7: Korngrößenverteilung von EMD 57033 (Charge KS 05 M). ....	49
Abb. 8: links: aufsteigend sortierte Kohäsionsparameter von Wirkstoff und Hilfsstoffen; rechts: gemessene Löslichkeiten. ....	52
Abb. 9: Löslichkeiten von EMD 57033 in den Freisetzungsmitteln (37°C +0,5) .....	53
Abb. 10: Löslichkeit von EMD 57033 in Na-Laurylsulfat-Lösungen aufsteigender Konzentration. ....	54
Abb. 11: Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel in verschiedenen Medien. ....	55
Abb. 12: Vergleich der erreichten Konzentrationen mit der Löslichkeit im jeweiligen Medium. ....	56
Abb. 13: Hygroskopizität der Placebo-Formulierungen (links) bzw. wirkstoffhaltigen Formulierungen (rechts) bei erhöhter Temperatur und Luftfeuchtigkeit. ....	59
Abb. 14: Verfestigung der flüssigen PEG's nach Zugabe von Sorbitollösung und Rühren bei erhöhter Temperatur. ....	61
Abb. 15: Veränderung einer PEGSorb-Kapsel bei Lagerung (links: frisch, rechts: 6 Monate gelagert). ....	62
Abb. 16: Freisetzungverhalten der frisch hergestellten PEGSorb/I-Formulierung in SGF <sup>+</sup> , FaSSiF, FeSSiF, Taxapon (0,36%) und Wasser. ....	64
Abb. 17: Gegenüberstellung der Konzentrationen nach Freisetzung einer PEGSorb-Kapsel und Löslichkeiten in den Medien. ....	65
Abb. 18: Freisetzungsraten von PEGSorb/I. ....	66
Abb. 19: Freisetzung der Formulierung PEGSorb/I frisch und nach Lagerung. ....	66
Abb. 20: Freisetzung PEGSorb/II frisch und nach Lagerung. ....	67
Abb. 21: Mikroskopische Aufnahme der gelagerten PEGSorb/II- Formulierung. ....	67
Abb. 22: Struktur von Soluphor P (2- Pyrrolidon). ....	69
Abb. 23: : Freisetzungverhalten einer Gélu <sup>+</sup> -Kapsel in verschiedenen Freisetzungsmitteln. ....	70
Abb. 24: Gegenüberstellung der nach Freisetzung einer Kapsel erreichten Konzentrationen und den Löslichkeiten im jeweiligen Medium (mit und ohne gelöste Hilfsstoffe). ....	70
Abb. 25: Bestimmung der CMC der in Gélu <sup>+</sup> enthaltenen Hilfsstoffe. ....	71
Abb. 26: Freisetzungverhalten von 25 mg, 60 mg, 120 mg und 240 mg EMD 57033 (Einzel- bzw. Mehrfachdosierung der Gélu <sup>+</sup> -Formulierung) in jeweils 900 ml Wasser. ....	72
Abb. 27: Freisetzungverhalten von 25 mg, 60 mg, 120 mg und 240 mg EMD 57033 (Einzel- bzw. Mehrfachdosierung der Gélu <sup>+</sup> -Formulierung) in jeweils 900 ml FeSSiF. ....	72
Abb. 28: Unterschiedliche Freisetzungsmechanismen von der in der Formulierung gelösten Substanz (links) bzw. der kristallinen Substanz (rechts). ....	73
Abb. 29: Freisetzungsraten einer Gélu <sup>+</sup> -Kapsel in SGF <sup>+</sup> . ....	74
Abb. 30: Nach 24 Monaten Lagerung bei Raumtemperatur setzt die Gélu <sup>+</sup> -Formulierung den Wirkstoff unverändert gut frei. ....	75
Abb. 31: Freisetzungverhalten der Gélu5 <sup>+</sup> -Formulierung in Wasser, SGF <sup>+</sup> und Taxapon (0,36%). ....	77
Abb. 32: Freisetzungsraten der Gélu5 <sup>+</sup> -Formulierung in SGF <sup>+</sup> während der ersten 15 Minuten. ....	77
Abb. 33: Nach 3 Monaten (Lagerung bei Raumtemperatur) hat sich die Freisetzungsgeschwindigkeit aus Gélu5 <sup>+</sup> weiter verschlechtert. ....	78
Abb. 34: DSC-Untersuchung von frisch erstarrtem (Form I) bzw. gelagertem Gélucire 50/13 (Form I*): Die Schmelztemperatur ist bei der gelagerten Probe erhöht. ....	78
Abb. 35: Strukturformel von Vitamin E TPGS. ....	79
Abb. 36: Freisetzungverhalten von VitE <sup>+</sup> in verschiedenen Medien. ....	81
Abb. 37: Gegenüberstellung von Löslichkeit und Konzentrationen nach der Freisetzung. ....	82
Abb. 38: Freisetzungsraten der VitE <sup>+</sup> -Formulierung in SGF <sup>+</sup> und Wasser. ....	82
Abb. 39: Bestimmung der CMC der in VitE <sup>+</sup> enthaltenen Hilfsstoffe. ....	83
Abb. 40: Das Freisetzungverhalten der VitE <sup>+</sup> -Formulierung hat sich nach 18 Monaten kaum verändert. ....	84
Abb. 41: Mikroskopische Aufnahme nach 18 Monaten Lagerung. ....	84
Abb. 42: Freisetzung der soluphor-P-freien Formulierung VitE frisch und nach 1 Monat Lagerung. ....	85
Abb. 43: Mikroskopische Aufnahme der einen Monat alten Formulierung. ....	86
Abb. 44: Freisetzungsraten der VitE-Formulierung. ....	86
Abb. 45: Sprüherstarrungsprodukt aus Gélucire 44/14 und PEG 6000 (1:1). ....	88

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 46: Freisetzungsverhalten der G4P6-Formulierung frisch und nach 6 Monaten Lagerung (SGF <sup>+</sup> ).....	89
Abb. 47: Freisetzungsrates der G4P6-Formulierung (frisch).....	89
Abb. 48: Mikroskopische Aufnahme nach 6 Monaten Lagerung: Der Wirkstoff ist deutlich auskristallisiert. ..	90
Abb. 49: Bestimmung der CMC der in G4P6 enthaltenden Hilfsstoffe .....	91
Abb. 50: links: Auflichtmikroskopische Aufnahme des Sprüherstarungsproduktes G5P2. rechts: Die kugelförmigen Partikel sind in der Croscarmellose verteilt.....	92
Abb. 51: Freisetzung des Sprüherstarungsproduktes G5P2 aus Gélucire 50/13 und PEG 2000 in verschiedenen Variationen (in SGF <sup>+</sup> ).....	94
Abb. 52: Steigerung der Freisetzungsrates des Sprüherstarungsproduktes G5P2 durch geringere Wirkstoffkonzentration und Sprengmittel.....	95
Abb. 53: Bestimmung der CMC der in G5P2 enthaltenden Hilfsstoffe .....	96
Abb. 54: Freisetzungsverhalten der LutImPre-Formulierung frisch und nach Lagerung. ....	98
Abb. 55: Freisetzungsrates der LutImPre-Formulierung in SGF <sup>+</sup> (frisch).....	98
Abb. 56: Bestimmung der CMC der in LutImPre enthaltenden Hilfsstoffe. ....	99
Abb. 57: Endotherme Enthalpien von EMD 57033 in verschiedenen Formulierungen bei unterschiedlicher Wirkstoffbelastung und Extrapolation auf 0 J/g. ....	100
Abb. 58: Bestimmung der Löslichkeiten von EMD 57033 in verschiedenen Formulierungen durch Messung bei drei Temperaturen und Extrapolation auf Raumtemperatur.....	102
Abb. 59: Bestimmung der absoluten Bioverfügbarkeiten der unterschiedlichen Formulierungen.....	105
Abb. 60: Die In-vitro-Ergebnisse ergaben die gleiche Rangordnung der Formulierungen. ....	106
Abb. 61: Plasmakonzentrationen nach der i.v.-Gabe (halblogarithmische Darstellung).....	107
Abb. 62: Korrelation der Plasmakonzentration ( $C_{max}$ ) mit der Freisetzungsrates.....	108
Abb. 63: Vergleich der $t_{max}$ mit der Freisetzungsrates.....	109
Abb. 64: Korrelation der AUC's mit der Freisetzungsrates.....	109
Abb. 65 : Strukturformel von Danazol.....	114
Abb. 66: links: sortierte Kohäsionsparameter, rechts: gemessene Löslichkeiten von Danazol in verschiedenen Lösungsmitteln.....	115
Abb. 67: Löslichkeit von Danazol in verschiedenen Freisetzungsmitteln (37°C +0,5°C). ....	116
Abb. 68: Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel in verschiedenen Medien. ....	117
Abb. 69: Vergleich der bei Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel erreichten Konzentrationen mit der Löslichkeit im jeweiligen Medium. ....	118
Abb. 70: Freisetzungsverhalten der VitE-Formulierung in den Freisetzungsmitteln SGF <sup>+</sup> , FaSSiF und FeSSiF.....	121
Abb. 71: Vergleich der nach Freisetzung der „VitE“-Formulierung erreichten Konzentrationen mit der Löslichkeit.....	121
Abb. 72: Einfluss der Abkühlrate der VitE-Formulierung auf das Freisetzungsverhalten in SGF <sup>+</sup> . ....	122
Abb. 73: Einfluss der Erstarrungsrates des Hilfsstoffes auf das Freisetzungsverhalten von Danazol (SGF <sup>+</sup> ). ....	124
Abb. 74: Vergleich der bei der Freisetzung der Gélucire 44/14-Formulierung erreichten Maximalkonzentration mit der Löslichkeit. ....	124
Abb. 75: Freisetzungsverhalten von Formulierungen aus Gélucire 44/14 und PEG 2000 (I: PEG-Anteil von 25% und II: PEG-Anteil von 50%) .....	125
Abb. 76: Das Freisetzungsverhalten aus der soluphor-P-haltigen Formulierung ist eindeutig verbessert. ..	127
Abb. 77: Über der Löslichkeit liegende Maximalkonzentrationen nach Freisetzung der soluphor-P-haltigen Formulierung. ....	127
Abb. 78: Freisetzungsverhalten der Gélú* (2x25)-Formulierung mit Danazol.....	129
Abb. 79: Vergleich der Löslichkeiten mit den maximal erreichten Konzentrationen nach Freisetzung der Gélú* (2x25)-Kapseln.....	129
Abb. 80: Konzentrationsverläufe bei Freisetzung einer Gélú*-Kapsel (50 mg) und einer Gélú* (2x25)-Kapsel (25 mg) .....	130
Abb. 81: Mikroskopische Aufnahme von Danazol in den lipophilen Hilfsstoffen Miglyol 829 (links), Pecenol (Mitte) und Lauroglycol FCC (rechts).....	134
Abb. 82: Mikroskopische Aufnahme von Danazol in den hydrophilen Hilfsstoffen Labrasol (links), Softigen 767(Mitte) und Cremophor EL (rechts).....	135
Abb. 83: Freisetzungsverhalten der flüssigen Danazol-Zubereitung LaSoPe in unterschiedlichen Freisetzungsmitteln.....	136
Abb. 84: Vergleich der nach der Freisetzung der flüssigen Danazol-Zubereitung LaSoPe erreichten Konzentrationen mit den Löslichkeiten von Danazol.....	136
Abb. 85: Unterschiedliche Konzentrationsverläufe bei Freisetzung von 50 mg- bzw. 25 mg-Dosierungen mit verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen.....	137

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 86: Schema zur Entwicklung einer geeigneten Rezeptur.....	144
Abb. 87: HPLC-Eichgerade für EMD 57033.....	153

## Abbildungsverzeichnis

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Biopharmazeutisches Klassifizierungssystem (BCS) .....	2
Tabelle 2: Formulierungskonzepte für schwer lösliche Arzneistoffe.....	5
Tabelle 3 : Übersicht über die Teilchargen.....	25
Tabelle 4: Zusammensetzung der unterschiedlichen Fließmittel.....	27
Tabelle 5: Übersicht über die Bestandteile der Formulierungen zur flüssigen Befüllung von Hartkapseln.....	31
Tabelle 6: Übersicht über die Bestandteile der Sprüherstarungsprodukte.....	34
Tabelle 7: Übersicht über die Bestandteile der flüssigen Formulierung für Weichkapseln.....	37
Tabelle 8: Zusammensetzung von FaSSiF .....	40
Tabelle 9: Zusammensetzung von FeSSiF .....	41
Tabelle 10: Behandlungsschema der pharmakokinetischen Untersuchungen mit EMD 57033.....	45
Tabelle 11: Wichtige physikochemische Daten von EMD 57033.....	48
Tabelle 12: Zersetzung einer EMD 57033-Lösung am Tageslicht (Restwert nach 24h).....	50
Tabelle 13: Verteilungskoeffizient und logP von EMD 57033.....	51
Tabelle 14: Zusammensetzung der PEGSorb-Rezeptur.....	63
Tabelle 15: Beschreibung der Gélú+-Rezeptur.....	68
Tabelle 16: Zusammensetzung von Gélucire 44/14.....	69
Tabelle 17: Beschreibung der Gélú5+-Rezeptur.....	75
Tabelle 18: Zusammensetzung von Gélucire 50/13.....	76
Tabelle 19: Zusammensetzung der sulphor-P-haltigen Formulierung VitE* .....	80
Tabelle 20: Zusammensetzung von Labrafil M 2130 CS (HLB=4).....	80
Tabelle 21: Beschreibung der sulphor-P-freien VitE-Formulierungen.....	85
Tabelle 22: Beschreibung der G4P6-Formulierung.....	87
Tabelle 23: Beschreibung des Sprüherstarungsproduktes G5P2 .....	93
Tabelle 24: Zusammensetzung von LutlmPre.....	96
Tabelle 25: Hilfsstoffe in LutlmPre .....	97
Tabelle 26: Messergebnisse der Plasmaspiegelmessungen.....	104
Tabelle 27: Absolute Bioverfügbarkeiten der drei Formulierungen.....	105
Tabelle 28: Zusammensetzung der VitE-Formulierung für Danazol.....	120
Tabelle 29: Zusammensetzung der Formulierung.....	123
Tabelle 30: Zusammensetzung von Gélú* für Danazol.....	126
Tabelle 31: Zusammensetzung der Gélú* (2x25)-Formulierung.....	128
Tabelle 32: Zusammensetzung lipidartiger Formulierungen nach POUTON.....	132
Tabelle 33: Beschreibung der untersuchten flüssigen Hilfsstoffe.....	133
Tabelle 34: Zusammensetzung der flüssigen Formulierung (LaSoPe).....	135
Tabelle 35: Löslichkeit von EMD 57033 in SGF* (Konzentrationen in µg/ml).....	153
Tabelle 36: Löslichkeit von EMD 57033 in FaSSiF (Konzentrationen in µg/ml).....	153
Tabelle 37: Löslichkeit von EMD 57033 in FeSSiF (Konzentrationen in µg/ml).....	154
Tabelle 38: Löslichkeit von EMD 57033 in Texaponlösung 0,36% (Konzentrationen in µg/ml).....	154
Tabelle 39: Löslichkeit von EMD 57033 in Freisetzungsmedien plus Hilfsstoffzusatz Gélú* (Konzentrationen in µg/ml).....	154
Tabelle 40: Löslichkeit von EMD 57033 in Freisetzungsmedien plus Hilfsstoffzusatz VitE (Konzentrationen in µg/ml).....	155
Tabelle 41: Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel (EMD 57033, 30 mg) in SGF*.....	155
Tabelle 42: Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel (EMD 57033, 30 mg) in FaSSiF.....	156
Tabelle 43: Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel (EMD 57033, 30 mg) in FeSSiF.....	157
Tabelle 44: Freisetzung einer Gélú+-Kapsel (EMD 57033) in SGF*.....	158
Tabelle 45: Freisetzung einer VitE-Kapsel (EMD 57033) in SGF*.....	159
Tabelle 46: Löslichkeit von Danazol in SGF* (Konzentrationen in µg/ml).....	159
Tabelle 47: Löslichkeit von Danazol in FaSSiF (Konzentrationen in µg/ml).....	159
Tabelle 48 Löslichkeit von Danazol in FeSSiF (Konzentrationen in µg/ml).....	160
Tabelle 49: Löslichkeit von Danazol in Freisetzungsmedien plus Hilfsstoffzusatz Gélú* (Konzentrationen in µg/ml).....	160
Tabelle 50: Löslichkeit von Danazol in Freisetzungsmedien plus Hilfsstoffzusatz VitE (Konzentrationen in µg/ml).....	160
Tabelle 51: Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel (Danazol, 50 mg) in SGF*.....	160
Tabelle 52: Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel (Danazol, 50 mg) in FaSSiF.....	162
Tabelle 53: Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel (Danazol, 50 mg) in FeSSiF.....	163

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 54: Freisetzung einer Gélucaps-Kapsel (Danazol) in SGF <sup>+</sup> .....	163
Tabelle 55: Freisetzung einer VitE-Kapsel (Danazol) in SGF <sup>+</sup> .....	164

## Abkürzungsverzeichnis

AUC	Area under the Curve
BCS	Biopharmaceutic Classification System
BV <sub>abs</sub>	Absolute Bioverfügbarkeit
BV	Bioverfügbarkeit
bzw.	beziehungsweise
C	concentration
ca.	circa
C <sub>max</sub>	Maximale Plasmakonzentration des Arzneistoffes
CMC	Kritische Mizellbildungskonzentration
C <sub>s</sub>	Sättigungslöslichkeit
FaSSIF	fasted state simulated intestinal fluid
FDA	Food and Drug Administration
FeSSIF	fed state simulated intestinal fluid
GI	gastro-intestinal
H	Diffusionskoeffizient
HCl	Salzsäure
HK	Hartkapsel
HLB	Hydrophilic-Lipophilic Balance
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
HS	Hilfsstoffe
i.v.	intravenös
IVIVC	In vitro-In vivo correlation
Konz	Konzentration
LH	Luteinisierendes Hormon
LogP	Logarithmus des Verteilungskoeffizienten
Min	Minuten
mM	Millimol
mmolar	millimolar
MP	Schmelzpunkt
NaOH	Natriumhydroxid

## Abkürzungsverzeichnis

o.g.	Oben genannt
p.A.	pro analysi
PEG	Polyethylenglykol
PVP	Polyvinyl-Pyrrolidon
rF	relative Luftfeuchte
RT	Retentionszeit
SDS	Sodiumdodecylsulfat-Na-Laurylsulfat-Texapon
S(M)EDDS	self-(micro-)emulsifying drug delivery systems
SGF <sup>+</sup>	Simulated Gastric fluid sine Pepsine mit 0,1 % TritonX-100
SGF <sub>sp</sub>	Simulated Gastric Fluid sine pepsin
StAbw	Standardabweichung
Texapon	Siehe SDS
T <sub>max</sub>	Zeit T bis zum Erreichen von C <sub>max</sub>
Triton X-100	octylphenol ethylene oxide condensate
U/min	Umdrehungen pro Minute
USP	United States Pharmacopoeia
VK	Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient
WK	Weichkapsel

# 1 Einleitung

## 1.1 Die Löslichkeitsproblematik

Bis vor etwa 10 Jahren orientierte man sich bei der Entwicklung neuer Arzneistoffe an bereits vorhandenen „Lead“-Strukturen (Kubinyi, 1995). Von einem bekannten Molekül, z.B. pflanzlicher Herkunft, ausgehend, versuchte man, dessen Wirksamkeit durch kleine Variationen seiner chemischen Struktur zu optimieren. Das Grundgerüst blieb dabei erhalten. Die Situation änderte sich schlagartig in der Phase von 1989 bis 1991 (Lipinski, 1997): Durch die Optimierung von Syntheseautomaten mit hohem Durchsatz (Kombinatorische Chemie) und das sogenannte **HTS-Verfahren (High Throughput Screening)** war es möglich, Tausende von zugänglichen chemischen Strukturen „blind“, d.h. ohne sich von bekannten Strukturen leiten zu lassen, herzustellen (Baum, 1994) und an Zellkulturen zu „screenen“. Die Vielfältigkeit der Strukturen und der damit verbundenen Wirkspektren nahm rapide zu. Mit dieser Vielfalt an chemischen Strukturen hatten es die Forscher jedoch gleichzeitig mit einer sehr viel größeren Anzahl unterschiedlicher **physikochemischer** Eigenschaften der Arzneistoffe zu tun. So gab es zunehmend Substanzen, die zwar hervorragend in vitro am Rezeptor „andockten“ und eine hohe Wirksamkeit versprachen, bei nachfolgenden Bioverfügbarkeitsstudien jedoch schlecht abschnitten, da sie aufgrund geringer Löslichkeit und/oder ungenügender Permeabilität von der Darmmucosa nur schlecht absorbiert wurden.

Es gab zahlreiche Fälle, in denen erst in der klinischen Phase I oder II, also zu einem sehr späten Zeitpunkt der Entwicklung, das Ausmaß dieser Problematik erkannt wurde. Es wurde notwendig, Kriterien aufzustellen, um neue Substanzen frühzeitig nach ihren physikochemischen Eigenschaften zu charakterisieren. Das Hauptziel war dabei, ihre Weiterentwicklung bis hin zu einer bioverfügbaren Arzneiform zu optimieren.

Der beobachtete Zusammenhang zwischen physiko-chemischen Eigenschaften und der Bioverfügbarkeit von Substanzen führte daher zunächst zu der Erstellung eines biopharmazeutischen Klassifizierungssystems (**BCS** = biopharmaceutic classification system; Amidon, 1995), das in die Richtlinien der FDA aufgenommen wurde (Tabelle 1). Die Einteilung von Arzneistoffen nach den Kriterien „Löslichkeit“ und „Permeabilität durch die Darmmucosa“ ist die Grundlage, nach der festgelegt wird, welche Untersuchungen für welche Arzneistoffe relevant sind.

Class I High Solubility High Permeability	Class II Low Solubility High Permeability
Class III High Solubility Low Permeability	Class IV Low Solubility Low Permeability

*Tabelle 1: Biopharmazeutisches Klassifizierungssystem (BCS).*

Die Substanzen, die in dieser Arbeit untersucht wurden, gehören der BCS-Klasse II an, d.h. sie sind schwer wasserlöslich, haben aber eine gute Permeabilität durch die Darmmucosa.

$$MAD = C_s * k_a * SIWV * SITT$$

(MAD = maximum absorbable dose,  $C_s$  = solubility in GI-fluids,  $k_a$  = absorption rate coefficient, SIWV = small intestinal water volume, SITT = small intestinal transit time)

*Gleichung 1: Faktoren, die die absorbierbare Dosis beeinflussen.*

Gleichung 1 gibt die Faktoren, die die absorbierbare Menge an Wirkstoff beeinflussen, wieder (Wyatt, 1999). Das intestinale Wasservolumen SIWV und die intestinale Passagezeit SITT sind physiologischer Natur und nur bedingt durch den Arzneistoff bzw. die Arzneiform beeinflussbar. Der arzneistoffspezifische Absorptionskoeffizient  $k_a$  ist bei Substanzen der BCS-Klasse II sehr hoch und somit bleibt als arzneistoffabhängiger limitierender Faktor die **Löslichkeit  $C_s$** .

Um Substanzen der BCS-Klasse II schon im Vorfeld zu identifizieren, wurde untersucht, welche physikalischen und chemischen Eigenschaften einer Substanz deren Löslichkeit  $C_s$  maßgeblich beeinflussen. Mittels der Erstellung einer umfangreichen Datenbank ermittelten Yalkowsky et al. (1980) erstmals eine Gleichung, aus der hervorging, dass der **Schmelzpunkt** und der **logP** als Maß für das Kristallinitätsbestreben bzw. für die Lipophilie die Löslichkeit entscheidend beeinflussen. Durch Erweiterung der Datensätze wurde die „Urgleichung“ nach und nach optimiert (Gleichung 2, Meylan 1996 und 2000).

$$\log S = -1,03 \log P - 0,011(MP - 25) + 0,34 + \sum f_i$$

(n = 1450; r<sup>2</sup> = 0,97; s = 0,41; f<sub>i</sub> = Korrektionsfaktor)

*Gleichung 2: Berechnung der Löslichkeit einer Substanz (Meylan, 2000)*

Untersuchungen bei der Merck KGaA ergaben des weiteren die in Gleichung 3 abgebildete Näherungsgleichung, nach der die Löslichkeit unter den kritischen Bereich von 10 µg/ml sinkt, wenn der aus der Gleichung resultierende Wert 4,5 übersteigt (März, 2000). Eine logP-Einheit bzw. 100°C beim Schmelzpunkt verändern die Löslichkeit jeweils um den Faktor 10.

$$\log P + \frac{MP}{100} \geq 4,5$$

(logP=Logarithmus des Verteilungskoeffizienten; MP = Schmelzpunkt)

*Gleichung 3: Faustregel zur Abschätzung der Löslichkeitsproblematik von Arzneistoffen.*

Als grober Richtwert für schlechte Löslichkeit wird oft die Grenze von 10 µg/ml (Löslichkeit in Wasser) angegeben (Shah, 1989). Liegt die Löslichkeit unter dieser Grenze, so erhöht sich die Wahrscheinlichkeit einer problematischen Pharmakokinetik. Dies bedeutet variable Plasmaspiegel bei oraler Gabe, geringe Resorptionsquote, Abhängigkeit der Resorptionsquote von der Nahrungsaufnahme, schwierige Dosisfindung und Probleme bei der Formulierung. Neben der Löslichkeit ist jedoch auch die Dosis der Substanz in Betracht zu ziehen. So hat bei einer sehr geringen Dosis die schlechte Löslichkeit einer Substanz nicht immer einen kritischen Einfluss auf die Bioverfügbarkeit, wie z.B. beim Schilddrüsenhormon Levothyroxin, das in Dosierungen von 25 µg bis 300 µg erhältlich ist. Daher ist es wichtig, das **Dosis-Löslichkeitsvolumen** (Dosis/ C<sub>s</sub>) zu berechnen (Dressman, Amidon, Fleisher 1985). Der berechnete Wert gibt an, in welchem Flüssigkeitsvolumen die vorgegebene Dosis komplett löslich ist. Bei Annahme einer gleichzeitigen Verabreichung von einem Glas Wasser (also etwa 250 ml) ist abzusehen, dass es bei einem Dosis-Löslichkeitsvolumen von weit über 250 ml zu Schwierigkeiten mit der Bioverfügbarkeit kommen kann. Das Volumen von 250 ml wird als Kriterium für die

Klassifizierung der Substanzen im BCS verwendet. Berücksichtigt man zusätzlich die physiologisch vorhandene Flüssigkeit im GI-Trakt, so erhält man das kritische Volumen von 500 bis 1000 ml.

## 1.2 Allgemeine Ansätze in der Löslichkeitsproblematik

Betrachtet man die von Noyes und Whitney aufgestellte Gleichung (Gleichung 4, Noyes, Whitney 1897), so erkennt man vier Angriffspunkte beim Auflösen einer Substanz, in die man zur Steigerung der Auflösungsgeschwindigkeit eingreifen kann:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{O * D * (C_s - C)}{h}$$

( $dC/dt$  = Auflösungsrate;  $O$  = Oberfläche;  $D$  = Diffusionskonstante;  $C_s$  = Sättigungskonzentration;  $C$  = Konzentration zum Zeitpunkt  $t$ ;  $h$  = Diffusionsschicht um die Oberfläche der Substanz herum)

*Gleichung 4: Faktoren, die die Auflösungsrate einer Substanz bestimmen (Noyes-Whitney).*

- O: Vergrößerung z.B. durch Mikronisierung der Oberfläche bzw. Erhöhung der Benetzbarkeit
- h: Verringerung der angrenzenden Diffusionsschicht (Bewegung)
- C: Geringe Konzentration in der den Wirkstoff umgebenden Lösung
- Cs: Vergrößerung der („scheinbaren“) Löslichkeit

In vivo hängt die **Diffusionsschicht h** von der gastrointestinalen Motilität ab. Die **Konzentration C**, die das Konzentrationsgefälle neben der Löslichkeit  $C_s$  mitbestimmt, hängt von der Durchlässigkeit der Darmmucosa ab und ist somit nur bedingt über die Arzneiform steuerbar. Einfacher zu verändern ist daher die **Löslichkeit  $C_s$** . Während **chemische** Veränderungen wie Herstellung eines löslichen Prodrugs bzw. Salzes am Molekül angreifen und somit direkt die Löslichkeit einer Substanz verändern, greifen Formulierungskonzepte auf **physikalischem** Weg ein. Neben Erhöhung der scheinbaren Löslichkeit mittels Modifikationen der Kristallform, der Kristallart (Polymorphie), Herstellung amorpher Substanzen (Henck J.-O.; Griesser U.J., 1997 und Hancock B.C., Zografi G.

1997) und Vergrößerung der Oberfläche durch Mahlen der Kristalle (Elamin A.A. 1994), die oft Nachteile bezüglich der Vorhersage und Reproduzierbarkeit haben (Giunot, 1999), basieren zahlreiche Formulierungskonzepte auf dem Zusammenspiel zwischen Wirkstoff und Hilfsstoffen (Tabelle 2).

*Tabelle 2: Formulierungskonzepte für schwer lösliche Arzneistoffe.*

### **Solubilisierung**

Tensidhaltige Systeme

Cosolventien

### **Komplexierung**

### **Arzneistoffdispersionen**

Eutektika (feste Dispersionen)

Feste Lösungen

**Solubilisierung** bedeutet allgemein das Löslichmachen eines in einer bestimmten Flüssigkeit unlöslichen Stoffes durch Zusatz von Lösungsvermittlern und ohne Veränderung seiner chemischen Struktur (Römpp, 1995). **Tenside** bewirken dies durch Erhöhung der Benetzbarkeit der Substanz und, ab einer bestimmten Tensidkonzentration, durch Aufnahme des Wirkstoffmoleküls in das Innere einer Mizelle (Jonkman, 1996). **Cosolventien**, wie Ethanol, Propylenglycol, PEG und Glycerol, erhöhen die Löslichkeit einer Substanz in Abhängigkeit der Polarität von Wirkstoff und Cosolvent (Sweetana, 1996). Es gilt: Je unpolarer der Wirkstoff, desto größer ist der löslichkeitsverbessernde Einfluss der Cosolventien (Yalkowsky, 1981) in wässrigen Systemen.

Vielversprechende Hilfsstoffe zur **Komplexierung** sind Cyclodextrine (Loftsson, 1996). Vorteil dieser Methode ist ihre Vorhersagbarkeit und Reproduzierbarkeit; Nachteil ist die Gefahr der Wirkstoffpräzipitation durch Komplexdissoziation nach Verdünnung (Repta, 1981).

Während viele der o.g. Formulierungskonzepte flüssige Arzneiformen darstellen, beruhen **Arzneistoffdispersionen** auf der Herstellung halbfester oder fester Arzneiformen.

## Einleitung

Aufmerksam auf diese Arzneiformen wurde man in den 60er Jahren und man stellte bald fest, dass die Auflösungsrate von dem Wirkstoff-Hilfsstoff-Verhältnis abhängt (Goldberg, 1966). Eine Arzneistoffdispersion zeichnet sich dadurch aus, dass der Arzneistoff homogen in der Arzneiform verteilt ist. Ob die Auflösungsrate erhöht oder verringert ist, hängt von der Wasserlöslichkeit der Hilfsstoffe ab. Es gibt zwei grundlegende Herstellungsverfahren: Die Schmelz- und die Ko-Evaporationsmethode. Bei dem **Schmelzverfahren** werden Wirk- und Hilfsstoffe miteinander geschmolzen und anschließend wieder auf Raumtemperatur abgekühlt. Nachteil hierbei ist in Abhängigkeit des Verfahrens die Gefahr der Wirkstoffzersetzung durch die hohe Temperatur (Ford, 1979). Letztere kann jedoch durch das „Hot-spin-melting-Verfahren“ oder auch durch Schmelzextrusion durch die geringe Kontaktzeit stark reduziert werden (Dittgen, 1995). Bei dem **Ko-Evaporationsverfahren** (das fälschlicherweise oft als Ko-Präzipitation bezeichnet wird) werden Wirk- und Hilfsstoffe gemeinsam in einem Lösungsmittel gelöst, welches anschließend abgedampft wird. Großtechnisch erfolgt die Herstellung über das Verfahren der Sprühtrocknung (Traue, 1979; Junginger, 1977). Die Nachteile des Verfahrens sind die hohe Umweltbelastung durch Lösungsmittel, eventuelle Lösungsmittelrückstände im Produkt und die Voraussetzung, dass *alle* Bestandteile in *einem* Lösungsmittel löslich sein müssen

Bei den Produkten dieser beiden Herstellungsverfahren lassen sich zwei Arten ausmachen: Die **eutektische Mischung** entsteht, wenn zwei Stoffe in flüssigem Zustand komplett, in festem Zustand jedoch nur bis zu einem bestimmten Grad miteinander mischbar sind. Die Herstellung erfolgt meist durch gemeinsames Schmelzen mehrerer Bestandteile und anschließendes rasches Erstarren durch Abkühlung. Im Prinzip entsteht ein homogenes Gemisch feiner Kristalle. Die Partikelgröße der Bestandteile des festen Produktes wird bestimmt von der Erstarrungsrate, der Art der Bestandteile und der Zusammensetzung. Ursachen für das verbesserte Auflösungsverhalten sind erstens die verringerte Partikelgröße, zweitens evtl. die solubilisierenden Eigenschaften der Hilfsstoffe, drittens die jeden einzelnen Wirkstoffpartikel umgebenden wasserlöslichen Hilfsstoffpartikel, die die Benetzbarkeit erhöhen und viertens der metastabile Zustand der Substanz, der während des Erstarrens entsteht (Goldberg, 1966).

Bei der **festen Lösung** dagegen liegt der Wirkstoff auch nach dem Erstarren molekulardispers in den Hilfsstoffen verteilt vor. In Abhängigkeit von der Verteilung der Wirkstoffmoleküle zwischen den Hilfsstoffmolekülen lassen sich substitutionelle kristalline, interstitielle kristalline und amorphe feste Lösungen unterscheiden (Kreuter, 1983).

In Bezug auf Tabelle 2 ist zu erwähnen, dass die Methoden unter „Solubilisierung“ und „feste Dispersionen“ selbstverständlich nicht strikt zu trennen sind, sondern dass sich, in Abhängigkeit von der Hilfsstoffwahl, durchaus sinnvolle Kombinationen herstellen lassen. So wurden z.B. schon oft Tenside bzw. Komplexbildner als Hilfsstoffe zur Herstellung fester Dispersionen eingesetzt (Habib 1998; Takenaka, 1982). Auch wurde beobachtet, dass Mischungen von Trägermaterialien eine höhere Freisetzungsrates bewirken konnten, als ein einzelner Hilfsstoff (Miralles, 1982).

### 1.3 Lipidartige Hilfsstoffe

Ursprünglich kommt das Wissen über das Verhalten und den Verbleib von Fetten im GI-Trakt aus umfangreicher medizinischer Literatur über Aspekte der Ernährung und Physiologie. Für die Pharmazie sind diese Informationen von großer Bedeutung, seit man feststellte, dass fetthaltige Nahrung einen Einfluss auf die Bioverfügbarkeit bestimmter Arzneistoffe haben kann. Dieser Einfluss wird als „**food effect**“ bezeichnet (z.B. Welling, 1993; Charman, 1997; Fleischer, 1999). Es bestand dennoch lange eine große Zurückhaltung bei der Verwendung von Lipiden zur Herstellung von Arzneimitteln. Gründe hierfür waren chemische und physikalische Stabilitätsprobleme, Grenzen bei der großtechnischen Herstellung, ein hoher Entwicklungsaufwand aufgrund mangelnder Erfahrungen und eine allgemeine Skepsis bezüglich derartiger Hilfsstoffe (Charman 2000). In den letzten Jahren haben lipidartige Formulierungen mit der Einführung entsprechender Handelsprodukte (z.B. Sandimmun Neoral® mit dem Arzneistoff Cyclosporin) mit Entwicklungen in der pharmazeutischen Technologie und nicht zuletzt mit der Entdeckung zahlreicher schwer löslicher Arzneistoffe und der damit notwendig gewordenen Entwicklung innovativer Arzneiformen jedoch eine große Bedeutung in Forschung und Entwicklung erlangt (Bottle, 1998; Müller, 1994).

Zunächst sei darauf hingewiesen, dass der Begriff „lipidartig“ im weitesten Sinne zu verstehen ist und somit neben den „echten“ Fetten (den **Triglyceriden**) sämtliche **fettsäurehaltigen Hilfsstoffe** (z.B. mit PEG veresterte Mono- und Diglyceride), aber auch **hydrophile**, also von ihrer Konsistenz her „fettartige“ Hilfsstoffe wie z.B. PEG's oder andere Polymere meint. Diese weitläufige Umschreibung zeigt die Vielfältigkeit und die Chancen, die sich bei der Entwicklung lipidartiger Formulierungen ergeben. Das Spektrum umfasst Lösungen, Suspensionen, Emulsionen, selbst emulgierende Systeme und Mikroemulsionen, die flüssig, halbfest oder gar fest sein können.

## Einleitung

Bei der Suche nach einer technologischen Lösung für einen schwer löslichen Arzneistoff erweist sich diese Vielfältigkeit jedoch als komplexe Aufgabe: So stellt sich zunächst die Frage, welche Hilfsstoffe sich für welche Wirkstoffe eignen. In der Literatur wird von zahlreichen Erfolgen mittels lipidartiger Formulierungen berichtet. So konnte beispielsweise in vielen Fällen die Freisetzung und Bioverfügbarkeit schwer löslicher Substanzen durch Dispersion in halbfesten PEG's gesteigert werden (Jachowicz, 2000; Margarit, 1994; Chutimaworapan, 2000). Andere Untersuchungen zeigten, dass der Zusatz von Tensiden zu PEG's eine weitere Steigerung der Freisetzung und Bioverfügbarkeit brachte (Serajuddin, 1990; Morris, 1992; Law, 1992; Sjökvist, 1992; Mura, 1999; Wulff, 1996). Auch führten oft ölige Suspensionen (Hargrove, 1989; Abrams, 1978) schon zu einer verbesserten Bioverfügbarkeit und man stellte fest, dass hierbei mittelkettige Triglyzeride den langkettigen (schlecht verdaulichen) vorzuziehen sind (Yamahira, 1979; Myers, 1992). Da man erkannte, dass die Verdauung der Fette eine Emulgierung hervorruft, wurden zahlreiche Emulsionen und Mikroemulsionen (Müller, 1994; Trull, 1994) erfolgreich getestet. Bekanntestes Beispiel ist das Immunsuppressivum Cyclosporin, dessen Weiterentwicklung von einer Emulsion (Sandimmun®) zu einer Mikroemulsion (Sandimmun Neoral®) einen bekannten Erfolg darstellt (Kovarik, 1994). Da bei Emulsionen Phasentrennung auftreten kann und wässrige Komponenten die Kapselhülle angreifen (Fahelbom, 1993; Kim, 2000), entstand die Idee, bei der Herstellung der Arzneiform auf die Wasserkomponente der Emulsion zu verzichten und sogenannte S(M)EDDS [Self-(Micro-) Emulsifying Drug Delivery Systems] herzustellen, die bei Kontakt mit der wässrigen GI-Flüssigkeit spontan eine (Mikro-) Emulsion bilden sollten (Khoo, 1998; Charman, 1992; Kim, 1999; Kim, 2000).

Vereinzelt wurden aber auch „negative“ Ergebnisse veröffentlicht, z.B. dass tensidhaltige PEG-Dispersionen gegenüber den reinen PEG-Dispersionen keine eindeutigen Vorteile brachten (Khoo, 2000; Charman, 1991) oder, dass Mikroemulsionen keinen Vorteil gegenüber mizellaren Lösungen brachten (Macolmson, 1997). Zudem ist auch zu bedenken, dass die Eignung eines Arzneistoffes für emulsionsartige Formulierungen eine gute Löslichkeit in mindestens einem der Bestandteile (in der Regel sind dies Öl, Emulgator und Co-Emulgator) voraussetzt (Shah, 1992). Zahlreiche Untersuchungen zeigen zudem, dass der Einfluss von Tensiden abhängig von der Lipophilie der Substanz ist (Dressman, 1996; Alvarez-Nunez, 2000).

## Einleitung

Die genannten Widersprüche machen den Bedarf nach vergleichenden Untersuchungen mit unterschiedlichen schwer löslichen Arzneistoffen für bestimmte Hilfsstoffklassen deutlich.

Einen ersten Schritt in diese Richtung machte **Colin W. Pouton** (Pouton, 1997, 1999 und 2000). Er teilt lipidartige Formulierungen in drei Hauptklassen ein, die das gesamte Spektrum von reinen Ölen über tensidhaltige Rezepturen mit niedrigen und hohen HLB-Werten bis hin zu reinen hydrophilen Cosolventien umfassen (Abb. 1). Pouton weist auch darauf hin, dass der Einsatz von reinen Ölen in einer Rezeptur erst ab einem  $\log P$  von 4 sinnvoll erscheint; für Arzneistoffe mit mittlerem  $\log P$  (2-4) sieht er Formulierungen mit einem hohen, wenn nicht sogar ausschließlich hydrophilen, Anteil vor. Seiner Meinung nach sind Arzneistoffe mit einem  $\log P \sim 2$  die problematischsten, da sie sich weder in hydrophilen, noch in lipophilen Lösungsmitteln gut lösen lassen.

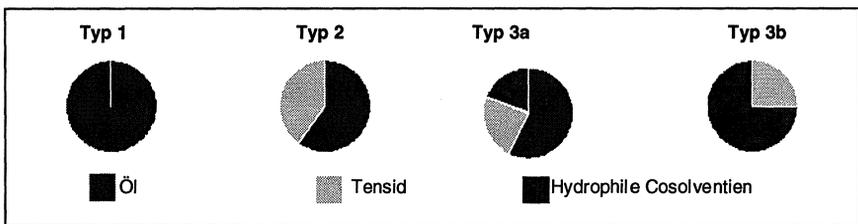


Abb. 1: Grobe Einteilung lipidartiger Formulierungen nach Pouton (die Übergänge sind fließend).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass lipidartige Hilfsstoffe bei der technologischen Verbesserung der Bioverfügbarkeit nicht nur wegen ihrer Vielfältigkeit weit größere Möglichkeiten bieten als klassische Methoden, wie z.B. Partikelreduktion und Veränderung der Kristallform. Sie haben zudem den entscheidenden Vorteil, dass sie nicht nur als simple Arzneistoffträger fungieren, sondern auch nach der Freigabe des Wirkstoffes, also im GI-Trakt, mit dem Wirkstoff in Wechselwirkung stehen und seine Aufnahme in das Blutplasma fördern. So halten viele der lipoiden Hilfsstoffe durch ihre tensidartige Struktur den Wirkstoff auch nach der Auflösung in Lösung und hemmen dessen Rekrystallisation. Manchen dieser Hilfsstoffe wird zudem eine resorptionsfördernde Wirkung durch Wechselwirkungen mit der Zellmembran der Darmzellen nachgesagt, was insbesondere für Arzneistoffe der BCS-Klasse III bedeutsam sein könnte.

## 1.4 Lipidartige Arzneiformen im Produktionsmaßstab

Im Zuge der zahlreichen Versuche im Kleinstmaßstab haben sich auch die Technologien für das **Scaling-up lipidartiger Arzneiformen** weiterentwickelt. Aufgrund der niedrigen Schmelzpunkte der Hilfsstoffe ist die im Normalfall vorzuziehende **Tablettenherstellung** problematisch. Stattdessen war bislang der Standard zur Verarbeitung lipidartiger Formulierungen die Herstellung von **Weichkapseln**. Dies ist eine Technologie, die wegen der Gleichzeitigkeit von Kapselherstellung und -befüllung sehr aufwendig ist. Da die Herstellung zudem in klimatisierten Räumen (20-30% rF/22°C) stattfinden muss, ist sie in der Regel spezialisierten Lohnherstellern (z.B. Scherer, Shinogi und Swisscaps) vorbehalten.

Ein bedeutender Schritt wurde mit der **flüssigen Befüllung von Hartkapseln** gemacht. Erstmals wurde 1978 untersucht, inwieweit sich halbfeste oder flüssige fettartige Hilfsstoffe als Füllgut für Hartkapseln eignen (Broer, 1978; Cuine, 1978; Walker, 1979). In den 80er Jahren wurde immer öfter über dieses Verfahren berichtet (Dürr, 1983; McTaggart, 1984; Doelker 1986). Heute ist die Methode durch Modifikation einer gewöhnlichen Kapselmaschine im Produktionsmaßstab anwendbar (Cole, 1989). Da bei der Verwendung herkömmlicher Hartkapseln die Gefahr bestand, dass das Füllgut in den Zwischenraum zwischen Ober- und Unterkapsel penetrierte, wurde eine spezielle Kapselform (Licaps™) gleicher Zusammensetzung entwickelt, die in verschiedenen Größen erhältlich ist. Bei Befüllung mit flüssigem Gut ist eine Ausrüstung zum Verschließen der Hartkapseln nötig (Wittwer, 1985). Die beiden wichtigsten Verfahren dafür sind das Verschließen mittels Gelatineband („banding“) oder das Besprühen der Ränder (LEMS™-Verfahren) und anschließendes Verkleben („sealing“). Beide Verfahren sind in der USP 23 (1995) beschrieben. Bei halbfesten Füllgütern entfällt dieser Schritt. Das flüssige Befüllen von Hartkapseln hat sowohl gegenüber der Pulver- oder Granulatbefüllung von Hartkapseln als auch der Herstellung von Weichkapseln diverse **Vorteile:**

Lipidartige Hilfsstoffe haben i.d.R. eine Dichte von ~ 1, während Pulver meist in einem Bereich von 0,5-0,8 rangieren. Bei einer bestimmten Kapselgröße wird dadurch ein erhöhtes Hilfsstoff-Wirkstoffverhältnis möglich.

## Einleitung

Durch das volumetrische Abfüllen wird eine extrem hohe Gleichförmigkeit der Masse erreicht (oft  $\leq \pm 1\%$ ), da der Wirkstoff homogen verteilt, wenn nicht gar gelöst vorliegt (Cadé, 1987).

Zudem hat man festgestellt, dass die Gefahr der Cross-Contamination durch Rückstände in der Anlage sehr viel geringer ist, als bei pulvrigen Rezepturen (Cole, 1999).

Gegenüber der Weichkapsel besteht der Vorteil der „in house“-Produktion. Dies bedeutet verringerte Produktionskosten und erhöhte Sicherheit bei der Geheimhaltung.

Weiterhin sind Wasseraufnahme der Formulierung aus der Kapselhülle, Arzneistoffmigration (Armstrong, 1984) und Gaspermeabilität (Horn, 1975) bei Hartkapseln gegenüber Weichkapseln aufgrund des niedrigeren Weichmachergehaltes verringert.

Neben der direkten Einfüllung einer Schmelze in Hartkapseln ist, bei ausreichend hohen Schmelzpunkten der Hilfsstoffe, auch die Technologie der **Sprüherstarrung** („spray congealing“) denkbar. Sie ist in der Literatur allerdings im Gegensatz zur **Sprühtrocknung** nur ausgesprochen selten zu finden. Diese Technologie wurde zur Stabilisierung von Wirkstoffen (Schwendeman, 1998), zur Maskierung von Bitterstoffen (Yajima 1999) und zur gesteuerten Wirkstofffreisetzung (Javaid, 1971) untersucht, nicht jedoch zur Anwendung bei schwer löslichen Arzneistoffen. Die Sprüherstarrung hat aber gegenüber der Sprühtrocknung den entscheidenden Vorteil, dass man trotz eines Verzichtes auf umweltschädliche Lösungsmittel den Arzneistoff in einer Arzneiform lösen kann. Zudem bestünde die Möglichkeit, ein pulver- oder granulatförmiges Produkt zu erhalten, in dem der Wirkstoff möglicherweise gelöst vorliegt und das sich möglicherweise sogar tablettieren liesse.

## 1.5 In-vitro- und In-vivo-Prüfung von schwer löslichen Arzneistoffen

### 1.5.1 Ziel von In-vitro-In-vivo-Korrelationen

Mit dem Ziel, pharmakokinetische Untersuchungen am lebenden Objekt auf ein Mindestmaß zu reduzieren (Swarbrick<sup>2</sup>, 1997), befasst sich die Forschung zunehmend mit Methoden, die die physiologischen Bedingungen so realistisch wie möglich simulieren. Das Ziel ist erreicht, wenn sich die In-vitro-Daten mit den In-vivo-Daten mit ausreichend hoher Präzision korrelieren lassen. Wird eine derartige Genauigkeit nachgewiesen,

besteht die Möglichkeit einer behördlichen Genehmigung des Verzichts auf Untersuchungen am Tier zugunsten von In-vitro-Untersuchungen (Krämer).

### 1.5.2 Simulation der in Vivo-Bedingungen

Von den in Tabelle 1 aufgeführten Arzneistoffklassen umfasst die **BCS-Klasse II** die Arzneistoffe, für die die beste Korrelation zwischen den Freisetzungstudien und den Untersuchungen am Tier zu erwarten ist, da hier das **Auflösungsverhalten** die Absorption begrenzt (Swarbrick<sup>1</sup>,1997).

Zieht man noch einmal Gleichung 4 zu Rate, so lässt sich erkennen, dass die Freisetzungsrates neben den o.a. physikalischen Einflüssen auch durch **physiologische** Parameter beeinflussbar ist. So kann die effektive **Oberfläche O** auch durch natürliche, in der GI-Flüssigkeit vorhandene Tenside erhöht werden. Der **Diffusionskoeffizient D** wird durch die Viskosität der luminalen Bestandteile und die GI-Motilität beeinflusst. Die Wirkstoffkonzentration in der die Arzneiform umgebenden Lösung (**C**) hängt von der Permeabilität der Substanz durch die GI-Wand ab: Je höher die Permeabilität, desto geringer ist C, desto höher das Konzentrationsgefälle und somit auch die Auflösungsrate. C ist natürlich auch abhängig vom Flüssigkeitsvolumen, das durch Sekretion und orale Flüssigkeitsaufnahme variiert wird. Die Löslichkeit (**C<sub>s</sub>**) des Arzneistoffes kann durch Abbau von Fettkomponenten in der Nahrung zu den tensidartigen Mono- und Diglyceriden und durch biliäre Exkretion von Gallensäuren und Lecithin durch Solubilisierung erhöht sein. Bei dissoziierenden Substanzen hat zudem der pH bzw. die Pufferkapazität der GI-Flüssigkeit einen Einfluss auf die Löslichkeit.

Wie lassen sich diese physiologischen Einflüsse nun auf die In-vitro-Untersuchungen von Formulierungen mit Substanzen der BCS-Klasse II projizieren?

#### GI-Volumen

Das GI-Volumen lässt sich auf einfache Weise durch das Freisetzungsvolumen in einer USP Paddle-Apparatur (USP 23, 1995) simulieren (Dressman, 2001): Der nüchterne Magen („fasted state“) enthält ca 300 ml, mit Nahrung („fed state“) etwa 900 ml. Das Darmvolumen steigt bei Nahrungsaufnahme von ca. 500 ml („Fasted state“) auf etwa 900-1000 ml („Fed state“).

## Einleitung

### Permeabilität

Bei hoch permeablen Arzneistoffen wird die Absorption der Substanz aus dem GI-Trakt in das Blut durch sogenannte „sink conditions“ im Freisetzungmedium dargestellt. Dazu wird das Volumen so groß gewählt, dass bei 100%-iger Freisetzung des Wirkstoffes aus der Arzneiform die Endkonzentration weit unter seiner Löslichkeit im Medium liegt. Man geht davon aus, dass die Aufnahme in das Blut so schnell erfolgt, dass die Konzentration an der Mucosa quasi null ist.

Da ein Standard-Vessel maximal 1 Liter fasst, ist dies für schwer lösliche Arzneistoffe in der Regel nicht möglich. Die Durchflusszelle, in der USP 23 (1995) als Freisetzungsapparatur IV aufgeführt, stellt zwar grundsätzlich eine Methode dar (Schug, 1998), um auch für schwer lösliche Substanzen „sink conditions“ zu schaffen, sie ist aber wegen des hohen Gesamtdurchsatzes an Flüssigkeit problematisch, insbesondere bei Verwendung der, teilweise sehr teuren, physiologisch relevanten Medien (siehe unten). Auch die Verwendung von Freisetzungsmitteln mit extrem guten Lösungseigenschaften, meist flüchtige Kohlenwasserstoffe oder hochkonzentrierte Tensidlösungen, ist problematisch, zumal sie eine Entfernung von den „wahren“ Bedingungen im GI-Trakt darstellen.

### Motilität

Die Bewegung und Durchmischung im GI-Trakt lässt sich zumindest ansatzweise mittels der Rührgeschwindigkeit abbilden. Die in den Pharmakopöen üblichen Rührgeschwindigkeiten sind 50, 75 und 100 U/min (Diebold, 1998). Die hieraus resultierenden Strömungsgeschwindigkeiten beeinflussen maßgeblich die Lösungsgeschwindigkeit von Arzneistoffen (Diebold, 2001).

### Oberflächenaktive Substanzen in der GI-Flüssigkeit

Während der pH-Einfluss auf die Freisetzung von ionisierbaren Substanzen auf relativ einfache Weise durch Variation der Puffer ermittelt werden kann, ist die Darstellung von natürlichen Tensiden, die die Freisetzung neutraler Substanzen als einziger Faktor beeinflussen, etwas aufwendiger. Die vier hierfür geeigneten Medien sind SGFsp plus Tensid (z.B. Triton X-100, Dressman/Lennernäs, 2000) zur Darstellung des nüchternen Magens, Milch, Ensure<sup>®</sup> bzw. Ensure<sup>®</sup> plus (fed state stomach), FaSSIF (fasted state small intestine) und FeSSIF (fed state small intestine). Bei FaSSIF und FeSSIF werden die unterschiedlichen Gallensalz- und Lecithinkonzentrationen in Abhängigkeit von der

## Einleitung

Nahrung deutlich: So enthält FaSSIF nur 3 mM Na-Taurocholat und 0,75 mM Lezithin, während FeSSIF 15 mM Na-Taurocholat und 3,75 mM Lezithin enthält (Dressman 2000).

Da in den letzten Jahren immer wieder bestätigt werden konnte, dass sich die genannten biorelevanten Medien deutlich besser zur Etablierung einer In-vivo-In-vitro-Korrelation (IVIVC) eignen als die kompendialen Medien (Galia, 1998; Nicolaidis, 1999; Dressman, 2000), wurden sie auch in der vorliegenden Arbeit verwendet. Damit sollte insbesondere untersucht werden, ob lipidartige Arzneiformen die Abhängigkeit der Wirkstofffreisetzung von physiologischen Einflüssen reduzieren können.

Wenn auch die Darstellung von „sink“-Bedingungen mit den genannten Medien und einer herkömmlichen Freisetzungssapparatur nicht möglich war, so wurde zumindest auf ein größeres Freisetzungsvolumen von 900 ml für alle Medien zurückgegriffen. Das einheitliche Volumen sollte eine bessere Diskriminierung der unterschiedlichen Medien ermöglichen. Aus diesem Grund wurde die Rührgeschwindigkeit konstant bei 50 U/min gehalten.

## 2 Zielsetzung

Am Beispiel zweier Modellsubstanzen (EMD 57033 und Danazol) sollte untersucht werden, inwieweit sich (schwerpunktmässig halbfeste) **lipidartige Hilfsstoffe** zur Verbesserung der Bioverfügbarkeit **schwer wasserlöslicher Arzneistoffe** eignen.

Die wichtigsten Fragestellungen dieser Arbeit waren:

Welcher Art sind die für schwer lösliche Arzneistoffe geeigneten Hilfsstoffe ?

Welche unterschiedlichen Technologien eignen sich für die entsprechenden Hilfsstoffe?

Wie verhalten sich die möglichen Kombinationen aus Arzneistoff, Hilfsstoffen und Technologie bezüglich **Wirkstofffreigabe**, **physikalischer Stabilität** und **Wirkstofffreigabe nach Lagerung**?

Inwieweit ist die In-vitro-Wirkstofffreigabe aussagekräftig für die **absolute Bioverfügbarkeit** (in Hunden)?



### 3 Materialien und Methoden

#### 3.1 Verwendete Materialien

##### 3.1.1 Arzneistoffe

<b>Material</b>	<b>Chargenbezeichnung</b>	<b>Lieferant / Hersteller</b>
EMD 82571	EE 79183	Merck KGaA, Darmstadt
EMD 57033 (Ca-Sensitizer)	KS 05 M	Umsetzung aus EMD 82571
Danazol USP 23	L- 262400	BMP GmbH, Hamburg

##### 3.1.2 Lösungs- und Fließmittel

<b>Material</b>	<b>Qualität</b>	<b>Lieferant / Hersteller</b>
Acetonitril	Gradient grade	Merck KGaA, Darmstadt
Ethanol	Gradient grade	Merck KGaA, Darmstadt
Methanol	Gradient grade	Merck KGaA, Darmstadt
Polyethylenglykol 200	DAB	Merck KGaA, Darmstadt
Polyethylenglykol 400	Ph. Eur.	Merck KGaA, Darmstadt
Propandiol	Ph. Eur.	Merck KGaA, Darmstadt
Triethylenglykol	Zur Synthese	Merck KGaA, Darmstadt
Wasser	-	Millipore GmbH, Eschborn

3.1.3 Materialien zur Herstellung der Formulierungen

<b>Material</b>	<b>Chargenbezeichnung/ Qualität</b>	<b>Lieferant / Hersteller</b>
Aerosil	101443	Merck KgaA, Darmstadt
Croscarmellose- Natrium	276494	Merck KgaA, Darmstadt
Gélucire® 44/14	21574 23326	Gattefossé s.a., Saint Priest (F)
Gélucire® 50/13	20529	Gattefossé s.a., Saint Priest (F)
Imwitor 191	710307	Condea Chemie GmbH, Witten
Karion® flüssig	K 91095594	Merck KgaA, Darmstadt
Labrafil® M 2130 CS	21215	Gattefossé s.a., Saint Priest (F)
Labrasol®	20123	Gattefossé s.a., Saint Priest (F)
Lactose	107659	Merck KgaA, Darmstadt
Lutrol F 68	90-0448	BASF AG, Ludwigshafen
Polyethylenglycol 200	DAB	Merck KgaA, Darmstadt
Polyethylenglycol 1000	Ph. Eur.	Merck KgaA, Darmstadt
Polyethylenglycol 2000	DAB	Merck KgaA, Darmstadt
Polyethylenglycol 400	Ph Eur.	Merck KgaA, Darmstadt
Polyethylenglycol 6000	Ph Eur.	Merck KgaA, Darmstadt
Précirol (Glyceroldistearat)	271295	Merck KgaA, Darmstadt
Softigen® 767	V 960262	Merck KgaA, Darmstadt
Soluphor P	13 S 9244	BASF AG, Ludwigshafen
Vitamin E TPGS	1999 008623	Eastman Chem. Comp. Kingsport, USA
Hartgelatinekapseln	E00548	Capsugel
Coni-Snap®, Gr 00		
Weichgelatinekapseln (Leerkapseln, orange 1ml)	23851 V 000	R.P. Scherer GmbH & Co. KG, Eberbach

## Materialien & Methoden

<b>Material</b>	<b>Chargenbezeichnung/ Qualität</b>	<b>Lieferant / Hersteller</b>
Einmalspritzen	97 E 2601 A	Henke-Sass, Wolf GmbH, Tuttlingen
Einmal-Injektionskanüle	95501202	B. Braun Melsungen AG, Melsungen
Dispenser	EM-Dispenser, Hirschmann (0,4-2,0 ml)	Merck Eurolab GmbH, Darmstadt

### 3.1.4 Materialien zur Herstellung der Freisetzungsmidien

<b>Material</b>	<b>Chargenbezeichnung/ Reinheit</b>	<b>Lieferant / Hersteller</b>
Chloroform	p.A.	Merck KgaA, Darmstadt
Ei-Lezithin	99,1 %, rein Ch.: 105013-1	Lipoid GmbH, Ludwigshafen
Eisessig	p.A.	Merck KgaA, Darmstadt
KCl	p.A.	Merck KgaA, Darmstadt
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	p.A.	Merck KgaA, Darmstadt
Dodecylsulfat Na-Salz	f. biochem. Zwecke Ch.: L449733925	Merck KgaA, Darmstadt
Na- Taurocholat	395932/1 50699	Fluka Chemie AG, Steinheim
Na- Taurocholat	04309 MS 22824 MI 09129 TS	Aldrich Chem. Comp., Inc. Milwaukee; USA
NaCl	p.A.	Merck KgaA, Darmstadt
HCl rauchend 37 °C	p.A.	Merck KgaA, Darmstadt
NaOH (1N)	p.A.	Merck KgaA, Darmstadt
Triton X-100	p.A.	Merck KgaA, Darmstadt
Wasser	-	Millipore GmbH, Eschborn

### 3.2 Verwendete Geräte und Software

<b>Apparatur</b>	<b>Einzelkomponenten und Typenbezeichnung (Hersteller)</b>
HPLC <i>in vitro</i>	Detektor: L-4250 UV-Detektor (Merck-Hitachi), Darmstadt Pumpe: L-6200 A (Merck-Hitachi), Darmstadt Integrator: D- 7500 (Merck-Hitachi), Darmstadt Interface Modul: D-6000 (Merck-Hitachi), Darmstadt Aufgabesystem. AS-4000 (Merck-Hitachi), Darmstadt
HPLC <i>in vivo</i>	Detektor: L-4000 UV-Detektor (Merck-Hitachi), Darmstadt Pumpe: L-6200 A (Merck-Hitachi), Darmstadt Integrator: D- 7500 (Merck-Hitachi), Darmstadt Aufgabesystem: AS 655 A-40 (Merck-Hitachi), Darmstadt Interface Modul: D-6000 (Merck-Hitachi), Darmstadt
PCS	Malvern Mastersizer S long bed Ver. 2.18, (Malvern Instruments GmbH), Herrenberg
Dissolutiontester	Pharmatest Type PTWS (LaboCat), AR Zevenbergen
Ultraschallbad	Bransonic 5200 (Branson Europa B.V.), Soest/ NL
Schüttelwasserbad	GFL 1086 (Gesellschaft für Labortechnik mbH), Großburgwedel
Schüttelautomat	HS 500 (Janke & Kunkel, IKA Labortechnik), Staufen i. Br.
Trockenschrank	Trockenschrank 5028 (Heraeus Holding GmbH), Hanau
Lichttestgerät	Suntest CPS (Atlas), Gelnhausen
Dichtemessgerät	TYP DMA 4500/5000 (Fa Anton Paar GmbH), Austria Softwareversion v2.004.b
Tensiometer	Krüss Processor Tensiometer- K12 (Krüss GmbH) Hamburg Externer Thermostat Julabo F 10 (Julabo Labortechnik GmbH), Seelbach
Klimaschränke	Heraeus Vötsch GmbH (Balingen-Frommern)
Sprühtrockner	Mini- Spray- Dryer B191 (Büchi), Flawil/ CH
pH-Meter	744-pH-Meter (Metrohm AG, Heraeus) CH

## Materialien & Methoden

<b>Apparatur</b>	<b>Einzelkomponenten und Typenbezeichnung (Hersteller)</b>
Rotavapor	Rotavapor R-134 (Büchi), Flawil/ CH Waterbath B-481 (Büchi), Flawil/ CH Vacuumpumpe V-511 (Büchi), Flawil/ CH
Excenter- Mixer	IKA Vibrofix VF1- Electronic (Janke & Kunkel GmbH), Staufen
Zentrifuge	Megafuge 1.0, Rotor 3360 (Heraeus Sepatech GmbH), Osterode
Mikroskop	Olympus BH 2 (Olympus Optical Co.) Tokyo/Japan Camera Adapter (Sony), Japan
Kaltlichtlampe	KL 1500 electronic (Schott), Mainz
Evaporator	Turbo Vap LV Evaporator (Zymark Corporation), Hopkinton/ USA
DSC	Mettler Toledo DSC 821 <sup>o</sup> (Mettler Toledo), Schwarzenbach Kryostat Haake EK 90/MT (Haake Messtechnik), Karlsruhe Star <sup>o</sup> Software Version 6,0
<b>Sonstiges Zubehör</b>	<b>Typ / Hersteller bzw. Lieferant</b>
Mikrofilter	Spritzenvorsatzhalter Spartan® 13/0,45 RC/ PP (Merck Eurolab GmbH), Darmstadt
Glasspritzen (5 ml)	Hamilton-Bonaduz, Schweiz
Objektträger	Menzel Superfrost, geschnitten, (Merck Eurolab GmbH), Darmstadt
Deckgläser	Menzel-Gläser 18X18 mm, (Merck Eurolab GmbH), Darmstadt

### 3.3 Methoden

#### 3.3.1 HPLC (In-vitro-Untersuchungen)

##### 3.3.1.1 EMD 57033

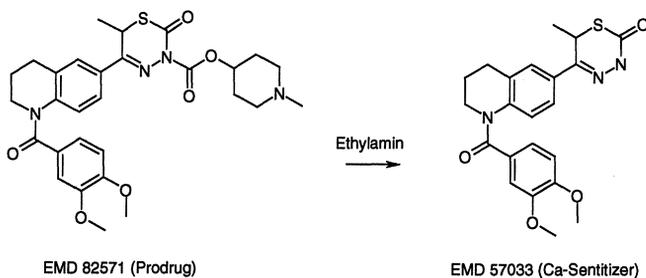
Säule	Lichrocart 125-3; Lichrospher 60 RP-select B (5µm), Art.Nr. 50158
Fliessmittel	Wasser: Acetonitril = 7:1
Standard	Wasser: Acetonitril = 1:1
Wellenlänge	204 nm
Flussrate	1 ml/min
Säulendruck	8,3 MPa
Einspritzvolumen	20 µl
Runtime	11 min
Retentionszeit	9,5 min

##### 3.3.1.2 Danazol

Säule	Lichrocart 125-4; Lichrospher RP 18 (5µm), Art.Nr. 50943
Fliessmittel	Wasser: Acetonitril = 1:1
Standard	Wasser: Acetonitril = 1:1
Wellenlänge	280 nm
Flussrate	1 ml/min
Säulendruck	4,7 MPa
Einspritzvolumen	20 µl
Runtime	12 min
Retentionszeit	10,2 min

### 3.3.2 Herstellung von EMD 57033 aus dem Prodrug EMD 82571

EMD 57033 sollte als schwer lösliche Modellschubstanz für dieses Projekt dienen. Da in ausreichender Menge jedoch nur das lösliche Prodrug EMD 82571 zur Verfügung stand, wurde dieses durch alkalische Hydrolyse zu EMD 57033 umgesetzt (vgl. Abb. 2). Es wurden 2 Ansätze à ca. 500 g Edukt (EMD 82571, Charge EE 79183) gemacht. Die beiden kristallinen Chargen wurden durch erneutes Lösen und anschließendes Auskristallisieren zu einer Charge (KS 05) vereinigt, mit der nach Vermahlen in der Reibschale alle folgenden Untersuchungen gemacht wurden (Tabelle 3).



*Abb. 2: Umsetzung von EMD 82571 zu EMD 57033.*

#### 3.3.2.1 Herstellungsprotokoll von EMD 57033 für eine Teilcharge

Die Herstellung erfolgte in einem 15-Liter-Reaktionsgefäß unter ständigem Rühren. Die Temperatur des Mantels konnte eingestellt und kontrolliert werden.

Ca. 500 g EMD 82571 (Charge EE79183) wurden mit 2,5 Liter Methanol versetzt. Anschließend wurden langsam 100 ml Ethylamin zugetropft. Die Manteltemperatur wurde zunächst auf 17°C eingestellt (Kühlung gegen Reaktionswärme), nach zehn Minuten konnte sie auf 25°C eingestellt werden, um eine ausreichende Aktivierungsenergie zu gewährleisten. Über die Dauer von etwa einer Stunde wurden dann 2,5 Liter Wasser zugetropft, bis es zur Auskristallisation der ersten Kristalle kam. Nach etwa einer Stunde wurde eine DC-Probe der oben stehenden Lösung gemacht (Fließmittel Toluol: Methanol=7:3), um zu sehen, ob die Reaktion vollständig abgelaufen war. Da kein EMD 82571 mehr vorhanden war, wurde das Reaktionsgemisch mit 34 ml rauchender

Salzsäure neutralisiert (pH 7) und fünf Minuten nachgerührt. Unter Rühren wurde 1 Liter Dichlormethan hinzugegeben.

Nach Abstellen der Rührapparatur erfolgte Phasentrennung durch 10-minütiges Stehenlassen. Anschließend wurde die durch den Wirkstoff goldgelb gefärbte Dichlormethanphase abgetrennt.

Dieser Vorgang wurde mit zunächst einem Liter und anschließend einem halben Liter Dichlormethan bis zum Klarbleiben des Dichlormethans wiederholt.

Die drei Dichlormethanphasen wurden vereinigt und mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  im Überschuss getrocknet, welches anschließend abfiltriert wurde. Das Dichlormethan wurde im Rotationsverdampfer abdestilliert, bis ein ölig-schaumartiger Rückstand zurückblieb. Der Rückstand wurde mit 1.180 ml Ethanol versetzt und bis zur vollständigen Lösung erwärmt. Anschließend wurde bei Raumtemperatur gerührt, bis die Kristallisation einsetzte. Es wurde *nicht* gekühlt, um eine gleichmäßige, langsame Kristallbildung zu erzielen.

Nach dem Abnutschen der Kristalle wurde das Produkt im Vakuumtrockenschrank bei 45°C über Nacht getrocknet.

### 3.3.2.2 Vereinigung der Einzelchargen durch erneutes Lösen

Die Gesamteinwaage (612,2g) wurde in zwei Liter Dichlormethan gelöst. Das Dichlormethan wurde abdestilliert und der ölig-schaumartige Rückstand wurde in 1.250 ml Ethanol gelöst.

Unter Erwärmung der Ethanollösung im Wasserbad bei 60°C und Rotieren des Kolbens fielen nach etwa einer Stunde die ersten Kristalle aus. Anschließend wurde bei Raumtemperatur mit einem Kunststoffrührer weitergerührt.

Die gelblich grießartigen Kristalle wurden abgenutscht und über Nacht im Vakuumtrockenschrank bei 45°C getrocknet. EMD 57033 wurde in einer Reibschale verrieben und anschließend 30 Minuten im Turbula-Mischer vermischt.

Tabelle 3 : Übersicht über die Teilchargen.

Edukt			Prozess	Produkt		
	Charge	Menge			Charge	Menge
EMD 82571	EE 79183	ca. 500 g	Hydrolyse (vgl. 3.3.2)	EMD 5703 3	KS 03	321,5 g
EMD 82571	EE 79183	ca. 500 g	Hydrolyse (vgl. 3.3.2)	EMD 5703 3	KS 04	290,7 g
EMD 57033	KS 03 + KS 04	612,2 g	Chargenvereinigung (vgl. 3.3.2.2)	EMD 5703 3	KS 05	555,2 g
EMD 57033	KS 05	555,2 g	Verreiben und Mischen (vgl. 3.3.2.2)	EMD 5703 3	KS 05 M	530,5 g

### 3.3.2.3 Bestimmung der Korngrößenverteilung der Endcharge mittels Laserbeugung

Die Korngrößenverteilung der gemahlene Charge (KS 05 M) wurde mittels Laserbeugung (Malvern Mastersizer) bestimmt. Die Messung erfolgte an einer Dispersion von EMD 57033 in Silikonöl (ca. 20%-ig).

## 3.3.3 Stabilitätsuntersuchungen

### 3.3.3.1 Stabilität des trockenen Wirkstoffs EMD 57033 im Lichttestgerät

Trockenes EMD 57033 wurde zwischen zwei Quarzgläser gegeben und über 24 h in das Lichttestgerät gestellt (750 Wattstunde/m<sup>2</sup>). Mit der exponierten Substanz wurde anschließend ein Standard hergestellt, der per HPLC auf Fremdpeaks untersucht wurde.

### 3.3.3.2 Stabilität einer Wirkstofflösung bei Tageslicht

Eine Wirkstofflösung (EMD 57033 bzw. Danazol) wurde über 24 h dem Tageslicht ausgesetzt. Start- und Endwert wurden miteinander verglichen.

### 3.3.3.3 Stabilität bei unterschiedlichen pH-Werten

Es wurde eine Lösung (EMD 57033 bzw. Danazol) in 0,01 m NaOH bzw 0,01 m HCl angesetzt und unter Lichtausschluss eingelagert. Start- und Endwert wurden miteinander verglichen.

### 3.3.3.4 Stabilität einer Wirkstofflösung in Wärme

Ein Standard [Wirkstofflösung (EMD 57033 bzw. Danazol) in Wasser:AcN = 1:1] wurde über 24 h bei 40°C, 60°C und 80°C fest verschlossen und unter Lichtausschluss eingelagert. Start- und Endwerte wurden miteinander verglichen.

## 3.3.4 Bestimmung des logP von EMD 57033

### 3.3.4.1 Shake-flask-Methode

Da es sich bei EMD 57033 um eine im physiologisch relevanten Bereich neutrale Substanz handelt, wurde der Verteilungskoeffizient zwischen Octanol und *reinem Wasser* bestimmt.

Die beiden Phasen Octanol und Wasser wurden über 12 h ineinander bei 150 U/min ausgeschüttelt, um eine gegenseitige Sättigung der Lösungsmittel zu erhalten. Anschließend wurde eine Octanollösung der Substanz hergestellt, deren Konzentration (1,23 mg/l) etwa der Sättigungskonzentration der Substanz in Wasser entsprach, so dass gewährleistet werden konnte, dass die Substanz zu 100% in die Wasserphase diffundieren *könnte*.

Jeweils 10,0 ml Octanollösung und 10,0 ml mit Octanol gesättigtes Wasser wurden in Zentrifugengläser mit Schraubdeckel gefüllt. Die Gläser wurden in eine Schüttelapparatur (150 U/min) gestellt.

Proben wurden nach 1 h, 2 h, 24 h, 48 h und 72 h entnommen und 5 Minuten bei 20.000 U/min zentrifugiert. Anschließend wurden die Konzentrationen mittels HPLC bestimmt.

Mit dieser Methode war es jedoch nur möglich, die Konzentrationen in der Octanolphase zu bestimmen, da die Konzentration **in Wasser** trotz 4-facher Einspritzung (80 µl) unterhalb der **Bestimmungsgrenze** der HPLC lag.

Die Bestimmungsgrenze der HPLC wurde daher wie folgt bestimmt: Es wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt, bei der ein Standard mit einer Konzentration von 2,04 µg/ml (=100%) kleinschrittig bis auf eine Konzentration von 0,01 µg/ml (=0,5%) verdünnt wurde. Die Verdünnung von 1% (=0,02 µg/ml) konnte bei 4-facher Einspritzung (=80 µl) gerade noch ermittelt werden, während die Verdünnung von 0,5% (=0,01 µg/ml) dagegen nicht mehr erfasst wurde. Die Bestimmungsgrenze liegt also zwischen 0,01 µg/ml und 0,02 µg/ml.

Da bei dem ersten Versuch, den Verteilungskoeffizienten zu bestimmen, der Wasserwert unterhalb der Bestimmungsgrenze, d.h. die Konzentration niedriger als 0,02 µg/ml lag, lässt sich ein Mindest-Verteilungskoeffizient von 100 annehmen (2µg/ml : 0,02 µg/ml=100).

### 3.3.4.2 HPLC- Methode

Anhand der unterschiedlichen Retentionszeiten einer 1 mmolaren Lösung der Substanz mit Fließmitteln bestehend aus Methanol und Phosphatpuffer (pH=7,2) in unterschiedlichen Anteilen (Tabelle 4) wurde der logP ermittelt.

Der Berechnung des logP aus den Retentionszeiten liegt eine in der Merck KGaA entwickelte Gleichung zugrunde, die auf multipler Regression der Daten von ca 300 Substanzen, darunter verschiedene Phenole und starke Säuren und Basen, beruht. Diese Gleichung korrigiert störende Einflüsse auf die gemessene Retentionszeit, die auf das erhöhte Molekulargewicht (>400) und Ionisierung des Moleküls zurückzuführen sind.

Der direkt aus der Geraden der Messwerte berechnete  $\log K_{app}$  wird mit Hilfe dieser Gleichung in den  $\log P_{o/w}$  umgerechnet.

*Tabelle 4: Zusammensetzung der unterschiedlichen Fließmittel*

Fließmittel	Methanol	Phosphatpuffer (pH=7,2)
1	75%	25%
2	70%	30%
3	65%	35%

### HPLC-Methode

Säule	Superspher 100 RP 18, 5cm, Innendurchmesser 4mm
Fließmittel	Siehe Tabelle 4
Wellenlänge	210 und 254 nm
Flussrate	1 ml/min
Einspritzvolumen	10 µl
Säulentemperatur	37°C

### 3.3.5 Löslichkeitsuntersuchungen

#### 3.3.5.1 Löslichkeiten in herkömmlichen Lösungsmitteln

##### 3.3.5.1.1 Berechnung der Kohäsionsparameter

Mit Hilfe eines Tabellenkalkulationsprogramms, das aus den einzelnen Atomgruppen eines Moleküls und deren Verdampfungsenthalpien und Molvolumina die Kohäsionsparameter berechnet, sollte untersucht werden, inwieweit sich Löslichkeiten tendenziell vorhersagen lassen. Der Theorie nach lösen sich Arzneistoffe am besten in Lösungsmitteln mit ähnlichen Kohäsionsparametern (*similis similibus solvuntur*). Die Tabelle berechnet die Kohäsionsparameter nach der Theorie von Fedors (Fedors, 1974; Kurz 1992), die Volumenunterschiede zwischen aromatischen und aliphatischen Strukturen berücksichtigt.

Die Gleichung zur Berechnung von Kohäsionsparametern nach Fedors lautet:

$$\delta = \sqrt{\frac{\sum \text{Verdampfungsenergien}}{\sum \text{Volumen}}} * 1000$$

Die Handhabung der Tabelle ist einfach: Das Molekül wird in seine Fragmente (Methylgruppen, aromatische Ringe etc.) zerlegt und die jeweilige Anzahl in die Tabelle

eingetragen. Als Kontrolle für die richtige Eingabe der einzelnen Gruppen dient das Molekulargewicht. Es gilt: Je höher der Kohäsionsparameter, desto hydrophiler der Stoff (z.B. Glycerin  $\delta= 41$ ) und umgekehrt (Triglyzeride  $\delta \sim 17$ ).

### 3.3.5.1.2 Löslichkeitsmessungen

Ca. 1-2 g Substanz wurden in ein 50 ml- Schraubglas genau eingewogen und mit 20 ml Lösungsmittel versetzt. Anschließend wurden die Gläser bei Raumtemperatur auf die Schüttelmaschine gestellt und mit 150 U/min geschüttelt. Es wurden Proben nach 3 h, 24 h, 48 h und 72 h gezogen und durch einen 0,45  $\mu\text{m}$ -Filter filtriert. Außer bei der Bestimmung der Löslichkeit in Wasser wurden die Proben 1:100 mit Fließmittel (AcN:Wasser= 1:1) verdünnt und per HPLC bestimmt. Es wurden die Löslichkeiten in Wasser, AcN/Wasser (1/1), Polyethylenglykol 200, Polyethylenglykol 400, Methanol und Ethanol für beide Wirkstoffe und zusätzlich für EMD 57033 die Löslichkeiten in Triethylenglykol und Propandiol bestimmt.

### 3.3.5.2 Löslichkeiten in Freisetzungsmedien

Ca. 30-50 mg Substanz wurden in ein 50 ml- Schraubglas genau eingewogen, mit jeweils 15 ml Freisetzungsmedium versetzt und im Schüttelwasserbad bei 37°C und 150 U/min geschüttelt. Es wurden Proben nach 3 h, 24 h, 48 h und 72 h gezogen, durch einen 0,45  $\mu\text{m}$ -Filter filtriert, 1:1 mit Fließmittel (AcN:Wasser= 1:1) verdünnt und per HPLC bestimmt. Es wurden die Löslichkeiten in FaSSIF, FeSSIF, SGF+, Wasser, Na-Laurylsulfatlösung (0,36%-ig, Texapon), blank FaSSIF und blank FeSSIF bestimmt.

### 3.3.6 Herstellung der Formulierungen

#### 3.3.6.1 Herstellung der Standardrezeptur

Es wurde eine 10%-ige Mischung aus Wirkstoff und Laktose mittels Turbula-Mischer hergestellt. Die Mischdauer betrug ca. 30 Minuten. Anschließend wurde sie auf Homogenität untersucht und Kapseln der Größe 00 mit je 300 mg (EMD 57033) bzw. 500 mg (Danazol) von Hand befüllt.

### 3.3.6.2 Flüssig gefüllte Hartkapseln

Tabelle 5 gibt eine Übersicht über die mit dieser Technologie hergestellten Formulierungen und ihre Bestandteile.

*Tabelle 5: Übersicht über die Bestandteile der Formulierungen zur flüssigen Befüllung von Hartkapseln.*

Formulierung	Zusammensetzung
PEGsorb (I, II)	Wirkstoff PEG 200 PEG 400 Karion
Gélu+	Wirkstoff Soluphor P Gélucire 44/14
VitE +	Wirkstoff Vitamin E TPGS Soluphor P PEG 1000 Labrafil M 2130 CS
VitE	EMD 57033 bzw. Danazol Vitamin E TPGS PEG 1000 Labrafil M 2130 CS
G4P6	Wirkstoff Gélucire 44/14 PEG 6000

#### 3.3.6.2.1 Vorversuche

Hygroskopizität der Formulierungen und der Wirkstoffe

Da Feuchtigkeit einen großen Einfluss auf die Stabilität von Arzneiformen haben kann, wurde die Wasseraufnahme der Formulierungen getestet. Die Ergebnisse können auch Hinweise auf Vorsichtsmaßnahmen bei der Herstellung der Formulierungen geben (z.B. Schmelzen im Wasserbad oder besser Trockenschrank?). Die Formulierungen wurden

## Materialien & Methoden

sowohl als Placebo als auch als wirkstoffhaltige Formulierung in Klimaschränken bei 25°C/60% r.F und 40°C/75% r.F. über 6 Wochen gelagert. Dafür wurden jeweils ca. 10g Formulierung (als Schmelze) in Wäagegläser genau eingewogen und nach dem Erstarren mit halb geöffnetem Deckel in die Klimaschränke gestellt.

Die Wasseraufnahme wurde über Differenzwägung bestimmt.

### Schlauchadsorption

Es wurde untersucht, ob der Kunststoff des Dispensers den Wirkstoff adsorbiert. Dafür wurde das Ansaugrohr des Dispensers in eine Wirkstofflösung (Standard, Konzentration ca. 30 µg/ml gelegt und fest verschlossen über 24 h unter Lichtausschluss gelagert. Start- und Restwerte wurden verglichen.

### Dosiergenauigkeit des Dispensers

Es wurde die Dosiergenauigkeit des Dispensers untersucht. Dafür wurden wirkstofffreie Zubereitungen hergestellt, und 40 mal direkt hintereinander das Gewicht jedes einzelnen Dosierstoßes à 0,8 ml gemessen. Die Messung wurde mit einer flüssigen Zubereitung (PEGsorb) bei Raumtemperatur und einer halbfesten Zubereitung (Gélucire 44/14) bei 80°C über einem Wasserbad durchgeführt.

### Dichtebestimmungen

Mit Hilfe der Dichte der Formulierung bei der Herstellungstemperatur lässt sich bei der volumetrischen Dosierung mittels Dispenser das nötige Volumen entsprechend der vorgegebenen Dosis genau berechnen. Die Dichte wurde mit einem Biegeschwinger-Dichtemessgerät bestimmt. Dieses Gerät erlaubt die Dichtebestimmung über einen relativ breiten Temperaturbereich. Die Messgenauigkeit wird durch Berücksichtigung der Viskosität der Probe erhöht.

Die Justierung erfolgte bei 20°C mit Luft und Wasser (das Gerät enthält einen sogenannten Referenzschwinger, der es ermöglicht mit der Kalibrierung bei nur einer Temperatur über den gesamten Temperaturbereich genaue Ergebnisse zu erhalten).

Die Dichten wurden bei der jeweiligen Abfülltemperatur bestimmt ( 25°C bzw. 80°C).

### 3.3.6.2.2 Herstellung der flüssig befüllten Hartgelatinekapselfn

Es wurden stets Ansätze à 100 Kapseln hergestellt. Der Wirkstoff wurde in ein 250 ml-Laborglas mit Schraubdeckel eingewogen. Die Hilfsstoffe, die zwischen 70°C und 80°C im Trockenschrank geschmolzen worden waren, wurden nacheinander hinzugewogen. Mittels Magnetrührer wurde anschließend im Trockenschrank bei 85-90°C weitergerührt, bis der Wirkstoff komplett in der Schmelze gelöst war und keine Kristalle mehr erkennbar waren (Dauer etwa eine Stunde). Auf das Laborglas wurde anschließend ein Dispenser (0,4-2 ml; Einteilung in 0,05 ml-Schritten) über einen Adapter aufgeschraubt. Diese Vorrichtung wurde an einem Stativ so befestigt, dass das Glas in ein beheiztes Wasserbad über einem Magnetrührer bis über den Stand der Schmelze hineinragte. Ein mit Hartkapseln (Größe 00) bestücktes Kapselbrett aus Plexiglas wurde unter dem Auslaufhahn des Dispensers entlanggeschoben, so dass die Kapseln nacheinander befüllt werden konnten (Abb. 3). Die Kapseln wurden, wenn nicht anders angegeben, direkt nach dem Befüllen verschlossen und bis zum Erstarren der Rezeptur bei Raumtemperatur stehen gelassen.



Abb. 3: Befüllen der Hartgelatinekapselfn mit geschmolzener halbflüssiger Zubereitung mittels Dispenser.

### 3.3.6.3 Sprüherstarrung (EMD 57033)

Tabelle 6 gibt eine Übersicht über die Bestandteile in den zur Sprüherstarrung verwendeten Formulierungen.

Tabelle 6: Übersicht über die Bestandteile der Sprüherstarrungsprodukte.

Formulierung	Zusammensetzung
G5P2	Wirkstoff Gélucire 50/13 PEG 2000
LutImPre	Wirkstoff Lutrol F 127 Imwitor 191 Précirol ATO

#### 3.3.6.3.1 Entwicklung einer geeigneten Apparatur

Nach anfänglichen Versuchen zur Herstellung eines Sprüherstarrungsproduktes mit Hilfe eines Sprühtrockners ergab sich folgende Problematik: Der Schaft des Trockenturms der in Abb. 4 dargestellten Apparatur ist zu schmal und zu kurz. Die Tröpfchen sind noch flüssig, wenn sie gegen die Wandung des Trockenturmes geschleudert werden und verkleben dort.

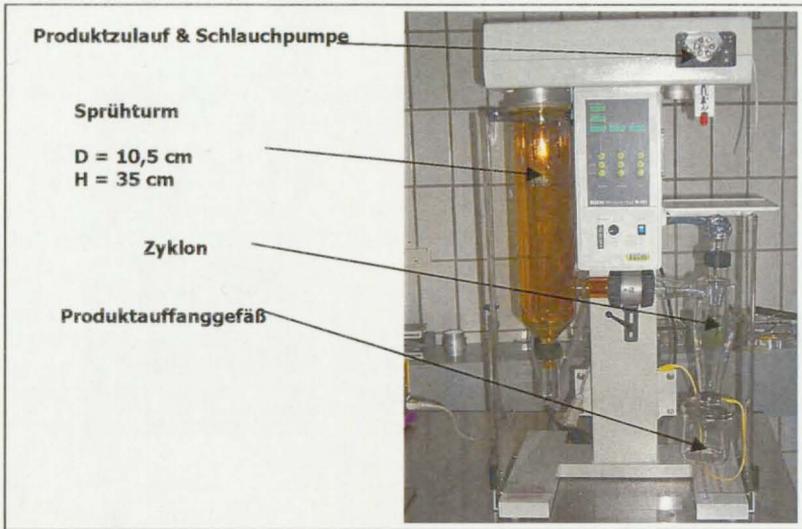


Abb. 4: Der Mini- Spray- Dryer von Büchi.

Um den versprühten Tröpfchen eine längere Wegstrecke bis zum Auftreffen zu ermöglichen, wurde die Düse aus dem Sprühtrockner ausgebaut und an einem Stativ befestigt. Die Schmelze wurde über eine extra angebrachte Schlauchpumpe in die Düse befördert, welche über ein thermostatisiertes Wasserbad mit Pumpe ständig beheizt werden konnte, um ein vorzeitiges Erstarren der Rezeptur in der Düse zu verhindern. Zudem wurde ein hoher Edelstahlimer über eine Plastiktüte an die Düse angeschlossen. Dies brachte eine Vergrößerung des "Sprühturmes" von einem Durchmesser von 10,5 cm und einer Höhe von 35 cm auf einen Durchmesser von 40 cm und eine Höhe von 150 cm. Abb. 5 zeigt die neue Konstruktion.

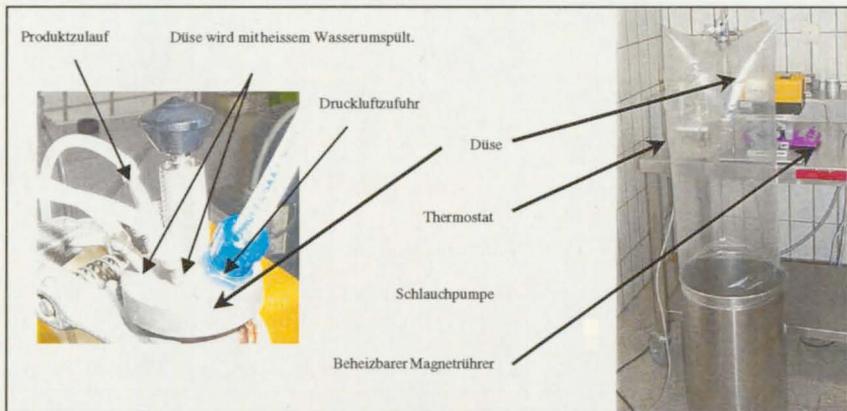


Abb. 5: Anordnung zur Sprüherstarrung.

### 3.3.6.3.2 Herstellung der Sprüherstarrungsprodukte

Es wurden stets Ansätze à 200 Dosierungen hergestellt. Der Wirkstoff wurde in ein 250ml Laborglas mit Schraubdeckel eingewogen. Die Hilfsstoffe, die zwischen 70°C und 80°C im Trockenschrank geschmolzen worden waren, wurden nacheinander hinzugewogen. Mittels Magnetrührer wurde anschließend im Trockenschrank bei 85-90°C weitergerührt, bis der Wirkstoff komplett in der Schmelze gelöst war und keine Kristalle mehr erkennbar waren (Dauer etwa eine Stunde).

Anschließend wurde der Schlauch der Pumpe über ein in den Deckel des Schraubglases gebohrtes Loch in die Lösung gehalten. Die Lösung konnte auf diese Weise konstant in die beheizte Düse gepumpt und versprüht werden. Der Druck, mit dem versprüht wurde, betrug ca. 4 bar (Hausdruck).

Das pulverige weiße Sprüherstarrungsprodukt wurde anschließend mit einem Teigschaber aus dem Stahleimer entfernt und über ein, je nach Art des Sprüherstarrungsproduktes 0,5mm – 1,5 mm-Sieb gegeben.

### 3.3.6.3.3 Weiterverarbeitung der Sprüherstarrungsprodukte

Die Formulierung G5P2 wurde zunächst direkt in Hartkapseln eingewogen und freigesetzt. Da jedoch die einzelnen Partikel nach Kontakt mit dem Freisetzungsmittel miteinander verklebten und so eine Matrix bildeten, die den Wirkstoff nicht mehr freigab, wurde das

Sprüherstarrungsprodukt für einen zweiten Versuch mit 0,5% Aerosil und 24,5% Croscarmellose als Sprengmittel 10 Minuten lang im Turbula-Mischer gemischt. Die Formulierung LutImPre wurde ohne Zusatz weiterer Hilfsstoffe freigesetzt.

### 3.3.6.4 Herstellung der Weichkapseln (Danazol)

Tabelle 7 gibt die Bestandteile der flüssigen Zubereitung wieder.

*Tabelle 7: Übersicht über die Bestandteile der flüssigen Formulierung für Weichkapseln.*

Formulierung	Zusammensetzung
LaSoPe	Wirkstoff Labrasol Softigen PEG 400

Diese Technologie wurde nur für Danazol (vgl. 5.3.7) angewendet. Der Wirkstoff wurde in ein Schraubdeckelglas eingewogen. Anschließend wurden die flüssigen Hilfsstoffe nacheinander hinzugewogen. Die Zubereitung wurde so lange mittels Magnetrührer bei Raumtemperatur gerührt, bis der Wirkstoff komplett gelöst war und keine Kristalle mehr erkennbar waren. Die fließfähige Lösung wurde anschließend mit einer 5 ml-Einwegspritze aufgezogen und mittels einer Kanüle in die zuvor an der Engstelle aufgeschnittene und austarierte Weichkapsel bis zum Erreichen des Sollgewichts injiziert. Die Weichkapsel wurde mit einer über einem Bunsenbrenner erhitzten Pinzette verschweißt.

### 3.3.7 Bestimmung der Wirkstoffgehalte in den Formulierungen

Die Kapsel wurde jeweils geöffnet, mit beiden Teilen in einen 100 ml-Messkolben gegeben und zunächst mit 10,0 ml Wasser versetzt, da die Gelatinehülle in Methanol unlöslich ist. Die Kolben wurden in ein auf 37°C temperiertes Schüttelwasserbad gestellt, bis die Gelatinehülle aufgelöst war. Nach Abkühlen des Kolbens auf Raumtemperatur wurde nach und nach unter ständigem Bewegen des Kolbens (Volumenkontraktion!) mit Methanol ad 100,0 ml aufgefüllt.

Nachdem der Kapselinhalt komplett gelöst war, wurde 1:10 mit Methanol verdünnt. Die verdünnte Lösung wurde in ein HPLC-Vial gefüllt und der Wirkstoffgehalt ermittelt.

Die Sprüherstarrungsprodukte und die Laktosemischung wurden direkt (ohne Kapsel) eingewogen und der Gehalt in Methanol (90%) mit anschließender Verdünnung mit Methanol bestimmt (s.o.).

Zur Herstellung des HPLC- Standards wurde der Wirkstoff eingewogen und in reinem Methanol gelöst.

### 3.3.8 Bestimmung der CMC der Formulierungen

Um zu sehen, ob nach Freisetzung der Kapsel die in den Formulierungen enthaltenen Tenside oberhalb der kritischen Mizellbildungskonzentration (CMC) vorliegen, sollten mit den tensidhaltigen Formulierungen konzentrationsabhängig die Oberflächenspannungen bestimmt werden.

Die Messtemperatur betrug  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Als Standard wurde demineralisiertes Wasser verwendet.

Es wurden wässrige Lösungen folgender Konzentrationen (g/l) vermessen:

VitE <sup>+</sup> :	0,01 g/l, 0,05 g/l, 0,1 g/l, 1 g/l, 5 g/l, 10 g/l, 25 g/l, 100 g/l.
Gélu <sup>+</sup> :	0,01 g/l, 0,05 g/l, 0,1 g/l, 1 g/l, 5 g/l, 10 g/l, 25 g/l, 100 g/l.
LutImPre:	0,1 g/l, 1 g/l, 10 g/l, 100 g/l.
G4P6:	0,1 g/l, 1 g/l, 10 g/l, 100 g/l.
G5P2:	0,1 g/l, 1 g/l, 10 g/l, 100 g/l.

Diese Konzentrationsbereiche wurden gewählt, um einen breiten Bereich um die unter Freisetzungsbedingungen herrschende Konzentration von ca. 1g/l abzudecken. Es wurde nach der Tensiometer-Methode mit einer Platte-Messeinrichtung gearbeitet. Die Platte wurde vor jedem Messvorgang über dem Bunsenbrenner ausgeglüht. 15 Minuten nach Einfüllen der Lösung wurde die erste Messreihe gestartet. Es wurden nur Messreihen mit einer Standardabweichung  $< 0,1 \text{ mN/m}$  gewertet.

### 3.3.9 Löslichkeiten in Freisetzungsmitteln mit Hilfsstoffzusatz

Um zu sehen, welchen Einfluss die Hilfsstoffe auf die Löslichkeitsverbesserung der Wirkstoffe in den Freisetzungsmitteln haben, wurden Lösungen der Placebo-

formulierungen in den Freisetzungsmethoden (SGF+, FeSSIF und FaSSIF) hergestellt, und zwar entsprechend den Verhältnissen bei der Freisetzung (also ca. 900 mg Formulierung auf 900 ml Medium). In diesen Medien wurden, wie auf Seite 28 beschrieben, die Löslichkeiten der Wirkstoffe bestimmt.

### 3.3.10 Untersuchung des Freisetzungsverhaltens

#### 3.3.10.1 Herstellung der Freisetzungsmethoden

##### 3.3.10.1.1 SGF (sine Pepsin) mit 0,1% Triton X-100 („SGF+“)

Da der natürliche Magensaft Tenside enthält, wurde dem reinen SGF-Puffer Triton X-100 zugesetzt. Auf diese Weise sollte der Einfluss der schlechten Benetzbarkeit der lipophilen Wirkstoffe auf die Freisetzung reduziert werden.

##### Zusammensetzung

NaCl	2,0 g
HCl (rauchend, ca. 37%)	7,0 g
Triton X-100	1,0 g
Demineralisiertes Wasser	ad 1000,0 ml

Der Puffer aus NaCl und rauchender Salzsäure wurde hergestellt und nach vorheriger Kalibration des pH-Meters mit 1N NaOH auf 1,2 eingestellt. Anschließend wurde Triton X-100 in einen Messkolben eingewogen und mit Puffer aufgefüllt. Nach vollständiger Auflösung des Tensids wurde das Freisetzungsmethodum über 15 Minuten zur Entgasung in ein Ultraschallbad gestellt.

##### 3.3.10.1.2 Fasted State Simulated Intestinal Fluid (FaSSIF)

FaSSIF enthält 3 mmol Na-Taurocholat und 0,75 mmol Lecithin und hat einen pH-Wert von 6,50.

## Materialien & Methoden

### Zusammensetzung des FaSSIF-Puffers

1N NaOH	13,85 ml
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3,9 g
KCl	7,7 g
Demineralisiertes Wasser	ad 1000,0 ml

Nach der Herstellung wurde nach vorheriger Kalibration des pH- Meters mit 0,1 N NaOH auf 6,50 eingestellt. Nach Lösen von 1,65 g Na-Taurocholat in etwa 450 ml des Puffers wurden 5,91 ml einer 10%-igen Lezithinlösung in Chloroform hinzugegeben, wobei sich eine milchig trübe Emulsion ausbildete. Das Chloroform wurde mit Hilfe eines Rotavapors bei 40°C im Wasserbad entfernt. Es entstand eine klare mizellare Lösung, die keinen Geruch mehr nach Chloroform aufwies. Die Lösung wurde nach Abkühlung auf Raumtemperatur ad 1000 ml mit FaSSIF-Puffer aufgefüllt und über 15 Minuten zur Entgasung in ein Ultraschallbad gestellt.

Tabelle 8 gibt die endgültige Zusammensetzung von FaSSIF wieder.

*Tabelle 8: Zusammensetzung von FaSSIF*

1N NaOH	13,85 ml
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3,9 g
KCl	7,7 g
Eilezithin	0,59 g
Na-Taurocholat	1,65 g
Demineralisiertes Wasser	ad 1000,0 ml

### 3.3.10.1.3 Fed State Simulated Intestinal Fluid (FeSSIF)

FeSSIF enthält 15 mmol NaTC und 3 mmol Lezithin und hat einen pH-Wert von 5,00.

### Zusammensetzung des FeSSIF- Puffers

1N NaOH	101 ml
Eisessig	8,65 g
KCl	15,2 g
Demineralisiertes Wasser	ad 1000,0 ml

Nach der Herstellung wurde nach vorheriger Kalibration des pH-Meters mit 0,1 N NaOH auf 5,00 eingestellt. Nach Lösen von 8,25 g Na-Taurocholat in etwa 450 ml des Puffers wurden 29,54 ml einer 10%-igen Lecithinlösung in Chloroform hinzugegeben, wobei sich eine milchig trübe Emulsion ausbildete. Das Chloroform wurde mit Hilfe eines Rotavapors bei 40°C im Wasserbad entfernt. Es entstand eine klare Mizellare Lösung, die keinen Geruch nach Chloroform mehr aufwies. Die Lösung wurde nach Abkühlung auf Raumtemperatur ad 1000 ml mit FaSSIF-Puffer aufgefüllt und über 15 Minuten zur Entgasung in ein Ultraschallbad gestellt. Tabelle 9 gibt die endgültige Zusammensetzung von FeSSIF wieder.

*Tabelle 9: Zusammensetzung von FeSSIF*

1N NaOH	101 ml
Eisessig	8,65 g
KCl	15,2 g
Eilezithin	2,95 g
Na-Taurocholat	8,25 g
Demineralisiertes Wasser	ad 1000,0 ml

### 3.3.10.1.4 Na-Laurylsulfatlösung (0,36%)

#### Zusammensetzung

Sodium-Laurylsulfat (Texapon®)	3,605 g
Demineralisiertes Wasser	ad 1000,0 ml

Texapon® wurde in einen Messkolben eingewogen. Um starke Schaumbildung zu vermeiden, wurde das Wasser so hinzugegeben, dass es am Messkolbenrand langsam in die Lösung fließen konnte. Vor dem endgültigen Auffüllen blieb die Lösung erst stehen, bis der Schaum komplett abgebaut war. Nach dem Auffüllen wurde die Lösung über 15 Minuten zur Entgasung in ein Ultraschallbad gestellt.

### 3.3.10.2 Freisetzungsbedingungen und Probennahme

Methode	USP 23 Methode 2 (Blattrührer)
Volumen	900 ml
Rührgeschwindigkeit	50 U/min
Temperatur	37 ± 0,5°C (Messung vor und nach der Freisetzung)

Die Kapseln wurden mit einem Sinkers beschwert, um ein Aufschwimmen der Kapseln zu verhindern. In regelmäßigen Abständen wurden 5 ml-Proben mit einer Glasspritze mit Luer-Lock-Anschluss durch eine Probenentnahmevorrichtung (mit Filterfritte, Porendurchmesser 10 µm) entnommen. Die Proben wurden stets durch einen 0,45 µm-Filter filtriert und 1:1 mit Standard-Lösungsmittel verdünnt (AcN:Wasser=1:1). Die Wirkstoffkonzentration wurde mittels HPLC bestimmt. Nach jeder Probenentnahme wurde das entnommene Volumen durch frisches (auf 37±0,5°C temperiertes) Medium ersetzt.

### 3.3.11 Lagerbedingungen und Untersuchungen nach Lagerung

#### 3.3.11.1 Lagerbedingungen

Die Formulierungen wurden bei 20°C±2°C und 45±5% rF gelagert. Die Lagerzeitpunkte, nach denen gemessen wurde, betragen, in Abhängigkeit von der physikalischen Stabilität, ein bis 24 Monate.

#### 3.3.11.2 Freisetzungsuntersuchungen

Die Untersuchungen erfolgten wie unter 3.3.10 beschrieben. Die Freisetzungsuntersuchungen nach Lagerung erlaubten sowohl die Untersuchung auf physikalische Stabilität als auch (durch Konzentrationsmessungen per HPLC) die chemische Stabilität der Formulierungen. Verschlechterte sich das Freisetzungsverhalten einer Formulierung nach Lagerung, so wurde sie mikroskopisch auf Kristalle hin untersucht.

### 3.3.11.3 Mikroskopische Untersuchung

#### 3.3.11.3.1 Polarisationsmikroskopie mit den gelagerten Formulierungen

Mit einem Spatel wurde aus der Mitte einer Kapsel eine etwa stecknadelkopfgroße Menge entnommen und auf einem Objektträger mit einem flexiblen Plastikspatel ausgestrichen und mit einem Deckgläschen bedeckt. Bei härteren Formulierungen (z.B. VitE) wurde die Masse vor dem Ausstreichen für etwa eine Minute bei 50°C in den Trockenschrank gestellt, um eine weichere Konsistenz der Formulierung und somit eine geringere Schichtdicke des Ausstrichs zu erhalten.

#### 3.3.11.3.2 Auflichtmikroskopie mit den Sprüherstarrungsprodukten

Das Sprüherstarrungsprodukt wurde auf einen Objektträger gestreut und unter das Objektiv gelegt. Mittels einer Kaltlichtlampe wurde das Objekt von oben beleuchtet und mit 40-facher Vergrößerung betrachtet.

### 3.3.12 Löslichkeiten von EMD 57033 in halbfesten Formulierungen

#### 3.3.12.1 DSC- Methode

Es sollte untersucht werden, ob sich die DSC zur Löslichkeitsbestimmung in lipidartigen Hilfsmitteln eignet.

Da die Bestimmungsgrenze der DSC bei etwa 10% Wirkstoffbeladung liegt, wurden 20%-, 30%- und 40%-ige Wirkstoffbeladungen hergestellt. In Abhängigkeit der Wirkstoffbeladung wurde die Schmelzenthalpie des Wirkstoffes gemessen und in einem Diagramm dargestellt. Durch Extrapolation im Schnittpunkt der Geraden mit der X-Achse (% Beladung) sollte sich die potentielle Beladung ermitteln lassen, bei der der Wert der Y-Achse (Schmelzenthalpie) Null ist, d.h. der Wirkstoff komplett gelöst ist.

Da EMD 57033 einen Schmelzpunkt von 167°C hat, wurde ein Heizintervall von 120°C bis 190°C mit einer Heizrate von 20 K/min gewählt. Auf diese Weise konnten die Lösevorgänge während des Aufheizens so weit wie möglich reduziert werden (Problem:

mit weiterer Erhöhung der Heizrate und Verkleinerung des Intervalls sinkt die Genauigkeit der Messung).

### 3.3.12.2 Extrapolation auf Raumtemperatur

Da eine direkte Messung von Löslichkeiten in den halbfesten Formulierungen bei Raumtemperatur nicht möglich ist, wurde jeweils die Löslichkeit bei 70°C, 80°C und 90°C ermittelt und anschließend auf Raumtemperatur extrapoliert. Die Bestimmung der Löslichkeiten erfolgte auf die Weise, indem solange schrittweise kristalliner Wirkstoff zur Hilfsstoffschmelze unter ständigem Rühren mittels Magnetrührer hinzugezogen wurde, bis sich kein Wirkstoff mehr bei gegebener Temperatur nachlöste.

### 3.3.13 Pharmakokinetische Untersuchungen

Diese Untersuchungen wurden mit EMD 57033 als schwer wasserlöslicher Modellsubstanz an vier männlichen Beagles durchgeführt. Diese waren zwischen 36 und 40 Monate alt und wogen  $15,5 \text{ kg} \pm 0,8 \text{ kg}$ . Die Substanz wurde in Form zweier selbstemulgierender Formulierungen (Gélu+ und VitE) und zum Vergleich als einfache Arzneistoff-Laktose-Mischung jeweils als 30 mg-Formulierung verabreicht. Die Herstellung dieser Formulierungen erfolgte eine Woche vor Behandlungsbeginn. Der Gehalt wurde bestimmt (n=3). Die absoluten Bioverfügbarkeiten der verschiedenen Formulierungen konnten über eine i.v.-Bolusgabe (1,3%-ige PEG- Lösung) bestimmt werden. Sämtliche Untersuchungen wurden gemäß den vorliegenden Standard Operation Procedures (SOP) durchgeführt. Die tierschutzrechtliche Genehmigung für die Durchführung des Versuches lag über die Anzeige DA4/174 vor.

#### 3.3.13.1 Bestimmung des Wirkstoffgehaltes der Muster

Die Bestimmung der Gehälter der Muster für die Plasmaspiegelmessungen wurde, wie auf Seite 36 beschrieben, durchgeführt.

### 3.3.13.2 Versuchsbedingungen und Behandlungsschema

Die Behandlung erfolgte am Morgen nach 16-stündiger futterfreier Zeit. 30 Minuten, 1 Stunde, 2, 4, 6 und 24 Stunden nach der Behandlung wurden jeweils ca. 4 ml Vollblut aus der Vena jugularis entnommen und zu EDTA-Plasma weiterverarbeitet. Bei der i.v. Behandlung wurde eine zusätzliche Blutprobe 7,5 Minuten nach der Gabe entnommen. Die Futtergabe erfolgte erst vier Stunden nach der Behandlung. Wasser stand den Hunden während des gesamten Untersuchungszeitraums zur Verfügung.

Neben dem Futterverbrauch wurden das Verhalten und Allgemeinbefinden der Tiere und ihr Körpergewicht vor und nach der Behandlung ermittelt und dokumentiert. Tabelle 10 zeigt das Behandlungsschema.

*Tabelle 10: Behandlungsschema der pharmakokinetischen Untersuchungen mit EMD 57033.*

Zeitpunkte	Hund 1	Hund 2	Hund 3	Hund 4
29.01.2001	Laktosestandard	Laktosestandard	Laktosestandard	Laktosestandard
01.02.2001	Gélu+	Gélu+	Gélu+	Gélu+
05.02.2001	VitE	VitE	VitE	VitE
08.02.2001	Ad inj. (PEG 200)			

### 3.3.13.3 Quantitative Plasmabestimmung von EMD 57033 (HPLC)

Die Blutplasmaproben wurden bis zur Analyse bei  $-20^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 5^{\circ}\text{C}$ ) gelagert. Nach dem Auftauen der Proben wurden sie auf dem Vibrofix® geschüttelt. Ein Teil des Plasmas (0,2ml) wurde entnommen und der interne Standard (EMD 54616) hinzupipettiert. Die Extraktion von EMD 57033 und internem Standard EMD 54616 erfolgte mit 1-Chlorbutan. Daraus wurden die Substanzen quantitativ durch Abblasen mit Stickstoff im Turbovap® bei  $45^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  gewonnen. Der trockene Rückstand wurde in Fließmittel aufgenommen und nach dem Schütteln zur HPLC-Analyse verwendet. Die Bestimmungsgrenze für EMD 57033 liegt unter gegebenen Bedingungen bei Einsatz von 0,2 ml Plasma bei 10 ng/ml.

## Materialien & Methoden

### HPLC für EMD 57033 (in vivo)

Säule	Lichrocart 125-3; Lichrospher 100 RP 18 e Art.Nr. 50175		
Fließmittel	AcN/0,05 M Ammoniumphosphatpuffer pH 4 = 35/65 (V/V)		
Standard	Lösung in Methanol		
Wellenlänge	204 nm		
Flussrate	1 ml/min		
Säulendruck	109 bar		
Einspritzvolumen	75 µl		
Laufzeit	10 min		
Retentionszeiten	Absolut:	EMD 57033	4,9 min.
		EMD 54616	8,9 min.
	Relativ:	EMD 57033	0,55

## 4 Ergebnisse der Untersuchungen mit der Modellsubstanz EMD 57033

### 4.1 Die Modellsubstanz EMD 57033

#### 4.1.1 Wichtiges über EMD 57033

Erste Untersuchungen begannen Ende der 80-iger Jahre mit dem racemischen Gemisch (EMD 53998; Europ. Patent vom 22.12.1988) aus EMD 57033 ((+)-Enantiomer) und EMD 57439 ((-)-Enantiomer).

Es handelt sich bei diesen Stoffen um die Stoffklasse der Quinolythiazinone, die als "Calcium-Sensitizer" bezeichnet werden. Sie interagieren direkt mit den Proteinen der Myofibrillen und sensibilisieren das Ansprechen der Myofilamente auf Calcium-Ionen. Sie imitieren auf diese Weise natürlich im Herz vorkommende Imidazole, wie z.B. Carnosin. Ihr Vorteil gegenüber herkömmlichen Therapeutika gegen Herzinsuffizienz (ACE-Hemmer, Diuretika und Herzglycoside) ist die Erhöhung der Herzökonomie und ein damit einhergehendes geringeres Nebenwirkungspotential. Da das Razemat (EMD 53998) amorph anfiel und es Probleme mit der Reproduzierbarkeit der Chargen gab, wurde ab Anfang der 90-iger Jahre nur noch mit dem kristallinen (+)-Enantiomer (EMD 57033, Abb. 6) gearbeitet.

Aufgrund der Löslichkeitsproblematik von **EMD 57033** (Wasserlöslichkeit bei Raumtemperatur 2 µg/ ml) führte man eine Piperidyloxycarbonylgruppe in das Molekül ein, was die Bildung eines wasserlöslichen Salzes möglich machte (**EMD 82571, Prodrug**). Dieses zersetzt sich in SIF USP mit einer  $t/2 < 2$  min. unter Abspaltung der Piperidyloxycarbonylgruppe und Bildung des pharmakologisch wirksamen EMD 57033. Ende 1997 wurde über die Vor- und Nachteile von EMD 57033 gegenüber EMD 82571 diskutiert. Vorteile von EMD 57033 waren die größere Stabilität bei der Verarbeitung, keine toxischen Metaboliten, geringerer Aufwand bei der Synthese und andere Kostenfaktoren. Gegen EMD 57033 sprach die wegen des Löslichkeitsproblems begrenzte Dosierung pro Kapsel und die kürzere Patentlaufzeit.

## Ergebnisse der Untersuchungen mit EMD 57033

EMD 82571 (Prodrug) war die Substanz, mit der die Phase I-Studien begonnen wurden. Da eine Mindestbioverfügbarkeit von >20% gefordert war, die in den klinischen Studien nicht erreicht werden konnte, war dies das „k.o.“-Kriterium im Jahr 1999 für die Weiterentwicklung dieser Substanz.

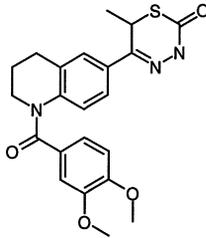


Abb. 6: Strukturformel von EMD 57033.

Da die Bioverfügbarkeitsstudien für diese Arbeit in Hunden (Gewicht ca 15 kg) erfolgen sollten, wurde als Einzeldosierung 30 mg gewählt. Dies entspricht der damals angestrebten Dosis von 2 mg/kg Körpergewicht. Tabelle 11 gibt die wichtigsten physikochemischen Daten von EMD 57033 wieder.

Tabelle 11: Wichtige physikochemische Daten von EMD 57033.

LogP	2,7
Schmelzpunkt	167 °C
Kohäsionsparameter (berchnet nach Fedors)	28,2
MG	425
Pk <sub>a/b</sub>	neutral

## 4.1.2 Herstellung von EMD 57033

### 4.1.2.1 Ausbeute

Die Substanz wurde, wie auf Seite 22 beschrieben, hergestellt. Die Ausbeute betrug nach sämtlichen Herstellungsschritten ca. 530 g (53%).

### 4.1.2.2 Korngrößenverteilung

Die Bestimmung der Korngrößenverteilung der Charge KS 05 M ergab eine Korngröße von 75,53  $\mu\text{m}$  (Medianwert) und von < 145,87  $\mu\text{m}$  bei 95% der Partikel (Abb. 7). Diese Charge wurde für alle folgenden Untersuchungen verwendet.

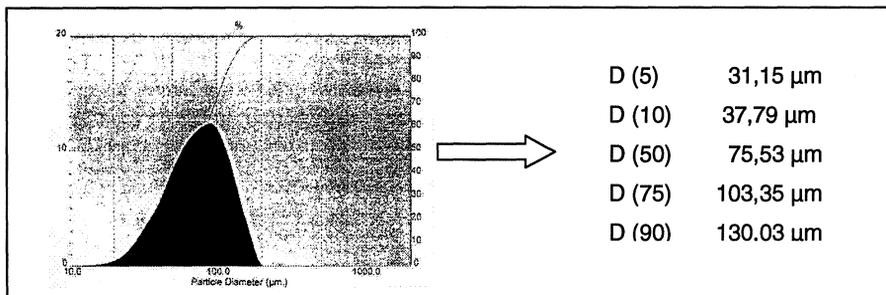


Abb. 7: Korngrößenverteilung von EMD 57033 (Charge KS 05 M).

## 4.1.3 Die Stabilität der Substanz

### 4.1.3.1 Stabilität der trockenen Substanz im Lichttestgerät

Die im trockenen Zustand über 24 h im Lichttestgerät exponierte Substanz zeigte nach anschließendem Lösen keine Fremdpeaks.

#### 4.1.3.2 Stabilität einer Wirkstofflösung bei Tageslicht

Die dem hellen Tageslicht ausgesetzten Standards zeigten die in Tabelle 12 aufgeführten Veränderungen.

*Tabelle 12: Zersetzung einer EMD 57033-Lösung am Tageslicht (Restwert nach 24h).*

Startwert	Restwert (µg/ml)	Restgehalt (n. 24h)
35,80 µg/ml	21,54 µg/ml	59,92%
30,2 µg/ml	17,04 µg/ml	55,99%

EMD 57033 ist bei Lagerung in gelöster Form lichtempfindlich. Während der Freisetzungsuntersuchungen wurde daher darauf geachtet, dass die Freisetzungsanlage nicht direkt dem Sonnenlicht ausgesetzt war. Es wurden bei keinem der Freisetzungsversuche Zersetzungserscheinungen (HPLC) beobachtet.

#### 4.1.3.3 Stabilität einer Wirkstofflösung bei unterschiedlichen pH-Werten

Der im sauren bzw. basischen Milieu gelöste Wirkstoff zeigte auch nach 72 h Lagerung unter Lichtausschluss keine Veränderung: Der Gehalt der Lösung blieb stabil und im HPLC- Diagramm waren keine Fremdpeaks zu sehen.

#### 4.1.3.4 Stabilität einer Wirkstofflösung in Wärme

Es konnte nach 24 h Lagerung unter Lichtausschluss bei keiner der Temperaturen (40°C, 60°C, 80°C) Veränderungen des EMD 57033-Standards festgestellt werden. Die Substanz ist somit in Wärme stabil und für die Verarbeitung in der Schmelze lipidartiger Hilfsstoffträger geeignet.

#### 4.1.4 Bestimmung des logP

##### 4.1.4.1 Shake-flask

Tabelle 13 gibt die gemessenen Konzentrationen in den beiden Phasen und den daraus ermittelten LogP wieder. Die Konzentration in der Wasserphase wurde durch 4-fache Einspritzung (80 µl statt 20 µl) ermittelt.

Der ermittelte LogP liegt zwischen 2,74 und 2,78.

*Tabelle 13: Verteilungskoeffizient und logP von EMD 57033.*

Zeitpunkt	n	C <sub>oct</sub> (µg/ml)	C <sub>wasser</sub> (µg/ml)	VK	LogP	MW (logP)	StabW (%)
3h	1	18,72	0,029	645	2,81	2,75	2,58
	2	19,49	0,034	573	2,76		
	3	18,68	0,040	467	2,67		
24h	1	18,58	0,033	559	2,75	2,78	1,10
	2	18,98	0,029	649	2,81		
	3	18,70	0,032	594	2,77		
48h	1	18,84	0,035	538	2,73	2,76	1,09
	2	19,12	0,033	579	2,76		
	3	18,90	0,031	610	2,79		
72h	1	18,53	0,035	526	2,72	2,74	0,73
	2	18,68	0,033	574	2,76		
	3	18,75	0,034	549	2,74		

##### 4.1.4.2 HPLC-Methode

Die mit der HPLC-Methode gemachten Messungen ergaben Werte von 2,72 und 2,47. Da diese in etwa das Ergebnis der shake-flask-Methode widerspiegeln, scheint die HPLC-Methode zur logP-Bestimmung geeignet. Die Schwankungen sind darauf zurückzuführen, dass die gemessenen Retentionszeiten bei unterschiedlicher Fließmittelzusammensetzung (vgl. 3.3.4.2) oft nicht exakt auf einer Gerade liegen. Die logP-Werte sind daher von der Lage der Trendlinie abhängig und können somit in einem bestimmten Intervall schwanken.

#### 4.1.5 Löslichkeitsuntersuchungen mit EMD 57033

##### 4.1.5.1 Löslichkeiten in Standardlösungsmitteln versus Kohäsionsparameter

Neben den in Abb. 8 aufgeführten Löslichkeiten betrug die Löslichkeit in Wasser  $2 \mu\text{g/ml}$  und die Löslichkeit im Fließmittel (Acetonitril/Wasser = 3/7)  $720 \mu\text{g/ml}$ . Abb. 8 zeigt, dass EMD 57033 nach Fedors die beste Löslichkeit in Triethylenglycol und Methanol haben müsste (linkes Diagramm). Im rechten Diagramm ist jedoch erkennbar, dass der Wirkstoff die beste Löslichkeit in den flüssigen Polyethylenglykolen hat. In Methanol ist die Löslichkeit mit  $7,4 \text{ mg/ml}$  sogar wesentlich geringer als in PEG 400. Der Rechnung nach müsste die Löslichkeit jedoch am schlechtesten in PEG 400 und am besten in Methanol sein.

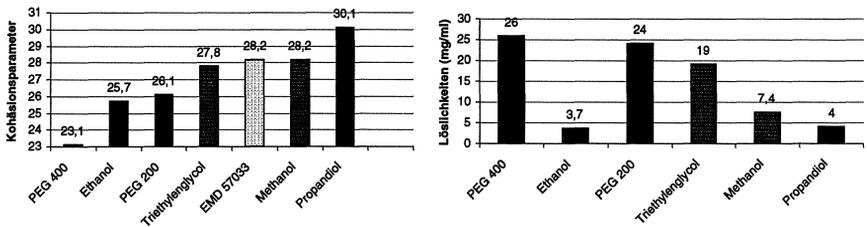


Abb. 8:links: aufsteigend sortierte Kohäsionsparameter von Wirkstoff und Hilfsstoffen; rechts: gemessene Löslichkeiten.

Dieses Beispiel widerlegt somit die Theorie von Fedors, zumindest bei Verwendung der vereinfachten Exceltabelle. Ähnlich negative Erfahrungen machten Martin et al. (1984), Fujii et al. (2000) und Dickinson et al. (2000).

Zudem spricht die teilweise sehr komplexe Zusammensetzung der halbsynthetischen Hilfsstoffe (insbesondere bei den Gélucire-Arten) gegen die Verwendung dieser Tabelle.

#### 4.1.5.2 Löslichkeiten in Freisetzungsmedien (37°C)

Abb. 9 zeigt die Löslichkeiten von EMD 57033 in den Freisetzungsmedien bei 37°C $\pm$ 0,5. Der Einfluss der Gallensalze auf die Löslichkeit ist, wie die Daten in FeSSIF zeigen, nicht besonders groß (etwa 2,7-fache Löslichkeit). Dies bestätigt frühere Untersuchungen von Dressman et al (1996), wonach Substanzen sehr lipophil sein müssen, um von den Gallensalzen gut solubilisiert zu werden: So hat beispielsweise Hydrocortison (logP = 1,6) eine 1,8-fach bessere Löslichkeit in FeSSIF als in Wasser, Felodipin (logP =4,5) dagegen eine 237-fach bessere Löslichkeit in FeSSIF als in Wasser. EMD 57033 liegt mit seinem logP von circa 2,7, wie Hydrocortison, eher im unteren Bereich lipophiler Substanzen.

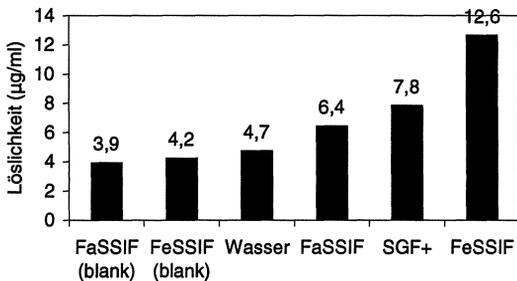


Abb. 9: Löslichkeiten von EMD 57033 in den Freisetzungsmedien (37°C  $\pm$ 0,5)

#### 4.1.5.3 Löslichkeiten in Na-Laurylsulfat-Lösungen

Da in den allen unter 4.1.5.2 aufgeführten Medien die Löslichkeit des Wirkstoffes zu gering war, um die Einzeldosis von 30 mg in 900 ml Freisetzungsmedium vollständig zu lösen, wurden die Löslichkeiten in Na-Laurylsulfatlösungen unterschiedlicher Tensidkonzentrationen bestimmt (Abb. 10).

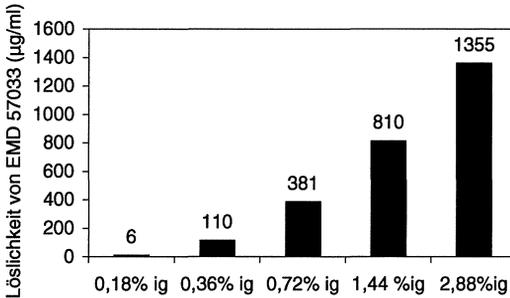


Abb. 10: Löslichkeit von EMD 57033 in Na-Laurylsulfat-Lösungen aufsteigender Konzentration.

Die 0,36%-ige Tensidlösung schien ausreichend, um 30 mg Wirkstoff in 900 ml Flüssigkeit zu lösen. Dieses Freisetzungsmedium war insbesondere für die Freisetzung der Standardrezeptur (Laktose), in der der Wirkstoff kristallin vorliegt, interessant.

## 4.2 Das Problem und die Aufgabenstellung

Die Problematik schwer löslicher Wirkstoffe soll zunächst am Beispiel des Freisetzungsverhaltens einer Standardrezeptur in verschiedenen Freisetzungsmedien dargestellt werden. In dieser Rezeptur liegt der Wirkstoff in seiner kristallinen Form vor.

### 4.2.1 Homogenität der Standardrezeptur

Um sicherzustellen, dass der Wirkstoff gleichmäßig in dem Hilfsstoff Laktose verteilt ist, wurde die Homogenität bestimmt. Der Durchschnittsgehalt betrug 30,95 mg  $\pm$  4,55% auf 300 mg Mischung.

### 4.2.2 Freisetzung der Standardrezeptur

Abb. 11 zeigt das Freisetzungsverhalten der Standardkapsel und den Vergleich der erreichten Konzentration mit der jeweiligen Löslichkeit von EMD 57033 im

FreisetzungsmEDIUM bei 37°C. Wie in Abb. 11 zu sehen, wurden diese Maxima in fast allen Medien innerhalb der ersten drei Stunden gemessen.

Abb. 12 zeigt, dass der Wirkstoff, wenn er in der Arzneiform kristallin vorliegt, Maximalkonzentrationen entsprechend seiner Löslichkeiten erreicht.

Die Ausnahme stellt die 0,36%-ige Texaponlösung dar, in der der Wirkstoff zwar eine Löslichkeit von 110 µg/ml hat (s. Abb. 10; Anmerkung: Aus Gründen einer übersichtlicheren Skalierung ist diese nicht im Diagramm aufgeführt), bei Freisetzung der Laktose-Mischung jedoch nur Konzentrationen um 10 µg/ml gemessen wurden. Bei genauer Betrachtung der Freisetzungskurven ist erkennbar, dass die Texapon-Kurve als einzige nicht plateauiert, sondern auch nach sieben Stunden noch, wenn auch nur sehr langsam, ansteigt.

In den Medien SGF+, FaSSiF, FeSSiF und Wasser liegt die nominale Endkonzentration von 33,3µg/ml weit über der entsprechenden Löslichkeit. Hier herrschen non-sink-Bedingungen, jedoch werden die geringen Endkonzentrationen rasch erreicht. In 0,36%-iger Texaponlösung dagegen liegt die Löslichkeit des Wirkstoffes weit über der nominalen Endkonzentration. Es herrschen zwar sink-Bedingungen, der Messzeitraum (sieben Stunden) ist jedoch zum Erreichen der Maximalkonzentration nicht ausreichend. Die Bestimmungen von Löslichkeit und Freisetzung in Texaponlösung (0,36%) wurden jeweils in einem weiteren Versuch wiederholt und bestätigt. Eine mögliche Erklärung für dieses Phänomen ist unter 4.3.3.6 zu finden.

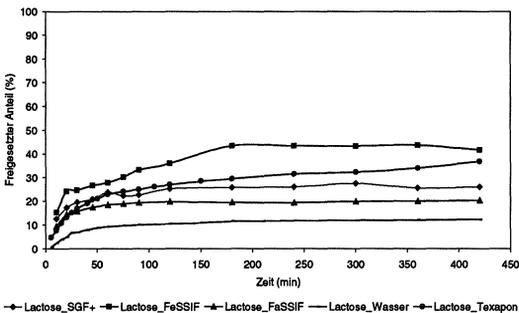


Abb. 11: Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel in verschiedenen Medien.

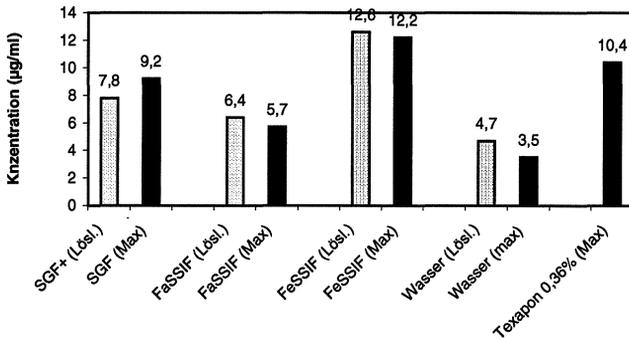


Abb. 12: Vergleich der erreichten Konzentrationen mit der Löslichkeit im jeweiligen Medium.

#### 4.2.3 Die These

In der Regel haben Substanzen mit **schlechter Wasserlöslichkeit** auch ein langsames Auflösungsverhalten. Aufgrund ihrer meist hohen **Lipophilie** sind sie jedoch gut **permeabel**, d.h. das Absorptionsvermögen ist relativ hoch (Sekikawa, 1983). Bei der galenischen Verarbeitung dieser Substanzen wird daher angestrebt, für eine rasche Resorption hohe Wirkstoffkonzentrationen im Lumen zu erreichen (Merkle, 1980 und 1981<sup>1</sup>). Diese Maßnahmen führen jedoch zu einer Übersättigung im GI-Trakt und es besteht die Gefahr einer Rekristallisation des Wirkstoffes. Finden Auflösung und Resorption jedoch statt, bevor es zu Rekristallisationsprozessen kommt, so kann die Bioverfügbarkeit deutlich gesteigert werden.

Das Ziel ist also sowohl die **Freisetzungsrates** als auch die absolut erreichten **Konzentrationen** im GI-Trakt durch die Herstellung geeigneter Formulierungen zu **erhöhen**. Da gerade die Auflösungsrate und Maximalkonzentration die Bioverfügbarkeit limitierende Faktoren der schwer löslichen Arzneistoffklasse sind, liegt der Arzneistoff vor der Freisetzung idealerweise in der Arzneiform **gelöst** vor. Ist dies der Fall, entfällt der langsame Schritt des Auflösens des Wirkstoffes im GI-Trakt. Bei der Freisetzung findet nur

eine Verdünnung der Formulierung statt. Damit auch dieser Schritt der „Verdünnung“ rasch abläuft, sollten die Hilfsstoffe gut **wassermischbar** sein. Um eine sofortige Rekrystallisation des Wirkstoffes nach der Freisetzung zu verhindern, sollten die Hilfsstoffe z.B. solubilisierende Eigenschaften haben. Diese Eigenschaften werden **tensidartigen** Hilfsstoffen mit ihrer amphiphilen Struktur zugeschrieben.

Zusammenfassend lässt sich die **Anforderungsliste an die Hilfsstoffe** folgendermaßen festhalten: Sie sollten den Arzneistoff in gelöster Form enthalten, gut wasserlöslich sein und die Rekrystallisation des Arzneistoffes nach der Freisetzung hemmen.

Selbstverständlich müssen die Hilfsstoffe außerdem mit dem Arzneistoff und der Kapselhülle **kompatibel** sein.

In dieser Arbeit wurden vorwiegend lipidartige, halb feste Formulierungen untersucht .

### 4.2.4 Theorien zur Hilfsstoffwahl

Wie schon auf Seite 51 beschrieben, eignet sich die Theorie von **Fedors** nicht bei der Suche nach geeigneten halbfesten Hilfsstoffen für EMD 57033. Zudem würde sich dieser rechnerische Ansatz lediglich mit der Anforderung „löst den Arzneistoff“ befassen, nicht dagegen mit den Anforderungen, die „während“ (wasserlöslich) und „nach“ (solubilisierend) der Freisetzung aus der Arzneiform an die Hilfsstoffe gestellt werden.

Eine im Zusammenhang mit der Löslichkeitsproblematik in den letzten Jahren oft untersuchte Technologie ist die Herstellung von **SEDDS** (self-emulsifying drug delivery systems) und **SMEDDS** (self-micro-emulsifying drug delivery systems). Dies ist eine patentierte Technologie (EP 0 670 715 B1), die sich i. d. R. aus einem hydrophilen Tensid, einem lipophilen Co-Tensid und einer öligen Phase zusammensetzt. Bei Kontakt mit physiologischen Flüssigkeiten bildet sich spontan eine (Mikro-)Emulsion. Idealerweise löst sich der Wirkstoff in mindestens einer der Komponenten. Lipidartige Systeme dieser Art werden meist mit flüssigen Hilfsstoffen hergestellt.

In dieser Arbeit wurde untersucht, inwieweit sich sie S(M)EDDS unter Anwendung **halbfester** Hilfsstoffe eignen. Grund hierfür waren in erster Linie die angestrebten Technologien *Flüssig Gefüllte Hartkapseln* und *Sprüherstarrung*. Zudem sollte untersucht werden, ob halbfeste Hilfsstoffe aufgrund geringerer molekularer Mobilität möglicherweise ein größeres (chemisches und physikalisches) Stabilitätspotential als flüssige Hilfsstoffe besitzen und den Wirkstoff daher über längere Zeit vor Rekrystallisation schützen.

(Anmerkung: Eine weitere Theorie im Zusammenhang mit schwer wasserlöslichen Substanzen ist die Theorie von Pouton, die in 5.3.7.1 anhand der zweiten Modellschubstanz Danazol beschrieben ist).

### **4.3 Verbesserte Formulierungen für EMD 57033**

#### **4.3.1 Vorversuche zur Herstellung flüssig befüllter Hartkapseln**

Die nachfolgend beschriebenen Vorversuche beziehen sich auf wichtige physikalische Eigenschaften der Hilfsstoffe und auf die Eignung eines Dispensers zur Flüssigbefüllung von Hartkapseln.

##### **4.3.1.1 Hygroskopizität der Formulierungen**

Abb. 13 gibt die prozentuale Wasseraufnahme der Formulierungen (Placebo bzw. wirkstoffhaltig) wieder.

Die PEGSorb/I-Formulierung hat mit über 35% bei 40°C/ 75% rF bzw. knapp 20% bei 25°C/ 60% rF die größte Hygroskopizität. Die übrigen Formulierungen zeigen bei 25°C/ 60% rF mit höchstens 2% eine relativ geringe Wasseraufnahme, bei 40°C/75% rF steigt die Wasseraufnahme jedoch erheblich (auf über 15% bei G5P2). Zwischen den Placebos und den EMD 57033-haltigen Formulierungen besteht kein bemerkenswerter Unterschied. Dies erklärt sich durch die nicht-hygroskopische Eigenschaft des Wirkstoffes. Für reines EMD 57033 war eine Wasseraufnahme von 0,24% (25°C/ 60%rF) bzw. 0,82% (40°C/75% rF) gemessen worden.

## Ergebnisse der Untersuchungen mit EMD 57033

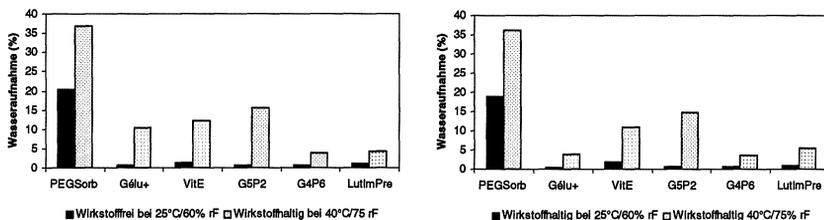


Abb. 13: Hygroskopizität der Placebo-Formulierungen (links) bzw. wirkstoffhaltigen Formulierungen (rechts) bei erhöhter Temperatur und Luftfeuchtigkeit.

Da Wasser in den Formulierungen deren physikalische Stabilität beeinträchtigen kann, sollten Schmelzen derartiger Hilfsstoffe nicht im Wasserbad, sondern im Trockenschrank hergestellt werden.

### 4.3.1.2 Schlauchadsorption

Die Wirkstoffkonzentration des Standards war über 24 h konstant geblieben. Eine Wirkstoffadsorption am Kunststoff konnte somit ausgeschlossen werden.

### 4.3.1.3 Dosiergenauigkeit des Dispensers

Die Bestimmungen der Dosiergenauigkeit ergaben für die PEGsSorb-Formulierung (25°C) ein Durchschnittsgewicht von  $866,5 \text{ mg} \pm 1,29\%$  und für die Gélucire 44/14-Formulierung bei 80°C ein Durchschnittsgewicht von  $805 \text{ mg} \pm 0,4\%$ . Die für derartig kleine Ansätze geringen Standardabweichungen zeigen, dass der Dispenser sowohl für Formulierungen bei Raumtemperatur als auch bei Formulierungen mit einer Temperatur von 80°C geeignet ist, um flüssige Zubereitungen konstant zu dosieren.

### 4.3.1.4 Dichtebestimmungen

Anmerkung: Diese Untersuchung wurde erst nachträglich gemacht und erklärt die bei den Untersuchungen mit EMD 57033 von der Solldosis abweichenden Kapselgehälter, insbesondere bei der Gélú+-Formulierung (25 mg statt 30 mg), bei der die Kapseln mit

800µl statt mit 900 µl (=Sollwert für 30 mg nach Bestimmung der Dichte) befüllt wurden. Die Messungen ergaben folgende Ergebnisse:

Gélu <sup>+</sup> :	$D^{80} = 1,010$
VitE:	$D^{80} = 1,013$
G5P2:	$D^{80} = 1,030$
G4P6:	$D^{80} = 1,037$
PEGSorb/I:	$D_4^{25} = 1,139$
PEGSorb/II:	$D_4^{25} = 1,130$

Die Formulierung für das Sprüherstarrungsprodukt konnte nicht vermessen werden, da es schon in der Spritze, mit der die Schmelze aufgegeben wurde, erstarrte.

Die Ergebnisse zeigen einen der Vorteile lipidartiger Hilfsstoffe: Die Dichte ist im Vergleich zu pulverförmigen Hilfsstoffen weit höher und macht dadurch ein höheres Hilfsstoff-Wirkstoffverhältnis in der Kapsel möglich.

### 4.3.2 Rezeptur aus PEG und Sorbitol (PEGSorb)

#### 4.3.2.1 Verfestigung flüssiger PEG´s durch Zusatz von Sorbitlösung

Das SEDDS-Schema zur Herstellung lipidartiger Formulierungen wurde bei der in diesem Absatz beschriebenen Formulierung noch nicht angewendet. Hier wurde zunächst versucht, die gute Löslichkeit von EMD 57033 in **flüssigen Polyethylenglykolen** (vgl. 3.3.5.1) zur Herstellung einer halbfesten Formulierung zu nutzen. Dies sollte unter gleichzeitiger Anwendung der Technologie flüssig befüllter **Hartgelatine kapseln** erfolgen. Grundlage für die Entwicklung dieser Formulierung waren Untersuchungen aus den 60-er und 70-er Jahren (Robinson, 1964; Mursi, 1977 und List, 1978), bei denen beobachtet worden war, dass bei Zusatz von hochkonzentrierter Sorbitollösung (70%) zu flüssigen PEG´s nach starkem Rühren und Temperaturzufuhr **Verfestigung** eintritt. Je nach Art des PEG´s und des Sorbitolanteils entstehen hochviskose Flüssigkeiten, halbfeste oder feste wachsartige Grundlagen, die einen Schmelzpunkt von 35°C-40°C haben. Je höher der Sorbitanteil, desto eher tritt die beschriebene Weißfärbung ein, die jedoch auch bei geringeren Sorbitanteilen nach Lagerung in Erscheinung tritt.

Für das Phänomen der Verfestigung existieren bislang zwei Theorien:

**Polymerisation** zwischen PEG-Molekülen und Sorbitol

PEG ist hygroskopischer als Sorbitol und entzieht der Sorbitollösung das Wasser; **Sorbitolkristalle** fallen aus.

Gegen die erste Theorie spricht, dass die Verfestigung spontan eintritt, d.h. ohne Zugabe von Säuren oder Basen. Zugabe von Säuren oder Basen konnte die Verfestigung im Versuch nicht induzieren. Außerdem ist die Verfestigung durch Temperaturzufuhr reversibel. Gegen die zweite Theorie spricht, dass die Verfestigung auch eintritt, ohne dass Kristalle unter dem Mikroskop erkennbar sind.

Nach einer Vielzahl von Versuchen mit flüssigen PEG's und Sorbitol kam der Verdacht auf, dass es sich bei diesem Phänomen um Gelbildung zwischen den PEG-Ketten und den Sorbitolmolekülen handelt (Abb. 14). Gelbildung stellt einen hohen Ordnungszustand dar, d.h. die Sorbitolmoleküle sind vermutlich gleichmäßig zwischen den PEG-Ketten verteilt und gehen über ihre OH-Gruppen Wasserstoffbrücken mit den Enden der PEG-Ketten ein.



*Abb. 14: Verfestigung der flüssigen PEG's nach Zugabe von Sorbitollösung und Rühren bei erhöhter Temperatur.*

Folgende **Beobachtungen** sprechen für diese Theorie:

Erhöhte Temperatur und hohe Rührgeschwindigkeit sind nötig: Beide Faktoren haben eine höhere Beweglichkeit der PEG-Ketten zur Folge und ermöglichen eine bessere Verteilung der Sorbitolmoleküle. Diese gleichmäßige Verteilung erschwert eine Kristallisation des Sorbitols.

Mit reinem PEG 400, das die doppelte Kettenlänge von PEG 200 besitzt und damit eine hochdisperse Verteilung der Sorbitolmoleküle erschwert, tritt noch bevor man eine gleichmäßige Mischung der beiden Hilfsstoffe herstellen kann, eine ungleichmäßige Weißfärbung ein (Abb. 15, rechts), deren Ursache möglicherweise Sorbitolkristalle sind. Mikroskopisch waren jedoch keine Einzelkristalle erkennbar.

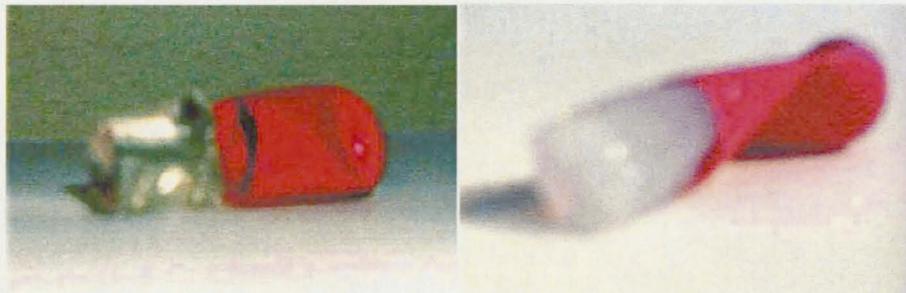


Abb. 15: Veränderung einer PEGSorb-Kapsel bei Lagerung (links: frisch, rechts: 6 Monate gelagert).

#### 4.3.2.2 Entwicklung der Formulierungen PEGSorb/I und PEGSorb/II

In zahlreichen Versuchen wurde nach einer geeigneten Hilfsstoffkombination und Methode gesucht, die es ermöglichen sollte, nach Lösen von EMD 57033 im flüssigen PEG unter Temperaturzufuhr und anschließender Zugabe der Sorbitollösung, die Formulierung flüssig in Hartgelatinekapseln abzufassen, in denen anschließend Verfestigung der Rezeptur eintrat. Voraussetzung für das Eintreten der Verfestigung war Temperaturzufuhr und anschließendes Weiterrühren bei Raumtemperatur. Als richtiger Zeitpunkt für das Abfassen der (zunächst noch flüssigen) Zubereitung wurde der Moment der Bläschenbildung an der Glaswandung ermittelt, die durch die während des Rührens langsam einsetzende Verfestigung eintrat.

*Tabelle 14: Zusammensetzung der PEGSorb-Rezeptur.*

Technologie	Zusammensetzung	Menge (mg)	Konz. (mmol/g)	Volumen (µl) bei 25 °C
Flüssig gefüllte HK (PEGSorb/I)	EMD 57033	30	0,08	800
	PEG 200	390		
	PEG 400	390		
	Sorbitollösung	90		
Flüssig gefüllte HK (PEGSorb/II)	EMD 57033	30	0,08	800
	PEG 200	415		
	PEG 400	415		
	Sorbitollösung	40		

Da die Formulierung PEGSorb/I nach Lagerung Instabilitäten bzgl. der Freisetzung und dem optischen Erscheinungsbild aufwies (Abb. 19), wurde der Sorbitolanteil in der Formulierung reduziert (Tabelle 14). Es war in Placeboversuchen beobachtet worden, dass bei einem Sorbitolanteil von etwa 4% gerade noch Verfestigung eintritt, sich die Formulierung optischen Beurteilungskriterien nach jedoch nur langsam verändert.

Bemerkenswert war an der PEGSorb-Formulierung, dass die Kapseln auch nach 6-monatiger Lagerung nicht spröde wurden, obwohl normalerweise flüssige PEG's mit Hartkapseln nicht kompatibel sind, da sie der Kapselhülle Wasser entziehen. Mögliche Erklärungen dafür, dass diese Kapseln nicht spröde wurden, sind zum einen der Wassergehalt in der Sorbitlösung, zum anderen wirkt Sorbitol als Weichmacher in Hartkapseln (Ph. Eur.). Weiterhin spielen hier möglicherweise die Wechselwirkung zwischen den PEG- und den Sorbitolmolekülen und die verringerte Migration aufgrund der Verfestigung eine Rolle.

#### 4.3.2.3 Wirkstoffgehalt der PEGSorb/I- bzw PEGSorb/II-Kapseln

Die Gehaltsbestimmungen ergaben für PEGSorb/I einen Durchschnittsgehalt von 29,47 mg  $\pm$ 2,03% und für PEGSorb/II ein Durchschnittsgehalt von 30,29 mg  $\pm$ 0,34%.

#### 4.3.2.4 Freisetungsverhalten direkt nach Herstellung

Die frisch hergestellte PEGSorb-Formulierung zeigt in allen Freisetzungsmedien, auch in Wasser, eine annähernd 100%ige Freisetzung (Abb. 16). Abb. 17 zeigt eine Gegenüberstellung der in den unterschiedlichen Freisetzungsmedien gemessenen EMD 57033-Konzentrationen nach Freisetzung einer PEGSorb-Kapsel bzw. bei Bestimmung der Löslichkeit mit kristalliner Substanz. Offenbar liegt die Substanz in der Formulierung gelöst vor. Ein Indiz dafür ist die Bestimmung der Löslichkeit in Magensaft (SGF+), in dem zuvor die Hilfsstoffe der Rezeptur in entsprechenden Verhältnissen gelöst wurden: Durch die gelösten Hilfsstoffe erhöht sich die Löslichkeit in SGF+ lediglich von 7,8 µg/ml auf 9,8 µg/ml.

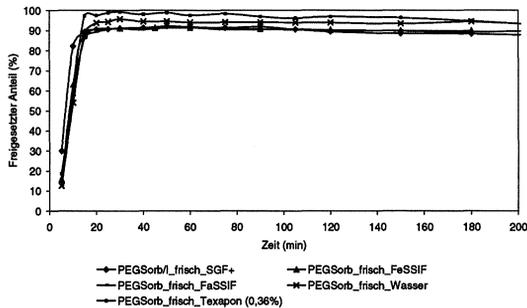


Abb. 16: Freisetungsverhalten der frisch hergestellten PEGSorb/l-Formulierung in SGF+, FaSSiF, FeSSiF, Texapon (0,36%) und Wasser.

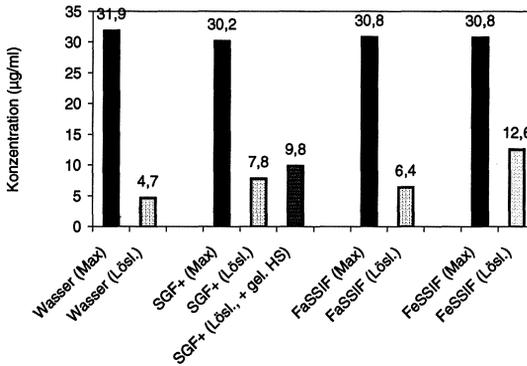


Abb. 17: Gegenüberstellung der Konzentrationen nach Freisetzung einer PEGSorb-Kapsel und Löslichkeiten in den Medien.

#### 4.3.2.5 Freisetzungsrates

Für diese Berechnung wurde der erste Teil der Freisetzungskurve, in der der Konzentrationsanstieg linear war, in der Form dargestellt, dass der freigesetzte Anteil gegen  $\sqrt{t}$  aufgetragen wurde. Die Formel der aus den Datenpunkten ermittelten Trendlinie gibt die Steigung wieder. Diese ist ein Maß für die Freisetzungsrates und diente der Unterscheidung der unterschiedlichen Formulierungen. Da die Freisetzung aus der PEGSorb-Formulierung sehr schnell war, konnte die Steigung nur anhand zweier Werte ermittelt werden. Grund für das rasche Freisetzungsverhalten ist vermutlich neben dem molekulardispersen Zustand der Substanz die gute Wasserlöslichkeit der Hilfsstoffe (Abb. 18).

Bei den nachfolgenden Untersuchungen mit anderen Formulierungen basierte die Berechnung der Steigung auf mindestens 4-5 Werten.

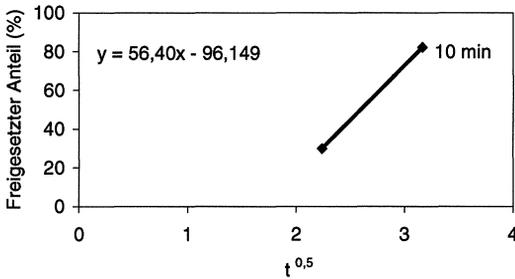


Abb. 18: Freisetzungsrates von PEGSorb/I.

#### 4.3.2.6 Freisetzungverhalten nach Lagerung

Abb. 19 und Abb. 20 zeigen die Stabilitätsunterschiede zwischen PEGSorb/I und PEGSorb/II. Der geringere Sorbitanteil in PEGSorb/II bewirkt zwar eine verzögerte Verschlechterung der Freisetzung, nach 6 Monaten kommt es jedoch auch in PEGSorb/II zu Rekristallisationsprozessen.

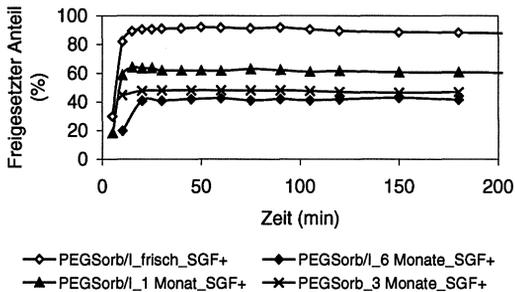


Abb. 19: Freisetzung der Formulierung PEGSorb/I frisch und nach Lagerung.

## Ergebnisse der Untersuchungen mit EMD 57033

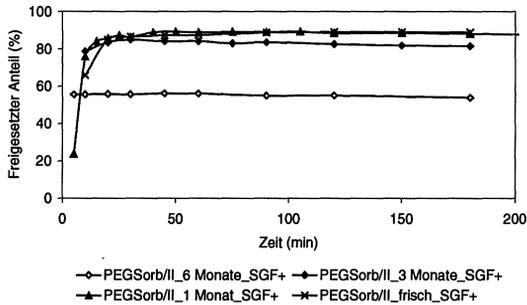


Abb. 20: Freisetzung PEGSorb/II frisch und nach Lagerung.

Möglicherweise entstehen durch das Sorbitol Keimkristalle, die die Rekristallisation von EMD 57033 induzieren. In PEGSorb/II ist weniger Sorbit enthalten, möglicherweise erfolgt daher die Rekristallisation des Wirkstoffes aus dieser Formulierung langsamer.

Abb. 21 zeigt die mikroskopische Aufnahme der gelagerten PEGSorb/II- Formulierung. Die Wirkstoffkristalle sind deutlich erkennbar.

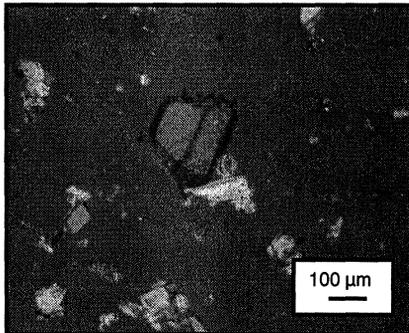


Abb. 21: Mikroskopische Aufnahme der gelagerten PEGSorb/II- Formulierung.

### 4.3.3 Rezeptur aus Gélucire 44/14 und Soluphor P (Gélu<sup>+</sup>)

#### 4.3.3.1 Zusammensetzung von Gélu<sup>+</sup>

Die Zusammensetzung der Formulierung Gélu<sup>+</sup> ist in Tabelle 15 wiedergegeben.

Bei **Gélucire 44/14** handelt es sich um ein wachsartiges Gemisch halbsynthetischer Glyceride aus hydriertem Palmkernöl, dessen **Kennziffern** die ungefähre **Schmelztemperatur** (hier 44) und den **HLB-Wert** (Hydrophilic-lipophilic balance, hier 14) des Gemisches angeben. Gélucire 44/14 entspricht der Monographie „Lauroyl Macrogol-32 glycerides“ (Ph. Eur. NT 1998). Die LD50 beträgt in Ratten über 2g/kg Körpergewicht. Eine Hochrechnung aus Studien in Hunden ergibt eine für den Menschen unbedenkliche Tagesdosis (NOAEL: No Observed Adverse Effect Level) von ca. 175 g Gélucire 44/14 pro Tag (Gattefossé, 1999).

*Tabelle 15: Beschreibung der Gélu<sup>+</sup>-Rezeptur.*

Technologie	Zusammensetzung	Menge (mg)	Konz. (mmol/g)	Volumen (µl) bei 80°C
Flüssig gefüllte HK	EMD 57033	30	0,08	900
	SoluphorP	110		
	Gélucire 44/14	780		

Wie Tabelle 16 zeigt, überwiegt in Gélucire 44/14 der Anteil der mittelkettigen Fettsäuren (C<sub>12</sub>). Gélucire 44/14 stellt von seiner Zusammensetzung her schon ein selbstemulgierendes System (SEDDS) dar: Es enthält neben hydrophilen Tensiden (PEG-Ester) auch eher lipophile Komponenten (Mono-, Di- und Triglyceride). Zur genauen Verarbeitung von Gélucire 44/14 zu einer Arzneiform gibt es bislang nur wenige Hinweise und Daten aus der Literatur. Die Migration von Wasser aus der Kapselwand in die Formulierung scheint bei Gélucire 44/14 wesentlich geringer als z.B. bei PEG, was die physikalische Lagerstabilität wesentlich erhöht (Serajuddin, 1986). Der Hersteller empfiehlt bei Nichtlösen der Substanz die Zugabe weiterer Hilfsstoffe. Bioverfügbarkeitsstudien mit einer oral verabreichten Gélucire-Rezeptur und einer Sojaöl-in-Wasser-Emulsion ergaben vergleichbare Werte (Hauss, 1998).

Tabelle 16: Zusammensetzung von Gélucire 44/14.

Komponenten	%		Kettenlängen der
Mono- und Diester von PEG 1500	72	}	C8 < 15 %
Mono-, Di- und Triglyceride	20		C10 < 12 %
			C12 = 30-50 %
			C14 = 5-25 %
			C16 = 4-25 %
			C18 = 5-35 %

Der zweite Hilfsstoff in Gélú<sup>+</sup> (Soluphor P, Abb. 22) ist ein Lösungsvermittler, dessen Schmelzpunkt bei etwa 30°C liegt und der somit bei Raumtemperatur fest ist. Dieser Lösungsvermittler wurde zugesetzt, da bei der vom Hersteller empfohlenen Schmelztemperatur von 65°C der Wirkstoff in einer durch die Kapselgröße (00) begrenzten Géluciremenge (ca. 900 mg pro Kapsel) nicht komplett zu lösen war. Aufgrund der bei der Untersuchung der PEGSorb gemachten Beobachtungen erschien es jedoch wichtig, den Wirkstoff zu 100% in der Formulierung molekulardispers verteilt zu enthalten.

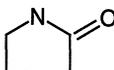


Abb. 22: Struktur von Soluphor P (2- Pyrrolidon).

2-Pyrrolidon hat eine hohe Stabilität und wirkt nicht korrosiv. Die LD 50 (Ratte oder Meerschweinchen) liegt bei 6,5 g/kg Körpergewicht. Die Haut- und Schleimhautverträglichkeit wird in der Literatur als gut bezeichnet (Fiedler, 1996). Leider ist der Hilfsstoff bislang nicht zur oralen Anwendung im Menschen zugelassen.

#### 4.3.3.2 Wirkstoffgehalt der Gélú<sup>+</sup>-Formulierung

Die Gélú<sup>+</sup>-Kapseln haben einen Durchschnittsgehalt von 25,18 mg  $\pm$ 2,27%. Wie bereits erwähnt, erklärt sich die Abweichung vom Sollgehalt (30 mg) dadurch, dass die genauen Dichtebestimmungen der Formulierungen erst nach Herstellung der ersten Charge erfolgten. Die Kapseln sind statt mit 900  $\mu$ l (Sollvolumen für 30 mg nach Dichtebestimmung) nur mit 800 $\mu$ l der geschmolzenen Rezeptur befüllt worden.

### 4.3.3.3 Freisetzungverhalten der Gélu<sup>+</sup>-Formulierung

Abb. 23 zeigt das Freisetzungverhalten einer Gélu<sup>+</sup>-Kapsel in verschiedenen Medien. In allen Medien wird das Maximum von mindestens 90% innerhalb der ersten 40 Minuten erreicht. Auch nach Erreichen des Maximums bleibt die Wirkstoffkonzentration in allen Medien auf hohem Niveau.

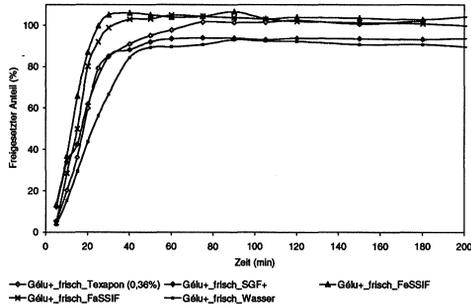


Abb. 23: Freisetzungverhalten einer Gélu<sup>+</sup>-Kapsel in verschiedenen Freisetzungsmitteln.

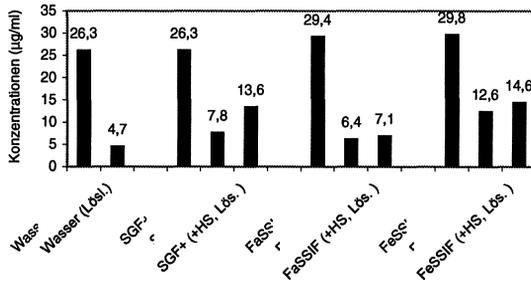


Abb. 24: Gegenüberstellung der nach Freisetzung einer Kapsel erreichten Konzentrationen und den Löslichkeiten im jeweiligen Medium (mit und ohne gelöste Hilfsstoffe).

Abb. 24 zeigt eine Gegenüberstellung der nach Freisetzung einer Kapsel erreichten Maximalkonzentration und der in den verschiedenen Medien bestimmten Löslichkeiten. Außerdem ist bei SGF<sup>+</sup>, FaSSiF und FeSSiF aufgeführt, inwieweit die im Medium gelösten Hilfsstoffe die Löslichkeit des Wirkstoffes verbessern. Der Einfluss der Hilfsstoffe ist nur gering. Dies beweist erneut, dass die hohen Konzentrationen dadurch erreicht werden, dass der Wirkstoff zu 100% in der Arzneiform gelöst ist.

#### 4.3.3.4 Kritische Mizellbildungskonzentration der Formulierung

Die Ursache dafür, dass der Wirkstoff, nachdem er aus der Kapsel freigesetzt worden war, noch über Stunden hinweg in Lösung blieb, ist möglicherweise die Ausbildung mizellarer Strukturen durch die in der Formulierung enthaltenen Tenside. Interessant erschien daher, die CMC der Formulierung zu bestimmen.

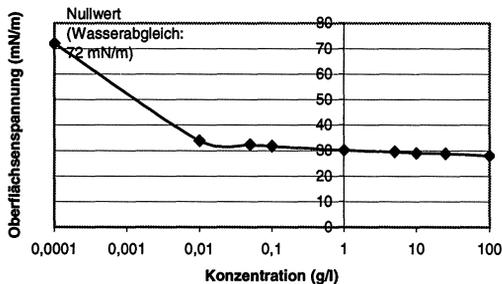


Abb. 25: Bestimmung der CMC der in Gélu<sup>+</sup> enthaltenen Hilfsstoffe.

Abb. 25 zeigt, dass in dem Konzentrationsbereich von 1 g Formulierung auf 1 Liter Wasser (entspricht 900 mg auf 900 ml) die CMC von Gélu<sup>+</sup> überschritten ist. Die in den Freisetzungsmitteln gelösten Hilfsstoffe bilden demnach Mizellen, die den Wirkstoff offenbar vor Rekrystallisation schützen.

#### 4.3.3.5 Untersuchung der Metastabilitätsgrenzen von EMD 57033 in wässrigen Medien

Um zu zeigen, ob mit dieser Formulierung noch weit höhere Wirkstoffkonzentrationen in den wässrigen Medien erreichbar sind, wurden Freisetzungsuntersuchungen mit 2, 4, 6 und 8 Kapseln (à 30 mg) in jeweils 900 ml Wasser bzw. FeSSIF gemacht (Abb. 26 und Abb. 27).

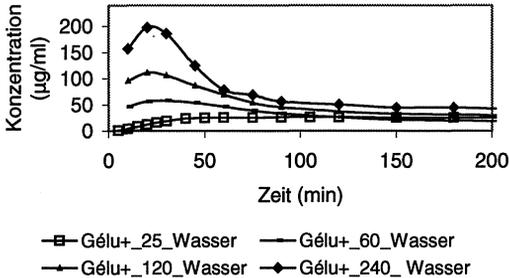


Abb. 26: Freisetzungsverhalten von 25 mg, 60 mg, 120 mg und 240 mg EMD 57033 (Einzel- bzw. Mehrfachdosierung der Gélu<sup>+</sup>-Formulierung) in jeweils 900 ml Wasser.

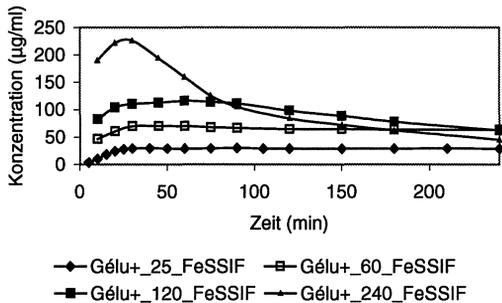


Abb. 27: Freisetzungsverhalten von 25 mg, 60 mg, 120 mg und 240 mg EMD 57033 (Einzel- bzw. Mehrfachdosierung der Gélu<sup>+</sup>-Formulierung) in jeweils 900 ml FeSSIF.

Obwohl die Löslichkeit von EMD 57033 in Wasser bei ca. 4,7 µg/ml liegt, können mit Gélu<sup>+</sup>-Kapseln in Wasser Konzentrationen von über 200 µg/ml erreicht werden. Da der Wirkstoff jedoch allmählich rekristallisiert, nähern sich nach ca. 60 Minuten die

Konzentrationen einander an. In FeSSIF dagegen (Löslichkeit 12,6 µg/ml) werden bei 8-facher Dosierung sogar noch höhere Konzentrationen erreicht, und der Wirkstoff wird bei etwa 10-facher Konzentration der Löslichkeit über etwa zwei Stunden stabil in Lösung gehalten. Der Konzentrationsabfall von EMD 57033 ist in FeSSIF durch die hohe Gallensalzkonzentration und den damit verbundenen Schutz vor Rekristallisation nicht so stark ausgeprägt wie in Wasser.

#### 4.3.3.6 Theorien zum Auflösungsprozess der Formulierung

Die vorangehend gemachten Untersuchungen gaben Anlass zu der Überlegung, mit welchem Mechanismus die Wirkstofffreigabe aus der mizellbildenden Formulierung in physiologisch relevanten Medien ablaufen.

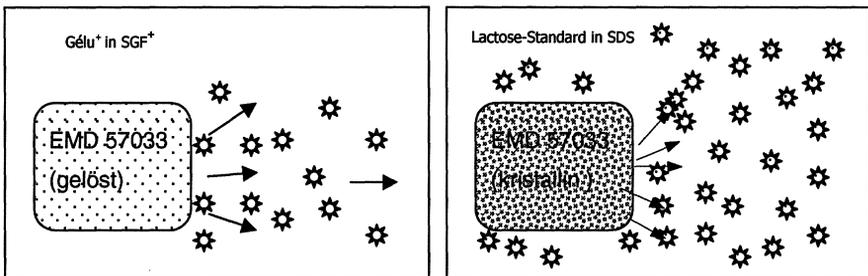


Abb. 28: Unterschiedliche Freisetzungsmechanismen von der in der Formulierung gelösten Substanz (links) bzw. der kristallinen Substanz (rechts).

Das linke Bild in Abb. 28 zeigt einen denkbaren Verlauf der Mizellbildung: Der in der halbfesten Formulierung molekulardispers verteilte Wirkstoff wird, während sich aus den Hilfsstoffen bei der Verdünnung durch das Freisetzungsmedium Mischmizellen formieren, direkt in die Mischmizellen miteingebaut. In diesen bleibt er, je nach Wirkstofftyp und -Konzentration, relativ lange gelöst. Offenbar diffundiert der Wirkstoff nur langsam wieder aus den Mizellen heraus, so dass über einen längeren Zeitraum eine Übersättigung in der „Bulk“-Lösung verhindert werden kann. Wie in Abb. 27 dargestellt, wurde, bleibt die Lösung auch bei einer höheren Wirkstoffdichte stabil, wenn im Freisetzungsmedium zusätzlich Mischmizellen aus Gallensalzen und Lezithin enthalten sind (FeSSIF). Dies

könnte an einer synergistischen Wechselwirkung zwischen den Gallensalzen und den mizellbildenden Hilfsstoffen liegen.

Das rechte Bild in Abb. 28 liefert eine mögliche Erklärung für das langsame Auflösungsverhalten von kristallinem EMD 57033 in mizellarer Texaponlösung (Abb. 11): Der Wirkstoff muss nach dem Auflösen vom Äußeren der Mizelle in deren Inneres diffundieren, um von ihr solubilisiert zu werden. Dieser Ablauf erfolgt offenbar (genau wie in der o.g. gegensätzlichen Richtung) nur sehr langsam und erklärt den extrem langsamen Auflösungsprozess des Wirkstoffes aus der Laktose-Kapsel.

#### 4.3.3.7 Freisetzungsrate von EMD 57033 aus der Gélu<sup>+</sup>-Formulierung

Wie für PEGSorb wurde auch die Freisetzungsrate von EMD 57033 aus Gélu<sup>+</sup> berechnet (Abb. 29).

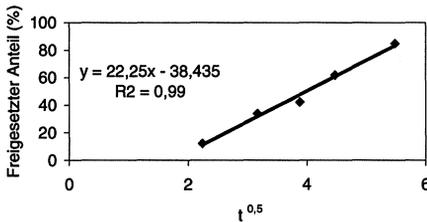


Abb. 29: Freisetzungsrate einer Gélu<sup>+</sup>-Kapsel in SGF<sup>+</sup>.

Mit einem Wert von 22,25 ist die Freisetzungsrate von EMD 57033 aus Gélu<sup>+</sup> zwar geringer als bei der hydrophilen Formulierung PEGSorb, im Vergleich zu den nachfolgend beschriebenen Formulierungen ist sie jedoch hoch. Dies ist vermutlich auf den hohen HLB-Wert von Gélu<sup>+</sup> zurückzuführen (Ratsimbazafy, 1999).

#### 4.3.3.8 Freisetzungsverhalten von Gélu<sup>+</sup> nach Lagerung

Die Formulierung Gélu<sup>+</sup> mit einer EMD 57033-Konzentration von 3,3% setzt auch nach 24 Monaten unverändert gut den Wirkstoff frei (Abb. 30). Offensichtlich ist die Löslichkeit des Wirkstoffes in der Formulierung nicht überschritten.

## Ergebnisse der Untersuchungen mit EMD 57033

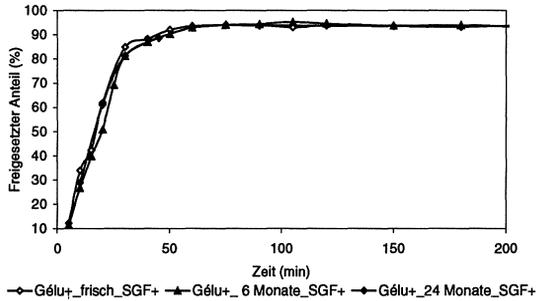


Abb. 30: Nach 24 Monaten Lagerung bei Raumtemperatur setzt die Gélu<sup>+</sup>-Formulierung den Wirkstoff unverändert gut frei.

### 4.3.4 Rezeptur aus Gélocire 50/13 und Soluphor P (Gélu5+)

#### 4.3.4.1 Zusammensetzung von Gélu5+

Es sollte untersucht werden, inwieweit sich der retardierende Typ der beiden Gélocire-Arten (Gélocire 50/13) für einen schwer löslichen Wirkstoff eignet. Dazu wurde die auf Seite 67 aufgeführte Rezeptur (Gélu<sup>+</sup>) verwendet. Gélocire 44/14 wurde durch das langsamer auflösende Gélocire 50/13 ersetzt (Tabelle 17).

Tabelle 17: Beschreibung der Gélu5+-Rezeptur.

Technologie	Zusammensetzung	Menge (mg)	Konz. (mmol/g)	Volumen (µl) bei 80 °C
Flüssig gefüllte HK	EMD 57033	30	0,08	900
	SoluphorP	110		
	Gélocire 50/13	780		

Die grobe Zusammensetzung dieses Gélocire-Typs entspricht Typ 44/14, allerdings ist hier der Anteil der höher kettigen (C16/18) Fettsäuren mit über 90 % wesentlich höher (Abb. 15). Dies hat einen höheren Schmelzpunkt und eine erhöhte Lipophilie und somit

eine geringe Freisetzungsrates und Wasserlöslichkeit zur Folge. Gélucire 50/13 entspricht der Monographie „Stearoyl Macrogol glycerides“ (Ph. Eur. NT, 1998).

Tabelle 18: Zusammensetzung von Gélucire 50/13.

Komponenten	%		Kettenlängen der
Mono- und Diester von PEG 1500	72	}	$C_R < 3\%$
Mono-, Di- und Triglyceride	20		$C_{10} < 3\%$
Freies PEG 1500	8		$C_{12} < 5\%$
			$C_{14} < 5\%$
			$C_{18} = 40-50\%$
			$C_{18} = 48-58\%$

#### 4.3.4.2 Wirkstoffgehalt der Gélucire 5<sup>+</sup>-Kapseln

Der Durchschnittsgehalt der Gélucire 5<sup>+</sup>-Kapseln betrug 25,20 mg  $\pm$ 1%. Zur Erklärung der Abweichung vom Sollgehalt (30 mg, siehe Seite 68).

#### 4.3.4.3 Freisetzungverhalten Gélucire 5<sup>+</sup> in verschiedenen Medien und Freisetzungsrates

Die Freisetzungsrates (Abb. 31 und Abb. 32) ist im Vergleich zu Gélucire 44/14 mit einem Wert von 0,15 stark verringert und liegt mit diesem Wert unter der Freisetzungsrates des Laktose-Standards. Für bestimmte Wirkstoffe (z.B. schwer lösliche Säuren, bei denen eine zu rasche Freigabe im Magen zum Auskristallisieren führen könnte) oder, um ein „drawback“ (rasches Anfluten auf maximale Plasmaspiegel gefolgt von raschem Absinken) zu verhindern (Ainaoui, 1997), könnte ein langsames Freisetzungsverhalten unter Umständen sogar ein Vorteil sein. Allerdings haben Hilfsstoffe dieser Art einen entscheidenden Nachteil für schwer lösliche Substanzen: Durch die langsame Auflösung der Hilfsstoffe kann es zur Rekristallisation des Wirkstoffes an der Oberfläche der Matrix kommen: Bei Kontakt der Formulierung mit wässriger Lösung dringt Wasser in die Oberfläche ein. Bei Gélucire 50/13 ist dem Zerfall der Matrix ein Quellungsprozess vorgelagert (Sutanata, 1995). Da der Prozess des Auflöserns und der damit einhergehenden Verteilung im gesamten Freisetzungsvolumen verlangsamt ist, ist die Wirkstoffkonzentration an der Oberfläche stark erhöht und die Löslichkeit durch den hohen Wasseranteil stark verringert. Die Rekristallisation war deutlich an der kristallartig-

schimmernden Oberfläche der Matrix erkennbar. Dieser „Kristallmantel“ verhindert das weitere Auflösen von Hilfs- und Wirkstoffen. Ähnliche Beobachtungen machte Merkle<sup>2</sup> (1981) mit Prednison und Hydrocortison. Langsames Auflösungsverhalten aus festen Dispersionen deutet auf eine diffusionsgesteuerte Freisetzung hin.

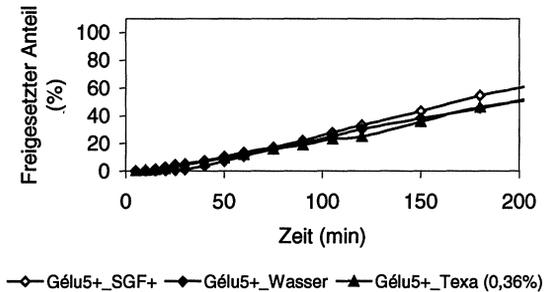


Abb. 31: Freisetungsverhalten der Gélu5<sup>+</sup>-Formulierung in Wasser, SGF<sup>+</sup> und Texapon (0,36%).

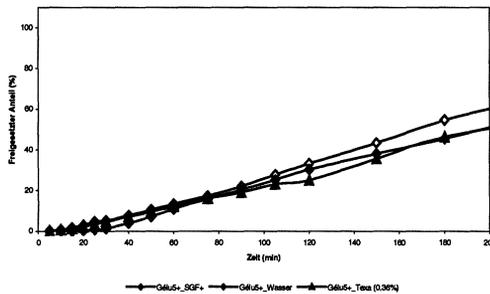


Abb. 32: Freisetzungsrates der Gélu5<sup>+</sup>-Formulierung in SGF<sup>+</sup> während der ersten 15 Minuten.

#### 4.3.4.4 Freisetungsverhalten von Gélu5<sup>+</sup> in SGF<sup>+</sup> nach Lagerung

Abb. 33 zeigt, dass sich die Formulierung mit Gélu5<sup>+</sup> nach Lagerung weiter verschlechtert hat. Mittels DSC-Untersuchungen konnten die Angaben des Herstellers

bestätigt werden, wonach es bei Gélucire 50/13, nicht jedoch bei Gélucire 44/14, beim Abkühlen auf Raumtemperatur und 3-6-stündigem Erstarren zunächst zur Bildung einer metastabilen Form (I) kommt. Diese lagert sich bei Lagerung bei Raumtemperatur über wenige Monate zur stabilen Form (I\*) mit höherer Schmelztemperatur um (Abb. 34).

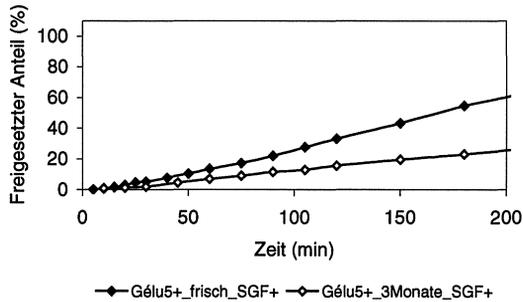


Abb. 33: Nach 3 Monaten (Lagerung bei Raumtemperatur) hat sich die Freisetzungsgeschwindigkeit aus Gélucire<sup>5+</sup> weiter verschlechtert.

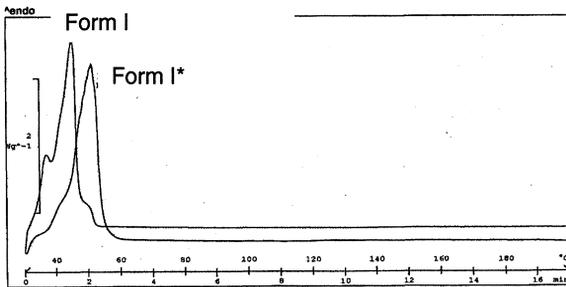


Abb. 34: DSC-Untersuchung von frisch erstarrtem (Form I) bzw. gelagertem Gélucire 50/13 (Form I\*): Die Schmelztemperatur ist bei der gelagerten Probe erhöht.

### 4.3.5 Rezepturen mit Vitamin E TPGS

Bei der Entwicklung nachfolgend beschriebener Formulierungen sollten die bisherigen Ergebnisse mit der Verwendung des vielversprechenden Hilfsstoffes Vitamin E TPGS (d- $\alpha$ -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate, Abb. 35) kombiniert werden.

#### 4.3.5.1 Eigenschaften und Struktur von Vitamin E TPGS

Vitamin E TPGS ist gut wasserlöslich und besitzt solubilisierende, emulgierende und resorptionsfördernde Eigenschaften. Dass die erhöhte Bioverfügbarkeit schwer löslicher Substanzen durch Vitamin E TPGS aus dessen Löslichkeits- und Permeabilitätsverbesserung zurückzuführen ist, zeigten Yu et al. (1999). Dintaman et al. (1999) untersuchten die p-Glycoprotein-hemmenden Eigenschaften dieses Hilfsstoffes. Vitamin E TPGS wird hergestellt durch Veresterung von d- $\alpha$ -Tocopherylsäure-succinat (Bernsteinsäureester, C<sub>4</sub>) mit PEG 1000. Dieses Derivat ist schon seit 30 Jahren als wasserlösliches Vitamin E auf dem Markt, aber erst vor 14 Jahren hat man festgestellt, dass es die einzige Vitamin E-Form ist, die auch resorbiert werden kann, wenn keine Gallensalze vorhanden sind (Traber, 1988). Studien an Ratten zufolge (Krasavage, 1977) beträgt die LD<sub>50</sub> dieses Hilfsstoffes > 7g/kg.

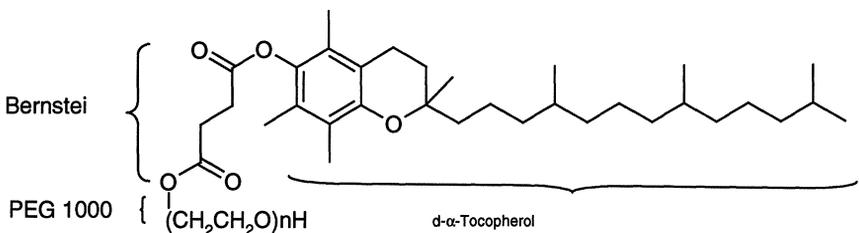


Abb. 35: Strukturformel von Vitamin E TPGS.

#### 4.3.5.2 VitE<sup>+</sup>-Rezeptur

Tabelle 19 zeigt die Zusammensetzung der soluphor-P-haltigen Formulierung VitE<sup>+</sup>.

Tabelle 19: Zusammensetzung der soluphor-P-haltigen Formulierung VitE<sup>t</sup>.

Technologie	Zusammensetzung	Menge (mg)	Konz. (mmol/g)	Volumen (µl) bei 80°C
Flüssig gefüllte HK	EMD 57033	30	0,1	700
	Soluphor P	110		
	Vitamin E TPGS	310		
	PEG 1000	140		
	Labrafil M 2130 CS	140		

Die für die Formulierung relevanten Eigenschaften von Vitamin E TPGS sind der Schmelzpunkt von 38°C, die gute Wasserlöslichkeit, der hohe HLB-Wert (15-19) und die hohe Stabilität in Wärme (Eastman, 1996).

Als weitere Hilfsstoffe wurden das lipophile wachsartige **Labrafil M 2130 CS** und **PEG 1000** gewählt. Labrafil entspricht der Monographie „Lauroyl Macrogolglycerides (Ph. Eur. NT, 1998) und hat, bedingt durch den relativ hohen Anteil höherkettiger Fettsäuren, eine hohe Lipophilie, die sich in dem niedrigen HLB-Wert von 4 ausdrückt (Tabelle 20).

Tabelle 20: Zusammensetzung von Labrafil M 2130 CS (HLB=4).

<b>Komponenten</b>	}	Anteile der Fettsäuren
Mono- und Diester von PEG 1500		C8 = 1-6%
Mono-, Di- und Triglyceride		C10 = 1-6%
		C12 = 31-41%
		C14 = 7-17 %
		C16 = 12-22%
		C18 = 23-33-%

Entsprechend dem SEDDS-Modell wurde aus den genannten Hilfsstoffen eine halb feste Formulierung hergestellt, die, wie Gélucire, bei Kontakt mit wässrigem Medium eine Emulsion bilden sollte. Entsprechend dem Aufbau des selbstemulgierenden Gélucire 44/14 stellt **Vitamin E TPGS** das **hydrophile Tensid** und **Labrafil M 2130** das **lipophile Cotensid** dar. Entsprechend der Zusammensetzung von Gélucire 44/14 wurde zusätzlich PEG 1000 als weiterer Hilfsstoff gewählt. Letzterem wird eine tensidstabilisierende Wirkung zugeschrieben (Fiedler, 1996). Wie in der Gélucire-Formulierung wurde der Lösungsvermittler **Soluphor P** zugesetzt, um den Wirkstoff bei einer Temperatur von ca. 70°C komplett in der Schmelze lösen zu können.

#### 4.3.5.3 Wirkstoffgehalt der VitE<sup>+</sup>-Kapseln

Das Durchschnittsgewicht der VitE<sup>+</sup>-Kapseln betrug 29,79 mg  $\pm$ 2,9%.

#### 4.3.5.4 Freisetungsverhalten der VitE<sup>+</sup>-Formulierung

Abb. 36 zeigt das Freisetungsverhalten einer VitE<sup>+</sup>-Kapsel in den Medien Wasser, Texapon (0,36%), SGF<sup>+</sup>, FaSSIF und FeSSIF. Der maximal freigesetzte Anteil beläuft sich auf mindestens 80%. Abb. 37 zeigt, dass nach der Freisetzung weit übersättigte Lösungen entstanden sind. Die hohen Wirkstoffkonzentrationen werden dadurch bewirkt, dass der Wirkstoff molekulardispers in der Formulierung verteilt ist. Dies beweist die nur schwache Löslichkeitsverbesserung durch die im Freisetzungsmedium gelösten Hilfsstoffe.

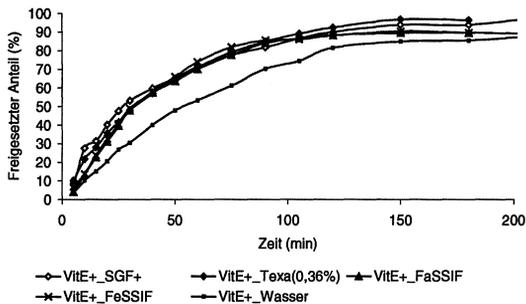


Abb. 36: Freisetungsverhalten von VitE<sup>+</sup> in verschiedenen Medien.

## Ergebnisse der Untersuchungen mit EMD 57033

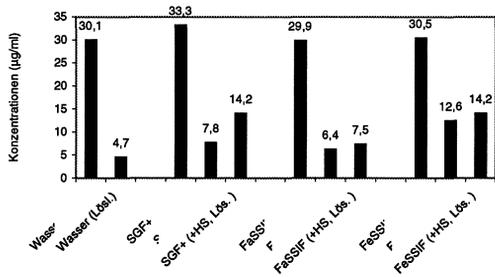


Abb. 37: Gegenüberstellung von Löslichkeit und Konzentrationen nach der Freisetzung.

### 4.3.5.5 Freisetzungsrates der VitE<sup>+</sup>-Formulierung

Vergleicht man die Kurvenverläufe mit denen der Formulierung Gélu<sup>+</sup>, so ist in allen Medien, insbesondere jedoch in Wasser, eine wesentlich kleinere Freisetzungsrates (Abb. 38), verbunden mit einer geringeren Maximalkonzentration, erkennbar. Diese Beobachtung verstärkt die Vermutung, dass bei schwer löslichen Substanzen ein *rascher* Freisetzungsprozess die Voraussetzung für eine möglichst *hohe* Wirkstofffreigabe ist (vgl. 4.3.4.3).

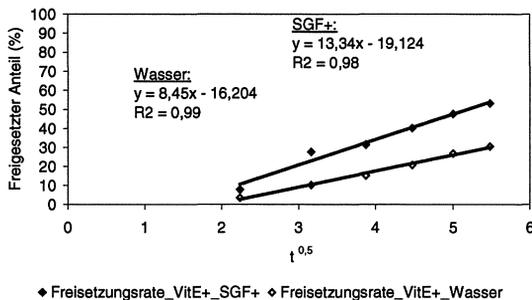


Abb. 38: Freisetzungsrates der VitE<sup>+</sup>-Formulierung in SGF<sup>+</sup> und Wasser.

### 4.3.5.6 Kritische Mizellbildungskonzentration der Formulierung

Wie für die vorangegangenen Formulierungen, wurde auch für VitE<sup>+</sup> die CMC bestimmt.

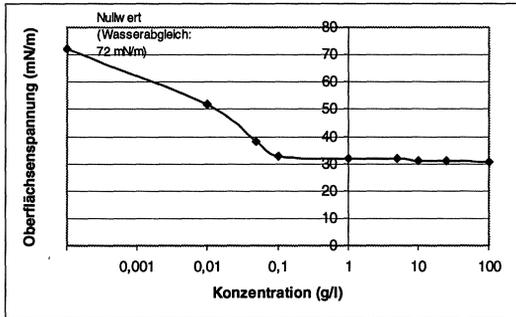


Abb. 39: Bestimmung der CMC der in VitE<sup>+</sup> enthaltenen Hilfsstoffe.

Abb. 39 zeigt, dass in dem Konzentrationsbereich von 1 g VitE<sup>+</sup> auf 1 Liter Wasser die CMC überschritten ist. Auch mit VitE<sup>+</sup> ist also gewährleistet, dass sich nach dem Auflösen einer Kapsel mizellare Strukturen ausbilden.

#### 4.3.5.7 Freisetzungverhalten nach Lagerung

Abb. 40 gibt das Freisetzungverhalten der gelagerten Proben (3 und 18 Monate) im Vergleich zur frisch hergestellten Formulierung wieder. Die Formulierung hat sich kaum verändert. Das rechte Bild zeigt die mikroskopische Aufnahme der gelagerten Probe (Abb. 41): Es sind praktisch keine Kristalle erkennbar.

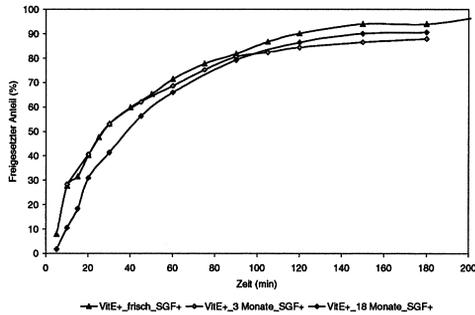


Abb. 40: Das Freisetzungverhalten der VitE<sup>+</sup>-Formulierung hat sich nach 18 Monaten kaum verändert.

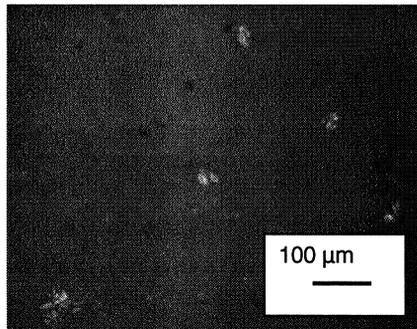


Abb. 41: Mikroskopische Aufnahme nach 18 Monaten Lagerung.

#### 4.3.5.8 Formulierung VitE (ohne Zusatz eines Lösungsvermittlers)

Ziel war es, zu untersuchen, inwieweit der Zusatz des bisher oral nicht zugelassenen Lösungsvermittlers Soluphor P notwendig ist. Bei Erhöhung der Herstelltemperatur von 75°C auf 90°C konnte nämlich auf den Lösungsvermittler verzichtet werden, da sich der Wirkstoff bei erhöhter Temperatur komplett in der Schmelze löste. Es wurde untersucht, ob der Wirkstoff auch nach dem Abkühlen der Rezeptur und dem Erstarren der Hilfsstoffe in den halbfesten Hilfsstoffen molekulardispers verteilt ist.

Tabelle 21: Beschreibung der soluphor-P-freien VitE-Formulierung.

Technologie	Zusammensetzung	Menge (mg)	Konz. (mmol/g)	Volumen (µl) bei 80°C
Flüssig gefüllte HK	EMD 57033	30	0,1	700
	Vitamin E TPGS	420		
	PEG 1000	140		
	Labrafil M 2130 CS	140		

#### 4.3.5.9 Wirkstoffgehalt der VitE-Kapseln

Der Durchschnittsgehalt der VitE-Kapseln betrug 30,37 mg  $\pm$ 1,84%.

#### 4.3.5.10 Freisetungsverhalten und Freisetzungsrage der VitE-Formulierung

Einen Tag nach Herstellung zeigt VitE eine Freisetzung von über 80 %, allerdings weist die Formulierung schon nach einem Monat Instabilitäten auf und die Freisetzung ist drastisch verringert (Abb. 42). Offenbar herrscht in den halbfesten Hilfsstoffen genug Beweglichkeit zwischen den Molekülen, so dass es zu Kristallisationsprozessen des Wirkstoffes kommen kann (s.Abb. 43).

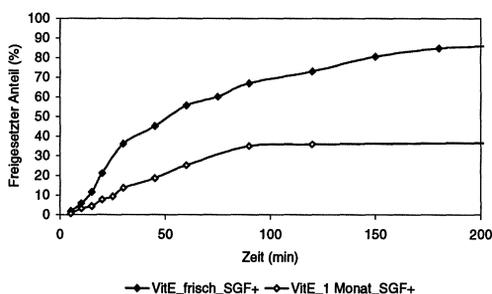


Abb. 42: Freisetzung der soluphor-P-freien Formulierung VitE frisch und nach 1 Monat Lagerung.

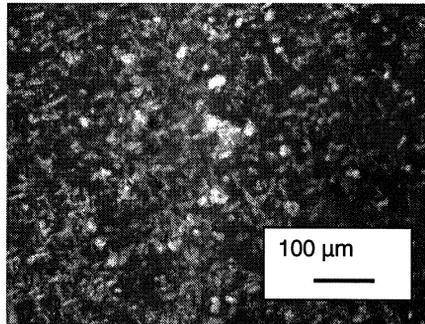


Abb. 43: Mikroskopische Aufnahme der einen Monat alten Formulierung.

Die Freisetzungsrates der VitE-Formulierung liegt mit einer Steigung von 4,78 (Abb. 44), weit unter derjenigen der soluphor-P-haltigen VitE<sup>+</sup>-Formulierung.

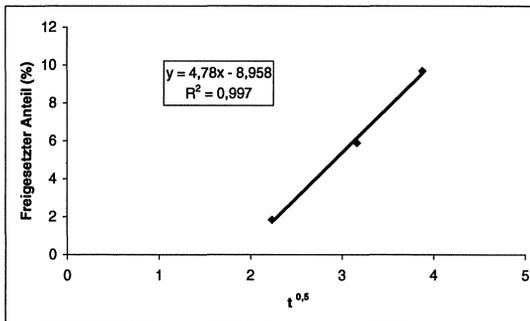


Abb. 44: Freisetzungsrates der VitE-Formulierung.

#### 4.3.5.11 Fazit aus dem Vergleich von VitE<sup>+</sup> und VitE

Durch den Soluphor P-Anteil in VitE<sup>+</sup> sind die Löslichkeit des Wirkstoffes in der Formulierung und die Freisetzungsrates im Vergleich zur soluphor-P-freien Rezeptur drastisch erhöht.

Der Hilfsstoff **Soluphor P** bewirkt also zum einen ein raschere Wirkstofffreisetzung, zum anderen erhöht er maßgeblich die physikalische Stabilität der festen Lösung.

### 4.3.6 Die Formulierung G4P6

#### 4.3.6.1 Zusammensetzung von G4P6

Diese Formulierung war ursprünglich zur Herstellung eines Sprüherstarrungsproduktes gedacht und besteht aus einer 1:1-Mischung aus Gélucire 44/14 und PEG 6000, in der EMD 57033 zu einem Anteil von 5,7% w/w (entspricht 0,13 mmol/g) enthalten ist (Tabelle 22).

*Tabelle 22: Beschreibung der G4P6-Formulierung.*

Technologie	Zusammensetzung	Menge (mg)	Konz. (mmol/g)	Volumen (µl), 80°C
Flüssig gefüllte HK	EMD 57033	30	0,13	600
	Gélucire 44/14	250		
	PEG 6000	250		

Das relativ hoch schmelzende PEG 6000 (MP 55-63°C) wurde Gélucire beigemischt, um den Schmelzbereich der Formulierung anzuheben. Derartige Kombinationen von Tensiden und festen PEG´s zur Herstellung fester Dispersionen haben sich bei der Behandlung der Löslichkeitsproblematik schon oft bewährt (Sjökvist, 1992). Beim Versuch der Sprüherstarrung mit dieser Rezeptur konnte jedoch kein homogenes pulveriges Produkt erhalten werden: Gélucire 44/14 bildet aufgrund seiner komplexen Zusammensetzung beim Abkühlen auf Raumtemperatur zunächst eine unterkühlte Schmelze, bevor es zur Ausbildung kristalliner Strukturen und einer Verfestigung kommt. Dieses Verhalten von gemischten Triglyzeriden hat sich schon in anderen Studien als problematisch erwiesen (Jenning, 2000).

Abb. 45 zeigt das Ergebnis eines Placeboversuches mit dieser Mischung: Da die Tröpfchen nach dem Versprühen hinter der Düse nicht sofort erstarren, kommt es zu Verklumpungen und somit zur Ausbildung relativ großer Partikel.

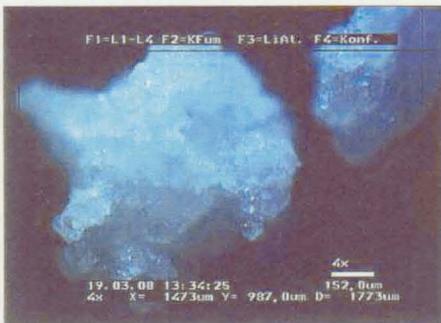


Abb. 45: Sprüherstarrungsprodukt aus Gélocire 44/14 und PEG 6000 (1:1).

#### 4.3.6.2 Herstellung der G4P6-Formulierung

Da der Versuch, aus G4P6 ein Sprüherstarrungsprodukt herzustellen, erfolglos war, wurde die Rezeptur wie die Vorangegangenen flüssig in Hartkapseln gefüllt.

#### 4.3.6.3 Wirkstoffgehalt der G4P6-Kapseln

Der Durchschnittsgehalt an EMD 57033 betrug  $30,48 \text{ mg} \pm 1,82\%$ .

#### 4.3.6.4 Freisetzung (frisch und nach Lagerung)

Die Kapseln wurden frisch und nach Lagerung untersucht (Abb. 46). Abb. 47 zeigt die Freisetzungsrates der G4P6-Formulierung.

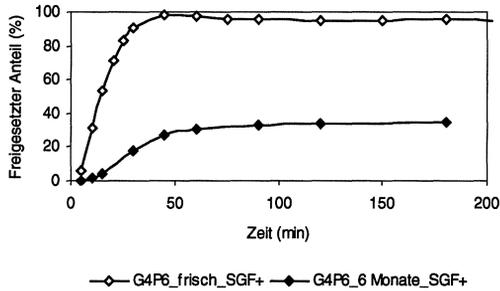


Abb. 46: Freisetzungverhalten der G4P6-Formulierung frisch und nach 6 Monaten Lagerung (SGF<sup>+</sup>).

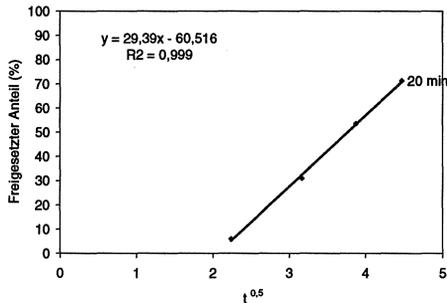
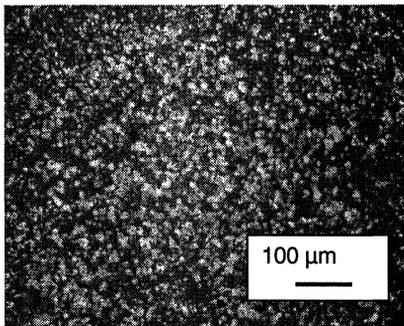


Abb. 47: Freisetzungsrates der G4P6-Formulierung (frisch).

Die frisch hergestellte Formulierung zeigt ein optimales Freisetzungverhalten: Durch den hohen Anteil des gut wasserlöslichen Hilfsstoffs PEG 6000 ist die Freisetzungsrates sogar höher als bei Gélú+ (29,39 im Vergleich zu 22,25). Diese Beobachtung untermauert frühere Studien, in denen die im Vergleich zu anderen halbfesten PEG's hohe Freisetzungsrates von PEG 6000 schon bemerkt wurde (Betageri, 1995; Kassem, 1979). Der freigesetzte Wirkstoffanteil aus G4P6 betrug nahezu 100%. Dieses Ergebnis war zunächst überraschend, da die Wirkstoffkonzentration in dieser Formulierung mit 5,7% über den Wirkstoffkonzentrationen in den o.g. Rezepturen (3,3% bzw. 4,4%) liegt und kein

Lösungsvermittler beigemischt wurde. Offenbar hat direkt nach Verfestigung der Schmelze, der durch das PEG 6000 erhöhte Schmelzpunkt die molekulare Migration in der Formulierung und damit zunächst die Bildung von Kristallkeimen gehemmt. Das Ergebnis nach Lagerung ist jedoch ernüchternd: Die mikroskopische Aufnahme (s. Abb. 48) zeigt die Ursache für die verschlechterte Wirkstofffreigabe. Die Formulierung ist bei Raumtemperatur übersättigt und der metastabile Zustand dieser festen Lösung kann nicht über längere Zeit gehalten werden, wodurch es zur Kristallisation des Wirkstoffes kommt.



*Abb. 48: Mikroskopische Aufnahme nach 6 Monaten Lagerung: Der Wirkstoff ist deutlich auskristallisiert.*

#### 4.3.6.5 Kritische Mizellbildungskonzentration der Formulierung G4P6

Wie für die vorangegangenen Formulierungen wurde auch für G4P6 die CMC bestimmt. Abb. 49 zeigt, dass in dem Konzentrationsbereich von 0,5 g G4P6 auf 1 Liter Wasser (vgl. 4.3.6.1) die CMC überschritten ist und die Formulierung daher nach Auflösung des Kapselinhalts Mizellen bildet.

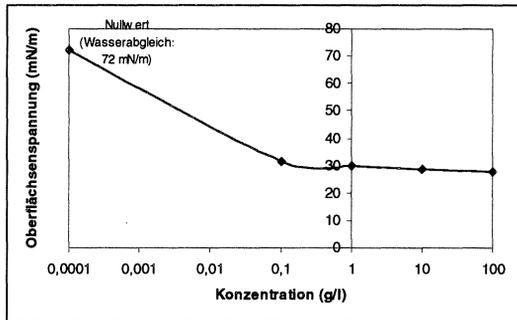


Abb. 49: Bestimmung der CMC der in G4P6 enthaltenen Hilfsstoffe.

Die Beobachtung, dass nach lagerungsbedingten Rekrystallisationserscheinungen in der Formulierung die Freisetzung wesentlich verschlechtert ist, zeigt noch einmal, dass die Mizellbildung der Hilfsstoffe nach Freisetzung der Kapsel lediglich eine Rekrystallisation des gelösten Wirkstoffes im Wässrigen verhindert, nicht jedoch die Freisetzung bzw. Auflösung des Wirkstoffes an sich wesentlich verbessert.

#### 4.3.7 Sprüherstarrungsprodukt G5P2

Wie im vorangegangenen Abschnitt erwähnt, war es unter Verwendung des Gélucire 44/14 und der in 3.3.6.3 beschriebenen Apparatur nicht möglich gewesen, ein Sprüherstarrungsprodukt herzustellen. Obwohl auch das höher schmelzende Gélucire 50/13 beim Abkühlen eine unterkühlte Schmelze bildet, war in Vorversuchen festgestellt worden, dass mit einer 1:1-Mischung aus Gélucire 50/13 und PEG 2000 (MP ca. 50°C) ein pulveriges Produkt erhalten werden konnte (Abb. 50). PEG 2000 steigert gleichzeitig durch die Erhöhung der Hydrophilie die Freisetzungsrates des retardierenden Gélucire 50/13 (Kopcha, 1991). Außerdem eignet sich dieser PEG-Typ, da er nur eine morphologische Form besitzt und sich unabhängig von der Erstarrungsrate verhält (Dordunoo, 1996). Für Gélucire 50/13 wurde in anderen Untersuchungen festgestellt, dass die Erosionsrate mit Erhöhung der Erstarrungsrate, was bei einer Sprüherstarrung gegeben ist, zunimmt (Sutanata, 1995).

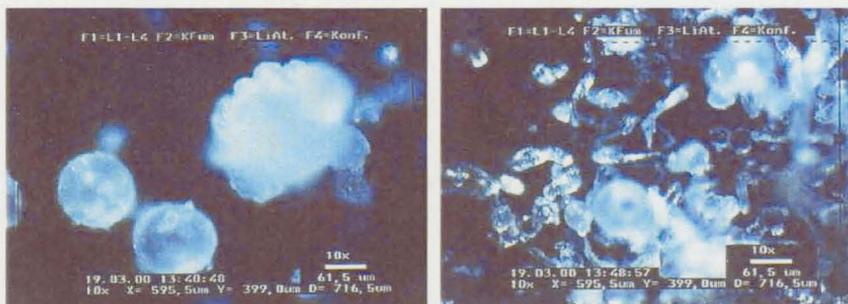


Abb. 50: links: Auflichtmikroskopische Aufnahme des Sprüherstarrungsproduktes G5P2. rechts: Die kugelförmigen Partikel sind in der Croscarmellose verteilt.

In Placeboversuchen wurde ermittelt, dass die Dichte des pulverförmigen Produktes im Vergleich zu der als Schmelze dosierten Zubereitung wesentlich geringer ist (ca. 0,5). Um eine Dosis von 30 mg EMD 57033 in einer Kapsel der Größe 00 füllen zu können, wurde die Wirkstoffkonzentration daher für diese Technologie entsprechend höher gewählt und betrug 5,7% (G5P2/I). Die vom Hersteller für Gélucire 50/13 empfohlene Herstelltemperatur von ca. 90°C reichte aus, um den Wirkstoff in der geschmolzenen Mischung zu lösen.

Für einen besseren Vergleich mit den vorangegangenen Rezepturen wurde zudem eine „verdünnte“ Rezeptur (G5P2/II) mit annähernd gleicher Wirkstoffkonzentration wie in der Formulierung Gélu<sup>+</sup> versprüht.

Tabelle 23: Beschreibung des Sprüherstarrungsproduktes G5P2.

Technologie	Zusammensetzung	Menge (mg)		Konz. (mmol/g)		Einwaage (mg)	
		I	II	I	II	I	II
Sprüherstarrung	EMD 57033	30	30	0,13	0,07	530 + HS	1030 + HS
	Gélucire 50/13	250	500				
	PEG 2000	250	500				

#### 4.3.7.1 Homogenität des Sprüherstarrungsproduktes

Der Durchschnittsgehalt betrug für das Sprüherstarrungsprodukt mit der höheren Wirkstoffkonzentration 28,23 mg  $\pm$ 0,7% auf 530 mg Sprüherstarrungsprodukt. Für das Sprüherstarrungsprodukt mit der niedrigeren Wirkstoffkonzentration wurde ein Gehalt von 26,89 mg  $\pm$ 2,06% auf 1.030 mg Sprüherstarrungsprodukt gemessen.

#### 4.3.7.2 Entwicklung und Freisetungsverhalten

In Abb. 51 ist zu erkennen, dass das reine Sprüherstarrungsprodukt, in Hartkapseln (Größe 00) eingewogen, entgegen der o.g. Erwartungen, eine sehr geringe Freisetzungsrates hat. Während der Freisetzung war zu beobachten, dass nach Auflösung der Gelatinehülle die einzelnen Partikel miteinander verklebten, so dass es nicht, wie erhofft, zu einer gleichmäßigen Verteilung der Partikel im FreisetzungsmEDIUM kam. Scheinbar liegt hier die gleiche Problematik wie auf Seite 75 beschrieben vor: Der lipophile Anteil (Gélucire 50/13) hemmt das rasche Auflösen der Partikel. Daher wurde dem Sprüherstarrungsprodukt ein Sprengmittel (Croscarmellose-Natrium) und Aerosil beigemischt (Maggi, 1998). Diese Mischung bestand aus 75% Sprüherstarrungsprodukt G5P2, 0,5% Aerosil und 24,5% Croscarmellose-Natrium.

Abb. 51 zeigt, dass zwar der Kurvenanstieg dieser Zubereitung etwas steiler ist, die absolut freigesetzte Menge jedoch nur schwach erhöht ist.

Neben den Rekristallisationsprozessen während der Freisetzung ist es jedoch möglicherweise, wegen der relativ erhöhten Wirkstoffkonzentration (5,7%) in der Formulierung, schon in der Formulierung zur Bildung von Wirkstoffkristallen gekommen. Da die polarisationsmikroskopische Untersuchung durch den Kristallcharakter der Hilfsstoffe erschwert war, wurde der Sprühversuch erneut mit halber Wirkstoffkonzentration (2,9%) in der Schmelze durchgeführt (II in Tabelle 23). Auch diesem Produkt wurden anschließend das Sprengmittel und Aerosil zugefügt. Eine Dosis wurde auf zwei Kapseln verteilt.

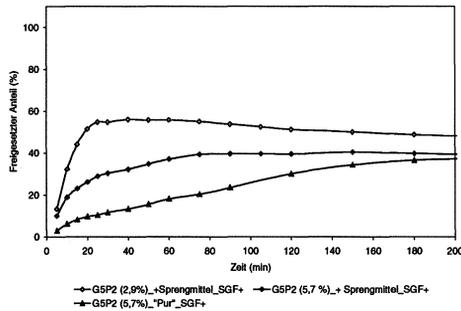


Abb. 51: Freisetzung des Sprüherstarrungsproduktes G5P2 aus Gélucire 50/13 und PEG 2000 in verschiedenen Variationen (in SGF<sup>+</sup>).

Abb. 51 und Abb. 52 zeigen, dass sowohl die Freisetzungsrates als auch die absolut verfügbare Menge an Wirkstoff mit Hilfe dieser Maßnahmen erhöht werden kann. Da jedoch der freigesetzte Anteil von 50% im Vergleich zu den Ergebnissen der Rezepturen für die flüssig gefüllten Hartgelatine-Kapseln nicht zufriedenstellend war, wurde nach weiteren Hilfsstoffen gesucht, die einen relativ hohen Schmelzpunkt besitzen und gut wasserlöslich sind (nachfolgender Abschnitt).

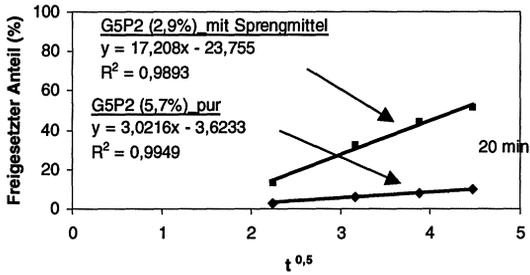


Abb. 52: Steigerung der Freisetzungsrates des Sprüherstarrungsproduktes G5P2 durch geringere Wirkstoffkonzentration und Sprengmittel.

#### 4.3.7.3 Kritische Mizellbildungskonzentration der Formulierung G5P2

Auch für diese Formulierung wurde die CMC bestimmt. Abb. 53 zeigt, dass die CMC dieser Formulierung bei einer Hilfsstoffkonzentration von 1g pro Liter nicht überschritten ist. Es kommt bei der Freisetzung also nicht zur Mizellbildung.

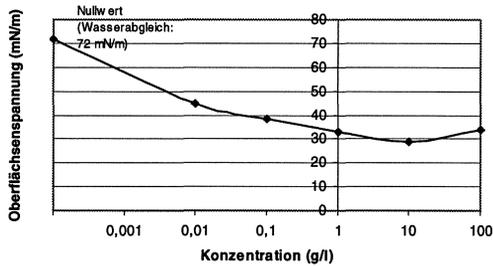


Abb. 53: Bestimmung der CMC der in G5P2 enthaltenen Hilfsstoffe.

#### 4.3.8 Sprüherstarrungsprodukt mit einem wasserlöslichen Tensid (Lutrol)

Das Ziel bei dieser Formulierung war, die SEDDS-Theorie mit den im vorangegangenen Abschnitt gemachten Erfahrungen zu verbinden.

Es wurde also nach einem gut wasserlöslichen Tensid, einem lipophilen Cotensid und einem als Ölkomponente fungierenden Hilfsstoff gesucht, die alle einen möglichst hohen Schmelzpunkt haben sollten, damit sie nach dem Versprühen möglichst rasch erstarren. Tabelle 24 zeigt die untersuchte Zusammensetzung.

Tabelle 24: Zusammensetzung von LutImPre.

Technologie	Zusammensetzung	Menge (mg)	Konz. (mmol/g)	Einwaage (mg)
Sprüherstarrung	EMD 57033	30	0,09	830
	Lutrol F 68	550		
	Imwitor 191	200		
	Précirol	50		

Für die Zubereitung wurde Lutrol F 68 als hydrophile Komponente, Imwitor 191 als lipophiler Emulgator und Précirol als Ölkomponente eingesetzt. Alle Hilfsstoffe werden in sprüherstarrer bzw. sprühgetrockneter Form geliefert, was schon ein Hinweis auf ihre Eignung für die Technologie der Sprüherstarrung ist.

Lutrol F 68 gehört zur Gruppe der sogenannten Poloxamere, die Blockpolymere aus Polyethylen(PE)- und Polypropylen(PP)-Ketten darstellen. Ihr Vorteil bei der Verwendung für hydrophobe Wirkstoffe ist die gute Wasserlöslichkeit, die Ausbildung sehr kleiner Mizellen und ihr damit verbundenes hohes Solubilisierungspotential (Bowtle, 1998; Jones, 1999). Sie eignen sich zur Herstellung fester Dispersionen zur verbesserten Wirkstofffreigabe (Rouchotas, 2000). Bei der Herstellung von Emulsionen für schwer lösliche Hilfsstoffe wurden Instabilitäten festgestellt, die durch Zugabe eines Cotensids reduziert werden konnten (Scherlund, 1998).

*Tabelle 25: Hilfsstoffe in LutImPre*

Hilfsstoff	Zusammensetzung	Eigenschaften
<b>Lutrol F 68</b>	<b>Copolymerisat aus Poly-Propylenglycol und Poly-Ethylenglycol</b>	<b>Nichtionisches Tensid Wasserlöslich MP 55°C</b>
<b>Imwitor 191</b>	<b>90% Monoglycerin (Glycerylstearate, USP NF 23)</b>	<b>MP 70°C</b>
<b>Précirol</b>	<b>TG (30%), DG (54%), MG (8-17%)</b>	<b>MP 55°C</b>

In Placebo-Vorversuchen war visuell untersucht worden, in welchen Verhältnissen diese Hilfsstoffe als Placebo in Wasser eine möglichst homogene, milchige Emulsion bildeten. Die sich daraus ergebende Rezeptur (Tabelle 24) wurde hergestellt und versprüht. Da die Hilfsstoffe im Gegensatz zu denen der o.g. gélocirehaltigen Formulierungen sehr rasch erstarren, musste die Temperatur von >70°C äußerst genau eingehalten werden. So kam es bei den ersten Sprühversuchen zu Verstopfungen in den Silikonschläuchen der Schlauchpumpe und in der Düse. Daher wurde nachfolgend auf die Pumpe verzichtet. Die Schmelze wurde über einen kleinen Trichter direkt in die Düse gefüllt und die Manteltemperatur der Düse auf ca. 75°C erhöht.

#### 4.3.8.1 Homogenität des Sprüherstarrungsproduktes

Der Durchschnittsgehalt der LutImPre-Sprüherstarrungsproduktes betrug 28,79 mg  $\pm$ 1,73% auf 830 mg Formulierung.

#### 4.3.8.2 Freisetungsverhalten der LutImPre (frisch und gelagert)

Abb. 54 zeigt das Freisetungsverhalten der LutImPre-Formulierung. Direkt nach der Herstellung sind Freisetzungsrates (18,2) und freigesetzter Anteil mit knapp über 90% im Vergleich zu G5P2 sehr hoch (Abb. 55). Nach Lagerung verschlechtert sich jedoch auch hier die Freisetzung. Obwohl auch mit dieser Formulierung aufgrund kristalliner Strukturen der Hilfsstoffe die Wirkstoffkristalle nicht eindeutig zu identifizieren waren, werden Wirkstoffkristalle vermutet. Dafür spricht, dass keine Fremdpeaks bei der HPLC-Bestimmung zu erkennen waren, was eine verschlechterte Freisetzung durch chemische Zersetzung ausschließt.

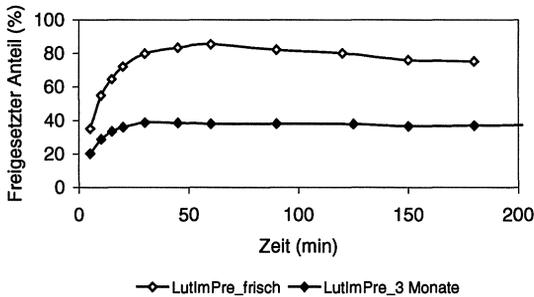


Abb. 54: Freisetungsverhalten der LutImPre-Formulierung frisch und nach Lagerung.

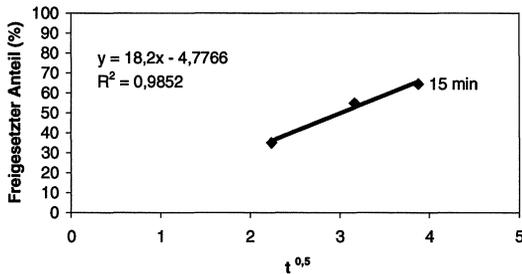


Abb. 55: Freisetzungsrates der LutImPre-Formulierung in SGF<sup>+</sup> (frisch).

#### 4.3.8.3 Kritische Mizellbildungskonzentration der Formulierung LutImPre

Auch für diese Formulierung wurde die CMC bestimmt.

Abb. 56 zeigt, dass die CMC genau in dem Bereich der Hilfsstoffkonzentrationen nach Freisetzung einer Kapsel liegt. Es ist also bei dieser Formulierung höchstens mit einer sehr geringen Mizellkonzentration im FreisetzungsmEDIUM zu rechnen.

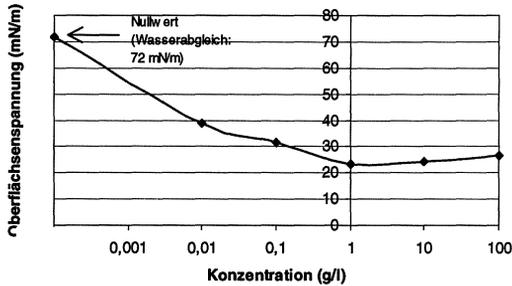


Abb. 56: Bestimmung der CMC der in LutImPre enthaltenen Hilfsstoffe.

#### 4.3.9 Bestimmung der Löslichkeiten von EMD 57033 in den Hilfsstoffen

Die Ergebnisse der Untersuchung zur Lagerstabilität der halbfesten Formulierungen zeigen die Notwendigkeit der Bestimmung von Löslichkeiten in den Hilfsstoffen. Anders als bei flüssigen Hilfsstoffen kann die Messung von Löslichkeiten nicht direkt, sondern nur über „Umwege“ erfolgen.

Nachfolgend sind die Ergebnisse zweier Methoden erläutert.

##### 4.3.9.1 DSC-Methode

Der erste Versuch, die Löslichkeit von EMD 57033 in den Formulierungen Gélu<sup>+</sup> und VitE<sup>+</sup> zu bestimmen, zeigte schnell, dass es während des Aufheizens der Probe zu Löseprozessen der kristallinen Wirkstoffanteile in der Schmelze kommt. Das Problem ist hier, dass die Hilfsstoffe mit ihren Schmelzpunkten von ca. 40°C -70°C weit vor dem Wirkstoff (EMD 57033 167°C) schmelzen. Diese Lösevorgänge sind bei den soluphor-P-haltigen Formulierungen so ausgeprägt, dass im Diagramm bei keiner der o.g. Wirkstoffbelastungen ein Wirkstoffpeak zu sehen war. Wurden die Untersuchungen mit Formulierungen ohne Soluphor P durchgeführt, so konnten endotherme Peaks bestimmt werden. Abb. 57 zeigt die auf 0 J/g extrapolierten Geraden. (Ausreißer bei G5P2 und G4P6 wurden nicht miteinbezogen).

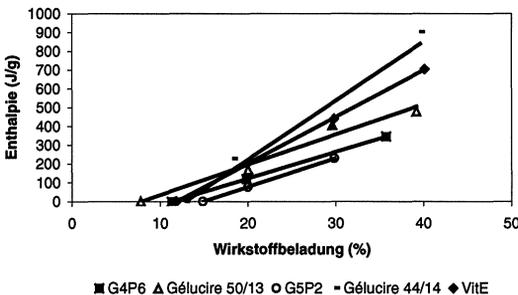


Abb. 57: Endotherme Enthalpien von EMD 57033 in verschiedenen Formulierungen bei unterschiedlicher Wirkstoffbelastung und Extrapolation auf 0 J/g.

Das Diagramm zeigt, dass EMD 57033 in allen Formulierungen eine Löslichkeit von mindestens 7,8% haben müsste. Die in den vorangegangenen Abschnitten behandelten Ergebnisse zeigen jedoch, dass die Löslichkeit von EMD 57033 in den soluphor-P-freien Formulierungen schon bei 4% überschritten ist. Das Ergebnis ist also, wie vermutet, durch Lösevorgänge während der Messung stark verfälscht. Die DSC eignet sich also nicht für die quantitative Bestimmung von Löslichkeiten in halbfesten Hilfsstoffen. Dennoch wird sie in der Literatur oft für Untersuchungen mit halbfesten Hilfsstoffen erwähnt: Während die Ergebnisse von Propranolol in Ölsäure noch wertvoll erscheinen, da die Schmelzpunkte von Wirk- und Hilfsstoffen dicht beieinander liegen (Crowley, 1999), sind die Untersuchungen von Zolpidem (MP 192°C) in halbfesten PEG's (Trapani, 1999) bzw. von Nifedipin (MP 170°C) in PEG's und Poloxamer 507 (Chutimaworapan, 2000) nicht überzeugend.

Die Ergebnisse zeigen jedoch eindeutig, dass der Wirkstoff sich während der DSC-Messung von **soluphor-P-haltigen** Formulierungen *stets* komplett löst, und somit lässt sich auf ein besonders gutes Lösevermögen derartiger Formulierungen schließen. Auf diese Weise ist die DSC-Methode also, wenn auch **nicht für eine quantitative Bestimmung**, so doch für eine grobe **qualitative Unterscheidung** von Formulierungen nutzbar.

### 4.3.9.2 Extrapolation auf Raumtemperatur

Diese sehr zeit- und arbeitsaufwendige Methode hat den entscheidenden Nachteil, dass sie sich nur für extrem thermostabile Wirk- und Hilfsstoffe eignet. Beide sind über einen Zeitraum mehrerer Tage einer Temperaturbelastung von 70°C bis 90°C ausgesetzt. Für den vorliegenden Wirkstoff schien die Methode jedoch geeignet, denn die Stabilitäten der Formulierungen korrelieren mit den extrapolierten Löslichkeiten.

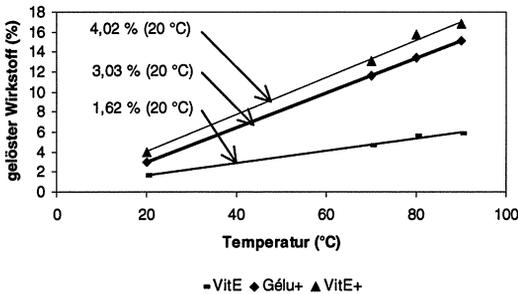


Abb. 58: Bestimmung der Löslichkeiten von EMD 57033 in verschiedenen Formulierungen durch Messung bei drei Temperaturen und Extrapolation auf Raumtemperatur.

Vergleicht man die Wirkstoffgehalte der Formulierungen VitE<sup>+</sup>, VitE und Gélu<sup>+</sup>, die Stabilitätsuntersuchungen nach Lagerung und die in Abb. 58 dargestellten Ergebnisse, so zeigt sich, dass der Wirkstoffgehalt in VitE mit 4,1% (30 mg Wirkstoff auf 730 mg ) weit über der Löslichkeit von 1,62% bei Raumtemperatur liegt. VitE<sup>+</sup> (30 mg Wirkstoff auf 730 mg ), das ebenfalls einen Wirkstoffgehalt von 4,1% enthält, kann mit seinen guten Lösungseigenschaften von knapp über 4% den Wirkstoff auch über einen sehr langen Zeitraum gelöst halten. Das gleiche gilt für Gélu<sup>+</sup> (30 mg Wirkstoff auf 920 mg ), das mit einer Wirkstoffkonzentration von 3,3% verarbeitet wurde: Gélu<sup>+</sup> kann bei Raumtemperatur knapp über 3% Wirkstoff lösen.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass bislang keine ideale Methode existiert, um die Löslichkeit von Wirkstoffen in halbfesten lipophilen Hilfsstoffen zu bestimmen. Die DSC-Methode ist zwar bequem und schnell, liefert aber nur grobe qualitative Ergebnisse, während die Extrapolationsmethode, obwohl sie quantitative Ergebnisse liefern kann, sehr aufwendig ist und sich ausschließlich für extrem thermolabile Substanzen eignet.

#### 4.4 Ergebnisse der pharmakokinetischen Untersuchungen in Beagles

Für die Bioverfügbarkeitsstudien mit EMD 57033 wurden die Formulierungen Gélu<sup>+</sup>, VitE und der Lactose-Standard als orale Applikationen gegen eine i.v.-applizierte PEG-Lösung untersucht. Diese Formulierungen wurden aufgrund ihrer großen qualitativen Unterschiede bezüglich des Freisetzungsverhaltens ausgewählt. Es wurde untersucht, ob die In-vitro-Daten eine gute Vorhersage für in vivo-Daten darstellen.

#### 4.4.1 Wirkstoffgehalte der Muster

Für die i.v.-Formulierung wurden 600,0 mg EMD 57033 (Charge KS 05 M) in 44,40 g PEG 200 (Charge S 30694042) komplett gelöst. Direkt vor der Untersuchung wurde die Lösung mikroskopisch auf Kristallfreiheit geprüft. Da der Wirkstoff in Lösung geblieben ist, entfiel die Gehaltsbestimmung.

Die Gehaltsbestimmungen der Gélu<sup>+</sup>-Formulierung ergab einen Gehalt von 30,43mg $\pm$ 2,68%, die der VitE-Formulierung einen Gehalt von 30,31 mg $\pm$ 0,59%. Für den Gehalt des Laktose-Standards siehe Seite 53.

#### 4.4.2 Absolute Bioverfügbarkeiten der unterschiedlichen Formulierungen

Tabelle 26 gibt einen Überblick über die aus den Plasmamessungen resultierenden pharmakokinetischen Daten.

Tabelle 26: Messergebnisse der Plasmaspiegelmessungen.

Formulierung		Hund 1	Hund 2	Hund 3	Hund 4	Mittelwe rt	CV (%)
Lactose	$C_{max}$ (ng/ml)	18,0	11,0	22,0	12,0	15,8	32,9
	$T_{max}$ (h)	2,00	2,00	2,00	4,00	2,50	40,0
	AUC (ng/ml*h)	37,75	16,95	75,80	25,60	39,03	66,5
VitE	$C_{max}$ (ng/ml)	60,0	50,0	94,0	43,0	61,8	36,6
	$T_{max}$ (h)	0,500	0,500	2,00	4,00	1,75	94,8
	AUC (ng/ml*h)	216	164	290	181	213	26,3
Gélu <sup>+</sup>	$C_{max}$ (ng/ml)	149	225	91,0	93,0	140	45,2
	$T_{max}$ (h)	2,00	0,50	1,00	2,00	1,38	54,5
	AUC (ng/ml*h)	454	504	364	322	411	20,2
PEG 200 (i.v.)	$C_{max}$ (ng/ml)	471	537	604	533	536	10,1
	$T_{max}$ (h)	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	-
	AUC (ng/ml*h)	912	1060	807	663	861	19,5
	$T_{\frac{1}{2}}$ (h) 0,125-6	1,25	1,69	1,07	0,984	1,25	25,2

Tabelle 27 und Abb. 59 zeigen, dass die absoluten Bioverfügbarkeiten sich entsprechend den In-vitro-Ergebnissen verhalten. Letztere sind der Übersicht wegen noch einmal in Abb. 60 aufgeführt.

Tabelle 27: Absolute Bioverfügbarkeiten der drei Formulierungen.

BV % (abs)	Hund 1	Hund 2	Hund 3	Hund 4	MW	StAbw
i.V. (PEG 200)	100	100	100	100	100	-
Lactose	4,15	1,59	9,39	3,86	4,7	3,30
VitE	23,68	15,47	35,94	27,3	25,6	8,49
Gélu+	49,78	47,55	45,11	48,57	47,8	1,98

Die Standardformulierung Laktose hat mit einem Wert von 4,75% die schlechteste Bioverfügbarkeit. Mit VitE kann eine absolute Bioverfügbarkeit von 25,60% erzielt werden und Gélu<sup>+</sup> geht mit einer Bioverfügbarkeit von 47,75% als beste Rezeptur hervor. Überraschend, da für pharmakokinetische Untersuchungen ungewöhnlich, ist zudem die geringe Standardabweichung von 1,98% bei Gélu<sup>+</sup>.

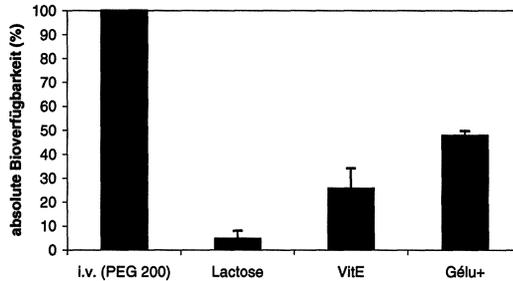


Abb. 59: Bestimmung der absoluten Bioverfügbarkeiten der unterschiedlichen Formulierungen.

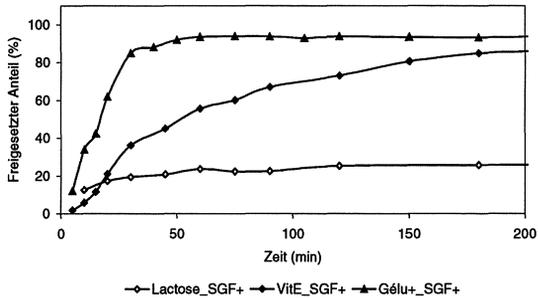


Abb. 60: Die *In-vitro*-Ergebnisse ergaben die gleiche Rangordnung der Formulierungen.

#### 4.4.3 In-vitro-In-vivo-Korrelationen nach USP Standard

Nach der USP unterscheidet man bei IVIV-Korrelationen Level A, Level B und Level C. **Level A** stellt eine Punkt zu Punkt-Korrelation zwischen dem freigesetzten Wirkstoffanteil (%) und dem absorbierten Anteil (%) dar. Man erhält einen sogenannten „Levy-Plot“ (Brockmeier). Bei einer **Level B**-Korrelation wird für mindestens drei verschiedene Formulierungen die mittlere Absorptionszeit gegen die mittlere Auflösungszeit aufgetragen. Bei **Level C** werden ausgewählte Parameter (z.B. Freisetzungszeit<sub>50%</sub> gegen AUC oder C<sub>max</sub>) von mindestens drei Formulierungen korreliert. Level B und C stellen lediglich einen Parametervergleich dar, während bei einer Level A-Korrelation das ganze Absorptionsprofil mit dem Freisetzungsprofil verglichen wird. Im Falle des Level A entscheidet das **Verteilungsmodell** (in vivo) über die Dekonvolutionsmethode. Bei einem Ein-Kompartimentmodell eignet sich die Methode nach **Wagner-Nelson**. Hierbei entspricht die absorbierte Menge an Wirkstoff der Summe aus *Menge im Körper* und *eliminiertes Menge*. Komplizierter wird es im Falle des Zwei-Kompartiment-Modelles, bei dem die absorbierte Menge sich zusammensetzt aus der Menge im Plasma, der Menge im peripheren Kompartiment (z.B. Fettdepots) und der bereits eliminierten Menge. Hierbei müssen diverse Koeffizienten aus der i.v.-Kurve berechnet werden (**Loo-Riegelman Methode**).

Anhand von Abb. 61 ist zu erkennen, dass im vorliegenden Fall eine Level A-Korrelation nicht möglich, bzw. sehr ungenau wäre, da....

...aus insgesamt 6 Messpunkten vier Parameter zur Darstellung der zeitabhängigen Verteilungs- und Eliminationsprozesse berechnet werden müssten,

...die alpha-Phase dieses Arzneistoffes sehr kurz ist und lediglich von zwei Punkten dargestellt wird und

...mindestens zwei der vier Hunde keine eindeutige Zwei-Kompartiment-Verteilung darstellen.

Außerdem ist das pharmakokinetische Design ungeeignet, da zu wenig Messzeitpunkte gewählt wurden, um für die Abstände zwischen ihnen einen linearen Verlauf anzunehmen.

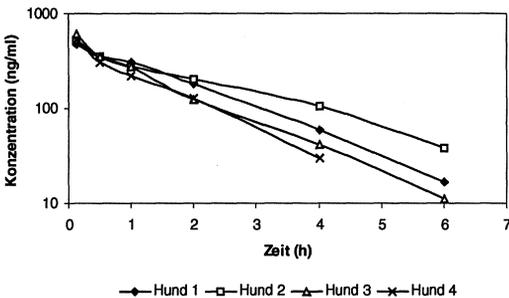


Abb. 61: Plasmakonzentrationen nach der i.v.-Gabe (halblogarithmische Darstellung).

Aus diesem Grund wurde eine **Level C-Korrelation** vorgenommen. Der üblicherweise verwendete In-vitro-Parameter „Freisetzungzeit<sub>50%</sub>“ konnte nicht verwendet werden, da eine der untersuchten Formulierungen (Laktosestandard) maximal 20 % Wirkstoff freisetzte. Daher wurde hier auf den Parameter **Freisetzungsrates** zurückgegriffen, die in den vorangegangenen Kapiteln aus den Freisetzungen in SGF<sup>+</sup> ermittelt worden waren. Sie wurde mit den Parametern  $C_{max}$ ,  $t_{max}$  und AUC korreliert.

#### 4.4.4 Level C-Korrelationen

##### 4.4.4.1 Korrelation der Freisetzungsrates mit $C_{max}$

Abb. 62 zeigt, dass aus der halblogarithmischen Darstellung der durchschnittlichen  $C_{max}$  und der Freisetzungsrates eine Gerade resultiert.

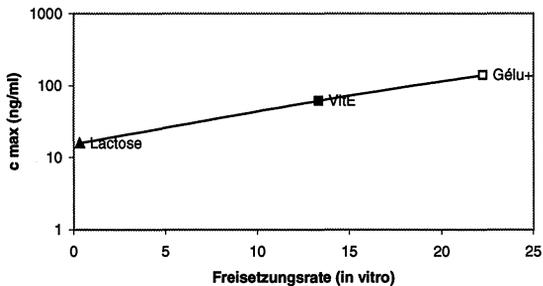


Abb. 62: Korrelation der Plasmakonzentration ( $C_{max}$ ) mit der Freisetzungsrates.

Dies ist eine Bestätigung für die eingangs genannte These, dass der Faktor *Freisetzungsrates* das Ausmaß von Rate und Ausmaß der Resorption ( $C_{max}$ ) schwer löslicher Substanzen wesentlich beeinflusst. Erneut zeigt sich, dass die hohe Wasserlöslichkeit der Hilfsstoffe einen bedeutenden Einfluss auf die Bioverfügbarkeit einer Substanz haben kann.

##### 4.4.4.2 Korrelation der Freisetzungsrates mit $t_{max}$

Abb. 63 zeigt, dass  $t_{max}$  der Freisetzungsrates direkt proportional ist. Das Bestimmtheitsmaß der Trendlinie (0,98) verdeutlicht die Qualität von Freisetzungsuntersuchungen zur Vorhersage von qualitativen Unterschieden einzelner Rezepturen.

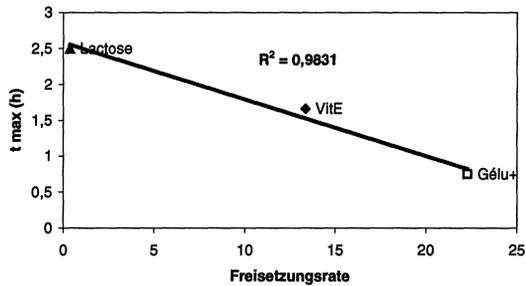


Abb. 63: Vergleich der t<sub>max</sub> mit der Freisetzungsrate.

Aufgrund der offenbar hohen Permeabilität von EMD 57033 durch die Magen-Darm-Schleimhaut werden also umso schneller maximale Plasmaspiegel erreicht, je schneller der Wirkstoff aus der Arzneiform freigesetzt wird.

#### 4.4.4.3 Korrelation der Freisetzungsrate mit der AUC

Wie aus den oben dargestellten Diagrammen zu erwarten war, ergibt sich aus der halblogarithmischen Darstellung der Korrelation von AUC und Freisetzungsrate, zumindest annähernd, eine Gerade (Abb. 64).

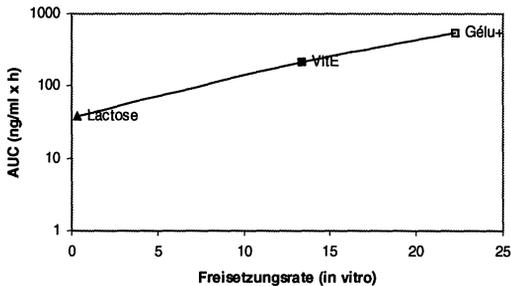


Abb. 64: Korrelation der AUC's mit der Freisetzungsrate.

#### 4.5 Zusammenfassung der Ergebnisse mit EMD 57033

Es wurde untersucht, welcher Art lipidartige Hilfsstoffe in physikalisch-chemischer Hinsicht sein müssen, um eine verbesserte Wirkstofffreisetzung von EMD 57033 aus der Arzneiform zu bewirken. Die beiden wichtigsten Hilfsstoffe waren Gélucire 44/14, ein Gemisch halbsynthetischer Glyceride mit einem hohen HLB-Wert und Vitamin E TPGS, ein wasserlösliches Vitamin E-Derivat. Es konnte anhand mehrerer lipidartiger Hilfsstoffkombinationen gezeigt werden, dass der Wirkstoff eine bei Raumtemperatur **ausreichende Löslichkeit** in den Hilfsstoffen besitzen muss, um die Freisetzungsrates über einen entsprechenden Lagerungszeitraum zu erhöhen. Halbfeste Hilfsstoffe können nämlich molekulare Migrations- und Rekrystallisationsprozesse der Substanz in einem mit Wirkstoff übersättigten System nicht verhindern. Als vielversprechend erwies sich die Zugabe eines Lösungsvermittlers (**Soluphor P**). Dieser Hilfsstoff, der leider bisher trotz seiner geringen Toxizität nicht für die orale Applikation am Menschen zugelassen ist, erhöht die Löslichkeit von EMD 57033 in den untersuchten Formulierungen erheblich.

Für eine zielgerichtete Wahl von Hilfsstoffen wurden verschiedene Methoden (DSC bzw. Extrapolation der Löslichkeit auf Raumtemperatur) untersucht, mit denen die **Löslichkeit** einer Substanz in halbfesten Hilfsstoffen bestimmt werden sollte. Die DSC-Methode eignet sich aufgrund von Löseprozessen während der Messung nicht zur quantitativen Bestimmung. Eine qualitative Unterscheidung zwischen „guten“ und „schlechten“ Hilfsstoffen mittels DSC ist jedoch möglich. Die zweite Methode (Extrapolation auf Raumtemperatur) führt zwar zu einem offenbar richtigen Ergebnis, ist dagegen sehr zeit- und arbeitsintensiv und steht in keinem Verhältnis zu schneller durchführbaren Freisetzungsuntersuchungen.

Neben der Löslichkeit des Arzneistoffes ist die **gute Wasserlöslichkeit** der Hilfsstoffe von großer Bedeutung. Sie hat Einfluss auf die Freisetzungsrates, aber auch, wie am Beispiel des lipophilen Gélucire 50/13 gezeigt werden konnte, auf die absolute Wirkstofffreigabe. Des Weiteren scheinen **solubilisierende, mizellbildende** Hilfsstoffe das rasche Rekrystallisieren des Wirkstoffes nach der Freigabe aus der Arzneiform zu verhindern.

Es wurden **unterschiedliche Technologien** für diese Hilfsstoffe getestet.

Die Technologie der **Flüssigbefüllung von Hartkapseln** erwies sich durch die Verwendung eines Dispensers als überaus praktisch für den Labormaßstab. Mit den verwendeten Hilfsstoffen konnten keine Inkompatibilitäten mit der Kapselhülle festgestellt werden. Zudem erwies sich die hohe Dichte der Hilfsstoffe als Vorteil bei einer schwer löslichen Substanz, da hierdurch verhältnismäßig geringe Wirkstoffkonzentrationen verarbeitet werden konnten.

Die Herstellung von **Sprüherstarrungsprodukten** war weit aufwendiger und ließ nur ein sehr kleines Spektrum an Hilfsstoffen zu, da die Schmelzpunkte verhältnismäßig hoch sein müssen, um ein pulvriges Produkt zu erhalten .

Die These, dass das Zusammenspiel von **hoher Freisetzungsrates** und **hohen Wirkstoffkonzentrationen** nach Auflösung der Rezeptur zu **hohen Bioverfügbarkeiten** schwer wasserlöslicher Substanzen mit guter Permeabilität (BCS-Klasse II) führt, konnte in einem In-vivo-Modell für EMD 57033 bestätigt werden. Die durch In-vitro-Untersuchungen erstellte „Rangordnung“ von drei oral applizierbaren Formulierungen spiegelte sich eindeutig in den In-vivo-Daten wieder.  $T_{max}$  beispielsweise war der Freisetzungsrates, die sich aus den In-vitro-Messungen ergab, direkt proportional (Bestimmtheitsmaß 0,98).



## 5 Ergebnisse der Untersuchungen mit Danazol

### 5.1 Wichtiges über Danazol

#### 5.1.1 Pharmakologie und Handelspräparate

Danazol gehört zur Klasse der Antigonadotropine. Es ist ein Nortestosteron-Derivat und hat als wichtigste pharmakologische Eigenschaft eine androgen-anabole Wirkung. Bei der Anwendung von Danazol bei Endometriose (Gebärmutter-schleimhautwucherung) soll die Pulsationsfrequenz von LH und die Prolactinkonzentration verringert werden. Daneben werden Enzymsysteme in Nebenniere und Ovar direkt blockiert, was die Steroidbiosynthese negativ beeinflusst. In der *Roten Liste 2001* ist Danazol als Handelsprodukt Danazol-ratiopharm<sup>®</sup> bzw. Winobanin<sup>®</sup> zu finden. Beide Produkte enthalten 100 mg bzw. 200 mg Danazol in Kapseln.

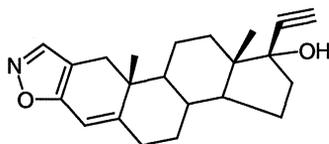
#### 5.1.2 Pharmakokinetik

Die Absorption von Danazol ist von der Nahrungsaufnahme abhängig (Charman et al<sup>1</sup>, 1993; FachInfo, 2001). So wurde beobachtet, dass die Aufnahme des Danazol zusammen mit Nahrung zu doppelten Plasmakonzentrationen führte. Nach oraler Gabe von 400 mg Danazol wurden Plasmaspiegel ( $C_{max}$ ) zwischen 50 ng/ml und 85 ng/ml gemessen. In anderen Studien wurden schon bei Gabe von 200 mg Danazol maximale Plasmaspiegel von 80 ng/ml erreicht. Diese Daten deuten auf eine fehlende Dosisproportionalität hin, die wahrscheinlich in der Löslichkeitsproblematik des Danazols begründet ist. Auch die hohe Dosierung des Danazols steht in diesem Zusammenhang; so wird die Bioverfügbarkeit des Danazols mit 30% beziffert (FachInfo 2001). Dass der beobachtete Nahrungseinfluss auf die Bioverfügbarkeit von Danazol mit großer Wahrscheinlichkeit in Zusammenhang mit der Löslichkeitsverbesserung durch Gallensalze steht, konnte in zwei In-vitro-Untersuchungen gezeigt werden (Pedersen, 2000; Galia, 1998). Bisherige Ansätze, das Auflösungsverhalten von Danazol zu verbessern, waren Partikelreduktion auf den Nanometerbereich (Liversidge, 1995), Oberflächenbehandlung mittels Tensid (Brown 1998) und die Herstellung eines Kopräzipitates (Kondo, 1994). Untersuchungen mit lipidartigen Hilfsstoffen machten Charman et al<sup>2</sup> (1993) und Erlich et al (1999).

### 5.1.3 Physikochemische Eigenschaften von Danazol

Danazol (Abb. 65) wurde als zweite Modellsubstanz für dieses Projekt gewählt, da die physikalisch-chemischen Daten auf eine noch ausgeprägtere Löslichkeitsproblematik als im Falle von EMD 57033 schließen ließen: Danazol hat einen **MP von 221°C** und einen **logP von 4,53**. Durch eine Einzeldosis von 50 mg (0,15 mmol) sollte die Problemstellung zusätzlich verschärft werden (30 mg EMD 57033 entsprechen 0,07mmol).

Da Danazol sich im physiologisch relevanten Bereich auch **neutral** verhält, eignet es sich sehr gut als schwer lösliche Vergleichssubstanz für EMD 57033. Aufgrund ihrer Wärmestabilität ist die Substanz für die Verarbeitung in halbfesten Zubereitungen geeignet.



Danazol M = 337

*Abb. 65 : Strukturformel von Danazol.*

### 5.1.4 Stabilität der Substanz

#### 5.1.4.1 Stabilität einer Wirkstofflösung bei Tageslicht

Die dem hellen Tageslicht ausgesetzten Standards zeigten keine Veränderungen. Im Gegensatz zu EMD 57033 scheint Danazol bei Lichteinfluss stabil zu sein.

#### 5.1.4.2 Stabilität einer Wirkstofflösung bei unterschiedlichen pH-Werten

Der im sauren bzw. basischen Milieu gelöste Wirkstoff zeigte auch nach 72 h Lagerung unter Lichtausschluss keine Veränderung: Der Gehalt der Lösung blieb stabil und im HPLC-Diagramm waren keine Fremdpeaks zu sehen.

#### 5.1.4.3 Stabilität einer Wirkstofflösung in Wärme

Es konnten nach 24 h Lagerung unter Lichtausschluss bei keiner der Temperaturen (40°C, 60°C, 80°C) Veränderungen des Danazol-Standards festgestellt werden. Die Substanz ist somit in Wärme stabil und für die Verarbeitung in **halbfesten** Hilfsstoffträgern geeignet.

### 5.1.5 Löslichkeitsuntersuchungen

#### 5.1.5.1 Löslichkeiten in Standardlösungsmitteln versus Kohäsionsparameter

Wie für EMD 57033 wurde auch mit Danazol untersucht, inwieweit sich Löslichkeiten qualitativ mit der Fedorstabelle voraussagen lassen.

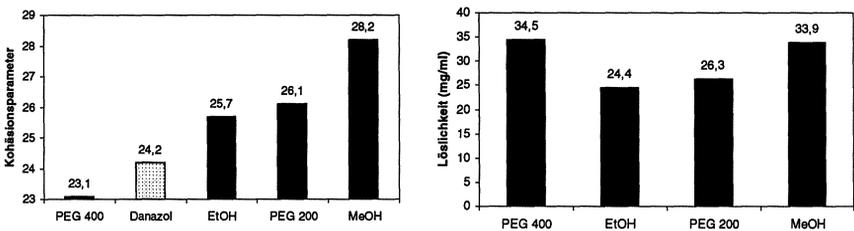


Abb. 66: links: sortierte Kohäsionsparameter, rechts: gemessene Löslichkeiten von Danazol in verschiedenen Lösungsmitteln.

Abb. 66 zeigt, dass Danazol nach Fedors die beste Löslichkeit in PEG 400 und Ethanol haben müsste (linkes Diagramm). Auf dem rechten Diagramm ist jedoch erkennbar, dass sich die Löslichkeiten von Danazol in den Lösungsmitteln nicht entsprechend der Fedortabelle verhalten: Die beste Löslichkeit hat Danazol in PEG 400 und Methanol. In

## Ergebnisse der Untersuchungen mit Danazol

letzterem müsste es nach Fedor sogar die relativ schlechteste Löslichkeit haben. Wie bereits für EMD 57033 festgestellt wurde, scheint die vorliegende Tabelle nicht geeignet, um qualitative Unterschiede von Hilfsstoffen vorherzusagen.

Neben in Abb. 66 aufgeführten Löslichkeiten betrug die Löslichkeit in Wasser  $0,25\mu\text{g/ml}$  und die Löslichkeit im Fließmittel (Acetonitril/Wasser = 1/1)  $1,72\text{ mg/ml}$ . Die Messungen in Ethanol und PEG 400 bestätigen die Werte von Erlich et al (1999).

### 5.1.5.2 Löslichkeiten in Freisetzungsmedien ( $37^{\circ}\text{C}$ )

Abb. 67 zeigt die Löslichkeiten von Danazol in den Freisetzungsmedien bei  $37^{\circ}\text{C}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Der Einfluss der Gallensalze auf die Löslichkeit von Danazol ist wegen des relativ hohen  $\log P$  von 4,5 vergleichsweise hoch. So hat Danazol in FeSSIF die etwa 53-fache Löslichkeit von der in Wasser.

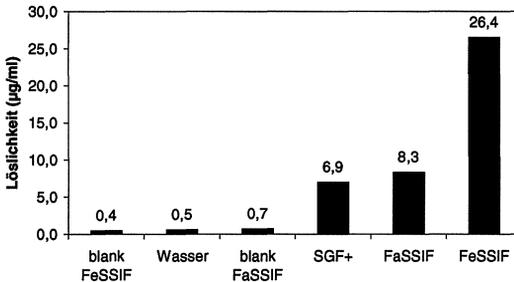


Abb. 67: Löslichkeit von Danazol in verschiedenen Freisetzungsmedien ( $37^{\circ}\text{C}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ).

Die Löslichkeit von Danazol in 0,36%-iger Texaponlösung beträgt  $96\mu\text{g/ml}$ . Dieses Freisetzungsmedium wäre also theoretisch zur Freisetzung einer 50 mg-Dosierung von Danazol geeignet, wurde aber aufgrund der in 4.2.2 gemachten Beobachtungen nicht für Freisetzungsforschungen eingesetzt.

## 5.2 Die Standardrezeptur für Danazol

Die schon in Kapitel 4 verwendete Wirkstoff-Laktose-Mischung wurde auch als Standardformulierung für Danazol eingesetzt. Auch die Handelspräparate (Danazol-ratiopharm® bzw. Winobanin®) enthalten neben üblichen Tablettierhilfsstoffen wie z.B. Talkum, Stärke und Mikrokristalliner Cellulose ebenfalls **Laktose**.

### 5.2.1 Homogenität der Standardrezeptur

Der Durchschnittsgehalt an Danazol betrug 49,47 mg  $\pm$ 4,63% auf 500 mg Mischung.

### 5.2.2 Freisetzung einer Standardrezeptur

Abb. 68 zeigt das Freisetzungverhalten der Standardkapsel. Die Ergebnisse stimmen mit den mit EMD 57033 gemachten Untersuchungen überein: Liegt der Wirkstoff in der Formulierung in seiner kristallinen Form vor, so werden Maximalkonzentrationen entsprechend der Löslichkeiten des Wirkstoffes im jeweiligen Medium erreicht (Abb. 69) .

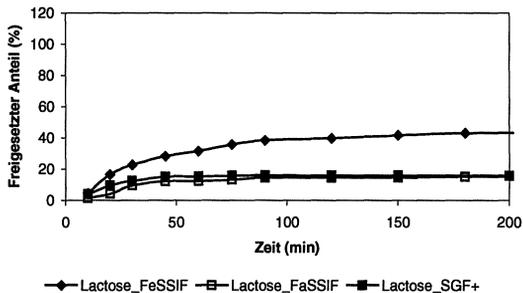
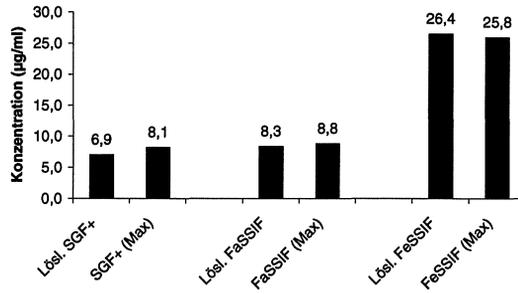


Abb. 68: Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel in verschiedenen Medien.

## Ergebnisse der Untersuchungen mit Danazol



*Abb. 69: Vergleich der bei Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel erreichten Konzentrationen mit der Löslichkeit im jeweiligen Medium.*

## 5.3 Verbesserte Formulierungen für Danazol

### 5.3.1 Einleitung

Für die Untersuchungen mit Danazol sollten insbesondere die **Hilfsstoffe Gélucire 44/14 und Vitamin E TPGS** untersucht werden. Aus den mit diesen halbfesten Hilfsstoffen gemachten Beobachtungen ergab sich die Idee, für Danazol eine **flüssige Zubereitung** zu entwickeln, die den Wirkstoff gelöst enthält und in Weichkapseln gefüllt wird. Bei der Suche nach einer geeigneten flüssigen Zusammensetzung wurde vom schematischen Aufbau der SEDDS abgewichen und das erst im Jahr 2000 veröffentlichte Klassifizierungssystem von Pouton als theoretische Grundlage gewählt (vg. 5.3.7.1).

### 5.3.2 Vorversuche zur Herstellung flüssig befüllter Hartkapseln

Die Ergebnisse der Dichtestimmungen und die Untersuchungen zur Dosiergenauigkeit des Dispensers konnten aus dem vorangehenden Kapitel übernommen werden. Die Hygroskopizität und die Affinität von Danazol zum Dispenserschlauch wurden vor der Herstellung der Danazolkapseln geprüft.

#### 5.3.2.1 Hygroskopizität

Für reines Danazol war eine Wasseraufnahme von 0,11% (25°C/ 60% rF) bzw. 0,36% (40°C/75% rF) gemessen worden. Danazol ist somit noch weniger hygroskopisch als EMD 57033. Auf eine Bestimmung der Hygroskopizität danazolhaltiger Formulierungen konnte daher verzichtet werden.

#### 5.3.2.2 Schlauchadsorption

Da die Wirkstoffkonzentration nach 24 h unverändert blieb, war davon auszugehen, dass sich der Dispenser auch für danazolhaltige Formulierungen eignet.

### 5.3.3 Die Formulierung VitE für Danazol

#### 5.3.3.1 Zusammensetzung der VitE-Formulierung

Die VitE-Formulierung wurde entsprechend der EMD 57033-Rezeptur zusammengesetzt. Da jedoch das Volumen der Kapseln mit Größe 00 beschränkt ist, musste bei einer Danazol-Dosierung von 50 mg die Wirkstoffkonzentration in der Formulierung entsprechend erhöht werden. Auf die Molmasse umgerechnet hat diese Danazol-Formulierung im Vergleich zur EMD 57033-Formulierung die doppelte Wirkstoffkonzentration (siehe Tabelle 28).

*Tabelle 28: Zusammensetzung der VitE-Formulierung für Danazol.*

Technologie	Zusammensetzung	Menge (mg)	Konz. (mmol/g)	Volumen (µl), 80°C
Flüssig gefüllte HK	Danazol	50	0,2	700
	Vitamin E TPGS	420		
	PEG 1000	140		
	Labrafil M 2130 CS	140		

#### 5.3.3.2 Wirkstoffgehalt der VitE-Kapseln

Der Durchschnittsgehalt der VitE-Kapseln betrug 50,06 mg  $\pm$  1,29%.

#### 5.3.3.3 Freisetungsverhalten der VitE-Rezeptur in verschiedenen Freisetzungsmethoden

Abb. 70 zeigt das Freisetungsverhalten der VitE-Formulierung in verschiedenen Medien. Abb. 71 lässt erkennen, dass, anders als bei den Untersuchungen mit EMD 57033, die nach der Freisetzung des Wirkstoffes aus der Kapsel maximal erreichten Konzentrationen die Löslichkeit im Medium nicht wesentlich überschreiten.

## Ergebnisse der Untersuchungen mit Danazol

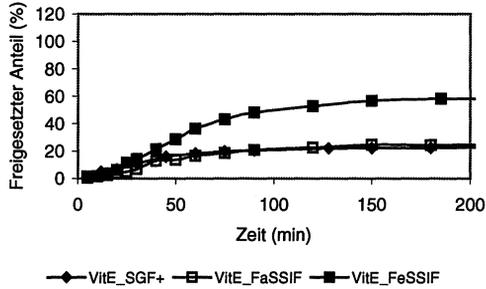


Abb. 70: Freisetungsverhalten der VitE-Formulierung in den Freisetzungsmidien SGF+, FaSSiF und FeSSiF.

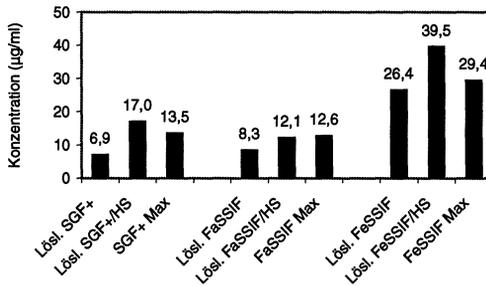


Abb. 71: Vergleich der nach Freisetzung der „VitE“-Formulierung erreichten Konzentrationen mit der Löslichkeit.

### 5.3.3.4 Einfluss der Erstarrungsrate

Aufgrund des relativ schlechten Freisetungsverhaltens der VitE-Formulierung und der Vermutung, dass Rekristallisationsprozesse während des Abkühlvorganges nach

## Ergebnisse der Untersuchungen mit Danazol

Befüllung der Kapseln mit der Schmelze die Ursache dafür waren, stellt sich die Frage, ob möglicherweise eine schnellere Erstarrung der Hilfsstoffe durch die damit verbundene geringere Mobilität der Moleküle die Rekrystallisation des Wirkstoffes hemmen könnte. Beim o.g. Versuch kühlte, entsprechend dem bei EMD 57033 durchgeführten Herstellungsverfahren, die Formulierung langsam auf Raumtemperatur ab ("slowcooled"). Der Verdacht war daher, dass die Löslichkeit von Danazol in der unterkühlten Schmelze drastisch sinkt und es durch die hohe Beweglichkeit in der (noch) flüssigen Zubereitung rasch zur Rekrystallisation des Wirkstoffes kommt. Daher wurden in einem erneuten Versuch die mit der Schmelze gefüllten Kapseln sofort nach Befüllung bis zum vollständigen Erstarren in das Eisfach des Kühlschranks gestellt ("fastcooled"). Abb. 72 zeigt jedoch, dass die Abkühlrate von VitE keinen Einfluss auf das Freisetzungverhalten der Kapseln hat. Die beiden Kurven sind identisch.

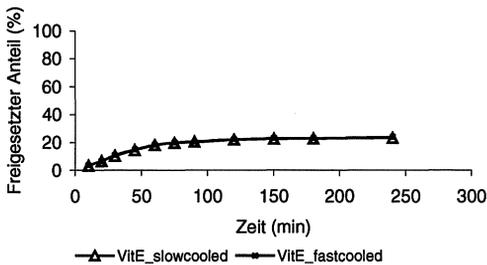


Abb. 72: Einfluss der Abkühlrate der VitE-Formulierung auf das Freisetzungverhalten in SGF<sup>+</sup>.

Da die VitE-Formulierung nicht den Erwartungen entsprach, wurde untersucht, ob mit dem Hilfsstoff Gélucaire 44/14 bessere Ergebnisse für Danazol erzielt werden können.

### 5.3.4 Voruntersuchungen mit dem Hilfsstoff Gélucire 44/14

#### 5.3.4.1 Gélucire 44/14

Zunächst wurde Danazol in reinem Gélucire 44/14, d.h. ohne Zusatz von Soluphor P bei etwa 80°C im Trockenschrank gelöst und in Hartkapseln gefüllt. Dass sich der Wirkstoff trotz seiner höheren Konzentration (Tabelle 29) ohne Zugabe eines Lösungsvermittlers komplett löste, deutete zunächst auf eine im Vergleich zu EMD 57033 bessere Löslichkeit in Gélucire 44/14 hin.

*Tabelle 29: Zusammensetzung der Formulierung.*

Technologie	Zusammensetzung	Menge (mg)	Konz. (mmol/g)	Volumen (µl), 80 °C
Flüssig	Danazol	50	0,16	900
gefüllte HK	Gélucire 44/14	890		

#### 5.3.4.2 Freisetzungsverhalten und Erstarrungsrate

Abb. 73 zeigt, dass das Freisetzungsverhalten von Danazol aus Gélucire 44/14 im Vergleich zu den Ergebnissen mit EMD 57033 nicht zufriedenstellend ist. Auch die Erstarrungsrate hat keinen nennenswerten Einfluss. Die Formulierung setzt nur annähernd 20 % Wirkstoff frei. Abb. 74 vergleicht die bei der Freisetzung der Gélucire 44/14-Formulierung erreichten Maximalkonzentration mit der Löslichkeit.

## Ergebnisse der Untersuchungen mit Danazol

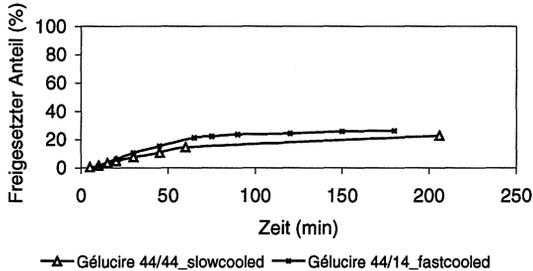


Abb. 73: Einfluss der Erstarrungsrate des Hilfsstoffes auf das Freisetzungsverhalten von Danazol (SGF<sup>+</sup>).

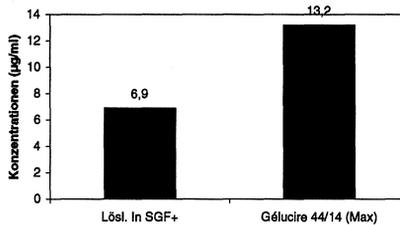


Abb. 74: Vergleich der bei der Freisetzung der Gélucire 44/14-Formulierung erreichten Maximalkonzentration mit der Löslichkeit.

### 5.3.4.3 Die Kombination von Gélucire 44/14 mit PEG 2000

Da die Abkühlrate in beiden Fällen keinen bemerkenswerten Einfluss auf die Freisetzung hatte (Abb. 73) bestand der Verdacht, dass evtl. die hohe Affinität zwischen Wirk- und Hilfsstoffen eine Auflösung der Formulierung und somit eine Liberation des lipophilen Danazols behindere (die der Beobachtung nach bessere Löslichkeit des Danazols in den Hilfsstoffen bei 80°C könnte darauf hindeuten). Der "Formling", der sich stets nach dem Erstarren in der Kapsel ausbildete, blieb nämlich, im Gegensatz zu den EMD 57033-Formulierungen, ohne sich aufzulösen, am Vesselboden liegen. Daher wurde zur Erhöhung der hydrophilen Anteile PEG 2000 in verschiedenen Anteilen dem Gélucire

## Ergebnisse der Untersuchungen mit Danazol

44/14 zugemischt. Abb. 75 zeigt jedoch, dass der hydrophile Zusatz die Freisetzung weiter verschlechtert: Je mehr hydrophiles PEG beigemischt wurde, desto schlechter war das Freisetzungsverhalten.

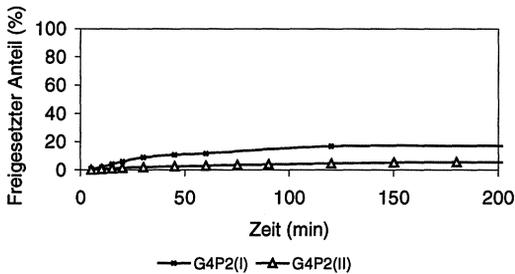


Abb. 75: Freisetzungsverhalten von Formulierungen aus Gélucire 44/14 und PEG 2000 (I: PEG-Anteil von 25% und II: PEG-Anteil von 50%).

### 5.3.4.4 Zusammenfassung der Voruntersuchungen mit Gélucire 44/14

Die Beobachtung, dass Danazol sich in der Hilfsstoffschmelze bei 80°C besser löste als EMD 57033, hatte zu der falschen Annahme geführt, dass auch bei Raumtemperatur die Löslichkeit von Danazol entsprechend höher sei. Der Verdacht, die schlechte Freisetzung des Danazols könne an einer zu hohen Wirkstoff-Hilfsstoff-Affinität liegen, konnte widerlegt werden. Auch mit einer höheren Erstarrungsrate der Hilfsstoffe konnte keine verbesserte Freisetzung erzielt werden.

### 5.3.5 Rezeptur aus Gélucire 44/14 und Soluphor P (Gélu<sup>+</sup>)

Da mit dem Lösungsvermittler Soluphor P schon mit EMD 57033 gute Ergebnisse erzielt werden konnte, lag es nahe, diesen Hilfsstoff zur Erhöhung der Löslichkeit in der Formulierung auch bei Danazol anzuwenden.

### 5.3.5.1 Zusammensetzung von Gélu<sup>+</sup>

Tabelle 30 zeigt die Zusammensetzung von Gélu<sup>+</sup> für Danazol. Auch hier ist die Wirkstoffkonzentration wegen des beschränkten Füllvolumens der Kapseln mit 0,16 mmol/g doppelt so hoch wie in der entsprechenden Rezeptur für EMD 57033 (vgl. Seite 67).

*Tabelle 30: Zusammensetzung von Gélu<sup>+</sup> für Danazol.*

Technologie	Zusammensetzung	Menge (mg)	Konz. (mmol/g)	Volumen (µl), 80°C
Flüssig gefüllte HK	Danazol	50	0,16	900
	SoluphorP	110		
	Gélucire 44/14	780		

### 5.3.5.2 Wirkstoffgehalt

Die Gélu<sup>+</sup>-Kapseln haben einen Durchschnittsgehalt von 50,13 mg  $\pm$ 1,5%.

### 5.3.5.3 Freisetzungsverhalten in unterschiedlichen Freisetzungsmedien

Abb. 76 und Abb. 77 zeigen, dass Soluphor P, wie erwartet, einen positiven Einfluss auf das Freisetzungsverhalten von Danazol hat. Eine 100%-ige Freisetzung konnte jedoch auch mit dieser Formulierung nicht erzielt werden. Zudem ist die Freisetzung stark von physiologischen Parametern (hier Gallensalzkonzentration) abhängig. Die Qualität dieser Rezeptur war daher nicht zufriedenstellend.

## Ergebnisse der Untersuchungen mit Danazol

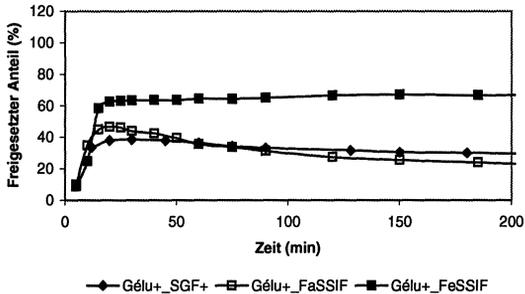


Abb. 76: Das Freisetzungverhalten aus der sulphor-P-haltigen Formulierung ist eindeutig verbessert.

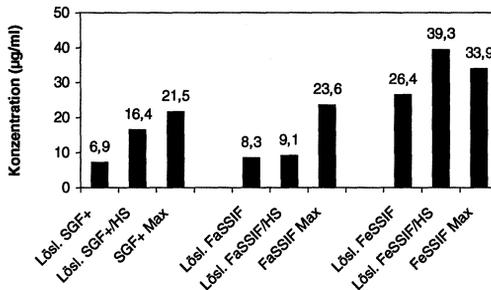


Abb. 77: Über der Löslichkeit liegende Maximalkonzentrationen nach Freisetzung der sulphor-P-haltigen Formulierung.

Es lag die Vermutung nahe, dass eine „Verdünnung“ des Danazols in der Formulierung Gélu<sup>+</sup> auf 0,08 mmol/g (entsprechend der Wirkstoffkonzentration in der EMD 57033-Formulierung) zu einer weiteren Verbesserung der Freisetzung führen würde.

### 5.3.6 Die Gélu<sup>+</sup>-Rezeptur mit halber Danazolkonzentration (2x25 mg)

Bei dieser Formulierung wurde wegen des erhöhten Hilfsstoffanteils die Dosis von 50 mg auf zwei Kapseln verteilt.

### 5.3.6.1 Zusammensetzung

Wie in Tabelle 31 zu erkennen ist, hat diese Formulierung mit 0,08 mmol/g die gleiche Wirkstoffkonzentration wie die entsprechende Formulierung mit EMD 57033.

*Tabelle 31: Zusammensetzung der Gélú<sup>+</sup> (2x25)-Formulierung.*

Technologie	Zusammensetzung	Menge (mg)	Konz. (mmol/g)	Volumen (µl), 80°C
Flüssig gefüllte HK	Danazol	25	0,08	900
	SolphorP	110		
	Gélucire 44/14	780		

### 5.3.6.2 Wirkstoffgehalt

Die Gélú<sup>+</sup> (2x25)-Kapseln haben einen Durchschnittsgehalt von 25,29 mg ± 1,65%. Es wurden pro Vessel zwei Kapseln freigesetzt (50 mg Danazol).

### 5.3.6.3 Freisetungsverhalten in SGF<sup>+</sup> (frisch und gelagert)

Abb. 78 und Abb. 79 zeigen, dass durch die reduzierte Wirkstoffkonzentration in der Formulierung annähernd 100% freigesetzt werden. Auch nach etwa dreimonatiger Lagerung hat sich das Freisetungsverhalten kaum verändert. Der Konzentrationsabfall nach etwa 90 Minuten ist sicher auf die höheren Wirkstoffkonzentration im Freisetzungsmedium im Vergleich zu den Untersuchungen mit EMD 57033-Dosis von 30 mg in gleichem Volumen zurückzuführen. Der Quotient aus Wirkstoffkonzentration nach Freisetzung und Löslichkeit beträgt nämlich im Falle von EMD 57033 in SGF<sup>+</sup> **4,27** (30mg/900ml / 7,8 µg/ml), während er im Falle von Danazol **8,05** beträgt (50 mg/900ml / 6,9 µg/ml).

Die Hilfsstoff-Mizellen können Danazol nicht über den gesamten Freisetungszeitraum von drei Stunden solubilisiert halten; es kommt zur Rekrystallisation. Zudem deutet der vergleichsweise hohe Schmelzpunkt von Danazol (225°C) ohnehin auf ein stärkeres Rekrystallisationsbestreben hin und möglicherweise kommt zu der im Vergleich zu EMD 57033 erhöhten Wirkstoffkonzentration eine geringere Toleranz der Übersättigung.

## Ergebnisse der Untersuchungen mit Danazol

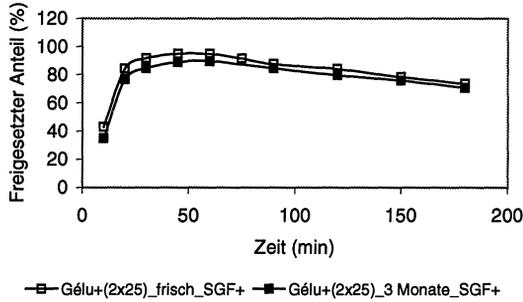


Abb. 78: Freisetzungverhalten der Gélu<sup>+</sup> (2x25)-Formulierung mit Danazol.

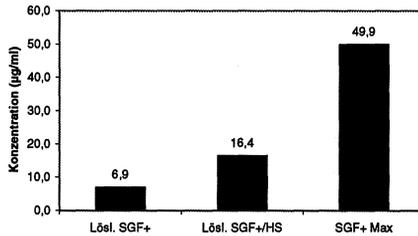


Abb. 79: Vergleich der Löslichkeiten mit den maximal erreichten Konzentrationen nach Freisetzung der Gélu<sup>+</sup> (2x25)-Kapseln.

### 5.3.6.4 Vergleich der Konzentrationsverläufe zwischen Gélu<sup>+</sup> (50 mg) und Gélu<sup>+</sup> (2x25 mg)

Interessant erschien an dieser Stelle der Versuch, *eine* Kapsel der Gélu<sup>+</sup> (2x25)-Formulierung (25 mg) freizusetzen und mit der Gélu<sup>+</sup>-Formulierung (50 mg) zu vergleichen (Abb. 80).

## Ergebnisse der Untersuchungen mit Danazol

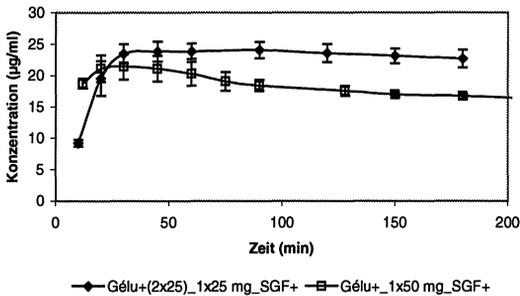


Abb. 80: Konzentrationsverläufe bei Freisetzung einer Gélu<sup>+</sup>-Kapsel (50 mg) und einer Gélu<sup>+</sup> (2x25)-Kapsel (25 mg).

Abb. 80 zeigt, dass mit einer Dosis von 25 mg höhere Konzentrationen erreicht werden können als mit einer Dosis von 50 mg. Offenbar kommt es in der höher konzentrierten Formulierung durch die hohe Dichte an Wirkstoffmolekülen rasch zur Bildung von Keimkristallen, so dass der Anteil an gelösten Wirkstoffmolekülen in dieser Formulierung unter den der „verdünnten“ Formulierung sinkt. Zudem zeigt der Verlauf der Kurve von Gélu<sup>+</sup> (2x25), dass der relativ höhere Hilfsstoffanteil die Stabilität der nach der Freisetzung übersättigten Lösung erhöht und die Freisetzungskurve ein Plateau bildet, während es bei der 50 mg-Dosierung zu einem Rekristallisationsprozess kommt. Diese Untersuchung zeigt, dass bei Verwendung lipidartiger Hilfsstoffe das Hilfsstoff-Wirkstoff-Verhältnis die Bioverfügbarkeit stark beeinflussen kann.

### 5.3.7 Die flüssige Zubereitung für Danazol: LaSoPe

Da aus der Gesamtheit aller bis zu dieser Stelle gemachten Untersuchungen hervorging, dass die Löslichkeit des Wirkstoffes für eine gute Langzeitstabilität auf keinen Fall überschritten werden darf, sollte untersucht werden, ob der Wirkstoff in einigen flüssigen eine bessere Löslichkeit als in den verwendeten halbfesten Hilfsstoffen besitzt.

Flüssige Zubereitungen können in Weichkapseln gefüllt werden. Für den Labormaßstab gibt es von der Firma Scherer vorgefertigte Weichkapseln, deren Spitze aufgeschnitten und nach der Befüllung mit einer erhitzten Pinzette wieder verschlossen werden kann.

Vorteile flüssiger Zubereitungen sind zum Einen deren vereinfachte Entwicklung, da die Löslichkeit des Wirkstoffes in flüssigen gegenüber halbfesten Hilfsstoffen verhältnismäßig leicht zu bestimmen bzw. abzuschätzen ist. Zum anderen entfällt bei der Freisetzung der Schritt des AuflöSENS der hydrophilen Hilfsstoffe; eine erhöhte FreisetzungsrATE ist daher zu erwarten.

#### 5.3.7.1 Das Pouton-Schema

Das im Jahr 2000 von Pouton veröffentlichte Schema zur Herstellung lipidartiger Formulierungen ist im Vergleich zu dem SEDDS-Schema sehr viel flexibler und ermöglicht daher eine weit größere Vielfalt an Hilfsstoffkombinationen. Die Basisbestandteile sind nach Pouton eine ölige Phase, ein Tensid und hydrophile Cosolventien, wie zum Beispiel flüssige PEG's.

Tabelle 32 lässt erkennen, dass, anders als bei der SEDDS-Theorie, keiner der Bestandteile enthalten sein *muss*, sondern entsprechend den **Wirkstoffeigenschaften** eingesetzt wird. Somit umfasst die Tabelle sämtliche Formulierungen für ein sehr breites Wirkungsspektrum (extrem lipophil bis extrem hydrophil).

Tabelle 32: Zusammensetzung lipidartiger Formulierungen nach POUTON.

Hilfsstoffe (%)	Typ 1	Typ 2	Typ 3	
			A	B
Öl (MG, DG, TG)	100	40-80	40-80	<20
Tenside	-	20-60 (HLB<12)	20-40 (HLB>11)	20-50 (HLB>11)
Hydrophile Cosolventien	-	-	0-40	50-100
Nach Dispersion in Wasser	>>>>>>>>Abnahme der Partikelgröße >>>>>>>>			
	>>>>>>>>Abnahme der Lösungskapazität>>>>>>>>			
Verdauungsprozesse	Unbedingt nötig! TG>>DG>> MG	Bedingt nötig!	Nicht nötig! Evtl. gehemmt.	Nicht nötig! Findet nicht statt.

Typ 1 und Typ 2 sind nach Pouton für extrem lipophile Substanzen mit sehr hohen logP-Werten ( $\log P > 4$ ) geeignet. Sie liegen in der lipophilen Komponente gelöst vor und bei der Bildung einer Emulsion nach Verdauung der Triglyzeride zu tensidartigen Mono- und Diglyzeriden durch Lipasen (Typ1) bzw. nach Kontakt mit der GI-Flüssigkeit (Typ 2) bleiben sie weiterhin in den **dispergierten** Fetttröpfchen gelöst. Die Gefahr von Rekristallisationsprozessen ist gering.

Bei Typ 3a und Typ 3b ist der Wirkstoff in eher hydrophilen Hilfsstoffen gelöst. Bei Kontakt mit wässrigen Medien kommt es zu einer **Verdünnung** der Formulierung, da die Affinität der Hilfsstoffe zum Wasser größer ist als zum Wirkstoff. Hier droht die Gefahr der Rekristallisation des Wirkstoffes. Nach Pouton eignen sich Typ 3a und 3b für Wirkstoffe mit einem mittleren logP von 2-4.

### 5.3.7.2 Entwicklung und Zusammensetzung der flüssigen Zubereitung

Tabelle 33 enthält die an Danazol untersuchten, nach steigender Hydrophilie geordneten flüssigen Hilfsstoffe.

## Ergebnisse der Untersuchungen mit Danazol

**Tabelle 33: Beschreibung der untersuchten flüssigen Hilfsstoffe.**

Hilfsstoff	Monographie	Hydrophilie	Beschreibung
Miglyol 829	Caprylic-Capric-Diglycerylsuccinate	k.A.	Glycerinester (C8/C10), verknüpft mit Bernsteinsäure
Peceol	Mono- und Diglyceride (Food chem. Codex)	HLB = 3	Glyceryl-Monooleat; Öl; Lebensmittelzusatzstoff
Lauroglycol FCC	Propyleneglycol – mono- and diesters (Food chem. Codex)	HLB = 4	Propylenglyzerollaurat (amphiphiles Öl zur Lösungsvermittlung)
Labrafil M 1944 CS	Macrogol-Glycerol-Oleate (Ph. Eur.)	HLB = 4	amphiphiles Öl zur Lösungsvermittlung
Plurol oléique CC 497	Polyglycerol Esters of Fatty acids (Food chem. Codex)	HLB = 6	Lebensmittelzusatzstoff (Cosurfactant/Öl)
Softigen 767	PEG-6-Caprylic/Capric-Glycerides	Gut wasserlös.	Gut verträglicher Glycerinester
Cremophor EL	Macrogol-Glycerol-Ricinoleat	Gut wasserlös.	PEG-Glycerinester
Labrasol	Macrogol-glycerol-caprylcaprinate (Ph. Eur.)	HLB = 14	PEG-Capryl-Caprinsäure-glyceride (als Surfactant)

Bei den in die Auswahl genommenen flüssigen Hilfsstoffen handelte es sich in erster Linie um Gemische von Mono- und Diestern aus Glycerin bzw. Polyethylenglykolen und Fettsäuren unterschiedlicher Kettenlänge (C8/C10 bis C16/C18). Untereinander unterscheiden sie sich in ihrer Viskosität und in ihrer Hydrophilie, die sich durch den HLB-Wert ausdrückt. Das Spektrum der ausgewählten Hilfsstoffe reicht von sehr lipophilen Hilfsstoffen (HLB = 3) bis hin zu hydrophilen Hilfsstoffen (HLB = 14). Allen Stoffen gemeinsam war die amphiphile Struktur, die sie, wenn auch nicht löslich, zumindest in Wasser dispergierbar macht.

Es sollte eine Art „Screening“ durchgeführt werden, um möglichst rasch die für Danazol geeigneten Hilfsstoffe herauszufiltern. Ideal wäre natürlich die quantitative Bestimmung der Löslichkeit gewesen. Da aufgrund der hohen Viskosität der Hilfsstoffe zur Trennung von Bodensatz und Lösung weder Filtration noch Zentrifugation möglich war, musste

## Ergebnisse der Untersuchungen mit Danazol

visuell bzw. mikroskopisch geprüft werden. Die Hilfsstoffe wurden also **qualitativ** bewertet. Dazu wurde die Einzeldosis von 50 mg in eine klarsichtige HPLC-Vial (1,5 ml) eingewogen. Anschließend wurden 1,0 g flüssiger Hilfsstoff hinzugewogen. Das Vial wurde anschließend mit einem kleinen Rührfisch versehen und auf den Magnetrührer gestellt. Da nach einer Stunde noch immer ein Bodensatz vorhanden war, wurde bei etwas erhöhter Temperatur (40°C) im Trockenschrank weitergerührt. Durch diese schwache Temperaturerhöhung wurde der Lösevorgang beschleunigt und der Einfluss der Viskosität auf die Lösegeschwindigkeit verringert. Bei anschließender mikroskopischer Betrachtung der Kristalle nach Abkühlung auf Raumtemperatur konnte dann zwischen besseren und schlechteren Lösungsmitteln unterschieden werden: Da Danazol beim Rekristallisieren charakteristische Nadeln bildet, die Kristalle der Charge jedoch durch Zermahlen eher sphärisch und inhomogen sind, konnte beurteilt werden, ob Danazol, wenn auch nicht bei Raumtemperatur, so zumindest bei leichter Temperaturerhöhung in Lösung ging (besseres Lösungsmittel, dünne Nadeln; vgl. Abb. 82) oder selbst bei höherer Temperatur so gut wie ungelöst blieb (schlechte Lösungsmittel, eher sphärische Kristalle; vgl. Abb. 81).

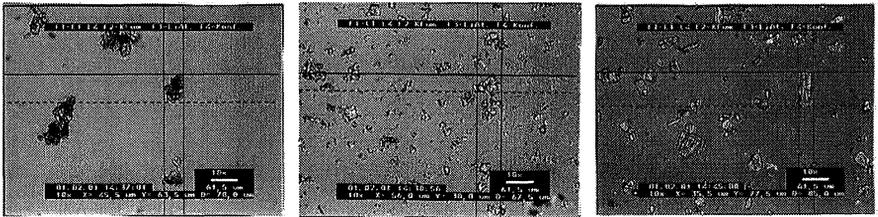


Abb. 81: Mikroskopische Aufnahme von Danazol in den lipophilen Hilfsstoffen Miglyol 829 (links), Peceol (Mitte) und Lauroglycol FCC (rechts).

## Ergebnisse der Untersuchungen mit Danazol

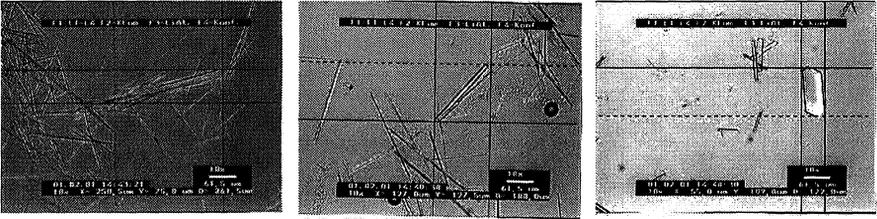


Abb. 82: Mikroskopische Aufnahme von Danazol in den hydrophilen Hilfsstoffen Labrasol (links), Softigen 767 (Mitte) und Cremophor EL (rechts).

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass sich Danazol trotz seiner Lipophilie ( $\log P$  4,5) tendenziell besser in hydrophilen, gut wasserlöslichen Hilfsstoffen löst. Nach Pouton scheint eine Formulierung vom Typ 3b (geringer oder kein Ölanteil, hydrophiler Surfactant und hoher Anteil hydrophiler Cosolventien) für diesen Wirkstoff am besten geeignet.

Nach einigen Mischversuchen fiel die Hilfsstoffwahl auf Labrasol, Softigen 767 und PEG 400. Da die Löslichkeit von Danazol auch in diesen flüssigen Hilfsstoffen nicht ausreichend war, um eine 50 mg-Kapsel herzustellen, wurden auch in diesem Fall 25 mg-Kapseln hergestellt, die bei der Freisetzung doppelt dosiert wurden (Tabelle 34).

Tabelle 34: Zusammensetzung der flüssigen Formulierung (LaSoPe).

Technologie	Zusammensetzung ng	Menge (mg)	Konz. (mmol/g)	Einwaage (mg)
Flüssig gefüllte Weichkapsel in	Danazol Labrasol Softigen 767 PEG 400	25 50 500 350	0,08	925 mg

### 5.3.7.3 Freisetzungsuntersuchungen

Abb. 83 zeigt das Freisetzungsverhalten der LaSoPe-Formulierung. In allen drei Freisetzungsmedien (SGF+, FaSSIF und FaSSIF) werden über 80% des Wirkstoffes freigesetzt. Wie schon in den Untersuchungen mit EMD 57033 festgestellt wurde, vermag das Medium FeSSIF den Wirkstoff offenbar am besten in seinen Mischmizellen zu solubilisieren, was deutlich an dem Plateau der Freisetzungskurve erkennbar ist.

## Ergebnisse der Untersuchungen mit Danazol

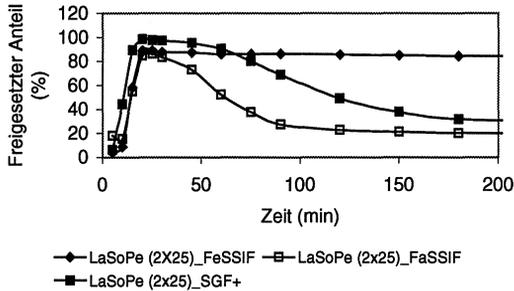


Abb. 83: Freisetungsverhalten der flüssigen Danazol-Zubereitung LaSoPe in unterschiedlichen Freisetzungsmedien.

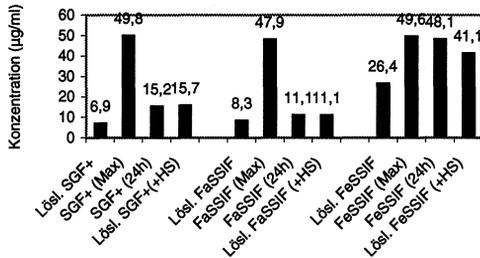


Abb. 84: Vergleich der nach der Freisetzung der flüssigen Danazol-Zubereitung LaSoPe erreichten Konzentrationen mit den Löslichkeiten von Danazol.

Abb. 84 zeigt die Gegenüberstellung der Konzentrationen bei Messung der Löslichkeit und nach Freisetzung der Kapsel. In allen Medien werden die höchsten Konzentrationen nach der Freisetzung aus der Kapsel erreicht. Interessant ist, dass der 24 h-Wert der Freisetzung ungefähr der Löslichkeit von Danazol in den mit den Hilfsstoffen versetzten Medien entspricht. Durch die, im Vergleich zu den EMD 57033-Versuchen mit 30 mg Wirkstoff, erhöhte Wirkstoffkonzentration im Freisetzungsmedium kommt es auch hier rascher zu Rekristallisationsprozessen.

### 5.3.8 Abschließender Vergleich der einzelnen Konzentrationsprofile

Abb. 85 zeigt den Konzentrationsverlauf bei Freisetzung *einer* 25 mg-Kapsel (LaSoPe) im Vergleich zu den Konzentrationsverläufen bei der Freisetzung von 50 mg-Kapseln (Gélu<sup>+</sup>, VitE), in denen der Wirkstoff nicht 100%-ig gelöst ist. Wie schon in **Abb. 80** gezeigt wurde, kann u.U. mit einer geringeren Dosierung durch das bessere Hilfsstoff-Wirkstoff-Verhältnis ein höheres Konzentrationsprofil erreicht werden als mit einer höheren Dosierung.

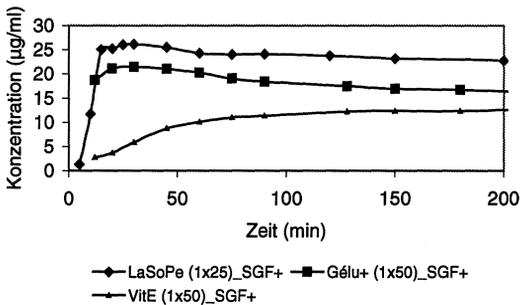


Abb. 85: Unterschiedliche Konzentrationsverläufe bei Freisetzung von 50 mg- bzw. 25 mg-Dosierungen mit verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen.

## 5.4 Zusammenfassung der Ergebnisse mit Danazol

Danazol wurde als zweite Modellsubstanz für diese Arbeit gewählt, da sie aufgrund ihrer physikochemischen Eigenschaften (**Smp = 221°C**; **LogP = 4,5**; neutral im physiologischen pH-Bereich) eine sinnvolle Ergänzung zu der zuerst untersuchten Substanz EMD 57033 war. Der höhere Schmelzpunkt und der höhere logP deuteten schon im Vorfeld auf eine ausgeprägtere Löslichkeitsproblematik hin, was zunächst mit der Löslichkeitsmessung von Danazol in Wasser (bei Raumtemperatur) auch bestätigt werden konnte: Danazol besitzt mit **0,25 µg/ml** nur ca. ein zehntel der Wasserlöslichkeit von EMD 57033.

Verstärkt wurde die Problemstellung weiterhin durch die Wahl einer **50 mg**-Dosierung, die wegen des beschränkten Füllvolumens einer Kapsel der Größe 00 eine im Vergleich zu den EMD 57033-Untersuchungen (30 mg) erhöhte Wirkstoffkonzentration in den Hilfsstoffen ergab.

Zunächst wurden die Hilfsstoffe untersucht, die bei den Untersuchungen mit EMD 57033 die besten Ergebnisse gebracht hatten: Dies waren **Gélucire 44/14** und **Vitamin E TPGS**. Es konnte gezeigt werden, dass die verhältnismäßig schlechte Freisetzung des Danazols aus diesen Hilfsstoffen mit der hohen Dosis und der damit **verbundenen hohen Wirkstoffkonzentration** in den Hilfsstoffen zusammenhing. Durch die starke Übersättigung kam es direkt nach Herstellung der Arzneiformen zur **Rekristallisation** des Wirkstoffes. Mit der Untersuchung einer „verdünnten“ Danazol-Formulierung (25 mg pro Kapsel) konnten die Ergebnisse des vorangegangenen Kapitels bestätigt werden, wonach bei komplett gelöstem Zustand des Wirkstoffes annähernd 100%-ige Freisetzungen erzielt werden können.

Die Freisetzungsuntersuchungen mit 50 mg Danazol pro Vessel zeigten außerdem, dass die verwendeten Hilfsstoffe den schwer löslichen Wirkstoff nur bis zu einer bestimmten Konzentration über einen längeren Zeitraum in Lösung halten können: So kam es bei der Freisetzung, außer in FeSSIF, innerhalb der ersten zwei Stunden zu einem drastischen Konzentrationsabfall, während die Freisetzungskurven bei der Freisetzung von 25 mg Danazol pro Vessel ein relativ stabiles Plateau erreichten.

Sehr aufschlussreich war die Entwicklung einer **flüssigen Zubereitung für Danazol**. So konnte dank der besseren Handhabung der flüssigen Hilfsstoffe (im Vergleich zu halbfesten Hilfsstoffen) eindeutig gezeigt werden, dass sich Danazol trotz seiner Lipophilie besser in hydrophilen Hilfsstoffen mit hohem HLB lösen lässt als in den lipophilen Hilfsstoffen mit niedrigem HLB. Bei Anwendung des **Klassifizierungssystems von**

**Pouton** lässt sich die für Danazol entwickelte Zubereitung dem **Typ 3b** zuordnen. Dieser Typ besteht dem Schema nach aus bis zu 100% aus hydrophilen Komponenten. Dies deutet darauf hin, dass das 3-Komponenten Modell SEDDS (aus Öl-Surfactant-Cosurfactant) für Danazol ungeeignet ist, da mindestens eine lipophile Komponente enthalten ist.

Der Verdacht, dass flüssige Hilfsstoffe Danazol besser als halb feste Hilfsstoffe zu lösen vermögen, bestätigte sich, zumindest mit den in dieser Arbeit untersuchten Hilfsstoffen, nicht. So konnte auch in diesem Fall „nur“ eine 25 mg-Kapsel hergestellt werden, in der der Wirkstoff komplett gelöst war. Im Vergleich zu älteren Danazolstudien, bei denen beispielsweise die Bioverfügbarkeit durch Herstellung einer 0,33%igen Danazol-Emulsion verbessert werden konnte (Charman 1993<sup>2</sup>), ist die o.g. Formulierung (2,7% w/w Danazol) mit annähernd 10-facher Danazolkonzentration jedoch beachtlich.

Zusammenfassend lassen sich folgende Hinweise zur Entwicklung geeigneter Formulierungen aus den Untersuchungen mit Danazol ableiten:

Flüssige Hilfsstoffe sind von ihrer Handhabbarkeit wesentlich einfacher als halb feste Hilfsstoffe und somit, zumindest für erste Voruntersuchungen zur Hilfsstoffwahl, besser geeignet.

Der Wirkstoff sollte zu 100% in der Formulierung löslich sein.

Das Verhältnis Hilfsstoff : Wirkstoff sollte für eine gute Langzeitstabilität so hoch wie möglich sein.

Nach Verdünnung sollten die Hilfsstoffe eine mizellare Lösung bilden, um ein Auskristallisieren des Wirkstoffes zu verhindern.

Es zeigte sich, dass die geeigneten Hilfsstoffe oft weit hydrophiler als der Wirkstoff sind. Die Regel „similis similibus solvuntur“ erwies sich als ungeeignet bei der Hilfsstoffsuche.

## Ergebnisse der Untersuchungen mit Danazol

## 6 Diskussion

Ursprünglich wurden die beiden Wirkstoffe **EMD 57033** und **Danazol** in dieser Arbeit als Modellsubstanzen gewählt, da die Annahme bestand, durch ihre unterschiedlichen physikochemischen Daten einen **relativ breiten Bereich** an Charakteristika abzudecken. So wurde von Danazol mit einem logP von 4,5 eine weit höhere Lipophilie erwartet als von EMD 57033 mit einem logP von 2,7. Auch durch den um knapp 60°C höheren Schmelzpunkt des Danazols (225°C) wurde eine wesentlich ausgeprägtere Problematik als für EMD 57033 erwartet. Für jede der beiden Substanzen sollte ein passendes **Rezepturschema** entwickelt werden. Bei genauer Betrachtung der Ergebnisse wird jedoch deutlich, dass wesentliche Unterschiede im Freisetzungsverhalten der beiden Arzneistoffe einzig in der unterschiedlichen Dosierung begründet sind. So waren die bei den ersten Formulierungsversuchen mit Danazol in einer Einzeldosis von 50 mg gemachten schlechten Ergebnisse eindeutig auf die (dosisbedingte) doppelte Wirkstoffkonzentration in der Formulierung zurückzuführen. Mit einer Konzentrationsangleichung an die Formulierungsversuche von EMD 57033 konnte ein vergleichbar gutes Freisetzungsverhalten erzielt werden. Grob gesehen stimmt diese Erfahrung mit dem **Pouton-Schema** überein. Pouton projiziert in seinem Klassifizierungssystem für lipidartige Formulierungen **verschiedene Arzneistofftypen**, [Arzneistoffe extremer Lipophilie (logP >> 4) bzw. Arzneistoffe mittlerer Lipophilie (logP ca. 2-4)] auf **verschiedene Rezepturtypen** (Typ 1-3b). So sollen Arzneistoffe mit einem logP von 2-4, also mittlerer Lipophilie, in den Rezepturtypen mit verhältnismäßig hohem hydrophilen Anteil formuliert werden (Typen 3a und 3b), während die lipophilen Arzneistoffe mit einem logP>4 in den lipophilen Rezepturtypen von Typ 1 und Typ 2 verarbeitet werden sollten. Nach den Ergebnissen befindet sich Danazol genau in dem Grenzbereich und gehört offenbar, wie **EMD 57033**, der Arzneistoffgruppe mit **mittlerer Lipophilie** an.

Gerade dies macht die Problematik derartiger Substanzen aus: Trotz ihrer im Vergleich zu gut wasserlöslichen Substanzen erhöhten Lipophilie, lassen sie sich nicht in öligen Lösungsmitteln lösen.

Die wichtigsten Erfahrungen dieser Arbeit lassen sich für beide Substanzen zusammenfassend wie folgt darstellen:

*Der Wirkstoff muss in der Formulierung komplett gelöst sein.*

Die Tatsache, dass sich das Freisetzungsverhalten aller, mit Ausnahme der lösungsvermittlerhaltigen, Formulierungen bei Lagerung verschlechtert hat, zeigt, dass die Löslichkeiten der Wirkstoffe in den Formulierungen bei Raumtemperatur überschritten waren und der Wirkstoff darin auskristallisierte. Anhand der Untersuchungen mit Danazol konnte der Einfluss der Dosis auf die Eignung lipidartiger Formulierungen demonstriert werden. Je höher die Wirkstoffkonzentrationen in der Formulierung, desto schneller rekristallisiert der Wirkstoff bei Übersättigung und desto schlechter setzt die Formulierung den Wirkstoff frei.

*Die Theorie von Fedors ist für die Berechnung von Löslichkeiten ungeeignet.*

Der Vergleich der nach der Fedors-Theorie berechneten Kohäsionsparametern verschiedener Wirk- und Hilfsstoffe mit den Löslichkeiten der Wirkstoffe in den Hilfsstoffen ergab keine Übereinstimmung. Die Methode eignet sich daher nicht zur qualitativen Vorhersage von Löslichkeiten.

*Das Modell der SEDDS ist eher ungeeignet für Arzneistoffe mit  $\log P$  2-4.*

Die Untersuchung des Lösungsverhaltens von Danazol in flüssigen Hilfsstoffen führte wider den Erwartungen zu der Erkenntnis, dass diese Substanz sich trotz ihrer Lipophilie tendenziell sehr viel besser in hydrophilen Hilfsstoffen (hoher HLB) als in lipophilen Hilfsstoffen (mit niedrigem HLB) zu lösen vermochte. Die Herstellung eines SEDDS ist jedoch nur dann sinnvoll, wenn der Wirkstoff in der Ölphase gelöst ist und nach der Freisetzung aus der Formulierung in den dispergierten Fetttröpfchen gelöst bleibt. Zudem hat die Verwendung lipophiler Hilfsstoffe in halbfesten Formulierungen den Nachteil, dass es durch das langsame Auflösen der Hilfsstoffe zur Rekristallisation des Wirkstoffes an der Oberfläche der Matrix kommen kann, was die weitere Disintegration der Formulierung hemmt.

*Das Pouton-Modell eignet sich für die Anwendung an Wirkstoffen mittlerer Lipophilie .*

Der Lipophilie-Bereich der Substanzen, die sich nach dem Schema von Pouton für Formulierungen des Typ 3 eignen ( $\log P$  2-4), lässt sich evtl. erweitern, da sich Danazol ( $\log P=4,53$ ) gut in den Typ 3-Formulierungen zu lösen vermochte.

*Geeignete Formulierungen verhalten sich in allen Freisetzungsmethoden gleich.*

Der Vergleich einer lipidartigen Formulierung in den physiologisch relevanten Medien SGF<sup>+</sup>, FaSSIF und FeSSIF gegen eine Standardrezeptur zeigt ihre „Robustheit“: Im Idealfall zeigt die lipidartige Formulierung in allen Medien das gleiche Freisetzungsprofil. Dies deutet auf ihre Eigenschaft hin, physiologisch bedingte Einflüsse auf die Bioverfügbarkeit zu reduzieren. Es besteht der Verdacht, dass die Bildung einer Mizellenlösung nach Verdünnung der Arzneiform von großer Bedeutung für die „Robustheit“ der Arzneiform ist.

Zur reinen Diskriminierung der einzelnen Formulierungen *untereinander* ist jedoch (bei neutralen Substanzen) das Medium Wasser ausreichend. (Anmerkung: In dieser Arbeit war aus Gründen der Einheitlichkeit als diskriminierendes Medium SGF<sup>+</sup> verwendet worden, welches das Medium der anfänglichen Freisetzungsforschungen war).

*Lipidartige Hilfsstoffe eignen sich bei geringen Wirkstoffvorräten.*

In der Regel stehen während früher Entwicklungsstadien einer Substanz nur sehr geringe Mengen zur Verfügung. Der Substanzverbrauch muss daher bei jedem Versuch so klein wie möglich gehalten werden. In Vorversuchen erwiesen sich HPLC-Vials, die mit kleinen Rührfischen versehen wurden, als ideal, um Einzeldosierungen herzustellen. Das Verhalten einer Substanz kann auf diese Weise ohne großen Substanzverlust in zahlreichen Formulierungen untersucht werden. Auch die volumetrische Dosierung der lipidartigen Formulierungen mittels Dispenser hatte den Vorteil äußerst geringer Standardabweichungen.

Das folgende Schema (Abb. 86) fasst die in dieser Arbeit gemachten Erfahrungen zusammen, um es künftig einfacher zu machen, zielgerichtet die Eignung lipidartiger Formulierungen für eine (Entwicklungs-) Substanz zu untersuchen.

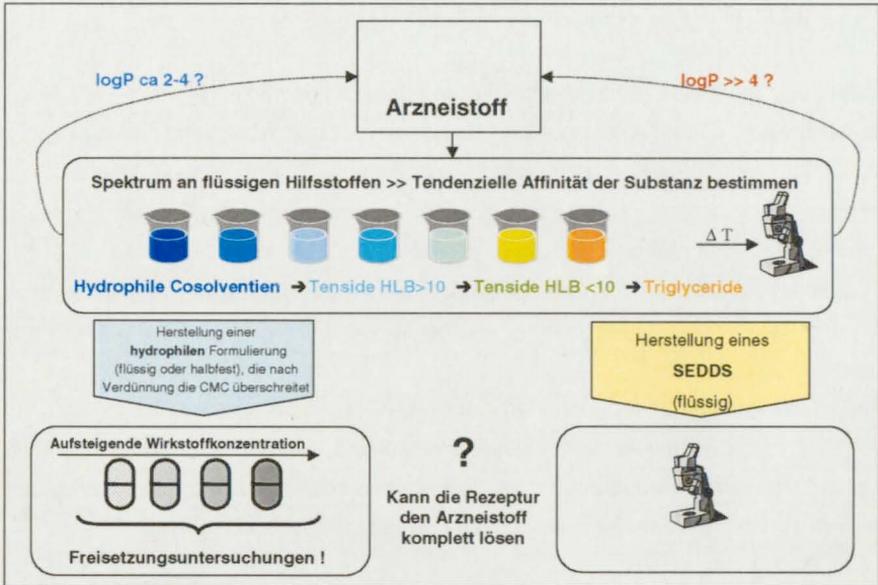


Abb. 86: Schema zur Entwicklung einer geeigneten Rezeptur.

Auf der **ersten Stufe** wird zunächst anhand einer groben Auswahl flüssiger Hilfsstoffe mit unterschiedlicher Hydrophilie untersucht, in welchen Bereichen der Arzneistoff tendenziell besser löslich ist. In der Praxis kann dies insbesondere bei sehr geringen Wirkstoffmengen durch Einwaage einer Einzeldosis des Wirkstoffes in ein klarsichtiges HPLC-Vial (1,5 ml) geschehen. Der Substanz wird jeweils die gleiche Menge an Hilfsstoff (1 g entspricht in etwa dem Kapselinhalt einer gefüllten Kapsel der Größe 00) hinzugewogen. Mit kleinen Rührfischen (ca. 7 mm Länge) ist es möglich, parallel in allen Vials konstant zu rühren. Rein visuell lässt sich dann bereits prüfen, ob sich idealerweise ein Hilfsstoff unter den Proben befindet, der eine komplette Einzeldosis im gegebenen Wirkstoff-Hilfsstoffverhältnis zu lösen vermag. Sind aber in allen Proben noch Kristalle vorhanden, so sollten die Proben leicht auf etwa 40°C erwärmt werden. Auf diese Weise lassen sich Lösungsprozesse einerseits durch die erhöhte Löslichkeit, aber auch durch Verringerung der temperaturabhängigen Viskosität beschleunigen. Nun sollten sich visuell bereits

deutliche Unterschiede in den einzelnen Proben erkennen lassen, die sich nach Abkühlung auf Raumtemperatur durch mikroskopische Untersuchungen verdeutlichen: Selbst wenn es durch die Abkühlung sofort wieder zu Rekristallisationsprozessen gekommen sein sollte, so lässt sich zumindest anhand der Kristallformen erkennen, ob sich die Substanz gelöst hatte (regelmäßige Kristalle, tendenziell bessere Lösungsmittel) oder ob sich die Substanz auch durch leichte Erwärmung der Mischung praktisch nicht gelöst hat (sehr unregelmäßige Formen entsprechend der in der Regel vermahlenden Ausgangssubstanz).

Für Substanzen mit einem  $\log P$  2-4 (gemäßigter Bereich) ist ein besseres Lösungsverhalten in den hydrophilen Hilfsstoffen zu erwarten, während sich Substanzen mit einem  $\log P$  von weit über 4 eventuell besser in den lipophilen Hilfsstoffen mit geringen HLB-Werten oder gar in reinen Triglyceriden lösen lassen. Hier sei darauf hingewiesen, dass bei Wirkstoffen, deren  $\log P$  im Grenzbereich liegt, Abweichungen dieser Regel möglich sind.

In der **zweiten Stufe** geht es dann darum, einige Hilfsstoffkombinationen zu testen. Hier spalten sich in Abhängigkeit der Löslichkeitstendenzen der Arzneistoffe die Wege:

Für die Substanzen der **logP-Klasse 2-4** werden eher hydrophile Hilfsstoffe getestet. Hier eignen sich sowohl **flüssige als auch halbfeste** Hilfsstoffe, da sie sich in Wasser rasch lösen und so den Wirkstoff schnell freigeben. Insbesondere bei der Verwendung **halbfester** Hilfsstoffe ist empfehlenswert, die Formulierung in aufsteigender Wirkstoffkonzentration (z.B. 1%, 2%, 5 % und 10%) herzustellen und direkt nach dem Erstarren bei Raumtemperatur das Freisetzungsverhalten zu untersuchen. Hierfür scheint das Medium Wasser ausreichend. Auf diese Weise lässt sich zumindest grob die Löslichkeit des Wirkstoffes bei Raumtemperatur abschätzen. Zudem sollte hier die Temperaturstabilität des Arzneistoffes berücksichtigt werden. Zeigen sich Instabilitäten bei Erwärmung, muss eine flüssige Formulierung entwickelt werden. Da die Herstellung einer **flüssigen** Formulierung bei Raumtemperatur erfolgt, lässt sich der gelöste Zustand der Substanz in diesem Fall mikroskopisch ermitteln.

Wenn für eine Substanz mit einem **logP**  $\gg 4$  in der ersten Stufe eine relativ gute Löslichkeit in lipophilen Hilfsstoffen bemerkt worden war, lohnt sich sicher der Versuch ein SEDDS herzustellen. Die Hilfsstoffe sollten in diesem Fall jedoch **flüssig** sein, um während der Auflösung der Arzneiform eine rasche Verteilung in der GI-Flüssigkeit zu erzielen und so das Risiko einer Rekristallisation des Wirkstoffes zu reduzieren. Bei lipophilen Hilfsstoffen besteht erfahrungsgemäß die Gefahr, das bei langsamer Auflösung

der Hilfsstoffe der Wirkstoff an der Oberfläche kristallisiert und einen „Kristallmantel“ bildet, der ein weiteres Auflösen hemmt.

Dieses Schema bewertet die Eignung lipidartiger Hilfsstoffe für schwer lösliche Arzneistoffe allerdings lediglich aus der Perspektive der Löslichkeitsproblematik. Sicher sind jedoch noch einige andere Aspekte zu beachten, die insbesondere die Frage nach der **Technologie** betreffen. So sollte in jedem Fall zunächst untersucht werden, ob möglicherweise eine Oberflächenvergrößerung durch Vermahlung ausreicht, um eine beschleunigte Auflösung des Arzneistoffes zu erreichen. Vermutlich greift diese Maßnahme besonders bei Substanzen, deren schlechte Wasserlöslichkeit in erster Linie auf der Lipophilie ( $\log P$ ) beruht und bei denen das Dosis-Löslichkeitsvolumen maximal 500-1000 ml beträgt, deren Schmelzpunkte jedoch verhältnismäßig niedrig sind. Als weiterer wichtiger Punkt ist die chemische Stabilität mit einzubeziehen. So eignen sich Substanzen mit einer geringen thermischen Stabilität mit Sicherheit nicht zur Verarbeitung in halbfesten Hilfsstoffen, während bei leicht oxidierbaren Substanzen die Verarbeitung in Weichkapseln aufgrund erhöhter Gaspermeabilität zu vermeiden sind. Sicher stellt sich auch die Frage nach den Produktionskosten. Ein Vorteil flüssig gefüllter Hartkapseln ist, dass die Produktion in den meisten Betrieben „in house“ erfolgen kann. Für hochwertige neue Arzneistoffe spielen Produktionskosten üblicherweise eine untergeordnete Rolle, hier liegt der Vorteil der internen Entwicklung eher in der sicheren Geheimhaltung. Neben diesen Punkten sind sicher auch Marketingaspekte, die Arzneiform und Art der Anwendung betreffen, mit einzubeziehen. Beispielsweise lässt sich durch die Entwicklung eines Sprüherstarrungsproduktes eventuell die Herstellung einer Tablette ermöglichen, in der der Wirkstoff gelöst ist. Aber auch die Abgabe des sprüherstarrten Pulvers in Beuteln, welches der Patient vor der Einnahme in Wasser dispergiert, ist denkbar.

Grosse Beachtung ist in jedem Fall der **Dosis** zu schenken. Wie anhand des Beispiels Danazol gezeigt werden konnte, hat sie einen bedeutenden Einfluss auf die Eignung lipidartiger Formulierungen. Dank der hohen Dichte der Hilfsstoffe, lassen sich in einer Kapsel sehr **geringe Wirkstoffkonzentrationen** verarbeiten, übersteigt diese jedoch dosisbedingt die Löslichkeit der Substanz in den Hilfsstoffen, so sind derartige Technologien ungeeignet. Da jedoch gerade bei schwer löslichen Arzneistoffen wegen geringer Bioverfügbarkeit hohe Dosen angesetzt werden, sollte idealerweise die pharmazeutische Technologie sehr früh in die Entwicklungsprozesse, wie z.B. Dosisfindung, mit einbezogen werden. Das Beispiel Danazol hat gezeigt, dass man bei

## Diskussion

Verwendung lipidartiger Hilfsstoffe mit einer geringeren Dosis ein höheres Konzentrationsprofil erzielen kann.

## Zusammenfassung und Ausblick

## 7 Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Arbeit wurde anhand der zwei schwerwasserlöslichen **Modells-substanzen EMD 57033** und **Danazol** untersucht, inwieweit sich (schwerpunktmäßig halb feste) **lipidartige Hilfsstoffe** zur Verbesserung der Wirkstofffreigabe aus der Arzneiform eignen, um dadurch eine im Vergleich mit einer Standardrezeptur erhöhte Bioverfügbarkeit zu erhalten.

Um aus der Vielfalt auf dem Markt befindlicher Hilfsstoffe mit teilweise komplexer Zusammensetzung zielgerichtet die Hilfsstoffe zu finden, die den Wirkstoff zu **lösen** vermögen, wurden, da sich Löslichkeiten in diesen Hilfsstoffen meist nicht direkt durch die Schüttelmethode bestimmen lassen, alternative Methoden untersucht: Die **Berechnung von Kohäsionsparametern** nach der Theorie von Fedors, die anhand herkömmlicher Lösungsmittel getestet wurde, erwies sich als ungeeignet, da die berechneten Werte nicht mit den gemessenen Löslichkeiten korrelierten. Auch der Versuch, Löslichkeiten in halbfesten Hilfsstoffen mittels der **DSC-Methode** zu bestimmen, schlug fehl, da die Hilfsstoffe, die während der Messung weit vor dem Wirkstoff schmelzen, diesen nachlösen und so das Ergebnis verfälschen.

Da also eine zielsichere Auswahl der Hilfsstoffe nicht möglich war, wurde auf die eher grobe, im Zusammenhang mit der Löslichkeitsproblematik oft beschriebene Theorie der **SEDDS** (bestehend aus einer lipophilen Öl-, einer hydrophilen Tensid- und einer lipophilen Cotensidkomponente) zurückgegriffen. Ob sie sich im Einzelfall eignen, musste empirisch ermittelt werden. Mit den auf dieser Basis gewählten Rezepturen wurden **flüssig gefüllte Hartkapseln** und **Sprüherstarrungsprodukte** für **EMD 57033** hergestellt und ihr Freisetzungverhalten in vitro untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die Hilfsstoffe für eine optimale Wirkstofffreigabe den Wirkstoff komplett **gelöst** enthalten und **gut wasserlöslich** sein müssen. Desweiteren wurde durch CMC-Bestimmungen festgestellt, dass die verwendeten Hilfsstoffe bei der Auflösung der Kapsel **Mizellen** bilden, in denen der Wirkstoff eingeschlossen zu sein scheint. Dies verhindert vermutlich eine rasche Rekristallisation des Wirkstoffes im Freisetzungsmedium bzw GI-Trakt.

Die Verwendung **physiologisch relevanter Medien** (SGF<sup>+</sup>, FaSSIF und FeSSIF) für die Freisetzungsuntersuchungen ergab, dass sich die Qualität einer lipidartigen

Formulierung auch dadurch ausgezeichnet, dass sich die einzelnen Freisetzungskurven in den unterschiedlichen Medien kaum voneinander unterscheiden. Dies lässt eine Reduktion der Variabilität durch Nahrungseinflüsse (in vivo) vermuten und ist die Basis für eine gute In-vitro-In-vivo-Korrelation (Brockmeier, 1996). Zur Diskriminierung der einzelnen Formulierungen untereinander scheint dagegen (für neutrale Substanzen) die Verwendung von Wasser ausreichend.

Die Bestimmung von **Lagerstabilitäten** ergab, dass für die verwendete Dosis und die sich daraus für eine Kapsel der Größe OO ergebenden Hilfsstoffkonzentrationen (2,7–5,7%) nur in den soluphor-P-haltigen Rezepturen ein stabiles Freisetzungsverhalten über mindestens 18 Monate erreicht werden konnte.

Die **Bioverfügbarkeitsstudien** mit EMD 57033 in Beagles bewiesen, dass Freisetzungsuntersuchungen das In-vivo-Verhalten von schwer löslichen Substanzen sehr genau abbilden: Die gleiche „Rangordnung“ **dreier Formulierungen**, die aus In-vitro-Untersuchungen hervorging, ergab sich auch bei Auswertung der In-vivo-Studien.

Mit **Danazol** (50 mg) konnte anschließend mit der Rezeptur, die bei den Untersuchungen mit EMD 57033 (30 mg) bezüglich Freisetzungsverhalten, Lagerstabilität und Bioverfügbarkeit die besten Ergebnisse erzielte, eindeutig gezeigt werden, dass die **Grenzen** derartiger Formulierungen bezüglich der Wirkstoffdosierung eng sind: Der Wirkstoff muss in den Hilfsstoffen eine bei Raumtemperatur ausreichende Löslichkeit besitzen. Direkt nach der Herstellung übersättigte Lösungen gehen nach Lagerung vom metastabilen in einen stabilen Zustand über, es kommt zur Rekristallisation des Wirkstoffes. Nach Hancock (1995) kann molekulare Mobilität in pharmazeutischen Zubereitungen nur bei Lagertemperaturen, die mindestens 50°C unter den Glasübergangstemperaturen liegen, verhindert werden. Bei halbfesten Hilfsstoffen, deren Schmelzpunkte (ca. 40–80°C) nur knapp über der üblichen Lagertemperatur von 20°C liegen, ist daher eine ausreichende Löslichkeit des Arzneistoffes die Voraussetzung für eine stabile molekularisperse Verteilung in den Hilfsstoffen.

Bei der Entwicklung einer Weichkapsel für Danazol fiel auf, dass sich der als „lipophil“ bezeichnete Wirkstoff tendenziell sehr viel besser in hydrophilen als in lipophilen Hilfsstoffen zu lösen vermag.

Die **Eignung von SEDDS**, die mindestens eine lipophile Komponente enthalten, sei daher an dieser Stelle für Substanzen des **logP-Bereiches 2-4** in Frage gestellt. Wie sehr der Vorteil einer bestimmten Formulierung vom einzelnen Wirkstoff abhängt, bestätigen einige Beispiele aus der Vergangenheit : Die Untersuchungen von Lloyd et al (1999) ergaben, dass Wirkstoff-Hilfsstoffinteraktionen notwendig für eine verbesserte Wirkstofffreigabe sind, während Trapani et al (1999) das Gegenteil feststellten: Trotz fehlender Interaktion zwischen Wirkstoff und festen PEG´s konnte die Freisetzungsrates deutlich erhöht werden. Auch der Vergleich zwischen solubilisierenden und nicht-solubilisierenden Formulierungen ergab mit verschiedenen Modellschubstanzen sehr unterschiedliche Ergebnisse. Während die Freisetzung mit einer öligen Entwicklungsschubstanz aus der solubilisierenden Formulierung deutlich erhöht war (Serajuddin, 1988), ergab der Vergleich anhand einer anderen Schubstanz keine Unterschiede (Khoo, 2000). Diese Erfahrung macht die Notwendigkeit einer **generellen Beschreibung von Wirk- und Hilfsstoffen** durch charakteristische Kennziffern deutlich. In vielen Veröffentlichungen werden die verwendeten Modellschubstanzen lediglich als „schwer löslich“ bezeichnet, die Angabe des logP und Schmelzpunktes fehlen. Gerade bei Studien mit unbekanntem Entwicklungsschubstanzen verwehrt dieser Punkt dem Leser die Verwertbarkeit der Untersuchung.

Einen hilfreichen Schritt in dieser Problematik hat **Pouton** mit seinem im Jahr 2000 veröffentlichten **Klassifizierungssystem** lipidartiger Formulierungen getan: Er teilt sämtliche lipidartige Formulierungen in die Typen 1, 2, 3a und 3b ein, die das gesamte Spektrum von **reinen Ölen** über **tensidhaltige Mischungen** mit unterschiedlichen HLB-Werten bis hin zu reinen **hydrophilen Cosolventien** abdecken. Die lipophilen Typen 1 und 2 empfiehlt er für Wirkstoffe mit einem LogP >4, während er für Wirkstoffe mit einem LogP von 2 bis 4 die Typen 3 a und 3b vorsieht. Die Erfahrung mit Danazol hat gezeigt, dass möglicherweise der logP-Bereich der mittellipophilen Schubstanzen (bislang logP 2-4) auf logP 4,5 ausgebreitet werden sollte.

Der nächste Schritt wäre nun, um bei der Entwicklung der optimalen Formulierung für eine bestimmte Schubstanz das Maß der Empirik auf ein Minimum zu reduzieren, eine Methode zu entwickeln, die, ähnlich der physikochemischen Kennzeichnung

## Zusammenfassung und Ausblick

von Wirkstoffen, eine **Charakterisierung der Hilfsstoffe** möglich macht. Die Untersuchungen mit Danazol deuten an, dass der für amphiphile Hilfsstoffe genutzte HLB-Wert ein hilfreiches Charakteristikum ist. Interessant wäre es, zu untersuchen, ob man über die Bestimmung von  $\log P$ , Wasserlöslichkeit oder Löslichkeiten der Hilfsstoffe in anderen diskriminierenden Lösungsmitteln eine richtungsweisende Erstellung **von Kenndaten für lipidartige Hilfsstoffe** erhalten kann.

## Zusammenstellung der Rohdaten

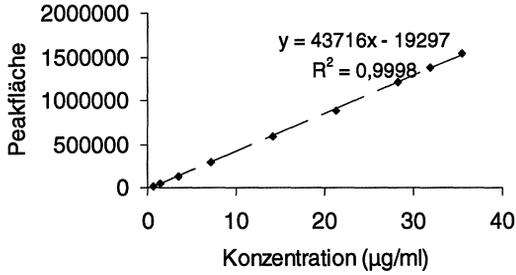


Abb. 87: HPLC-Eichgerade für EMD 57033.

Tabelle 35: Löslichkeit von EMD 57033 in SGF<sup>+</sup> (Konzentrationen in µg/ml).

	Löslichkeit	StAbw
4h	7,78	0,16
24h	7,68	0,14
48h	7,81	0,11

Tabelle 36: Löslichkeit von EMD 57033 in FaSSIF (Konzentrationen in µg/ml).

	Löslichkeit	StAbw
4h	6,64	1,13
24h	6,12	0,34
48h	6,4	0,11

## Zusammenstellung der Rohdaten

*Tabelle 37: Löslichkeit von EMD 57033 in FeSSIF (Konzentrationen in µg/ml).*

	Löslichkeit	StAbw
4h	12,88	0,95
24h	12,21	0,65
48h	12,82	0,27

*Tabelle 38: Löslichkeit von EMD 57033 in Texaponlösung 0,36% (Konzentrationen in µg/ml).*

	Löslichkeit	StAbw
4h	122,96	0,74
24h	122,93	0,78
48h	122,35	0,78

*Tabelle 39: Löslichkeit von EMD 57033 in Freisetzungsmethoden plus Hilfsstoffzusatz Gélu<sup>+</sup> (Konzentrationen in µg/ml).*

	Löslichkeit	StAbw
SGF+/Gélu+	13,55	0,55
FaSSIF/Gélu+	7,14	1,03
FeSSIF/Gélu+	14,64	1,68

## Zusammenstellung der Rohdaten

**Tabelle 40: Löslichkeit von EMD 57033 in Freisetzungsmedien plus Hilfsstoffzusatz VitE (Konzentrationen in µg/ml).**

	Löslichkeit	StAbw
SGF+/VitE	14,21	0,66
FaSSIF/VitE	7,46	0,73
FeSSIF/VitE	14,17	2,08

**Tabelle 41: Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel (EMD 57033, 30 mg) in SGF<sup>+</sup>**

<b>Zeit (min)</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>45</b>	<b>60</b>
Vessel 1 (µg/ml)	4,36	5,89	6,57	7,10	8,08
Vessel 2 (µg/ml)	3,95	5,65	6,36	6,86	7,80
Vessel 3 (µg/ml)	4,34	5,79	6,59	6,92	7,81
<i>Mittelwert</i>	<i>4,22</i>	<i>5,77</i>	<i>6,50</i>	<i>6,96</i>	<i>7,89</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>12,65</i>	<i>17,32</i>	<i>19,51</i>	<i>20,88</i>	<i>23,68</i>

<b>Zeit (min)</b>	<b>75</b>	<b>90</b>	<b>120</b>	<b>180</b>	<b>240</b>
Vessel 1 (µg/ml)	7,59	7,74	8,58	8,94	8,92
Vessel 2 (µg/ml)	7,38	7,37	8,37	8,56	8,52
Vessel 3 (µg/ml)	7,42	7,50	8,35	8,29	8,63
<i>Mittelwert</i>	<i>7,46</i>	<i>7,53</i>	<i>8,43</i>	<i>8,60</i>	<i>8,69</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>22,39</i>	<i>22,60</i>	<i>25,29</i>	<i>25,79</i>	<i>26,07</i>

Zusammenstellung der Rohdaten

Tabelle 42: Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel (EMD 57033, 30 mg) in FaSSiF

<b>Zeit (min)</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>45</b>	<b>60</b>
Vessel 1 (µg/ml)	2,967	4,749	4,866	5,066	5,343
Vessel 2 (µg/ml)	2,432	3,115	4,021	4,952	5,226
Vessel 3 (µg/ml)	2,568	4,368	4,325	4,689	4,962
<i>Mittelwert</i>	<i>2,656</i>	<i>4,077</i>	<i>4,404</i>	<i>4,902</i>	<i>5,177</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>9,49</i>	<i>14,56</i>	<i>15,73</i>	<i>17,51</i>	<i>18,49</i>

<b>Zeit (min)</b>	<b>75</b>	<b>90</b>	<b>120</b>	<b>180</b>	<b>240</b>
Vessel 1 (µg/ml)	5,307	5,440	5,448	5,441	5,483
Vessel 2 (µg/ml)	5,349	5,490	5,556	5,264	5,301
Vessel 3 (µg/ml)	5,318	5,358	5,621	5,667	5,564
<i>Mittelwert</i>	<i>5,325</i>	<i>5,429</i>	<i>5,542</i>	<i>5,457</i>	<i>5,449</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>19,02</i>	<i>19,39</i>	<i>19,79</i>	<i>19,49</i>	<i>19,46</i>

Zusammenstellung der Rohdaten

Tabelle 43: Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel (EMD 57033, 30 mg) in FeSSIF

<b>Zeit (min)</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>45</b>	<b>60</b>
Vessel 1 (µg/ml)	3,877	6,100	6,657	7,012	7,490
Vessel 2 (µg/ml)	4,312	7,324	7,532	7,695	7,921
Vessel 3 (µg/ml)	4,687	6,951	6,498	7,699	7,982
<i>Mittelwert</i>	<i>4,292</i>	<i>6,792</i>	<i>6,896</i>	<i>7,469</i>	<i>7,798</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>15,33</i>	<i>24,26</i>	<i>24,63</i>	<i>26,67</i>	<i>27,85</i>

<b>Zeit (min)</b>	<b>75</b>	<b>90</b>	<b>120</b>	<b>180</b>	<b>240</b>
Vessel 1 (µg/ml)	8,569	9,633	10,567	12,325	12,211
Vessel 2 (µg/ml)	9,315	9,543	10,043	11,564	11,631
Vessel 3 (µg/ml)	7,532	8,695	9,633	12,632	12,612
<i>Mittelwert</i>	<i>8,472</i>	<i>9,290</i>	<i>10,081</i>	<i>12,174</i>	<i>12,151</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>30,26</i>	<i>33,18</i>	<i>36,00</i>	<i>43,48</i>	<i>43,40</i>

Zusammenstellung der Rohdaten

Tabelle 44: Freisetzung einer Gélucapsel (EMD 57033) in SGF\*.

<b>Zeit (min)</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>40</b>	<b>50</b>
Vessel 1 (µg/ml)	3,33	10,06	18,97	24,77	25,40	26,04
Vessel 2 (µg/ml)	3,45	9,07	15,95	23,74	24,94	25,65
Vessel 3 (µg/ml)	3,48	9,40	17,12	22,82	23,77	25,61
<i>Mittelwert</i>	<i>3,42</i>	<i>9,51</i>	<i>17,35</i>	<i>23,78</i>	<i>24,70</i>	<i>25,76</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>12,21</i>	<i>33,97</i>	<i>61,95</i>	<i>84,92</i>	<i>88,23</i>	<i>92,01</i>

<b>Zeit (min)</b>	<b>60</b>	<b>75</b>	<b>90</b>	<b>120</b>	<b>150</b>	<b>180</b>	<b>240</b>
Vessel 1 (µg/ml)	26,30	26,09	25,95	26,89	26,94	26,13	25,90
Vessel 2 (µg/ml)	26,45	26,14	26,05	25,87	25,35	26,20	25,95
Vessel 3 (µg/ml)	25,80	26,73	26,84	26,02	26,29	25,99	25,71
<i>Mittelwert</i>	<i>26,18</i>	<i>26,32</i>	<i>26,28</i>	<i>26,26</i>	<i>26,19</i>	<i>26,11</i>	<i>25,85</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>93,51</i>	<i>94,01</i>	<i>93,85</i>	<i>93,79</i>	<i>93,54</i>	<i>93,24</i>	<i>92,33</i>

Zusammenstellung der Rohdaten

Tabelle 45: Freisetzung einer VitE-Kapsel (EMD 57033) in SGF<sup>+</sup>.

Zeit (min)	5	10	20	30	45	60
Vessel 1 (µg/ml)	0,43	1,76	6,94	12,11	14,38	18,38
Vessel 2 (µg/ml)	0,61	2,01	6,9	12,43	15,25	18,74
Vessel 3 (µg/ml)	0,81	2,19	7,49	12,05	15,99	19,09
Mittelwert	0,62	1,99	7,11	12,2	15,21	18,74
Freisetzung %	1,85	5,90	21,12	36,23	45,17	55,65

Zeit (min)	75	90	120	150	180	210	240
Vessel 1 (µg/ml)	20,6	22,46	24,8	27,71	28,33	28,68	30,37
Vessel 2 (µg/ml)	19,19	22,23	24,01	26,43	28,54	29,24	30,91
Vessel 3 (µg/ml)	21,02	23,02	25,03	27,31	28,87	29,6	31,3
Mittelwert	20,27	22,57	24,61	27,15	28,58	29,17	30,86
Freisetzung %	60,21	67,04	73,11	80,64	84,89	86,65	91,66

Tabelle 46: Löslichkeit von Danazol in SGF<sup>+</sup> (Konzentrationen in µg/ml).

	Löslichkeit	StAbw
4h	7,17	0,15
24h	6,78	0,11
48h	6,81	0,07

Tabelle 47: Löslichkeit von Danazol in FaSSIF (Konzentrationen in µg/ml).

Zusammenstellung der Rohdaten

	Löslichkeit	StAbw
4h	8,26	0,28
24h	8,61	0,56
48h	8,13	0,29

*Tabelle 48 Löslichkeit von Danazol in FeSSIF (Konzentrationen in µg/ml).*

	Löslichkeit	StAbw
4h	27,14	1,25
24h	26,28	0,57
48h	25,8	0,86

*Tabelle 49: Löslichkeit von Danazol in Freisetzungsmedien plus Hilfsstoffzusatz Gélu<sup>+</sup> (Konzentrationen in µg/ml).*

	Löslichkeit	StAbw
SGF+/Gélu+	16,4	0,09
FaSSIF/Gélu+	9,08	2,22
FeSSIF/Gélu+	39,25	2,97

*Tabelle 50: Löslichkeit von Danazol in Freisetzungsmedien plus Hilfsstoffzusatz VitE (Konzentrationen in µg/ml).*

	Löslichkeit	StAbw
SGF+/VitE	16,95	0,36
FaSSIF/VitE	12,13	0,36
FeSSIF/VitE	39,49	3,81

*Tabelle 51: Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel (Danazol, 50 mg) in SGF<sup>+</sup>*

Zusammenstellung der Rohdaten

<b>Zeit (min)</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>45</b>	<b>60</b>
Vessel 1 (µg/ml)	2,34	6,34	7,48	8,63	8,59
Vessel 2 (µg/ml)	1,98	4,44	6,23	7,94	7,98
Vessel 3 (µg/ml)	1,79	3,86	5,45	6,66	6,83
<i>Mittelwert</i>	<i>2,04</i>	<i>4,88</i>	<i>6,39</i>	<i>7,74</i>	<i>7,80</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>4,03</i>	<i>9,65</i>	<i>12,63</i>	<i>15,32</i>	<i>15,43</i>

<b>Zeit (min)</b>	<b>75</b>	<b>90</b>	<b>120</b>	<b>150</b>	<b>200</b>
Vessel 1 (µg/ml)	8,58	8,75	8,73	8,36	8,29
Vessel 2 (µg/ml)	8,05	8,13	8,41	8,32	8,17
Vessel 3 (µg/ml)	7,35	7,52	7,10	7,65	7,54
<i>Mittelwert</i>	<i>7,99</i>	<i>8,13</i>	<i>8,08</i>	<i>8,11</i>	<i>8,00</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>15,81</i>	<i>16,09</i>	<i>15,98</i>	<i>16,04</i>	<i>15,82</i>

Zusammenstellung der Rohdaten

Tabelle 52: Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel (Danazol, 50 mg) in FaSSiF.

<b>Zeit (min)</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>45</b>	<b>60</b>
Vessel 1 (µg/ml)	0,84	2,25	5,20	6,63	6,82
Vessel 2 (µg/ml)	0,98	2,43	5,49	7,01	7,01
Vessel 3 (µg/ml)	0,93	2,33	5,41	6,87	6,93
<i>Mittelwert</i>	<i>0,92</i>	<i>2,34</i>	<i>5,37</i>	<i>6,84</i>	<i>6,92</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>1,65</i>	<i>4,21</i>	<i>9,66</i>	<i>12,31</i>	<i>12,46</i>

<b>Zeit (min)</b>	<b>75</b>	<b>90</b>	<b>120</b>	<b>150</b>	<b>200</b>	<b>240</b>
Vessel 1 (µg/ml)	7,21	7,84	8,01	7,94	8,47	8,77
Vessel 2 (µg/ml)	7,51	8,43	8,24	8,31	8,49	8,72
Vessel 3 (µg/ml)	7,11	8,20	8,15	8,19	8,43	8,73
<i>Mittelwert</i>	<i>7,28</i>	<i>8,16</i>	<i>8,13</i>	<i>8,15</i>	<i>8,46</i>	<i>8,74</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>13,10</i>	<i>14,68</i>	<i>14,64</i>	<i>14,66</i>	<i>15,23</i>	<i>15,73</i>

Zusammenstellung der Rohdaten

*Tabelle 53: Freisetzung einer Laktose-Standardkapsel (Danazol, 50 mg) in FeSSIF.*

<b>Zeit (min)</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>45</b>	<b>60</b>	<b>75</b>
Vessel 1 (µg/ml)	2,54	9,14	13,01	15,20	16,89	20,00
Vessel 2 (µg/ml)	2,80	9,39	12,32	16,42	18,39	19,93
Vessel 3 (µg/ml)	2,64	9,29	12,69	15,85	17,68	19,99
<i>Mittelwert</i>	<i>2,66</i>	<i>9,27</i>	<i>12,67</i>	<i>15,82</i>	<i>17,65</i>	<i>19,97</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>4,79</i>	<i>16,69</i>	<i>22,81</i>	<i>28,48</i>	<i>31,78</i>	<i>35,95</i>

<b>Zeit (min)</b>	<b>90</b>	<b>120</b>	<b>150</b>	<b>180</b>	<b>240</b>
Vessel 1 (µg/ml)	20,94	21,63	23,08	24,07	24,22
Vessel 2 (µg/ml)	21,97	22,76	23,34	23,97	23,90
Vessel 3 (µg/ml)	21,50	22,21	23,22	23,99	23,95
<i>Mittelwert</i>	<i>21,47</i>	<i>22,20</i>	<i>23,21</i>	<i>24,01</i>	<i>24,02</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>38,65</i>	<i>39,96</i>	<i>41,78</i>	<i>43,22</i>	<i>43,24</i>

*Tabelle 54: Freisetzung einer Gélu+-Kapsel (Danazol) in SGF\*.*

<b>Zeit (min)</b>	<b>12</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>45</b>	<b>60</b>	<b>75</b>
Vessel 1 (µg/ml)	18,10	19,69	19,50	18,77	18,21	17,44
Vessel 2 (µg/ml)	18,53	20,11	21,22	22,01	21,91	19,42
Vessel 3 (µg/ml)	19,62	23,57	23,67	22,51	20,77	20,34
<i>Mittelwert</i>	<i>18,75</i>	<i>21,12</i>	<i>21,46</i>	<i>21,10</i>	<i>20,30</i>	<i>19,07</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>33,75</i>	<i>38,02</i>	<i>38,63</i>	<i>37,97</i>	<i>36,53</i>	<i>34,32</i>

## Zusammenstellung der Rohdaten

<b>Zeit (min)</b>	<b>90</b>	<b>128</b>	<b>150</b>	<b>180</b>	<b>240</b>	<b>300</b>
Vessel 1 (µg/ml)	17,55	16,64	16,54	16,24	15,55	14,98
Vessel 2 (µg/ml)	18,33	17,87	17,11	16,93	16,05	15,14
Vessel 3 (µg/ml)	19,36	18,09	17,27	16,97	16,48	15,43
<i>Mittelwert</i>	<i>18,41</i>	<i>17,53</i>	<i>16,97</i>	<i>16,71</i>	<i>16,03</i>	<i>15,18</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>33,14</i>	<i>31,56</i>	<i>30,55</i>	<i>30,08</i>	<i>28,85</i>	<i>27,33</i>

*Tabelle 55: Freisetzung einer VitE-Kapsel (Danazol) in SGF<sup>+</sup>.*

<b>Zeit (min)</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>45</b>	<b>60</b>
Vessel 1 (µg/ml)	4,41	4,25	6,40	8,84	10,13
Vessel 2 (µg/ml)	2,21	3,84	5,43	8,75	10,15
Vessel 3 (µg/ml)	1,68	3,08	5,86	8,69	10,00
<i>Mittelwert</i>	<i>2,77</i>	<i>3,72</i>	<i>5,90</i>	<i>8,76</i>	<i>10,09</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>4,98</i>	<i>6,70</i>	<i>10,61</i>	<i>15,77</i>	<i>18,17</i>

<b>Zeit (min)</b>	<b>75</b>	<b>90</b>	<b>130</b>	<b>150</b>	<b>180</b>	<b>240</b>	<b>300</b>
Vessel 1 (µg/ml)	11,17	11,48	12,66	12,88	12,46	13,49	13,92
Vessel 2 (µg/ml)	11,03	11,77	12,01	12,15	12,34	12,91	13,44
Vessel 3 (µg/ml)	10,86	10,84	12,02	12,05	12,24	12,84	13,18
<i>Mittelwert</i>	<i>11,02</i>	<i>11,36</i>	<i>12,23</i>	<i>12,36</i>	<i>12,35</i>	<i>13,08</i>	<i>13,51</i>
<i>Freisetzung %</i>	<i>19,84</i>	<i>20,45</i>	<i>22,01</i>	<i>22,25</i>	<i>22,22</i>	<i>23,54</i>	<i>24,32</i>

## Literaturverzeichnis

- Abrams L.S., Weintraub H.S., Patrick J.E., McGuire J.L.** (1978). Comparative bioavailability of a lipophilic steroid. *J. Pharm. Sci.*, 67, 1287-1290.
- Ainaoui A., Ouriemchi E.M., Bidah D., El Amrani M.K., Vergnaud J.M.** (1997). Process of drug release with oral dosage forms with a lipidic Gélucire matrix. *J. Polymer Eng.*, 17 (3), 245-255.
- Alvarez-Nunez F.A., Yalkowsky S.H.** (2000). Relationship between Polysorbate 80 solubilization descriptors and octanol-water partition coefficients of drugs. *Int. J. Pharm.*, 200, 217-222.
- Amidon G.L., Lennernäs H., Shah V.P and Crison J.R.** (1995). A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: The correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm. Research*, 12, 413-420.
- Armstrong N.A., James K.C., Plugh W.K.L.** (1984). Liquid filled and sealed hard gelatin capsules. *J. Pharm. Pharmacol.*, 36, 361-365.
- Baum, R.M.** (1994). Combinatorial approaches provide fresh leads for medicinal chemistry. *Chem. Eng. News*, 7.2.1994, 20-26.
- Betageri G.V., Markala K.R.** (1995). Enhancement of dissolutions of glyburide by solid dispersion and lyophilization techniques. *Int. J. Pharm.*, 126, 155-160.
- Bowtle W.J.** (1998). Liquid filling of hard gelatin capsules: A new Technology for alternative formulations *Pharm. Techn. Europe*, Oktober 98, 84-90.
- Brockmeier D.** The Correlation of in Vitro and in Vivo Drug Dissolution. 281-305.
- Broer J.** (1978). The filling of liquids into hard gelatine capsules. *Verpackungs-Rundschau*, 28, 707-709.
- Brown S., Rowley G., Pearson J.T.** (1998). Surface treatment of the hydrophobic drug danazol to improve drug dissolution. *Int. J. Pharm.*, 165, 227-237.
- Cadé D., Cole E.T., Mayer J-Ph., Wittwer F.** (1987). Liquid filled and sealed hard gelatin capsules. *Acta Pharm. Technol.*, 33 (2), 97-100.
- Charman S.A., Charman W.N., Rogge M.C., Wilson T.D., Dutko F.J., Pouton C.W.** (1992). Self-Emulsifying Drug Delivery Systems: Formulation and Biopharmaceutical Evaluation of an Investigational Lipophilic Compound. *Pharm. Research*, 9 (1), 87-93.
- Charman W.N.** (2000). Lipids, Lipophilic drugs, and oral drug delivery - some emerging concepts. *J. Pharm. Sci.*, 89, 967-978.

- Charman W.N., Porter C.J.H., Mithani S., Dressman J.B.** (1997). Physicochemical and physiological mechanisms for the effects of food on drug absorption: The effect of lipids and pH. *J. Pharm. Sci.*, 86, 169-282.
- Charman<sup>1</sup> W.N., Rogge M.C., Boddy A.W., Barr W.H., Berger B.M.** (1993). Absorption of Danazol after administration to different sites of the gastrointestinal Tract and the relationship to single and double peak- phenomena in the plasma profiles. *J. Clin. Pharmacol.*, 33, 1207-1213.
- Charman<sup>2</sup> W.N., Rogge M.C., Boddy A.W., Barr W.H., Berger B.M.** (1993). Effect of Food and a Monoglyceride Emulsion Formulation on Danazol Bioavailability. *J. Clin. Pharmacol.*, 33, 381-386.
- Chutimaworapan S., Ritthidej G.C., Yonemochi E., Ogichi T., Yamamoto K.** (2000). Effect of Water-soluble Carriers on dissolution characteristics of nifedipine solid dispersions. *Drug Dev. Ind.Pharm.*, 26 (11), 1141-1150.
- Cole E.T** (1999). *Bull. Techn.*, 92, 67-77.
- Cole E.T.** (1989). Liquid filled hard gelatin capsules. *Pharm. Technol.Int*, Sept/Okt,
- Crowley K.J., Forbes R.T., York P., Nyqvist H., Camber O.** (1999). Oleate Salt formation and mesomorphic behaviour in the Propranolol/oleic acid binary system. *J. Pharm. Sci.*, 88 (6), 586-591.
- Cuine A.** (1978). Mise en gelules de solutions viqueuses de Principes actifs. *Labo-Pharma Probl. Tech.*, 274, 222-227.
- Cutler D.J., Beyssac E., Aiache J.-M.** (1997). Level B and C in vivo/in vitro correlations: statistical considerations. *Int. J. Pharm.* 158, 185-193.
- Dickinson P.A., Seville P.C., McHale H., Perkins N.C., Taylor G.** (2000). An investigation of the solubility of various compounds in the hydrofluoroalkane propellants and possible model liquid propellants. *J Aerosol. Med.Dep Clear.Eff.in the Lung*, 13 (3), 179-186.
- Diebold S.M., Dressman J.B.** (1998). Entgasung und Wiedersättigung von wässrigen Medien für Lösungsgeschwindigkeitstests. *Pharm. Ind.*, 60 (4), 354-359.
- Diebold S.M., Dressman J.B.** (2001). Hydrodynamik kompendialer Lösungsgeschwindigkeits-Testapparaturen. *Pharm. Ind.*, 63, 94-104.
- Dintaman J.M., Silverman J.A.** (1999). Inhibition of P-Glycoprotein by D-alpha Tocopheryl Polyethylene Glycol-1000-succinate (TPGS). *Pharm. Research*, 16 (109), 1550-1555.

- Dittgen M., Fricke S., Gerecke H., Osterwald H.** (1995). Hot spin mixing: a new technology to manufacture solid dispersion – part 3: progesterone. *Die Pharmazie*, 50, 225-226.
- Doelker C.** (1986). The incorporation and in vitro release profile of liquid. Deliquescent or unstable drugs with fusible excipients in hard gelatin capsules. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 12 (10), 1553-1565.
- Dordunoo S.K., Ford J.-L., Rubinstein M.H.** (1996). Solidification studies of polyethylene glycols, gelucire 44/14 or their dispersions with triamterene or temazepam. *J. Pharm. Pharmacol.*, 48 (8), 782-789.
- Dressman J.B., Mithani, V. Bakatselou, C.N. TenHoor** (1996). Estimation of the increase in Solubility of drugs as a function of bile salt concentration. *Pharm. Research*, 13, 163-167.
- Dressman J.B., Butler J., Hempenstall J., Reppas C.** (2001). The BCS: Where do we go from here? *Pharm. Tech.*, 25 (7), 68-76.
- Dressman J.B., Hörter D.** (1997). Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Adv. Drug Del. Rev.*, 25, 3-14.
- Dressman J.B., Lennernäs H.** (2000). Oral Drug Absorption (Prediction and Assessment). *Oral drug absorption Marcel Dekker Inc NY/Basel*, Chapter 10, 155-181.
- Dressman J.B., Reppas C.** (2000). In vitro-in vivo correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 11 Suppl 2, 73-80.
- Dressman, J.B., Leuner C.** (2000). Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 50, 47-60.
- Dürr M., Fribolin H.U., Gneuss K.D.** (1983). Entwicklung von Rezepturen und Verfahren zur Abfüllung von flüssigen Massen in Hardgelatine kapseln unter Produktionsbedingungen. *Acta Pharm. Technol.*, 29 (3), 245-251.
- Eastman Chemical Company, Kingsport U.S.A.** (1996). *Fimeninformation*, Publication EFC-226, [www.eastman.com](http://www.eastman.com)
- Elamin A.A., Ahlneck C., Alderborn G., Nyström C.** (1994). Increased metastable solubility of milled griseofulvin, depending on the formation of a disordered surface structure. *Int. J. Pharm.*, 111, 159-170.
- Erlich L.A., Yu Danny, Pallister D.A., Levinson R.S., Gole D.G., Wilkinson P.A., Erlich R.E., Reeve L.E., Viegas T.X.** (1999). Relative Bioavailability of Danazol in Dogs from liquid-filled Hard Gelatin Capsules. *Int. J. Pharm.*, 179, 49-53.

- FachInfo** (2001). Fachinformationsverzeichnis Deutschland, CD-Version Ausgabe 2001/3, „Danazol-ratiopharm“ Seite 3.
- Fahelbom K.M.S., Timoney R.F., Corrigan O.I.** (1993). Micellar solubilization of clofazimine analogues in aqueous solutions of ionic and nonionic surfactants. *Pharm. Research*, 10, 631-634.
- Fedors R.F.** (1974). *Polymer Engin. Sci.*, 14, 147-154.
- Fiedler** (1996). *Fiedler Lexikon* 1996, 4. Auflage, 1303.
- Fleischer D., Li C., Zhou Y., Pao I.H., Karim A.** (1999). Drug, meal and formulation interactions influencing drug absorption after oral administration. *Clin. Pharmacokin.*, 36, 233-254.
- Ford J.L., Rubinstein M.M.** (1979). The assay and stability of chlorpropramide in solid dispersion with urea. *J. Pharm. Pharmacol.*, 31, 726.
- Fujii M., Hori N., Shiozawa K., Wakabayashi K., Kawahara E., Matsumoto M.** (2000). Effect of fatty acid esters on permeation of ketoprofen through hairless rat skin. *Int. J. Pharm.*, 205, 117-125.
- Galia E., Nicolaidis E., Hoerter D., Lobenberg R., Reppas C., Dressman J.B.** (1998). Evaluation of Various Dissolution Media for Predicting In vivo Performance of Class I and Class II Drugs. *Pharm. Research*, 15 (5), 698-705.
- Gattefossé** (1999). *Firmeninformation*, PF 96327, 1-15.
- Giunot S., Leveiller F.** (1999). The use of MTDSC to access the amorphous phase content of a micronised drug substance. *Int. J. Pharm.*, 192, 63-75.
- Goldberg A.H., Gibaldi M., Kanig J.L. (1966). *J. Pharm. Sci.*, 55, 482-487.
- Habib M.J., Phan M.T., Owusu-Ababio G.** (1998). Dissolution Profiles of Flurbiprofen in Phospholipid Solid Dispersions. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 24 (11), 1077-1082.
- Hancock B.C., Shamblin S.L., Zografi G.** (1995). Molecular mobility of amorphous pharmaceutical solids below their glass transition temperatures. *Pharm. Research*, 12 (6), 799-806.
- Hargrove J.T., Maxyson W.S., Wentz A.C.** (1989). Absorption of oral progesterone influenced by vehicle and particle size. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 161, 948-951.
- Hauss D.J., Fogal S.E., Ficorilli J.V., Price C.A., Roy T., Jayarj A.A., Keirns J.J.** (1998). Lipid-based delivery systems for improving the bioavailability and lymphatic transport of a poorly water-soluble LTB4 inhibitor. *J. Pharm. Sci.*, 87 (2), 164-169.
- Hom F.S., Veresh S.A., Ebert W.R.** (1975). Soft gelatin capsules II: Oxygen permeability study of capsule shells. *J. Pharm. Sci.*, 64 (5), 851-857.

- Jachowicz R., Nürnberg E., Pieszczyk B., Kluczykowska B., Maciejewska A.** (2000). Solid dispersion of ketoprofen in pellets. *Int. J. Pharm.*, 206, 13-21.
- Javaid K.A., Fincher J.H., Hartman C.W.** (1971). Timed-release tablets employing lipase-lipid-sulfamethizole systems prepared by spray congealing. *J. Pharm. Sci.*, 60 (11), 1709-1712.
- Jenning V, Thünemann A.F., Gohla S.H.** (2000). Characterization of a novel solid lipid nanoparticle carrier system based on binary mixtures of liquid and solid lipids. *Int. J. Pharm.*, 199, 167-177.
- Jones M.-C., Leroux J.-C.** (1999). Polymeric micelles - a new generation of colloidal drug carriers. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 48, 101-111.
- Jonkman-Devries J.D., Flora K.P., Bult A., Beijnen J.H.** (1996). Pharmaceutical Development of (investigational) Anticancer Agents for parenteral Use- A review. *Drug Dev. Ind.Pharm.*, 22(6), 475-494.
- Junginger H.** (1976). Untersuchungen über Sprüheinbettungen von schwer wasserlöslichen Arzneistoffen in Polymere (1. Mitteilung). *Pharm. Ind.*, 38, 461.
- Junginger H.** (1977). Untersuchungen über Sprüheinbettungen von schwer wasserlöslichen Arzneistoffen in Polymere (2. Mitteilung). *Pharm. Ind.*, 39, 383.
- Junginger H.** (1977). Untersuchungen über Sprüheinbettungen von schwer wasserlöslichen Arzneistoffen in Polymere (3. Mitteilung). *Pharm. Ind.*, 39, 498.
- Kassem A.A., Zaki S.A., Mursi N.M., Tayel S.A.** (1979). Chloramphenicol solid dispersion system I. *Pharm. Ind.*, 41, 390-393.
- Khoo S.-M., Humberstone A.J., Porter J.H., Edwards G-A., Charman W.N.** (1998). Formulation design and bioavailability assessment of lipidic self-emulsifying formulations of halofantrine. *Int. J. Pharm.*, 167, 155-164.
- Khoo S.-M., Porter J.H., Charman W.N.** (2000). The formulation of Halofantrine as either non-solubilizing PEG 6000 or solubilizing lipid based solid dispersions: Physical stability and absolute bioavailability assessment. *Int. J. Pharm.*, 205, 65-78.
- Kim H.-J., Yoon K.A., Hahn M., Park E.-S., Chi S.-C.** (2000). Preparation and In Vitro Evaluation of Self-Microemulsifying Drug Delivery Systems Containing Idebenone. *Drug Dev. Ind.Pharm.*, 26 (5), 523-529.
- Kim J.Y., Ku Y.S.** (2000). Enhanced absorption of indomethacin after oral or rectal administration of a self- emulsifying system containing indomethacin to rats. *Int. J. Pharm.*, 194, 81-89.

- Kondo N., Iawo T., Hirai K., Fukuda M., Yamanouchi K., Yokoyama K., Miyaji M., Ishihara Y., Kon K, Ogawa Y., Mayumi T. (1994). Improved oral absorption of enteric coprecipitates of a poorly soluble drug. *J. Pharm. Sci.*, 83, 566-570.
- Kopcha M., Lordi N.G., Tojo K.J.** (1991). Evaluation of release from selected thermosoftening vehicles. *J. Pharm. Pharmacol.*, 43 (6), 382-387.
- Kovarik J.M., Müller E.A., Van Bree J.B., Tetzloff W., Kutz K.** (1994). Reduced inter- and intra-individual variability in cyclosporin pharmacokinetics from a microemulsion formulation. *J. Pharm. Sci.*, 83, 444-446.
- Krämer J.** IVVC: A Perspective from the workbench. 307-323.
- Krasavage, W.J., Terhaar, C.J.** (1977). d-alpha-Tocopheryl poly(ethylene glycol) 1000 succinate. Acute toxicity, subchronic feeding, reproduction, and teratologic studies in the rat. *Agriculture and Food Chemistry*, 25 (2), 273-278.
- Kreuter J.** (1983). *Solid Dispersion and Solid Solution*. Elsevier Sci. Pub. B.V., 359-370.
- Kubiny, H.** (1995). Strategies and recent technologies in drug discovery. *Die Pharmazie*, 50, 647-662.
- Kurz T.** (1992). Dissertation (Braunschweig),
- Law S.L., Lo W.Y., Lin F.M., Chang C.H.** (1992). Dissolution and absorption of nifedipine in poly(ethylene glycol) solid dispersion containing phosphatidylcholine. *Int. J. Pharm.*, 84, 161-166.
- List P.H., Thron T.** (1978). *Pharm. Ind.*, 40 (3), 253-256.
- Liversidge G.G., Cundy K.C.** (1995). Particle size reduction for improvement of oral bioavailability of hydrophobic drugs: I Absolute oral bioavailability of nanocrystalline danazol in beagle dogs. *Int. J. Pharm.*, 125, 91-97.
- Lloyd G.R., Craig D.Q.M., Smithe A.** (1999). A calorimetric investigation into the interaction between paracetamol and polyethylene glycol 4000 in physical mixes and solid dispersions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 48, 59-65.
- Loftsson T, Brewster M.E.** (1996). Pharmaceutical application of cyclodextrins. 1. Drug solubilisation and stabilization (review). *J. Pharm. Sci.*, 85, 1017-1025.
- Maggi L., Machiste E.O., Torre M.L., Conte U.** (1999). Formulation of biphasic release tablets containing slightly soluble drugs. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 48, 37-42.
- Malcolmson C., Satra C., Kantaria S., Sidhu A., Lawrence J.** (1997). Effect of oil on the level of solubilisation of testosterone propionate into Nonionic oil-in water microemulsions. *J. Pharm. Sci.*, 87 (1), 109-116.

- Margarit M.V., Rodriguez I.C., Cereso A.** (1994). Physical characteristics and dissolution kinetics of solid dispersions of ketoprofen and polyethylene glycol 6000. *Int. J. Pharm.*, 108, 101-107.
- Martin A., Wu P.L., Beerbow A.** (1984). Expanded solubility parameter approach. II: p-hydroxybenzoic acid and methyl p-hydroxybenzoate in individual solvents. *J. Pharm. Sci.*, 73 (2), 188-194.
- März J.** Firmeninterner Vortrag 2000,
- McTaggart C.** (1983). The evaluation of an automatic system for filling liquids into hard gelatin capsules. *J. Pharm. Pharmacol.*, 36, 119-121.
- Merkle H.P.** (1980). Bildung und Charakterisierung übersättigter Lösungen aus Einbettungen von Arzneistoffen in Polyvinylpyrrolidon (1. Teil). *Pharm. Ind.*, 42, 1009.
- Merkle<sup>1</sup> H.P.** (1981). Bildung und Charakterisierung übersättigter Lösungen aus Einbettungen von Arzneistoffen in Polyvinylpyrrolidon (2. Teil). *Pharm. Ind.*, 43, 183.
- Merkle<sup>2</sup> H.P.** (1981). *Acta Pharm. Technol.*, 27, 193.
- Meylan W.M.** (1996). The use of structure-activity relationships (SAR) in the High Production Chemical Program. *Environ. Toxicol. Chem.*, 15, 100-106.
- Meylan W.M., Howard P.H.** (2000). Estimating log P with atom/fragments and water solubility with log P. *Persp. In Drug Discovery and Design*, 19 (1), 67-84.
- Miralles M.J., McGinity J.W., Martin A.** (1982). Combined watersoluble carriers for coprecipitates of tolbutamide. *J. Pharm. Sci.*, 71, 302.
- Morris K.R., Knipp G.T., Serrajuddin A.T.M.** (1992). Structural properties of poly(ethylene glycol)-polysorbate 80 mixture, a solid dispersion vehicle. *J. Pharm. Sci.*, 81, 1185-1181.
- Müller E.A., Kovarik J.M., Van Bree J.B., Tetzloff W., Kutz K.** (1994). Influence of a fat-rich meal on the pharmacokinetics of a new oral formulation of cyclosporin in a crossover comparison with the market formulation. *Pharm. Research*, 11, 151-155.
- Mura P., Faucci M.T., Manderioli A., Bramanti G., Parrini P** (1999). Thermal behavior and dissolution properties of naproxen from binary and ternary solid dispersions. *Drug dev Ind Pharm*, 25, 257-264.
- Mursi N.M., Geneidi A.S., Kassem A.A** (1977). *Pharm. Ind.*, 39 (9), 918- 922.
- Myers R.A., Stella V.J.** (1992). Systemic bioavailability of penclomedine (NSC-338720) from oil-in-water emulsions administered intraduodenally to rats. *Int. J. Pharm.*, 78, 217-226.

- Nicolaides E., Galia E., Efthymiopoulos C., Dressman J.B., Reppas C.** (1999). Forecasting the in vivo performance of four low solubility drugs from their in vitro dissolution data. *Pharm. Research*, 16 (12), 1876-1882.
- Noyes A.A., Witney W.R.** (1897). The rate of solution of solid substances in their own solutions. *J.Am.Chem Soc.*, 19, 930-934.  
Ph. Eur.
- Pouton C.W.** (1997). Formulation of self-emulsifying systems. *Adv. Drug Del. Rev.*, 25, 47-58.
- Pouton C.W.** (2000). Lipid Formulations for oral administration of drugs: Non-emulsifying, self-emulsifying and self-microemulsifying drug delivery systems. *Eur. J. Pharm. Sci*, 11 Suppl. 2, 93-98.
- Pouton C.W.** (1999). Key issues when formulating hydrophobic drugs with lipids *Bull. Techn. Gattefossé*, 92, 41-50.
- Ratsimbazafy V., Bourret E., Duclos R., Brossard C.** (1999). Rheological behaviour of drug suspensions in Gélucire mixtures and proxyphylline release from matrix hard gelatin capsules. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 48, 247-252.
- Repta A.J.** (1981). *Techniques of solubilization of Drugs*, Marcel Dekker inc., ISBN 0-8247-1566-7, Kapitel 4.
- Robinson J., Gibaldi M., Weiner N. D., Kanig J. L.** (1964). Interaction of Low Molecular Weight Polyethylene Glycols with Sorbitol Solution. *J. Pharm. Sci.*, 53 (10), 1245-1247.
- Römpp Chemie Lexikon** (1995). Georg Thieme Verlag, 9. Auflage.
- Rouchotas C., Cassidy O.E., Rowley G.** (2000). Comparison of Surface Modification and solid dispersion techniques for drug dissolution. *Int. J. Pharm.*, 195, 1-6.
- Scherlund M., Malmsten M., Brodin A.** (1998). Stabilisation of a thermosetting emulsion system using ionic and nonionic surfactants *Int. J. Pharm.*, 1743, 103-116.
- Scholz A., Kostewicz E., Polentarutti B., Abrahamsson B., Dressman J.B.,** (2001). Solubility of Felodipine in Canine Chyme and Simulated intestinal Fluids. *Med. Chem.*, 333 (Suppl 1), 12.
- Schug B.** (1998). Das Biopharmazeutische Klassifizierungssystem BCS. *DAZ*, 138 (23), 45-52.
- Schwendeman S.P., Tobio M., Joworowicz M., Alonso M.J., Laner R. (1998). *J. Microencaps.*, 15(3), 299-318.

- Sekikawa H., Fukuda N., Takada M.** (1983). Dissolution behavior and gastrointestinal absorption of dicoumarol from solid dispersion systems of dicoumarol-polyvinyl pyrrolidone and dicoumarol- $\beta$ -cyclodextrin. *Chem. Pharm. Bull.*, 31, 1350-1356.
- Serajuddin A.T., Sheen P.C., Augustine M.A.** (1986). Water migration from soft gelatin capsule shell to fill material and its effect on drug solubility. *J. Pharm. Sci.*, 75 (12), 62-64.
- Serajuddin A.T., Sheen P.-C., Mufson D., Bernstein D.F. Augustine M.A.** (1988). Effect of vehicle amphiphilicity on the dissolution and bioavailability of a poorly water-soluble drug from solid dispersion. *J. Pharm. Sci.*, 77 (5), 414-417.
- Serajuddin A.T.M., Sheen P.-C., Augustine M.A.** (1990). Improved dissolution of a poorly water-soluble drug from solid dispersions in poly(ethylene glycol): polysorbate 80 mixtures. *J. Pharm. Sci.*, 79 (5), 463-464.
- Shah N.H., Carvajal M.T., Patel C.I., Infeld M.H., Malick A.W.** (1994). Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) with polyglycolized glycerides for improving in vitro dissolution and oral absorption of lipophilic drugs. *Int. J. Pharm.*, 106, 15-23.
- Shah V.P., Konecny J.J., Everett R.L., McCullough B., Noorizadeh A.C., Selly J.P.** (1989). In Vitro Dissolution Profile of water-insoluble drug dosage forms in the presence of surfactants. *Pharm. Research*, 6 (7), 612-618.
- Sjövist E., Nyström C., Alden M., Caram-Lelham N.** (1992). Physicochemical aspects of drug release. XIV. The effects of some ionic and nonionic surfactants on properties of a sparingly soluble drug in solid dispersions. *Int. J. Pharm.*, 79, 123-133.
- Sutanata W., Craig D.Q., Newton J.M.** (1995). An evaluation of the mechanisms of drug release from glyceride bases. *J. Pharm. Pharmacol.*, 47 (3), 182-187.
- Sutanata W., Craig D.Q., Newton J.M.** (1995). An investigation into the effects of preparation conditions and storage of the rate of drug release from pharmaceutical glyceride bases. *J. Pharm. Pharmacol.*, 47 (5), 355-359.
- Swarbrick<sup>1</sup> J.** (1997). Recent Developments in Dissolution Testing and Data Correlation. *Pharm. Techn. Europe* September 1997, 55-58.
- Swarbrick<sup>2</sup> J.** (1997). In Vitro Dissolution, Drug Bioavailability, and the Spiral of Science. *Pharm. Techn. Europe*, June 1997, 68-72.
- Sweetana S., Akers M.J.** 1995). Solubility principles and practices for parenteral drug dosage form development. *PDA J. Pharm. Sc. Techn.*, 50 (5), 330-342.

- Takenaka H., Kawashima Y., Lin S.Y., Ando Y.** (1982). Preparations of Solid Particulates of Theophylline-Ethylendiamine Complex by a Spray-Drying Technique. *J. Pharm. Sci.*, 71, 914-919.
- Traber M.G., Kayden H.-J., Green J.-B., Green M.H.** (1988). Bioavailability of Vitamin E, Administered Orally as Tocopheryl Polyethylene Glycol 1000 Succinate (TPGS) to a Vitamin E-Deficient Patient with Cholestasis. *Am. J. Clin. Nutr.*, 43 (6), 82.
- Trapani G., Franco M., Latrofa A., Panatleo M. R., Provenzano M. R., Sanna E., Maciocco E., Liso G.** (1999). Physicochemical characterization and in vivo properties of Zolpidem in solid Dispersions with Polyethylene glycol 4000 and 6000. *Int. J. Pharm.*, 184, 121-130.
- Traue J., Moldenhauer H., Zessin G.** (1979). Verwendung der Sprühtrocknung in der Pharmazie. *Die Pharmazie*, 12, 779-784.
- Trull A.K., Tan K.K.C., Tan L., Alexander G.J.M., Jamieson N.V.** (1995). Absorption of cyclosporin from conventional and new microemulsion oral formulations in liver transplant recipients with external biliary diversion. *J. Clin. Pharmacol.*, 39, 727-731.
- USP 23** (1995). General information, pharmaceutical dosage forms. 1151, 1942-1943.
- Walker S.E.** (1979). The filling of molten and thixotropic formulation into hard gelatin capsules. *J. Pharm. Pharmacol.*, 32, 389-393.
- Welling P.G.** (1993) *Drug Toxicokinetics*. Dekker, Marcel Incorporated. ISBN: 0824790197.
- Winkler F.K., Darcy A., Hunziker W.** (1990). Structure of human pancreatic lipase. *Nature*, 343, 771-774.
- Wittwer F.** (1985). New developments in hermetic sealing of hard gelatin capsules. *Pharm. Manuf.*, 2, 575-582.
- Wulff M., Alden M, Craig D.Q.M.,** (1996). An investigation into the critical surfactant concentration for solid solubility of hydrophobic drug in different polyethylene glycols. *Int. J. Pharm.*, 142, 189-198.
- Wyatt D.A.** (1999). Taking poorly water soluble compounds through discovery. *Bull. Techn. Gattefossé* 1999, N° 92, 31-39.
- Yajima T., Umeki N., Itai S.** (1999). Optimum spray congealing conditions for masking the bitter taste of clarithromycin in wax matrix. *Chem. Pharm. Bull.*, 47 (2), 220-225.
- Yalkowsky H.** (1980). Solubility and partitioning I: Solubility of nonelectrolytes in water. *J. Pharm. Sci.*, 69, 912-922.

## Literaturverzeichnis

**Yalkowsky S.H., Roseman T.J.,** (1981). Techniques of solubilization of Drugs, Marcel Dekker inc., ISBN 0-8247-1566-7, (Kapitel 3).

**Yamahira Y., Noguchi T., Takenaka H., Maeda T.** (1979). Biopharmaceutical studies of lipid containing oral dosage forms: relationship between drug absorption rate and digestibility of vehicles. *Int. J. Pharm.*, 3, 23-31.

**Yu L., Bridgers A., Polli J., Vickers A., Long S., Roy A., Winnike R., Coffin M.** (1999). Vitamin E TPGS Increases Absorption Flux of an HIV Protease Inhibitor by Enhancing Its Solubility and Permeability. *Pharm. Research*, 16 (12), 1812-1817.

## Literaturverzeichnis

## Lebenslauf

<u>Name</u>	Schamp
<u>Vorname</u>	Karen
<u>geboren am</u>	21. März 1973
<u>Geburtsort</u>	Mainz
<u>Wohnsitz</u>	Friedenstrasse 36 89231 Neu-Ulm
<u>Schulbildung</u>	1979-1992
<u>Abitur</u>	Juni 1992
<u>Studium</u>	
Oktober 1992:	Beginn des Pharmaziestudiums an der Universität Mainz
September 1994:	Erster Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung (3,0)
WS 1994/95:	Studium an der "Université de Dijon"/Frankreich
April 1997:	Zweiter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung (1,75)
Mai 1998:	Dritter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung (3,0) Gesamtnote 2,46

Meine akademischen Lehrer waren Prof. Dr. G. Dannhardt, Prof. Dr. B. Epe, Prof. Dr. F. Moll, Prof. Dr. U. Pindur und Prof. Dr. J. Stöckigt.

### Famulatur und Praktika

März 1993:	Famulatur in einer öffentlichen Apotheke in Alzey
September 1993:	Famulatur in Verneuil l'Étang/ Frankreich
Mai bis Oktober 1997:	Praktikum in einer öffentlichen Apotheke in Aachen
Juli 1997:	Praktikum in einer Apotheke in Malmö/Schweden (2 Wochen)
Nov. 97 bis April 98:	Praktikum in der Apotheke der Medizinischen Einrichtungen der RWTH Aachen

## Lebenslauf

### Berufserfahrung

- 1998-2001: diverse Urlaubsvertretungen in öffentlichen Apotheken
- Okt. 1998-Okt.2001: Doktorandenstelle bei Merck KGaA in Darmstadt  
(Anfertigung der vorliegenden Dissertation unter der Leitung von Frau Prof. Dr. J.B. Dressman, Institut für Pharmazeutische Technologie der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main).
- Seit November 2001: Patentreferentin bei der Firma Ratiopharm, Ulm

### Publikationen

- Juli 2000 (CRS, Paris): "Dissolution of two oral semisolid formulations containing EMD 57033 as a model poorly soluble drug" . (Poster).
- Oktober 2001 (AAPS, Denver): "Enhanced Bioavailability of a poorly soluble drug by the use of Gélucire 44/14 and Vitamin E TPGS". (Poster).

### Patentanmeldungen:

- WO 01/51089: Pharmaceutical Preparations containing 2-Pyrrolidone as the dissolving intermediary.
- WO 01/51052: Pharmaceutical Preparation Containing Specific PDE-V-Inhibitors.