

# Entwicklung und Testung von Filmtabletten für die dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung



## INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde  
der Fakultät für Chemie und Pharmazie  
der Albert-Ludwigs-Universität  
Freiburg im Breisgau

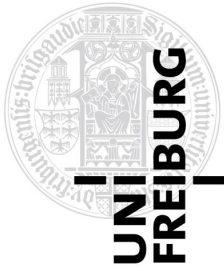
vorgelegt von

**Michael Drechsler**

aus Dinkelsbühl

**2013**





Die vorliegende Dissertationsschrift wurde von September 2008 bis Dezember 2012 unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. Rolf Schubert am Lehrstuhl für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie des Instituts für Pharmazeutische Wissenschaften der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau angefertigt.

Dekan:	Prof. Dr. Andreas Bechthold
Vorsitzender des Promotionsausschusses:	Prof. Dr. Thorsten Koslowski
Referent:	Prof. Dr. Rolf Schubert
Korreferentin:	Prof. Dr. Regine Süss
Drittprüfer:	Prof. Dr. Norbert Klugbauer
Bekanntgabe des Prüfungsergebnisses:	14. Februar 2013



# Danksagung

Mein erster Dank geht an meinen Doktorvater Herrn Prof. Dr. Rolf Schubert für die herzliche Aufnahme in seinen wohlerlesenen und familiären Arbeitskreis. Zudem möchte ich ihm für seine stets nette und hilfsbereite Betreuung sowie die gestalterischen Freiheiten, die er mir bei der Bearbeitung meines Dissertationsthemas überlies, bedanken.

Bei Frau Prof. Dr. Regine Süss möchte ich mich bedanken, dass sie das Korreferat übernommen hat.

Herrn Prof. Dr. Norbert Klugbauer danke ich für die Bereitschaft zur Übernahme des Amtes des Drittprüfers.

Wolf Ulrich Michaels danke ich für das immer offene Ohr für pharmazeutisch technologische Diskussionen. Bei unserem Allroundtalent Nuria Beltrán-Sanchez möchte ich mich ganz herzlich für die stets freundliche und schnelle Bearbeitung von Verträgen, Anträgen, ... bedanken. Für die lustige Zeit im gemeinsamen Labor und die Betreuung der KK möchte ich mich bei Sabine Barnert bedanken. Irmgard Ohlhoff und Nicole Specht danke ich für die Übernahme und Koordination der Bestellungen.

Für die tatkräftige Unterstützung im Rahmen des Wahlpflichtpraktikums und als wissenschaftliche Hilfskraft, bedanke ich mich bei Kathrin Züfle und Niklas Renner.

Meinen Kooperationspartnern Herrn Dr. Grzegorz Garbacz (Ernst-Moritz-Arndt Universität) danke ich für die Messungen mittels Texture Analyzer und an der biorelevanten Wirkstofffreisetzungsapparatur und Herrn Dr. Bernhard Fussnegger (BASF) sowie dem BASF Kompetenzzentrum für die HPLC-GPC Messungen. Herrn Dr. Ralf Thomann (Freiburger Materialforschungszentrum) danke ich für die Erstellung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen.

Bei der Firma Dr. Falk Pharma GmbH bedanke ich mich für die finanzielle Unterstützung dieser Doktorarbeit. Für die unentgeltliche Bereitstellung der MCC-Kerne möchte ich mich bei der Firma Mepha Pharma AG bedanken. Hilfsstoffe zur Tablettierung und Überzugsmaterialien wurden mir gratis von den Firmen BASF und Evonik Röhm zur Verfügung gestellt. Für schnelle Antwort bei technischen Fragen bedanke ich mich bei der Firma INNOJET. Dem Freiburger Schlachthof Färber möchte ich für die Bereitstellung der Schweinecaeca danken.

Meinem ehemaligen Platznachbar Christian Zimmer danke ich für die schöne gemeinsame Zeit im und außerhalb des Labor/s. „Bügeleisen im Schuh oder was?“ und etliche lustige Abende inkl. „H.a.Z.“ bleiben für immer unvergesslich.

Meiner Laborkollegin Friederike Mayenfels danke ich für zahlreiche lustige und sportreiche Stunden. Stichwörter wie „Seilbahn“, „Schwarzwälder Kirschtorte“ und „Grindelwald“ sind nun Trigger zum Auslösen zahlreicher Anekdoten geworden. Katharina Böhm danke ich vor allem für das „Eichhörnchen“, das mich doch immer sehr bei Laune gehalten hat - „Kuck mal,...!“ Monika Cwik danke ich für viele interessante Diskussionen bezüglich Solida und zahlreiche Unternehmungen.

Marcus Wüller danke ich für etliche heitere Stunden und ein stets offenes Ohr in allen Lebenslagen. Ich sag nur „Fußballfreitag“, „Schwarzwaldwanderungen“ und „Karneval“. Gerne denke ich an die gemeinsamen Stadionbesuche mit Gesche Först zurück und hoffe, dass noch viele folgen werden. Beiden möchte ich hiermit nochmal DANKE fürs Korrektur lesen dieser Arbeit sagen.

Ines Müller danke ich für sehr unterhaltsame Stunden bei und neben der Praktikumsbetreuung, Annette Steinbach für zahlreiche Grillabende und mehr sowie Silke Simon für die tatkräftige Unterstützung stets die „fränkische Fahne hochzuhalten“.

Neben den o.g. Kollegen und Freunden danke ich Martin Holzer, Sebastian Schneider, Alice Strohmeier, Steffi Striepe, Alex Burghardt, Shila Gurung, Doris Zimmer, Manuel Weis, Michael Keller, Judith Jakoby, Kathrin Züfle, Daniel Molnar, Christoph Grapentin und Manuel Weinheimer für die sehr schöne Zeit am Lehrstuhl. An die gemeinsamen Zeiten in Sozialraum, Labor und der City, werde ich mich immer wieder gerne zurückerinnern.

Meinen Eltern und meiner Schwester Sabine mit Familie (Bernd, Max und Ben) danke ich dafür, dass sie immer an mich glauben und mir den Rücken stärken.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Freundin Martina, die immer für mich da ist und mich sowohl in guten Zeiten wie auch in Zeiten experimenteller Durststrecken stets verstand und unterstützte. DANKE DIR!







Alles wie immer . . .

(Quelle unbekannt)

**MEINER FAMILIE IN DANKBARKEIT GEWIDMET**



# Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht

## Publikationen

Michael Drechsler, Grzegorz Garbacz, Ralf Thomann, Werner Weitschies, Rolf Schubert

*Development and Evaluation of Chitosan and Chitosan/Kollicoat Smartseal® 30 D film coated tablets for colon targeting*

Manuskript in Vorbereitung

## Vorträge

Michael Drechsler, Rolf Schubert

*Shellac as a diffusion barrier – A trial to reduce the early release in the small intestine of a known formulation for colon targeting*

8<sup>th</sup> Pharmazie-Workshop, Oberjoch, März 2009

Michael Drechsler, Rolf Schubert

*Parameters influencing chitosan coated tablets for colon-specific drug delivery II*

9<sup>th</sup> Pharmazie-Workshop, Oberjoch, März 2010

Michael Drechsler, Rolf Schubert

*Chitosan überzogene Filmtabletten für das colon targeting*

Förderverein für Arzneimittelforschung (FAF), Jahrestreffen, Freiburg, Januar 2011

Michael Drechsler, Rolf Schubert

*Combination of the artificial and the natural – the magic bullet to reach colon targeting?*

10<sup>th</sup> Pharmazie-Workshop, Oberjoch, März 2012

## Posterpräsentationen

Michael Drechsler, Rolf Schubert

*Parameters influencing chitosan coated tablets for colon-specific drug delivery*

7<sup>th</sup> World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Valetta (Malta), März 2010

Michael Drechsler, Rolf Schubert

*Chitosan coated tablets with an additional enteric coating for colon-specific drug delivery*

Tag der Forschung, Fakultät für Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften, Freiburg, Juli 2010

Michael Drechsler, Rolf Schubert

*Colon targeting: The application of enteric coatings to protect chitosan coated tablets in the GIT*

Jahrestagung der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft (DPhG), Braunschweig, Oktober 2010

Michael Drechsler, Rolf Schubert

*Colon Microflora Test: Testing the ability for site-specific drug release in the large intestine of chitosan coated tablets*

8<sup>th</sup> World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Istanbul (Türkei), März 2012

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1</b>	<b>Gastrointestinaltrakt .....</b>	<b>1</b>
1.1.1	Anatomie .....	1
1.1.1.1	Magen .....	1
1.1.1.2	Dünndarm .....	2
1.1.1.3	Dickdarm .....	3
1.1.2	Physiologische Gegebenheiten .....	4
1.1.2.1	Motorik, intestinaler Druck und Transitzeit.....	5
1.1.2.2	pH-Wert .....	7
1.1.2.3	Flüssigkeitstaschen .....	9
1.1.2.4	Mikroflora.....	9
<b>1.2</b>	<b>Freisetzungsmodelle.....</b>	<b>12</b>
1.2.1	In vivo- Modelle .....	12
1.2.2	In vitro- Modelle .....	12
<b>1.3</b>	<b>Perorale Arzneiformen für das Colon-Targeting.....</b>	<b>18</b>
1.3.1	Therapeutische Einsatzgebiete .....	18
1.3.2	Strategien .....	19
1.3.2.1	Elektronisch gesteuerte Wirkstofffreisetzung.....	19
1.3.2.2	Zeit - kontrolliert.....	20
1.3.2.3	pH - kontrolliert .....	21
1.3.2.4	Druck - kontrolliert .....	24
1.3.2.5	Enzymatisch - kontrolliert.....	25
<b>1.4</b>	<b>Zielsetzung .....</b>	<b>33</b>
<b>2</b>	<b>Material und Geräte.....</b>	<b>34</b>
<b>2.1</b>	<b>Chemikalien .....</b>	<b>34</b>
2.1.1	Modellwirkstoff.....	34
2.1.1.1	Physikalisch - chemische Eigenschaften .....	34

2.1.1.2	Pharmakologie .....	36
2.1.1.3	Pharmakokinetik .....	36
2.1.1.4	Bezugsquelle.....	36
<b>2.1.2</b>	<b>Überzugskerne .....</b>	<b>36</b>
2.1.2.1	MCC-Kerne .....	36
2.1.2.2	Schmelztabletten.....	38
<b>2.1.3</b>	<b>Polymere für das Filmcoating .....</b>	<b>38</b>
2.1.3.1	Chitosan .....	38
2.1.3.2	Sonstige Polymere .....	41
2.1.4	Hilfsstoffe zur Herstellung von Überzugsdispersionen .....	41
2.1.5	Hilfsstoffe zur Herstellung von Freisetzungsmitteln .....	42
2.1.6	Herstellung der Medien für Freisetzungs- und Zerfallsuntersuchungen .....	43
2.1.6.1	Pufferlösungen .....	43
2.1.6.2	FaSSIF und FeSSIF .....	43
2.1.6.3	Schädler Bouillon .....	44
2.1.7	Antibiotika .....	44
2.1.8	Farbstoffe .....	45
2.1.9	Lösungsmittel, Säuren und Laugen .....	45
<b>2.2</b>	<b>Verbrauchsmaterialien.....</b>	<b>46</b>
<b>2.3</b>	<b>Geräte.....</b>	<b>47</b>
<b>3</b>	<b>Methoden .....</b>	<b>51</b>
<b>3.1</b>	<b>Schmelztabletten.....</b>	<b>51</b>
3.1.1	Pulveranalytik .....	51
3.1.2	Tablettierung.....	52
3.1.3	Tablettenanalytik .....	52
3.1.4	Schmelztabletten versus MCC-Kerne.....	52
<b>3.2</b>	<b>Chitosan.....</b>	<b>52</b>
3.2.1	Molmassenverteilung.....	52
3.2.2	Rheologisches Verhalten.....	55
3.2.3	Thermoanalytisches Verhalten .....	58
3.2.4	Partikelgrößenbestimmung- und zerkleinerung .....	58

<b>3.3</b>	<b>Filmüberzugsdispersionen .....</b>	<b>60</b>
3.3.1	Chitosan .....	60
3.3.2	Magensaftresistente Überzugsdispersionen.....	61
3.3.2.1	Eudragit® L 30 D-55 .....	61
3.3.2.2	Aqualacca® 25.....	62
3.3.3	Subcoating.....	62
3.3.4	Strategien zur Reduzierung der vorzeitigen Wirkstofffreisetzung .....	63
3.3.4.1	Partielle Isolierschicht.....	63
3.3.4.2	Polymermischung .....	64
<b>3.4</b>	<b>Filmcoating im INNOJET AirCoater 025.....</b>	<b>65</b>
<b>3.5</b>	<b>Analytik der Filmtabletten.....</b>	<b>68</b>
3.5.1	Gleichförmigkeit der Masse .....	68
3.5.2	Mikroskopische Methoden .....	68
3.5.2.1	Lichtmikroskop.....	69
3.5.2.2	Rasterelektronenmikroskop (REM).....	69
3.5.3	Quellungszahl.....	69
3.5.4	Filmstabilitätsprüfung.....	70
3.5.5	Zerfallsprüfung.....	71
3.5.6	Wirkstofffreisetzung .....	71
3.5.6.1	Bestimmung der Mindestpolymerlänge für stabile Filmtabletten.....	74
3.5.6.2	Wirkstofffreisetzung mit Enzymzusatz.....	74
3.5.6.3	Biorelevante Wirkstofffreisetzung.....	75
<b>3.6</b>	<b>Colon - Mikroflora - Test .....</b>	<b>76</b>
3.6.1	Vorbehandlung der Filmtabletten.....	76
3.6.2	Wirkstofffreisetzung in der CMT - Apparatur.....	77
3.6.2.1	CMT - Apparatur .....	77
3.6.2.2	Testmedium .....	78
3.6.2.3	Negativkontrolle .....	79
3.6.2.4	Wiederfindungsrate.....	80
3.6.3	Wirkstoffextraktion .....	81
3.6.4	HPLC - Analytik .....	82

<b>4</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion .....</b>	<b>84</b>
<b>4.1</b>	<b>Schmelztabletten .....</b>	<b>84</b>
<b>4.2</b>	<b>Chitosan .....</b>	<b>87</b>
4.2.1	Molmassenverteilung .....	87
4.2.2	Rheologisches Verhalten .....	89
4.2.3	Thermoanalytisches Verhalten .....	92
4.2.4	Partikelgrößenbestimmung- und zerkleinerung .....	92
<b>4.3</b>	<b>Filmcoating im INNOJET AirCoater 025 .....</b>	<b>95</b>
<b>4.4</b>	<b>Quellungsstudien .....</b>	<b>97</b>
4.4.1	MCC-Kerne vs. Schmelztabletten .....	97
4.4.2	Chitoan .....	99
4.4.3	Polymermischung .....	99
<b>4.5</b>	<b>Stabilitätsuntersuchungen nach Quellung .....</b>	<b>101</b>
<b>4.6</b>	<b>Wirkstofffreisetzung aus Filmtabletten .....</b>	<b>106</b>
4.6.1	MCC-Kerne vs. Schmelztabletten .....	106
4.6.2	Chitosan .....	108
4.6.2.1	Kurzkettige Chitosanqualitäten mit einheitlichem Deacetylierungsgrad .....	108
4.6.2.2	Lang- und kurzkettiges Chitosan mit diverssem Deacetylierungsgrad .....	109
4.6.3	Reduzierung der vorzeitigen Wirkstofffreisetzung .....	112
4.6.3.1	Partielle Isolierschicht .....	113
4.6.3.2	Polymermischung .....	116
4.6.4	Magensaftresistenter Schutz für Filmtabletten .....	122
<b>4.7</b>	<b>Wirkstofffreisetzung unter Enzymzusatz .....</b>	<b>127</b>
<b>4.8</b>	<b>Eignungsprüfung für das Colon-Targeting .....</b>	<b>128</b>
4.8.1	Voruntersuchungen .....	129
4.8.2	Tablettenkerne .....	133
4.8.3	Filmtabletten mit Chitosan .....	134
4.8.3.1	Kurzkettiges Chitosan .....	134
4.8.3.2	Langkettiges Chitosan .....	139
4.8.4	Filmtabletten mit reduzierter vorzeitiger Wirkstofffreisetzung .....	145
4.8.4.1	Partielle EuRS - Isolierschicht .....	145
4.8.4.2	Polymermischung .....	147



---

4.8.5	Filmdableten mit Chitosan und zusätzlichem MSR - Überzug .....	154
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>161</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>167</b>

# Abkürzungsverzeichnis

× g	×-fache Erdbeschleunigung
°C	Grad Celsius
μM	mikromolar (μmol·L <sup>-1</sup> )
<i>ad (lat.)</i>	bis auf
AU	<i>Area units</i> (Flächeneinheiten)
c	molare Stoffmengenkonzentration (mol·L <sup>-1</sup> )
CMT	Colon-Mikroflora-Test
cSt	Centistokes (= mm <sup>2</sup> · s <sup>-1</sup> ), Einheit der kinematischen Viskosität
d <sub>50</sub>	Durchgangssumme von 50 % aller Partikel
DA	Deacetylierungsgrad
EuRS	Eudragit <sup>®</sup> RS
FaSSIF	Fasted Simulated Intestinal Fluid
FeSSIF	Fed Simulated Intestinal Fluid
g	Gramm
GIT	Gastrointestinaltrakt
GPC	Gel – Permeations - Chromatographie
h	Stunde
hPa	Hektopascal
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HPMC	Hydroxypropylmethylcellulose
K	Kelvin
KBE	Koloniebildende Einheiten
l	Liter
m	Masse
M	molare Masse (kg · mol <sup>-1</sup> ) oder molar (mol·L <sup>-1</sup> )
MCC	Mikrokristalline Cellulose

---

MFT	Mindestfilmbildetemperatur
mg	Milligramm
min	Minute
MK	MCC- Kerne (Kerne mit Mikrokristalliner Cellulose)
ml	milliliter
mM	millimolar
mOsmol · kg <sup>-1</sup>	Osmolalität
mV	Millivolt
n. a.	nicht angegeben
nm	Nanometer
MSR	magensaftresistent
N	Newton
Ph. Eur.	Europäisches Arzneibuch
p. o.	<i>Per os</i>
rpm	<i>Revolutions per minute (Umdrehungen pro Minute)</i>
RT	Raumtemperatur (20 bis 25 °C)
s	Sekunde
SEC	<i>Size exclusion chromatography</i>
SGF	Simulated Gastric Fluid
SIF	Simulated Intestinal Fluid
ST	Schmelztabletten
SWT	Simulated Wetting Test
t	Zeit
t <sub>R</sub>	Retentionszeit
T <sub>g</sub> '	Glasübergangstemperatur
u	Unit
USP	United States Pharmacopeia
WSF <sub>3h</sub>	Wirkstofffreisetzung nach 3 Stunden



# 1 Einleitung

Nach der peroralen Einnahme einer Filmtablette für die dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung passiert diese Mundhöhle, Speiseröhre, Magen und Dünndarm. Bei diesem Reiseabschnitt durch den Gastrointestinaltrakt (GIT) darf kein *dose dumping*, also die rasche Freigabe des Wirkstoffs vor Erreichen des Zielortes, auftreten (Weitschies *et al.* 2010). Erst im Dickdarm soll die Arzneiform, ausgelöst durch die hier vorherrschenden Gegebenheiten, den Wirkstoff freisetzen.

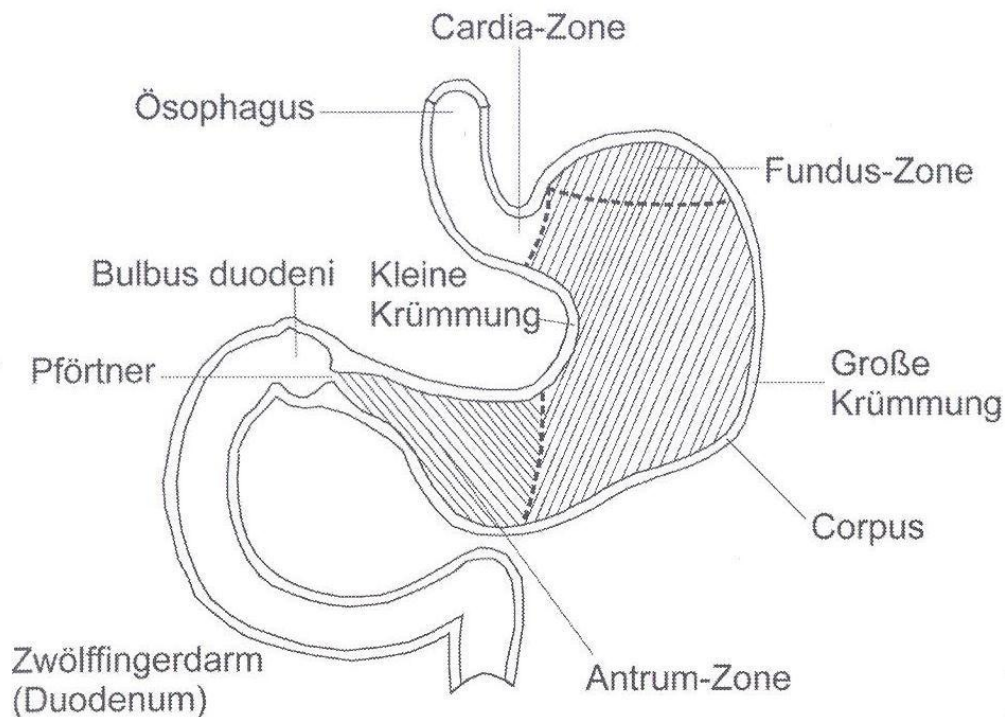
## 1.1 Gastrointestinaltrakt

Was passiert nach dem Schlucken einer Tablette im GIT? In den dreißiger Jahren wurden erste Untersuchungen mittels Röntgentechniken auf diesem Gebiet durchgeführt. Seit den Siebziger Jahren gewinnt die Technik der  $\gamma$ -Szintigraphie zunehmend an Bedeutung. Alternativen bilden viele andere bildgebenden Methoden (z. B. Magnetresonanztomographie). Bis heute kann das Schicksal einer eingenommenen Tablette nicht vollständig nachvollzogen werden. Den Tatsachen ist man aber schon um einiges näher gekommen (Weitschies 2001).

### 1.1.1 Anatomie

#### 1.1.1.1 Magen

Innerhalb weniger Sekunden, nach dem Transit der Mundhöhle und der Speiseröhre, gelangt die Tablette in den Magen. Dieser wird in Cardia, Fundus, Corpus und Antrum eingeteilt. Der Pylorus (Pfortner) bildet den Übergang zum Dünndarm (siehe Abbildung 1.1). Während der Fundus nur zur Speicherung der Nahrung dient, wird diese im Corpus gemischt, fortbewegt und vorzerkleinert. Eine weitere Zerkleinerung erfolgt durch eine ständige Vorwärts- und Rückwärtsbewegung in der sogenannten Antrum-Mühle (Langguth *et al.* 2004).



**Abbildung 1.1 – Anatomie des Magens (Langguth et al. 2004)**

Die Vorverdauung der Speisereste erfolgt zusätzlich durch Pepsin, Salzsäure und organische Säuren, die neben Elektrolyten und Schleim im Magensaft enthalten sind (Thews et al. 2007). Der hierbei entstehende Speisebrei wird, nach erfolgter Klassierung (*gastric sieving*) durch den Pylorus, an das Duodenum weitergegeben (Mutschler et al. 2008). Abhängig von der Stärke der Kontraktion (Antrum) und dem Grad der Pylorusöffnung gelangen Partikeln im Größenbereich von 2 - 5 mm in das Duodenum (Schulze- Delrieu et al. 1998). Die maximale Weitung des Pylorus beträgt 12 - 14 mm (Moes 1993). Diese wird allerdings nur im nüchternen Zustand, beim *“Interdigestive migrating myoelectric/motor complex“ (IMMC)*, erreicht. Filmtabletten für das Colon-Targeting müssen demnach den starken Stressbedingungen im Magen über mehrere Stunden Stand halten können (Ewe et al. 1991, Weitschies et al. 2005).

#### 1.1.1.2 Dünndarm

Nach der Überwindung des Pylorus gelangen Speisereste bzw. Arzneiformen in den 4 - 6 Meter langen Dünndarm. Dieser wird in die Abschnitte Duodenum, Jejunum und Ileum unterteilt. Die Hauptaufgabe liegt, begünstigt durch die große Oberfläche (ca. 200 m<sup>2</sup>), in der Resorption von Nahrungsbestandteilen und Arzneistoffen.

Diese Tennisfeldgroße (Einzel-) Oberfläche wird durch die Faltung der Mukosa (Kerkring-Falten) und die, auf der apikalen Bürstensaummembran der Enterozyten gebildeten, Mikrovilli erreicht. Zudem mündet der Pankreas- und Gallengang in das Duodenum. Der hydrogencarbonatreiche Pankreassaft puffert den sauren pH-Wert des Magens ab. Weiterhin enthalten sind  $\alpha$ -Amylase sowie eiweiß- und fettspaltende Enzyme (Langner *et al.* 2011). Die Gallenflüssigkeit besteht aus anorganischen Ionen, Gallensäuren und -farbstoffen, Cholesterol und Enzyme. Aufgrund ihrer Emulgierfähigkeit können Gallensäuren das Auflösungsverhalten von Wirkstoffen beeinflussen (Horter & Dressman 2001).

### 1.1.1.3 Dickdarm

Nach der Passage der Ileozäkklappe erreicht die Arzneiform den ca. 1,5 m langen Dickdarm. Dieser wird in Caecum, Colon und Rektum untergliedert. Der größte Anteil entfällt dabei auf das Colon. Dieses wird (siehe Abbildung 1.2) wiederum in den aufsteigenden (ascendens), querverlaufenden (transversum), absteigenden (descendens) und S-förmigen (sigmoideum) Abschnitt untergliedert (Mutschler *et al.* 2008). Das Caecum (Blinddarm) dient als eine Art Fermenter für die artenreiche und vielfältige Mikroflora (vgl. 1.1.2.4 und 1.2.2).

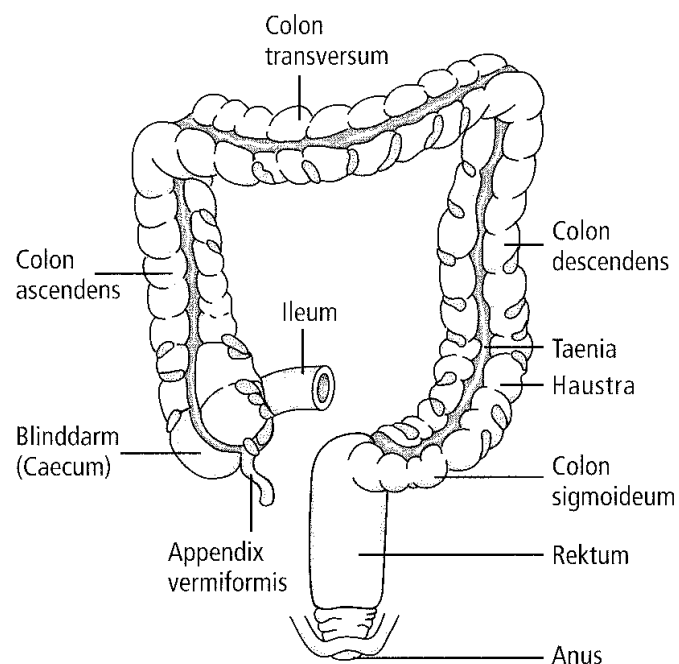


Abbildung 1.2 – Anatomie des Dickdarms (Thews *et al.* 2007)

Die Hauptaufgabe des Dickdarms ist die Resorption von Wasser, wodurch der Dickdarminhalt stetig viskoser wird. Bei der Entwicklung von Arzneiformen mit Wirkstofffreisetzung im Dickdarm ist daher zu beachten, dass mit zunehmender Passagezeit immer weniger Flüssigkeit zur Auflösung des Wirkstoffs zur Verfügung steht (Weitschies 2010). Somit liegt lediglich im Caecum und im aufsteigenden Ast des Colons noch ausreichend Flüssigkeit zur Auflösung und Absorption des Wirkstoffs vor.

Lange Zeit wurde der Absorption im Dickdarm, aufgrund des geringen Flüssigkeitsvolumens und der geringen Absorptionsfläche (0,1 m<sup>2</sup>) kaum Beachtung geschenkt. Heutzutage wird der Absorption im Dickdarm stetig mehr Bedeutung zugeschrieben. Während Wirkstoffe mit schlechter Permeabilität (BCS-Klasse 3 und 4) im Dickdarm nahezu gar nicht aufgenommen werden, scheinen Substanzen mit guter Löslichkeit und Permeabilität (BCS-Klasse 1) vielversprechend in Bezug auf die Dickdarmabsorption zu sein (Tannergren *et al.* 2009). Auch physiologisch werden Proteine, Kohlenhydrate und im Dünndarm schlecht resorbierbare Wirkstoffe, ebenso wie an Gallensalz konjugierte Wirkstoffe nach Wiederabspaltung des Gallensalzes (enterohepatischer Kreislauf), absorbiert (Langner *et al.* 2011).

### **1.1.2 Physiologische Gegebenheiten**

Eine Übersicht über Länge, Durchmesser, Volumenkapazität, pH-Profil und Resorptionsfläche der einzelnen Abschnitte des Gastrointestinaltrakts zeigt Abbildung 1.3. Eine detaillierte Darstellung bezüglich Transitzeit, intestinaler Drücke, pH-Werten, Flüssigkeitstaschen und Mikroflora in Magen, Dün- und Dickdarm wird im weiteren Verlauf erfolgen. Das Verständnis über die gastrointestinalen Gegebenheiten ist bei der Entwicklung von Tabletten mit verzögerter bzw. verlängerter Wirkstofffreisetzung unverzichtbar.



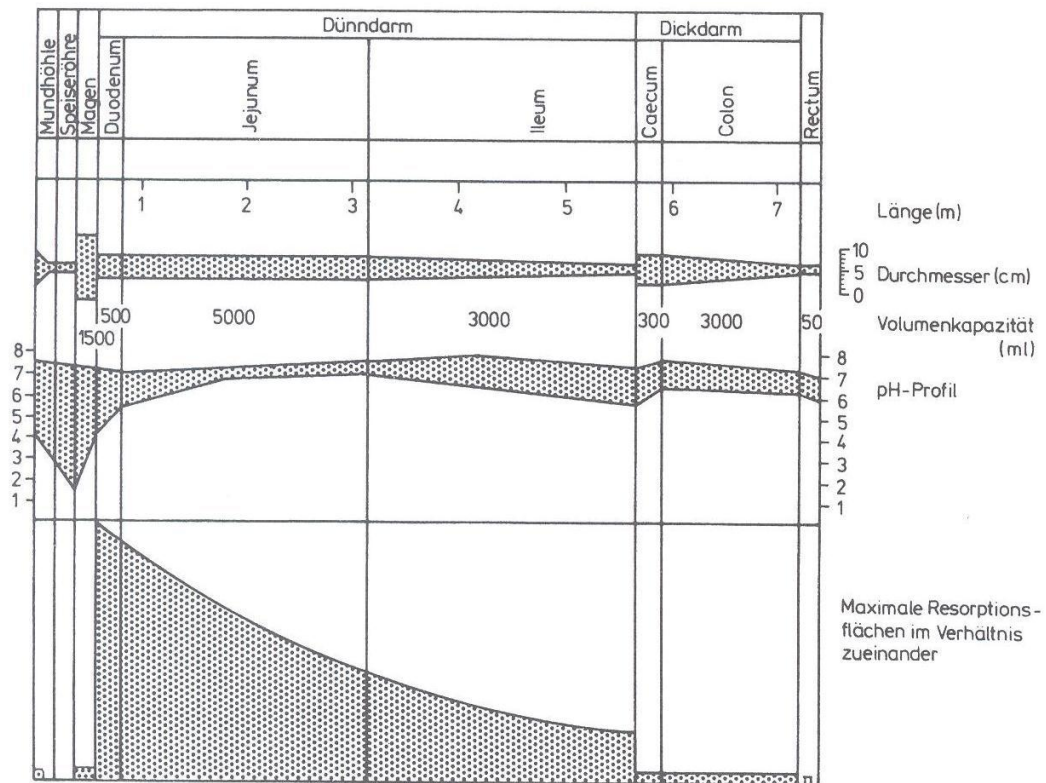


Abbildung 1.3 – Physiologische Gegebenheiten im Gastrointestinaltrakt (Bauer *et al.* 2012)

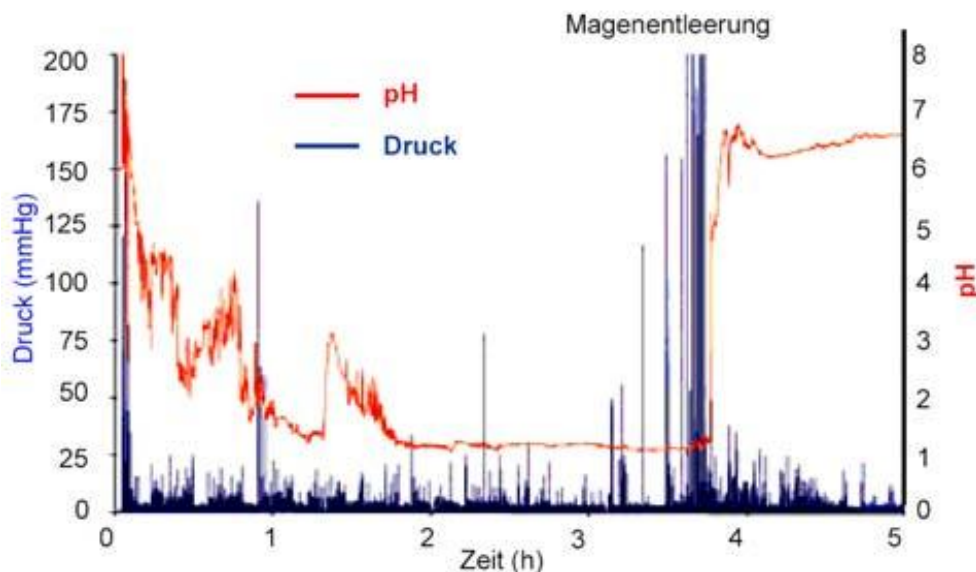
### 1.1.2.1 Motorik, intestinaler Druck und Transitzeit

Direkt nach der Nahrungsaufnahme bilden sich im Magen Peristaltikwellen mit niedriger Intensität aus, die mit der Zeit stetig zunehmen. Die Verweildauer im Magen ist u. a. abhängig von der eingenommenen Nahrung (Menge und Kaloriengehalt), der Körperlage und dem Gefühlszustand. Nach einer sehr fetten Kost, wie „Schweinsbraten mit Klöß“, kann sie bis zu acht Stunden betragen. Im Normalfall liegt sie allerdings bei 1 - 3 h (Langguth *et al.* 2004). Arzneiformen, die kleiner als 2 mm sind (Pellets, zerfallene Tabletten, u. a.), werden hierbei mit der Nahrung in den Dünndarm entleert (Davis *et al.* 1986, Stotzer & Abrahamsson 2000). Filmtabletten, die im Magen nicht zerfallen und alle anderen Arzneiformen mit einem Durchmesser über 2 mm können nur durch den, im nüchternen Zustand auftretenden, *IMMC* in den Dünndarm gelangen. Diese 30 - 120 Minuten andauernden elektrisch stimulierten Muskelkontraktionen können in vier Phasen eingeteilt werden. Dargestellt werden allerdings meistens nur die Phasen 1 - 3 (vgl. Abbildung 1.4). Nach etwa 60 - 75 Minuten treten hierbei die zwar nur 5 - 15 Minuten andauernden, aber sehr heftigen „*housekeeper waves*“ („Putzwellen“) (Phase 3) auf. Diese können auch größere Partikel zum Übergang in den Darm zwingen (Coupe *et al.* 1991).



**Abbildung 1.4 – Schematischer Verlauf des *Interdigestive migrating myoelectric complex (IMMC)* (Weitschies 2010)**

Entsprechend Abbildung 1.5 konnten während der „housekeeper waves“ Drücke von 250 - 300 hPa (100 mmHG  $\cong$  133,3 hPa) am Pylorus gemessen werden (Faas *et al.* 2001, Cassilly *et al.* 2008). Da der *IMMC* bei durchschnittlich dreimal täglich eingenommenen Mahlzeiten tagsüber kaum auftritt, scheint die Einnahme von Filmtabletten für die dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung vor dem Schlafengehen sinnvoll.



**Abbildung 1.5 – pH- und Druckverhältnisse in Magen und Dünndarm, Bestimmung mittels SmartPill (Cassilly *et al.* 2008)**

Im Dünndarm erfolgt eine Kombination aus Vorwärts- bzw. Rückwärtsbewegung und Ruhe- bzw. Durchmischungsphasen. Hierbei handelt es sich um keinen konstanten Prozess. Die über Feedbackmechanismen kontrollierten Bewegungen können über mehrere Minuten ausbleiben, andererseits kann ein fester Partikel in nur wenigen

Sekunden Geschwindigkeiten von bis zu 50 cm/s erreichen (Weitschies 2010). Fünfzehn Minuten nach der Nahrungsaufnahme setzen, neben der ständigen Feindurchmischung des Speisebreis durch Zottenbewegung, segmentartige Kontraktionen ( $9 - 12 \text{ min}^{-1}$ ) ein. Im nüchternen Zustand treten stärkere Peristaltikwellen auf, die in etwa zwei Stunden den Dünndarm durchlaufen (Langner *et al.* 2011). Die Transitzeit ist mit 2 - 5 Stunden recht konstant. Für feste Arzneiformen können  $3 \pm 1$  Stunden veranschlagt werden. Dabei spielt die Größe der Arzneiform nahezu keine Rolle (Davis *et al.* 1986). Durch die Kontraktion der Darmwand entstehen Drücke von 20 – 100 hPa. Vor der Ileozäkalklappe entstehen sogar Drücke von bis zu 300 hPa (Garbacz 2010).

Nach dem Erreichen des Dickdarms herrschen vorrangig kurze Bewegungsphasen (5 - 14 cm/h) zur Durchmischung und zum Weitertransport des Speisebreis vor. Effektivere Transportbewegungen (*mass movement*) mit 2 – 5 cm/s treten nur 1 bis 3-mal täglich nach Mahlzeiten, vor allem bei ballaststoffreicher und blähungsfördernder Kost, auf (Langner *et al.* 2011). Die Transportzeit ist mit wenigen Stunden bis 75 Stunden extrem variabel. Für feste Arzneiformen, deren Wirkstoffe in Dünn- und Dickdarm aufgenommen werden sollen, werden standardmäßig nur etwa 15 Stunden veranschlagt (Bauer *et al.* 2012). Auf die Freisetzung und Resorption im Dickdarm entfallen hierbei etwa 5 – 12 (Mrsny 1992, Söderlind 2010, Weitschies 2010). Filmtabletten zur Erzielung der dickdarmspezifischen Wirkstoffabgabe sollten somit innerhalb dieses Zeitfensters (5 - 12 h) im Dickdarm zerfallen und den Wirkstoff freisetzen. Hierbei gilt es zu beachten, dass die Passagezeit durch Arzneimittel beeinflusst werden kann. Beispielsweise verlangsamt Atropin und beschleunigt Metoclopramid den Transit (Langner *et al.* 2011).

Im Dickdarm vielfältig gestaltete Bewegungsmuster treten meist mit 5 – 80 hPa auf. Daneben gibt es auch selten vorkommende Aktivitäten mit Drücken von  $> 140$  hPa (Yang 2008, Garbacz 2010). Diese starken Kontraktionen sorgen für erhöhte, im zirkadianen Rhythmus ablaufende, intraluminale Drücke (Weitschies 2010).

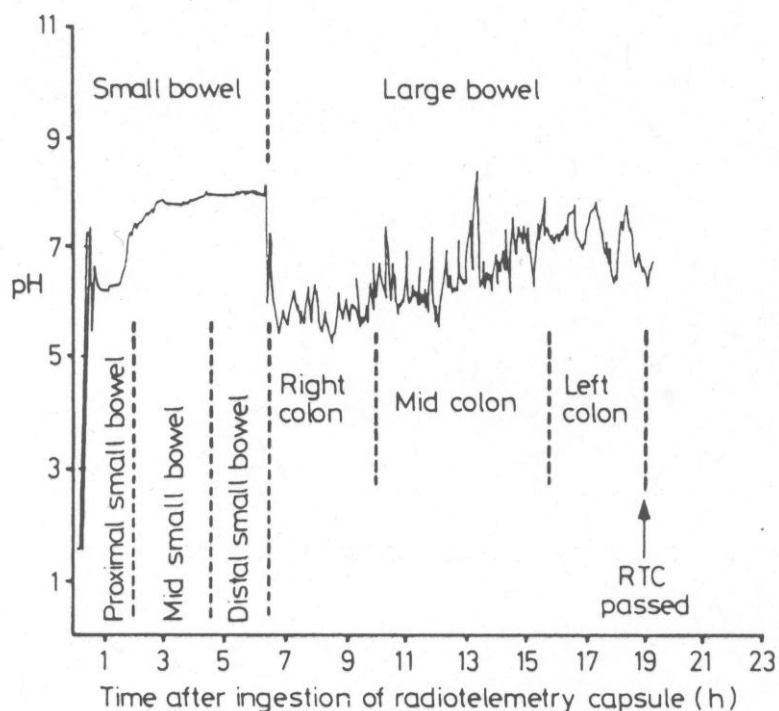
#### 1.1.2.2 pH-Wert

Im Magen liegt der pH-Wert im Bereich von 1 - 3. Nach Nahrungsaufnahme kann der pH-Wert allerdings auf 4 - 6 ansteigen. Eine Neutralisierung des pH-Wertes (4,5 - 7,0) findet im Dünndarm statt. Im Caecum kommt es zu einer schlagartigen Senkung des pH-Wertes auf 5 - 6, bedingt durch den Gärungsprozess der sehr aktiven Mikroflora.

Zudem werden beträchtliche Mengen an Gas ( $N_2$ ,  $CO_2$ ,  $H_2$ ,  $CH_4$ ) produziert (Weitschies 2010). Im distalen Bereich des Dickdarms steigt der pH-Wert, durch dort stattfindende Fäulnisprozesse, auf 7 - 8 an (vgl. Abbildung 1.3).

Evans et al. bestimmten den pH-Wert im gesamten Gastrointestinaltrakt. Probanden schluckten eine pH - sensitive Kapsel, die den pH-Wert in definierten Zeitabständen über 48 Stunden maß (Evans *et al.* 1988). Die Lokalisation der Kapsel im GIT konnte zeitgleich mittels Radiotelemetrie bestimmt werden. In Abbildung 1.6 ist ein typisches pH-Profil eines Probanden dargestellt. Für den proximalen Dünndarmabschnitt bestimmten Evans et al. mittlere pH-Werte von 6,5 und für den Distalen mittlere Werte von 7,4 – 7,5. Der durchschnittliche pH-Wert im Caecum und aufsteigendem Ast des Colons lag bei 6,4. Es ist allerdings zu beachten, dass der pH-Wert im Caecum zeitweise bei nur 5,5 lag. Im restlichen Dickdarmabschnitt lag der pH-Wert im Mittel bei 6,6 – 7,0.

Auch Ewe et al. benutzten dieses Testsystem, um den pH-Wert im GIT von gesunden Probanden mit dem von Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (M. Crohn bzw. Colitis Ulcerosa) zu vergleichen. Die Werte unterschieden sich in keinem Abschnitt der GIT- Passage signifikant voneinander (Ewe *et al.* 1999).



**Abbildung 1.6 – pH - Verlauf im GIT, Bestimmung mittels pH-sensitiver radiotelemetry capsule (RTC) (Evans *et al.* 1988)**

Demgegenüber wurden bei Verwendung einer ähnlichen Testmethode bei einem Teil der Patienten mit aktiver ulzerativer Colitis nur pH-Werte von 2,3 - 3,4 im distalen Dickdarmabschnitt bestimmt. Die pH-Werte im Magen und Dünndarm lagen bei allen Testpersonen im physiologischen Bereich (Fallingborg *et al.* 1993).

### 1.1.2.3 Flüssigkeitstaschen

Mittels Magnetresonanztomographie (MRT) konnte festgestellt werden, dass der Darmtrakt nicht einheitlich mit Flüssigkeit gefüllt ist. Stattdessen existieren Flüssigkeitsnester bzw. -taschen. Bei der Magen-Darm-Passage sind feste Arzneiformen somit nicht im ständigen Kontakt mit Flüssigkeit. Dies kann zu starken Plasmaspiegelschwankungen nach der Einnahme von Retardformulierungen mit Wirkstoffen, die nur eine kurze Halbwertszeit besitzen, führen (Riad *et al.* 1995).

Mittels  $^{99m}\text{Tc}$ -markierten Amberlite Pellets konnte per  $\gamma$ -Szintigraphie ein Füllvolumen von  $170 \pm 40$  ml im aufsteigenden Ast des Colons ermittelt werden (Badley *et al.* 1993). Bei einem Wassergehalt von 86 % im Caecum entspricht dies einem Wasseranteil von  $146 \pm 34$  ml (Cummings & Macfarlane 1991, Macfarlane *et al.* 1998). Schiller *et al.* untersuchten das Phänomen der Flüssigkeitsnester über MRT mittels nichtzerfallenden Kapseln gefüllt mit kontrastgebenden Pellets. Für den Magen konnten Flüssigkeitsvolumina von  $47 \pm 45$  ml (nüchtern) bzw.  $701 \pm 686$  ml (nach Mahlzeit) bestimmt werden. Im Dünndarm lagen diese Werte bei  $83 \pm 105$  ml (nüchtern) bzw.  $39 \pm 54$  ml (nach Mahlzeit). Das geringste Flüssigkeitsvolumen wurde mit  $8 \pm 13$  ml (nüchtern) bzw.  $18 \pm 11$  ml (nach Mahlzeit) im Dickdarm gefunden (Schiller *et al.* 2005). Es wurde gezeigt, dass die Flüssigkeitsmengen in Dünn- und Dickdarm stark variieren. Im Dickdarm ist zudem nur sehr wenig Flüssigkeit zum Lösen des Wirkstoffs vorhanden.

### 1.1.2.4 Mikroflora

Der Mensch besteht aus etwa  $10^{13}$  Zellen. Auf und in sich trägt er zusätzlich zehnmal so viele Bakterien und mehr als 400 Arten. Hiervon besiedeln etwa 99 % den GIT - der Hauptteil ist im Dickdarm angesiedelt (Moore & Holdeman 1975). Aufgrund des niedrigen pH-Wertes im Magen und der Gallensalze, dem Lysozym und der Peristaltik im proximalen Dünndarm sind diese Abschnitte des menschlichen GIT als nahezu keimfrei einzustufen (Friend 1992). Erst im distalen Dünndarmabschnitt sind  $10^3$  -  $10^5$  Keime pro Gramm Darminhalt vorhanden. Hinter der Ileozäkalklappe, im ersten Abschnitt des Dickdarms,

kommt es (v. a. im Caecum) zu einem sprunghaften Anstieg auf  $10^9 - 10^{11}$  Keime pro Gramm Darminhalt (Langner *et al.* 2011). Ein negatives Redoxpotential indiziert das Vorliegen einer vorwiegend anaeroben Mikroflora. Entsprechend Abbildung 1.7 nimmt damit der Anteil anaerober Bakterien im Gastrointestinaltrakt stetig zu. Bei einem Potential von - 200 bis - 250 mV sind etwa  $10^2 - 10^4$  mal mehr Anaerobier als Aerobier im Dickdarm aufzufinden. Hierbei handelt es sich erstrangig um die Spezies *Bacteroides*, *Bifidobacterium* und *Eubacterium*. Die Zusammensetzung dieser Mikroflora ändert sich kaum innerhalb eines gesunden Menschen. Allerdings ist zu beachten, dass eine medikamentöse Therapie (z. B. Antibiotika) oder besondere Essgewohnheiten die Mikroflora aus dem Gleichgewicht bringen können (Friend 1992). Aufgrund von eigenen Regulationsmechanismen kann der physiologische Zustand jedoch in kurzer Zeit wieder hergestellt werden (Prizont & Konigsberg 1981, Simon & Gorbach 1986).

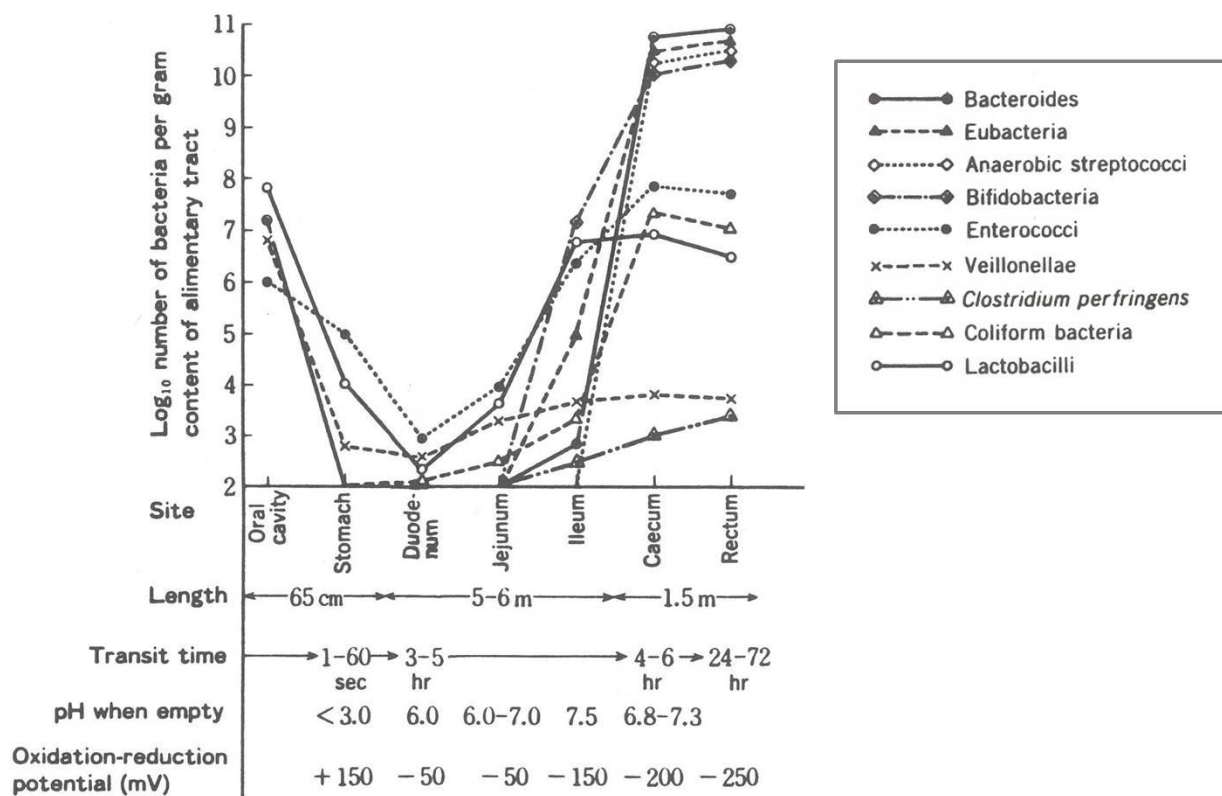


Abbildung 1.7 – Mikroflora im menschlichen Gastrointestinaltrakt (Friend 1992)

Die intestinale Mikroflora sezerniert eine Vielfalt an metabolisch aktiven Enzymen. Neben der Leber, die den Hauptort für die Biotransformation von Wirkstoffen darstellt, kann auch im Gastrointestinaltrakt (GIT) eine beträchtliche Aktivität für Phase I und II Reaktionen gefunden werden. Bezüglich einer potentiellen Peptid- bzw. Proteinformulierung für das Colon-Targeting, muss die Proteaseaktivität im GIT genauer betrachtet werden. Die größte Aktivität zur Spaltung von Peptiden und Proteinen findet sich im Dünndarm, aber auch die Mikroflora im Dickdarm zeigt eine gewisse Aktivität. Im Gegensatz zum Dünndarm können die enzymatischen Reaktionen im Dickdarm durch die Zugabe von Substanzen wie Thiomersal, EDTA und Cystein gehemmt werden. Dies deutet auf Cystein- und Metalloproteasen hin, die von der Dickdarmflora produziert werden. Weitere wichtige Enzymsysteme des Dickdarms sind Nitroreduktasen, Azoreduktasen und Hydrolasen (Friend 1992). Entscheidend für das Colon-Targeting ist, dass erwachsene Säugetiere nur eine geringe mukosale  $\beta$ -Glucosidase- und  $\beta$ -Galaktosidase-Aktivität besitzen, aber eine hohe bakterielle Enzymaktivität im Dickdarm aufzeigen (Malhotra & Philip 1965, Hawkswor *et al.* 1971). So werden Ballaststoffe erst im aufsteigenden Ast des Colons, unter Abgabe von flüchtigen Fettsäuren (z.B. Acetat, Propionat und Butyrat) und Gasen ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ), fermentiert (Cummins 1981). Eine Zusammenstellung von Bakterien und deren durchschnittliche Enzymaktivität ist in Tabelle 1.1 dargestellt.

**Tabelle 1.1 - Durchschnittliche Enzymaktivität diverser Glucosidasen aus den Hauptvertretern der Mikroflora des Darms (Hawkswor *et al.* 1971)**

Enzym	Abgebaute Stoffmenge p – Nitrophenol in $10^8$ bakteriellen Zellen [ $\mu\text{mol}$ ] ( $\hat{=}$ durchschnittlichen Enzymaktivität)					
	Enterobacteria	Enterococci	Lactobacilli	Clostridia	Bacteroides	Bifidobacteria
$\beta$ -D-Galaktosidase	42,4 $\pm$ 3,2	53,8 $\pm$ 6,0	90,6 $\pm$ 10,7	13,7 $\pm$ 2,7	50,7 $\pm$ 4,9	39,1 $\pm$ 4,7
$\beta$ -D-Glucosidase	5,8 $\pm$ 2,5	192,7 $\pm$ 19,5	26,0 $\pm$ 7,4	35,1 $\pm$ 2,7	35,1 $\pm$ 4,8	29,3 $\pm$ 6,0
$\beta$ -D-Glucuronidase	24,7 $\pm$ 2,1	2,9 $\pm$ 0,6	1,6 $\pm$ 0,2	11,3 $\pm$ 2,3	6,0 $\pm$ 3,5	1,9 $\pm$ 0,8
$\alpha$ -D-Galaktosidase	12,7 $\pm$ 2,1	20,8 $\pm$ 4,3	97,7 $\pm$ 12,1	53,1 $\pm$ 8,1	24,0 $\pm$ 4,8	28,2 $\pm$ 3,8
$\alpha$ -D-Glucosidase	5,9 $\pm$ 0,5	14,0 $\pm$ 1,1	26,6 $\pm$ 3,5	30,1 $\pm$ 6,4	9,8 $\pm$ 2,0	20,7 $\pm$ 3,0

## 1.2 Freisetzungsmodelle

Zur Testung von festen Arzneiformen für die dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung dienen die unterschiedlichsten Modelle. Zum einen werden *in vivo* Untersuchungen an Mensch bzw. Tier durchgeführt, zum anderen wird versucht, die sehr komplexe Physiologie des Gastrointestinaltraktes (GIT) *in vitro* nachzuahmen.

### 1.2.1 In vivo- Modelle

Nach der p. o. Einnahme einer festen Arzneiform können, nach Blutentnahme und Extraktion des Wirkstoffs, Plasmaspiegelkurven aufgenommen werden. Aus ethischen Gründen werden in den ersten Entwicklungsphasen von Arzneimitteln nur Tiere zur Applikation von wirkstoffhaltigen Präparaten eingesetzt. Aufgrund der großen Ähnlichkeit in Anatomie, Physiologie und Mikroflora werden meist Schweine, Hunde, Meerschweinchen und Ratten verwendet (Sowmya *et al.* 2012). Zur visuellen Verfolgung der Arzneiform im GIT des Menschen werden heute meistens die  $\gamma$ -Szintigraphie und diverse magnetische Techniken (z.B. Magnetresonanztomographie, MRT) eingesetzt (Wilding *et al.* 2001, Weitschies *et al.* 2010).

*In vivo* Untersuchungen sind optimal zur Simulation des Schicksals fester Arzneiform im GIT. Problematisch ist allerdings die große Variabilität der physiologischen Eigenschaften im Tier bzw. Mensch. Dies betrifft sowohl die Gegebenheiten innerhalb eines Tieres bzw. Menschen je nach Tageszeit, Ernährung, Stress und weiteren Umständen, aber natürlich auch zwischen diversen Individuen. Aufgrund besserer Reproduzierbarkeit und einfacherem Handling werden deshalb zu Beginn der Formulierungsentwicklung *in vitro* Testmethoden bevorzugt.

### 1.2.2 In vitro- Modelle

Am besten definiert und damit am geeignetsten für den Vergleich von diversen Formulierungen sind die vier Apparaturen zur „Bestimmung der Wirkstofffreisetzung aus festen Arzneiformen“ aus dem europäischen Arzneibuch. Standardmäßig werden die Drehkorbchen- und die Blattrührerapparatur (Apparatur 1 bzw. 2) eingesetzt. In einem genormten Vessel wird das Freisetzungsmedium ( $37,0 \pm 0,5$  °C) unter Rühren der Blattrührer (die Arzneiform liegt im Vessel) bzw. Drehen eines Korbchens (inkl. Arzneiform) in Bewegung versetzt. Zu vorher definierten Zeitpunkten wird an der stets gleichen



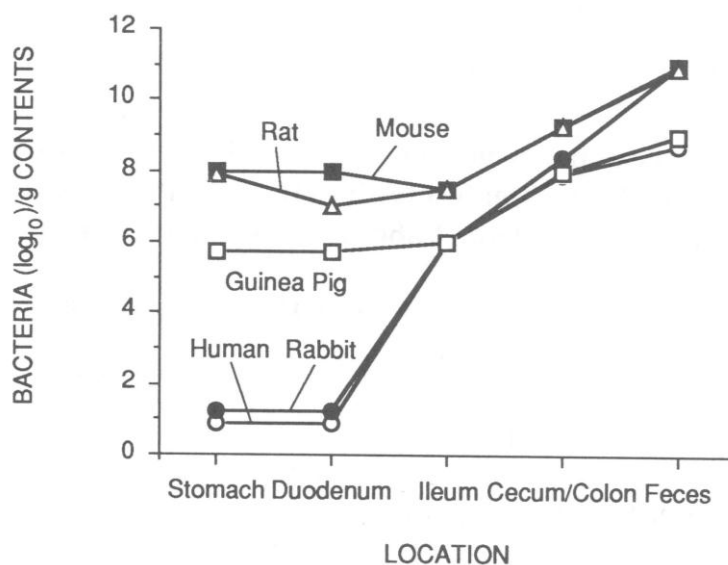
Stelle im Vessel eine Probe entnommen und der freigesetzte Wirkstoffgehalt bestimmt (Ph.Eur., Bauer-Brandl & Ritschel 2012). Bei der Apparatur 3 und 4 (Eintauchende Zylinder bzw. Durchflusszelle) wird die Arzneiform in das Freisetzungsmedium eingetaucht bzw. kontinuierlich von dem Freisetzungsmedium umspült. In der Apparatur 4 (offenes System) herrschen genauso wie unter physiologischen Gegebenheiten echte Sink - Bedingungen. Der freigesetzte Wirkstoff wird dabei ständig aus der Freisetzungszelle abtransportiert. Bei den Apparaturen 1, 2 und 3 handelt es sich um geschlossene Systeme. Das Volumen des Freisetzungsmediums bleibt konstant und dadurch bedingt steigt die Wirkstoffkonzentration stetig an. Durch den Einsatz einer großen Menge an Freisetzungsmedium wird die Wirkstoffkonzentration klein gehalten und erreicht dadurch ebenfalls „sink - Bedingungen“. Die Konzentration soll stets unter 10 % der Sättigungskonzentration liegen, damit der bereits in Lösung gegangene Wirkstoff die noch ausstehende Freisetzung nicht merklich beeinflusst.

Als Freisetzungsmedium werden verdünnte Säuren und vorwiegend Acetat- und Phosphatpuffer eingesetzt, um die pH-Werte von Magen und Darm (pH 1 – 8) zu simulieren. Zur besseren Simulation können auch oberflächenaktive Substanzen (Natriumlaurylsulfat, Tween 80, etc.), Enzyme, viskositätserhöhende Substanzen (z. B. Methylcellulose) oder andere an-/ organische Substanzen, z.B. zur Adaption der Ionenstärke, zugesetzt werden (Ph.Eur., Langguth *et al.* 2004, Bauer-Brandl & Ritschel 2012). Der Nahrungsmiteleinfluss kann mittels speziell zusammengesetzten Medien simuliert werden. Darin enthaltene Gallensalze und Lecithin bilden Mischmizellen, die die Löslichkeit von schwerlöslichen Wirkstoffen beeinflussen können. Die Konzentration dieser Zusätze, Osmolalität und pH-Wert sind hierbei dem nüchternen (*Fasted*) oder gesättigten (*Fed*) Zustand des Magens bzw. Dünndarms angepasst (siehe Tabelle 1.2) (Dressman *et al.* 2008, Bauer-Brandl & Ritschel 2012, Garbacz & Klein 2012).

**Tabelle 1.2 – Zusammensetzung von *Fasted/Fed Simulated Intestinal Fluid (FaSSIF und FeSSIF)* (nach [www.biorelevant.com](http://www.biorelevant.com))**

	FaSSIF	FeSSIF
Na-Taurocholat [mM]	3	15
Lecithin [mM]	0,75	3,75
Osmolalität [mOsmol · kg <sup>-1</sup> ]	270	635
pH-Wert	6,5	5,0

Zur Simulation der Mikroflora im Dickdarm werden Enzyme, Bakterien bzw. Faeces zugesetzt. Hierbei werden jeweils die Enzyme zugesetzt, die die Arzneiform zur Wirkstofffreigabe zwingen sollen. Beispielsweise  $\beta$ -Glucosidase, Pektinase oder Galactomannase zum Abbau von Arzneiformen mit Chitosan, Pektin oder Galactomannan (Macleod *et al.* 1999, Schwalm 2007, Kaur & Kim 2009). Es wird auch die Zugabe von Bakterien in einem zweckmäßigen Nährmedium beschrieben (Tiwari *et al.* 2010). Geeigneter scheint es, Faeces aus Mensch oder Tier dem verwendeten Puffersystem bzw. Nährmedium unterzumischen und aufzubereiten. Wird dabei der Inhalt aus dem Caecum bzw. aufsteigenden Ast des Colons verwendet, wird angenommen, dass sehr hohe Konzentrationen an spezifischen Bakterien mit hoher Enzymaktivität extrahiert werden können. Zudem handelt es sich hierbei um den ersten Teil des Dickdarms. In diesem Abschnitt des GIT soll idealerweise der Wirkstoff aus einer Arzneiform für das Colon-Targeting freigesetzt werden. Die Zugänglichkeit von caecalen Faeces aus dem Menschen ist stark limitiert. Aufgrund der menschenähnlichen Mikroflora im Dickdarm werden tierische Faeces, bevorzugt aus Ratten oder Schweinen, verwendet (Hawksor *et al.* 1971, Kesselhut 1994). Gemischt werden die Faeces mit Puffer, Dünndarmsekret von Ileostomapatienten oder mit einem anaeroben Nährmedium (Wohlschlegel 1990, Sarlikiotis 1992, Bauer 1998, Schwalm 2007, Yang 2008). Die Übereinstimmung von Bakterienzahl bzw.  $\beta$ -D-Glucosidase Aktivität im Dickdarm zwischen Mensch und Ratte kann exemplarisch Abbildung 1.8 und Tabelle 1.3 entnommen werden.



**Abbildung 1.8 - Gastrointestinale Mikroflora des Menschen und diverser Labortiere im GIT (Friend 1992)**

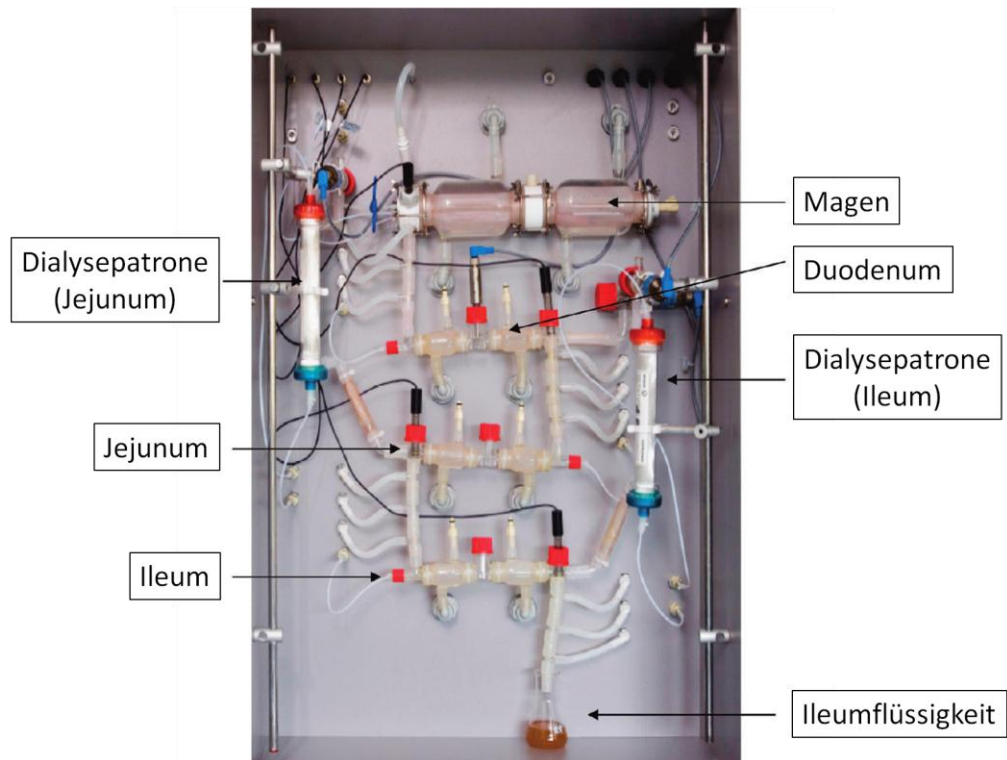
Bei den Untersuchungen wurden 50 Bakterienstämme pro Gruppe untersucht.

**Tabelle 1.3 - Geschätzte bakterielle  $\beta$ -D-Glucosidase Aktivität in diversen Darmabschnitten (Hawkswor *et al.* 1971)**

Spezies	Abgebaute Stoffmenge Nitrophenol- $\beta$ -D-Glucosid von einem Gramm intestinalen Inhalt [ $\mu$ mol] ( $\triangleq$ durchschnittlichen $\beta$ -D-Glucosidase Aktivität)		
	Dünndarm (proximal)	Dünndarm (distal)	Caecum/Colon
Mensch	0,0001	0,004	78
Hase	0,02	0,5	44
Meerschweinchen	0,04	1,0	78
Ratte	3,6	16	94
Maus	17	49	120

In Mehrstufenkultursystemen werden diverse Kompartimente verknüpft. Jedes Vessel bzw. jeder Reaktor entspricht hierbei dem Magen, einem definierten Teil des Dün- oder Dickdarms. Somit können Parameter wie pH-Wert, Mikroflora und Gaszusammensetzung für Caecum, aufsteigenden, querverlaufenden und absteigenden Colonast separat simuliert werden (Molly *et al.* 1993, Macfarlane *et al.* 1998). Noch einen Schritt weiter gehen die, in den Niederlanden entwickelten TIM - Modelle (TNO intestinal models, Firma TNO) bestehend aus sehr vielen Kompartimenten (siehe Abbildung 1.9). Hier werden neben den bereits genannten Parametern auch die Peristaltik und die Absorption von diversen Stoffen simuliert. Eine gute Nachahmung des Gastrointestinaltraktes mit Hilfe der TIM – Modelle konnten *in vitro* – *in vivo* Korrelationsstudien belegen (McAllister 2010, Garbacz & Klein 2012). TIM - 1 simuliert Magen und Dünndarm, TIM - 2 berücksichtigt zusätzlich den Dickdarm. Die TIM – Modelle können den GIT zwar relativ gut simulieren, haben aber auch einige Nachteile. Vor allem der komplexe Aufbau der Apparatur und die lange Vorbereitungszeit für eine Messung limitiert diese Methode für das Screening von neuen Formulierungen für das Colon-Targeting (McAllister 2010). Zur Untersuchung von Filmtabletten für die dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung ist es deshalb günstiger, eine Kombination von Freisetzungsmodellen zu wählen (Yang *et al.* 2002).

In dieser Arbeit wurden die Filmtabletten, zur Simulation der Magen- und Dünndarmpassage, in einer üblichen Blattrührerapparatur freigesetzt. Hierbei kann die vorzeitige Wirkstoffabgabe, vor Erreichen des Dickdarms, von diversen Tablettenchargen verglichen werden. Zudem können die Filmtabletten im Freisetzungsmedium quellen, was

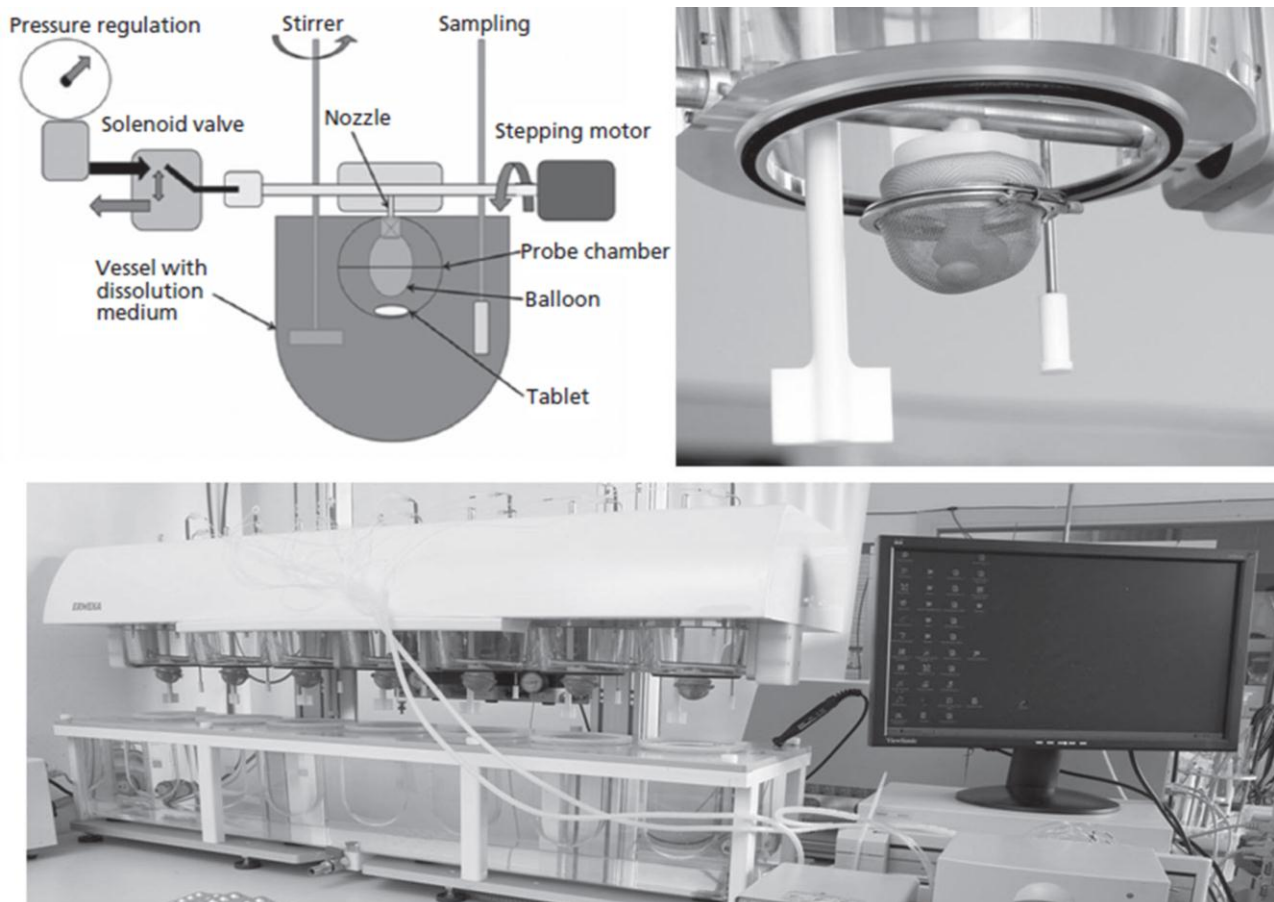


**Abbildung 1.9 –TIM - 1 Modell (McAllister 2010)**

für einen späteren enzymatischen Abbau essentiell ist (vgl. 1.3.2.5). Danach wurden die Filmtabletten in eine Colon-Mikroflora-Test Apparatur transferiert. Diese an der Universität Freiburg entwickelte Methode wird schon seit vielen Jahren eingesetzt und stetig optimiert (Bauer 1998, Schwalm 2007). Hierbei wird eine Blattrührerapparatur verwendet, deren Vessel allerdings nur ein Fassungsvermögen von 150 ml aufweisen. Als Freisetzungsmedium wird eine Mischung aus frischen Faeces aus dem Schweinecaecum und einem anaeroben Nährmedium verwendet (vgl. 3.6). Hiermit können Arzneiformen für das Colon-Targeting auf eine potentielle enzymatische Abbaubarkeit im Dickdarm untersucht werden.

Da mit dieser Apparatur die GIT-Motilität nur schlecht imitiert werden kann, wurden Filmtabletten zusätzlich in einer an der Universität Greifswald entwickelten Freisetzungsapparatur getestet. Diese biorelevante Freisetzungsapparatur kann die mechanischen Stressfaktoren des Gastrointestinaltraktes realistisch simulieren. Es können die intestinalen Drücke, die bei den Kontraktionen des Verdauungstraktes, sowie dem Transit durch den Pylorus und der Ileozäkklappe auf die Filmtablette wirken, nachgeahmt werden (vgl. 1.1.2.1). Zudem hat die Arzneiform nicht permanent Kontakt zu dem Freisetzungsmedium, um das Phänomen der Flüssigkeitstaschen im GIT nachzuahmen (vgl. 1.1.2.3). Zur Simulation dieses Sachverhalts wird die Filmtablette in

ein Körbchen gegeben, das in gewissen Zeitabständen aus dem Freisetzungsmedium hinaus rotiert, wodurch der Kontakt der Tablette zum Freisetzungsmedium teilweise unterbrochen wird. Durch die Drehbewegung werden zudem eine starke Scherung und ein mechanischer Abrieb der Arzneiform an dem Körbchen erreicht. Zusätzlich ist in dem Körbchen ein Ballon installiert. Dieser kann entsprechend der intestinalen Drücke im GIT mit einem definierten Volumen an Gas aufgeblasen werden, um einen erhöhten Stress auf die Filmtablette auszuüben (siehe Abbildung 1.10). Die Testung der Filmtabletten für die dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung kann in dieser Apparatur durchgeführt werden, um die Stabilität bis zum Erreichen des Dickdarms nachzuweisen (kein *dose dumping*). Zusätzlich kann untersucht werden, ob die Filmtablette druckabhängig im Dickdarm zerfällt und den Wirkstoff abgibt (vgl. 1.3.2.4).



**Abbildung 1.10 - Biorelevantes Wirkstofffreisetzungsgesetz zur Simulation der Stressbedingungen im GIT (Garbacz & Klein 2012)**

Oben links: Schematischer Aufbau

Oben rechts: Probenkammer mit Ballon und Tablette, Rührer und Probenzugrohr

Unten: Komplette Freisetzungsvorrichtung

## 1.3 Perorale Arzneiformen für das Colon-Targeting

### 1.3.1 Therapeutische Einsatzgebiete

Durch die dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung können intestinale Erkrankungen lokal behandelt werden. Erkrankungen wie Morbus Crohn, Colitis Ulcerosa, Dickdarmkrebs, Irritable Bowel Disease (IBS) und lokale Infektionen benötigen häufig die perorale Einnahme von hochpotenten und aggressiven Wirkstoffen (Glucocorticoide, Immunsuppressiva, Zytostatika, u. a.). Durch die lokale Wirkung vor Ort können sowohl die applizierten Dosen, als auch die resultierenden Nebenwirkungen reduziert werden. Als weitere Indikationen können hierbei genannt werden: Amöbenruhr, Salmonellose, Bakterienruhr, Dickdarmpolypen, Divertikulose und Divertikulitis (Sowmya *et al.* 2012).

Ein weiterer Aspekt zur lokalen Freisetzung ist die p. o. Applikation von Protein- und Peptidarzneistoffen. Während diese im sauren Milieu des Magens denaturiert werden, werden sie im Dünndarm durch Proteasen gespalten. Zudem ist die Membran des Dünndarms kaum permeabel für Proteine (Lee & Yamamoto 1990). Im Dickdarm ist die Proteaseaktivität geringer und die Absorption von Proteinen und Peptiden konnte gezeigt werden (Yamamoto *et al.* 1994, Tozaki *et al.* 1997). Dennoch reicht die Proteaseaktivität im Dickdarm noch immer aus, um Peptide zu inaktivieren. Tozaki *et al.* mischten frischen Rattenfaeces aus dem Caecum mit Puffer. Nach der Filtration und anschließender Zentrifugation wurde der Einfluss des Überstandes bzw. der Suspension (33%) auf Peptidarzneistoffe untersucht. Bei der Inkubation von Calcitonin mit dem Überstand bzw. der Suspension bestimmten sie für den Peptidabbau Halbwertszeiten von nur  $9,8 \pm 0,4$  min bzw.  $2,5 \pm 0,3$  min. Für Insulin lagen diese Halbwertszeiten zumindest bei  $125,9 \pm 3,4$  min bzw.  $33,6 \pm 5,8$  min (Tozaki *et al.* 1995). Zur Steigerung der Stabilität und Absorption müssen deshalb auch bei der Wirkstofffreisetzung im Dickdarm Hilfsstoffe aus der Gruppe der Proteaseinhibitoren und Absorptionenhancer zugesetzt werden (Nishihata *et al.* 1981, Vanhoogdalem *et al.* 1989, Muranishi 1990).

Bei der Therapie von Asthma bronchiale, Angina pectoris und weiteren Erkrankungen spielt der zirkadiane Rhythmus eine bedeutende Rolle. In der Nacht auftretende Asthmaattacken und am frühen Morgen auftretende Herzanfälle könnten mittels Colon-Targeting verhindert werden. Hierbei ist die konstante Verzögerung zwischen Einnahme und Freisetzung nach Erreichen des Dickdarms entscheidend (Weitschies 2010). Weitere

Gründe für das Colon-Targeting sind die Steigerung der Compliance, sowie die Verlängerung der Wirkstofffreisetzung und die Verlängerung von Patenten aufgrund galenischer Neuentwicklungen (Wilson 2003).

### 1.3.2 Strategien

Zur Erzielung einer dickdarmspezifischen Wirkstofffreisetzung wurden unterschiedlichste Ansätze und Formulierungen untersucht. All diese versuchen die physiologischen bzw. pathophysiologischen Gegebenheiten des Gastrointestinaltraktes auszunutzen (vgl. 1.1.2).

#### 1.3.2.1 Elektronisch gesteuerte Wirkstofffreisetzung

Ähnlich der in 1.1.2.2 beschriebenen pH-sensitiven Kapsel zur Bestimmung der Transitzeit des GIT und zur pH-Bestimmung in diversen GIT Abschnitten ist die sich in Entwicklung befindende iPill der Firma Philips konzipiert. Wie in Abbildung 1.11 dargestellt besteht diese 11 x 26 mm große Kapsel aus einem Arzneistoffreservoir mit Abgabeöffnung, einem Mikroprozessor, einer Pumpe, einem pH- und Temperatursensor, einem Chip, einem Funkmodul und einer Batterie. Durch die Messung von Temperatur und pH-Wert wird die exakte Position im GIT bestimmt. Ist der Zielort erreicht, wird die vorher festgelegte Menge an Arzneistoff per Mikroprozessor gesteuerter Pumpe freigesetzt. Die gemessenen Daten der iPill werden ständig nach außen übertragen. Umgekehrt kann jederzeit über Funk die Arzneistoffabgabe abgeändert oder gestoppt werden. Nach der Darmpassage wird die iPill ausgeschieden (Amer & Badawy 2005, Siebenand 2008). Als problematisch könnten sich ein relativ hoher Preis und die Akzeptanz zum Schlucken einer derartigen Elektronik für die iPill herausstellen.

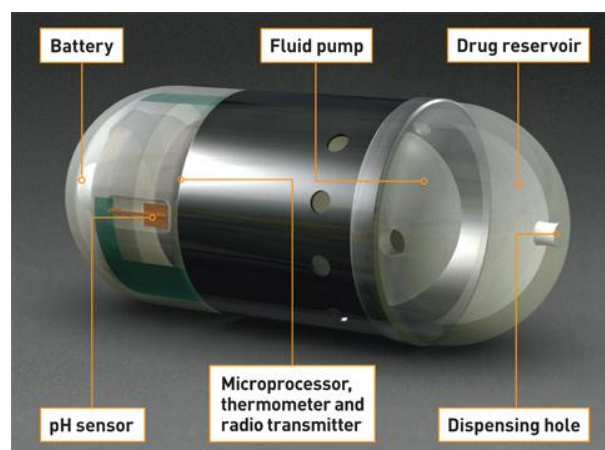


Abbildung 1.11 – iPill (Quelle: <http://mgitecetektech.wordpress.com/2011/11/02/e-pills/>)

### 1.3.2.2 Zeit - kontrolliert

Aufgrund der recht konstanten Passagezeit von Magen und Dünndarm (vgl. 1.1.2.1) wurde versucht, Arzneiformen zu entwickeln, die den Wirkstoff nach etwa 5 - 6 Stunden verzögert freisetzen. Dies entspricht der durchschnittlichen Passagezeit bis zum Dickdarm bei der Einnahme auf nüchternen Magen. Die Mechanismen, die zur Instabilität der Arzneiform nach einem vordefinierten Zeitraum führen, beruhen auf Quellung, Osmose und Erosion.

Ein patentiertes Konzept, basierend auf Quellung, ist die Pulsincap<sup>TM</sup> Kapsel (Hegarty & Atkins 1995, Binns *et al.* 1996, Vandamme *et al.* 2002). Hierbei handelt es sich um eine undurchlässige Kapsel mit einem Hydrogelstopfen, der mit einem magensaftresistenten Film überzogen ist. Nachdem sich dieser Film im Dünndarm aufgelöst hat, quillt das Hydrogel durch Flüssigkeitsaufnahme auf. Nach einer bestimmten Zeit schießt der Stopfen aus der Kapsel heraus und der Wirkstoff wird freigesetzt (siehe Abbildung 1.12). Die Dauer der lag-Phase kann durch die Zusammensetzung und Größe des Hydrogelpfropfs gesteuert werden. Während der Zeitpunkt des Aufplatzens *in vivo* gut steuerbar ist, sind der Freisetzungsort und die –kinetik nicht immer identisch (Weitschies 2010).

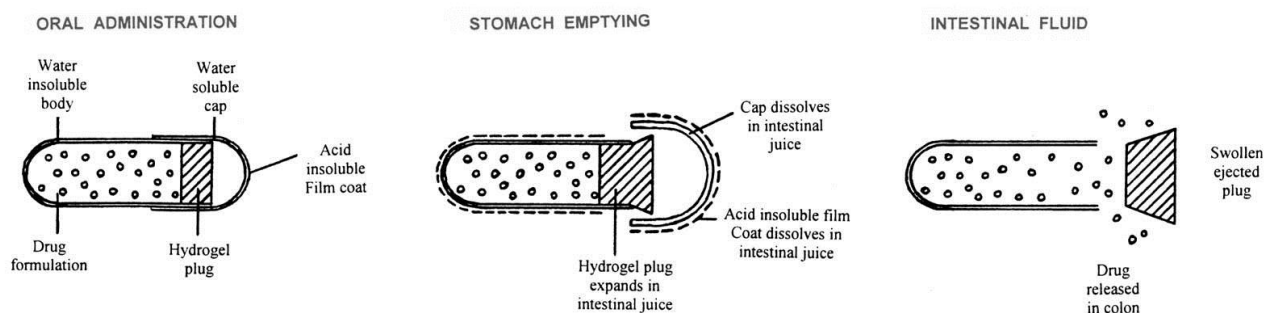


Abbildung 1.12 – Pulsincap<sup>TM</sup> Technologie (Vandamme *et al.* 2002)

Das TIME - CLOCK System ist eine mit Carnaubawachs, Bienenwachs, Polyoxyethylensorbitanmonooleat und Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) überzogene Filmtablette. Der lipophile Film löst sich nach einer Verzögerungszeit von 4 Stunden, unabhängig von pH-Wert, GIT - Peristaltik und Füllungszustand des Magens auf (Pozzi *et al.* 1994, Wilding *et al.* 1994, Steed *et al.* 1997).

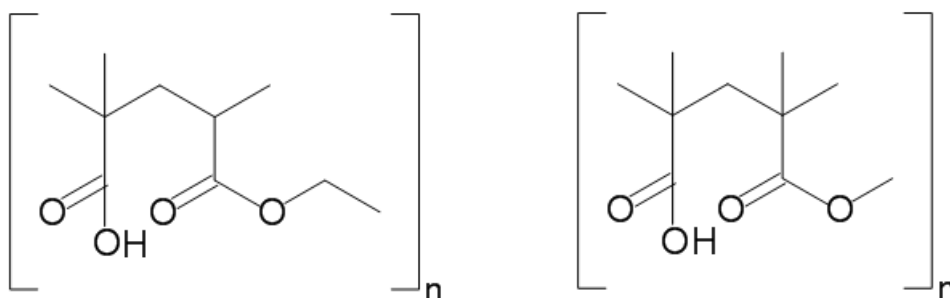


Erosionskontrolliert wurde mittels *Enteric-coated time-release press coated* (ETP) Tabletten versucht eine dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung zu erreichen. Ein schnell freisetzender Tablettenkern enthält bei dieser Formulierung den Wirkstoff. Auf den Kern wird pulverige Hydroxypropylcellulose (HPC) aufgespreßt und anschließend mit einem magensaftresistenten Film überzogen. Nach dem Auflösen dieses Films im Dünndarm beginnt die HPC-Schicht zu erodieren. Durch die Menge und Zusammensetzung des aufgespreßten Polymers kann die Dauer der lag-Phase gesteuert werden. Beim Colon-Targeting würde man somit eine Zeit von 3 – 4 Stunden veranschlagen. Danach setzt der Tablettenkern den Wirkstoff schnell frei (Philip & Philip 2010, Tiwari *et al.* 2010).

Beim *Time-Controlled Explosion System (TES)* wird nacheinander der Wirkstoff, HPC und Ethylcellulose auf Neutralkerne aufgetragen. Nach der Applikation dieser Arzneiform diffundiert Wasser durch die Membran aus Ethylcellulose, woraufhin die darunterliegende L-HPC-Schicht aufquillt. Nach einer vordefinierten Verzögerungszeit platzt die Schicht aus Ethylcellulose, bedingt durch den großen Quelldruck, auf und der Wirkstoff wird freigesetzt (Ueda *et al.* 1994a, Ueda *et al.* 1994b).

### 1.3.2.3 pH - kontrolliert

Dieser Ansatz wird bereits erfolgreich für magensaftresistente Polymere ausgenutzt. Solche wasserunlöslichen Polymere besitzen Carboxylgruppen, welche im sauren Magenmilieu protoniert, im basischen Milieu des Dünndarms hingegen deprotoniert vorliegen. Die entstandene Ladung macht das Polymer so hydrophil, dass es in Lösung geht. Abhängig vom Auflösungs-pH des Polymers wird der Wirkstoff eher im proximalen bzw. distalen Abschnitt des Dünndarms freigesetzt (vgl. Abbildung 1.13 und Tabelle 1.4).



**Abbildung 1.13 – Magensaftresistente Polymere: Eudragit® L 30 D-55 (links) und Eudragit® S (rechts)**

Eudragit® L-55: 1 Teil Methacrylsäure und 1 Teil Ethylacrylat  
 Eudragit® S: 1 Teil Methacrylsäure und 2 Teile Methylmethacrylat

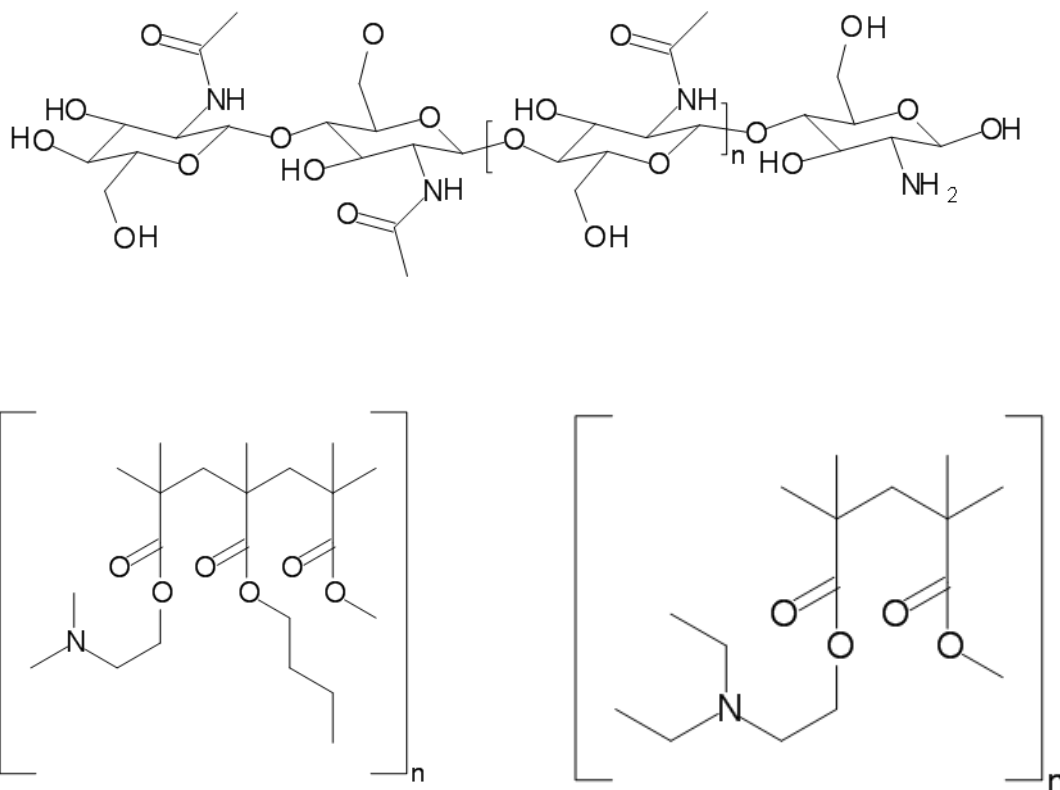
**Tabelle 1.4 – Alkalilösliche filmbildende Polymere und deren Auflösung-pH**

Magensaftresistentes Polymer	Auflösung-pH
Polyvinylacetatphtalat	5,0
Hydroxypropylmethylcellulosephtalat	5,0 – 5,5
Eudragit® L 100-55	5,5
Hydroxypropylmethylcelluloseacetatsuccinat	5,5 – 6,5
Eudragit® L 100	6,0
Celluloseacetatphtalat	6,0 – 6,4
Eudragit® S 100	6,5 – 7,0
Eudragit® FS 30 D	7,0
Schellack	7,2

Bei dem Übergang von Dünndarm zu Dickdarm ist der pH - Sprung viel kleiner (vgl. 1.1.2.2). Im Durchschnitt liegt der pH-Unterschied bei nur 0,5 pH-Einheiten (Evans *et al.* 1988). Allerdings gilt es zu beachten, dass für eine kurze Zeit nach der Überwindung der Ileozäkalklappe der pH-Wert drastisch sinkt (vgl. Abbildung 1.6). Zudem wurden für Patienten mit aktiver Colitis teilweise starke pH-Erniedrigungen gemessen (Fallingborg *et al.* 1993). Dieses Phänomen wurde von anderen Forschungsgruppen wiederum abgestritten (vgl. 1.1.2.2).

Auf dem Markt befindliche Produkte (z.B. Salofalk®) verwenden zumeist übliche magensaftresistente Überzüge (Eudragit® L oder S). Entsprechend des Auflösungs-pHs und der aufgetragenen Filmdicke zerfallen diese Filmtabletten erst am Ende des Dünndarms bzw. im Dickdarm. Schellack und das speziell für das Colon-Targeting entwickelte Eudragit® FS 30 D besitzen den höchsten Auflösungs-pH. Sinha und Kumria verglichen diverse Auftragsmengen von Eudragit® S 100, Celluloseacetatphtalat und Schellack. Die ersten beiden setzten gleich nach der simulierten Magenpassage den Modellwirkstoff recht konstant frei. Nur Schellack mit einem Filmauftrag von drei Prozent zeigte eine Wirkstofffreisetzung von unter fünf Prozent in den ersten vier Stunden im simulierten Dünndarmmilieu. Danach stieg die Wirkstofffreisetzung steil an - so wie für das Colon-Targeting erwünscht (Sinha & Kumria 2003). Das Colon-Targeting Prinzip wird bei diesen Formulierungen verfehlt, wenn wie oben beschrieben der pH-Wert aufgrund einer aktiven Colitis reduziert ist.

Ist der pH-Wert aufgrund einer Entzündung lokal stark gesenkt, kann dieser Sachverhalt wiederum genutzt werden, indem säurelösliche und darmunlösliche Polymere eingesetzt werden. Eudragit<sup>®</sup> E wurde auf Minitabletten diverser Zusammensetzung aufgetragen. Es konnte gezeigt werden, dass im pH-Bereich von 2 – 5 eine schnelle (< 60 min) Wirkstoffabgabe erzielt werden konnte. Bei pH 6,8 blieben die Filmtabletten für über 20 h intakt (Leopold & Eikeler 1998). Für die Auflösung im Caecum, wo es zum kurzen pH- Abfall kommt, scheinen die Auflösungs-pH-Werte der Filmbildner mit Aminogruppen allerdings nicht auszureichen. Sowohl für das Polysaccharid Chitosan, als auch für die Polymethacrylate Eudragit<sup>®</sup> E und Kollicoat<sup>®</sup> Smartseal liegt der Auflösungs-pH bei ~ 5,0 (vgl. Abbildung 1.14).



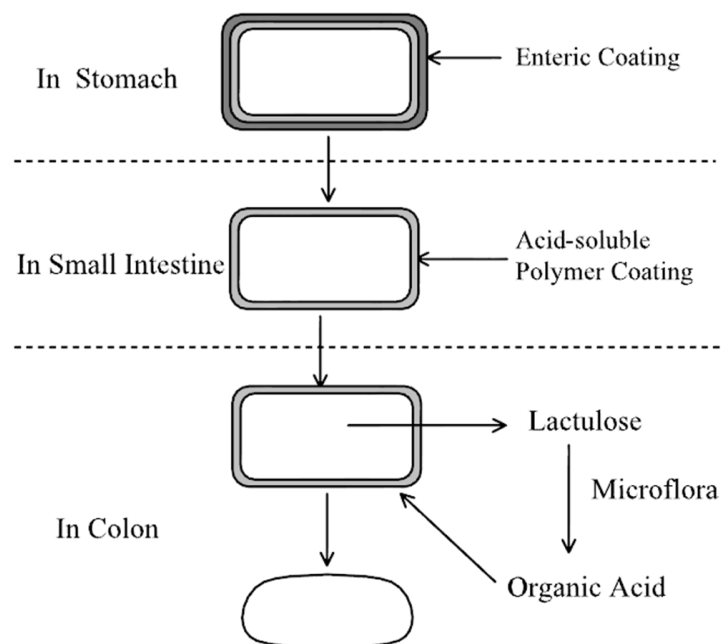
**Abbildung 1.14 – Chitosan (oben), Eudragit<sup>®</sup> E (links) und Kollicoat<sup>®</sup> Smartseal (rechts)**

Eudragit<sup>®</sup> E: 2 Teile Dimethyl-aminoethyl-methacrylat, 1 Teil Butylmethacrylat und 1 Teil Methylmethacrylat

Kollicoat<sup>®</sup> Smartseal: 3 Teile Diethyl-aminoethyl-methacrylat und 7 Teile Methylmethacrylat

Eine Kombination aus pH- und enzymatisch - kontrolliertem Colon-Targeting bietet die CODES<sup>™</sup>-Technologie. Ein säurelösliches Polymer (z.B. Eudragit<sup>®</sup> E), eine HPMC-

Isolierschicht und ein magensaftresistenter Filmüberzug werden auf einen Wirkstoff- und Polysaccharid enthaltenden Tablettenkern aufgetragen. Das verwendete Polysaccharid (z.B. Lactulose) muss, unter Freigabe organischer Säuren, von Enterobakterien abbaubar sein (vgl. 1.1.2.4). Wie in Abbildung 1.15 dargestellt, löst sich der magensaftresistente Überzug im Dünndarm auf. Im Dickdarm diffundiert das Polysaccharid durch den Eudragit® E Film und wird von der hier lokalisierten Mikroflora zu organischer Säure abgebaut. Das nun die Arzneiform umgebende saure Milieu löst die Eudragit® E-Schicht auf und der Wirkstoff wird freigesetzt (Yang *et al.* 2002, Philip & Philip 2010, Tiwari *et al.* 2010). *In vivo* Studien zeigten, dass diese Tabletten in den meisten Fällen im aufsteigenden Ast des Colons aufplatzten. Bei Verzicht auf Lactulose gelangt die Formulierung bis in den absteigenden Ast des Colons oder zerfällt gar nicht im Beobachtungszeitraum von 24 Stunden (Katsuma *et al.* 2004).



**Abbildung 1.15 – CODES™ – Technologie (Yang *et al.* 2002)**

#### 1.3.2.4 Druck - kontrolliert

Ein weiterer Trigger für die dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung sind die im Vergleich zum Dünndarm sehr starken intestinalen Drücke im Dickdarm (vgl. 1.1.2.1). Im Magen und Dünndarm wirkt aufgrund einer relativ großen Menge an Flüssigkeit kein besonders hoher

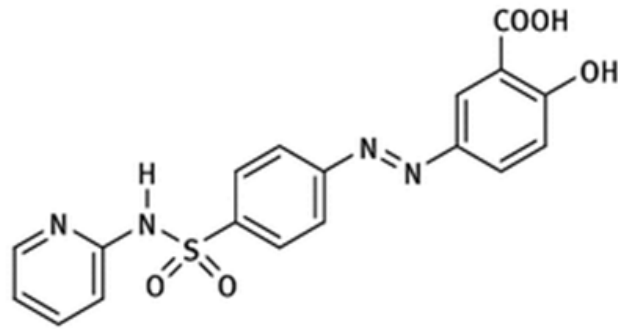
Druck direkt auf die Arzneiform. Durch die Wasserresorption im Dickdarm ist dort nur noch wenig Flüssigkeit vorhanden (vgl. 1.1.1.3 und 1.1.2.1) und die Arzneiform somit direkt den starken Peristaltikwellen ausgesetzt.

Es wurde eine drucksensitive Kapsel mit dem Namen *pressure-controlled colon - delivery capsule (PCDC)* entwickelt. Ähnlich einem Suppositorium ist der Wirkstoff in Macrogol dispergiert. Diese Masse ist wiederum mit Ethylcellulose überzogen. Nach der Applikation der PCDC schmilzt das Macrogol unter Einfluss der Körperwärme und bildet einen mit Flüssigkeit gefüllten Ballon aus. Abhängig von der aufgetragenen Menge an Ethylcellulose, der Kapselgröße und -dicke platzt die Kapsel nach 3 – 5 Stunden auf (Yang *et al.* 2002, Chourasia & Jain 2003, Tiwari *et al.* 2010, Weitschies 2010). Bei Probanden, welchen in PCDC verkapseltes Coffein verabreicht wurde, konnte nach etwa 5 Stunden Coffein im Speichel nachgewiesen werden, was die Funktionsfähigkeit dieses Systems aufzeigt (Muraoka *et al.* 1998).

#### 1.3.2.5 Enzymatisch - kontrolliert

Besonders Erfolg versprechend zum Erzielen einer dickdarmspezifischen Wirkstofffreisetzung ist der steile Anstieg in der Bakterienzahl von  $10^3$  KBE/ml im Dünndarm auf  $10^{11}$  KBE/ml im Dickdarm. Hierbei sind die von den Bakterien produzierten Enzyme entscheidend (1.1.2.4). Azoreduktasen,  $\beta$ -Glucuronidasen, Dextranasen, Esterasen, Nitroreduktasen und weitere Enzyme spalten Prodrugs oder verkürzen die Kettenlänge diverser Polymere.

Das auf dem Markt befindliche Salofalk enthält das Prodrug Sulfasalazin (siehe Abbildung 1.16). Die inaktive Form wird erst im Dickdarm durch die enzymatische Spaltung der Azobrücke aktiviert. Erst dann liegt der antientzündliche Wirkstoff 5 - Aminosalicylsäure (5 - ASA) lokal vor. Peppercorn und Goldman stellten schon 1972 fest, dass nur die Spaltprodukte, nicht aber Sulfasalazin in Caecum, Faeces oder Urin zu finden waren. Nach der Gabe des Antibiotikums Neomycin wurde genauso wie bei der Verabreichung des Wirkstoffs an keimfreien Ratten Sulfasalazin nicht mehr gespalten. Wurden die keimfreien Ratten mit spezifischen Bakterien infiziert, konnten die Spaltprodukte wieder nachgewiesen werden (Peppercorn & Goldman 1972).



**Abbildung 1.16 – Sulfasalazin (Arzneibuch-Kommentar)**

Neben der Azo-Kopplung wurden auch weitere Wirkstoffe mittels unterschiedlichsten Verknüpfungsarten an diverse Träger konjugiert (vgl. Tabelle 1.5). Hierbei muss allerdings bedacht werden, dass jedes neu synthetisierte Prodrug kostenintensive toxikologische und zulassungsrelevante Studien durchlaufen muss (Sinha & Kumria 2001a).

Vielversprechender sind daher enzymatisch abbaubare Polymere, die als Umhüllungsmaterialien, Einbettungsmaterialien, Hydrogele, Manteltabletten, etc. eingesetzt werden. Prinzipiell kann in einem solchen System jeder beliebige Wirkstoff verpackt werden. Entscheidend ist hierbei, dass die im Dickdarm ablaufende Kettenverkürzung der Polymere durch bakterielle Enzyme endoglykosidisch abläuft. Nur dann werden die Polymerketten mittig gespalten und die Stabilität des Filmverbandes, der Matrix oder des Gels geht zunehmend verloren (Bauer 1998).

**Tabelle 1.5 – Verknüpfungsarten in Prodrugs**

Verknüpfungsart	Beispiel
Säureamid	Salicyl-Glutaminsäure-Konjugate
Glykosid	Dexamethason-21-β-D-Glykosid
Glucuronid	Dexamethason- β-D-Glucuronid
Azo	Sulfasalazin
Cyclodextrin	Cyclodextrin-Biphenylelessigsäure-Konjugat
Dextran	Dexamethason-Dextran-Konjugat mit Succinat als Spacer

Entsprechend der Azo - Kopplung bei Sulfasalazin wurden für diesen Targeting Ansatz zuallererst Azopolymere (z.B. Copolymere aus Styrol und Hydroxyethylmethacrylat) synthetisiert. Vernetzte Varianten wurden nur sehr langsam enzymatisch abgebaut. Mit zunehmender Quervernetzung und sinkendem pH-Wert reduzierte sich sowohl die Quellung, als auch die Abbaurate. In einer durchgeführten Studie blieben Kapseln überzogen mit einem Azopolymer für über 32 Stunden in Phosphatpuffer (pH 6,8) stabil. Im simulierten Dickdarmmikrofloramilieu konnte nach 19 Stunden eine Wirkstofffreisetzung von 100% beobachtet werden (Van den Mooter *et al.* 1994). Allerdings konnte nicht eindeutig klargelegt werden, dass die Spaltung enzymatisch und nicht aufgrund des niedrigen Redoxpotentials stattfand (vgl. 1.1.2.4). Hydrophilere lineare Polymere, ohne Quervernetzung, waren für den enzymatischen Abbau besser geeignet, zeigten dafür aber weniger Stabilität gegenüber der Magen- und Dünndarmpassage. Somit gilt es einen Kompromiss in der Hydrophilie/Lipophilie der synthetisierten Polymere zu finden. Ein weiteres Problem der Azopolymere liegt darin, dass toxische aromatische Amine als Spaltprodukte entstehen können (Van den Mooter *et al.* 1992, 1993, Van den Mooter *et al.* 1997, Yang *et al.* 2002).

Polysaccharide sind meist natürlichen Ursprungs (vgl. Tabelle 1.6). Sie sind in großer Menge vorhanden und somit kostengünstig. Physiologisch werden sie von der Dickdarmflora zu Einfachzuckern gespalten und sind nicht zuletzt deswegen allgemein als unbedenklich einzustufen. Bei Bedarf können sie, zur Modifikation ihrer Eigenschaften, leicht chemisch abgeändert werden (Tiwari *et al.* 2010). Eine Übersicht über die am häufigsten eingesetzten Polysaccharide für das Colon-Targeting findet sich in Tabelle 1.6 (vgl. (Sinha & Kumria 2001b, Rajpurohit *et al.* 2010).

**Tabelle 1.6 – Polysaccharide für das Colon-Targeting**

Polymer	Ursprung	Zuckerbausteine	H <sub>2</sub> O-löslich	Einsatzbereich
Alginat	aus Algen	α-L-Guluronsäure β-D-Mannuronsäure	nein	Komplexbildner
Amylose	pflanzlich	D-Glucose	mäßig	„Filmbildner“ *
β-Cyclodextrin	pflanzlich	Glucose	ja	Verbesserung von: Stabilität, Löslichkeit, Bioverfügbarkeit von Wirkstoffen

Polymer	Ursprung	Zuckerbausteine	H <sub>2</sub> O-löslich	Einsatzbereich
Chitosan	tierisch	N-Acetyl-D-Glucosamin (> 50 % deacetyliert)	nein	Filmbildner Kapselmaterial Komplexbildner
Chondroitinsulfat	tierisch	β-1,3-D-Glucuronsäure N-Acetyl-D-Galactosamin	ja	Komplexbildner Porenbildner
Dextran	mikrobiell	D-Glucose	ja	Filmbildner (M <sub>r</sub> >1.000.000) Hydrogelbildner Kapselmaterial
Galactomannan	pflanzlich	Galaktose Mannose	ja	Filmbildner Manteltablette Matrixbildner
Inulin	pflanzlich	D-Fructose Glucose	ja (warmes H <sub>2</sub> O)	Filmbildner Hydrogelbildner
Pektin	pflanzlich	D-Galacturonsäure Galacturonsäure-methylester L-Rhamnose	ja	„Filmbildner“ * Komplexbildner Manteltabletten Matrixtabletten Porenbildner

\* „Filmbildner“ = mäßige Filmbildung; meist in Kombination mit anderen Polymeren eingesetzt.

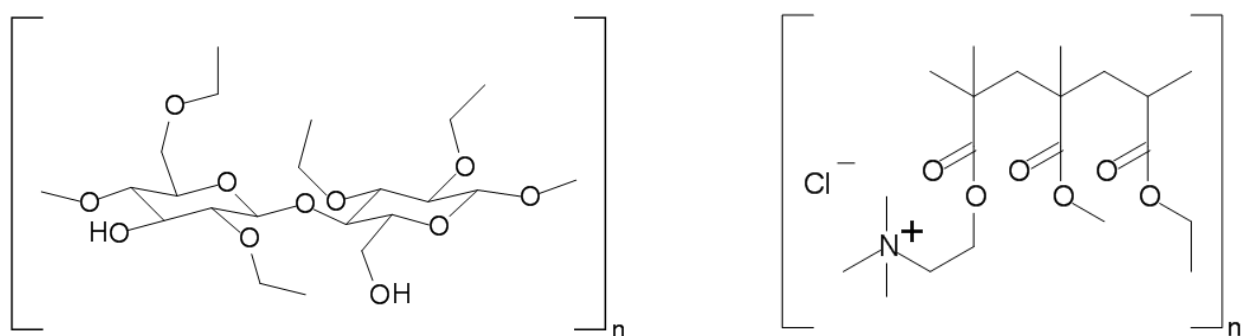
Wasserlösliche Polysaccharide würden sich in Magen bzw. Dünndarm sofort auflösen. Aus diesem Grund wurden diese teilweise synthetisch modifiziert, um die Wasserlöslichkeit und teilweise auch andere Eigenschaften zu ändern. Beispielsweise wurde Dextran mit Fettsäuren (C<sub>2</sub> – C<sub>18</sub>) verestert. Resultierende Dextranfettsäureester mit einem Molekulargewicht von 250.000 g·mol<sup>-1</sup> und einem durchschnittlichen Substitutionsgrad von DS = 0,11 mit Laurylsäure waren nicht mehr wasserlöslich. Zudem waren diese Polymere filmbildend und im Colon-Mikroflora-Test (vgl. 1.2.2 und 3.6) erwiesen sich diese Filme als enzymatisch abbaubar (Kesselhut & Bauer 1995, Bauer 1998).



Ein anderer Ansatz zur Reduzierung der Wasserlöslichkeit ist die Quervernetzung von Polysacchariden. Quervernetzte Dextran - Hydrogele (Hovgaard & Brondsted 1995) und Matrixtabletten aus quervernetztem Chondroitin bzw. Calcium-Pektinat (Rubinstein *et al.* 1992, Rubinstein *et al.* 1993) wurden untersucht. Die Polymere waren nicht mehr wasserlöslich und zeigten einen Trend zur enzymatischen Abbaubarkeit. Ebenso wie für die Azopolymere beschrieben, reduzierten sich auch hier die Quellung und die enzymatische Abbaurate mit zunehmendem Vernetzungsgrad.

Sollen die wasserlöslichen Polysaccharide nicht modifiziert werden, können diese auch mit anderen Polymeren kombiniert werden, um die schnelle Auflösung im oberen Teil des GIT zu verhindern. Manteltabletten mit der Kombination Pektin und Chitosan als Mantel zeigten relativ hohe Stabilität in *in vitro* Untersuchungen. Durch Zugabe von Pektin spaltenden Enzymen konnte die Wirkstofffreisetzung gesteigert werden (Fernandez-Hervas & Fell 1998). Eine Mischung aus Pektin, HPMC und Chitosan, auf radioaktiv markierte Tabletten aufgetragen, zeigte in szintigraphischen Auswertungen recht konstante Transitzeiten von der Einnahme bis zum Erreichen des Colons. Die in der Tablette verbleibende Radioaktivität lag beim Erreichen der Ileozäkalklappe bei etwa 90 % und sank im Colon auf bis zu 10 %. Auch *in vitro* wurde nach der Zugabe von Pektin spaltenden Enzymen bei pH 5,0 eine Freisetzung von 100 % nach nur etwa 3 Stunden erreicht (Macleod *et al.* 1999).

Ein anderer oft untersuchter Ansatz liegt in der Mischung von Polysacchariden mit Polymeren die pH-unabhängig nicht wasserlöslich sind. Zumeist werden hierfür nichtquellbare Retardüberzüge wie Ethylcellulose, das Polymethacrylat Eudragit<sup>®</sup> RS oder das Polyvinylacetat Kollicoat<sup>®</sup> SR eingesetzt (siehe Abbildung 1.17).



**Abbildung 1.17 – Ethylcellulose (links) und Eudragit<sup>®</sup> RS (rechts)**

Eudragit<sup>®</sup> RS: 10 Teile Ethylacrylat, 20 Teile Methylmethacrylat und 1 Teil Trimethyl-ammonioethyl-methacrylat Chlorid

Eine Mischung aus Pektin und Ethylcellulose (1:2) aufgetragen auf Pellets wurde in Ratten getestet. *In vitro* zeigte sich bei Zugabe von Caecuminhalt aus der Ratte eine signifikant höhere Wirkstoffabgabe. *In vivo* wurden die Ratten nach definierten Zeitpunkten getötet und es wurde untersucht, wie viel Wirkstoff (5 - Fluoruracil) im Darminhalt bzw. Darmgewebe auffindbar war. Die Ergebnisse deuteten auf eine vorwiegende Freisetzung im Caecum und Colon hin (Wei *et al.* 2008). Mischungen aus Chitosan und dem retardierenden Überzugsmaterial Kollicoat® SR 30D wurden auf Tabletten bzw. Pellets aufgetragen. Mit zunehmendem Kollicoat® SR Anteil sanken die Quellung und die Freisetzungsrates. Durch die Zugabe von  $\beta$ -Glucosidase bzw. Faeces aus der Ratte konnte die Freisetzung nur schwach gesteigert werden. *In vivo* konnten die Entzündungsparameter von Ratten mit TNBS (2, 4, 6, Trinitrobenzen-Sulfonsäure) induzierter Colitis trotzdem signifikant gesenkt werden (Fan *et al.* 2009, Wei *et al.* 2010).

In der Phase III einer klinischen Studie wird zurzeit das COLAL-PRED® System (Wirkstoff: Prednisolon) gegen die konventionelle Prednisolon-Therapie an Patienten mit akuter ulzerativer Colitis verglichen (Hawkey 2008). Bei dieser Formulierung handelt es sich um Pellets, überzogen mit einer Mischung aus amorpher Amylose und Ethylcellulose. In einem Fermentersystem setzten diese Pellets nach 12 Stunden 100 % Wirkstoff frei, die Negativkontrolle nur etwa 10 %. Auch *in vivo* konnte mittels radioaktiv markierten COLAL-Pellets gezeigt werden, dass die Plasmaspiegel zeitgleich mit dem Erreichen des Caecum anstiegen (McConnell *et al.* 2008). In der klinischen Phase II konnte bereits nachgewiesen werden, dass bei der Behandlung von milden Formen der ulzerativen Kolitis keine Cortison bedingten Nebenwirkungen auftraten. Bei einer Dosis von 40 mg sprachen 35 % und bei einer Dosis von 60 mg sprachen 63 % der Patienten auf die Therapie an (Hanauer & Sparrow 2004).

Idealerweise ist das verwendete Polysaccharid allerdings nicht wasserlöslich. Zudem sollte es gut filmbildend, quellbar und möglichst bereits im Arzneibuch monographiert sein. Chitosan besitzt diese Eigenschaften und wird schon seit längerem in diversen Formulierungen für die dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung untersucht.

Chitosanacetat als Bindemittel für Tabletten überzogen mit Eudragit® L-100 waren über 24 Stunden in 0,1 N HCl (2 h) und folgend in Phosphatpuffer (pH 6,8) stabil. Folglich wurde davon ausgegangen, dass diese Tabletten für das Colon-Targeting eingesetzt werden können, wenn das Chitosan enzymatisch im Dickdarm abgebaut wird (Sinha &

Kumria 2002). Matrixtabletten bestehend aus Wirkstoff und Chitosan bzw. Chitosan-Hydrochlorid setzten Diclofenac-Na und 5-ASA nach Wurzel-t-Kinetik frei. Eine gesteigerte Wirkstoffabgabe bei Zugabe von Caecuminhalt konnte nicht beobachtet werden (Zambito & Di Colo 2003). Viele Arbeitsgruppen untersuchten Chitosan in Form von Mikropartikeln für das Colon-Targeting. Sprühgetrocknete Chitosanpartikeln im Größenbereich von 10 – 20 µm zeigten unter β-Glucosidase Zusatz einen leichten Anstieg in der Wirkstofffreigabe (Orienti *et al.* 2002). Die Herstellung der Mikropartikeln mittels Emulsionsmethode beschrieben die Forschungsgruppen um Varhosaz bzw. Dubey. Die Wirkstofffreisetzung von Chitosan Mikropartikeln (200 - 400 µm) konnte durch Caecumzugabe etwas gesteigert werden (Varshosaz *et al.* 2006). Die 10 – 20 µm großen Mikropartikel (quervernetztes Chitosan), überzogen mit einem Eudragit<sup>®</sup> S Film, zeigten hierbei allerdings keinen Targeting Effekt. Trotzdem konnte *in vivo* die größte Menge an Wirkstoff nach 8 – 10 Stunden im Colon gefunden werden und ein histologisch verbessertes Entzündungsgeschehen beobachtet werden (Dubey *et al.* 2010).

Tozaki *et al.* untersuchten Kapseln bestehend aus einer 40 µm dicken Wand aus Chitosan, überzogen mit einem magensaftresistenten Überzug. Kapseln gefüllt mit Insulin und Na-Glycocholat zeigten *in vitro* 4 Stunden nach Zugabe einer Caecumsuspension eine Wirkstofffreisetzung von 100 %. 6 – 12 Stunden nach der Applikation *in vivo* wurden die Kapseln im Caecum wiedergefunden. Auch die Konzentration an Glucose im Plasma konnte mit diesem System signifikant gesenkt werden (Tozaki *et al.* 1997). In einer weiteren Studie wurde 5-ASA unter Verwendung des gleichen Systems verkapselt. Bei der *in vitro* Freisetzung wurde diesmal ein Wert von 100 % nach 5 – 6 Stunden in der Caecumsuspension erreicht. Entzündungsparameter von Ratten mit TNBS - induzierter Colitis wurden bei Applikation dieser Kapseln stärker gesenkt, als bei der Verabreichung einer Carboxymethylcellulose Suspension mit 5-ASA (Tozaki *et al.* 2002).

Park *et al.* überzogen Prednisontabletten, mittels Tauchverfahren, alternierend mit einer Celluloseacetatphtalat- (CAP), einer Chitosan- und wieder mit einer CAP-Schicht. Der äußere CAP-Film diente zur Magensaftresistenz, um den säureempfindlichen Chitosan-Film zu schützen. Die innere Schicht senkte die Wirkstoffabgabe im oberen GIT. Bei der Wirkstofffreisetzung unter Zugabe von Caecuminhalt konnte kaum Steigerung in der Wirkstoffabgabe gemessen werden. Demgegenüber lag der Masseverlust von reinen Chitosanfilmen im Testmedium bei ca. 40 %, während er in der Negativkontrolle nur bei etwa 5 – 10 % lag (Park *et al.* 2002).

Sekigawa und Yoshiro beschreiben in einem Patent ebenfalls Kerne, auf die ein Film aus Chitosan aufgetragen wird. Diese werden zusätzlich mit einem magensaftresistenten Filmüberzug versehen und können zudem ein Subcoating zur Reduzierung der vorzeitigen Wirkstofffreisetzung in Magen und Dünndarm besitzen. Das Patent beinhaltet Chitosanqualitäten mit einer kinematischen Viskosität von mindestens 30 Centistokes und einem Deacetylierungsgrad von mindestens 85 %. Zur Testung der enzymatischen Abbaubarkeit präparierten sie ein Freisetzungsmedium, bestehend aus menschlichen Faeces und einem Nährmedium. Tabletten mit einem dünnen Film an Chitosan zerfielen nach 70 – 130 Minuten in 100 ml dieses Mediums (37 °C) unter Rühren auf dem Magnetrührer (Sekigawa & Yoshiro 1991).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Aufträge von Chitosan auf Kerne am vielversprechendsten zu sein scheinen, um eine enzymatisch kontrolliertes Colon-Targeting zu erzielen. Bei den bisherigen Ansätzen gibt es allerdings einige Nachteile. Bei der Kapselformulierung sind die hohe vorzeitige Wirkstofffreisetzung (20 %) und die relativ komplexe Herstellung zu nennen. Der Auftrag auf Tabletten ist ein guter Ansatz, allerdings konnten Park et al. keine dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung nachweisen. Sekigawa und Yoshiro beschreiben für ähnliche Filmtabletten zwar den enzymatischen Abbau, aber zum einen bleiben diese Beschreibungen sehr undetailliert und zum anderen scheint die hierfür verwendete Apparatur nicht sehr geeignet zu sein. Zudem werden, bezüglich der Filmtabletten, keine Aussagen über die vorzeitige Wirkstofffreisetzung oder über die Stabilität der Tabletten in Magen und Dünndarm gemacht.

## 1.4 Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit war es, eine Filmtablette zur dickdarmspezifischen Wirkstofffreisetzung zu entwickeln. Mit dem neuartigen Filmcoatingsystem *INNOJET*<sup>®</sup> Air Coater sollen in der Luftgleitschicht diverse Polymere kombiniert auf Tabletten aufgetragen und auf ihre Eignung untersucht werden. Verwendete Materialien sollten bereits im Arzneibuch monographiert sein, um eine Zulassung von neuen Hilfsstoffen zu umgehen. Die Filmtabletten sollen dabei so konzipiert sein, dass sie der Magen- und Dünndarmpassage stand halten und hier möglichst wenig Wirkstoff abgeben. Zur Bestätigung dieses Sachverhalts werden geeignete Testverfahren genutzt. Zudem soll die Filmtablette im Dünndarm eine gewisse Quellfähigkeit aufweisen, um eine enzymatische Wirkstofffreisetzung im Dickdarm zu ermöglichen. Die Abgabe des Wirkstoffes soll möglichst schnell ablaufen, da nur im proximalen Dickdarm genug Flüssigkeit zum Lösen des Wirkstoffes vorliegt. Um dies zu gewährleisten, werden Tablettenkerne eingesetzt, die den Wirkstoff ohne coating sehr schnell freigeben. Zur Testung, ob eine dickdarmspezifische Wirkstoffabgabe erzielt wurde, wurde hierfür die am Lehrstuhl für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie der Universität Freiburg entwickelte Colon-Mikroflora-Test Apparatur (CMT) verwendet. Als Negativkontrolle diente in diesem System ein anaerobes Nährmedium (Schädler Bouillon). Hierfür soll eine bessere Variante gefunden werden, um die bisher verwendete Eignungsprüfung für das Colon-Targeting mittels Spezifitätsfaktor abzulösen (Schwalm 2007). Als Testmedium dient weiterhin die Kombination von frischen Faeces aus dem Caecum des Schweines und Schädler Bouillon. Die bisher verwendete Freisetzungsdauer von 4 Stunden im Dickdarmmilieu soll verlängert werden. Eine Dauer von 8 – 9 Stunden wird dafür veranschlagt, da nur im Zeitraum von 5 – 12 h nach Erreichen des Dickdarms günstige Löslichkeits- und Resorptionsbedingungen für den aus der entwickelten Arzneiform freigesetzten Wirkstoff vorliegen.

## 2 Material und Geräte

### 2.1 Chemikalien

#### 2.1.1 Modellwirkstoff

Als Modellarzneistoff wurde Diclofenac-Na (siehe Abbildung 2.1) eingesetzt. Niedrige Beschaffungskosten, hohe Stabilität, die einfache photometrische Detektion und eine bereits bestehende Analytik für den Colon-Mikroflora-Test waren ausschlaggebend bei der Auswahl.

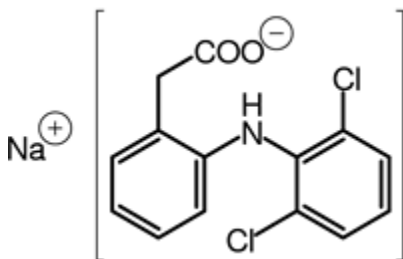


Abbildung 2.1 – Strukturformel von Diclofenac-Na (Arzneibuch-Kommentar)

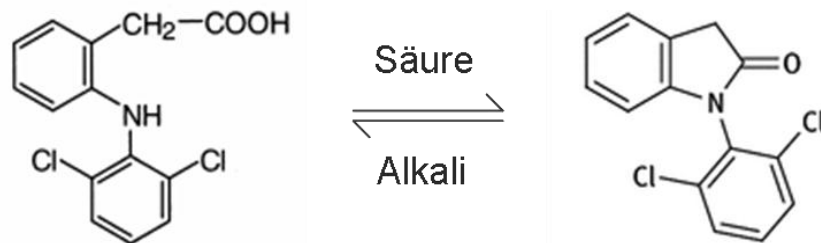
##### 2.1.1.1 Physikalisch-chemische Eigenschaften

Die Löslichkeit des monographierten Natriumsalzes wird mit „wenig löslich“ (30 – 100 ml Wasser sind nötig um 1 g Substanz zu lösen) in Wasser angegeben (Ph.Eur.). Im Kommentar zum Europäischen Arzneibuch wird stattdessen eine Löslichkeit von > 9 g/l (entspricht 111 ml Wasser für 1 g Substanz) in Wasser (pH 5,2) beschrieben (Arzneibuch-Kommentar). ChemIDplus Advanced gibt Löslichkeitsangaben und Verteilungskoeffizienten sowohl für das Natriumsalz, wie auch für die freie Säure an (s. Tabelle 2.1). In Wasser wurde für Diclofenac-Na ein  $pK_s$  - Wert von 4 ermittelt (Florey Bd. 19 bzw. EuAB Kommentar).

Tabelle 2.1 - Löslichkeit von Diclofenac-Säure/-Base (ChemIDplus Advanced)

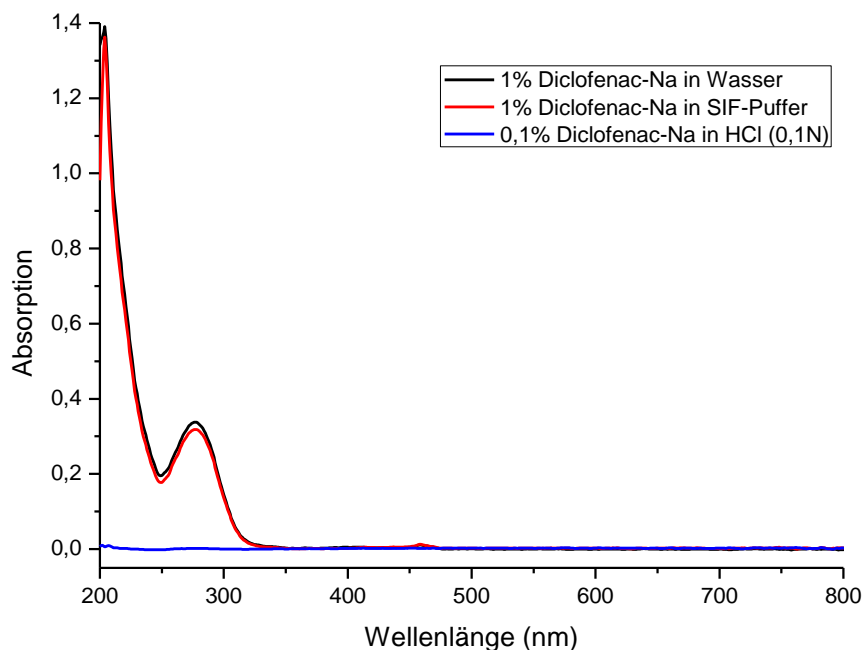
Substanz	Löslichkeit in Wasser (25 °C) [mg/l]	Log $P_{\text{Octanol/Wasser}}$
Diclofenac-Säure	2,37	4,5
Diclofenac-Na	2430	0,7

Unter sauren Bedingungen (z.B. im Magensaft) findet eine intramolekulare Cyclisierung statt. Nach Alkalisierung (z.B. im Darmsaft) erfolgt wieder die Öffnung des gebildeten Ringes (s. Abbildung 2.2).



**Abbildung 2.2 - Intramolekulare Cyclisierung von Diclofenac (Arzneibuch-Kommentar)**

Der EuAB Kommentar beinhaltet UV – Spektren einer 1 %igen Wirkstofflösung in Methanol, Salzsäure (0,1 N) und Natronlauge (0,1 N). UV-Spektren der 1 %igen Lösung in Wasser und SIF-Puffer, sowie 0,1 %ig in HCl (0,1 N) wurden selbst gemessen und sind in Abbildung 2.3 zusammengefasst.



**Abbildung 2.3 - UV-Spektren von Diclofenac-Na in diversen Lösungsmitteln**

### 2.1.1.2 Pharmakologie

Diclofenac-Na gehört zu den nicht steroidal Antirheumatika (NSAR). Begründet in der Hemmung der Cyclooxygenase wirkt der Arzneistoff schmerzlindernd, entzündungshemmend und fiebersenkend (Aktories *et al.* 2005). Folglich wird er überwiegend bei Rheumatischer Arthritis, Muskel- und Gelenkschmerzen in Form von Tabletten, Salben und Gelen in Einzeldosen von 12,5 – 100 mg appliziert. Die Tageshöchst Dosen liegen, je nach Indikation, bei 75 - 150 mg (Mutschler E. *et al.* 2008).

### 2.1.1.3 Pharmakokinetik

Die orale Bioverfügbarkeit liegt aufgrund eines ausgeprägten First – Pass - Effekts bei ca. 50%. In der Literatur werden Halbwertszeiten von 1 - 3 h und eine Plasma-proteinbindung von > 99% angegeben (Steinhilber *et al.* 2010).

### 2.1.1.4 Bezugsquelle

Für die Erstellung von Kalibriergeraden und für die Verpressung von Schmelztabletten benötigtes Diclofenac-Na wurde mit den in Tabelle 2.2 angegebenen Eigenschaften bezogen. Der in den MCC-Kernen (MK, Firma Mepha Pharma AG) enthaltene Wirkstoff entspricht, da diese Kerne die Vorstufe von auf dem Markt erhältlichen Filmtabletten sind, ebenfalls den Anforderungen der Arzneibuchmonographie.

**Tabelle 2.2 - Eigenschaften Diclofenac-Na**

Substanz	Reinheitsgrad	Summenformel	Molmasse	Hersteller
Diclofenac-Na	Ph. Eur. 6.0	$C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$	318,1	Fagron, Barsbüttel

## 2.1.2 Überzugskerne

### 2.1.2.1 MCC-Kerne

MCC-Kerne mit der Zusammensetzung entsprechend Tabelle 2.3 wurden freundlicherweise von der Firma Mepha Pharma AG (Mepha) zur Verfügung gestellt. Die Ergebnisse der Tablettenanalytik können Tabelle 2.4 entnommen werden. Die Oberflächenstruktur der Kerne, aufgenommen am Rasterelektronenmikroskop, ist in Abbildung 2.4 dargestellt.

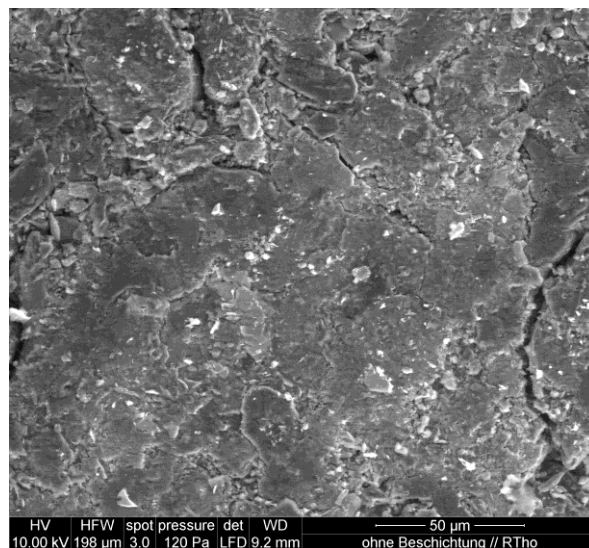


**Tabelle 2.3 - Zusammensetzung MCC-Kerne**

Diclofenac-Na	50 mg
MCC PH 102	n. a.
Na-Carboxymethylstärke	n. a.
Aerosil 200	n. a.
Talk	n. a.
Na-Stearylformurat	n. a.
Pharmacoat® 606	n. a.
Demin. Wasser (flüchtig)	n. a.

**Tabelle 2.4 - MCC-Kerne Tablettenanalytik**

Masse	$220 \pm 33$ mg
Dicke	$3,35 \pm 0,15$ mm
Durchmesser	$8,5 \pm 2$ mm
Bruchfestigkeit	$100 \pm 20$ N

**Abbildung 2.4 - Elektronenmikroskopische Aufnahme der Tablettenoberfläche von MCC-Kernen**

### 2.1.2.2 Schmelztabletten

Kerne bestehend aus Diclofenac-Na, Ludiflash<sup>®</sup> und Na-Stearylformiat (vgl. Tabelle 2.5) wurden selbst verpresst und analysiert. Das genaue Vorgehen bei der Herstellung und die Ergebnisse der Tablettenanalytiken werden in 3.1 und 4.1 beschrieben.

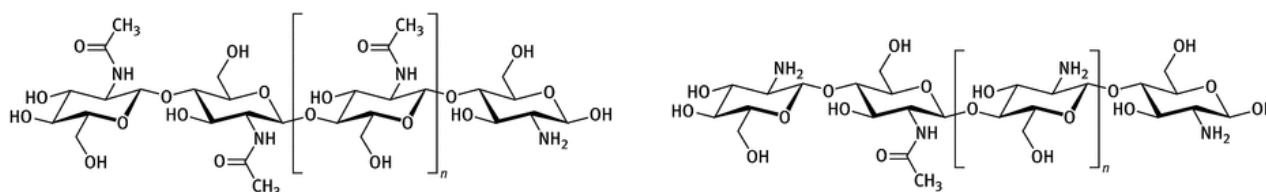
**Tabelle 2.5 - Hilfsstoffe zum Verpressen von Schmelztabletten**

Substanz	Chemische/r Bestandteile/e	Summenformel	Hersteller
Allubra PG-100	Na-Stearylformiat	$C_{22}H_{39}NaO_4$	FMC Biopolymer, Philadelphia, PA, USA
Ludiflash <sup>®</sup>	Mannitol	$C_6H_{14}O_6$	BASF, Ludwigshafen
	Polyvinylpyrrolidon,quervernetzt	$(C_6H_9NO)_n$	
	Polyvinylacetat	$(C_4H_6O_2)_n$	
	Polyvinylpyrrolidon	$C_{6n}H_{9n+2}N_nO_n$	
	Na-Laurylsulfat	$C_{12}H_{25}NaO_4S$	

### 2.1.3 Polymere für das Filmcoating

#### 2.1.3.1 Chitosan

Chitosan ist ein Biopolymer, das vorwiegend aus tierischem Material gewonnen wird. Hierbei wird zunächst das in den Schalen (griechisch: chiton) von Krustentieren (v.a. Garnelen) enthaltene Chitin extrahiert und aufgereinigt. Durch alkalische Hydrolyse entsteht unter partieller Abspaltung von Acetylgruppen Chitosan (vgl. Abbildung 2.5).



**Abbildung 2.5 – Strukturformel von Chitin (links) und Chitosan (rechts) (Arzneibuch-Kommentar)**

Laut Arzneibuch soll der Deacetylierungsgrad (DA) für Chitosan zwischen 70 – 95 % liegen. Mit steigendem Grad der Deacetylierung sinkt die Löslichkeit in Wasser. Bei einem DA von 40 % ist Chitosan bis zu einem pH-Wert von 9,0 löslich, liegt der DA bei 85 % ist Chitosan nur noch bis zu einem pH-Wert von 6,5 löslich (Illum 1998). Entsprechend dem monographierten Hydrochloridsalz wird Chitosan durch Ansäuern in Lösung gebracht (Arzneibuch-Kommentar, Orienti *et al.* 2002, Bigucci *et al.* 2008). Eine ausführliche Charakterisierung von Chitosan diverser Hersteller beschreiben Shepherd *et al.* in ihren Untersuchungen. Werte für die Zusammensetzung, Feuchtigkeitsgehalt, Löslichkeit (bei unterschiedlichen pH-Werten und Ionenstärken) wurden gemessen. Werte zur Beurteilung der mechanischen Festigkeit für einen 65 µm dicken Film aus Chitosan der Firma Sigma sind in Tabelle 2.6 dargestellt. Zum Vergleich wurden die entsprechenden Eigenschaften für Papier und Parafilm „M“ mit angegeben (Shepherd *et al.* 1997).

**Tabelle 2.6 – Dehneigenschaften von Chitosan- und Vergleichsfilmen (Shepherd *et al.* 1997)**

Material	Filmdicke [µm]	Fließgrenze [MPa]	Elastizitätsmodul [MPa]	Bruchspannung [MPa]	Elongation [%]
Chitosan (Sigma)	65	18	225	24	78
Papier	1,2	45	255	46	26
Parafilm „M“	2,8	0,7	3,8	0,7	465

Die enzymatische Abbaubarkeit von Chitosanlösungen untersuchten Zhang und Neau mittels rheologischer Messungen. Hierzu gaben sie  $\beta$ -Glucosidase oder zellassozierte bzw. extrazelluläre Enzyme aus dem Faeces des Caecum und Colon von Ratten zu Chitosanlösungen diverser Kettenlänge bzw. DA. Sowohl  $\beta$ -Glucosidase, als auch extrazelluläre Enzyme senkten die Viskosität der Chitosanlösungen, während zellassozierte Enzyme kaum Effekt zeigten. Bei Verwendung von kürzeren Polymerketten (45.000 g/mol statt 106.000 g/mol) und Chitosan mit eher niedrigen DA (76 % statt 92 %) wurden die höchsten Abbauraten gemessen (Zhang & Neau 2001, 2002).

Neben den für das Colon-Targeting günstigen Löslichkeits- und Filmbildungseigenschaften, sowie der enzymatischen Abbaubarkeit durch Bakterien des Dickdarms, weist Chitosan auch noch weitere Vorteile zur Entwicklung von Filmtabletten auf. Hierbei sind besonders die Nichttoxizität, die Quellbarkeit im basischen Milieu und die

Aufnahme von Chitosan im Arzneibuch seit der 4. Ausgabe zu nennen (Arzneibuch-Kommentar, Shepherd *et al.* 1997).

Pulverisiertes Chitosan wurde von der Heppe Medical Chitosan GmbH (Halle) und Sigma-Aldrich (Steinheim) bezogen. Die vom Hersteller angegebenen Spezifikationen und selbst gemessene Eigenschaften finden sich in Tabelle 2.7 und Tabelle 2.8 wieder. Zu Untersuchungszwecken wurde die Spezifikation Chitosan LMW, aufgrund der großen Chargeninhomogenität, im Folgenden in Chitosan VLMW und LMW unterteilt.

**Tabelle 2.7 – Chitosan-Spezifikationen der Hersteller**

Name	Hersteller	DA [%]	Viskosität * [mPas]
95/5	Heppe Medical Chitosan GmbH	> 92,6	< 7
95/10			8 – 15
95/20			16 – 30
95/50			31 – 70
LMW	Sigma-Aldrich	> 75	20 - 300
MMW			200 – 800
HMW			800 – 2000

\*Die Viskosität wird jeweils von einer 1 %igen Lösung in Essigsäure (1 %) im Brookfield Viskosimeter bestimmt.

**Tabelle 2.8 - Spezifikationen der eingesetzten Chitosan Chargen**

Name	Hersteller	Viskosität * [mPas]	DA [%]	Viskosität *	Molmasse	Coating
		Herstellerangabe		Verwendete Charge für o. g. Bestimmung		
95/5	Heppe Medical Chitosan GmbH	7	94,3	√	√	v
95/10		13	94,5	√		
		10	98,4		√	√
95/20		19	92,7	√	Mischung aus: 7 Teilen (19 mPas) und 3 Teilen (23 mPas)	
		23	92,8			
95/50	65	93,1	√	√	√	

Name	Hersteller	Viskosität * [mPas]	DA [%]	Viskosität *	Molmasse	Coating
Chitosan VLMW	Sigma- Aldrich	35	96,1	√	√	√
Chitosan LMW		46	91,7	√	√	√
Chitosan MMW		590	80,0		√	√
Chitosan HMW		1218	78,0	√	√	√

\*Die Viskosität wird jeweils von einer 1 %igen Lösung in Essigsäure (1 %) im Brookfield Viskosimeter bestimmt. Die mit √ markierte Spezifikation wurde für die entsprechende Anwendung/Bestimmung eingesetzt.

### 2.1.3.2 Sonstige Polymere

Neben Chitosan wurden weitere Polymere zum Überziehen von Tabletten eingesetzt (siehe Tabelle 2.9). Die Polymere wurden entweder als zusätzliche Schichten oder in einer Mischung mit Chitosan aufgetragen.

**Tabelle 2.9 - Filmbildende Polymere**

Substanz	Chemische Bezeichnung	Molmasse [g/mol] Viskosität (mPas) *	Hersteller
Aqualacca® 25	Schellack	n. a.	Chemacon, Bühl
Eudragit® L 30D-55	Methacrylsäure- Ethylacrylat-Copolymer	~ 320.000 g/mol	Evonik Röhm GmbH, Darmstadt
Eudragit® RS 30D	Ammoniummethacrylat- Copolymer	~ 32.000 g/mol	
Kollocoat® Smartseal 30 D	Basisches Butymethacrylat- Copolymer	~ 200.000 g/mol	BASF SE, Ludwigshafen
Pharmacoat® 606	Hydroxypropyl- methylcellulose (HPMC)	6 mPas	Shin-Etsu, Tokio, Japan

\* 2 %ige Lösung in Wasser

### 2.1.4 Hilfsstoffe zur Herstellung von Überzugsdispersionen

Neben den filmbildenden Polymeren selbst werden zur Herstellung der Dispersionen noch weitere Hilfsstoffe benötigt. Als Dispersionsmittel wurde stets gereinigtes Wasser verwendet. Alle weiteren Hilfsstoffe sind in Tabelle 2.10 angegeben.

**Tabelle 2.10 - Hilfsstoffe zur Herstellung von Überzugsdispersionen**

Substanz	Reinheitsgrad	Abkürzung oder Summenformel	Molmasse [g/mol]	Hersteller
Butylhydroxytoluol	≥ 99,8 %	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220,34	Carl Roth, Karlsruhe
Essigsäure 100%	p.A.	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	60,05	
Stearinsäure 50	Ph. Eur. 5.6	Hauptsächlich C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub> C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	284,5 256,4	Caesar & Loretz GmbH, Hilden
Talcum albiss pulvis	Ph. Eur. 6.6.	Mg <sub>3</sub> Si <sub>4</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>2</sub>	379,3	
Triethylcitrat	≥ 98,0 %	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	376,28	Aldrich Chemistry, Steinheim

### 2.1.5 Hilfsstoffe zur Herstellung von Freisetzungsmitteln

Zur Simulation der Magensäure wurde entweder HCl (0,1 N) oder *Simulated Gastric Fluid (SGF)* entsprechend der *USP* eingesetzt. Zur Herstellung von *SGF* wurden 2 g NaCl und 3 g Salzsäure (37 %) in einem Liter Wasser gelöst und der pH-Wert auf 1,8 ± 0,05 eingestellt. Als Dünndarmflüssigkeit wurden diverse Acetat- und Phosphatpuffer verwendet. Die recht komplex zusammengesetzte Dickdarmflüssigkeit, welche als Freisetzungsmittel beim CMT eingesetzt wurde, wird unter 3.6.2.2 genauer beschrieben.

**Tabelle 2.11 – Hilfsstoffe zur Herstellung von Freisetzungsmitteln**

Substanz	Reinheitsgrad	Abkürzung oder Summenformel	Molmasse [g/mol]	Hersteller
β-Glucosidase	Aktivität 2500 u/mg	x	x	MP Biomedicals
Essigsäure 100%	p.A.	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	60,05	Carl Roth, Karlsruhe
Kalium-Dihydrogenphosphat	≥ 98,0%	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	136,09	
Kaliumhydroxid	≥ 85%	KOH	56,11	
Natriumchlorid	≥ 99,0%	NaCl	58,44	
Natriumhydroxid granuliert	p.A.	NaOH	40,00	Merck, Darmstadt
Salzsäure rauchend 37%	p.A.	HCl	34,46	Carl Roth, Karlsruhe

## 2.1.6 Herstellung der Medien für Freisetzungs- und Zerfallsuntersuchungen

### 2.1.6.1 Pufferlösungen

Zur Herstellung der Pufferlösungen wurden die Substanzen, wie in Tabelle 2.12 angegeben, in einen Messkolben eingewogen. Nach dem Auffüllen bis knapp unter der Eichmarkierung wurde so lange auf einer Magnetrührplatte gerührt, bis alle Substanzen gelöst waren. Danach wurde der pH-Wert gemessen und wenn nötig mit HCl bzw. NaOH auf den gewünschten Wert ( $\pm 0,05$  pH-Einheiten) eingestellt. Abschließend wurde die Pufferlösung bis zur Eichmarkierung mit Wasser aufgefüllt.

Der Phosphatpuffer pH 6,8 mit NaCl-Zusatz dient standardmäßig als Freisetzungsmilieu zur Simulation des Dünndarmmilieus. Im Folgenden wird dieser deswegen nur noch als *Simulated-Intestinal-Fluid* Puffer (SIF-Puffer) bezeichnet. Wurde bei der Wirkstofffreisetzung nichts anderes angegeben, wurde SIF-Puffer verwendet.

**Tabelle 2.12 - Zusammensetzung der Pufferlösungen**

	Acetatpuffer	Phosphatpuffer				
	pH 5,0	pH 5,5	pH 6,0	pH 6,4	pH 6,6	pH 6,8 (SIF)
Essigsäure [ $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ]	120,00					
KOH (0,1 N) [ $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ]	100,00					
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ [ $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ]		13,12	6,80	6,80	6,80	6,80
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ [ $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ]		1,29				
NaOH [ $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ]			0,23			
NaOH (0,2 N) [ $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ]				58,00	82,00	77,00
NaCl [ $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ]						0,58
Eingestellter pH-Wert $\pm 0,05$	5,00	5,50	6,00	6,40	6,60	6,80

### 2.1.6.2 FaSSIF und FeSSIF

Die wichtigsten Daten der Medien *Fasted Simulated Intestinal Fluid* (FaSSIF) bzw. *Fed Simulated Intestinal Fluid* (FeSSIF) der Firma biorelevant.com (Croydon, UK) sind in Tabelle 1.2 angegeben.

### 2.1.6.3 Schädler Bouillon

24,99 g Lyophilisat der BBL Schädler Bouillon (Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA) (siehe Tabelle 2.13) wurden in 880 ml gereinigtem und entgastem Wasser unter Zufuhr von Wärme so lange auf der Magnetrührerplatte gerührt, bis das gesamte Pulver gelöst war. Danach wurde die Bouillon unter Standardbedingungen autoklaviert (121 °C, 2 bar, 15 min). Die Herstellung des Freisetzungsmediums für den CMT, bestehend aus Schweinecaecuminhalt und Schädler Bouillon, wird unter 3.6.2.2 beschrieben.

**Tabelle 2.13 – Zusammensetzung von Schädler Bouillon**

Substanz	Masse [g]
Enzymatische Spaltprodukte von Casein durch Enzyme des Pankreas	8,1
Enzymatischer Spaltprodukte von Tiergewebe durch Pepsin	2,5
Enzymatischer Spaltprodukte von Sojamehl durch Papain	1,0
Dextrose	5,82
Hefeextrakt	5,0
Natriumchlorid	1,7
Di-Kalium-Hydrogenphosphat	0,82
Hämin	0,01
L-Cystin	0,4
TRIS(hydroxymethyl)-aminomethan	3,0

### 2.1.7 Antibiotika

Beim CMT wurden dem Negativkontrollmedium die Antibiotika aus Tabelle 2.14 zugesetzt.

**Tabelle 2.14 - Antibiotika**

Beschreibung	Hersteller
Apramycin (100 mg/ml – 1,5 ml)	Carl Roth, Karlsruhe
Fosfomycin (200 mg/ml – 1,5 ml)	



## 2.1.8 Farbstoffe

Tabelle 2.15 - Farbstoffe

Substanz	Reinheitsgrad	Summenformel	Molmasse [g/mol]	Hersteller/ Herstellungsverfahren
Methylenblau	für die Mikroskopie	$C_{16}H_{18}ClN_3S$	319,9	Carl Roth, Karlsruhe

## 2.1.9 Lösungsmittel, Säuren und Laugen

Tabelle 2.16 - Lösungsmittel, Säuren und Laugen

Substanz	Reinheitsgrad	Summenformel	Molmasse [g/mol]	Hersteller/ Herstellungsverfahren
Acetonitril	HPLC grade	$C_2H_3N$	41,05	Sigma-Aldrich, Steinheim
Diethylether	p. A.	$C_4H_{10}O$	74,12	Carl Roth, Karlsruhe
Ethylacetat	HPLC grade	$C_4H_8O_2$	88,11	
Methanol	HPLC grade	$CH_4O$	32,04	Sigma-Aldrich, Steinheim
Wasser	gereinigt (Leitfähigkeit $< 1\mu S \cdot cm^{-1}$ )	$H_2O$	18,02	Ionenaustausch (Mischbettverfahren) aus Trinkwasser
Wasser, reinst	reinst (Leitfähigkeit $< 0,055 \mu S \cdot cm^{-1}$ )	$H_2O$	18,02	Aktivkohle-, UV- Behandlung und hochreiner Ionenaustausch aus gereinigtem Wasser

## 2.2 Verbrauchsmaterialien

Tabelle 2.17 – Verbrauchsmaterialien

Beschreibung	Artikelbezeichnung	Hersteller
12 – Well - Platte	Multiwell 12 Well	Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA
Einmalfilter zur Pufferfiltration	Sartolab - P20 0,20 µm IN	Sartorius-stedim biotech, Göttingen
Einmalpasteurpipetten aus LD - PE	Transferpipette 3,5 ml	Sarstedt, Nümbrecht
Einmalspritzen	Injekt 5, 10, 20 ml	Braun, Melsungen
	Omnifix - F 1 ml	
Glasfaserfilter	Rezist 30/GF92	Whatman, Dassel
Multipipettenspitzen	Combitips <sup>®</sup> plus 10, 25, 50 ml	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen für Gilson Microman Pipetten	CP - 100, CP - 1000	Gilson, Middleton,WI, USA
Pipettenspitzen, verschiedene Größen		Eppendorf, Hamburg Abimed, Langenfeld
PP Probenvial 2 ml	Safe Seal Reagiergefäß 2 ml, PP	Sarstedt, Nümbrecht
Probenröhrchen	Falcontube 15 und 50 ml	Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA
Rollrandgläschen	Rotilabo <sup>®</sup> -Rollrandfläschchen, langer Hals 10, 20 ml	Carl Roth, Karlsruhe
Rundfilter aus Papier		Schleicher & Schuell, Dassel
Sichtindikatorband für Wasserdampfsterilisation	Comply <sup>TM</sup> Steam Indicator Tape	3M, St. Paul, Minnesota, USA
Schläuche	Silikonschläuche 1x1 und 2x1 (Innendurchmesser x Wandstärke)	Medorex e.K., Nörten-Hardenberg
Spritzenvorsatzfilter 0,20 µm	Minisart 0,2 µm	Sartorius, Göttingen
Spritzenvorsatzfilter 0,45 µm	Rotilabo <sup>®</sup> - Spritzenfilter, PTFE, unsteril 0,20 µm	Carl Roth, Karlsruhe
	Minisart RC 15 0,45 µm	Sartorius, Göttingen
System zur Erzeugung eines anaeroben Milieus	Anaerocult A	Merck, Darmstadt
	AnaeroGen	Oxoid, Basingstoke, UK
Verschlussfolie	Parafilm PM996	Alcan Packaging, Paris, F

Vials für HPLC	1,5 ml Gewindeflasche, klar 32 x 11,6 mm mit 8 mm gelochter PP - Schraubkappe und Silikon/PTFE – Septum (1,3 mm)	VWR International, Darmstadt
Wurstgarn		Cona Cord, Lippstadt

## 2.3 Geräte

Tabelle 2.18 – Geräte

Gerät	Typenbezeichnung	Hersteller
Anaerobentopf 2,5 l		Merck, Darmstadt
Analysensiebmaschine	Vibrationssiebmaschine AS 200 digit	Retsch Technology, Haan
Autoklav	Tuttnauer 3870 EL	Biomedis, Gießen
Bruchfestigkeitstester	PTB 311	Pharma Test, Hainburg
CMT - Apparatur	Modifizierte Erweka DT6 Apparatur	Eigenbau P. Wiest, Pharmazeutisches Institut, Universität Freiburg
Dispergierer	Miccra D-27	ART Prozess- & Labortechnik, Müllheim
	Ultra Turrax	IKA-Werke, Staufen
DSC	DSC 200 F3	Netzsch, Selb
DSC - Software	Proteus Thermal Analysis	
DSC - Aluminiumtiegel mit Deckel		
Elektronische digitale Mikrometerschraube		Albrecht, Freiburg
Elektronische Pipettierhilfe	Multipette® plus	Eppendorf, Hamburg
Filmcoating - Apparatur	InnoJET AirCoater 025	Innojet, Steinen
Filmcoating – Apparatur - Ringspaltdüse	InnoJET Rotojet Nozzle 2	
Filmziehgerät	Erichsen 509/1 mit Temperiereinheit und Rakel	Erichsen, Hemer
Freisetzungsapparatur	Sotax AT 7	Sotax, Allschwil/Basel, CH

Gerät	Typenbezeichnung	Hersteller
Friabilitätsprüfgerät	PTF E	Pharma Test, Hainburg
HPLC - Anlage	Alliance Separations Module 2695 mit PDA Detektor 2996	Waters, Milford, MA, USA
HPLC - RP - Säule	CC 125/4 Nucleosil 100-5 C18 HD	Macherey-Nagel, Düren
HPLC - Vorsäule	LiChroCart® 4-4 LiChrospher® 100 RP-18 (5 µm)	Merck, Darmstadt
HPLC Software	Empower 2	Waters, Milford, MA, USA
Ionenaustauscher (Mischbettverfahren)		Hydrotec T. Opitz, Freiburg
IR - Waage	Thermo control Infrarot Trockner	Sartorius, Göttingen
Kolbenhubpipetten für organische Lösungsmittel, verschiedene Pipettierolumina	Gilson Microman	Gilson, Middleton, WI, USA
Kolbenhubpipetten für wässrige Lösungen, verschiedene Pipettierolumina		Gilson, Middleton, WI, USA Abimed, Langenfeld
Magnetrührer	Heidolph MR 3001 K	Heidolph, Schwabach
	Heidolph MR Hei - Mix	
	RET Basic	IKA-Werke, Staufen
Membranpumpe	Membranpumpe MZ 2 C	Vacuubrand, Wertheim
(Licht-)Mikroskop	Auflichtmikroskop Stemi 2000 C	Carl Zeiss Microscopy, Göttingen
	Auflichtmikroskop Axioskop	
Mikroskop - Kaltlichtquelle	SteREO CL 1500 ECO	
Mikroskop - Kamera	AxioCam ICC7	
Mikroskop - Software	Axiovision 4.8.2	
(Elektronen-) Mikroskop	Rasterelektronenmikroskop FEI Quanta FEG 250	FEI, Hillsboro, OR, USA
Mikroskop - Software	xT microscope Control000	
Partikelanalysator	Analysette 22	Fritsch, Idar-Oberstein
Partikelanalysator	Horiba LA - 920	Retsch Technology, Haan
pH - Meter	Seven Easy	Mettler-Toledo, Gießen

Gerät	Typenbezeichnung	Hersteller
	Seven Compact pH/Ion	
pH - Meter Glaselektrode	InLab® Expert Pro pH	
Photometer	Lambda XLS	
Photometer - Quarzküvette	UV/VIS Spektroskopiezelle 10,00 mm	Perkin Elmer, Beaconsfield, UK
Photometer - Software	Lambda Bio XLS Report Utility	
Propellerrührer	Laborrührer RZR1	Heidolph, Kelheim
Rieseltrichter zur Untersuchung des Fließverhaltens von Pulver	RTG Rieseltrichter mit Halterung nach DIN ISO 4324	HWS Labortechnik, Mainz
Schlauchquetschpumpe zur Puffer-Filtration		Filtron, Karlstein
Schüttler	VWR Vortexer Schüttler	VWR International, Darmstadt
Schwingmühle	Schwingmühle MM 400 CryoMill	Retsch Technology, Haan
Skalpell		Schreiber Instrumente, Fridingen
Sprühtrockner	Büchi 190 Mini Spray Dryer	Büchi, Flawil, CH
Stampfvolumeter	PT-TD 1	Pharma Test, Hainburg
Tablettenpresse	Exzenterpresse EK0	Korsch, Berlin
Taumelmischer	Turbula T 2 F	Willy A. Bachofen, Muttenz, CH
Temperier- und Mischapparatur	Thermomixer comfort	Eppendorf, Hamburg
Vakuumkonzentrator	RVC 2-18	Christ, Osterode
Viskosimeter Rotationsviskosimeter	RheoStress RS 100 mit TC 81 Peltier	
Viskosimeter Rotationsviskosimeter - Software	Haake RheoWin Pro	Thermo Haake, Karlsruhe
Viskosimeter Kapillarviskosimeter nach Ubbelohde	SI Analytics Kapillarviskosimeter Typ 50130/III	SI Analytics, Mainz
	AT 261 Delta Range (Analysewaage)	Mettler-Toledo, Gießen
Waage	ABJ Analysewaage	Kern & Sohn, Balingen
	Sartorius excellence (Laborwaage)	Sartorius, Göttingen

Gerät	Typenbezeichnung	Hersteller
	Sartorius laboratory (Laborwaage)	
	Sartorius universal (Laborwaage)	
	Kern EWB Präzisionswaage (Laborwaage)	Kern & Sohn, Balingen
Wärmeschrank		Memmert, Büchenbach
	Trockenschrank FD	Binder, Tuttlingen
Wasserbad	GFL 1086	Gesellschaft für Labortechnik, Burgwedel
	GFL 1002	Gesellschaft für Labortechnik, Burgwedel
Zentrifuge	Hermle ZK 382	Hermle Labortechnik, Wehingen
Zerfallstester	PTZ Auto 02 EZ	Pharma Test, Hainburg

## 3 Methoden

### 3.1 Schmelztabletten

Neben den verwendeten MCC-Kernen der Firma Mepha (siehe 2.1.2.1) wurden zusätzlich Schmelztabletten verpresst. An dieser Stelle soll daraufhin gewiesen werden, dass die hergestellten Schmelztabletten nicht im Sinne der typischen Anwendung dieser Arzneiform eingesetzt wurden. Die hier hergestellten Tabletten sollen nicht innerhalb weniger Sekunden oral zerfallen, sondern werden mit einem Polymerfilm versehen und peroral eingenommen.

Es wird davon ausgegangen, dass sich die Schmelztabletten innerhalb des Filmverbandes aufgrund sehr gut löslicher Hilfsstoffe schneller auflösen als MCC-Kerne und folglich, nach Aufbrechen der Filmtablette im Dickdarm, eine schnellere Wirkstofffreisetzung ermöglichen. Wirkstoffanteil, Masse und Bruchfestigkeit dieser beiden Kerne sind jeweils identisch.

Die Bestandteile, wie sie Tabelle 3.1 zu entnehmen sind, wurden gesiebt (1,25 mm) und anschließend für 10 Minuten im Taumelmischer vermengt.

**Tabelle 3.1 - Zusammensetzung Schmelztabletten**

Substanz	Anteil [%]
Diclofenac-Na	22,7
Ludiflash®	75,3
Allubra®	2,0

#### 3.1.1 Pulveranalytik

Die Restfeuchte der Pulvermischung zur Herstellung der Schmelztabletten wurde an einer IR - Waage bestimmt. Für die Siebanalyse wurde ein Siebturm mit folgenden lichte Maschenweiten eingesetzt: 0 / 0,125 / 0,250 / 0,500 / 0,710 / 1,000 / 1,400 mm. Die Siebung erfolgte für 10 Minuten bei 50 Hz. Fließverhalten und Hausner Faktor wurden wie im Ph. Eur. beschrieben bestimmt.

### **3.1.2 Tablettierung**

Die Pulvermischung wurde bei drei Pressdrücken (5 / 7,5 / 10 kN) an der Exzenterpresse (EK0, Korsch) verpresst und die resultierenden Tabletteneigenschaften verglichen. Die Fülltiefe lag bei 8 mm, um eine resultierende Tablettenmasse von 220 mg zu erhalten. Das Tablettierwerkzeug besitzt einen Durchmesser von 8 mm und ist bikonvex geformt. Der Bombierungsradius der Stempel betrug etwa 16 mm.

### **3.1.3 Tablettenanalytik**

Folgende Analytik der Schmelztabletten wurde durchgeführt: Gleichförmigkeit der Masse, Friabilität, Bruchfestigkeit und Simulated Wetting Test (SWT). Die ersten drei Analytiken werden nach Ph. Eur. durchgeführt. Der SWT stellt eine modifizierte Version des Zerfallstests für Schmelztabletten, entwickelt von Park et. al., dar (Park et al. 2008). Hierbei wurden die Schmelztabletten in mit Filterpapier ausgelegten und Methylenblaulösung (0,1 %, 1,2 ml) gefüllten Vertiefungen von 12 Wellplates gelegt. Anschließend wurde die Zeit bis zur vollständigen Benetzung der Tabletten bestimmt.

### **3.1.4 Schmelztabletten versus MCC-Kerne**

Die Wirkstofffreisetzung von Schmelztabletten und MCC-Kernen wurde in der Blattrührerapparatur (500 ml SIF-Puffer) verglichen. Die Freisetzung wurde wie unter 3.5.6 beschrieben durchgeführt.

## **3.2 Chitosan**

Bevor Filmüberzugsdispersionen aus den diversen Chitosanqualitäten hergestellt wurden, bedurfte es einiger Voruntersuchungen, um die Eigenschaften von Chitosanlösungen besser zu verstehen. Hierfür wurden die Molmassenverteilung, die Viskosität und die Glasübergangstemperatur genauer untersucht. Zusätzlich wurde die Partikelgrößenverteilung von pulverigem Chitosan bestimmt.

### **3.2.1 Molmassenverteilung**

Für Polymere findet man in der Literatur statt des Molekulargewichtes oft die Viskosität der Polymerlösung, die bei exakt definierten Bedingungen (Konzentration der Polymerlösung, Lösungsmittel, Temperatur und Rheometer) bestimmt wurde. Polymere besitzen kein



einheitliches Molekulargewicht, da es sich immer um ein Gemisch unterschiedlicher Kettenlängen mit variierenden Molekulargewichten handelt. Deswegen werden das Zahlenmittel  $\bar{M}_n$ , das Gewichtsmittel  $\bar{M}_w$  und der Polydispersitätsindex (PDI) entsprechend Gleichung 1, Gleichung 2 und Gleichung 3 angegeben.

$$\bar{M}_n = \frac{\sum M_i \cdot n_i}{\sum n_i} \quad \text{Gleichung 1}$$

$$\bar{M}_w = \frac{\sum M_i \cdot w_i}{\sum w_i} \quad \text{Gleichung 2}$$

$$\text{PDI} = \frac{\bar{M}_w}{\bar{M}_n} \quad \text{Gleichung 3}$$

$\bar{M}_n$	Zahlenmittel
$\bar{M}_w$	Gewichtsmittel
$M_i$	Molekulargewicht Polymerketten
$n_i$	Anzahl Polymerketten
$w_i$	Masse Polymerketten
PDI	Polydispersitätsindex

In der Literatur werden zur Bestimmung des Molekulargewichts rheologische und gelpermeationschromatographische (GPC) Verfahren beschrieben (Chen & Hwa 1996). In dieser Arbeit wurde die Molmassenverteilung der eingesetzten Chitosanqualitäten vom BASF Kompetenzzentrum Analytik in Ludwigshafen mittels GPC - HPLC bestimmt.

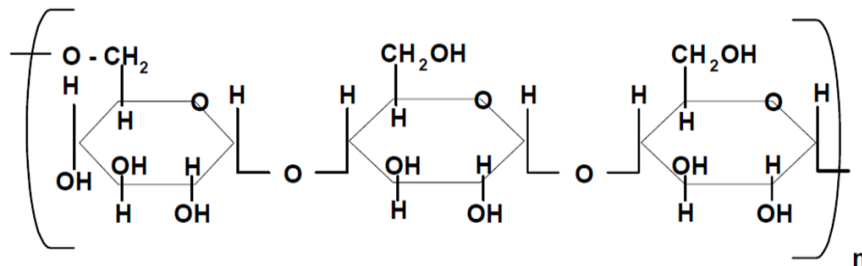
Bei der verwendeten Methode handelt es sich um eine Größenausschlusschromatographie. Hierbei wurde das zu untersuchende Substanzgemisch in einem geeigneten Lösemittel gelöst (1,5 mg/ml), filtriert (0,2  $\mu\text{m}$ ) und in den kontinuierlichen Fluss der mobilen Phase injiziert. Beim Passieren der stationären Phase, bestehend aus einem starren Netzwerk aus Polyhydroxymethacrylatcopolymer-Partikeln mit definierter Porosität, verweilen kürzere Polymerketten länger als Polymere mit großer Kettenlänge. Dadurch ist eine Trennung der Polymere nach Molmasse möglich. Zur Detektion der Polymere am Ende der Säule wurde zur relativen Kettenlängenbestimmung ein Brechungsindexdetektor bzw. in einer zweiten Messreihe, zur absoluten Bestimmung der

Kettenlänge, die statische Lichtstreuung verwendet. Nähere Angaben zu den Versuchsbedingungen finden sich in Tabelle 3.2.

**Tabelle 3.2 – Versuchsparameter bei der GPC - HPLC**

Messung	1	2	3
<b>Stationäre Phase</b>	Suprema <sup>®</sup> MAX linear M bzw. XL	NOVEMA <sup>®</sup> MAX 30.000A	
<b>Mobile Phase</b>	0,02 M Ameisensäure 0,2 M KCl		
<b>Flussrate</b>	0,8 ml/min		
<b>Temperatur (Säule)</b>	35°C	75 °C	
<b>Injektionsvolumen</b>	100 µl		
<b>Detektor</b>	Brechungsindexdetektor		Lichtstreuendetektor

Für Messungen unter Verwendung des Brechungsindexdetektors wurde eine Kalibriergerade mit Maltohexaose (992 g/mol) und eng verteilten Standards einer linearen Polymaltotriose (Pullulan, PSS, Mainz) im Größenbereich von 5.600 bis 1.660.000 g/mol verwendet (siehe Abbildung 3.1). Mit Hilfe dieser Kalibriergerade konnte die bei der GPC-HPLC erhaltene Elutionskurve in eine Verteilungskurve transformiert werden. Werte außerhalb des Kalibrierbereichs wurden extrapoliert.



**Abbildung 3.1 – Pullulan**

### 3.2.2 Rheologisches Verhalten

Das Fließen (griechisch: rhei) von idealen Flüssigkeiten wurde von Isaac Newton mit dem Grundgesetz der Viskosimetrie beschrieben. Das „Kartenblattmodell“ (s. Abbildung 3.2) zeigt eine laminar gescherte Flüssigkeitsschicht zwischen einer stationären und einer mobilen parallel angeordneten Deckplatte und kann zur Definition der dynamischen Viskosität  $\eta$ , der Schubspannung  $\tau$  und dem Geschwindigkeitsgefälle  $dv/dy$  herangezogen werden (vgl. Gleichung 4 und Gleichung 5).

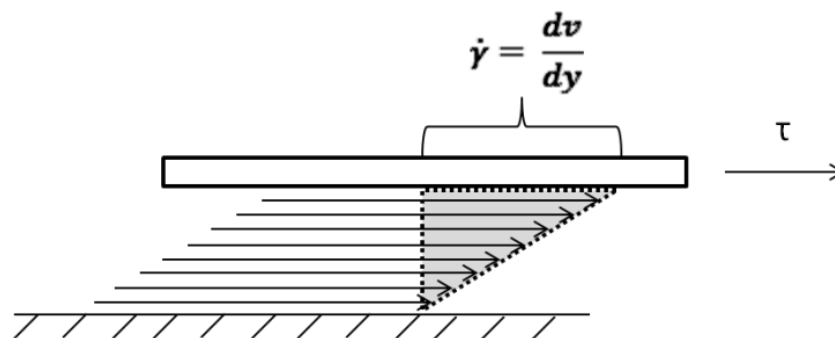


Abbildung 3.2 – Kartenblattmodell zur Beschreibung der Viskosität (Schramm 1995)

$$\dot{\gamma} = \frac{dv}{dy}$$

Gleichung 4

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$$

Gleichung 5

$\eta$	Dynamische Viskosität ( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ )
$\tau$	Schubspannung ( $\text{N} \cdot \text{m}^{-2}$ )
$\dot{\gamma}$	Scherrate/Geschwindigkeitgefälle ( $\text{s}^{-1}$ )

Die kinematische Viskosität (vgl. Gleichung 6) von Chitosanlösungen (0,5 %) wurde mit dem Kapillarviskosimeter nach Ubbelohde bestimmt. Hierbei wird die Zeit bestimmt, die die Polymerlösung benötigt, um eine definierte Strecke innerhalb einer temperierten Kapillare zu durchfließen. Je nach Viskositätsbereich der Probe wurden unterschiedliche Kapillardurchmesser gewählt (siehe Tabelle 3.3).

$$v = \frac{\eta}{\rho}$$

Gleichung 6

$v$	Kinematische Viskosität ( $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )
$\eta$	Dynamische Viskosität ( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ )
$\rho$	Dichte ( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ )

**Tabelle 3.3 – Eingesetzte Kapillarviskosimeter nach Ubbelohde**

Kapillare	Kapillarendurchmesser [mm]	Konstante K	Messbereich [cSt]	Probe
Ia	0,95	0,05136	5 - 50	Chitosan LMW
IIa	1,69	0,5094	50 - 500	Chitosan MMW Chitosan HMW

Chitosanlösungen zeigen ein für Polymere typisches pseudoplastisches Fließverhalten, das die Viskositätsbestimmung im Kapillarviskosimeter ausschließt, da abhängig von der Scherung unterschiedliche Viskositäten der Kolloidlösung resultieren (Schramm 1995, Bauer *et al.* 2012). Die Bestimmung wurde trotzdem durchgeführt, um zu untersuchen, ob die verwendeten Chitosanqualitäten das in 1.3.2.5 beschriebene Patent von Sekigawa und Yoshiro verletzen (Sekigawa & Yoshiro 1991). Hierfür wurde so viel Chitosan mittels Propellermischer in Wasser eingerührt, dass sich eine 0,5 % ige Suspension bildete. Nach Zugabe von Eisessig (0,5 % bezogen auf die Lösung) löste sich das Chitosan kolloidal. Die entstandene Lösung wurde für 48 h auf dem Magnetrührer homogenisiert, bevor sie vermessen wurde. Die kinematische Viskosität berechnet sich dann nach Gleichung 7. Laut Herstellerangaben war bei diesen Versuchsbedingungen eine Korrektur nach Hagenbach nicht notwendig.

$$v = k \cdot (t - \delta)$$

Gleichung 7

$v$	Kinematische Viskosität ( $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )
$k$	Kapillarabhängige Konstante ( $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-2}$ )
$t$	Durchflusszeit (s)
$\delta$	Hagenbach-Korrektur (s)

Messungen zur Bestimmung der dynamischen Viskosität von Polymerlösungen wurden am Rotations-Rheometer (RheoStress RS 100, Haake), ausgestattet mit der Software RheoWin Pro, durchgeführt. Verwendet wurde eine Platte-Kegel Messeinrichtung. Die Parameter des verwendeten Kegels C 60/1 und weitere Versuchsparameter können Tabelle 3.4 entnommen werden. Die Temperatur (20 °C) der Messplatte wurde mittels TC81 Peltier Temperiereinheit konstant gehalten.

Bei der verwendeten Controlled-Rate Methode wurde die Drehzahl des Kegels vorgegeben, die in der Probe ein bestimmtes Geschwindigkeitsgefälle verursacht. Um das benötigte Geschwindigkeitsgefälle zu erhalten, musste ein Drehmoment erzeugt werden, welches mit der Viskosität korreliert. Die Messgröße war somit das erforderliche Drehmoment.

**Tabelle 3.4 – Versuchsparameter bei der Messung am Rotations-Rheometer**

Radius [mm]	30,0 ± 0,01
Öffnungswinkel [°]	1
Abflachung [mm]	0,052
Abstand von der Platte [mm]	3
Material	Stahl
Auftragsvolumen auf Messplatte [ml]	1

Es wurden Chitosanlösungen im Konzentrationsbereich von 1 - 7,5% in Essigsäure (1 %) vermessen. Zudem wurden verschiedene Anteile (0 - 80%) des Weichmachers Triethylcitrat oder des Antiklebemittels Talkum beigemischt, um den Einfluss auf die Viskosität zu untersuchen (siehe Tabelle 3.5).

**Tabelle 3.5 – Zusätze an Talk und Triethylcitrat**

Talkanteil im trockenen Film [%]	0	x	5	10	20	40	80
Triethylcitratanteil im trockenen Film [%]	0	2,5	5	10	20	40	80

### 3.2.3 Thermoanalytisches Verhalten

Bei der *Differential Scanning Calorimetry* (DSC, 200 F3, Netzsch) wurde die Probenkammer mit der darin enthaltenen Chitosanprobe im Aluminiumtiegel und eine Referenzkammer kontinuierlich aufgeheizt. Nach einem ersten Aufheizvorgang wurden die Proben erneut von 10 bis 250 °C mit einer Heizrate von 20 K/min aufgeheizt. Die Differenz des Wärmestroms zwischen beiden Kammern wurde gemessen und verglichen. Beim Vorliegen einer Glasübergangstemperatur  $T_g'$  sollte eine endergonische Glasstufe auftreten. Diese Temperatur definiert bei amorphen Stoffen den Übergang vom glasartigen in den gummielastischen Bereich. Im Rahmen unserer Untersuchungen ist diese Substanzeigenschaft besonders wichtig für die Vermahlung bzw. das Coating von Chitosan. Vermessen wurde Chitosan in Form des Pulvers, als sprühgetrocknetes Granulat, als kolloidale Lösung und als getrockneter Film. Die Prozessparameter der Sprühtrocknung finden sich in Tabelle 3.6. Bei der kolloidalen Lösung wurde Chitosan (3 %) in Essigsäure (3 %) gelöst. Der Film wurde aus dieser Lösung mittels Filmziehgerät auf einer auf 40 °C aufgeheizte Folie aufgezogen und für 3 - 4 h getrocknet. Bei dem Pulver handelte es sich folglich um die freie Base, bei den restlichen Proben um Chitosanacetat.

**Tabelle 3.6 – Versuchsparmeter bei der Sprühtrocknung**

Ausgangslösung	Chitosanlösung (1%) in Essigsäure (1%)
Düse	Zweistoffdüse (1mm Öffnung)
Zulufttemperatur [°C]	125
Ablufttemperatur [°C]	90
Aspirator [hPa]	-50
Sprührate [g/min]	5
Sprühdruck [NI/h]	750

### 3.2.4 Partikelgrößenbestimmung- und zerkleinerung

Es wurde die Partikelgrößenverteilung von Chitosan LMW und HMW bestimmt. Hierfür wurde 0,5 % bzw. 2,0 % Pulver mittels Ultra-Turrax in Wasser dispergiert und mittels Laserbeugung (Horiba LA-920, Retsch bzw. Analysette 22, Fritsch) vermessen.

Kolloidal gelöste Polymere zeigen abhängig von der Kettenlänge bereits im Konzentrationsbereich von 1 - 7,5 % recht hohe Viskositäten. Um dieses Problem zu umgehen, wurden Chitosanpartikeln mittels diverser Mahlmethoden vermahlen. Falls es gelingt, die Partikeln in den Größenbereich von 1 - 50  $\mu\text{m}$  oder noch kleiner zu vermahlen, könnten diese zusammen mit Tensiden in Wasser suspendiert auf Kerne aufgesprüht werden. Diese Pseudolatices besitzen unter Umständen kaum noch klebrige Eigenschaften und können in höheren Konzentrationen bei gleichbleibender Viskosität versprüht werden. Um die Sedimentation der Partikeln und ein homogenes Versprühen zu gewährleisten, soll die Teilchengröße idealerweise auf  $< 10 \mu\text{m}$  gesenkt werden (Bueb 1993, Bauer *et al.* 2012).

In der Schwingmühle MM 400 bzw. in der Cryo-Mill wurde das Chitosanpulver bzw. die Chitosanfilme (Herstellung vgl. 3.3.1) in eine Mahlkammer mit Mahlkugeln gegeben. Durch kontinuierliches Schwingen bei definierter Frequenz wurde versucht, die Partikeln zu zerkleinern. Bei der Cryo-Mill wurde die Mahlkammer zusätzlich  $\text{N}_2$ -gekühlt. Durch Absenkung der Temperatur unter  $T_g'$  soll das Polymer versprödet werden, wodurch die Zerkleinerungsarbeit stark gesenkt wird. Die Geräteeinstellungen sind Tabelle 3.7 entnehmbar. Nach der Kryovermahlung wurden die Partikeln durch ein Sieb mit einer lichten Maschenweite von 50  $\mu\text{m}$  bzw. 250  $\mu\text{m}$  gegeben.

**Tabelle 3.7 – Versuchsparameter Schwingmühle und Cryo - Mill**

	Schwingmühle	Cryo - Mill
<b>Mahlkugeln</b>	Wolframcarbid	Gehärteter Stahl
<b>Schwingfrequenz [<math>\text{s}^{-1}</math>]</b>	30	25
<b>Mahldauer [s]</b>	300	90
<b>Mahlzyklen</b>	1	3 (jeweils 20 s Zwischenkühlung)

Unter Verwendung des Rotor-Stator-Prinzips wurde versucht, eine wässrige Chitosansuspension (5%) bei 24.000 rpm in der ART MICCRA D-27 zu zerkleinern. Die Partikelgrößenbestimmung erfolgte ebenfalls mittels Laserbeugung. Zerkleinerungen mittels Schwingmühle MM 400 und MICCRA D-27, sowie die Messungen mittels Analysette 22 wurden bei der Polysecure GmbH (Freiburg) durchgeführt.

### 3.3 Filmüberzugsdispersionen

Die verwendeten Filmüberzugsdispersionen wurden aus einem oder mehreren filmbildenden Polymeren, einem hydrophilen Weichmacher, Antiklebemittel, Wasser als Lösungsmittel und bei Bedarf einem Farbstoff bzw. Antioxidationsmittel hergestellt. Die Viskosität der Dispersion wird maßgeblich durch die Konzentration des Filmbildners bestimmt. Der Polymeranteil wurde deshalb so gewählt, dass die Viskosität der Sprühdispersion stets kleiner 500 mPas war. In der Literatur wurde für HPMC-Lösungen ein optimales Sprühverhalten erzielt, solange dieser Grenzwert nicht überschritten wurde (Cole *et al.* 1995). Resultierende Polymeranteile lagen folglich, je nach eingesetztem Polymer, bei 1 - 12,5 %, so dass alle Dispersionen gut versprühbar waren.

#### 3.3.1 Chitosan

Die benötigte Menge Wasser wurde im Becherglas vorgelegt und Talkum sowie Triethylcitrat mittels Ultra Turrax für 10 Minuten eingearbeitet. Unter Rühren am Propellermischer wurde Chitosan direkt in den Strudel hinzugefügt. Nach 10 minütigem Dispergieren wurde Eisessig zugetropft. Die suspendierten Chitosanpartikeln gehen durch die Senkung des pH-Wertes kolloidal in Lösung und es kommt zu einem Viskositätsanstieg (vgl. Abbildung 3.3 und Tabelle 3.8). Die Lösung wurde für eine Stunde gerührt, bevor sie durch ein 125 µm Sieb gegeben wurde. In 4.6.2.2.1 wird die Auswirkung auf die Wirkstofffreisetzung bei Senkung und Erhöhung des TEC- bzw. Talkum-Anteils beschrieben.

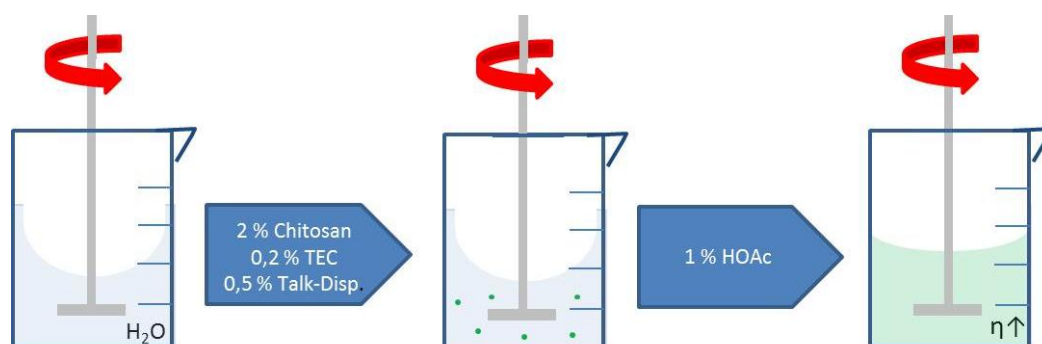


Abbildung 3.3 – Herstellung von Filmüberzugsdispersionen mit Chitosan



**Tabelle 3.8 – Zusammensetzung der Filmüberzugsdispersionen (Standardrezeptur)**

Substanz	Anteil [%]
Chitosan	1 – 6
Triethylcitrat (12,5% bezogen auf Polymer)	0,125 – 0,75
Talkum (25% bezogen auf Polymer)	0,25 – 1,5
Eisessig (50% bezogen auf Polymer) *	0,5 – 3
Wasser	ad 100

\* bei HMW: 100% bezogen auf Polymer

### 3.3.2 Magensaftresistente Überzugsdispersionen

Aufgrund der Löslichkeit von Chitosan im sauren Milieu ist es notwendig, die Filmtabletten mit einem zusätzlichen magensaftresistenten (MSR) Film zu überziehen. Hierfür wurden Dispersionen mit dem anionischen Polymethacrylat (Eudragit® L 30 D-55) und Schellack (Aqualacca® 25) eingesetzt.

#### 3.3.2.1 Eudragit® L 30 D-55

Triethylcitrat und Talkum wurden mittels Ultra-Turrax in Wasser dispergiert. Diese Dispersion und Eudragit® L 30 D-55 wurden im Propelleremischer vermischt und durch ein Sieb (125 µm) gegeben (vgl. Tabelle 3.9).

**Tabelle 3.9 – Zusammensetzung der Filmüberzugsdispersion mit Eudragit® L 30 D-55**

Substanz	Anteil [%]
Eudragit® L 30 D-55 (reines Polymer)	12,5
Triethylcitrat (50% bezogen auf Polymer)	6,25
Talkum (10% bezogen auf Polymer)	1,25
Wasser	ad 100

### 3.3.2.2 Aqualacca® 25

Der Schellacklösung wurde Triethylcitrat zugesetzt und nach dem Verdünnen mit Wasser so lange gerührt, bis eine homogene Lösung entstand (vgl. Tabelle 3.10).

**Tabelle 3.10 – Zusammensetzung der Filmüberzugsdispersion mit Aqualacca® 25**

Substanz	Anteil [%]
Aqualacca® 25	50
Triethylcitrat (10% bezogen auf Polymer)	1,25
Wasser	ad 100

### 3.3.3 Subcoating

Bei Unverträglichkeit zweier aufeinander aufgetragenen Polymere bzw. zum Schutz eines Polymerfilms ist in manchen Fällen ein zusätzliches *subcoating* erforderlich. Da Filme aus Eudragit® L 30 D-55 die darunterliegenden Chitosanfilmtabletten nicht ausreichend in der Wirkstofffreisetzung schützen konnten, musste ein zusätzliches Subcoating zwischen der Chitosan- und der MSR-Schicht aufgetragen werden (vgl. 4.6.4).

Zur Herstellung dieser Coatingdispersion wurde Hydroxypropylmethylcellulose (Pharmacoat® 606) in aufgewärmtem Wasser (80°C) suspendiert. Beim Abkühlen unter den Trübungspunkt und unter ständigem Rühren wurde das Polymer kolloidal gelöst. Der resultierenden niedrigviskosen Lösung wurde Triethylcitrat zugesetzt und verdampftes Wasser wurde ersetzt (vgl. Tabelle 3.11).

**Tabelle 3.11 - Zusammensetzung der Filmüberzugsdispersion mit Pharmacoat® 606**

Substanz	Anteil [%]
Pharmacoat® 606	7,5
Triethylcitrat (20% bezogen auf Polymer)	1,5
Wasser	ad 100

### 3.3.4 Strategien zur Reduzierung der vorzeitigen Wirkstofffreisetzung

Filmtabletten mit Chitosan als Überzugsmaterial quellen im basischen Milieu. Folglich kann Intestinalflüssigkeit in den Kern gelangen und Wirkstoff diffundiert bereits im Dünndarm aus der Formulierung. Zur Senkung dieser „vorzeitigen Wirkstofffreisetzung“ wurden die Einführung einer partiellen Isolierschicht und Mischungen von Chitosan mit weiteren Polymeren untersucht. Anders als in Abbildung 3.4 dargestellt wurde, zum schnelleren Screening diverser Tablettenchargen, in den durchgeführten Versuchen auf die Applikation eines magensaftresistenten Überzuges (MSR) verzichtet (vgl. 3.5.6).

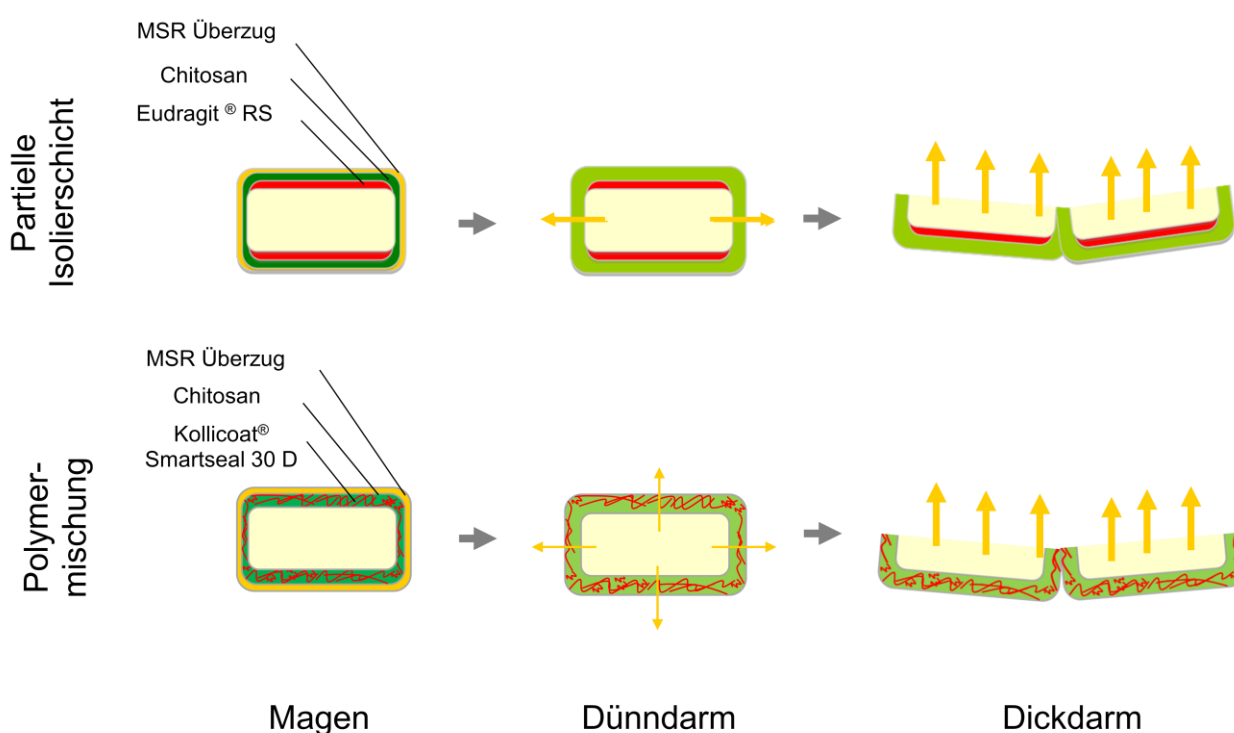


Abbildung 3.4 - Strategien zur Reduzierung der vorzeitigen Wirkstofffreisetzung

#### 3.3.4.1 Partielle Isolierschicht

Der aufgetragene Polymerfilm bestehend aus EuRS mit rotem Farbstoff (Isolierschicht) wird in der Mitte der Kalotte angebohrt (Durchmesser ca. 1 mm) bzw. am Steg mit einem Skalpell wieder abgekratzt. Der Farbstoff im Film dient zur besseren Unterscheidung der Isolierschicht vom Kern, damit kein Pulver vom Tablettenkern ausgebohrt bzw. mit abgekratzt wird. Erst danach wird der Chitosanfilm auf diese Tablettenkerne mit einer

partiellen Isolierschicht aus EuRS aufgetragen. Chitosan Dispersionen waren entsprechend 3.3.1 und EuRS Dispersionen wie in Tabelle 3.12 dargestellt zusammengesetzt.

**Tabelle 3.12 - Zusammensetzung Filmüberzugsdispersion mit EuRS 30 D**

Substanz	Anteil [%]
EuRS 30 D (reines Polymer)	0 – 10,5
Chitosan LMW	0 – 2
Triethylcitrat	0,27 – 2,1
Talkum	0,67 – 5,25
Eisessig	1
Wasser	ad 100

#### 3.3.4.2 Polymermischung

Mischungen, bestehend aus zwei filmbildenden Polymeren, wurden jeweils in den Mischungsverhältnissen 100:0 / 75:25 / 50:50 / 25:75 und 0:100 hergestellt und als ein homogener Film (5 mg/cm<sup>2</sup> bzw. 10 mg/cm<sup>2</sup>) aufgetragen. Zur Herstellung der Polymermischung wurde Butylhydroxytoluol (BHT) unter Rühren und Wärmezufuhr (50 °C) in Triethylcitrat gelöst. In diese Lösung wurde Kollicoat<sup>®</sup> Smartseal 30 D für zwei Stunden eingerührt. In einem weiteren Ansatz wurde Talkum mittels Ultra Turrax für 10 Minuten in Wasser dispergiert. Mit Hilfe des Propellermischers wurde Chitosan in die Talkdispersion gerührt, bevor es sich unter Eisessigzugabe kolloidal löste. Beide Lösungen wurden vereint und nach einstündigem Rühren durch ein 125 µm Sieb gegeben.

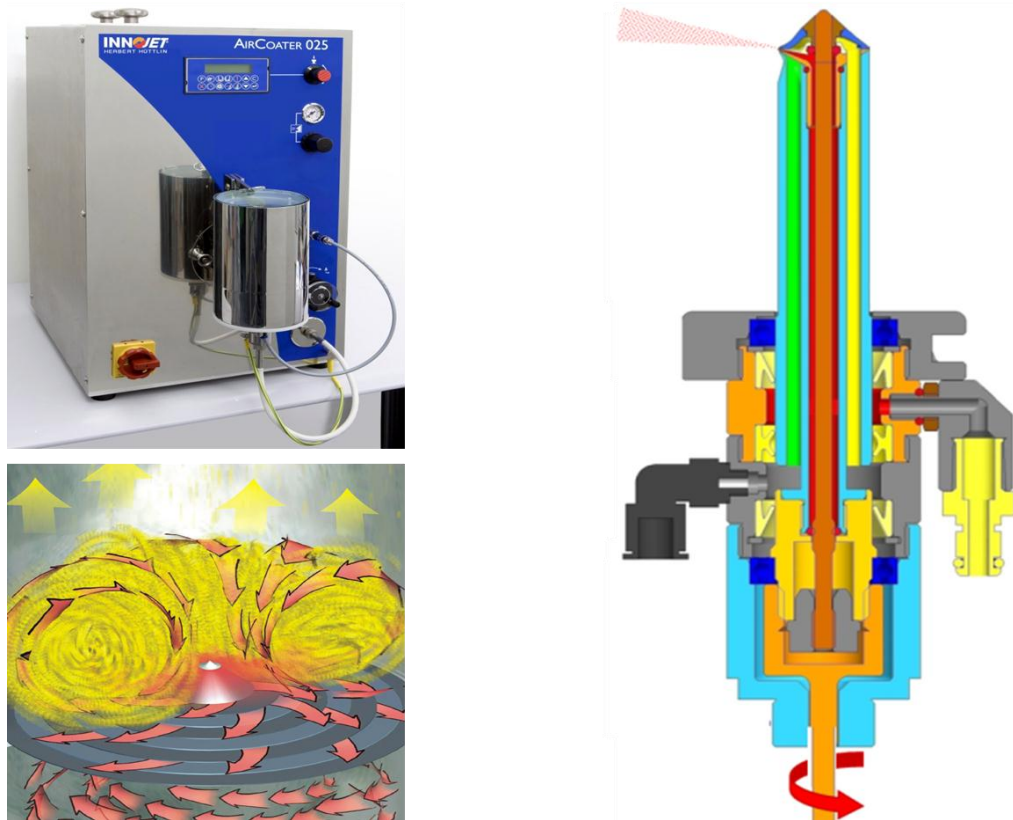
Die Mischungen wurden sowohl mit Chitosan VLMW, als auch mit HMW Chitosan hergestellt. Die Anteile an TEC, Talkum und BHT wurden stets auf die Latexdispersion bezogen. Der Triethylcitratanteil musste, bezogen auf Kollicoat<sup>®</sup> Smartseal 30 D, immer konstant bleiben, damit die Mindestfilmbildetemperatur der Latexdispersion ebenso immer auf den gleichen Wert gesenkt wurde (vgl. Tabelle 3.13).

**Tabelle 3.13 - Zusammensetzung Filmüberzugsdispersion mit der Polymermischung Kollicoat® Smartseal 30 D und Chitosan VLMW/HMW**

Substanz	Anteil [%]
Kollicoat® Smartseal 30 D (reines Polymer)	0-10
Chitosan VLMW bzw. HMW	0-2
Triethylcitrat (15% bezogen auf Kollicoat® Smartseal 30 D – reines Polymer)	0-1,5
Talkum (80% bezogen auf Kollicoat® Smartseal 30 D – reines Polymer)	0-8
Eisessig	1
Butylhydroxytoluol (2,5% bezogen auf Kollicoat® Smartseal 30 D – reines Polymer)	0-0,25
Wasser	ad 100

### 3.4 Filmcoating im INNOJET AirCoater 025

Die Filmüberzugsdispersionen wurden im INNOJET AirCoater 025 (Fa. INNOJET, Steinen) auf die Tablettenkerne aufgetragen. Es können Chargen von 25 – 300 g überzogen werden. Die Umgebungsluft wird von einem Ventilator angesaugt, gefiltert und erwärmt. Nach dem tangentialen Einströmen unterhalb des Produktbehälters wird die Luft durch stufenartig angeordneten Ringplatten - den Treibsatz - gezwungen. Diese Luftgleit-schichten führen letztendlich zu einer sehr gleichmäßigen Produktbewegung. Die zentrisch im Produktbehälterboden installierte Ringspaltdüse sprüht gleichmäßig in horizontaler Richtung die Filmüberzugsdispersion auf die Kerne (siehe Abbildung 3.5). Der schlitzartige Flüssigkeitsaustritt, umgeben von schlitzartigen Sprühluftkanälen darüber und darunter, ermöglicht ein schnelleres Sprühen, als es bei herkömmlichen Zweistoffdüsen bekannt ist. Die Tröpfchengröße der versprühten Dispersion wird vor allem durch die Viskosität der Sprühdispersion und dem Verhältnis von Förderrate zu Sprühluftmenge vorgegeben. Steigende Anteile Sprühluft senken hierbei die Tröpfchengröße.



**Abbildung 3.5 – INNOJET AirCoater 025 (links oben), Produktbewegung im INNOJET AirCoater 025 (links unten) und INNOJET Rotojet Nozzle 2 (rechts) (Quelle: INNOJET)**

Während das Dispersionsmittel im Warmluftstrom getrocknet wird, bleibt ein sich kontinuierlich aufbauender Polymerfilm auf den Kernen zurück. Der Verfilmungsprozess kann aus Abbildung 3.6 für kolloidale Lösungen und aus Abbildung 3.7 für Latexdispersionen entnommen werden.



**Abbildung 3.6 - Verfilmungsprozess aus kolloidalen Lösungen**

Die kolloidale Lösung konzentriert sich zunehmend auf und erfährt dabei eine Zustandsänderung vom Sol zu Gel und Xerogel (Film).



**Abbildung 3.7 - Verfilmungsprozess bei einer Latexdispersionen**

Die Latexdispersion enthält feinverteilte Latextröpfchen (50 – 200 nm), die beim Trocknungsvorgang zunehmend enger aneinander rücken. Läuft der Trocknungsvorgang oberhalb der  $T_g'$  und der MFT ab, deformieren die Latextröpfchen und fließen zu einem zusammenhängenden Film zusammen.

Die Geräteeinstellungen variieren entsprechend Chargengröße, Filmüberzugsdispersion und klimatischen Bedingungen, um nur einige Einflussfaktoren zu nennen. Richtungsweisend können Werte aus Tabelle 3.14 entnommen werden. Die exakten Einstellungen für die jeweiligen Prozesse sind in Tabelle 3.15 angegeben. Der Prozess wurde stets durch die Ablufttemperatur gesteuert, die konstant gehalten wurde.

**Tabelle 3.14 – Allgemeine Versuchsparameter beim Filmcoating**

Prozessluft [m <sup>3</sup> /h]	40 – 50
Zulufttemperatur [°C]	35 – 55
Ablufttemperatur [°C]	33 – 50
Sprühdruck [bar]	0,6 – 1,2
Sprührate [g/min]	0,4 – 1,4
Filterdruck [Pa]	60 – 100

**Tabelle 3.15 – Versuchsparameter und Polymeraufträge bei diversen Filmcoatings**

Produkt	Ablufttemperatur [°C]	Sprühdruck [bar]	Sprührate [g/min]	Polymerauftrag [mg/cm <sup>2</sup> ]
Aqualacca <sup>®</sup> 25	50	1,0	0,5	6,0 / 8,0 / 10,0
Chitosan 95/5, 95/10 und 95/20	35	1,0	1,2	3,0 / 5,0 / 10,0
Chitosan 95/50	35	1,0	1,2 – 1,5	3,0 / 5,0 / 10,0
Chitosan VLMW	35	1,0	0,6	3,0 / 5,0 / 10,0
Chitosan LMW	35	1,0	0,6	1,5 / 3,0 / 5,0 / 10,0
Chitosan MMW	35	1,0	0,6	3,0 / 5,0
Chitosan HMW	35	1,0	0,6	1,5 / 3,0 / 5,0 / 10,0
Chitosan VLMW + Kollicoat <sup>®</sup> SS 30 D *	35	1,0	0,8 – 1,5	5,0 / 10,0
Chitosan HMW + Kollicoat <sup>®</sup> SS 30 D *	35	1,0	0,8 – 1,0	5,0 / 10,0
Eudragit <sup>®</sup> L 30 D-55 *	35	1,0	0,4	3,0 / 4,0 / 5,0
Eudragit <sup>®</sup> RS 30 D *	35	1,0	0,5 – 1,0	5,0 / 10,0
Pharmacoat <sup>®</sup> 606	45	1,0	0,4 – 0,5	3,0

\* Bei Polymeren mit der Bezeichnung „30 D“ handelt es sich um 30 %ige Latexdispersionen

Sobald der angestrebte Filmauftrag erreicht war, wurden die überzogenen Tabletten noch so lange in der Luftgleitschicht getrocknet, bis sich die Zuluft- der Ablufttemperatur angeglichen hat. Der Filmauftrag wurde nach Auswaage der Filmtabletten nach Gleichung 8 und Gleichung 9 berechnet.

$$\text{Filmauftrag} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{cm}^2} \right] = \frac{m_{\text{Auswaage}} - m_{\text{Einwaage}}}{OF_{\text{Tablettenkerne}}} \cdot 1000 \quad \text{Gleichung 8}$$

$$\text{Polymerauftrag} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{cm}^2} \right] = \text{Filmauftrag} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{cm}^2} \right] \cdot \frac{m_{\text{Polymer}}}{m_{\text{Polymer}} + m_{\text{Hilfsstoffe}}} \quad \text{Gleichung 9}$$

$m_{\text{Auswaage}}$	Masse Filmtabletten (g)
$m_{\text{Einwaage}}$	Masse Tablettenkerne (g)
$OF_{\text{Tablettenkerne}}$	Oberfläche Tablettenkerne ( $\text{cm}^2$ )
$m_{\text{Polymer}}$	Masse Polymer in Überzugslösung (g)
$m_{\text{Hilfsstoffe}}$	Masse Hilfsstoffe (ohne $\text{H}_2\text{O}$ ) in Überzugslösung (g)

## 3.5 Analytik der Filmtabletten

### 3.5.1 Gleichförmigkeit der Masse

Die Prüfung wurde entsprechend der Ph. Eur. Monographie 2.9.5 durchgeführt. Demnach dürfen von 20 zufällig entnommenen Filmtabletten mit einer Masse von 80 – 250 mg nur zwei Filmtabletten um mehr als 7,5 % und keine um mehr als 15 % vom Mittelwert der Masse abweichen.

### 3.5.2 Mikroskopische Methoden

Zur Beurteilung der Filmqualität und der Filmdickenbestimmung wurden lichtmikroskopische Aufnahmen erstellt. Die Darstellung des Filmüberzugs im Rasterelektronenmikroskop (REM) kann zudem Aufschluss über einen möglichen enzymatischen Abbau geben.



### 3.5.2.1 Lichtmikroskop

Lichtmikroskopische Aufnahmen wurden am Axioskop, ausgestattet mit der Kaltlichtquelle Stereo CL 1500 ECO, erstellt. Die Bilder können mit 50 – 400 facher Vergrößerung mit der Axio Cam ICc1 aufgenommen und der Software Axiovision (Release 4.8.2, Version 15.0) bearbeitet werden.

### 3.5.2.2 Rasterelektronenmikroskop (REM)

Höher auflösende Bilder wurden von Dr. Ralf Thomann (Freiburger Materialforschungszentrum, Alber-Ludwigs-Universität Freiburg) am REM FEI Quanta FEG250 erstellt. Die Proben wurden mit einem Carbonpad auf ein Aluminiumtischchen geklebt. Dieses kann innerhalb des Gerätes in beliebige Richtungen gedreht werden. Zur Bearbeitung der Aufnahmen wurde die Software xT microscope Control000 verwendet. In Tabelle 3.16 werden die Abkürzungen, die auf den Aufnahmen angegeben sind, näher erläutert.

**Tabelle 3.16 – Abkürzungen auf elektronenmikroskopischen Aufnahmen**

Abkürzung	Englisch	Deutsch
HV	High Voltage [kV]	Hochspannung [kV]
Spot	Spot	Durchmesser des Elektronenstrahls [nm]
Det	Detector	Detektor
LFD	Large field detector	Weinfeld - Detektor
Pressure	Pressure	Druck im Gerät
Wd	Width	Arbeitsabstand
HFW	Horizontal Field Width	Bildgröße
Zoom	Zoom	Vergrößerung

### 3.5.3 Quellungszahl

Bei der Bestimmung der Quellungszahl (QZ) wurde die relative Zunahme der Masse und die der Höhe bzw. des Durchmessers von Filmtabletten nach 3 h Inkubation in SIF-Puffer pH 6,8 (37 °C) bestimmt. Da die Vergleichbarkeit der Quellung von reinen Filmen kaum mit der Quellung von Filmtabletten korreliert, wurden lediglich Letztere untersucht (Schwalm 2007).

Hierfür wurden Filmtabletten vor und nach der Inkubation, nach Abstreifen des Haftwassers an einem Papierfilter, vermessen. Die Wägung erfolgte auf der Analysenwaage, die Längenmessungen wurden mit einer Mikrometerschraube durchgeführt. Es wurde jeweils, je nach Bestimmungsmethode, die QZ angegeben als  $QZ_{\text{Masse}}$ ,  $QZ_{\text{Höhe}}$  und  $QZ_{\text{Durchmesser}}$ , wobei sich die QZ beispielhaft für die Massenbestimmung, nach Gleichung 10 berechnet.

$$QZ = \frac{m_2 - m_1}{m_1} * 100 \quad \text{Gleichung 10}$$

QZ            Quellungszahl (%)

$m_1$             Masse der Filmtablette vor der Quellung (g)

$m_2$             Masse der Filmtablette nach der Quellung und Entfernung des Haftwassers (g)

Zuerst wurde untersucht, ob das Puffervolumen einen Einfluss auf die Quellung hat. Hierfür wurden 3 unterschiedliche Quellungsmodelle getestet (siehe Tabelle 3.17). Danach wurden sämtliche Quellungsbestimmungen mit dem am besten geeigneten Puffervolumen durchgeführt.

**Tabelle 3.17 – Quellungsmodelle**

Quellgefäß	Puffervolumen	Drehzahl des Blattrührers
Rollrandglas	5	-
Rollrandglas	15	-
Vessel in WSF-Apparatur	500	100

### 3.5.4 Filmstabilitätsprüfung

Die Filmtabletten wurden am Lehrstuhl für Biopharmazie und Pharmazeutische Technologie an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald in 1000 ml FaSSIF bzw. FeSSIF in eine Blattrührerapparatur (50 rpm, 37 °C, 4 h) gegeben. Nach der erfolgten Quellung wurde die Filmstabilität der Tabletten mittels Texture Analyzer untersucht.

Es wird ein Stempel auf die Filmtablette gedrückt und anschließend werden der zurückgelegte Weg nach Kontakt mit der Filmtablette und der resultierende Gegendruck auf den Stempel gemessen. Diese Untersuchungen sollen bereits erste Informationen über die Stabilität der Filmtabletten geben. Es wird ein Druck von bis zu 10 N auf die gequollenen Filmtabletten ausgeübt, auch wenn aus physiologischer Sicht nur Kräfte von maximal etwa 3 N auf die Arzneiform wirken. Biorelevante Stressbedingungen werden bei der Durchführung der Wirkstofffreisetzung mittels der in 1.2.2 und 3.5.6.3 beschriebenen Apparatur simuliert.

### **3.5.5 Zerfallsprüfung**

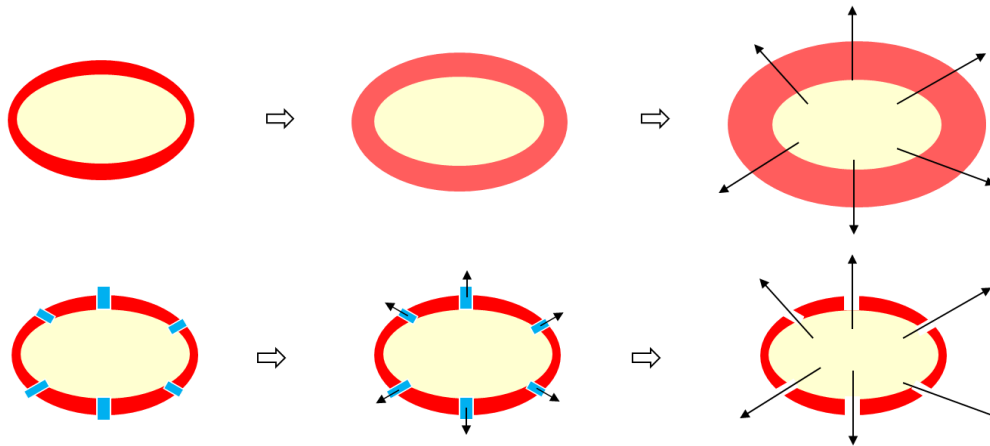
Die Prüfung wurde entsprechend der Ph. Eur. Monographie 2.9.1 durchgeführt. Der vollautomatische Zerfallstester PTZ Auto02 erlaubt eine elektronische Detektion der Zerfallszeit. Die Prüfung wurde für mit Chitosan überzogene Filmtabletten durchgeführt, um zu untersuchen bei welchem pH-Wert sich der Polymerfilm auflöst und folglich die Tablette zerfällt.

### **3.5.6 Wirkstofffreisetzung**

Filmtabletten mit Polymeren als Überzugsmaterial können den Wirkstoff schnell, verzögert oder verlängert freisetzen. Schnellfreisetzende Filmüberzüge lösen sich innerhalb weniger Minuten in Wasser bzw. Magensaft auf. Zu den Filmüberzügen mit verzögerter Wirkstofffreisetzung gilt es, besonders die magensaftresistenten Filmüberzüge zu erwähnen. Diese besitzen freie Carbonsäuregruppen, welche im Magenmilieu protoniert sind. Beim Eintritt in den Dünndarm gehen die magensaftresistenten Filmüberzüge, bedingt durch das Ansteigen des pH-Wertes und folgender Deprotonierung der Säuregruppen, in Lösung (vgl. 1.3.2.3). Auch Filmtabletten mit einer dickdarmspezifischen Wirkstofffreisetzung sind als Tabletten mit verzögerter Wirkstofffreisetzung einzustufen.

Filmüberzüge mit verlängerter Wirkstofffreisetzung sind zumeist membrankontrollierte Systeme. Man unterscheidet die porenfreien Membranen und die porenhaltigen Membranen. Bei Ersteren kann sich der Wirkstoff in der Membran lösen und hindurch diffundieren. Bei Letzteren ist der Wirkstoff nicht löslich in der Membran, kann aber durch Poren, die ein wasserlöslicher Porenbildner nach dem Herauslösen zurücklässt, diffundieren. Bei Membran kontrollierten Systemen erhält man nach dem vollständigen Aufquellen des Filmüberzuges bzw. nach dem Herauslösen der Porenbildner eine

Wirkstofffreisetzung nach Nullter Ordnung, solange die Wirkstoffkonzentration im Kern gesättigt ist. Voraussetzung für diese konstante Freisetzung ist, dass die Membranfläche, die Diffusionsstrecke und der Verteilungskoeffizient zwischen Tablettenkern und Membran konstant bleibt (vgl. Abbildung 3.8).



**Abbildung 3.8 – Freisetungsverhalten von Filmtabletten mit Retardüberzügen**

Oben: Filmüberzug ist quellbar und der Wirkstoff kann durch die Polymermembran diffundieren. Unten: Filmüberzug ist nicht quellbar. Nachdem sich der wasserlösliche Porenbildner (blau) aufgelöst hat kann der Wirkstoff durch die entstandenen Poren, aus den Tabletten, diffundieren.

Die Prüfung wurde entsprechend der Ph. Eur. Monographie 2.9.3 durchgeführt. Es wurde die Blattrührerapparatur AT 7 der Firma Sotax verwendet. Die Temperatur des Freisetzungsmediums lag bei  $37,0 \pm 0,5$  °C. Die Drehgeschwindigkeit der Blattrührer betrug 100 rpm. Wenn nicht anders angegeben, wurden 500 ml Simulated-Intestinal-Fluid-Puffer (SIF) eingesetzt. Dieses Volumen gewährleistet für den Modellwirkstoff Diclofenac-Na „sink-Bedingungen“ nach dem Europäischen Arzneibuch. Das bedeutet, dass maximal 10 % der Sättigungskonzentration erreicht werden und somit der noch in Lösung zu gehende Wirkstoff nicht von schon gelöstem Wirkstoff beeinflusst wird. Der Probenzug (2 ml) erfolgt manuell zu vorher definierten Zeitpunkten.

Beim Colon-Targeting sollte die Wirkstofffreisetzung in Magen und Dünndarm so niedrig wie möglich gehalten werden. Um die unerwünschte „vorzeitige Freisetzung“ zu testen, wurden die Filmtabletten zuerst für 2 h in HCl (0,1 N) und anschließend für 3 – 4 h in SIF-Puffer freigesetzt.

Es konnte gezeigt werden, dass die Wirkstofffreisetzung von Diclofenac-Na in HCl (0,1 N) aus Filmtabletten mit Chitosanfilmen und magensaftresistentem Film gegen Null geht. Deshalb wurde in weiteren Experimenten, bei denen versucht wurde die Wirkstofffreisetzung im Dünndarm zu reduzieren, auf die simulierte Magenpassage verzichtet. Nachdem die entnommenen Proben Raumtemperatur erreicht haben, wurden sie photometrisch bei einer Wellenlänge von 277 nm vermessen. Die bestimmten Absorptionen wurden entsprechend der Gleichung nach Lambert-Beer (siehe Gleichung 11) in die betreffende Konzentration umgerechnet. Hierfür wurde eine Kalibriergerade erstellt (siehe Abbildung 3.9). Liegen die gemessenen Absorptionswerte innerhalb der Kalibriergerade, werden sie interpoliert. Falls die Werte größer sind, werden die Proben entsprechend verdünnt, damit die Werte wieder interpoliert werden können.

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot b$$

Gleichung 11

A	Absorption (dimensionslos)
$\varepsilon$	molare Absorptionskoeffizient ( $\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ )
c	Konzentration der Lösung ( $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ )
b	Schichtdicke der Küvette (cm)

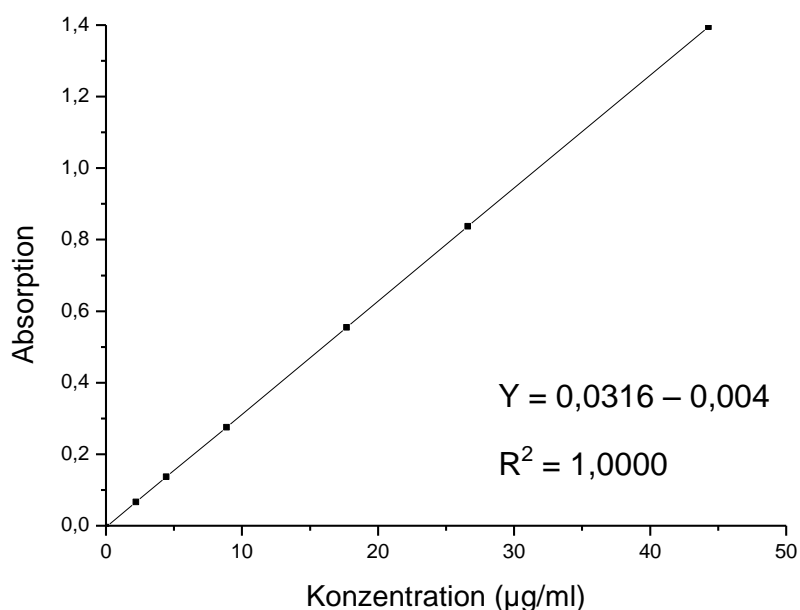


Abbildung 3.9 – Kalibriergerade von Diclofenac-Na aufgenommen bei  $\lambda_{\text{max}}$  277 nm im Photometer

Gelöste Gase im Freisetzungsmedium können die Freisetzung beeinflussen (Ph.Eur.). Deswegen wurden mit Chitosan überzogene Filmtabletten zum einen in nicht entgastem, zum anderem in entgastem SIF-Puffer freigesetzt und verglichen. Das gelöste Gas wurde unter Rühren des Puffers im Grobvakuum ( $50 \pm 10$  hPa, 60 min) entfernt.

#### 3.5.6.1 Bestimmung der Mindestpolymerlänge für stabile Filmtabletten

Es wurde untersucht, wie lang Polymerketten mindestens sein müssen, damit sie während der Magen- und Dünndarmpassage intakt bleiben. Andersherum betrachtet, wird zugleich getestet, bis auf welche Kettenlänge das Chitosan im Dickdarm enzymatisch gekürzt werden muss, damit der Filmüberzug so instabil wird, dass er aufplatzt. Hierfür wurden Chitosanfilmtabletten mit diversen Kettenlängen, aber vergleichbarem Deacetylierungsgrad in der Blattrührerapparatur freigesetzt. Wie unter 3.5.6 beschrieben, wurde die Aufbruchszeit der Chitosanfilme in SIF-Puffer bestimmt.

#### 3.5.6.2 Wirkstofffreisetzung mit Enzymzusatz

Definitionsgemäß setzt 1 Unit (u) des Enzyms  $\beta$ -Glucosidase, 1  $\mu$ g Glucose pro Minute (bei 35 °C) aus Glucosiden frei. Die Enzymaktivität der verwendeten  $\beta$ -Glucosidase betrug 6.459 u/mg Protein bzw. 3.811 u/mg Lyophilisat. In den Experimenten von Zhang et al. wurden Chitosan Lösungen (0,1 %) jeweils 0,02 %  $\beta$ -Glucosidase zugesetzt. Es resultierte eine Viskositätsreduktion, aufgrund des enzymatischen Abbaus der Ketten (Zhang & Neau 2001). Wird allerdings der Abbau von Filmtabletten untersucht, sind sicherlich weit höhere Enzymkonzentrationen notwendig, um das Polymergerüst des aufgetragenen Films zu zersetzen. Folglich wurden im Vergleich zu den Versuchen von Zhang et al. 23 bzw. 100 – fach höhere Konzentrationen an  $\beta$ -Glucosidase zugesetzt (0,9 bzw. 2 %). Korrespondierende Enzymaktivitäten lagen bei 60.823 bzw. 78.500 u. In diesem Versuch wurde untersucht, ob isolierte Enzyme den gequollenen Chitosanfilmüberzug zersetzen können. Die Dünndarmpassage wurde wie oben bereits beschrieben für 3 h in SIF-Puffer simuliert. Hierbei konnte der Filmüberzug quellen, was für den enzymatischen Abbau notwendig zu sein scheint (Van den Mooter *et al.* 1994, Schwalm 2007). In einem ersten Versuch wurden Filmtabletten mit einem dünnen Chitosanfilm (3 mg/cm<sup>2</sup>) nach 3 h  $\beta$ -Glucosidase (78.500 u) zugesetzt. In einem zweiten Versuch wurden Filmtabletten mit einem dickeren Chitosanfilm (10 mg/cm<sup>2</sup>) untersucht. Nach 3 h Freisetzung in SIF-Puffer wurde ein Medienwechsel auf Acetatpuffer pH 5.0 mit  $\beta$ -Glucosidase (60.823 u) durchgeführt.

### 3.5.6.3 Biorelevante Wirkstofffreisetzung

Zusätzlich wurden die Filmtabletten am Lehrstuhl für Biopharmazie und Pharmazeutische Technologie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald in einer dort entwickelten, biorelevanten Freisetzungsapparatur getestet. Diese Apparatur simuliert im Gegensatz zur Blattrührerapparatur weitere wichtige Faktoren (mechanische Stressfaktoren, Flüssigkeitstaschen, u. a.) der Magen-Darm-Passage (vgl. 1.2.2). Die Testbedingungen können Tabelle 3.18 entnommen werden. Für die Magenpassage wurde stets *SGF* (pH 1,8) verwendet. Zur Simulation des Dünndarm- und Dickdarms wurde Phosphatpuffer pH 6,8, *FaSSIF* ohne Lecithin/Gallensalz, *FaSSIF* ohne Lecithin/Gallensalz aber mit Tween 80 (0,1 %), *FaSSIF* oder *FeSSIF* verwendet. Somit konnte ebenfalls untersucht werden, ob Sekretionsprodukte wie Gallensalze und Lecithin Einfluss auf die Stabilität der Arzneiform haben.

**Tabelle 3.18 – Versuchsparameter bei der WSF in der biorelevanten Freisetzungsapparatur**

	Magen	Pylorus	Dünndarm	Ileozäkal- klappe	Dickdarm			
<b>Freisetzungs- medium</b>	USP SGF pH 1,8		USP Phosphatpuffer pH 6,8  (Blank <i>FaSSIF</i> ) Phosphatpuffer pH 6,5  ± Tween 80 (0,1 %)  <i>FaSSIF</i>  <i>FeSSIF</i>		USP Phosphatpuffer pH 6,8  (Blank <i>FaSSIF</i> ) Phosphatpuffer pH 6,5  ± Tween 80 (0,1 %)  <i>FaSSIF</i>  <i>FeSSIF</i>			
<b>Dauer [h]</b>	1		4		2	2	2	1
<b>Rotation</b>								
Dauer [s]	X	60	20	60	16	60	16	
Rpm [min <sup>-1</sup> ]	X	100	20	100	20	100	20	
Zeitintervall [min]	X		20					
<b>Druckwellen</b>								
Anzahl	X	3	X	3	1	3	1	
Dauer [s]	X	6	X	6	6	6	6	
Druck [hPa]	X	300	X	300	200	300	200	

## 3.6 Colon-Mikroflora-Test

Beim Colon-Mikroflora-Test (CMT) wurde untersucht, ob mit den hergestellten Filmtabletten eine dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung, getriggert durch die dort in hoher Anzahl vorkommenden anaerobe Bakterien, erzielt werden kann.

Die Methode besteht schon seit vielen Jahren am Lehrstuhl für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie der Universität Freiburg (vgl. 1.2.2). In der Doktorarbeit „Galactomannan und Polyelektrolytkomplexe als Coatingmaterialien für die colon-spezifische Wirkstofffreisetzung“ (Schwalm 2007) wurde die Methode weiterentwickelt. Weitere Optimierungen wurden nun durch folgende Änderungen vorgenommen:

1. Als Negativkontrollmedium wurde das Testmedium abgekocht (vgl. 3.6.2.3)
2. Die Wiederfindungsrate wurde in jedem Versuch neu bestimmt (vgl. 3.6.2.4)
3. Bei der Extraktion wurden folgende Punkte modifiziert:  
4 ml Probenzug, 1:1 Verdünnung mit H<sub>2</sub>O, Extraktion auf dem Thermomixer, Einengen eines definierten Volumens von 1 ml (vgl. 3.6.3)

### 3.6.1 Vorbehandlung der Filmtabletten

Bevor die Filmtabletten in die spezielle Freisetzungsvorrichtung gegeben wurden, erfolgte die Wirkstofffreisetzung in einer üblichen Blattrührerapparatur. Zur Simulation des Magens wurden die Filmtabletten in HCl (0,1 N) gegeben. Nach 2 Stunden wurde ein Probenzug vorgenommen und die Säure durch Phosphatpuffer pH 6.8 ersetzt um den pH-Wert des Dünndarms zu simulieren. In dem neuen Freisetzungsmedium wurden die Filmtabletten für weitere 3 – 4 h, wie unter 3.5.6 beschrieben, inkubiert und stündlich Proben genommen. Hierbei konnte die Filmquellung stattfinden und die Stabilität der Tabletten nachgewiesen werden, als auch die vorzeitige Wirkstofffreisetzung im Dünndarmbereich bestimmt werden. Die Quellung der Filmtabletten scheint notwendig zu sein, damit die im Dickdarm aufzufindenden Enzyme an und in den Film gelangen können, um ihn zu zersetzen (Van den Mooter *et al.* 1994, Schwalm 2007).



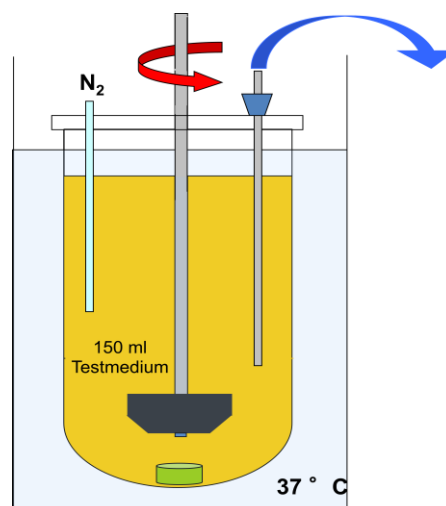
### 3.6.2 Wirkstofffreisetzung in der CMT - Apparatur

Nach der Simulation der Magen- und Dünndarmpassage wurden die Tabletten in die CMT-Apparatur überführt. Nach definierten Zeitpunkten wurden Proben entnommen und der pH-Wert der Freisetzungsm Medien (Testmedium und Negativkontrolle) gemessen.

#### 3.6.2.1 CMT - Apparatur

Die CMT - Apparatur unterscheidet sich in drei Punkten von einer üblichen Blattrührerapparatur (vgl. Abbildung 3.10 – CMT- Apparatur):

1. Die Glasvessel fassen nur ein Volumen von 150 ml.
2. Die Vessel sind nahezu luftdicht verschließbar und können bei Bedarf mit einem anaeroben Gas/Gasgemisch gespült werden.
3. Das Freisetzungsm Medium besteht aus einer aufgereinigten Mischung von Faeces aus dem Schweinecaecum und einem anaeroben Nährmedium (siehe 3.6.2.2).



**Abbildung 3.10 – CMT- Apparatur**

Die Apparatur fasst sechs Vessel aus Glas. Bei jedem Versuch wurden jeweils zwei Filmtabletten in das Testmedium bzw. Negativkontrollmedium gegeben. Zudem wurden, zur Bestimmung der Wiederfindungsrate, zwei unüberzogene Tabletten in das Testmedium gegeben. Jeder Versuch wurde dreimal wiederholt und alle erzeugten Datenpunkte separat in einem Diagramm eingetragen.

### 3.6.2.2 Testmedium

Da die Faeces von Schweinen einen extrem hohen Anteil an anaeroben Bakterien enthalten (vgl. 1.1.2.4), wurde der Caecuminhalt von Schweinen gewonnen, die zum Zeitpunkt der Schlachtung etwa 6 - 7 Monate alt waren. Mindestens 2 – 8 Wochen zuvor hatten die Tiere keine Antibiotika mehr bekommen. Die vor diesen Zeitraum am häufigsten eingesetzten Antibiotika Chlortetracyclin, Clarithromycin, Amoxicillin und Enrofloxacin haben allesamt Halbwertszeiten von < 10 Stunden. Nach 5 Halbwertszeiten werden bereits über 95 % dieser Wirkstoffe eliminiert. Somit kann, nach Rücksprache mit den Schlachthof betreuenden Veterinärmediziner, davon ausgegangen werden, dass nicht nur keine Antibiotika mehr im Blut der Schweine vorhanden sind, sondern sich auch die Mikroflora, nach eventueller Schädigung durch die Antibiotika, wieder normalisiert hat (vgl. 1.1.2.4).

6 - 8 Schweinecaeca wurden im Schlachthof (Fleischgroßhandel Färber, Freiburg) von frischgeschlachteten Schweinen abgebunden (siehe Abbildung 3.11 und Abbildung 3.12) und sofort in einen Anaerobentopf überführt. Diesem wurde noch ein aktivierter Beutel Anaerocult A bzw. AneroGen zugefügt, um eine anaerobe Atmosphäre zu generieren. Innerhalb von 1 Stunde wird dabei der im Anaerobentopf enthaltene Sauerstoff, nahezu komplett in Kohlenstoffdioxid um.

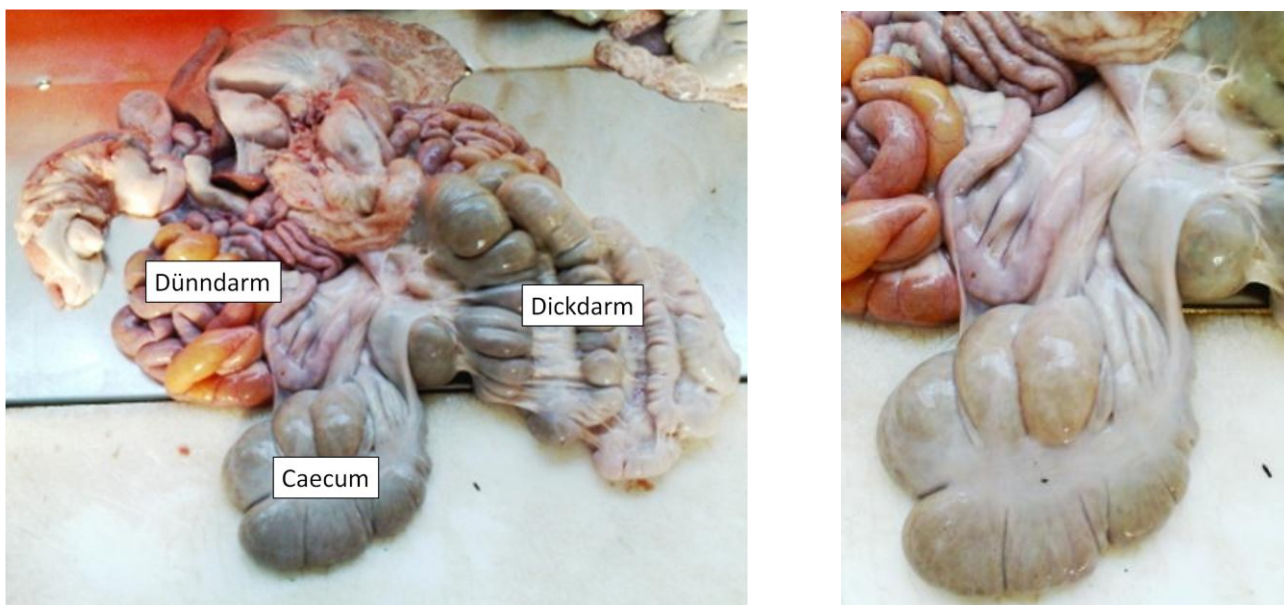


Abbildung 3.11 – Isolierter GIT (links) und Caecum (rechts) vom Schwein

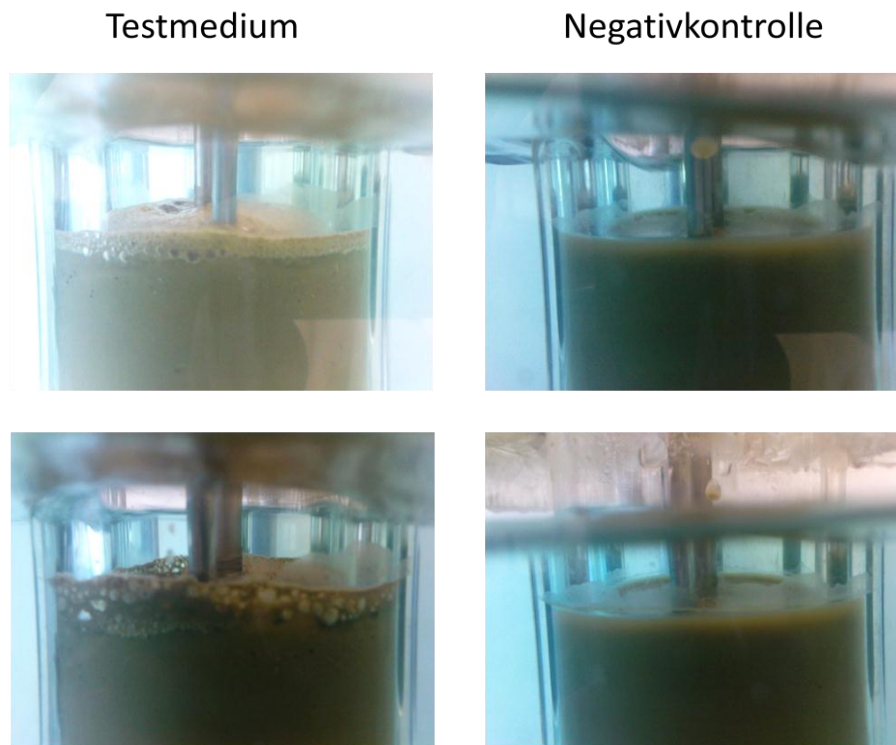


**Abbildung 3.12 – Abgebundene Schweinecaeca**

Nach der Ankunft im Labor wurden die Anaerobentöpfe bei 37 °C im Trockenschrank gelagert, bevor die Caeca weiterverarbeitet wurden. Der Inhalt aller Caeca wurde vereinigt, mit der gleichen Masse an Schädler Bouillon (vgl. 2.1.6.3) gemischt und über Gaze filtriert. Das Filtrat wurde für die Wirkstofffreisetzung als Testmedium verwendet.

### 3.6.2.3 Negativkontrolle

Für die Negativkontrolle wurde ein Teil des Mediums bei 100 °C für 15 min im Wasserbad abgekocht, um die Bakterien abzutöten und die Enzyme zu inaktivieren. Hierbei stieg der pH-Wert um 0,5 – 0,8 Einheiten an. Nach Abkühlung auf 37 °C wurde der pH – Wert der Lösung mit HCl (1 N) auf den Wert des Freisetzungsmediums gesenkt und in die Vessel für die Negativkontrolle eingefüllt. Der pH-Wert lag nun bei Testmedium und Negativkontrolle jeweils zwischen 5,2 und 6,8 (vgl. 1.1.2.2 und (Evans *et al.* 1988)). Eine identische pH-Einstellung, bei unterschiedlichen Versuchen, wurde absichtlich vermieden um die physiologischen Bedingungen des Caecuminhalts nicht zu sehr zu beeinflussen. Während der Freisetzung konnte beobachtet werden, dass es im Testmedium zur starken Schaumbildung kommt, während dieses Phänomen bei der Negativkontrolle nicht zu erkennen war (siehe Abbildung 3.13). Die Gasbildung beweist die aktive Mikroflora im Testmedium und das Fehlen einer aktiven Mikroflora im Negativkontrollmedium (vgl. 1.1.2.4).



**Abbildung 3.13 - Glasvessel mit FreisetzungsmEDIUM beim CMT**

Oben: nach 0 Minuten Wirkstofffreisetzung Unten: nach 8 h Wirkstofffreisetzung

15 ml der FreisetzungsmEDIUM wurden jeweils bei 37 °C im Trockenschrank gelagert, um bei jedem Probenzug den pH-Wert der Lösungen bestimmen zu können. Am Ende der Wirkstofffreisetzung wurde der pH-Wert in jedem Glasvessel bestimmt, sowie die Filmtabletten entnommen und fotografiert. Eine Zugabe von 1,5 ml Fosfomycin (200 mg/ml) bzw. Apramycin (100 mg/ml) anstatt einer Abkochung des FreisetzungsmEDIUMs, zeigte keinen Effekt in der Abtötung der Bakterien bzw. Inaktivierung der Enzyme und wurde als nicht geeignete Negativkontrolle angesehen (vgl. Abbildung 4.51).

#### 3.6.2.4 Wiederfindungsrate

Aufgrund des kleinen Freisetzungsvolumens (150 ml) und der teilweise recht niedrigen pH-Werte des FreisetzungsmEDIUMs waren keine „sink-Bedingungen“ gegeben (vgl. 2.1.1.1). Deswegen und aufgrund von Schwankungen in der Wiederfindungsrate bei der Extraktion des Wirkstoffs aus dem FreisetzungsmEDIUM wurden bei jedem Versuch der Wirkstoff aus zwei Tablettenkernen in dem Testmedium freigesetzt, um die Wiederfindungsrate bestimmen zu können. Der Mittelwert aus den letzten Wirkstofffreisetzungswerten dieser Tabletten wurde gleich der Wiederfindungsrate gesetzt.

### 3.6.3 Wirkstoffextraktion

Zur Bestimmung der freigesetzten Arzneistoffmenge muss der Wirkstoff zunächst aus der Matrix des Freisetzungsmediums extrahiert werden. Die Extraktionsmethode wurde aus der Dissertation von Nadia Schwalm übernommen und wie unter 3.6.2.1 beschrieben modifiziert. (Schwalm 2007).

Es wurden 4 ml Proben zu definierten Zeitpunkten entnommen und für 5 Minuten im Wasserbad (80 °C) abgekocht, bevor sie mit 4 ml Wasser verdünnt wurden. Nach der Zentrifugation (4500 g, 5 min, RT) bildete sich ein Bodensatz. 5 ml des Überstandes wurden durch einen Glasfaserfilter (Rezist<sup>®</sup> 30/GF 92) filtriert, bevor 6 ml Extraktionsmittel (Diethylether / Ethylacetat (1:1)) zugesetzt wurden. Die folgende Flüssig/Flüssig (Fl./Fl.) - Extraktion erfolgte unter intervallartigem Schütteln (1400 rpm, 7 min (1 min Schütteln, 20 sec Pause), RT) auf dem Thermomixer. Nach erneuter Zentrifugation (4500 g, 5 min, RT) wurde 1 ml Überstand im Vakuumkonzentrator eingedampft (> 4h). Das eingeeengte Produkt wurde in 1 ml Methanol aufgenommen und auf dem Thermomixer unter Schütteln (700 rpm, 10 min, RT) gelöst. Nach Filtration (0,2 µm PTFE-Filter) wurden ein 100 µl Aliquot des Filtrats mit 900 µl mobiler Phase (68 Teile Phosphatpuffer pH 6,6 und 32 Teile ACN) gemischt und an der HPLC vermessen (vgl. Abbildung 3.14).

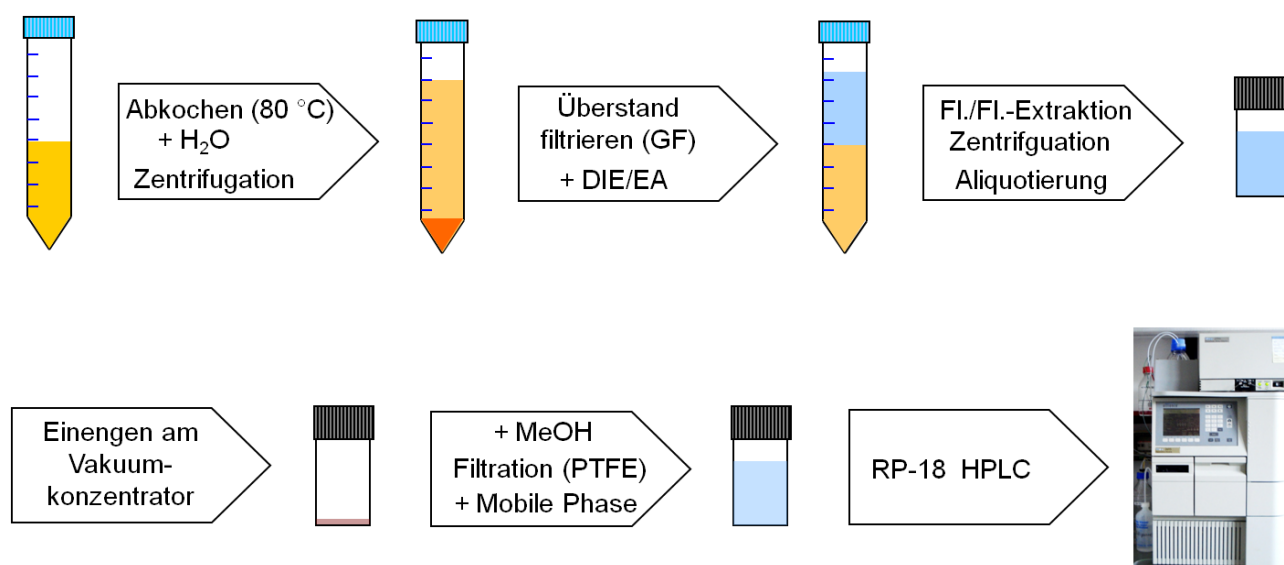
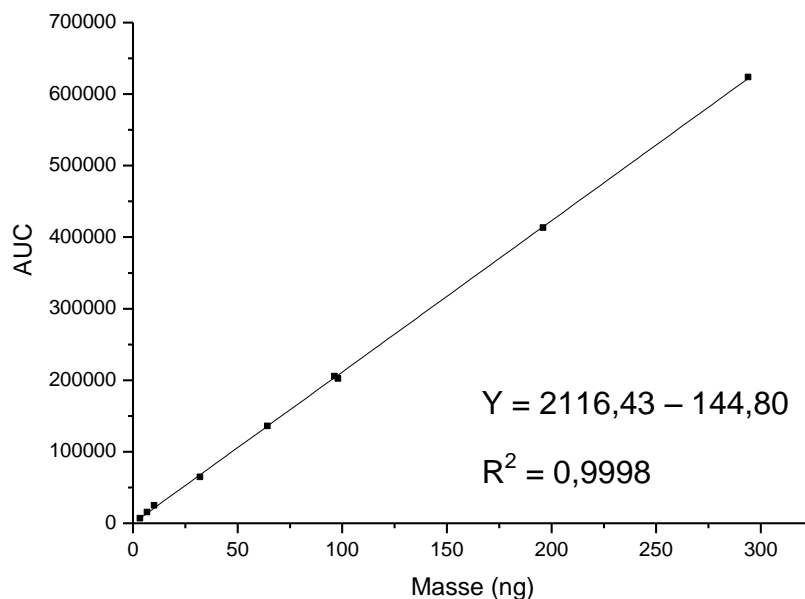


Abbildung 3.14 – Wirkstoffextraktion aus CMT-Proben

### 3.6.4 HPLC - Analytik

Es wurde eine Kalibriergerade im Bereich von 8.500 – 600.000 Flächeneinheiten erstellt (siehe Abbildung 3.15). Somit konnte sichergestellt werden, dass alle Messpunkte interpolierbar waren.



**Abbildung 3.15 – Kalibriergerade von Diclofenac-Na aufgenommen bei  $\lambda_{\max}$  276 nm an der HPLC**

Von den extrahierten Proben wurden jeweils 40  $\mu$ l injiziert und mittels RP-18 Säule aufgetrennt (siehe Tabelle 3.19). Der Peak nach einer Retentionszeit von 4,4 Minuten entsprach dem Wirkstoff Diclofenac-Na. Die entsprechende AUC wurde mittels Kalibriergerade, unter Berücksichtigung der Verdünnungsschritte bei der Extraktion und der Wiederfindungsrate, in die Wirkstofffreisetzung in Prozent umgerechnet.

Da die Signale bei niedrigen Wirkstofffreisetzungswerten nur sehr klein ausfielen, wurde das Peak - Rauschverhältnis genauer betrachtet. Selbst für niedrigste Konzentrationen an Diclofenac - Na (9.136 Area Units (AU)) konnte noch ein Signal-Rauschverhältnis von  $> 10:1$  bestimmt werden. Die Mehrfachapplikation von 20  $\mu$ l bzw. 40  $\mu$ l Diclofenac-Na Standardlösung (260 ng/ml) ergaben  $6.909 \pm 298$  AU bzw.  $13.120 \pm 518$  AU. Die relativen Standardabweichungen lagen stets bei  $< 5 \%$ .

**Tabelle 3.19 – Versuchsparameter HPLC**

Stationäre Phase	
RP-18-Säule	Nucleosil CC 125/4 100-5 C 18 HD
Vorsäule	LiChrospher® 100 RP-18 (5 µm)
Mobile Phase (isokratischer Lauf)	68 Teile Phosphatpuffer pH 6.6 0.05 mM 32 Teile Acetonitril
Flussrate	1 ml/min
Temperatur	
Proben	25°C
Säule	25°C
Laufzeit	10 min
Detektion (PDA)	276 nm

## 4 Ergebnisse und Diskussion

Das Ziel dieser Arbeit war es, Filmtabletten zur dickdarmspezifischen Wirkstofffreisetzung zu entwickeln. Diese Tabletten sollen bei der Passage durch den Magen und Dünndarm möglichst wenig Wirkstoff freigeben. Erst verzögert, beim Übergang in den Dickdarm, nach Überwindung der Ileozäkalklappe, sollen die Filmtabletten den Wirkstoff rasch und vollständig freisetzen (vgl. Abbildung 4.1).

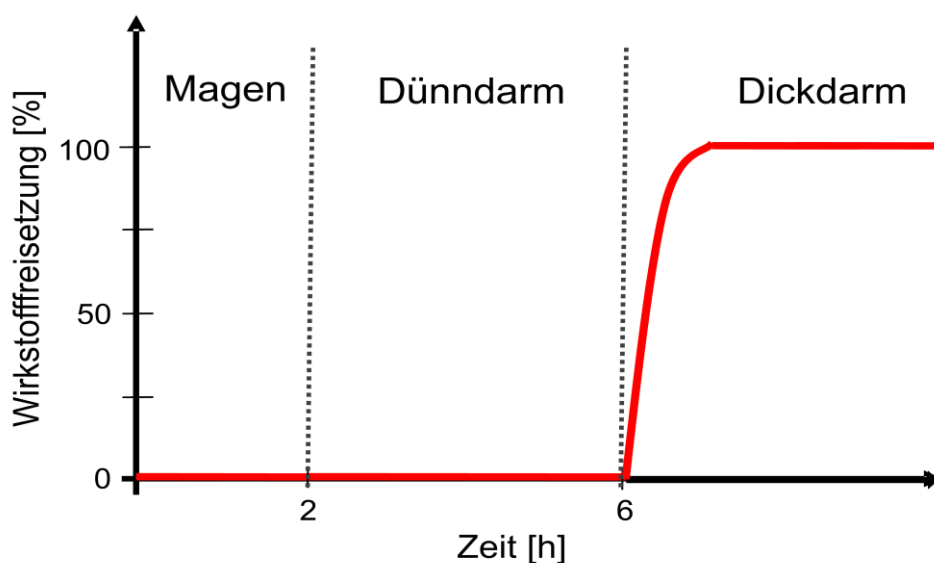


Abbildung 4.1 – Angestrebte Wirkstofffreisetzung der Filmtabletten für die colon-spezifische Wirkstofffreisetzung

### 4.1 Schmelztabletten

Wie in 1.1.1.3 und 1.1.2.3 beschrieben, ist im Dickdarm nur wenig Flüssigkeit zum Lösen des Wirkstoffs vorhanden. Mit zunehmender Verweilzeit im Dickdarm spitzt sich diese Situation aufgrund großer Wasserresorption stetig zu. Aus galenischer und biopharmazeutischer Sicht scheint es daher günstig zu sein, wenn der Wirkstoff und möglichst alle weiteren Hilfsstoffe des Tablettenkerns bereits innerhalb des intakten Filmverbandes gelöst sind, bevor die Tablette den Dickdarm erreicht. Da dies bei den MCC-Kernen aufgrund eines hohen Anteils an wasserunlöslichem Avicel<sup>®</sup> nicht gegeben war, wurden wie in 3.1 beschrieben, Schmelztabletten hergestellt. Diese bestehen größtenteils aus dem sehr gut löslichen Mannitol (enthalten in Ludiflash<sup>®</sup>).



Die Ergebnisse der durchgeführten Pulveranalytik sind Tabelle 4.1 zu entnehmen. Demnach war das Fließverhalten zufriedenstellend (Böschungswinkel) bzw. mäßig (Hausner-Faktor). Die Restfeuchte ist mit knapp einem Prozent recht gering. Da auf eine Granulierung verzichtet wurde, ist es nicht überraschend, dass der  $d_{50}$ -Wert nur bei etwa 100  $\mu\text{m}$  liegt. Diese Kenntnis erklärt die zuvor genannten Ergebnisse für das Fließverhalten. Dennoch konnte die Pulvermischung verpresst werden.

**Tabelle 4.1 – Pulveranalytik der Tablettiermasse zur Herstellung von Schmelztabletten (jeweils n = 3)**

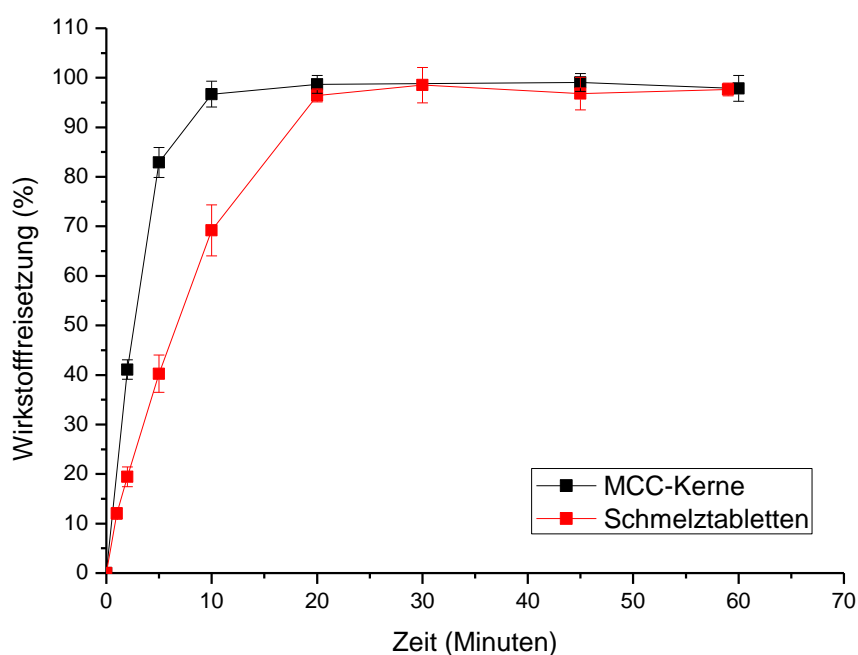
Fließverhalten	Massefluss
Fließgeschwindigkeit	nicht frei fließend
Böschungswinkel [°]	$39,34 \pm 1,18$
Hausner Faktor = $\left(\frac{\text{Stampfdichte}}{\text{Schüttdichte}}\right)$	$1,31 \pm 0,02$
Restfeuchte [%]	$0,96 \pm 0,06$
$d_{50}$ [ $\mu\text{m}$ ]	100

Die Tablettiermischung wurde bei drei verschiedenen Pressdrücken verpresst und die Ergebnisse der folgenden Tablettenanalytik wurden verglichen (vgl. Tabelle 4.2). Weitere Experimente wurden nur noch mit Schmelztabletten durchgeführt, die bei 7,5 kN verpresst wurden. Die Werte für die durchschnittliche Masse und Bruchfestigkeit sind bei dieser Charge ähnlich denen der MCC-Kerne (vgl. Tabelle 2.4). Folglich können alle weiteren Ergebnisse von MCC-Kernen und Schmelztabletten sehr gut miteinander verglichen werden. Der Abrieb (0,32 %) und die Zerfallszeit im *Simulated-Wetting-Test* ( $50,9 \pm 12,5$  s) nimmt im Vergleich zu den Tabletten verpresst bei 5 und 10 kN eine Mittelstellung ein. Beide Werte sind akzeptabel. Die relative Standardabweichung in der Streuung der Masse liegt bei allen Chargen bei  $< 1$  %. Alle Chargen bestanden die Prüfung „Gleichförmigkeit der Masse“ nach dem Ph. Eur.

**Tabelle 4.2 – Tablettenanalytik der Schmelztabletten ( $n_{\text{Masse}} = 20$ ,  $n_{\text{Bruchfestigkeit}} = 10$  und  $n_{\text{SWT}} = 6$ )**

	5 kN	7,5 kN	10 kN
<b>Masse [mg]</b>	226,4 ± 1,4	223,5 ± 1,2	225,3 ± 1,9
<b>Gleichförmigkeit der Masse</b>	bestanden	bestanden	bestanden
<b>Bruchfestigkeit [N]</b>	54,2 ± 4,0	99,5 ± 10,7	110,5 ± 8,1
<b>Abrieb [%]</b>	0,41	0,32	0,27
<b>Simulated Wetting Test [s]</b>	28,4 ± 3,9	50,9 ± 12,5	104,9 ± 24,6

Die Wirkstofffreisetzung in SIF-Puffer wurde für Schmelztabletten und MCC-Kerne wie unter 3.5.6. beschrieben durchgeführt. MCC-Kerne zeigen hierbei eine schnellere Wirkstofffreisetzung als Schmelztabletten. Dies könnte durch die Zusammensetzung (Bindemittel- und Sprengmittelanteil) und des Herstellungsprozesses (Porosität) erklärbar sein. Innerhalb von 10 Minuten sind bereits 95 % des Wirkstoffs freigesetzt, während Schmelztabletten hierfür etwa 20 Minuten benötigen. Nach 20 – 30 Minuten hatten alle Tabletten eine Wirkstofffreisetzung von 100 % erreicht (vgl. Abbildung 4.2). Zur Erzielung einer schnellen Freisetzung im Dickdarmmilieu, nach Aufbrechen des Filmverbandes, scheinen somit beide Tablettenkerne sehr geeignet zu sein (vgl. Abbildung 4.1).

**Abbildung 4.2 – Wirkstofffreisetzung von MCC-Kernen und Schmelztabletten ( $n_{\text{MCC-Kerne}} = 4$  und  $n_{\text{Schmelztabletten}} = 6$ )**

## 4.2 Chitosan

Eingesetzte Chitosanqualitäten wurden bezüglich Molmasse, Viskosität, thermoanalytischen Verhaltens und Partikelgröße untersucht.

### 4.2.1 Molmassenverteilung

Zur Bestimmung der Molmassen wurde im BASF Kompetenzzentrum Analytik (Ludwigshafen) die Methode der Gelpermeationschromatographie - High Performance Liquid Chromatography (GPC-HPLC), gekoppelt mit einem Brechungsindexdetektor bzw. Lichtstreuendetektor, verwendet (vgl. 3.2.1). Bei der Verwendung des Brechungsindexdetektors wurde zur Korrelationsbestimmung eine Kalibriergerade mit eng verteilten Pullulan Standards erstellt und als stationäre Phase die Säule Suprema<sup>®</sup> MAX linear M bzw. XL verwendet. Die Proben eluierten hierbei an der Ausschlussgrenze der Säulen (vgl. Abbildung 4.3 und Tabelle 4.3).

Dieses Problem konnte umgangen werden, indem als stationäre Phase eine NOVEMA<sup>®</sup> MAX 30.000A Säule zur Auftrennung größerer Molekulargewichte eingesetzt wurde. Bei Verwendung dieser Säule wurde sowohl ein Brechungsindexdetektor, als auch ein Streulichtdetektor zur absoluten Bestimmung des relativen Molekulargewichts verwendet (vgl. Abbildung 4.4 und Tabelle 4.3). Unter Verwendung der NOVEMA<sup>®</sup> MAX 30.000A Säule waren die Proben 95/50, LMW und HMW nicht vollständig gelöst. Die erhaltenen Resultate müssen deshalb für diese Proben kritisch beurteilt werden. Die Werte aller vermessenen Chitosanqualitäten liegen im Bereich von  $M_n = 35.000 - 113.500 \text{ g/mol}$  bzw.  $M_w = 37.000 - 260.000 \text{ g/mol}$ .

Die in dieser Arbeit am häufigsten eingesetzten Chargen sind Chitosan LMW ( $M_n = 68.000 - 105.000 \text{ g/mol}$  bzw.  $M_w = 126.000 - 603.000 \text{ g/mol}$ ) und Chitosan HMW ( $M_n = 100.000 - 120.000 \text{ g/mol}$  bzw.  $M_w = 220.000 - 1.639.000 \text{ g/mol}$ ). Die Dispersitäten sind mit 7,3 – 8,8 (Chitosan LMW) und 8,5 – 16,4 (Chitosan HMW) vergleichsweise hoch.

Die Chitosanqualitäten der Firma Heppe (Chitosan 95/5 – 95/50) waren homogener verteilt mit einem Polydispersitätsindex (PDI) von nur 1,9 – 3,7.

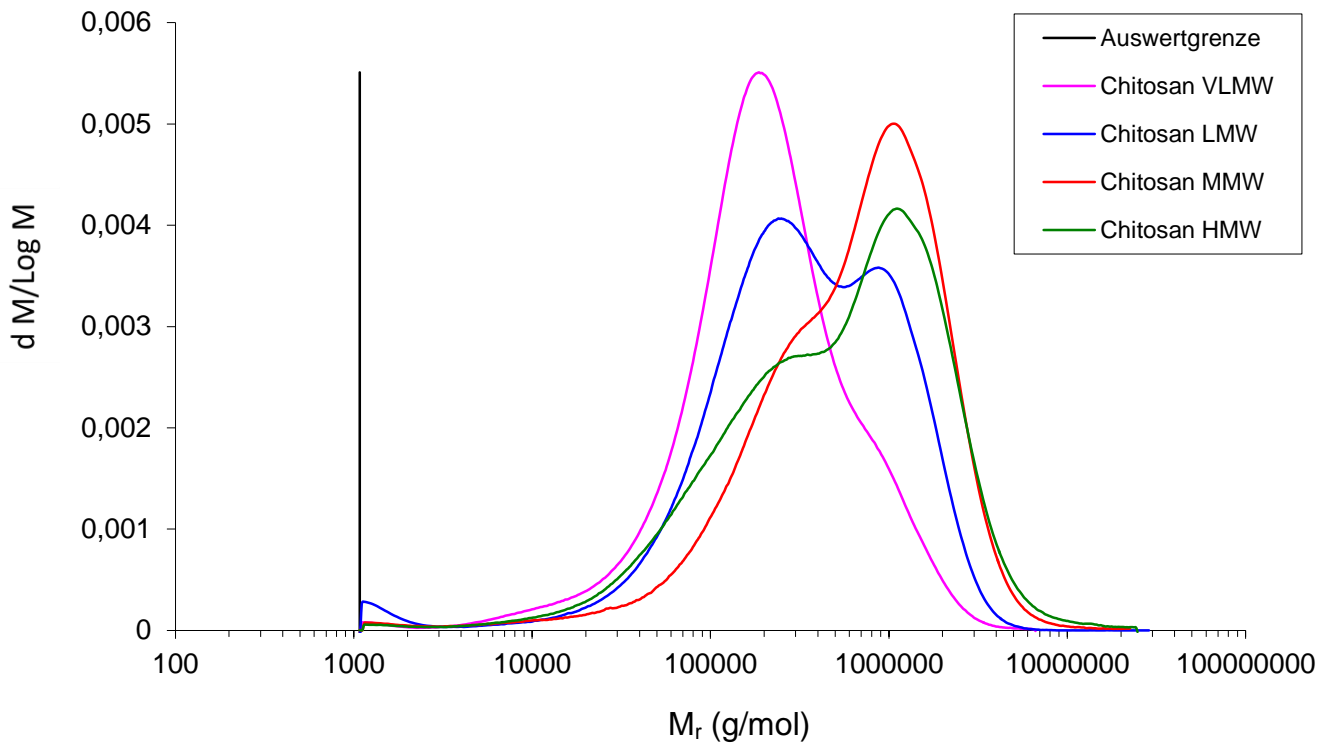


Abbildung 4.3 – Molmassenverteilung von Chitosanqualitäten (Suprema® MAX linear M/XL)

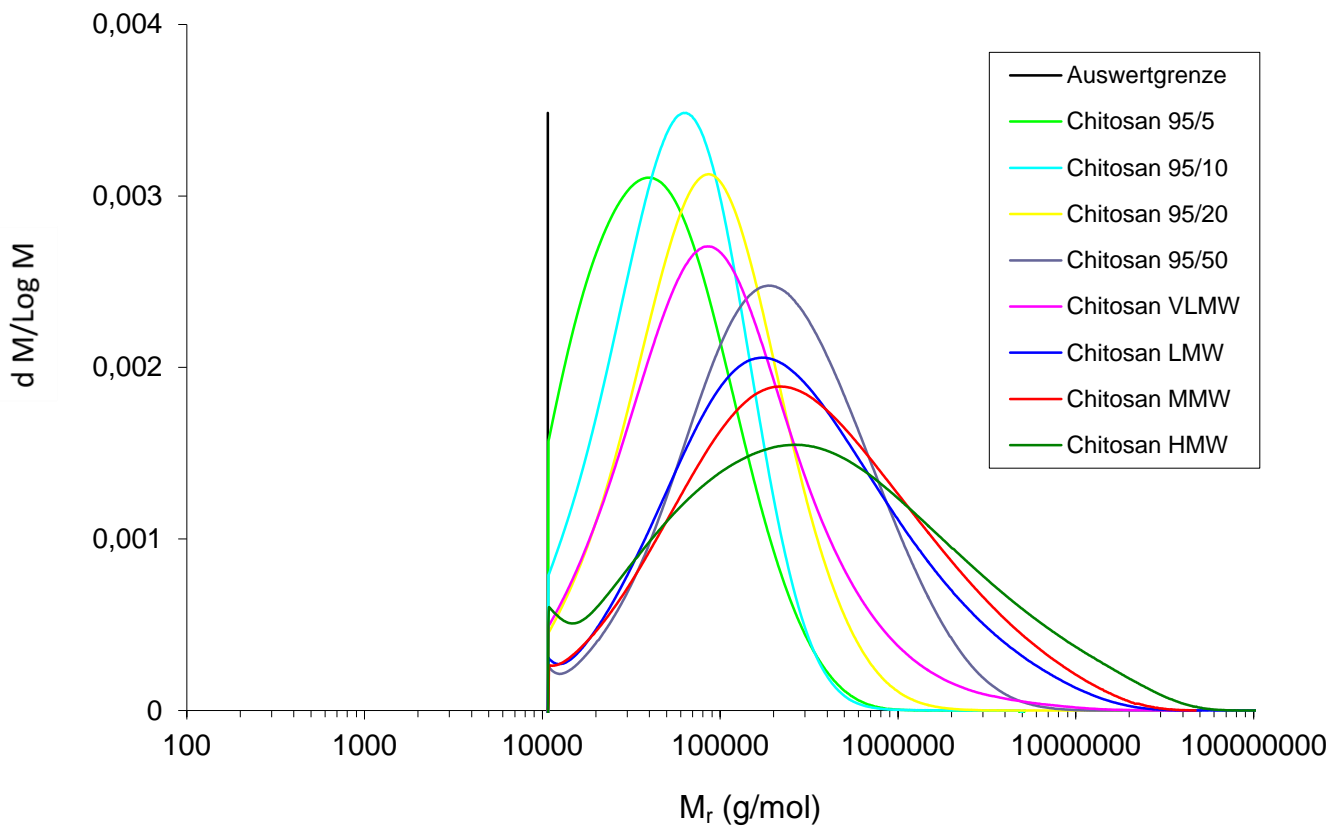


Abbildung 4.4 - Molmassenverteilung von Chitosanqualitäten (NOVEMA® MAX 30.000A)

Tabelle 4.3 – Molmassen und Dispersitäten der Chitosanqualitäten

Säulen	Supema® MAX linear M bzw. XL			NOVEMA® MAX 30.000A			
Detektion	Brechungsindexdetektor unter Verwendung von Pullulan-Standards (Molekulargrößeneinheit Pullulan)						Lichtstreuendetektor
Auswert- grenze	1080 g · mol <sup>-1</sup>			10733 g · mol <sup>-1</sup>			x
Probe	M <sub>n</sub> [g · mol <sup>-1</sup> ]	M <sub>w</sub> [g · mol <sup>-1</sup> ]	PDI	M <sub>n</sub> [g · mol <sup>-1</sup> ]	M <sub>w</sub> [g · mol <sup>-1</sup> ]	PDI	M <sub>w</sub> [g · mol <sup>-1</sup> ]
95/5				34.450	70.430	2,0	37.000
95/10				43.630	81.750	1,9	40.000
95/20				57.300	133.800	2,3	60.000
95/50				107.600**	402.800**	3,7**	87.000**
VLMW	82.620*	349.200*	4,2*	60.300	251.100	4,2	86.000
LMW	68.710*	603.000*	8,8*	105.000**	772.000**	7,3**	126.000**
MMW	134.600*	1.0180.00*	7,6*	113.500	1.004.000	8,8	260.000
HMW	120.000*	1.017.00*	8,5*	100.000**	1.639.000**	16,4**	220.000**

\* Proben lagen an der Ausschlussgrenze

\*\* Proben waren nicht vollständig gelöst

#### 4.2.2 Rheologisches Verhalten

Am Rheometer (RheoStress® RS 100, Haake) wurde die dynamische Viskosität von reinen Chitosanlösungen untersucht. Die Chitosanlösungen 95/5, 95/10, 95/20 und VLMW zeigten in den untersuchten Konzentrationen ein von der Schergeschwindigkeit (50 - 150 s<sup>-1</sup>) unabhängiges Viskositätsprofil. Die Qualitäten 95/50 und LMW zeigen ebenso ideales Fließverhalten in Konzentrationen von bis zu 2 %. Bei Konzentrationen ab 3 % scheinen sich die Polymerketten gegenseitig zu beeinflussen, wodurch ein pseudoplastisches Fließverhalten resultiert. Bei Chitosan HMW zeigt sich dieses strukturviskose Phänomen bereits ab einer Konzentration von 2 % (siehe Abbildung 4.5 und Abbildung 4.6).

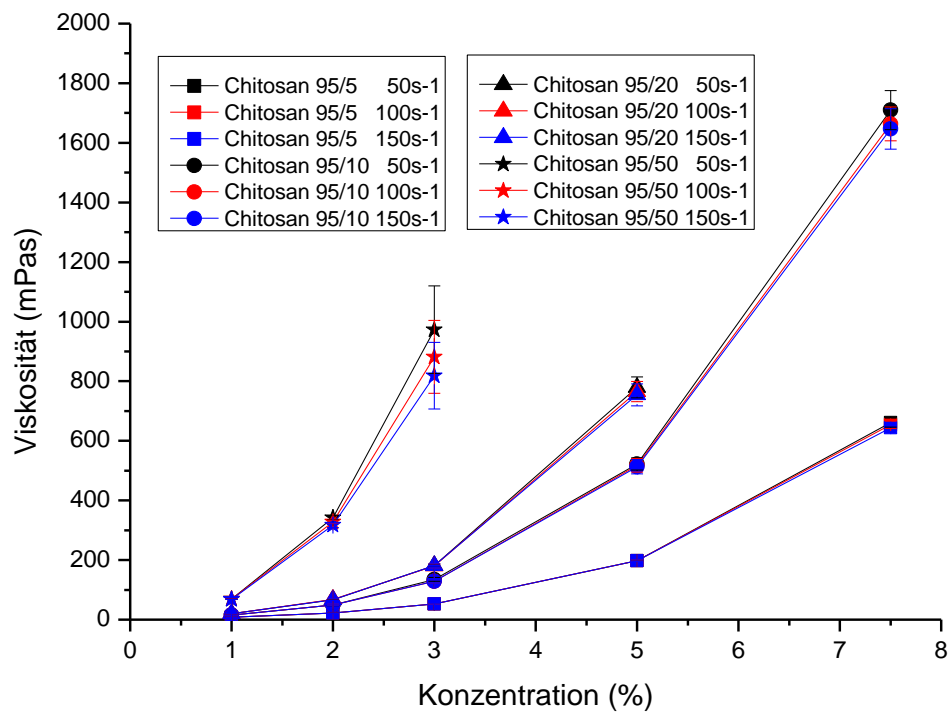


Abbildung 4.5 – Viskosität von Chitosanqualitäten (Heppe Medical Chitosan GmbH, Halle) (n = 3)

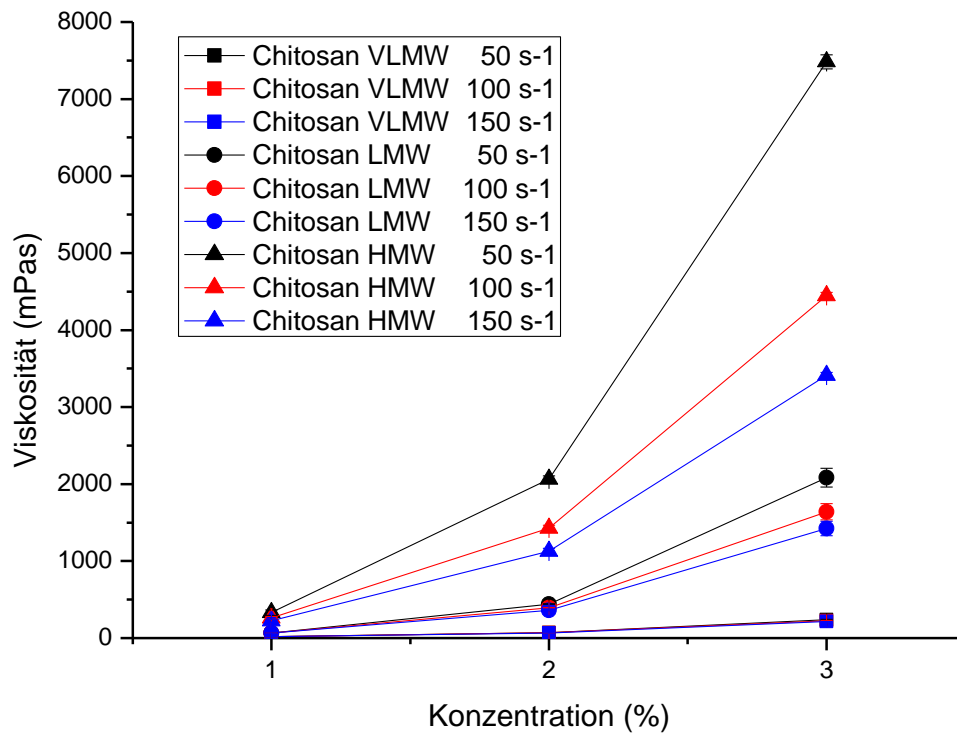


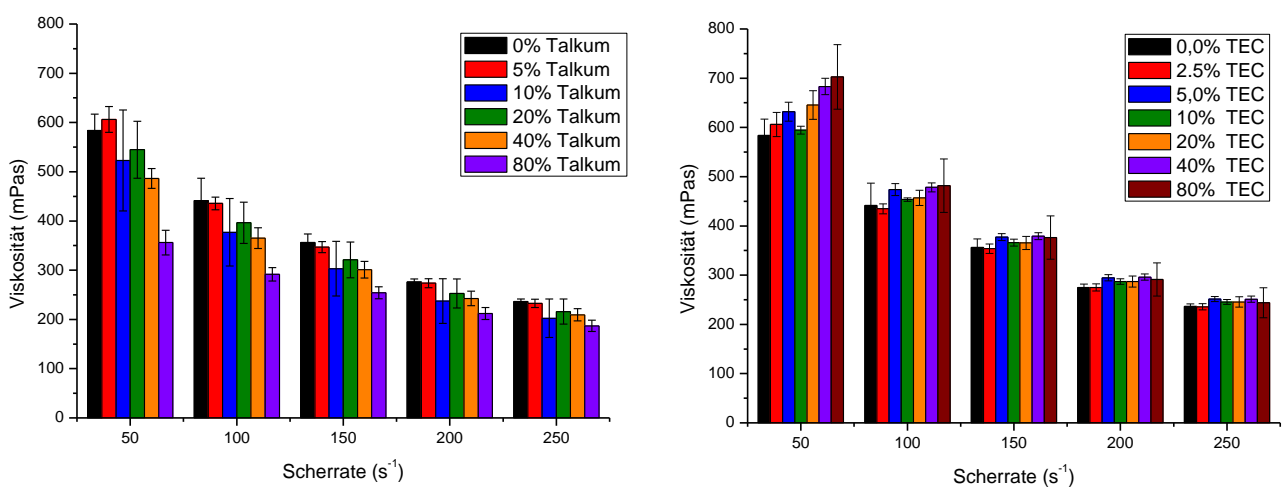
Abbildung 4.6 – Viskosität von Chitosanqualitäten (Sigma-Aldrich, Steinheim) (n = 3)

Die Viskosität ist ein entscheidender Faktor bei dem Versprühen von Dispersionen für das Filmcoating. Mit zunehmender Viskosität nimmt auch die Größe der versprühten Tröpfchen zu. Liegt die Viskosität der Dispersion über ca. 500 mPas ist meistens kein gleichmäßiges Sprühen mehr zu erzielen (vgl. 3.3). Folglich wurden für den Filmüberzugsprozess Konzentrationen von Chitosan eingesetzt, die eine Viskosität aufweisen, die kleiner als 500 mPas ist (vgl. Tabelle 4.4).

**Tabelle 4.4 – Maximalkonzentrationen von noch sprühfähigen Chitosanlösungen**

	95/5	95/10	95/20	95/50	VLMW	LMW	MMW	HMW
<b>Konzentration [%]</b>	6	5	4	2	2	2	1,3	1

In einer weiteren Versuchsreihe wurde untersucht, ob der Zusatz von Talkum bzw. Triethylcitrat (TEC) die Viskosität der Sprühdispersion beeinflusst. Bei niedriger Scherrate ( $50 \text{ s}^{-1}$ ), ist erkennbar, dass die Viskosität mit steigendem Anteil an Talkum sinkt. Mit zunehmender Scherung der Probe ist dieser Effekt jedoch geringer ausgeprägt. Bei der Zugabe von TEC konnte bei geringer Scherung ( $50 \text{ s}^{-1}$ ) ein gegenläufiger Effekt beobachtet werden. Es kam zu einem leichten Anstieg in der Viskosität, der sich ab einer Scherung von  $100 \text{ s}^{-1}$  nivelliert (siehe Abbildung 4.7).



**Abbildung 4.7 – Viskositätseinfluss von Talkum bzw. TEC auf Chitosanlösungen (HMW) (n = 3)**

Praxisrelevant sind sowohl niedrige Scherraten (Rühren der Dispersion im Becherglas, Fördern in Schlauch und Düse), sowie auch hohe Scherraten (Pressen der Dispersion durch den Sprühspalt). Viskositätsänderungen bedingt durch Talkum- bzw. TEC-Zugabe wurden als sehr gering angesehen und vernachlässigt.

Die kinematischen Viskositäten von Chitosanlösungen, gemessen am Kapillarviskosimeter, sind in Tabelle 4.5 angegeben. Die verwendete Chitosan LMW - Qualität verletzt demnach das Patent von Sekigawa & Yoshiro nicht (patentierter Bereich: kinematische Viskosität > 30 cSt und DA > 85 %), da die Viskosität, bei gleicher Messanordnung, kleiner 30 cSt ist. Die Viskosität von Chitosan HMW liegt zwar über 30 cSt, aber der Deacetylierungsgrad ist mit 78 % nicht innerhalb des patentierten Bereichs (Sekigawa & Yoshiro 1991). Somit liegt auch hierbei keine Patentverletzung vor (vgl. 1.3.2.5).

**Tabelle 4.5 - Kinematische Viskosität von Chitosanlösungen (0,5 %) in Essigsäure (0,5 %) (n = 6)**

Chitosan (Kettenlänge)	Kinematische Viskosität [cSt]
LMW	16,2 ± 0,1
MMW	58,5 ± 0,4
HMW	69,3 ± 0,7

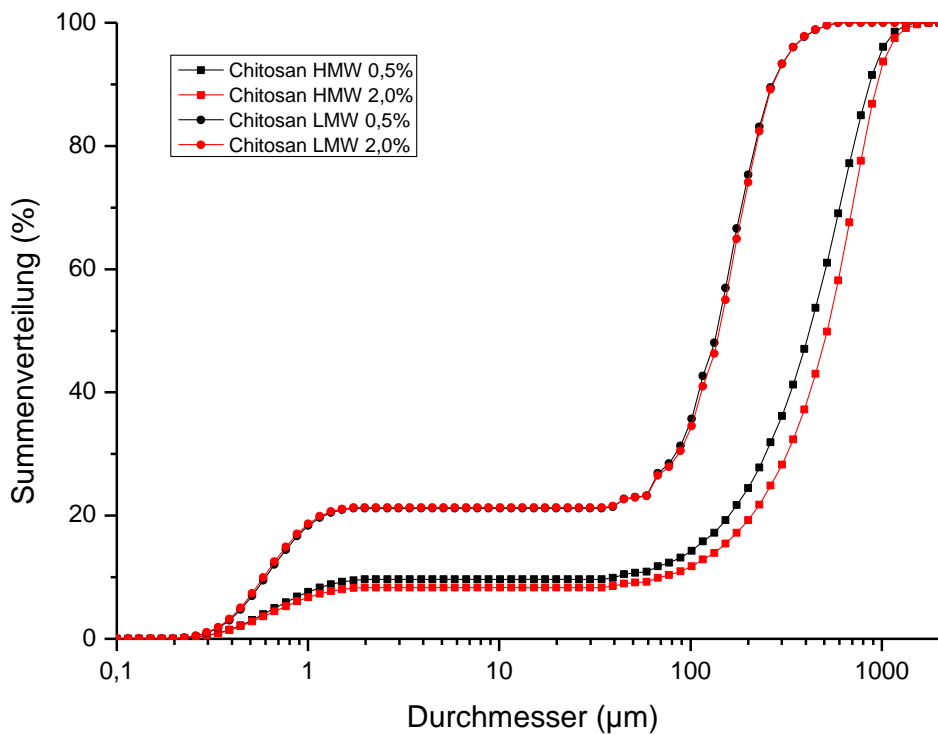
#### 4.2.3 Thermoanalytisches Verhalten

Unabhängig von der Vorbehandlung konnte bei keiner der untersuchten Chitosanproben eine Glasübergangstemperatur identifiziert werden.

#### 4.2.4 Partikelgrößenbestimmung- und zerkleinerung

Zuerst wurde mittels Laserbeugung die Partikelgrößenverteilung von Chitosan LMW und HMW bestimmt. Die Ergebnisse beider Proben waren unabhängig von der eingesetzten Konzentration (0,5 bzw. 2,0 %). Chitosan LMW Partikeln waren kleiner als die der HMW Qualität. Beide Proben zeigten ein Plateau ab etwa 1 – 2 µm. Somit waren etwa 23 % aller Chitosan LMW Partikeln und etwa 10 % aller Chitosan HMW Partikeln kleiner 2 µm. Es befanden sich keine Partikeln im Größenbereich von 2 – 40 µm in den Proben. Daher lagen folglich 77 % der Chitosan LMW Partikeln im Größenbereich von 40 - 300 µm. 90 % der Chitosan HMW Partikeln waren in einem Größenbereich von 40 - 1500 µm (siehe Abbildung 4.8).

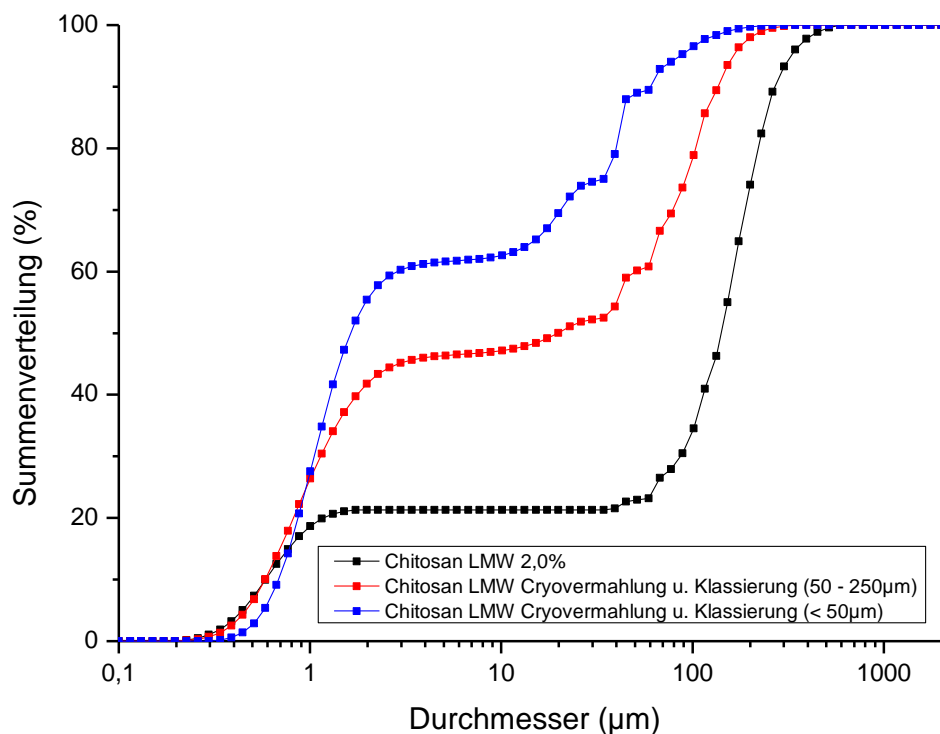




**Abbildung 4.8 – Partikelgrößenverteilung von Chitosan LMW und Chitosan HMW**

Bei der Vermahlung in der Schwingmühle MM 400 und mittels ART MICCRA D-27 konnte keine Zerkleinerung erreicht werden. Die Partikelgrößenverteilung unterschied sich nicht zur unbehandelten Probe, wie sie in Abbildung 4.8 dargestellt ist. Es wurde ebenfalls untersucht, ob durch Sprühtrocknung einer Chitosanlösung eine Zerkleinerung erzielt werden konnte. Allerdings ging sprühgetrocknetes Chitosanacetat beim dispergieren mittels Ultra-Turrax in Lösung, womit keine Partikelgrößenverteilung bestimmt werden konnte. Das Versprühen einer Chitosansuspension könnte dieses Problem umgehen.

Allein bei der Kryovermahlung mit folgender Ultraschall-Klassierung (< 50 µm bzw. 50 - 250 µm) konnte eine Zerkleinerung erzielt werden. Der Größenbereich von kleiner 2 µm konnte auf 45 % (50 – 200 µm) bzw. 60 % (< 50 µm) angehoben werden. Die Länge des Plateaus verkürzt sich durch die Behandlung. So liegen die restlichen 55 % der Partikeln im Größenbereich von 10 – 200 µm (50 – 200 µm) bzw. 40 % der restlichen Partikeln im Größenbereich von 10 – 150 µm (< 50 µm). Die  $D_{50}$  - Werte liegen bei 19,7 µm (Fraktion: 50 – 250 µm) und 1,6 µm (Fraktion: < 50µm) (vgl. Abbildung 4.9). Mit einem weiteren Klassiervorgang durch ein noch feineres Sieb könnte somit ein großes Partikelkollektiv mit Partikeln < 10 µm gewonnen werden.



**Abbildung 4.9 - Partikelgrößenverteilung von Chitosan LMW nach Kryovermahlung und anschließender Klassierung (< 50 µm bzw. 50 – 250 µm)**

Das Partikelkollektiv mit Teilchengrößen < 10 µm könnte zur Herstellung von Pseudolatices verwendet werden. Hierfür werden die Partikeln, unter Tensidzusatz, in Wasser suspendiert (Bauer *et al.* 2012). Diese Pseudolatices könnten zukünftig den Coatingprozess im Vergleich zu kolloidalen Lösungen beschleunigen, da aufgrund niedrigerer Viskosität bei gleichem Polymeranteil, das Versprühen von mehr Filmbildner pro Zeiteinheit ermöglicht wird. Der Verfilmungsvorgang wäre ähnlich dem von synthetischen Latices, wie z. B. Eudragit L 30 D-55 (vgl. Abbildung 3.7).

Zudem könnte die Klebrigkeit von Pseudolatices im Vergleich zu kolloidalen Lösungen, aufgrund reduzierter Ketteninteraktion, kleiner sein. Folglich wäre das Überziehen von Pellets möglich. Dies wäre vorteilhaft, da folglich die Passage des Magens kürzer und besser vorhersehbar wäre und die Gefahr des dose dumpings reduzierbar wäre. Bisher ist das einheitliche Befilmen von Pellets mit Chitosan mit großer Ausbeute, aufgrund zu großer Verklebungstendenz, kaum möglich (Cervera *et al.* 2004, Schwalm 2007).

### 4.3 Filmcoating im INNOJET AirCoater 025

Mittels *INNOJET* AirCoater 025 (Fa. *INNOJET*, Steinen) konnten dünne homogene Filme auf die Tablettenkerne aufgetragen werden. Für Chitosan LMW mit einem Auftrag von  $5 \text{ mg/cm}^2$  lagen die Mittelwerte der Masse (20 Filmtabletten) beispielsweise bei  $239,6 \pm 1,5 \text{ mg}$ . Dies entspricht einer relativen Standardabweichung von lediglich 0,6 %. Die Extremwerte unterschieden sich um  $\pm 1,3 \%$  vom Mittelwert. Folglich wurde die Prüfung auf „Gleichförmigkeit der Masse“ nach Ph. Eur. bestanden.

Der gleichmäßige Auftrag konnte ebenfalls mittels lichtmikroskopischen- und rasterelektronenmikroskopischen (REM) Aufnahmen dargestellt werden (siehe Abbildung 4.10 bis Abbildung 4.12). Die Filmdicke für einen  $5 \text{ mg/cm}^2$  Auftrag lag etwa bei  $70 \text{ }\mu\text{m}$  und für einen Polymerauftrag von  $10 \text{ mg/cm}^2$  bei etwa  $130 \text{ }\mu\text{m}$ . In Abbildung 4.12 sind die Talkumeinlagerungen in den Chitosanschichten erkennbar. Alle in dieser Arbeit abgebildeten REM-Aufnahmen wurden von Dr. Ralf Thomann (Freiburger Materialforschungszentrum, Alber-Ludwigs-Universität Freiburg) aufgenommen.

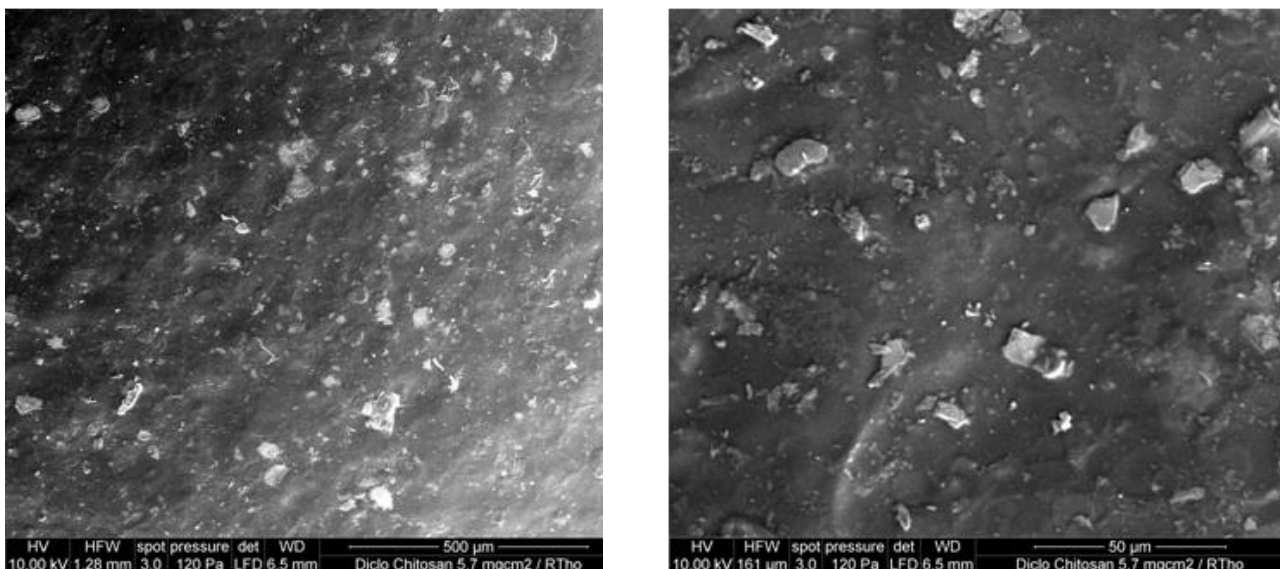


Abbildung 4.10 – REM-Aufnahmen von Chitosan Coating LMW  $5 \text{ mg/cm}^2$  in der Aufsicht

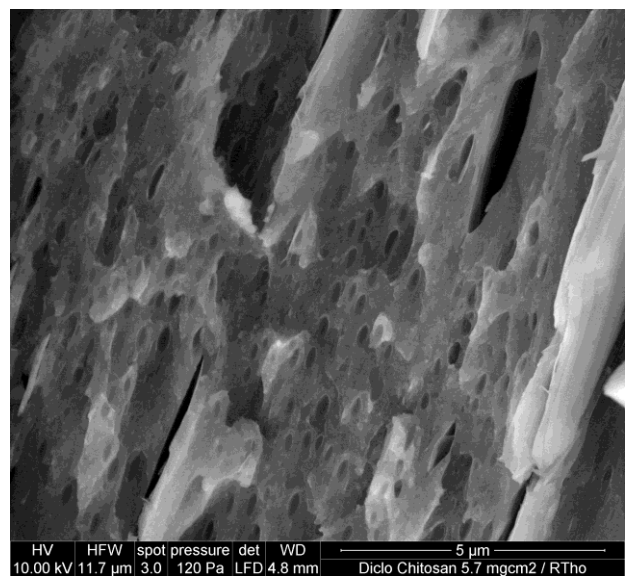
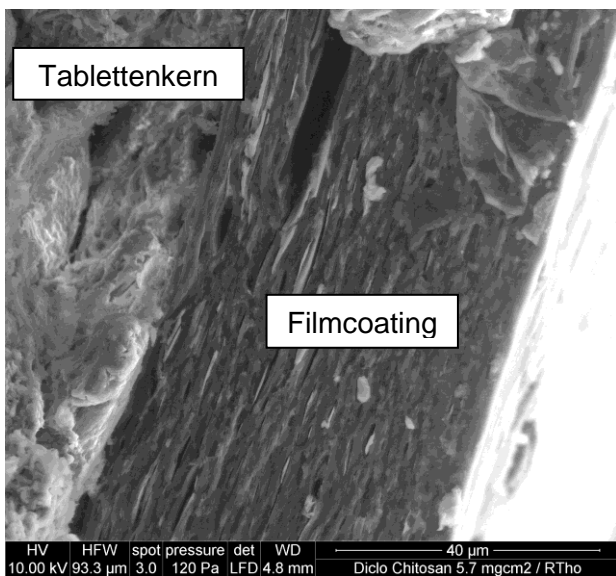
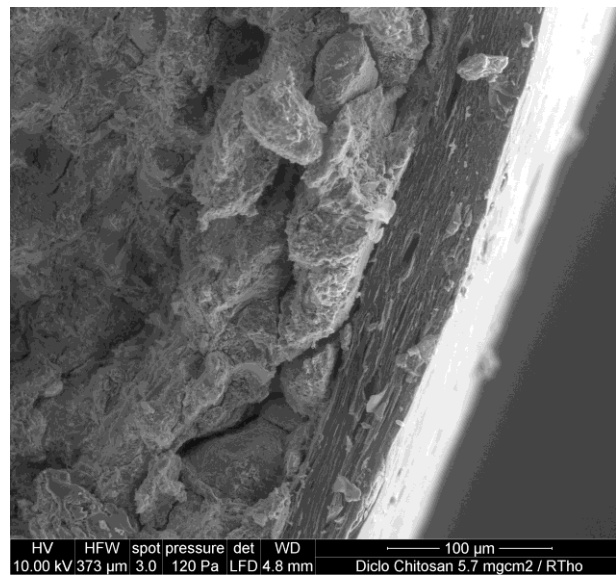
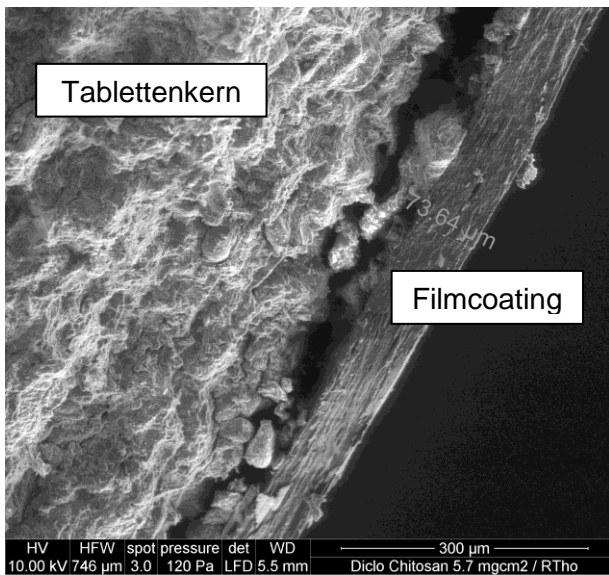


Abbildung 4.11 – REM-Aufnahmen von Chitosan Coating LMW 5 mg/cm<sup>2</sup> im Anschnitt

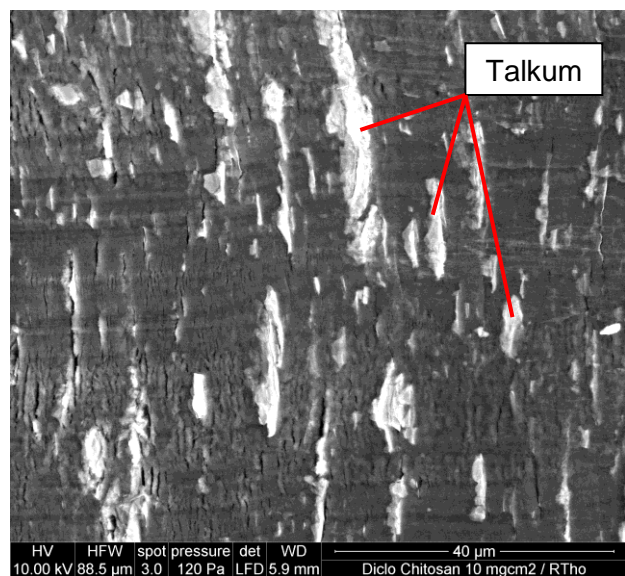
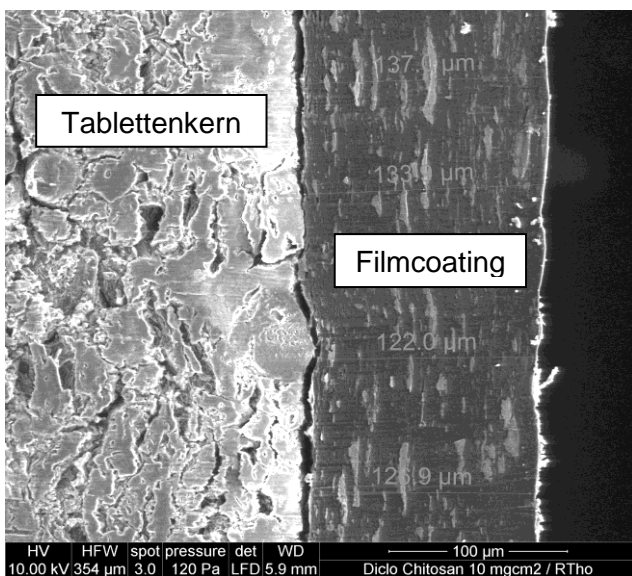


Abbildung 4.12 – REM-Aufnahmen von Chitosan Coating LMW 10 mg/cm<sup>2</sup> im Anschnitt

## 4.4 Quellungsstudien

Filmtabletten mit einem Chitosan LMW Auftrag von  $5 \text{ mg/cm}^2$  wurden in diversen Medienvolumina (SIF,  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ) mit bzw. ohne Rühren für 3 h quellen gelassen. Anschließend wurde die Quellungszahl (QZ) bestimmt. Hierbei konnte für unterschiedliche Medienvolumina kein signifikanter Unterschied in der QZ erkannt werden. Sowohl bei der Zunahme der Masse, der Höhe als auch des Durchmessers ergeben sich keine Änderungen der QZ (vgl. Abbildung 4.13). Alle folgenden Quellungsuntersuchungen wurden deshalb in Rollrandgläschen mit einem Puffervolumen von 5 ml durchgeführt.

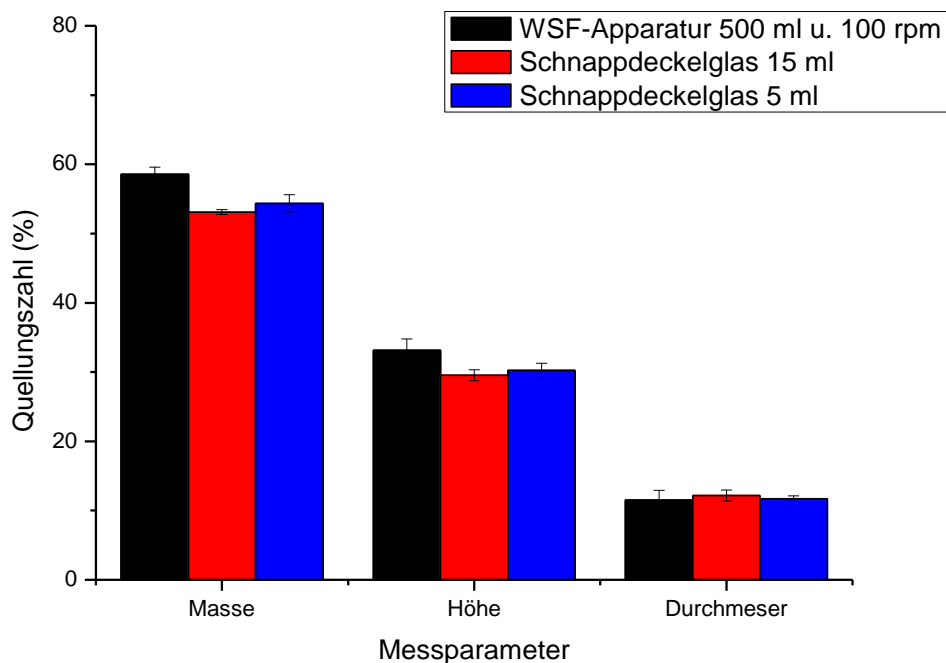
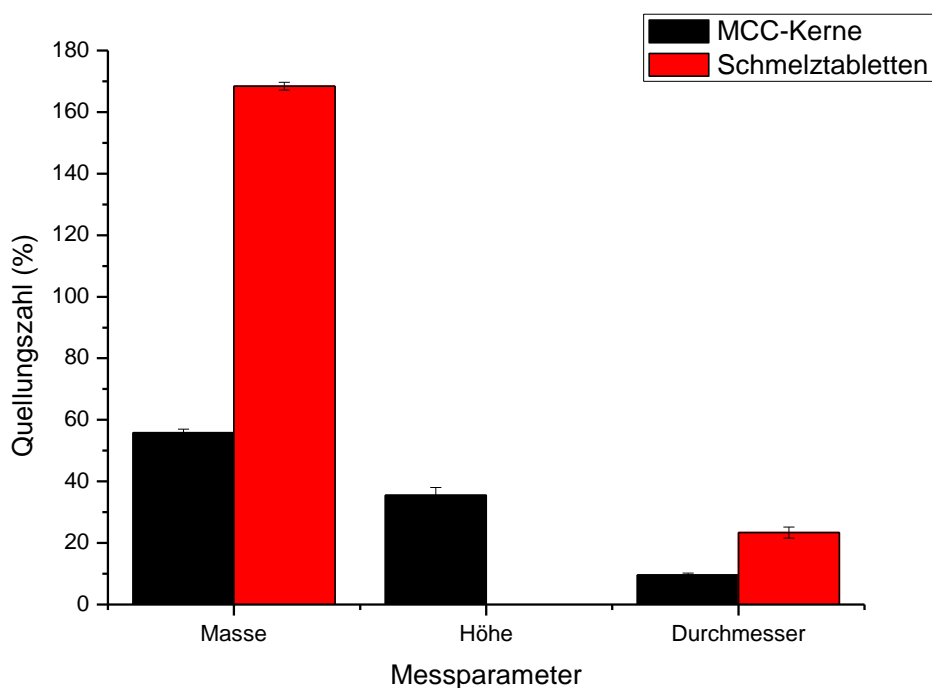


Abbildung 4.13 – Quellungsversuch mit Chitosan LMW  $5 \text{ mg/cm}^2$  Filmtabletten in diversen Medienvolumina ( $n = 6$ )

### 4.4.1 MCC-Kerne vs. Schmelztabletten

Als erstes wurde das Quellungsverhalten von mit Chitosan HMW ( $5 \text{ mg/cm}^2$ ) überzogenen Tablettenkernen untersucht. Die QZ bei Schmelztabletten ist stets höher, als bei MCC-Kernen. Bezüglich der Masse ist der Wert für Schmelztabletten etwa 3x und in Bezug auf den Durchmesser etwa 2,5x größer. Die Messung der Höhe konnte bei Schmelztabletten nicht durchgeführt werden, da die stark gequollenen Filmtabletten aufgrund des

verflüssigten Kerns, durch die Messvorrichtung aufplatzten (vgl. Abbildung 4.14 und Abbildung 4.15). Bezüglich des Einsatzes für eine enzymatisch kontrollierte Dickdarmfreisetzung scheint eine hohe QZ günstig zu sein, um die Filmpolymere für den enzymatischen Abbau zugänglich zu gestalten. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass mit zunehmender QZ auch die Stabilität der Filmtabletten abnimmt. In allen folgenden Quellungsuntersuchungen wurden nur noch Filmtabletten mit MCC-Kernen untersucht, weil v. a. der Einfluss diverser Polymere auf die Filmquellung verglichen werden soll.



**Abbildung 4.14 – Quellungsverhalten von MCC-Kernen bzw. Schmelztabletten mit einem Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup> Auftrag (Die Höhe der Schmelztabletten konnte nicht bestimmt werden) (n = 3)**



**Abbildung 4.15 – Aufgequollene mit Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup>**

Links: MCC-Kerne  
Rechts: Schmelztabletten

#### 4.4.2 Chitosan

In Abbildung 4.16 ist das Quellungsverhalten von mit Chitosan überzogenen Tabletten in Abhängigkeit von der verwendeten Kettenlänge und der applizierten Auftragsmenge dargestellt. Abgesehen von Filmtabletten mit einem Chitosan VLMW Auftrag, die eine  $QZ_{\text{Masse}}$  von etwa 80 % zeigen, liegen alle anderen  $QZ_{\text{Masse}}$  zwischen ca. 50 - 70 %. Bei der  $QZ_{\text{Höhe}}$  und  $QZ_{\text{Durchmesser}}$  ist der gleiche Trend zu erkennen (siehe Abbildung 4.16). Alle Chitosanqualitäten besitzen somit, unabhängig von der applizierten Polymermenge, eine gewisse Quellfähigkeit in SIF - Puffer. Diesem Ergebnis zufolge, setzen die Filmtabletten stets diffusionskontrolliert eine gewisse Menge an Wirkstoff bereits im Dünndarm frei (vgl. 4.6.2). Ob die Quellung für den enzymatischen Abbau im Dickdarm ausreicht, wird durch Zusatz von  $\beta$ -Glucosidase und im CMT untersucht (siehe 4.7 und 4.8).

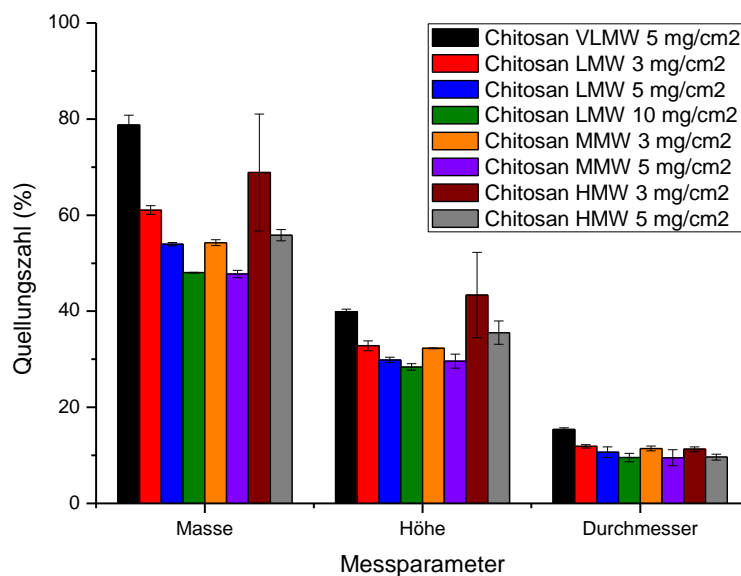
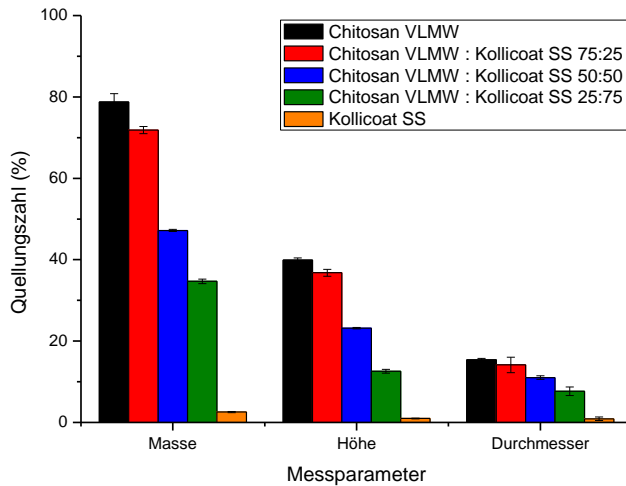


Abbildung 4.16 - Quellungsverhalten von Chitosan diverser Kettenlänge und Auftragsmengen (n = 3)

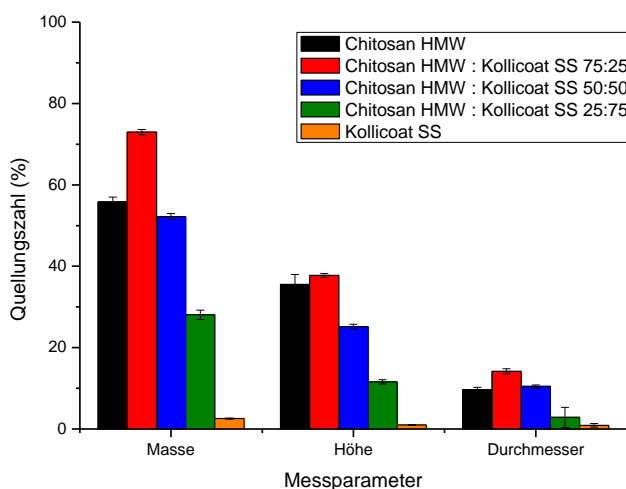
#### 4.4.3 Polymermischung

Bei Polymermischungen bestehend aus Chitosan VLMW und Kollicoat<sup>®</sup> Smartseal (Kollicoat<sup>®</sup> SS) sinkt die Quellung mit steigendem Anteil an Kollicoat<sup>®</sup> Smartseal. Der Auftrag von reinem Kollicoat<sup>®</sup> SS zeigt fast keine Quellung. Bei den Mischungen ergeben sich Werte von  $QZ_{\text{Masse}}$  im Bereich 35 – 72 %,  $QZ_{\text{Höhe}}$  im Bereich 12 – 36 % und  $QZ_{\text{Durchmesser}}$  im Bereich von 8 – 14 % (siehe Abbildung 4.17)



**Abbildung 4.17 - Quellungsverhalten von Polymermischungen aus Chitosan VLMW und Kollicoat® SS (5 mg/cm<sup>2</sup>) (n = 3)**

Verwendet man Chitosan HMW ist ebenfalls der Trend erkennbar, dass die Quellung mit zunehmendem Anteil an Kollicoat® SS sinkt. Allerdings sind die Quellungszahlen erst ab einem Verhältnis von mindestens 50:50 geringer als ein reiner Chitosan HMW Auftrag. Hierbei gilt es zu beachten, dass die Quellung von Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup> mit etwa 56 % deutlich niedriger ist als bei einem 5 mg/cm<sup>2</sup> Auftrag von Chitosan VLMW (80 %). Die Quellungswerte für die Polymermischungen liegen für  $QZ_{\text{Masse}}$  zwischen 28 – 72 %, für  $QZ_{\text{Höhe}}$  zwischen 12 - 38% und für  $QZ_{\text{Durchmesser}}$  zwischen 3 – 14% (siehe Abbildung 4.18). Die Auswirkungen einer höheren (Chitosan) bzw. niedrigeren Quellfähigkeit (Polymermischungen) auf die Stabilität, die vorzeitige Wirkstoff-freisetzung und die enzymatische Abbaubarkeit werden im Folgenden beschrieben.



**Abbildung 4.18 - Quellungsverhalten von Polymermischungen aus Chitosan HMW und Kollicoat® SS (5 mg/cm<sup>2</sup>) (n = 2 bzw. 3)**



## 4.5 Stabilitätsuntersuchungen nach Quellung

Die Auswirkung von konstant ansteigendem Druck auf gequollene Filmtabletten (in FaSSIF bzw. FeSSIF) wurde mittels Texture Analyzer, am Lehrstuhl für Biopharmazie und Pharmazeutische Technologie an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, wie unter 3.5.4 beschrieben untersucht. Filmtabletten mit einem Filmauftrag von  $5 \text{ mg/cm}^2$  Chitosan zeigten hierbei unabhängig von der Kettenlänge des Polymers (LMW bzw. HMW) den gleichen Kraft-Weg-Verlauf (nur Chitosan HMW dargestellt). Die aufgetragenen Filme bleiben während des kompletten Experimentes intakt und es können Drücke von bis zu 10 N auf die gequollenen Filmtabletten ausgeübt werden, ohne dass diese aufplatzen. In FaSSIF dringt der Stempel 1,2 mm und in FeSSIF 1,7 – 2,0 mm in den Polymerfilm ein (siehe Abbildung 4.19). Der Kraftverlauf steigt zuerst schwach an und nimmt dann einen linearen Verlauf an. Trägt man  $10 \text{ mg/cm}^2$  Chitosan LMW auf die Tabletten auf, zeigt sich ein ähnlicher Kraft-Weg-Verlauf. Die Eindringtiefe bei 10 N ist jedoch mit 0,9 mm (in FaSSIF) und 1,2 – 1,4 mm (in FeSSIF) niedriger. Diese Filmtabletten sind also stabiler (siehe Abbildung 4.20).

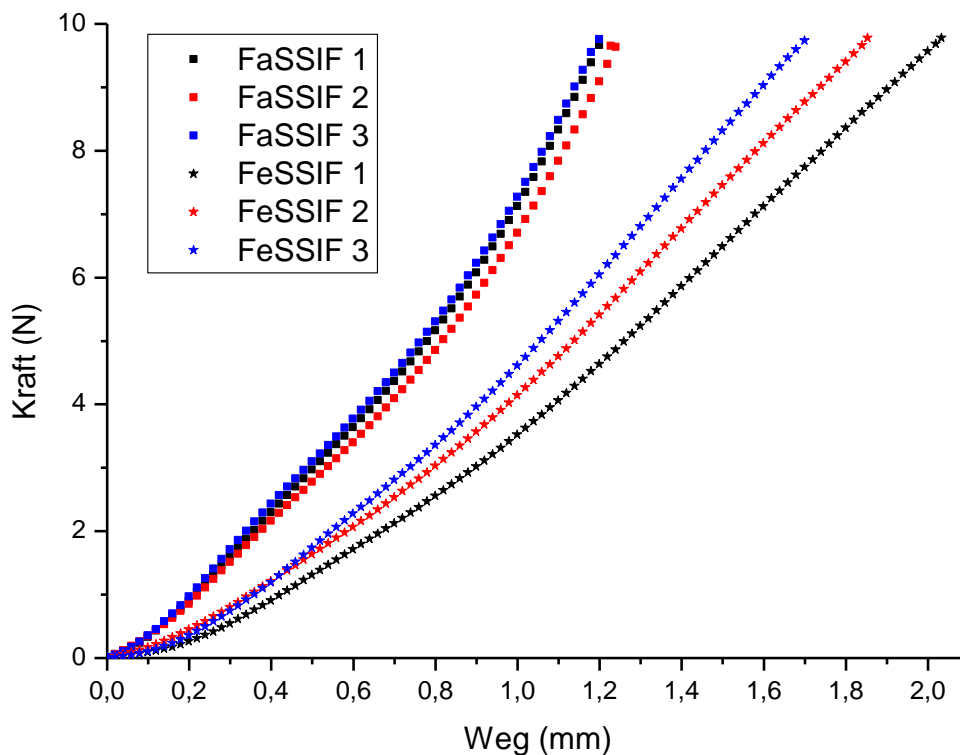


Abbildung 4.19 - Stabilitätsprüfung von Chitosan HMW  $5 \text{ mg/cm}^2$  auf MCC-Kernen ( $n = 3$ )

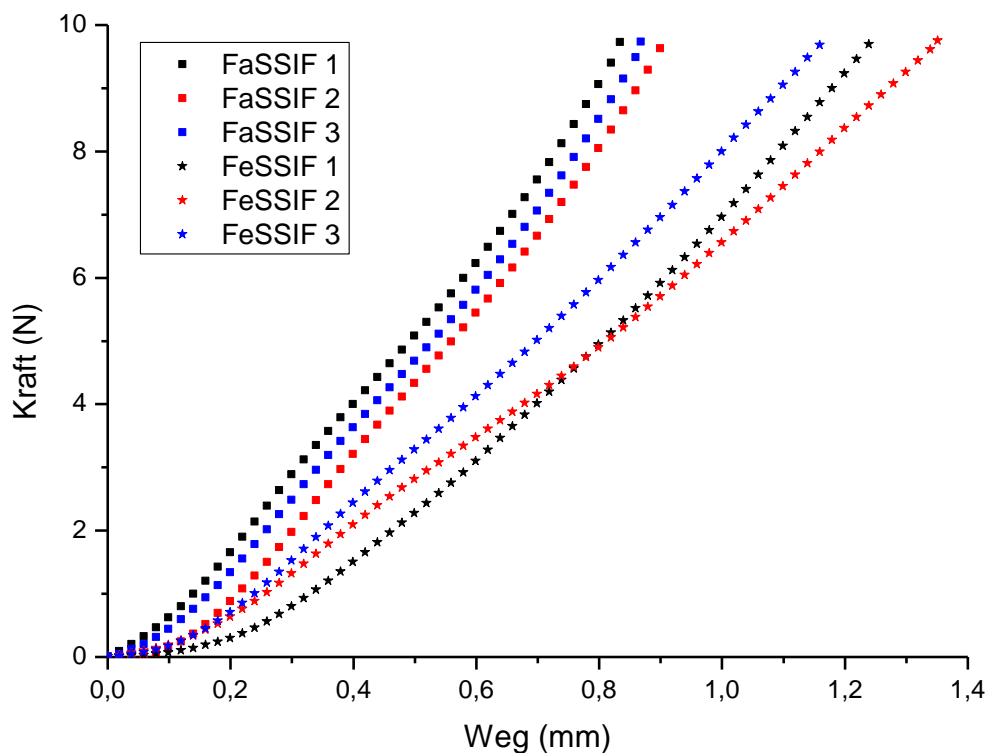


Abbildung 4.20 – Stabilitätsprüfung von Chitosan LMW 10 mg/cm<sup>2</sup> auf MCC-Kernen (n = 3)

Verwendet man Schmelztabletten an Stelle von MCC-Kernen, bildet sich bei der Quellung nach kurzer Zeit ein flüssiger und druckempfindlicher Kern unterhalb des Filmverbandes aus. In FeSSIF resultiert eine (pseudo)plastische Deformation (kein linearer Kraftverlauf), die die Filmtablette zerstört. Nach einer Eindringtiefe von 5,1 – 5,4 mm wird ein Druck von 10 N erreicht. In FaSSIF platzen die Filme bereits nach einer Eindringtiefe von 3,9 – 4,7 mm und Drücken von 1,7 – 3,4 N auf (siehe Abbildung 4.21). Diese Filmtabletten scheinen aufgrund der niedrigen Stabilität nicht für das Colon-Targeting geeignet zu sein. Trotzdem wurden die Schmelztabletten weiter untersucht.

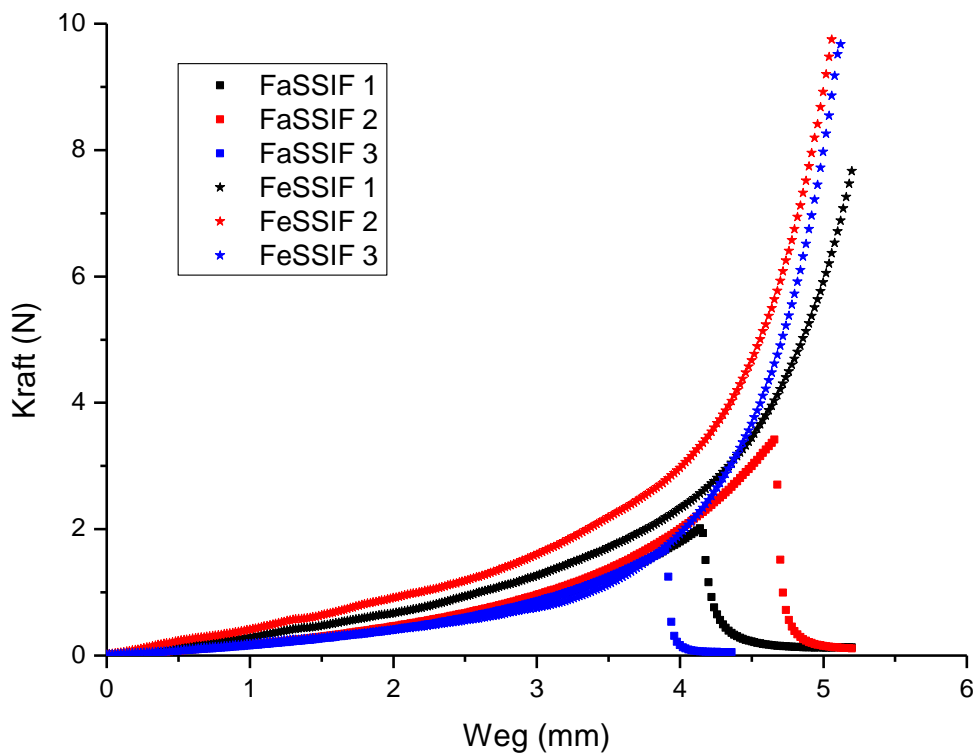
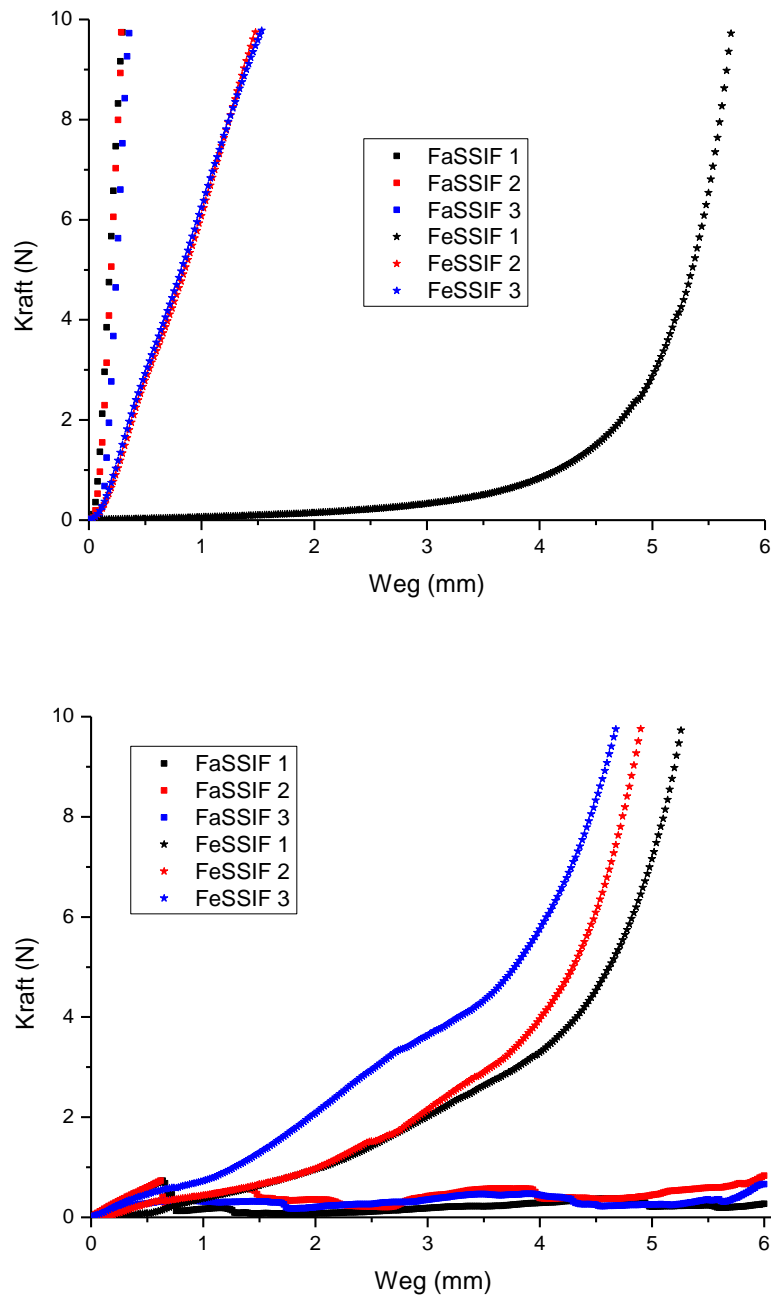


Abbildung 4.21 - Stabilitätsprüfung von Chitosan HMW  $5 \text{ mg/cm}^2$  auf Schmelztabletten ( $n = 3$ )

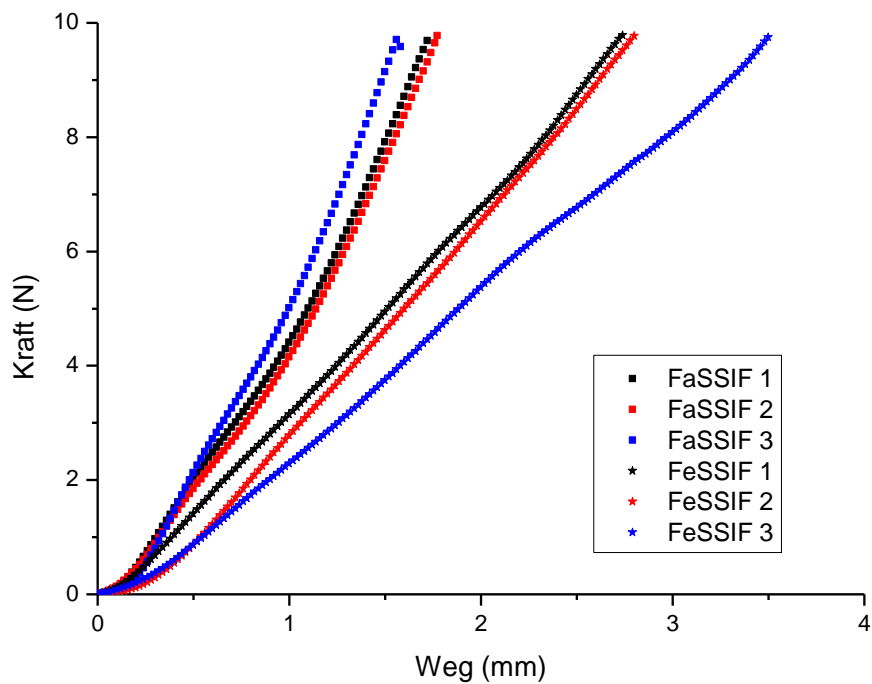
Bei der Polymermischung Chitosan HMW und Kollicoat<sup>®</sup> Smartseal (25:75) zeigten in FaSSIF alle Filmtabletten (MCC-Kerne) eine recht hohe Stabilität. Nach einer Eindringtiefe von nur 0,3 mm wurde ein Druck von 10 N erreicht. Dies deutet auf eine geringe Quellung und reduzierte Flexibilität des Filmes hin (vgl. 4.4.3). In FeSSIF lag die entsprechende Eindringtiefe bei 1,5 mm. Bei einer Filmtablette zeigte sich, ähnlich wie bei den Schmelztabletten, ein plastisches Deformieren der Filmtabletten. Der Maximaldruck (10 N) wurde nach 5,7 mm erreicht (siehe Abbildung 4.22).

Ebenso verhielten sich Schmelztabletten, auf die diese Polymermischung aufgetragen wurde. Die Eindringtiefe lag mit 4,7 – 5,3 mm allerdings etwas niedriger. In FaSSIF platzten diese Tabletten bereits bei Drücken von 0,4 – 0,7 N (siehe. Abbildung 4.22). Die Eignung dieser Filmtabletten zur Erzielung des gewünschten targetings ist deswegen fragwürdig. Diese Filmtabletten werden dennoch weiter untersucht.



**Abbildung 4.22 - Stabilitätsprüfung von Chitosan 5 mg/cm<sup>2</sup> HMW & Kollicoat<sup>®</sup> SS Mix 75:25 auf MCC-Kernen (oben) bzw. Schmelztabletten (unten) (n = 3)**

Bei der Formulierung mit Magensaftresistenz (Chitosan HMW (5 mg/cm<sup>2</sup>), HPMC (2 mg/cm<sup>2</sup>) und Eudragit<sup>®</sup> L (5 mg/cm<sup>2</sup>)) bleiben die Filmtabletten in FaSSIF und FeSSIF stabil. Ein Druck von 10 N wird nach 1,6 – 1,8 mm (in FaSSIF) bzw. 2,8 – 3,5 mm (in FeSSIF) Eindringtiefe in den Polymerfilm erhalten (siehe Abbildung 4.23). Es muss bedacht werden, dass sich der magensaftresistente Filmüberzug (Eudragit<sup>®</sup> L) in FaSSIF (pH 6,5) auflöst, während er in FeSSIF (pH 5,0) nicht oder nur langsam gelöst wird.



**Abbildung 4.23 - Stabilitätsprüfung von Chitosan HMW (5 mg/cm<sup>2</sup>), HPMC (2 mg/cm<sup>2</sup>) und Eudragit® L (5 mg/cm<sup>2</sup>) auf MCC-Kernen (n = 3)**

Allgemein lässt sich zusammenfassen, dass Filmtabletten unter Verwendung von MCC-Kernen, unabhängig von der Zusammensetzung der aufgetragenen Filme, einem Druck von bis zu 10 N, unter hauptsächlich elastischer Deformation, stand hielten. Schmelztabletten zeigten dagegen eine geringere Stabilität. Wurde ein Film aus Chitosan aufgetragen, zeigte sich eine plastische Deformation und die Tabletten brachen nach einer Kräfteinwirkung von 1,7 – 3,4 N auf. Bei dem Auftrag der Polymermischung auf Schmelztabletten, brachen die Filmtabletten sogar bereits bei Kräften von 0,4 – 0,7 N auf.

Die Resultate geben Auskunft über das Verhalten der Filmtabletten bei Stresseinwirkung, was Rückschlüsse auf die Stabilität im Gastrointestinaltrakt zulässt. Allerdings muss zur Simulation von physiologischen Stressbedingungen ein weiterer Test in einer biorelevanten Wirkstofffreisetzungsvorrichtung folgen. Die Ergebnisse dieser Versuche werden in 4.8 erläutert.

## 4.6 Wirkstofffreisetzung aus Filmtabletten

Entsprechend der Monographie 5.17.1 „Empfehlungen zur Bestimmung der Wirkstofffreisetzung“ des Ph. Eur. wurde zuerst untersucht, ob im Puffer enthaltene Gasblasen einen Einfluss auf die Freisetzung von Filmtabletten mit Chitosan, z. B. LMW 5 mg/cm<sup>2</sup>, haben. In Abbildung 4.24 ist zu erkennen, dass es zu keinem Freisetzungszeitpunkt, abhängig vom Gasgehalt, einen signifikanten Unterschied gibt. In allen folgenden Wirkstofffreisetzungen wurde deshalb auf das Entgasen des Puffers verzichtet.

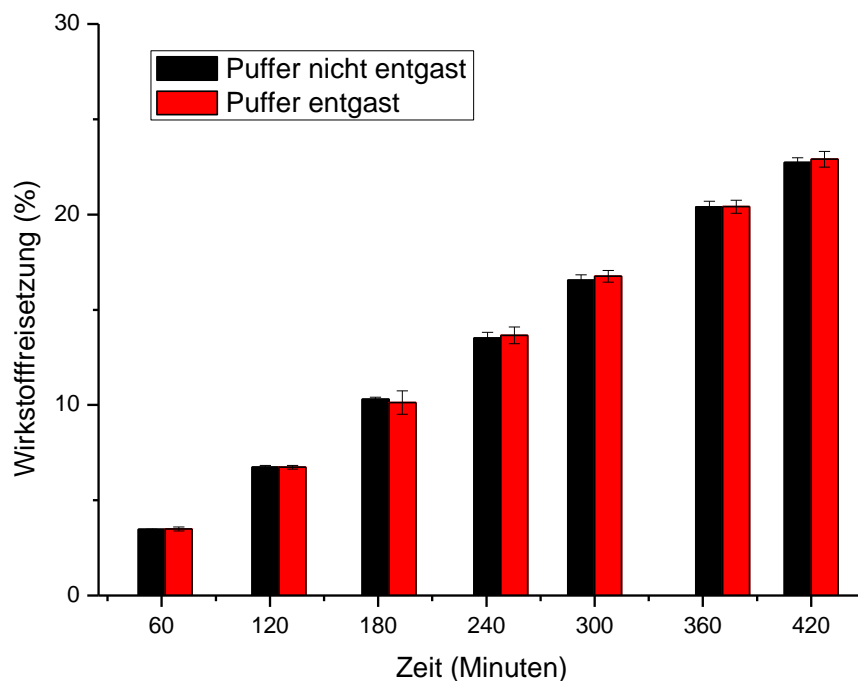


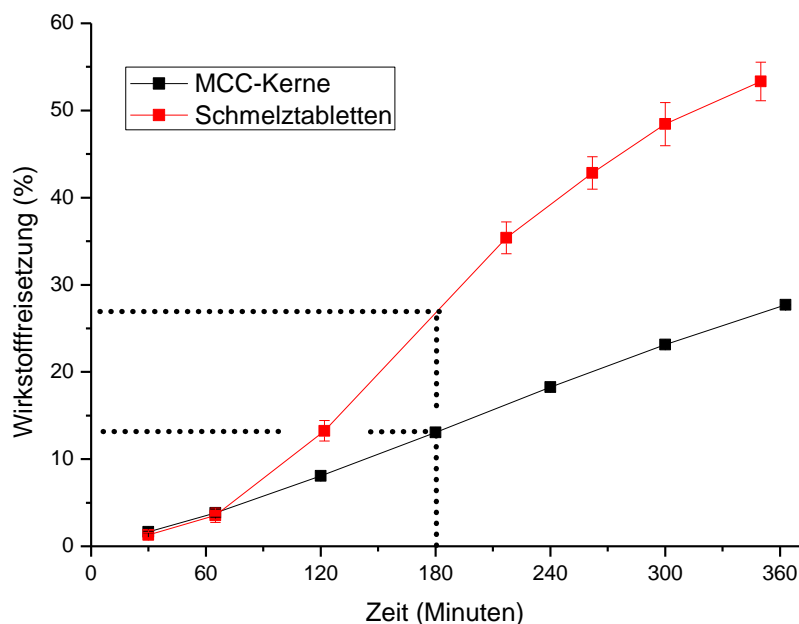
Abbildung 4.24 – Wirkstofffreisetzung von Filmtabletten mit Chitosan LMW 5 mg/cm<sup>2</sup> mit entgastem bzw. nicht entgastem Puffer (n = 6)

### 4.6.1 MCC-Kerne vs. Schmelztabletten

Beim Auftrag von 4 mg/cm<sup>2</sup> Chitosan HMW zeigen sich für die Wirkstofffreisetzung in SIF-Puffer deutliche Unterschiede bei der Verwendung von MCC-Kernen bzw. Schmelztabletten. Nach der Quellung des aufgetragenen Polymers diffundiert zunehmend Flüssigkeit durch den Filmverband in das Innere der Filmtablette. Bei MCC-Kernen, mit der wasserunlöslichen Mikrokristallinen Cellulose als Füllstoff, bildet sich dadurch im

Inneren des Filmverbandes eine Art pastöser Zustand aus. In der Folge scheint die Wirkstoffkonzentration im Zeitraum von 6 h stets über der Sättigungskonzentration zu liegen, was in einer diffusionskontrollierten Wirkstofffreisetzung nach Nullter Ordnung resultiert (vgl. Abbildung 3.8). Bei den Schmelztabletten, die als Füllstoff das sehr gut wasserlösliche Mannitol enthalten, bildet sich stattdessen nach etwa 1 h eine Lösung bzw. Suspension im Inneren des Filmverbandes aus. Die Freisetzungsrates ist deutlich höher als bei den MCC-Kernen. Nach etwa 3,5 Stunden sinkt die Freisetzungsrates wieder (siehe Abbildung 4.25) und erreicht nach 10 h ein Plateau nachdem etwa 70% Wirkstoff freigesetzt wurde.

Filmtabletten verweilen durchschnittlich für 3 – 5 Stunden im Dünndarm (Davis *et al.* 1986). Deswegen ist vor allem die Wirkstofffreisetzung in SIF - Puffer nach 3 Stunden ( $WSF_{3h}$ ) interessant. Diese, bezogen auf die dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung, vorzeitige Freisetzung, sollte möglichst gering gehalten werden. Für MCC-Kernen liegt der  $WSF_{3h}$  bei 13 %, für Schmelztabletten bei etwa 28 %. Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurde in der nächsten Versuchsreihe der Einfluss von Kettenlänge und Auftragsmenge von Chitosan auf MCC-Kerne auf die Wirkstofffreisetzung nach 3 Stunden untersucht.



**Abbildung 4.25 - Wirkstofffreisetzung von MCC-Kernen bzw. Schmelztabletten mit Chitosan HMW  $5 \text{ mg/cm}^2$  ( $n_{\text{MCC-Kerne}} = 3$  und  $n_{\text{Schmelztabletten}} = 7$ )**

## 4.6.2 Einfluss der Chitosanqualitäten

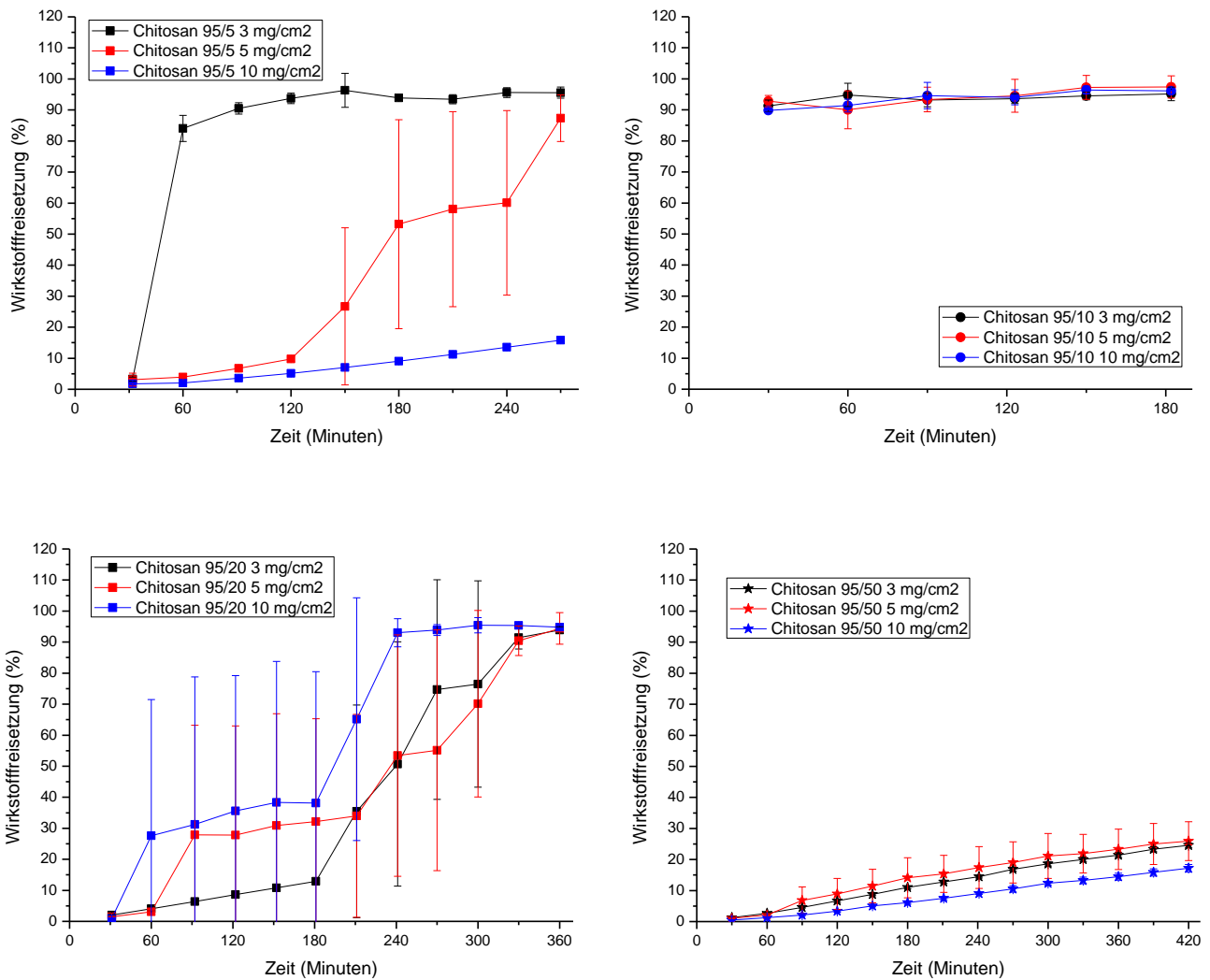
### 4.6.2.1 Kurzkettenige Chitosanqualitäten mit einheitlichem Deacetylierungsgrad

In dieser Versuchsreihe wurden eng spezifizierte Chitosanqualitäten der Firma Heppe Medical diverser Kettenlänge mit einem Deacetylierungsgrad von 95 % verglichen (Chitosan 95/5 bis 95/50). Entsprechend Tabelle 4.3 wurden Kettenlängen mit den Zahlenmitteln  $M_n = 34.450 - 107.600$  g/mol bzw. mit den Massenmitteln  $M_w = 70.430 - 402.800$  g/mol verwendet. Die aufgetragenen Filme enthielten die Zusammensetzung entsprechend Tabelle 3.8.

Filmtabletten mit dem Auftrag Chitosan 95/10 platzten, unabhängig von der Auftragsmenge, innerhalb von 30 Minuten in SIF - Puffer auf und setzten den kompletten Wirkstoff frei. Bei einem Auftrag von  $3 - 10$  mg/cm<sup>2</sup> der Qualität 95/50 blieben alle Filmtabletten über 7 h intakt. Nach einer kurzen lag - Phase ist eine gleichmäßige Wirkstofffreisetzung zu erkennen. Mit steigendem Polymerauftrag sinkt die Freisetzungsrage.  $WSF_{3h}$  - Werte liegen demnach bei 6 – 14 %. Wurden 10 mg/cm<sup>2</sup> Chitosan 95/5 aufgetragen, blieben die Filmtabletten über einen Zeitraum von 270 Minuten intakt. Bei niedrigeren Aufträgen platzten die Filme nach 60 – 120 Minuten auf. Bei den Filmtabletten mit Chitosan 95/20, das aus zwei Chargen zusammengemischt wurde (vgl. Tabelle 2.8), platzten alle Filme im Zeitraum von 360 Minuten auf. Bedingt durch ein früheres bzw. späteres Aufplatzen der Filmtabletten ist die große Streuung in der Wirkstofffreisetzung erklärbar (siehe Abbildung 4.26).

Die Ergebnisse zeigen, dass eine Mindestkettenlänge ( $\cong$  Chitosan 95/50) nötig ist, um den Transit durch den Dünndarm ohne Beschädigung des Filmes durchlaufen zu können. Zudem geben die Experimente einen Hinweis darauf, bis auf welche Kettenlänge die Polymere im Filmverband von bakteriellen Enzymen im Dickdarm verkürzt werden müssen, damit dieser aufbricht. Dieser Wert liegt im Kettenlängenbereich der Chitosanqualitäten 95/10 bzw. 95/20. Unter Verwendung der Messergebnisse aus Tabelle 4.3 kann somit davon ausgegangen werden, dass bei Verwendung von Kettenlängen im Bereich  $M_n = 107.600$  g/mol bzw.  $M_w = 402.800$  g/mol ein stabiler Filmverband für bis zu 7 h in SIF-Puffer gegeben ist. Das Aufbrechen des Filmverbandes geschieht, sobald die einheitliche Kettenlänge den Bereich von  $M_n = 57.300$  g/mol bzw.  $M_w = 133.800$  g/mol unterschreitet. Diese Aussagen gelten stets unter der Annahme, dass die Chitosanqualität einen Deacetylierungsgrad von 95 % besitzt und die gleiche Rezeptur verwendet wird.





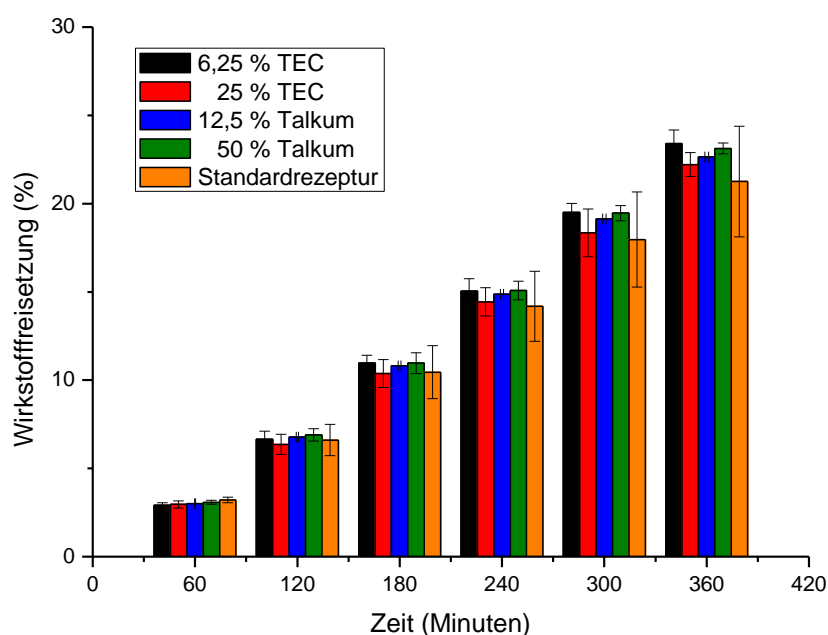
**Abbildung 4.26 - Wirkstofffreisetzung Filmtabletten mit kurzkettingen Chitosanqualitäten der Firma Hepe Medical (n = 3 bzw. 4)**

#### 4.6.2.2 Lang- und kurzkettinges Chitosan mit diversem Deacetylierungsgrad

In weiteren Wirkstofffreisetzungsversuchen wurden Chitosanqualitäten diverser Kettenlänge der Firma Sigma Aldrich (Chitosan VLMW bis HMW) miteinander verglichen. Die Kettenlänge der Polymere lagen im Zahlenmittel bei  $M_n = 60.300 - 134.600$  g/mol bzw. im Massenmittel bei  $M_w = 251.000 - 1.639.000$  g/mol (vgl. Tabelle 4.3). Zuvor wurde jedoch untersucht, ob eine Variation des TEC- bzw. Talkumanteils im Film die Wirkstofffreisetzung in SIF-Puffer beeinflusst.

#### 4.6.2.2.1 Variation im TEC- und Talkumanteil

Bei der Standardrezeptur wurden der Filmbildnerdispersion 12,5 % des Weichmachers TEC und 25 % des Antiklebemittels Talkum, bezogen auf den trockenen Film, zugesetzt (vgl. Tabelle 3.8). Die Verdopplung bzw. Halbierung des TEC- bzw. Talkumanteils zeigte keinen signifikanten Einfluss auf die Wirkstofffreisetzung in SIF-Puffer (siehe Abbildung 4.27). In allen nachfolgenden Versuchen wurde deshalb stets die Standardrezeptur entsprechend Tabelle 3.8 verwendet.



**Abbildung 4.27 - Wirkstofffreisetzung aus Filmpillen Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup> mit variierendem TEC- bzw. Talkum-Anteil (n = 3)**

#### 4.6.2.2.2 Variation der Kettenlänge und der Auftragsmenge

Bei der Wirkstofffreisetzung in SIF-Puffer (pH 6,8) platzten Chitosan VLMW Filmpillen mit einem Auftrag von 3 mg/cm<sup>2</sup> bzw. 5 mg/cm<sup>2</sup> nach 60 bzw. 180 Minuten auf. Nur bei einem Auftrag von 10 mg/cm<sup>2</sup> blieben Filmpillen mit Chitosan VLMW über 6 h intakt. Trägt man Chitosan mit Kettenlängen der Qualitäten LMW, MMW und HMW auf, bleiben diese Filmpillen unabhängig von der Auftragsmenge über 6 h intakt. Die Freisetzungsrates sind hierbei unabhängig von der Kettenlänge, aber abhängig von der Auftragsmenge. Für die Aufträge 3, 5 und 10 mg/cm<sup>2</sup> können WSF<sub>3h</sub> - Werte von 17 %, 14 % und 9 % bestimmt werden (siehe Abbildung 4.28).

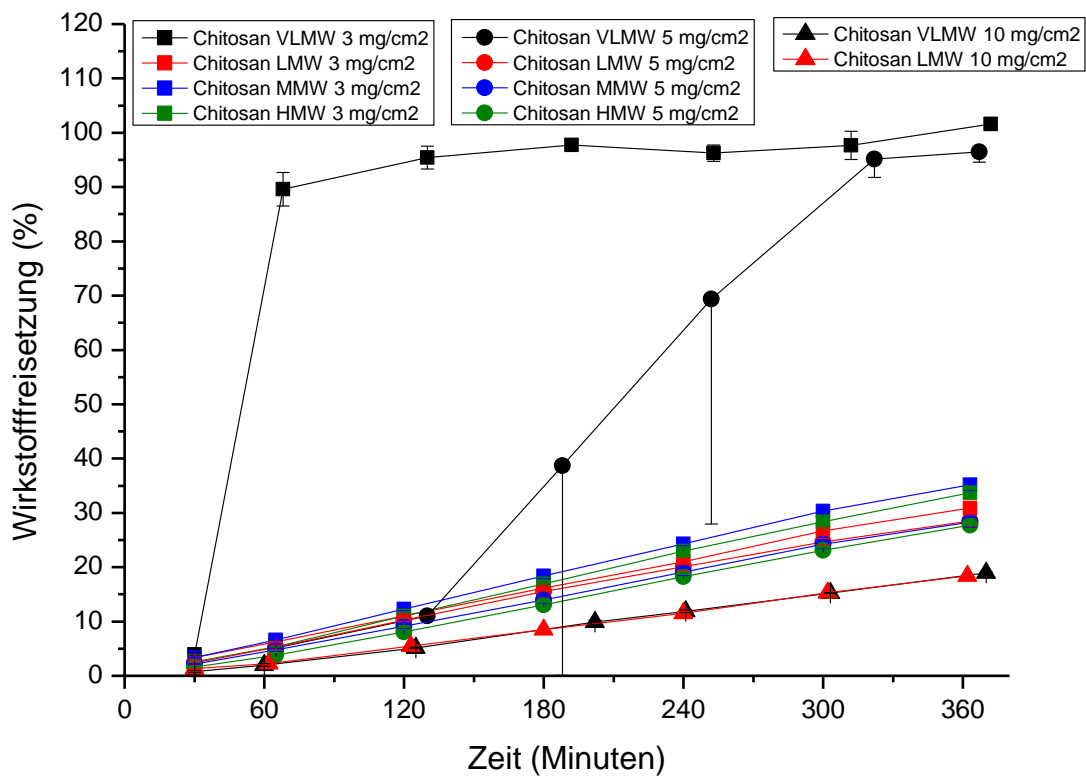


Abbildung 4.28 - Wirkstofffreisetzung Filmtabletten mit Chitosan von Sigma Aldrich (n = 3)

Das Aufplatzen der Chitosan VLMW Filmtabletten und die Unversehrtheit der Filmtabletten mit den anderen untersuchten Chitosanqualitäten überraschten nicht. Die ermittelten Massen- und Zahlenmitteln von Chitosan VLMW liegen nahe denen von Chitosan 95/20. Die von Chitosan LMW nahe derer von Chitosan 95/50. Bei diesen Kettenlängen wurden, wie unter 4.6.2.1 beschrieben, ähnliche Ergebnisse erhalten.

Senkt man nach 3 h Wirkstofffreisetzung in SIF-Puffer (pH 6,8) den pH-Wert, erhält man das in Abbildung 4.29 dargestellte Wirkstofffreisetzungsprofil. Chitosan LMW 5 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten blieben demnach für mindestens 3 – 4 weitere Stunden bei pH 6,0 und 5,5 intakt. Die Wirkstofffreisetzungsrates sank allerdings mit steigendem Polymerauftrag und kleineren pH-Werten. Bei einer Senkung des pH-Wertes auf 5,0 platzten Filmtabletten mit 3 – 5 mg/cm<sup>2</sup> Auftrag bereits innerhalb von 60 Minuten auf und erreichten ein Plateau bei etwa 50 % freigesetzten Wirkstoffs nach 5 Stunden (siehe Abbildung 4.29). Die reduzierte Freisetzungsrates bei Erniedrigung des pH-Wertes und die unvollständige Wirkstofffreisetzung von < 100 % nach Aufplatzen der Filmtablette liegt darin begründet, dass bei

diesen pH-Werten die Sättigungslöslichkeit des Wirkstoffs überschritten wurde. Folglich lagen nach der pH-Erniedrigung auch keine „sink – Bedingungen“ vor. Nach Erhöhung der Auftragsmenge auf 10 mg/cm<sup>2</sup> blieben die Filmtabletten für 4 h bei pH 5,0 intakt.

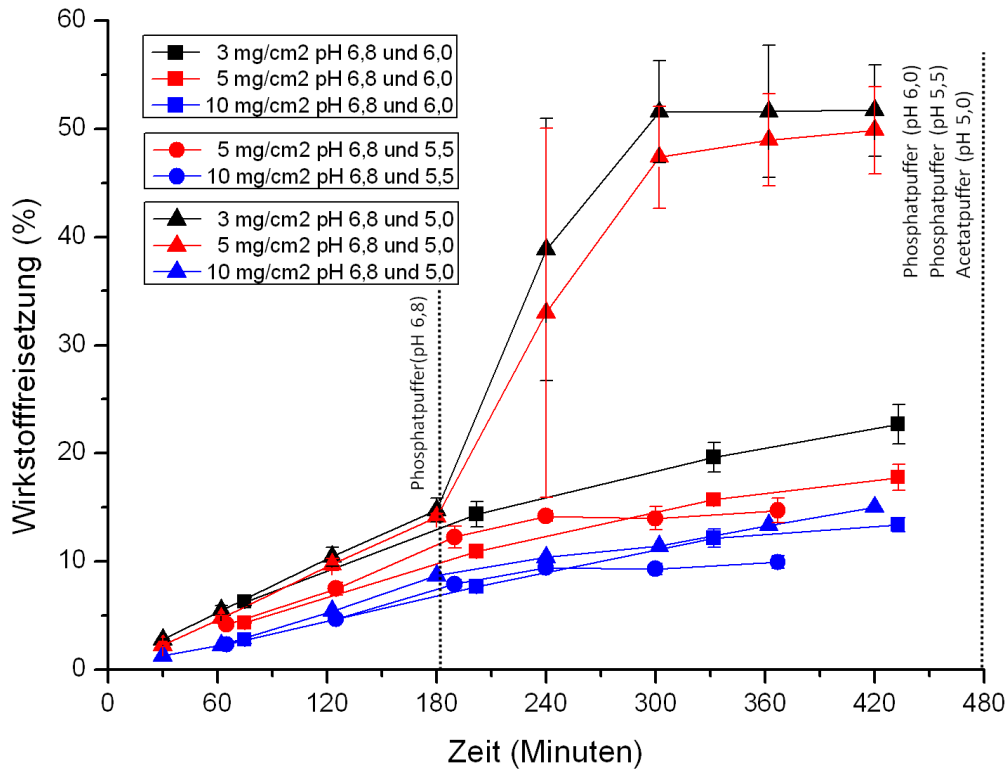


Abbildung 4.29 - Wirkstofffreisetzung Filmtabletten mit Chitosan LMW für 3 h in SIF-Puffer (pH 6,8) und bei diversen pH-Werten folgend (pH 6,0 / 5,5 / 5,0) (n = 3)

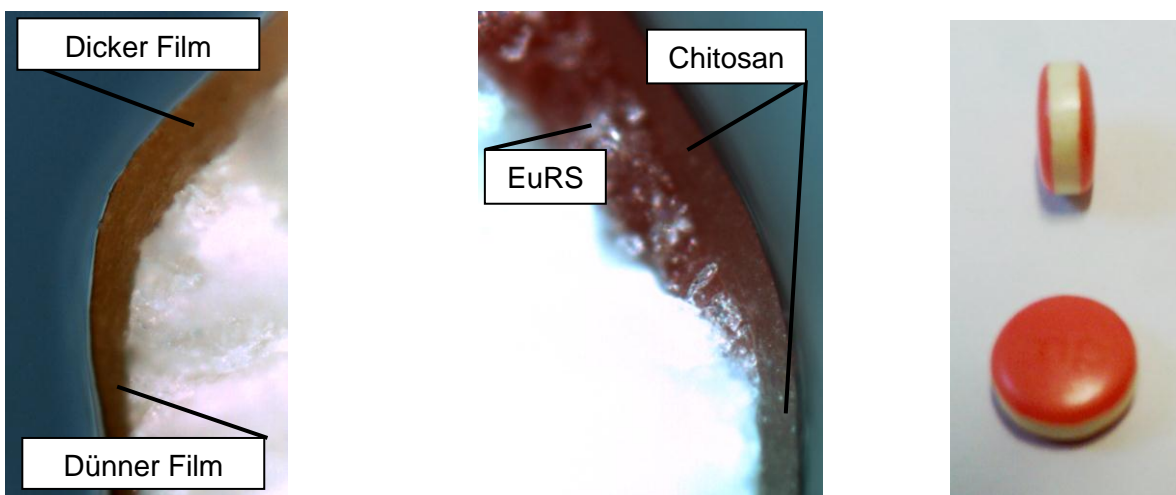
#### 4.6.3 Reduzierung der vorzeitigen Wirkstofffreisetzung

Im Folgenden wurden diverse Polymere mit Chitosan kombiniert, um die vorzeitige Wirkstofffreisetzung in Magen und Dünndarm zu reduzieren. Dennoch wurde stets bedacht, dass die Filmtabletten noch im Dickdarm abgebaut werden sollen.

#### 4.6.3.1 Partielle Isolierschicht

Um die Wirkstoffdiffusion (durch den Film) im Dünndarm zu minimieren, wurden die Tabletten zunächst mit einem schwer diffundierbaren Polymethacrylat (Eudragit® RS) überzogen. Tabletten überzogen mit dem rot angefärbten Eudragit® RS 10 mg/cm<sup>2</sup> (EuRS) setzten über 6 h nur 0,8 % Wirkstoff frei (vgl. Abbildung 4.31).

Damit die so vorbehandelten Filmtabletten den Wirkstoff zum gewünschten Zeitpunkt dennoch vollständig freisetzen können, wurden zwei verschiedene Strategien untersucht. Wurde mittig der Kalotte der Film durchbohrt, resultierte eine unvollständige Wirkstofffreisetzung über 7 h, die großen Schwankungen unterworfen ist. Besser war es den aufgetragenen Eudragit® RS Film wieder partiell zu entfernen. Das Abkratzen des Films erfolgte am Steg, da wie in Abbildung 4.30 (links) zu erkennen ist, der Polymerauftrag, bedingt durch den Coatingprozess, am Steg immer dünner als an den Kalotten ist. Folglich bricht der später darüber aufgetragene Chitosanfilm höchstwahrscheinlich zuallererst an dieser Stelle auf. Zudem ist, bedingt durch die Verpressung der Tablette, die Quellung und die vorzeitige Wirkstofffreisetzung in vertikaler Richtung höher als in radialer. Nach dem Abschaben des Eudragit® RS Filmes am Steg zeigte sich eine schnelle Wirkstofffreisetzung von 95 % nach nur 10 Minuten (siehe Abbildung 4.31).



**Abbildung 4.30 – Lichtmikroskopische Aufnahmen und eine Fotografie von Filmtabletten mit partieller Isolierschicht**

Links: Filmtablette mit EuRS (rot) überzogenen

Mitte: Filmtablette mit partieller EuRS Isolierschicht (rot) und Chitosan VLMW

Rechts: Filmtablette mit partieller EuRS Isolierschicht (rot) und Chitosan VLMW

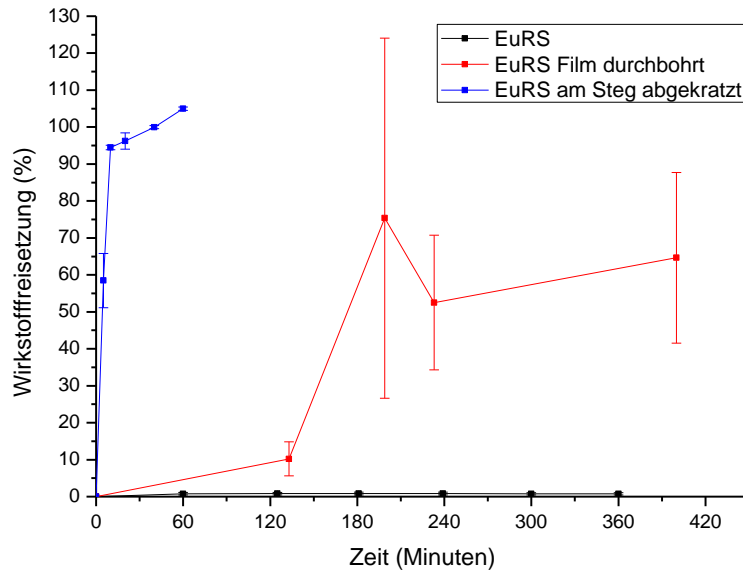


Abbildung 4.31 – Wirkstofffreisetzung Filmtabletten mit (partieller) EuRS-Isolierschicht (n = 3 bzw. 4)

In Abbildung 4.30 (rechts und mitte) sind diese Filmtabletten mit einem zusätzlichem Chitosan VLMW Auftrag dargestellt. Die Wirkstofffreisetzung in SIF erfolgt bei diesen Tabletten linear. Die aufgetragene Menge an Chitosan zeigte nur einen geringen Einfluss. Die  $WFR_{3h}$  - Werte lagen im Bereich von 4 – 5 % (siehe Abbildung 4.32).

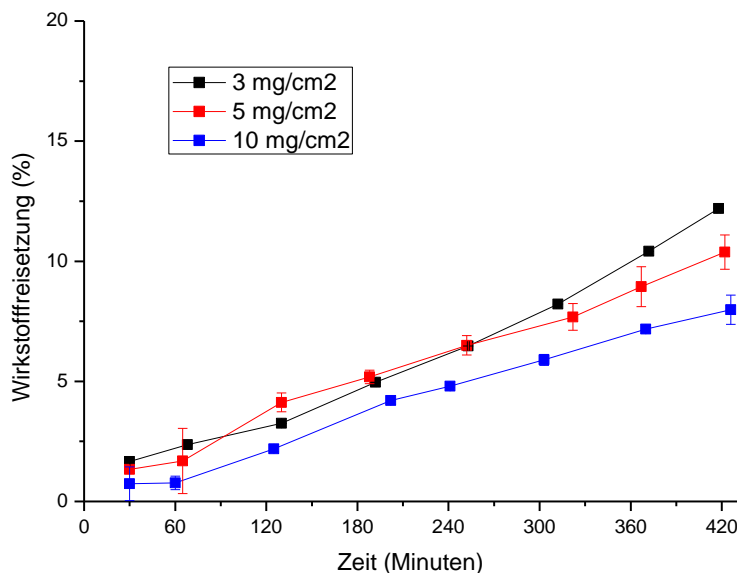
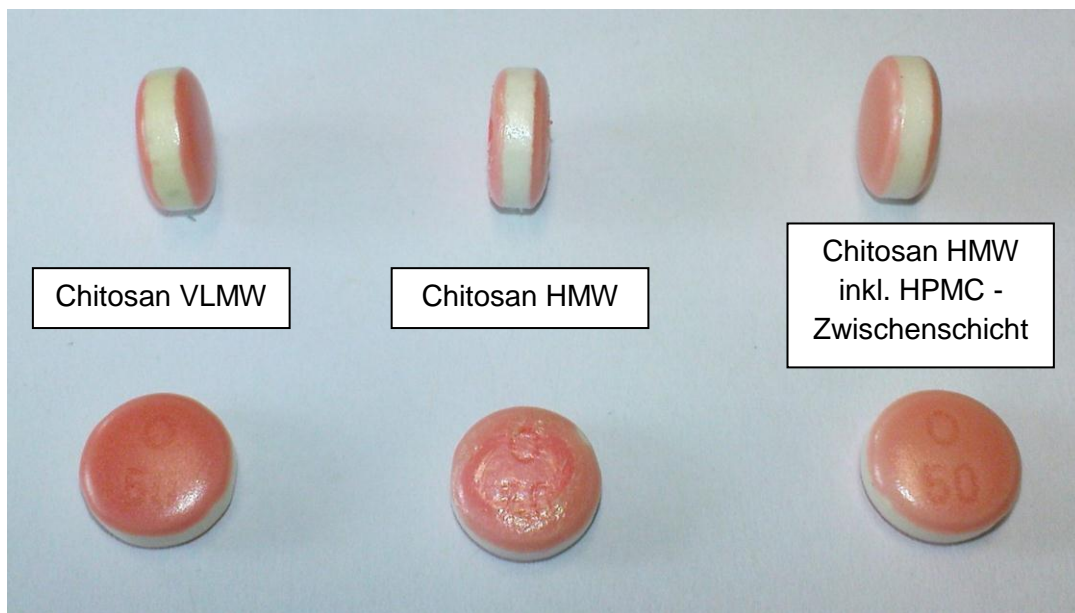


Abbildung 4.32 - Wirkstofffreisetzung Filmtabletten mit partieller EuRS-Isolierschicht und Chitosan VLMW (n = 3)

Trug man nun anstatt kurzkettiges Chitosan, die HMW-Variante auf Filmtabletten mit partieller EuRS-Isolierschicht auf, war die Filmbildung von Chitosan auf der Kalotte inhomogen. Wahrscheinlich war dies durch die Kombination des lipophilen EuRS und der langen hydrophilen Chitosanketten bedingt. Erst nachdem eine dünne HPMC Zwischenschicht aufgetragen wurde, bildete sich wieder ein homogener Chitosanfilm auf der Tablette aus (siehe Abbildung 4.33). Bei der VLMW Variante war diese Zwischenschicht, bedingt durch die kürzerer Kettenlänge des Chitosans, nicht nötig.



**Abbildung 4.33 – Filmtabletten mit angeritzter EuRS - Isolierschicht**

Aufgrund der Instabilität von Filmtabletten überzogen mit Chitosan VLMW (vgl. 4.6.2.2.2), wurden nur die Tabletten mit Chitosan HMW weiter untersucht. In der Wirkstofffreisetzung der Filmtabletten mit Chitosan HMW als Topcoating zeigte sich, dass der inhomogene Filmauftrag in einer recht großen Schwankung der Freisetzungswerte resultierte. Durch die zusätzliche HPMC Schicht unter dem Chitosanfilm wurde die Freisetzungsrates nur marginal beeinflusst. Die Freisetzungswerte zeigten, aufgrund des gleichmäßigen Auftrags an Chitosan, keine großen Standardabweichungen (siehe Abbildung 4.34). Mit der aufgetragenen Kombination aus der partiellen EuRS - Isolierschicht, HPMC und Chitosan HMW konnte der  $WSF_{3h}$  - Wert auf 7 % gesenkt werden.

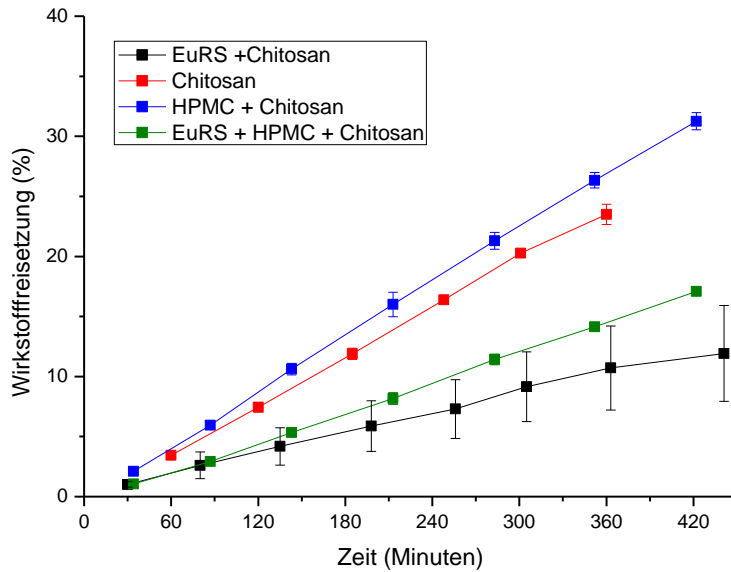


Abbildung 4.34 - Wirkstofffreisetzung Filmtabletten mit partieller EuRS-Isolierschicht /Chitosan HMW, Chitosan HMW, HPMC/Chitosan HMW bzw. EuRS-Isolierschicht/HPMC/Chitosan HMW (n =3)

#### 4.6.3.2 Polymermischung

Ein weiterer Ansatz, um die vorzeitige Wirkstofffreisetzung zu reduzieren, ist das Auftragen von Polymermischungen auf Tablettenkerne. Diverse Mischungsverhältnisse von Kollicoat® Smartseal und Chitosan VLMW bzw. HMW wurden mit einem Auftrag von 5 bzw. 10 mg/cm<sup>2</sup> aufgetragen (vgl. 3.3.4.2). Ein Auftrag von 5 mg/cm<sup>2</sup> entspricht hierbei einer Filmdicke von ca. 70 µm (siehe Abbildung 4.35).

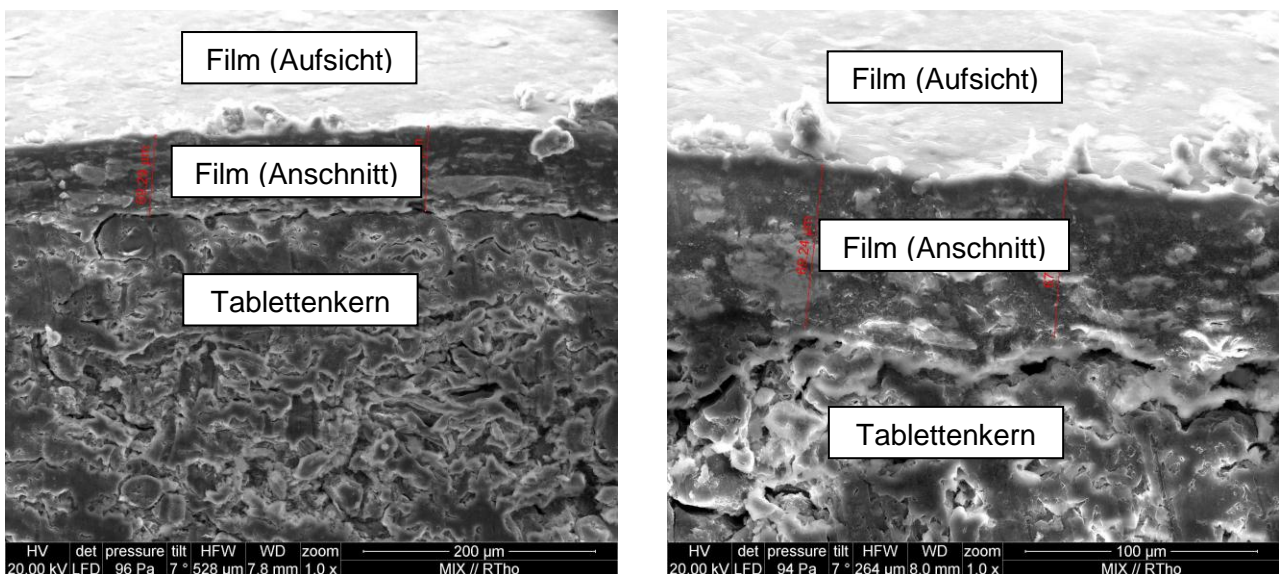


Abbildung 4.35 – REM-Aufnahmen von Filmtabletten bestehend aus Kollicoat® Smartseal (75 %) und Chitosan HMW (25 %) 5 mg/cm<sup>2</sup>



Reine Kollicoat<sup>®</sup> Smartseal Filmtabletten setzen in 6 h weniger als 0,5 % Wirkstoff frei. Mit ansteigenden Anteilen dieses Polymers (25 %, 50 % und 75 %) in der Mischung mit Chitosan wurde die zu Beginn der Freisetzung auftretende lag - Phase zunehmend verlängert und die Freisetzungsrates gesenkt.

Die  $WSF_{3h}$  - Werte für Chitosan VLMW  $5 \text{ mg/cm}^2$  liegen mit ansteigendem Kollicoat<sup>®</sup> Smartseal-Anteil bei 16 %, 12 % und 2 %. Für Chitosan HMW bei 12 %, 8 % und 2 % (siehe Abbildung 4.36). Erhöht man den Auftrag auf  $10 \text{ mg/cm}^2$ , liegen diese Werte, unabhängig von der Kettenlänge, bei 6 %, 3 % und 0,3 % (siehe Abbildung 4.37). Bei einem Auftrag von  $5 \text{ mg/cm}^2$  ist erst ab einem Mischungsverhältnis von 75 % Kollicoat<sup>®</sup> Smartseal und 25 % Chitosan eine deutliche Senkung in der Wirkstofffreisetzung zu erhalten. Werden nur 25 % des Kollicoat<sup>®</sup> Smartseal verwendet, liegt die Freisetzungsrates teilweise sogar oberhalb der Rate reiner Chitosanfilmtabletten.

In Abbildung 4.38 sind die Freisetzungsrates von MCC-Kernen bzw. Schmelztabletten mit einem Film bestehend aus Chitosan HMW bzw. der Polymermischung (Chitosan HMW und Kollicoat<sup>®</sup> Smartseal), jeweils mit einem Polymerauftrag von  $5 \text{ mg/cm}^2$ , gegenübergestellt. Besonders bemerkenswert ist es, dass ein  $5 \text{ mg/cm}^2$  Filmauftrag der Polymermischung Kollicoat<sup>®</sup> SS und Chitosan HMW (75:25) auch den  $WSF_{3h}$  - Wert von Schmelztabletten von 28 % auf gerademal 2 % senken kann.

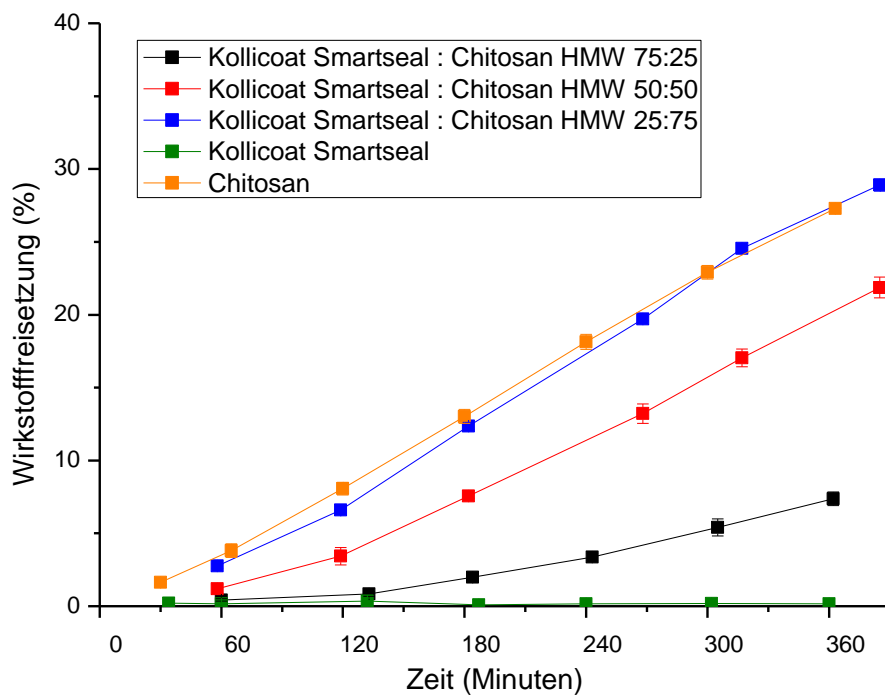
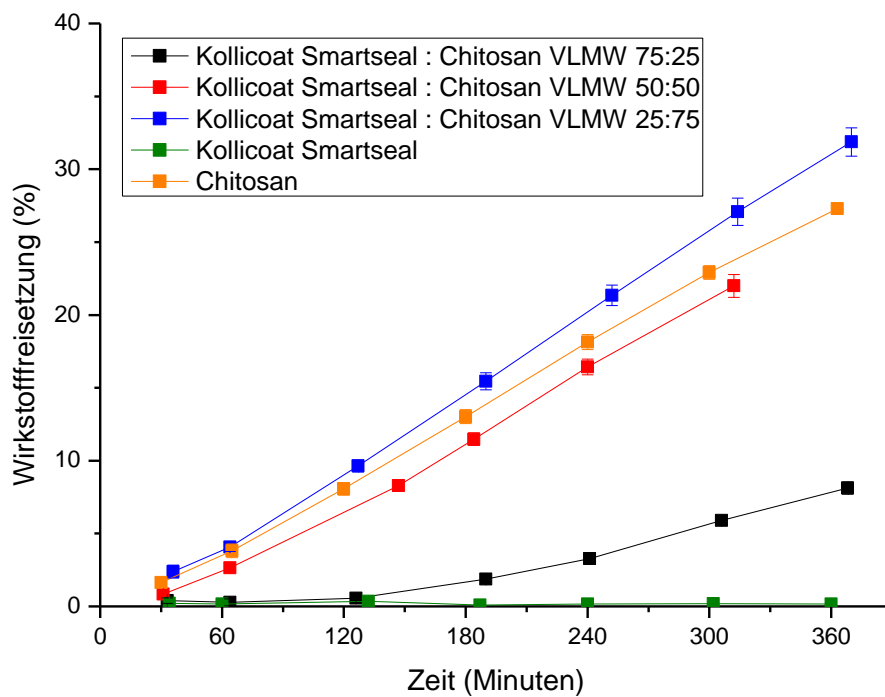


Abbildung 4.36 - Wirkstofffreisetzung Polymermischung aus Kollicoat® Smartseal und Chitosan VLMW (oben) bzw. Chitosan HMW (unten) mit Polymerauftrag 5 mg/cm<sup>2</sup> (n = 3)

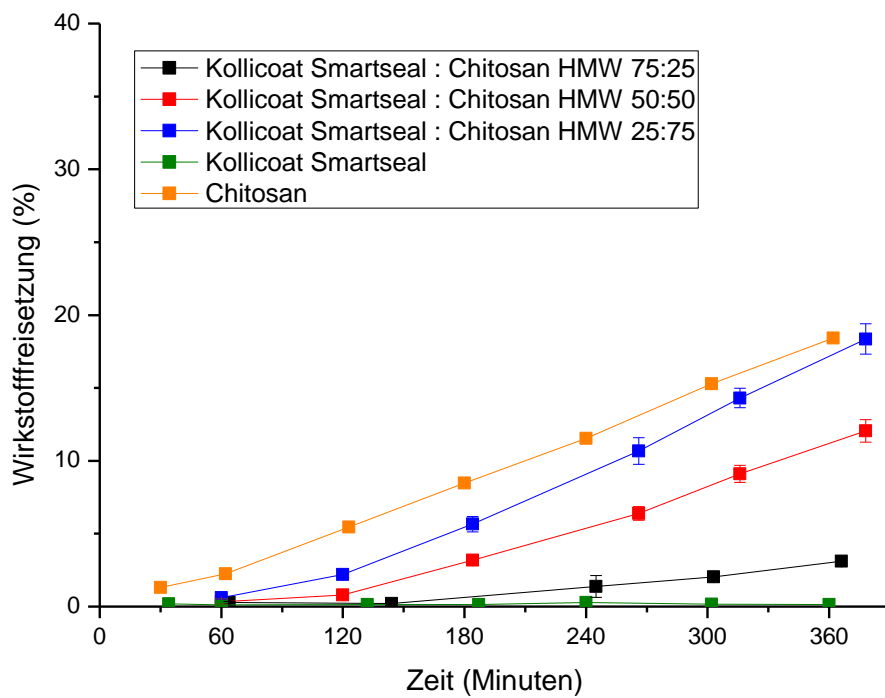
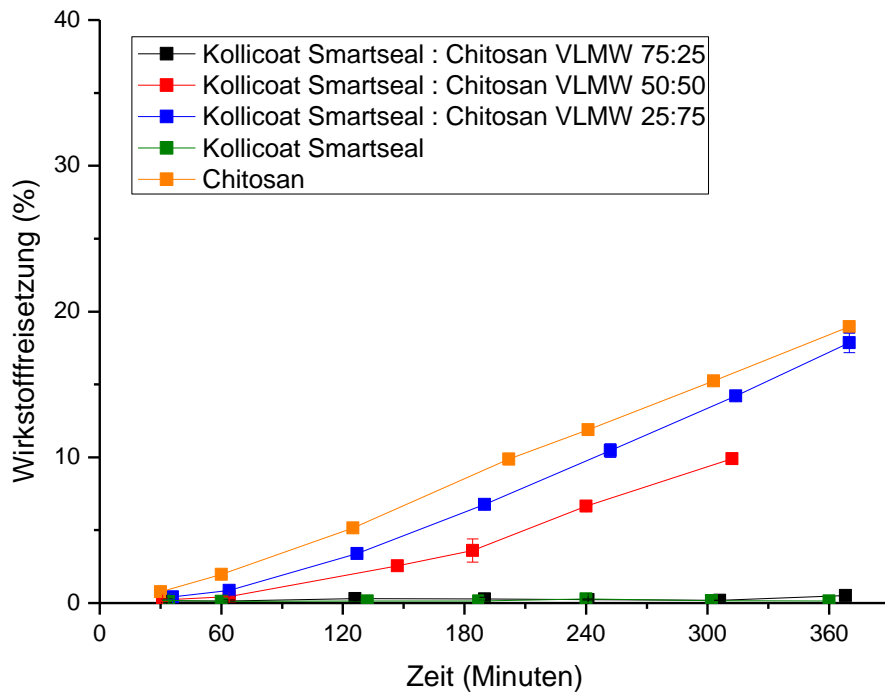
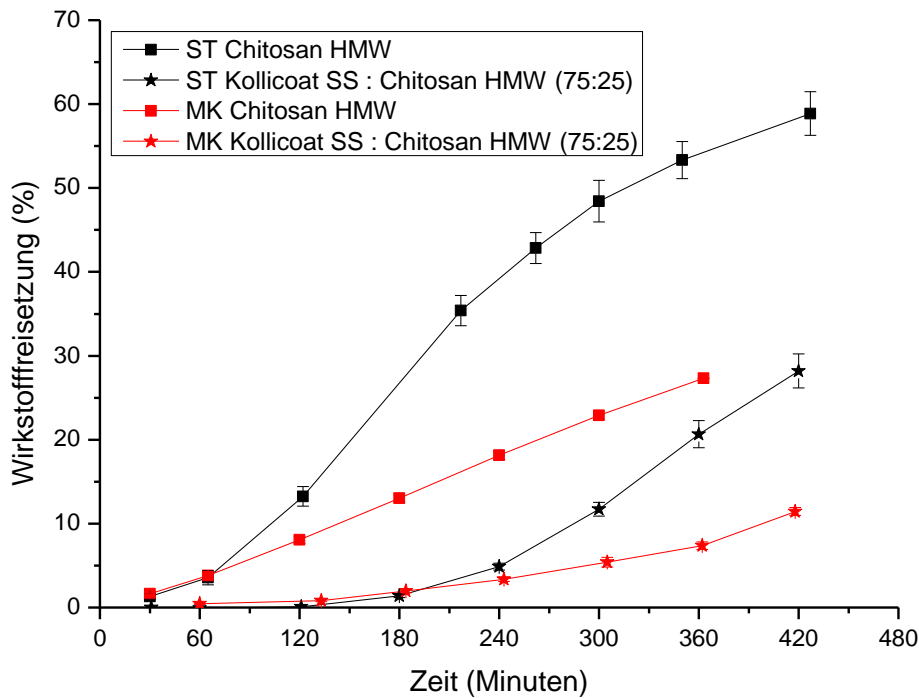


Abbildung 4.37 – Wirkstofffreisetzung Polymermischung aus Kollicoat<sup>®</sup> Smartseal und Chitosan VLMW (oben) bzw. Chitosan HMW (unten) mit Polymerauftrag 10 mg/cm<sup>2</sup> (n = 3)



**Abbildung 4.38 – Wirkstofffreisetzung aus MCC-Kernen (MK) bzw. Schmelztabletten (ST) überzogen mit Chitosan HMW (5 mg/cm<sup>2</sup>) bzw. der Polymermischung aus Kollicoat<sup>®</sup> Smartseal und Chitosan Chitosan HMW (5 mg/cm<sup>2</sup>) (n = 3)**

Abschließend werden die Resultate zur Senkung der vorzeitigen Wirkstofffreisetzung zusammengefasst und verglichen. Wurde reines Chitosan auf Tabletten aufgetragen, erzielte man mit zunehmender Auftragsmenge (3, 5 und 10 mg/cm<sup>2</sup>) WSF<sub>3h</sub> - Werte von 17 %, 14 % und 9 %. Das Molekulargewicht des eingesetzten Chitosans hatte dabei keinen Einfluss (vgl. 4.6.2.2.2). Durch die in 4.6.3 beschriebenen Strategien zur Reduzierung der vorzeitigen Wirkstofffreisetzung im Dünndarm konnten die in Tabelle 4.6 dargestellten WSF<sub>3h</sub> - Werte erzielt werden. Es handelt sich, abgesehen von den mit „ST“ markierten Zeilen, stets um Filmaufträge auf MCC-Kernen.

Diverse Tabletten überzogen mit Chitosan und Filmtabletten mit vielversprechenden Ergebnissen zur Reduzierung der vorzeitigen Wirkstofffreisetzung wurden in Tabelle 4.6 mit einem Stern markiert und wurden auf ihre Eignung zur dickdarmspezifischen Wirkstofffreisetzung weiter untersucht. Zuvor sollte jedoch noch getestet werden, nach welcher Zeitspanne mit Chitosan überzogene Filmtabletten im sauren Milieu des Magens zerfallen.

Tabelle 4.6 – Übersicht der  $WSF_{3h}$ -Werte von diversen Filmtabletten in SIF-Puffer

Strategie zur Reduzierung der vorzeitigen WSF	Auftragsmenge	WSF <sub>3h</sub> -Wert [%]		
		3 mg/cm <sup>2</sup>	5 mg/cm <sup>2</sup>	10 mg/cm <sup>2</sup>
<b>Reine Chitosanfilme, ohne weitere Maßnahme zur Reduzierung der vorzeitigen Wirkstofffreisetzung</b>	Chitosan LMW*	17	14*	9*
	Chitosan HMW*	14	14*	
	Chitosan HMW (ST)*		28*	
<b>Partielle EuRS Isolierschicht</b>	Chitosan VLMW*	5	5*	4
	Chitosan HMW*		7*	
<b>Polymermischung</b>	25 % Kollicoat® SS (Chitosan VLMW)		16	6
	50 % Kollicoat® SS (Chitosan VLMW)		12	3
	75 % Kollicoat® SS (Chitosan VLMW)		2	0,3
	25 % Kollicoat® SS (Chitosan HMW)		12	6
	50 % Kollicoat® SS (Chitosan HMW)		8	3
	75 % Kollicoat® SS* (Chitosan HMW)		2*	0,3
	75 % Kollicoat® SS* (Chitosan HMW) (ST)		2*	

#### 4.6.4 Magensaftresistenter Schutz für Filmtabletten

Chitosan LMW 5 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten, die für 10 Minuten in HCl (0,1 N) eingebracht wurden, quollen und bildeten eine gelartige Struktur aus, die sich zersetzte (siehe Abbildung 4.39). Erhöhte man den Auftrag auf 10 mg/cm<sup>2</sup> bei sonst gleichen Bedingungen, blieb der Film intakt (siehe Abbildung 4.40). Untersuchungen zum Zerfall von Chitosan LMW Filmtabletten in HCl (0,1 N) zeigten, dass diese Tabletten abhängig von der Auftragsmenge nach 4 – 22 Minuten zerfielen (siehe Abbildung 4.41).

Dieses Phänomen verwundert nicht, da wie bereits in 2.1.3.1 beschrieben, Chitosan im Sauren unter Protonierung der Aminogruppen der Glucosaminbausteine in Lösung geht. Es ist also nötig, mit Chitosan überzogene Tabletten, mit einem zusätzlichen magensaftresistenten Film vor dem sauren Milieu im Magen zu schützen.

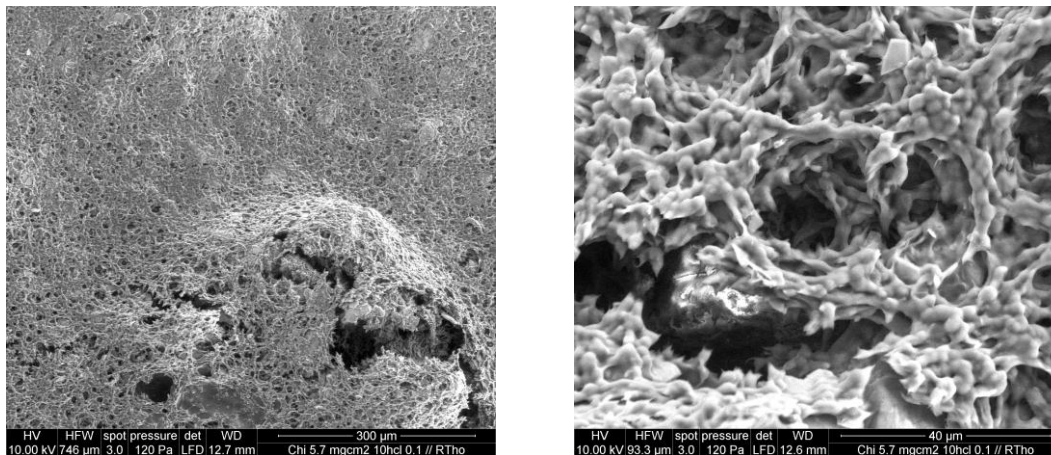


Abbildung 4.39 – REM-Aufnahmen von Chitosan LMW 5 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten nach 10 Minuten in HCl (0,1 N) in der Aufsicht

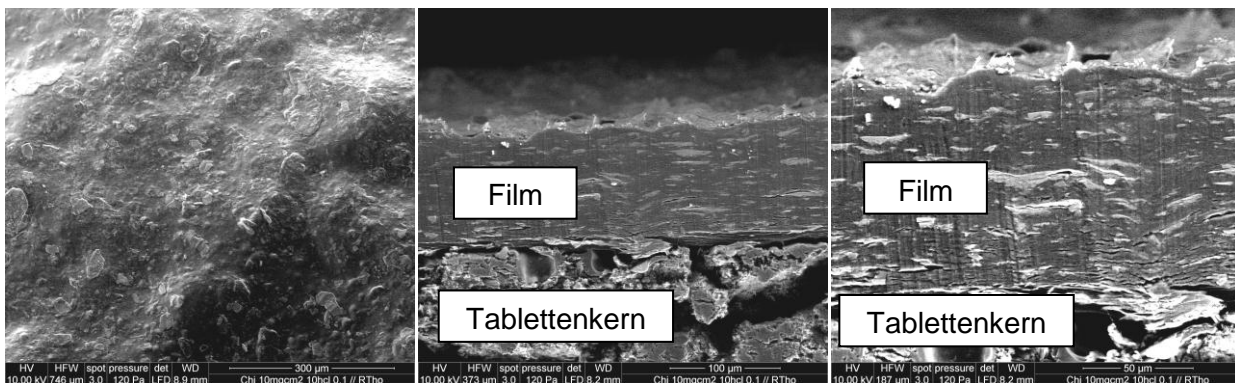
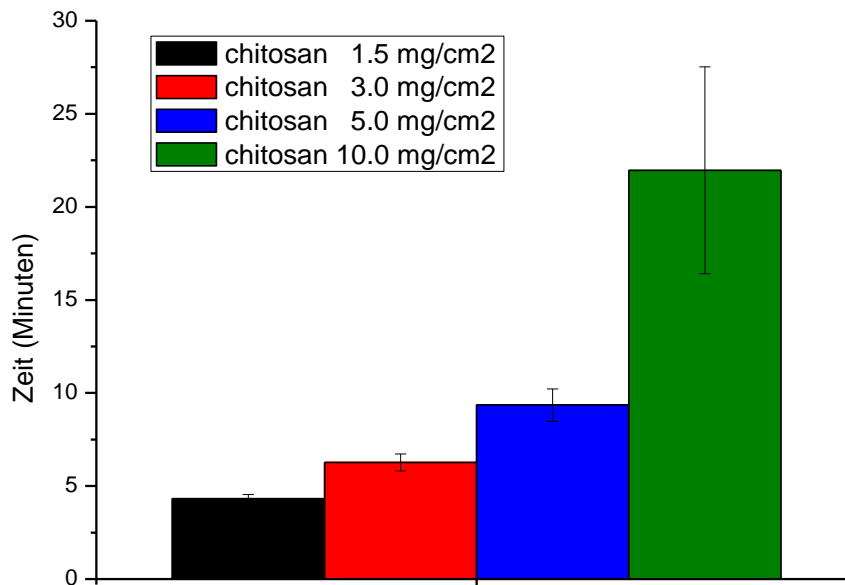


Abbildung 4.40 – REM-Aufnahmen von Chitosan LMW 10 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten nach 10 Minuten in HCl (0,1 N) in der Aufsicht (links) und im Anschnitt (mitte und rechts)



**Abbildung 4.41 – Zerfallsprüfung von Chitosan LMW Filmtabletten in HCl (0,1 N) (n =6)**

Als magensaftresistente Überzüge wurden Formulierungen mit Eudragit<sup>®</sup> L 30 D-55 und Aqualacca<sup>®</sup> 25 getestet. Eudragit<sup>®</sup> L 30 D-55 aufgetragen auf Chitosan LMW bzw. HMW 5 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten konnte die Filmtabletten vor dem Zerfall in HCl (0,1 N) schützen. Nach dem Medienwechsel (SIF-Puffer pH 6,8) zerfielen allerdings einige der Tabletten bereits nach 60 – 120 Minuten (siehe Abbildung 4.42). Ein Grund hierfür könnte sein, dass der magensaftresistente Überzug zwar im Sauren unlöslich, aber protonendurchlässig ist. In der simulierten Magenpassage diffundieren dann Protonen durch den Eudragit<sup>®</sup> L Film und lösen den darunter liegenden Chitosanfilm auf. Ein anderer Grund könnte der pH-Wert (pH = 2,5) der Eudragit<sup>®</sup> L Dispersion sein (Evonik 2009).

Um das vorzeitige Auflösen der Filmtabletten zu verhindern, wurde eine HPMC Isolierschicht zwischen Chitosan HMW und Eudragit<sup>®</sup> L aufgetragen. HPMC ist nicht protonendurchlässig und besitzt keinen sauren Charakter. Es wurde zunächst getestet, ob die zusätzlich auf den Chitosanfilm aufgetragene HPMC Schicht die Wirkstofffreisetzung beeinflusst. In Abbildung 4.43 ist erkennbar, dass die HPMC Schicht die Freisetzung nach 2 h, nicht signifikant, verzögert. Die Freisetzungsrates bleibt aber nahezu identisch.

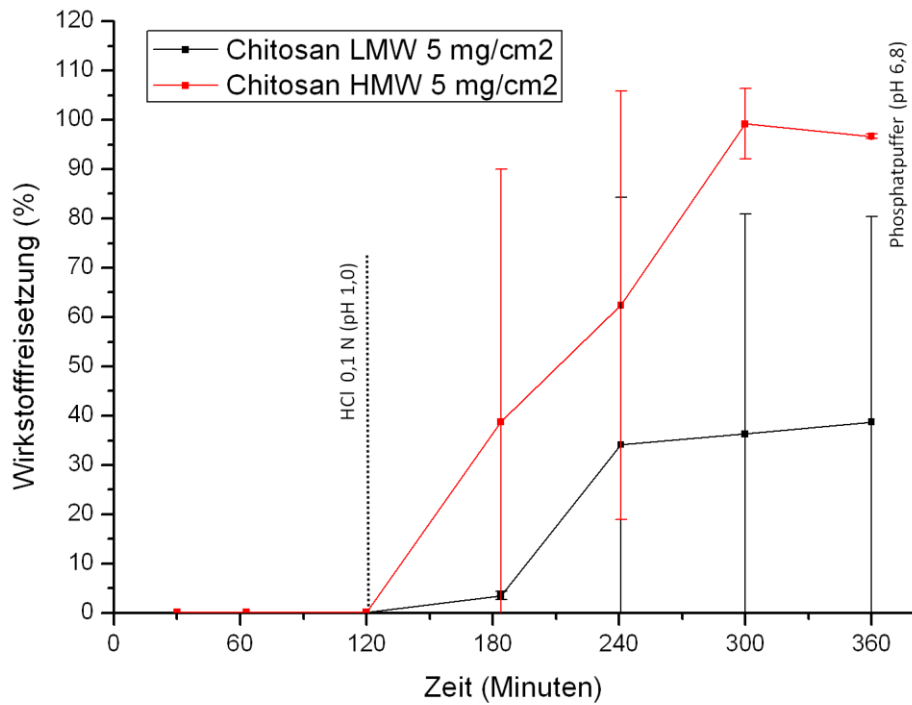


Abbildung 4.42 - Wirkstofffreisetzung Chitosan LMW bzw. HMW 5 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten mit Eudragit<sup>®</sup> L 30 D-55 Überzug (n = 3)

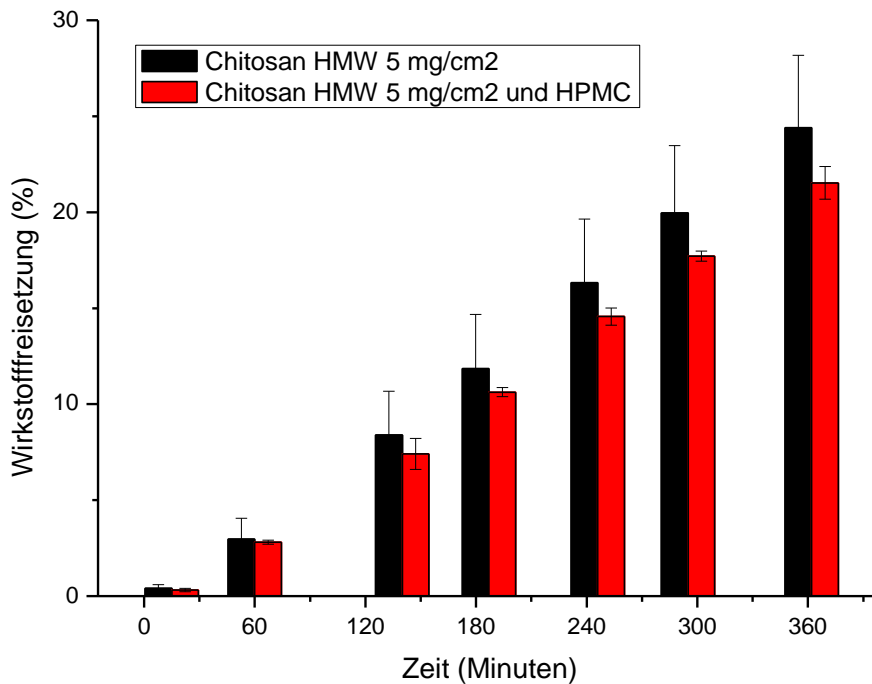
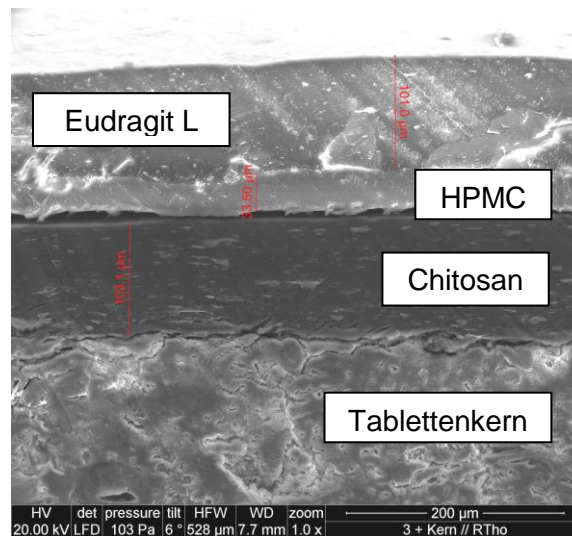


Abbildung 4.43 - Wirkstofffreisetzung Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten mit bzw. ohne zusätzlichen HPMC-Film 2 mg/cm<sup>2</sup> (n = 3)



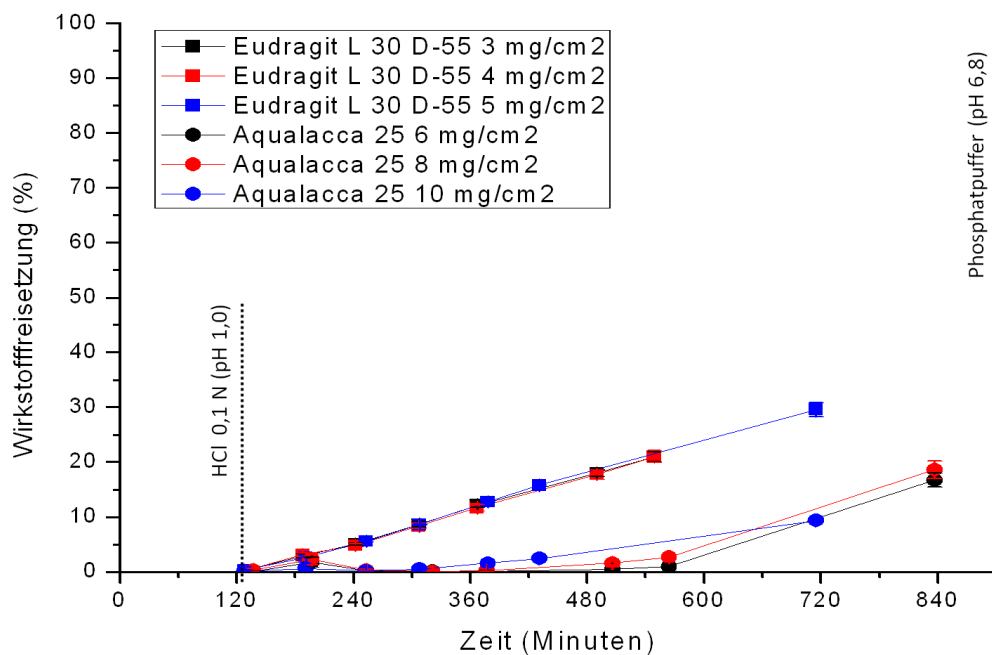
Somit wurden in einem nächsten Schritt Filmtabletten, bestehend aus drei Schichten (Chitosan HMW ( $5 \text{ mg/cm}^2$ ), HPMC ( $2 \text{ mg/cm}^2$ ) und Eudragit<sup>®</sup> L) hergestellt (vgl. Abbildung 4.44). Der Auftrag an Eudragit<sup>®</sup> L wurde im Bereich von  $3 - 5 \text{ mg/cm}^2$  variiert. Zudem wurden Filmtabletten, bestehend aus den zwei Schichten Chitosan HMW  $5 \text{ mg/cm}^2$  und Aqualacca 25 mit Aufträgen von  $6 - 10 \text{ mg/cm}^2$ , hergestellt. Diese benötigten keine HPMC Isolierschicht, da Schellack nicht protonendurchlässig ist und in wässriger Lösung einen alkalischen pH-Wert besitzt.



**Abbildung 4.44 - Elektronenmikroskopische Aufnahme von Chitosan HMW  $5 \text{ mg/cm}^2$  & HPMC  $2 \text{ mg/cm}^2$  & Eudragit<sup>®</sup> L 30 D-55  $5 \text{ mg/cm}^2$  Filmtabletten im Anschnitt**

Die Wirkstofffreisetzung für 2 h in HCl (0,1 N) lag bei allen Filmtabletten bei 0,3 %. Nach dem Medienwechsel (SIF-Puffer pH 6,8) begann die Freisetzungsrates nach Nullter Ordnung für Filmtabletten mit abgelösten Eudragit<sup>®</sup> L. Bei Aqualacca<sup>®</sup> 25 verzögerte sich der Beginn der Freisetzung nach Nullter Ordnung abhängig von der Auftragsmenge. Die lag - Phase dauerte somit etwa 4 – 6 h an. Erst dann begann die Freisetzung nach Kinetik Nullter Ordnung. Die Auftragsmenge des jeweiligen magensaftresistenten Polymers hatte keinen Einfluss auf die Freisetzungsrates (siehe Abbildung 4.45).

Aufgrund der langen Zeitspanne bis zum Auflösen des Schellackfilmes, wurde dieser als nicht geeignet beurteilt. Stattdessen soll der Eudragit L 30 D-55 Auftrag ( $5 \text{ mg/cm}^2$ ) kombiniert mit dem vorgestellten HPMC Subcoating ( $2 \text{ mg/cm}^2$ ) verwendet werden, um die mit Chitosan überzogenen Filmtabletten vor einem Zerfall im Magen zu schützen.



**Abbildung 4.45 - Wirkstofffreisetzung aus Filmtabletten mit Chitosan HMW (5 mg/cm<sup>2</sup>)/ HPMC (2mg/cm<sup>2</sup>)/ Eudragit<sup>®</sup> L 30 D-55 bzw. Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup>/Aqualacca<sup>®</sup> 25 (n = 3)**

Zum schnelleren Screening, der hergestellten Filmtabletten, auf Eignung zur dickdarmspezifischen Wirkstofffreisetzung (Enzymzusatz, CMT und Freisetzung im biorelevanten Freisetzungssystem) wurde in den folgenden Versuchen zunächst auf den magensaftresistenten Filmüberzug verzichtet. Es wurden folglich alle Filmtabletten, ebenso wie in Kapitel 4.6, ohne Simulation der Magenpassage freigesetzt.

Erst wenn die optimale Formulierung ausfindig gemacht wurde, soll auf diese die eben beschriebene Kombination aus HPMC (2 mg/cm<sup>2</sup>) und Eudragit L 30 D-55 (5 mg/cm<sup>2</sup>) aufgetragen werden. Gefolgt von der Wirkstofffreisetzung mit Simulation des Magens, des Dünndarms und schließlich des Dickdarmes.

## 4.7 Wirkstofffreisetzung unter Enzymzusatz

Zur Testung, ob mit den entwickelten Filmtabletten eine dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung realisierbar ist, wurde bei der Wirkstofffreisetzung nach 3 h in SIF-Puffer  $\beta$ -Glucosidase zugesetzt. Bei Chitosan  $3 \text{ mg/cm}^2$  Filmtabletten wurden nach 3 h  $78.500 \text{ u}$   $\beta$ -Glucosidase in SIF-Puffer (pH 6,8) zugesetzt. Wie in Abbildung 4.46 zu sehen ist, kam es nur zu einem leichten Anstieg in der Wirkstofffreisetzung.

In einem zweiten Ansatz wurden Chitosan  $10 \text{ mg/cm}^2$  Filmtabletten nach 3 h in SIF-Puffer (pH 6,8) in Acetatpuffer (pH 5,0) mit  $60.823 \text{ u}$   $\beta$ -Glucosidase transferiert. Eine pH-Erniedrigung wurde entsprechend dem Dickdarmmilieu und dem pH-Optimum der  $\beta$ -Glucosidase angepasst. Da wie in 4.6.2.2.2 beschrieben nur Filmtabletten mit einem Auftrag von mindestens  $10 \text{ mg/cm}^2$  Chitosan über 4 h bei pH 5,0 (nach 3 h Quellung in SIF) intakt bleiben, wurden Filmtabletten mit dieser Auftragsmenge bei dem zweiten Ansatz eingesetzt. Allerdings konnte auch bei pH-Senkung die zugesetzte  $\beta$ -Glucosidase den Film nicht so weit zersetzen, dass sich dieser in größerem Ausmaß öffnet (siehe Abbildung 4.46).

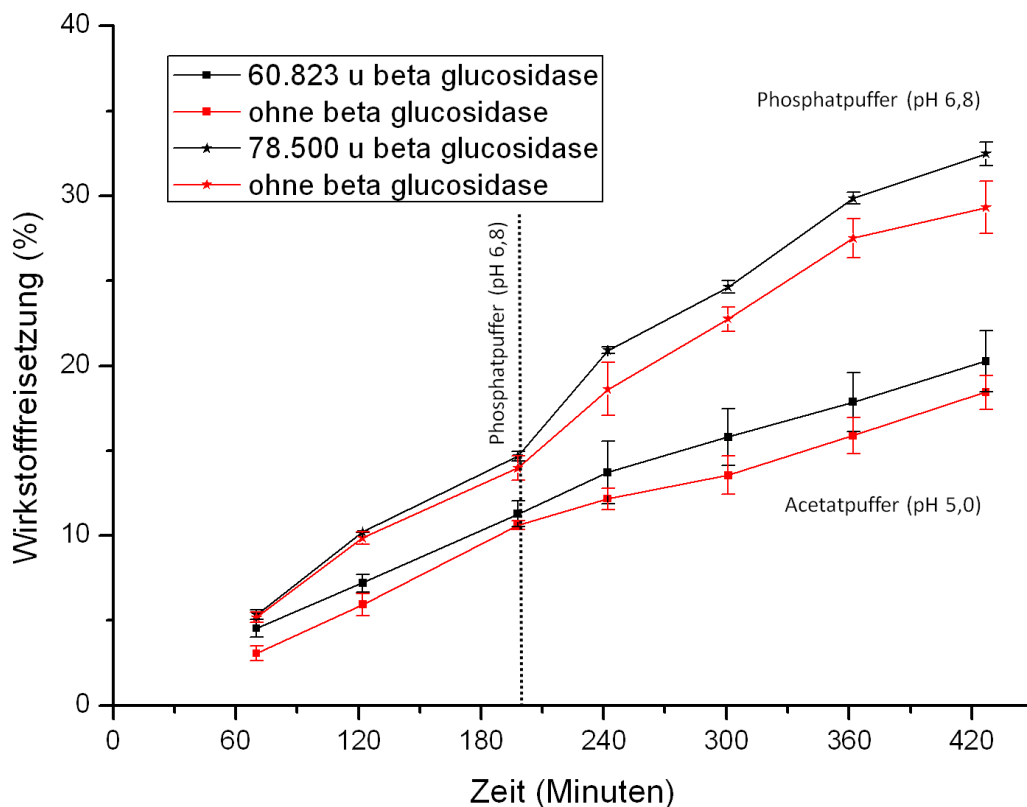


Abbildung 4.46 - Wirkstofffreisetzung Chitosan LMW  $3 \text{ mg/cm}^2$  bei pH 6,8 und  $\beta$ -Glucosidasezusatz nach 3 h ( $78.500 \text{ u}$ ) bzw. Chitosan LMW  $10 \text{ mg/cm}^2$  bei pH 6,8 und nach 3 h pH 5,0 und  $\beta$ -Glucosidasezusatz ( $60.823$ ) ( $n = 3$ )

Es könnte sein, dass die Enzymaktivität nicht ausgereicht hat, um die Polymerketten so stark zu verkürzen, dass der Film auseinanderbricht. Wie bereits unter 3.5.6.2 beschrieben konnten Zhang et al. eine Viskositätsminderung für Chitosanlösungen nach Enzymzusatz bestimmen. Die Geschwindigkeit der Kettenkürzung korrelierte mit dem Molekulargewicht und dem Deacetylierungsgrad (DA) der eingesetzten Chitosanqualitäten. Mit sinkendem Molekulargewicht und DA stieg die Abbaurate. Da mit sinkendem DA die Ähnlichkeit zu Chitin zunimmt, wurde davon ausgegangen, dass die in der  $\beta$ -Glucosidase Präparation enthaltene Chitinase für den Abbau verantwortlich war (Zhang & Neau 2001). In unseren Experimenten wurde Chitosan LMW eingesetzt. Diese Chitosanqualität besitzt einen DA von 91,7 % (vgl. Tabelle 2.8). Die daraus resultierende geringe Ähnlichkeit zu Chitin könnte deshalb ebenfalls der Grund für eine niedrige Abbaurate sein. Chitosanqualitäten mit einem DA über 85 % zeigten in den Untersuchungen von Zhang et al. quasi keinen Abbau (Zhang & Neau 2001). Es muss unter Zusatz von Caecuminhalt die komplexe Mikroflora im CMT simuliert werden, um die enzymatische Abbaubarkeit des eingesetzten Polymers testen zu können.

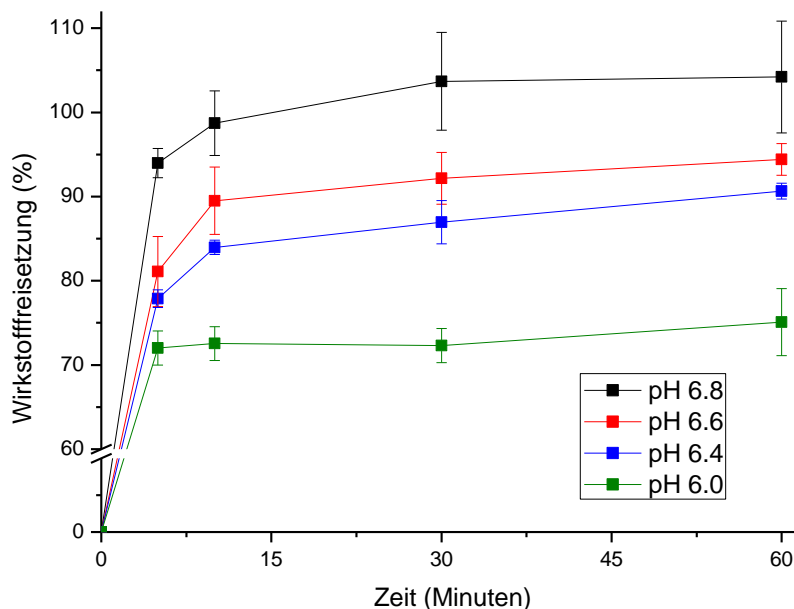
## 4.8 Eignungsprüfung für das Colon-Targeting

Da isolierte Enzyme das Dickdarmmilieu nicht ausreichend genug nachahmen können wurde zur Testung auf dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung der Colon-Mikroflora-Test (CMT) weiterentwickelt (vgl. 3.6) und zur Eignungstestung eingesetzt.

In der Blattrührerapparatur und dem CMT können die auf die Filmtabletten wirkenden Stressbedingungen nur relativ schlecht simuliert werden. Deshalb wurde ein Teil der untersuchten Filmtabletten zusätzlich, am Lehrstuhl für Biopharmazie und Pharmazeutische Technologie an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, in einer biorelevanten Wirkstofffreisetzungapparatur zur Simulation der physiologischen Stressbedingungen getestet (vgl. 1.2.2 und 3.5.6.3). Hiermit kann untersucht werden, ob die Filmtabletten bis zum Erreichen des Dickdarms intakt bleiben. Zudem kann ermittelt werden, ob die Formulierung bedingt durch die intensiven Druckwellen im Dickdarm und die hohen Stressbedingungen an der Ileozäkalklappe ein druckkontrolliertes Colon-Targeting ermöglicht.

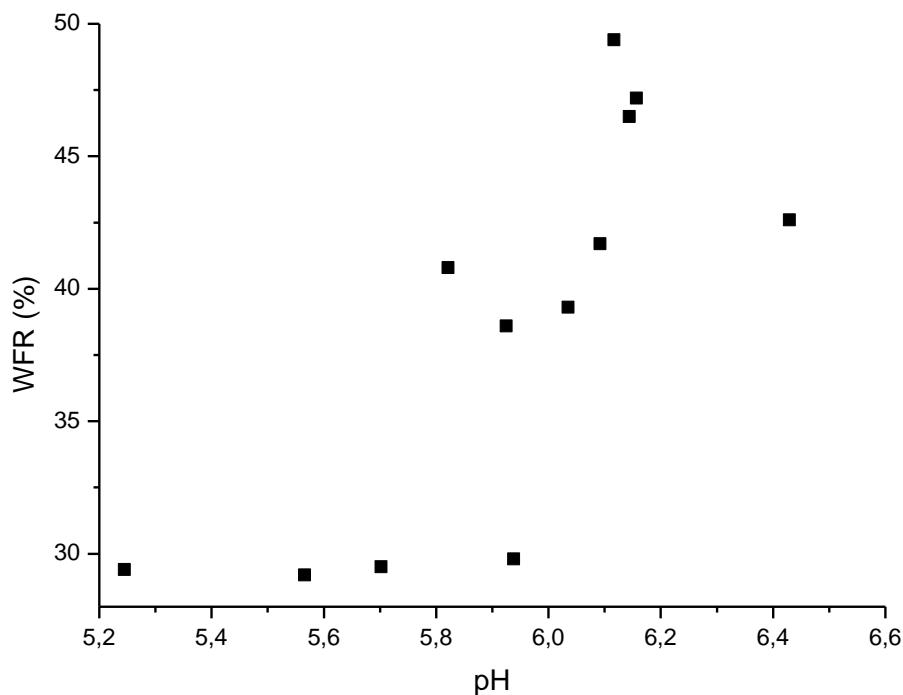
### 4.8.1 Voruntersuchungen

Da das Volumen des Freisetzungsmittels in der CMT-Apparatur mit 150 ml nur sehr klein und die Löslichkeit von Diclofenac-Säure gering ist (vgl. 2.1.1.1), wurden MCC-Kerne bei diversen pH-Werten freigesetzt. Es konnte gezeigt werden, dass bereits ab einem pH-Wert von 6,0 keine sink-Bedingungen mehr existieren und die freigesetzten Wirkstoffkonzentrationen über der Sättigungskonzentration von Diclofenac liegen. Das Plateau im Wirkstofffreisetzungprofil wurde bereits bei 95 % (pH 6,0), 90 % (pH 6,4) und 75 % (pH 6,0) erreicht (siehe Abbildung 4.47).



**Abbildung 4.47 - Wirkstofffreisetzung MCC-Kerne bei diversen pH-Werten in der CMT-Apparatur (n = 3)**

Wegen der unvollständigen Wirkstofffreisetzung und variierenden Wiederfindungsraten bei der WS-Extraktion, bedingt durch wechselnde pH-Werte im Testmedium (von Versuch zu Versuch), wurde die unter 3.6.2.4 beschriebene Wiederfindungsrate in jedem CMT Versuch neu ermittelt. Dies ist nötig, da wie in Abbildung 4.48 dargestellt, die Wiederfindungsrate nicht linear mit dem pH-Wert des Testmediums korreliert. Im Dickdarm kann es bei schwerlöslichen Wirkstoffen zwar ebenfalls zu Löslichkeitsproblemen kommen, aber der gelöste Wirkstoff kann über die Darmschleimhaut absorbiert werden. Damit kann erneut weiterer Wirkstoff in Lösung gehen - es herrschen sink - Bedingungen.

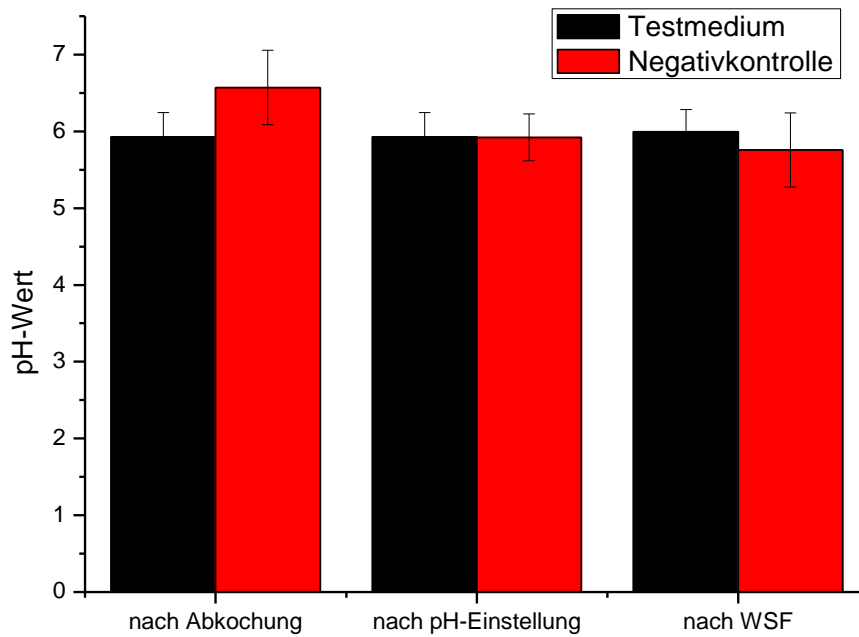


**Abbildung 4.48 – Wiederfindungsrate (WFR) von Diclofenac und pH-Wert der Freisetzungsmedien in der CMT-Apparatur bei diversen CMT-Untersuchungen**

Als Negativkontrollmedium wurde wie unter 3.6.2.3 beschrieben abgekochtes (100°C, 15 Minuten) Testmedium, mit nachfolgender pH-Anpassung an das Testmedium, eingesetzt. In Abbildung 4.49 ist der durchschnittliche pH-Wert des Testmediums ( $5,9 \pm 0,3$ ) und der pH-Wert nach Abkochung ( $6,6 \pm 0,5$ ) angegeben. Der pH-Wert des Negativkontrollmediums wurde ebenfalls auf pH-Wert  $5,9 \pm 0,3$  mit HCl (0,1 N) eingestellt. Die unterschiedlichen pH - Werte im Testmedium sind mit den variablen pH-Werten im Caecum diverser Schweine zu erklären.

Nach der Wirkstofffreisetzung wurde der pH-Wert der Freisetzungsmedien erneut gemessen. Für das Testmedium konnte nach 8 h Wirkstofffreisetzung ein durchschnittlicher pH-Wert von  $6,1 \pm 0,3$  und für das Negativkontrollmedium ein pH-Wert von  $6,0 \pm 0,5$  bestimmt werden (siehe Abbildung 4.49).

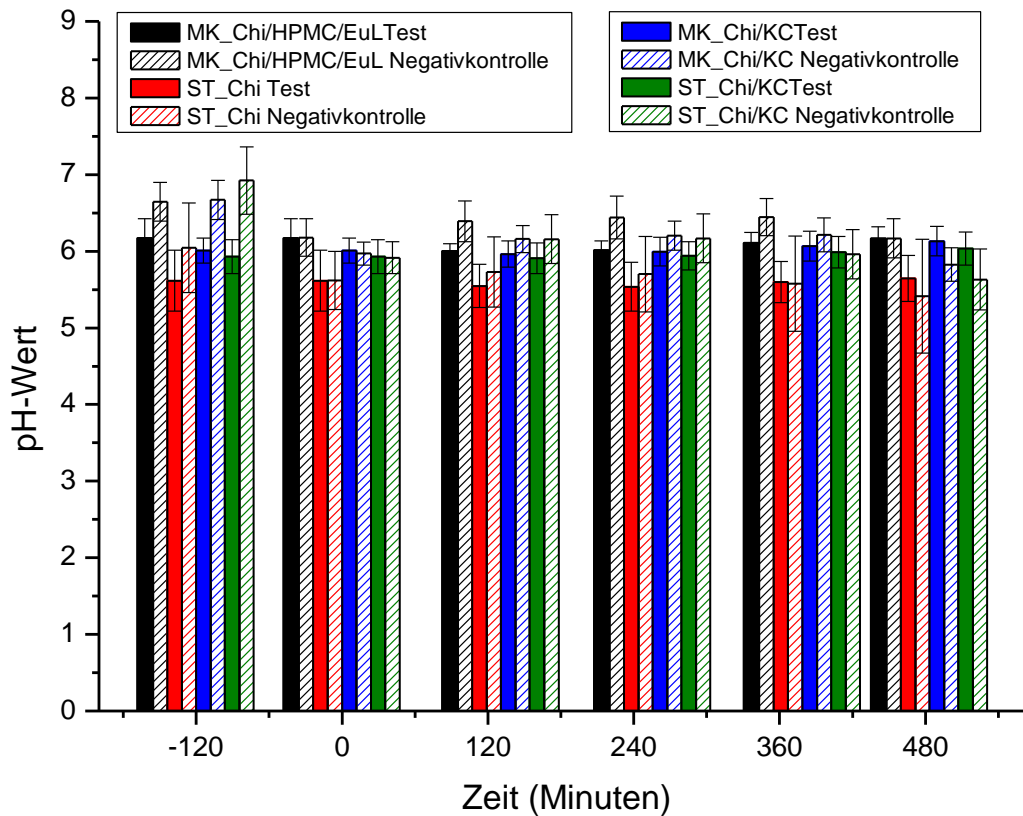
Negativkontrollmedium und Testmedium unterscheiden sich somit nur in der enthaltenen Bakterienanzahl und der Enzymaktivität.



**Abbildung 4.49 – pH-Wert von Testmedium und Negativkontrollmedium nach Abkochung der Negativkontrolle, nach pH-Einstellung und nach der Wirkstofffreisetzung (n = 12)**

Es kann also davon ausgegangen werden, dass bei Filmtabletten, die im Testmedium aufplatzen, im Negativkontrollmedium aber stabil bleiben, eine enzymatisch kontrollierte Wirkstofffreisetzung erzielt werden kann. Möglicherweise spielt auch der pH-Wert eine gewisse Rolle. Aber eine rein pH-kontrollierte Wirkstofffreisetzung zum Erreichen des Colon-Targetings kann mit dieser Negativkontrolle ausgeschlossen werden.

Zusätzlich wurde vor Beginn der Wirkstofffreisetzung in der CMT-Apparatur je ein Aliquot des Testmediums und des Negativkontrollmediums entnommen und bei 37 °C gelagert (vgl. 3.6.2.3). Bei jedem Probenzeitpunkt wurde der pH-Wert der Aliquots bestimmt. Die Zusammenstellung der pH-Werte für Test- und Kontrollmedium bei dreifacher Wiederholung der entsprechenden CMT's finden sich in Abbildung 4.50.



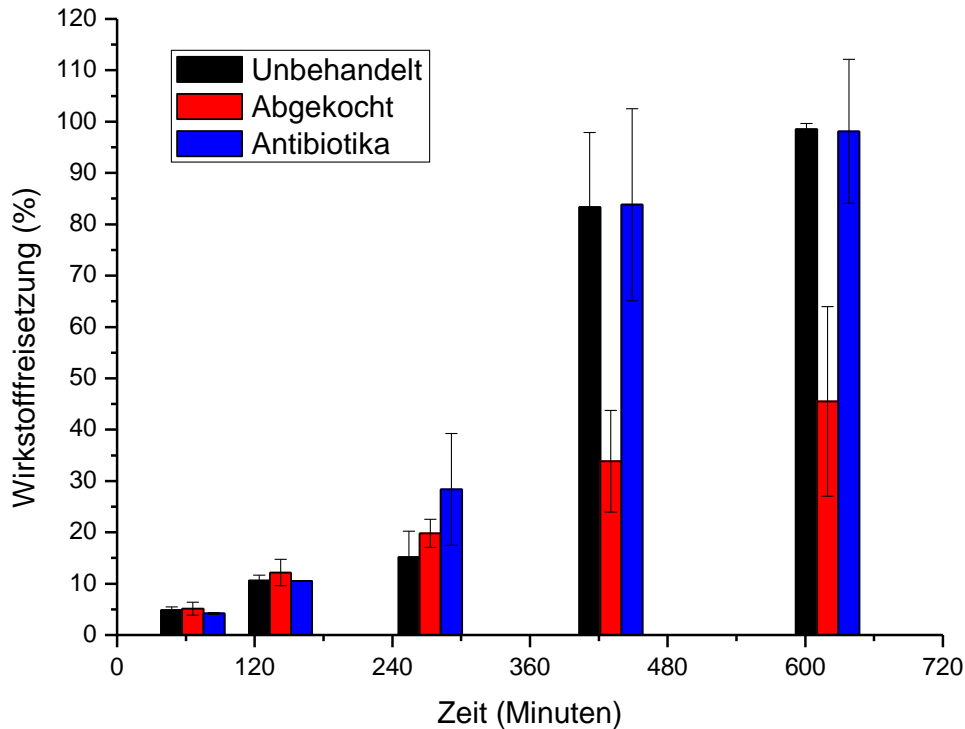
**Abbildung 4.50 – pH-Verlauf im Test- und Negativkontrollmedium bei diversen CMT-Versuchen (n= 3)**  
 MK = MCC-Kerne, ST = Schmelztabletten, Chi = Chitosan, HPMC = Hydroxypropylmethylcellulose, EuL = Eudragit L, KC = Kollicoat Smartseal 30 D, Test = Testmedium, Negativkontrolle = Negativkontrollmedium

Die pH-Werte änderten sich kaum über die Zeit. Der kleinste pH-Wert aller CMT-Versuche lag bei 5,0 und der größte pH-Wert bei 6,7. Der kleinste pH-Wert<sub>Mittelwert</sub> aller CMT-Versuche lag bei  $5,4 \pm 0,7$  und der größte pH-Wert<sub>Mittelwert</sub> bei  $6,5 \pm 0,2$ . Die pH-Werte<sub>Mittelwert</sub> korrelieren mit den Werten, die in der Literatur für den ersten Abschnitt des Colons angegeben werden ((Evans *et al.* 1988, Bauer *et al.* 2012).

Eine Variation der Negativkontrolle, bei der auf das Abkochen des Testmediums verzichtet wurde und stattdessen eine Kombination zweier Antibiotika zugesetzt wurde (vgl. 3.6.2.3), erwies sich als nicht geeignet. Die Wirkstofffreisetzung unter Zusatz von Apramycin und Fosfomycin unterschied sich nicht von der im Testmedium. Mögliche Gründe könnten zu niedrig eingesetzte Konzentrationen, eine Verzögerung im Wirkungseintritt oder die Unempfindlichkeit der Bakterien gegenüber diesen Antibiotika sein. Eine andere Erklärung könnte sein, dass zwar die Bakterien inaktiviert wurden, aber die bereits sezernierten Enzyme im Testmedium zum Abbau der Filmtabletten ausgereicht haben.



Wurde allerdings zur Herstellung des Negativkontrollmediums ein Teil des Testmediums abgekocht und dessen pH-Wert an das Testmedium angeglichen, war ein signifikanter Unterschied in der Wirkstofffreisetzung erkennbar (siehe Abbildung 4.51).



**Abbildung 4.51 – Wirkstofffreisetzung von Chitosan LMW 5 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten in Testmedium (unbehandelt), abgekochtes Testmedium und Testmedium mit Antibiotikazusatz (n<sub>Unbehandelt</sub> = 6, n<sub>Abgekocht</sub> = 3 und n<sub>Antibiotika</sub> = 2 )**

#### 4.8.2 Tablettenkerne

Zuerst wurde das Freisetzungsverhalten der nicht überzogenen Tablettenkerne in der CMT-Apparatur untersucht. MCC-Kerne und Schmelztabletten wurden hierfür 7 h in Testmedium freigesetzt. Die Freisetzung beider Kerne unterschied sich nicht signifikant. Wie bereits unter 4.1 für die Freisetzung in SIF-Puffer gezeigt wurde, war die Wirkstofffreigabe auch im CMT-Medium bei den MCC-Kernen tendenziell schneller. Zudem war im Testmedium des CMT die Freisetzung beider Tablettenkerne, aufgrund des niedrigen pH-Wertes und fehlender sink - Bedingungen, viel langsamer als im Puffer bei pH 6,8. Der 100 % - Wert bei 480 Minuten (und aller anderen Datenpunkte) wurde, wie auch bei allen

folgenden CMT-Wirkstofffreisetzungprofilen, mit Hilfe der Wiederfindungsrate berechnet (siehe Abbildung 4.52).

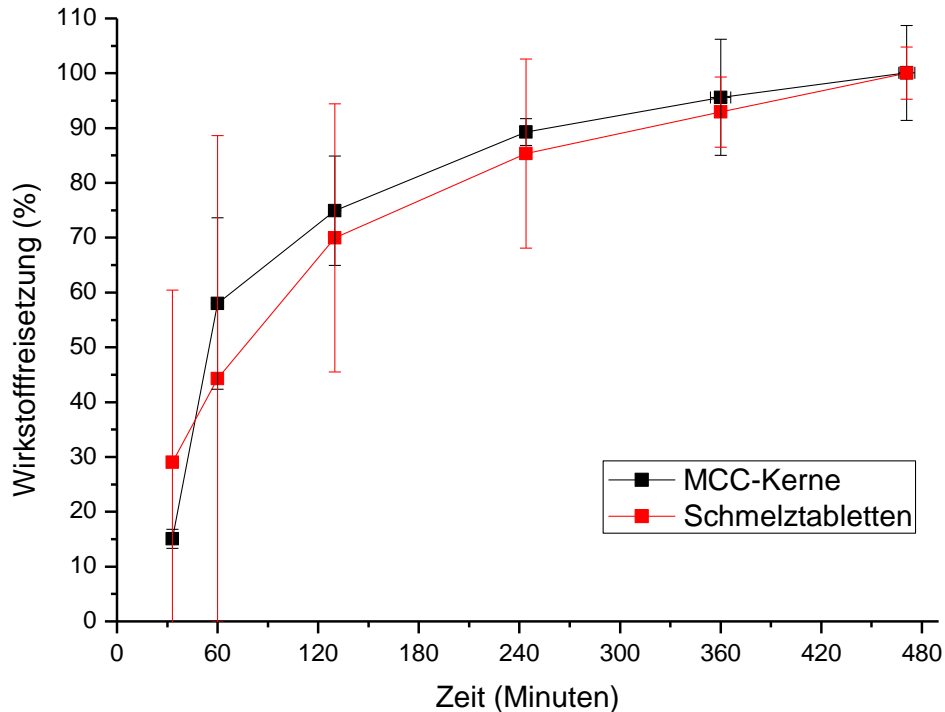


Abbildung 4.52 – Wirkstofffreisetzung von Tablettenkernen in Testmedium des CMT (n = 6)

### 4.8.3 Filmtabletten mit Chitosan

Bei den CMT-Versuchen konnten gerätebedingt jeweils nur 2 Filmtabletten im Testmedium bzw. im Negativkontrollmedium freigesetzt werden. Zur Erhöhung der Wiederholungszahl wurden die Versuche wiederholt und alle Datenpunkte einzeln aufgetragen, da die pH-Werte zwischen den einzelnen Versuchen teilweise variierten. Identische Symbole für Datenpunkte im CMT-Freisetzungprofil, sowie bei den Abbildungsunterschriften der Filmtabletten nach der Wirkstofffreisetzung (ab S. 140) stammen aus dem gleichen Versuch mit dem gleichen pH-Wert.

#### 4.8.3.1 Kurzkettiges Chitosan

Chitosan LMW 5 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten setzen nach 180 – 195 Minuten in SIF-Puffer 14 - 20 % Wirkstoff frei. Nach 360 Minuten ist ein erster Unterschied zwischen

Testmedium und Negativkontrollmedium zu erkennen (siehe Abbildung 4.53). Eine enzymatisch kontrollierte Wirkstofffreisetzung scheint möglich zu sein. Allerdings liegt die vorzeitige Wirkstofffreisetzung im Dünndarmmilieu für diese Tabletten bei knapp 20 %.

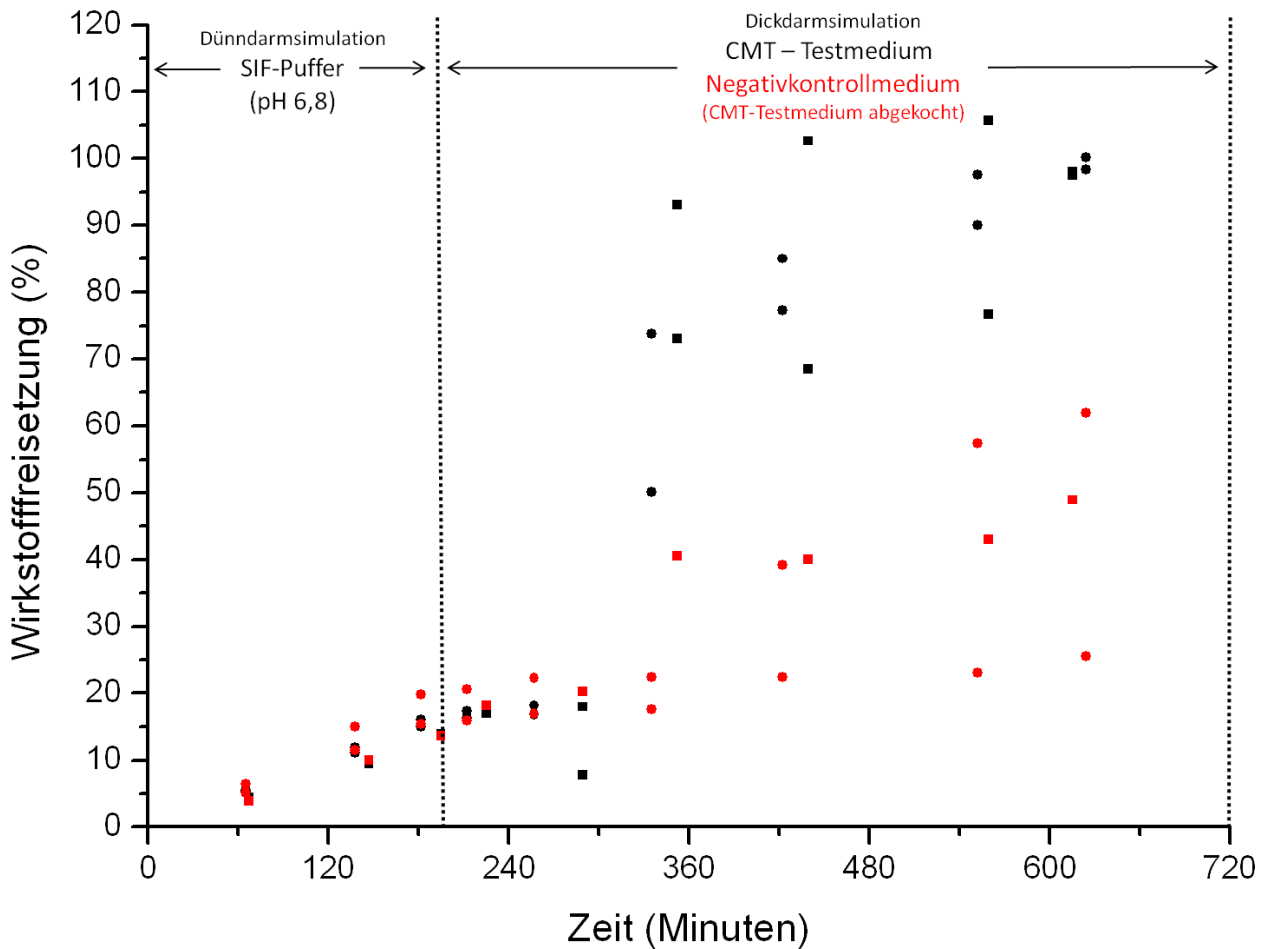


Abbildung 4.53 - Wirkstofffreisetzung von Chitosan LMW 5 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten im CMT (n ≥ 3)

Applizierte man die doppelte Menge an Chitosan LMW auf Tablettenkerne, betrug die vorzeitige Wirkstofffreisetzung nach 180 Minuten nur noch 8 – 9 %. Allerdings verzögerte sich der Colon-Targeting Effekt auf 600 Minuten (siehe Abbildung 4.54). Filmtabletten aus dem Negativkontrollmedium waren nach dieser Zeit noch intakt, während Filmtabletten aus dem Testmedium am Steg aufgeplatzt waren. Das Aufplatzen am Steg ist dadurch erklärbar, dass hier der dünnste Polymerauftrag vorhanden ist (siehe 4.6.3.1 und Abbildung 4.55).

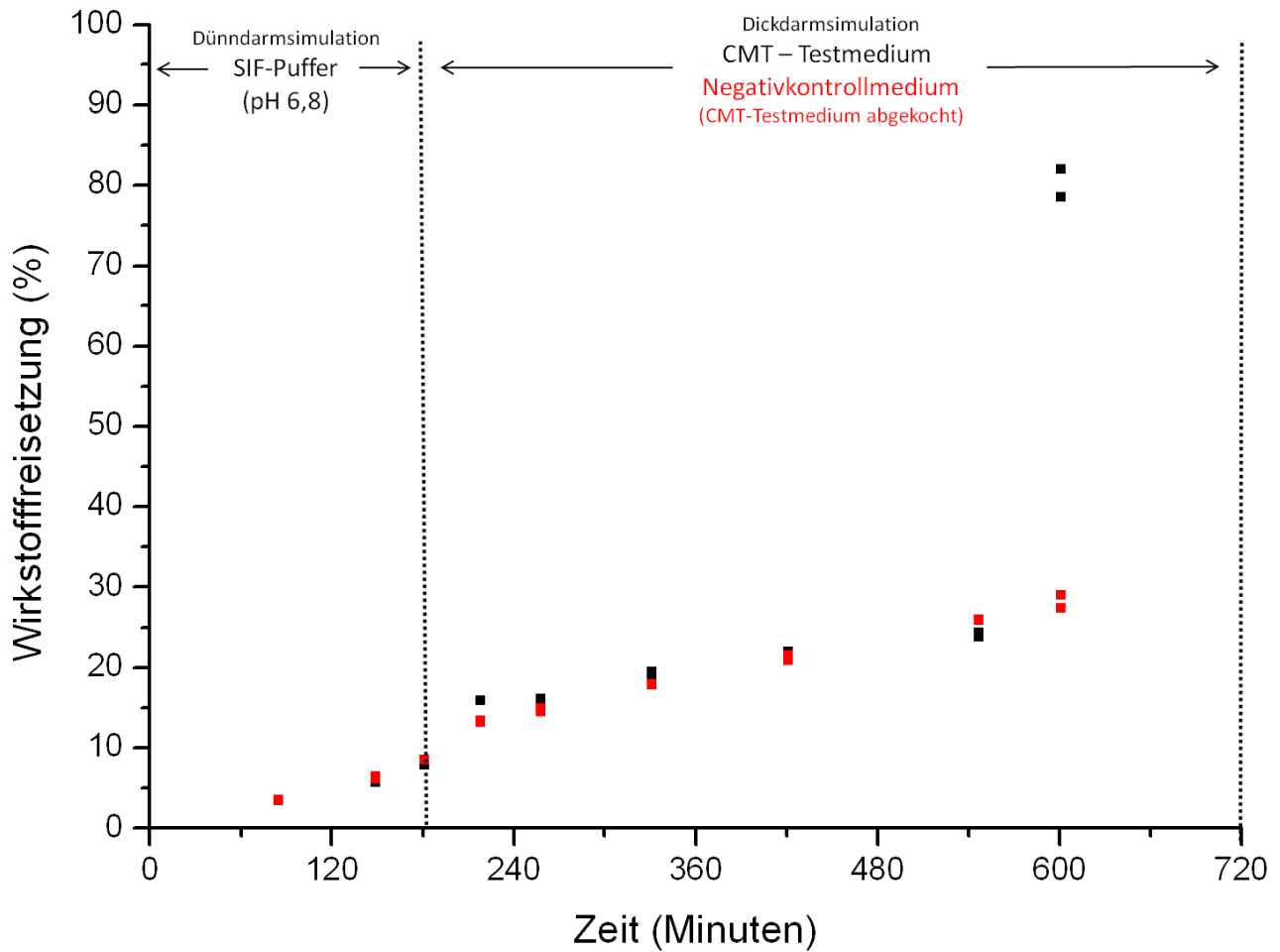


Abbildung 4.54 - Wirkstofffreisetzung von Chitosan LMW 10 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten im CMT (n = 2)



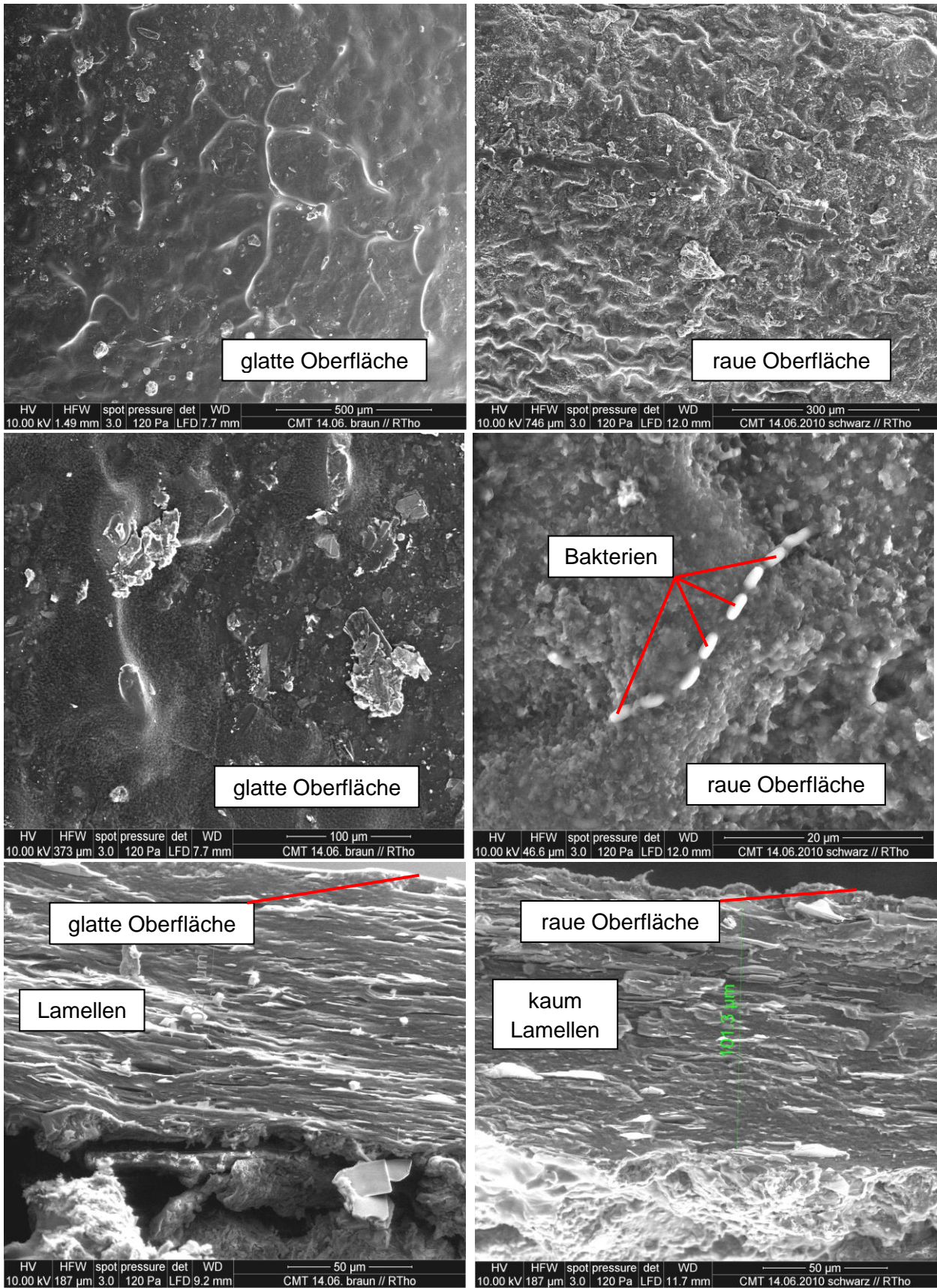
Abbildung 4.55 - Chitosan LMW 10 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten nach dem CMT

Oben: FTA aus dem Negativkontrollmedium  
 Unten: FTA aus dem Testmedium

Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Filmtabletten nach der Freisetzung in der CMT - Apparatur sind in Abbildung 4.56 dargestellt. Die Oberfläche der Filmtabletten aus dem Testmedium (rechte Spalte) scheint viel rauer als die der Negativkontrolle (linke Spalte) zu sein. Dies könnte allerdings, unabhängig von einem enzymatischen Verdau, auch darin begründet sein, dass die Bakterien einen Belag auf der Tablette bilden. Im Negativkontrollmedium fehlen diese Bakterien größtenteils oder sind nicht mehr vital.

Im Anschnitt wirkt der Polymerfilm der Filmtabletten aus dem Testmedium (rechte Spalte) an der Oberfläche ebenfalls etwas rauer. Zudem ist die klare lamellenartige Anordnung der Polymerketten nicht mehr zu erkennen. Nur die eingelagerten Talkumplättchen erinnern noch an die ehemals bestehende Struktur. Bei der entsprechenden Aufnahme der Filmtabletten aus dem Negativkontrollmedium (linke Spalte) ist die Filmstruktur noch immer gut zu erkennen.

Besonders interessant ist die Tatsache, dass stäbchenartige Bakterien scheinbar fähig sind, den Film zu durchdringen (vgl. Abbildung 4.56 rechts, mitte). Die Filmdicke (ca. 100  $\mu\text{m}$ ) an der Kalotte ist bei beiden Filmtabletten noch nahezu identisch.



**Abbildung 4.56 – REM-Aufnahmen von Chitosan LMW 10 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten nach der Freisetzung in der CMT-Apparatur**

Links: FTA aus dem Negativkontrollmedium  
 Rechts: FTA aus dem Testmedium  
 Oben u. Mitte: FTA in der Aufsicht  
 Unten: FTA im Anschnitt

#### 4.8.3.2 Langkettiges Chitosan

Bei der Verwendung von Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten lag die vorzeitige Wirkstofffreisetzung nach 242 – 250 Minuten in SIF-Puffer bei 12 – 18 %. Der erste Colon-Targeting Effekt war nach 450 Minuten erkennbar (siehe Abbildung 4.57).

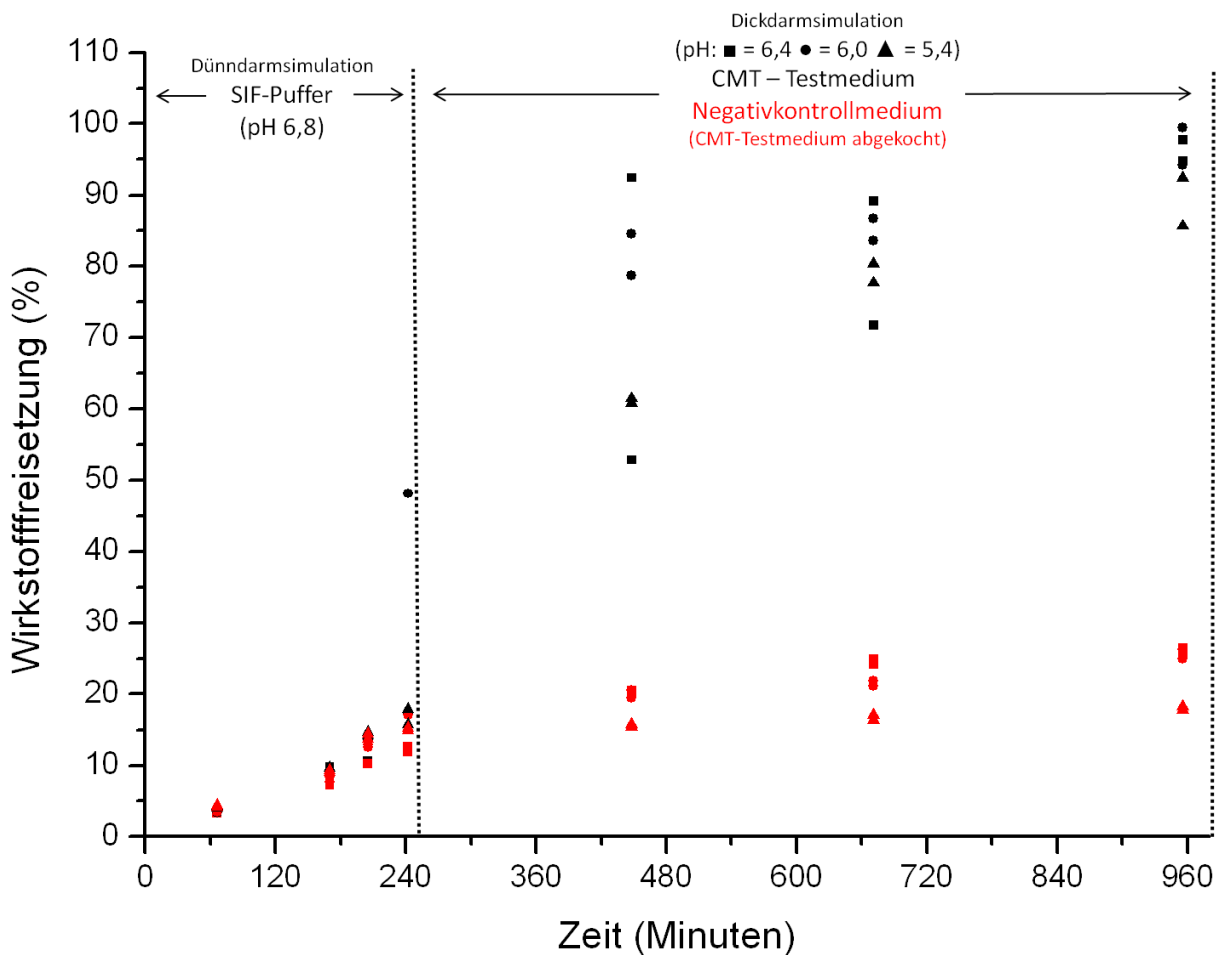
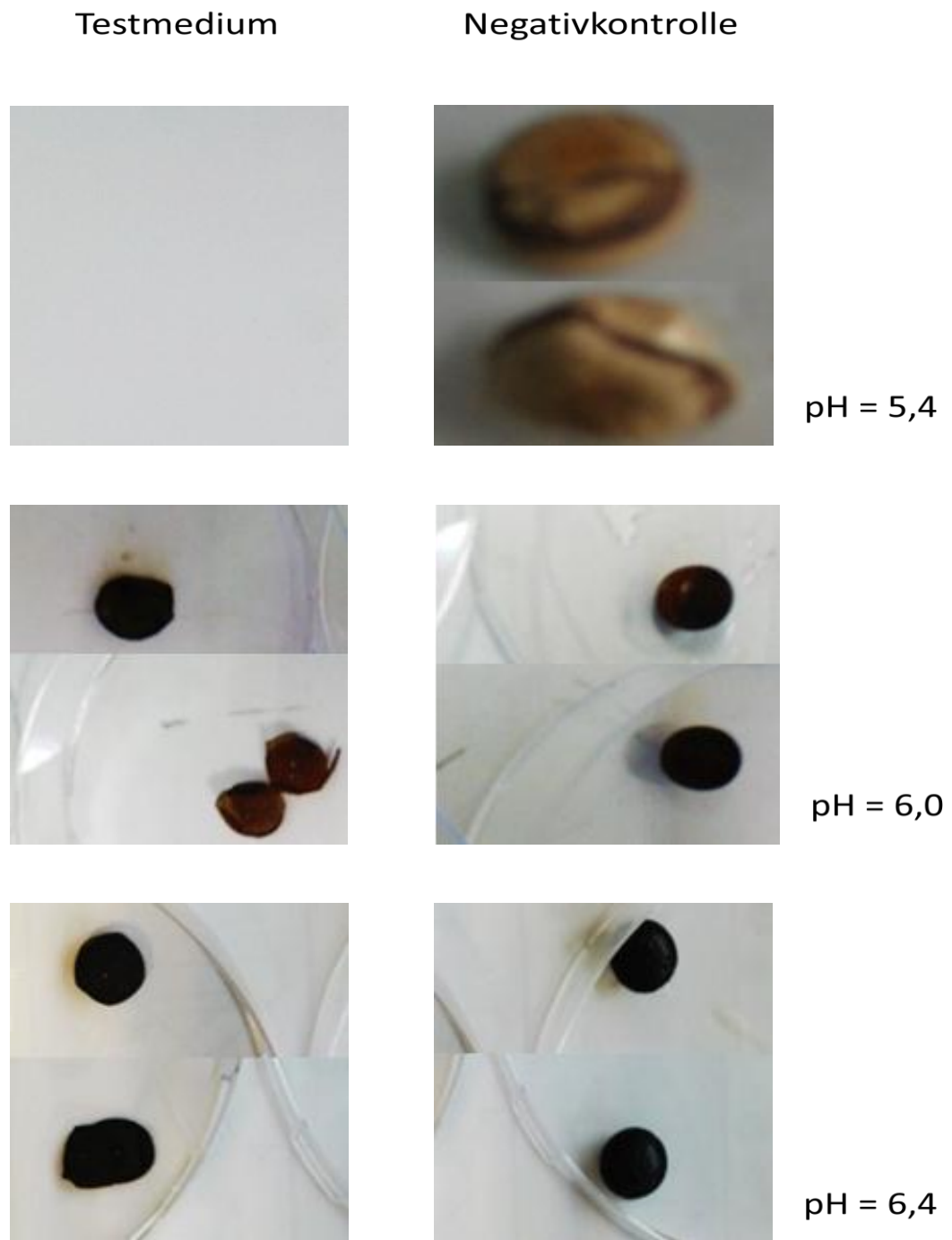


Abbildung 4.57 - Wirkstofffreisetzung von Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten im CMT (n = 3x2)

In Abbildung 4.58 sind die Filmtabletten nach der Freisetzung im Testmedium (linke Spalte) zu sehen. Lag der pH-Wert bei 5,4, waren die Filmtabletten komplett aufgelöst. Bei pH 6,0 bzw. 6,4 waren die FTA nur aufgeplatzt.

Im Negativkontrollmedium (rechte Spalte) waren nach 16 Stunden alle Filmtabletten noch intakt. Allerdings waren die FTA bei pH 5,4 sehr stark gequollen. Auch der Film war stark gequollen und wirkte sehr instabil.



**Abbildung 4.58 – Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup> auf MCC-Kernen**

Oben: CMT ▲ (pH = 5,4)  
Mitte: CMT ● (pH = 6,0)  
Unten: CMT ■ (pH = 6,4)



Zur Stabilitätstestung der Filmtabletten unter Stressbedingungen in der GIT - Passage wurden die eben beschriebenen Tablettenchargen, am Lehrstuhl für Biopharmazie und Pharmazeutische Technologie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, in einer biorelevanten Freisetzungssapparatur untersucht. In FaSSIF setzten Filmtabletten mit einem Polymerüberzug aus Chitosan unabhängig von Polymerkettenlänge und Auftragsmenge den Wirkstoff nach einer Kinetik Nullter Ordnung frei. Alle Filmtabletten hielten den Stressbedingungen stand, womit ein *dose dumping* unter physiologischen Gegebenheiten nicht zu erwarten ist. Wie in Kapitel 1.1.1.1 und 1.1.2.1 beschrieben, können Filmtabletten zur dickdarmspezifischen Wirkstofffreisetzung, bedingt durch ihre Größe (> 2 mm), nur mittels *housekeeperwaves* den Dünndarm erreichen. Deswegen ist nur die Testung in FaSSIF-Medium relevant (Coupe *et al.* 1991, Moes 1993, Schulze-Delrieu *et al.* 1998).

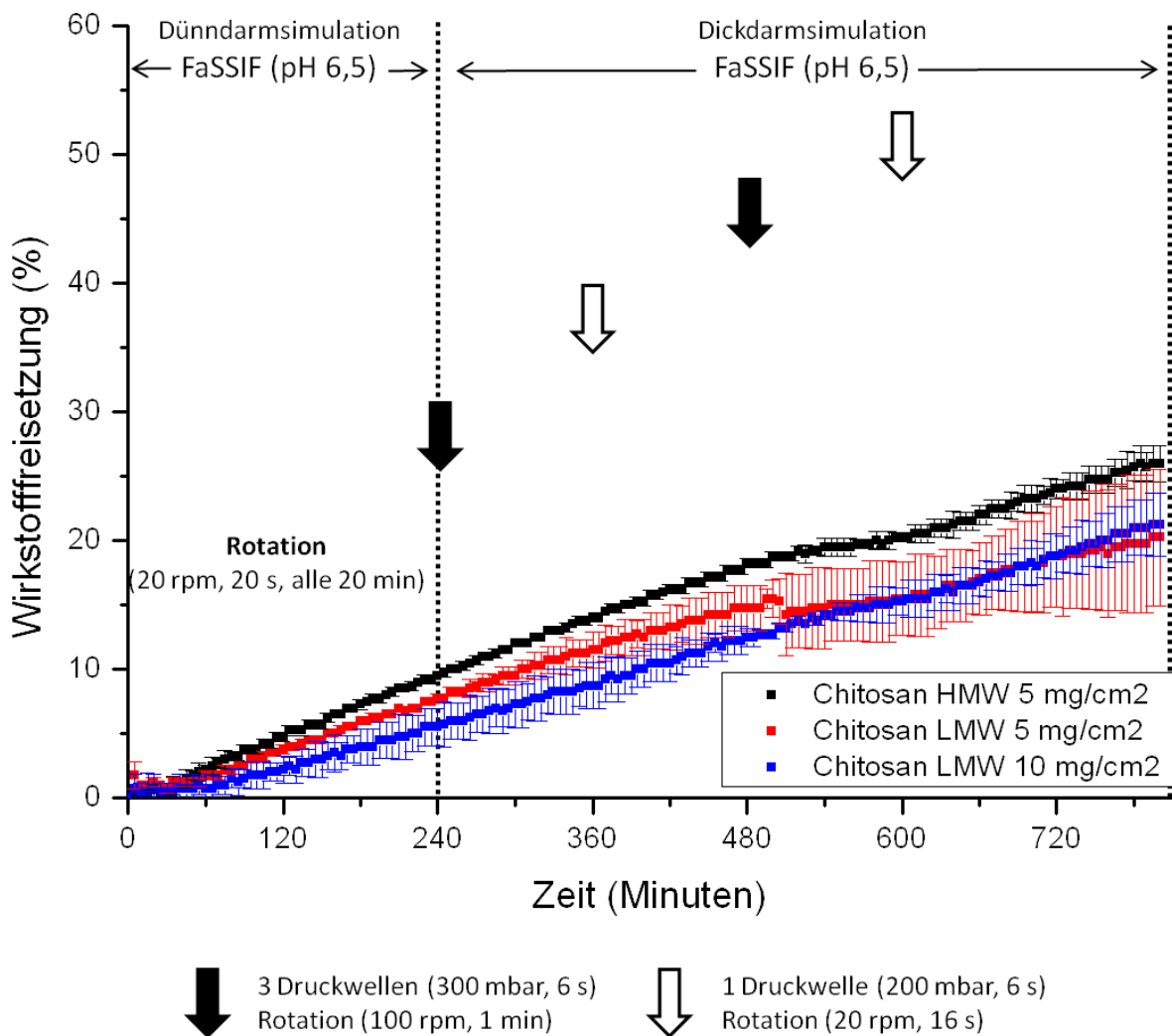


Abbildung 4.59 – Wirkstofffreisetzung von MCC-Kernen mit Chitosan in einer biorelevanten Freisetzungssapparatur (n = 2)

Die Eignung entsprechender Filmaufträge (Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup>) für das Colon-Targeting wurde auch auf Schmelztabletten getestet. Hierfür konnte eine Wirkstofffreisetzung von 43 – 44 % in SIF-Puffer (nach 183 – 200 Minuten) bestimmt werden. Im CMT lagen in einer Zeitspanne von 313 – 454 Minuten alle Freisetzungswerte im Testmedium oberhalb derer im Negativkontrollmedium. Hierbei kann von einem enzymatisch - kontrollierten Colon-Targeting ausgegangen werden. Allerdings unterschieden sich die Freisetzungswerte in Test- und Negativkontrollmedium in den folgenden Probenzeitpunkten nicht signifikant voneinander. Zum einen liegt das an der recht hohen diffusionsgesteuerten Wirkstofffreisetzung dieser Filmtabletten (vgl. 4.6.1), zum anderen daran, dass bedingt durch die niedrigen pH-Werte im FreisetzungsmEDIUM (pH = 5,2 – 6,0), auch Filmtabletten im Negativkontrollmedium aufplatzten (vgl. 4.8.1).

Filmtabletten im Testmedium erzielten das Targeting vermutlich getriggert durch eine Kombination aus pH- und Enzym-Effekt. Diese Filmtabletten waren unabhängig vom pH-Wert nach 12 Stunden komplett aufgelöst (siehe Abbildung 4.61).

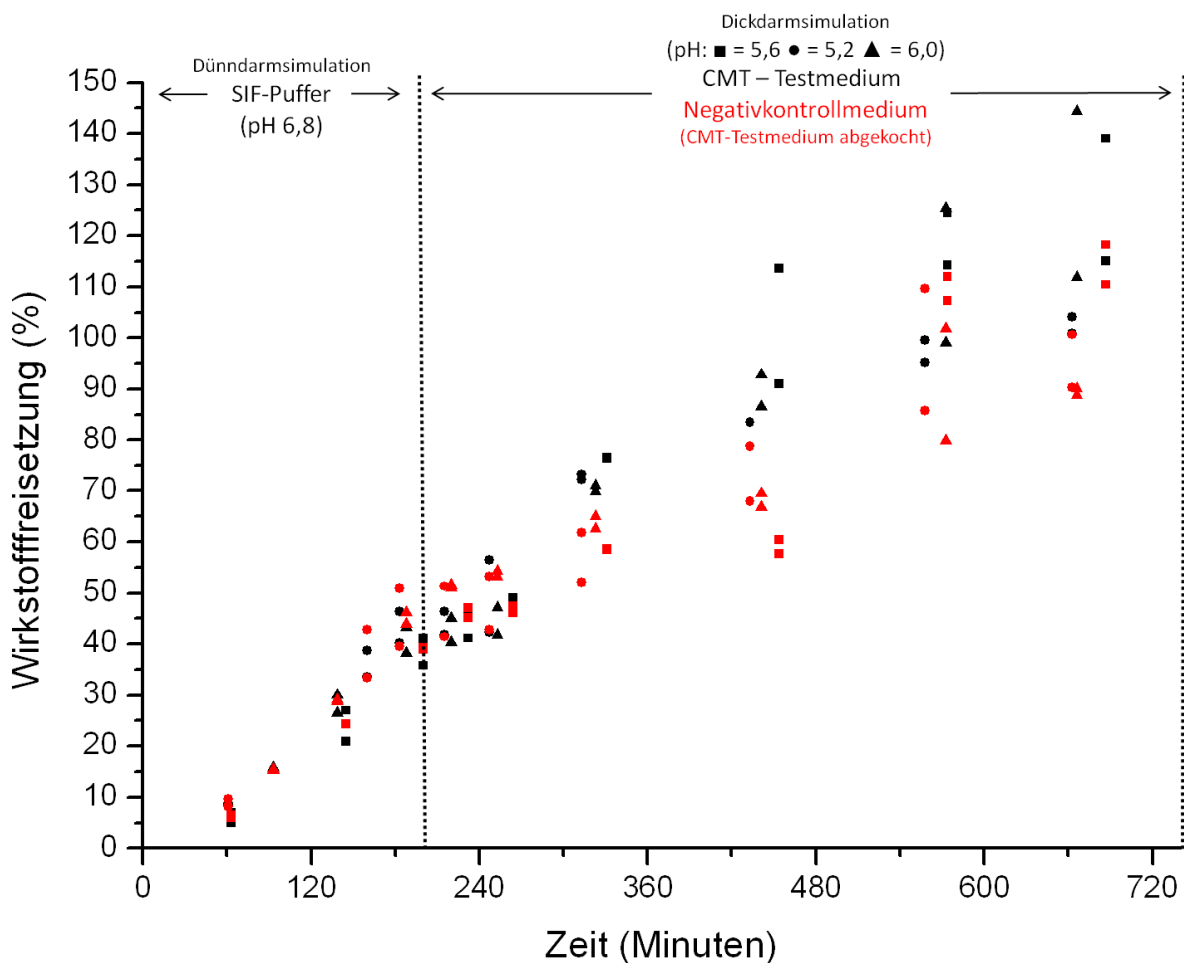
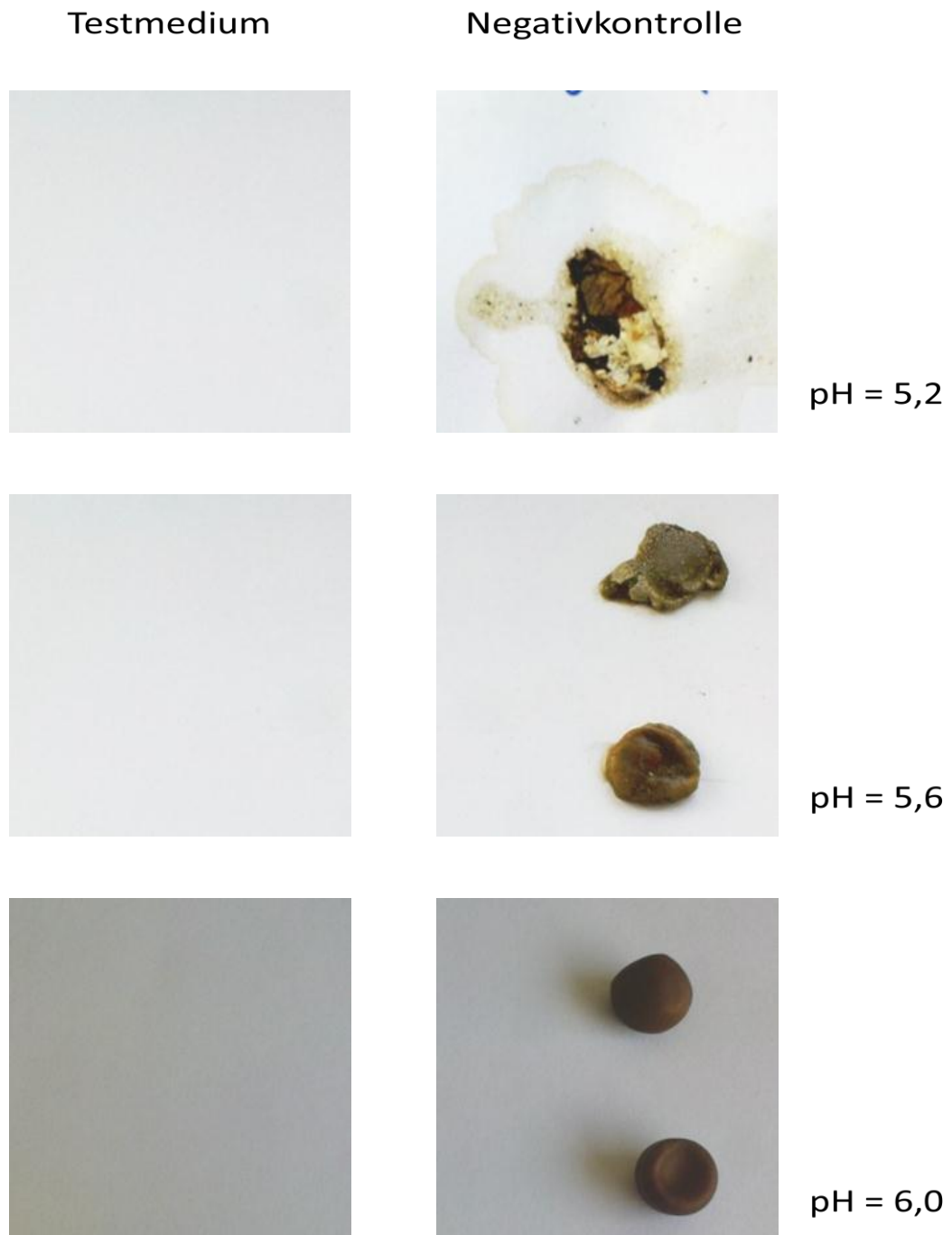


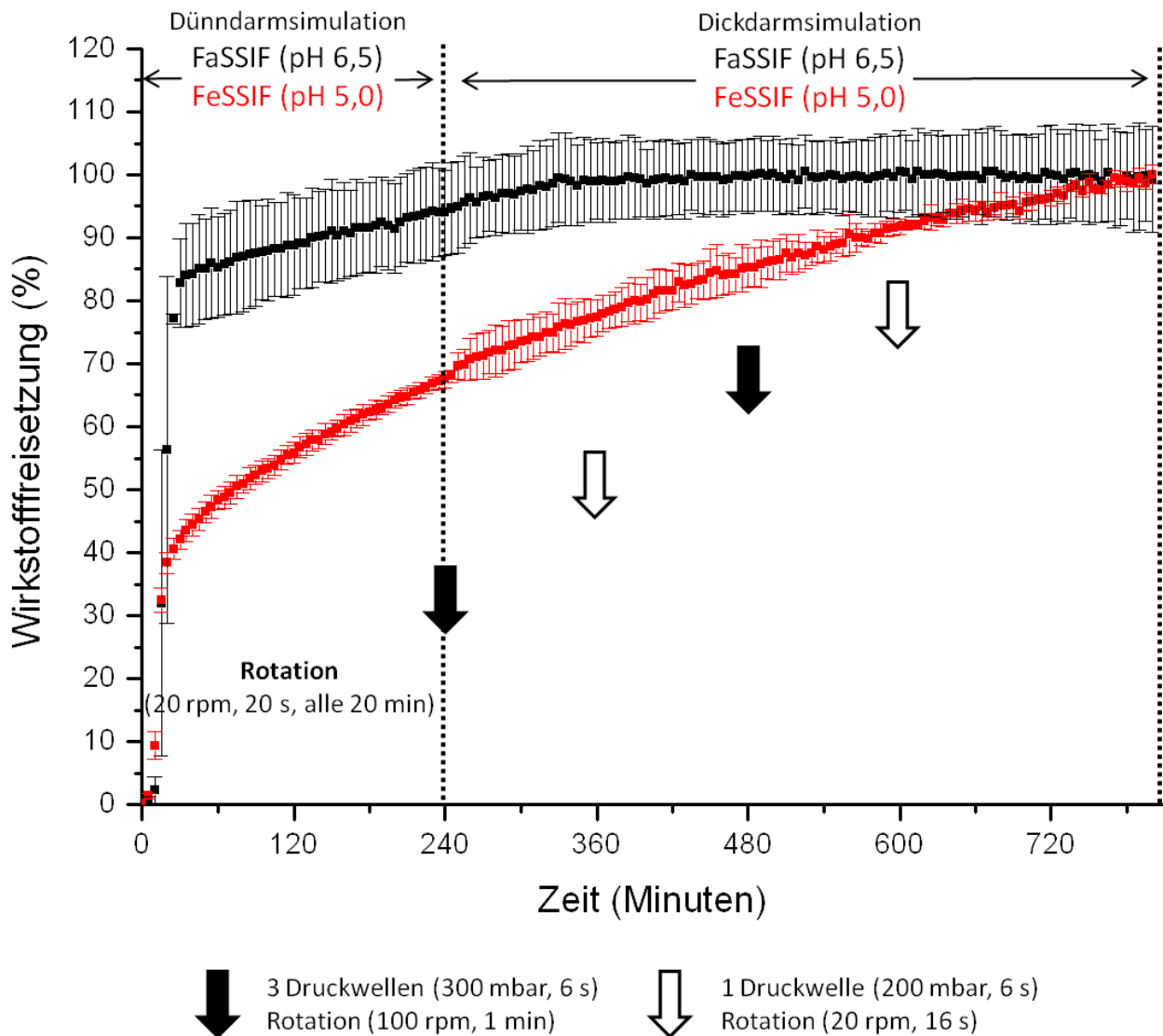
Abbildung 4.60 - Wirkstofffreisetzung von Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup> auf Schmelztabletten im CMT (n = 3 x 2)



**Abbildung 4.61 - Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup> auf Schmelztabletten**

Oben: CMT ● (pH = 5,2)  
 Mitte: CMT ■ (pH = 5,6)  
 Unten: CMT ▲ (pH = 6,0)

Unter den Stressbedingungen im biorelevanten Freisetzungssystem konnte gezeigt werden, dass ein Filmauftrag von Chitosan HMW (5 mg/cm<sup>2</sup>) auf Schmelztabletten nicht für das Colon-Targeting geeignet ist. In FaSSIF bzw. FeSSIF platzten die Filmtabletten bereits nach 15 – 30 Minuten auf (*dose dumping*). Die langsamere Freisetzung in FeSSIF (pH 5,0) kann durch fehlende sink - Bedingungen erklärt werden (siehe Abbildung 4.62).



**Abbildung 4.62 - Wirkstofffreisetzung von Schmelztabletten mit Chitosan in einer biorelevanten Freisetzungssystem (n = 3)**

Es kann zusammengefasst werden, dass Chitosan aufgetragen auf MCC-Kerne sehr gut für eine enzymatische - kontrollierte Wirkstofffreisetzung geeignet ist. Bei einem Auftrag von  $5 \text{ mg/cm}^2$  Chitosan HMW konnte bereits nach etwa 3,5 Stunden eine gesteigerte Wirkstofffreisetzung im Dickarmmilieu erreicht werden. Zudem blieben die Filmtabletten im biorelevanten Freisetzungssystem für über 13 Stunden, ohne Einfluss von bakteriellen Enzymen, intakt. Dies deutet auf sehr resistente Filmtabletten hin. Wurden stattdessen  $5 \text{ mg/cm}^2$  Chitosan HMW auf Schmelztabletten aufgetragen, zeigten die Tabletten diese Resistenz nicht. Sowohl im Negativkontrollmedium des CMT, als auch im biorelevanten Freisetzungssystem platzten die Filmtabletten auf und scheinen daher nicht für die dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung geeignet zu sein.

#### 4.8.4 Filmtabletten mit reduzierter vorzeitiger Wirkstofffreisetzung

Nachdem in Kapitel 4.6.3 gezeigt werden konnte, wie Filmtabletten die vorzeitige Wirkstofffreisetzung in Magen und Dünndarm minimieren können, sollen diese Formulierungen nun ebenfalls auf eine enzymatische Abbaubarkeit im CMT und auf Stabilität im biorelevanten Freisetzungssystem geprüft werden.

##### 4.8.4.1 Partielle EuRS - Isolierschicht

Filmtabletten mit einer partiellen EuRS - Isolierschicht und einem zusätzlichen Chitosan VLMW bzw. HPMC und Chitosan HMW Auftrag setzten nach 187 – 241 Minuten 5 – 7 % Wirkstoff in SIF-Puffer frei. Filmtabletten, bei denen die VLMW Variante verwendet wurde, zeigten im CMT nach 306 – 374 Minuten einen Colon-Targeting Effekt. Aufgrund der Instabilität dieser FTA und dem recht geringen pH-Wert von 5,4 im Medium platzten allerdings auch die Filmtabletten im Negativkontrollmedium auf und zeigten nach 600 Minuten einen Anstieg im Wirkstofffreisetzungprofil.

Verwendete man allerdings die Kombination mit Chitosan HMW, bei einem Medium pH-Wert von 6,1, ist kein enzymatischer Abbau im Freisetzungprofil zu erkennen. Widersprüchlicherweise ist der Abbau auf den fotografischen Aufnahmen der Filmtabletten nach der Freisetzung im Testmedium zu erkennen, während die Negativkontrolle intakt blieb. Der Effekt konnte im Freisetzungprofil vermutlich nicht erkannt werden, da der Wirkstoff noch immer in der pastösen Tablettenmatrix eingebettet war und nicht heraus diffundieren konnte (siehe Abbildung 4.63 und Abbildung 4.64). Bei der Blattrührerapparatur sind die Strömungsverhältnisse direkt an der Arzneiform sehr schwach ausgeprägt (Bauer-Brandl & Ritschel 2012). Würde die GIT-Peristaltik besser simuliert werden, kann davon ausgegangen werden, dass die pastöse Masse aus dem aufgerissenen Filmverband herausgepresst werden würde. Folglich würde der Wirkstoff in Lösung gehen und könnte im Dickdarm absorbiert werden.

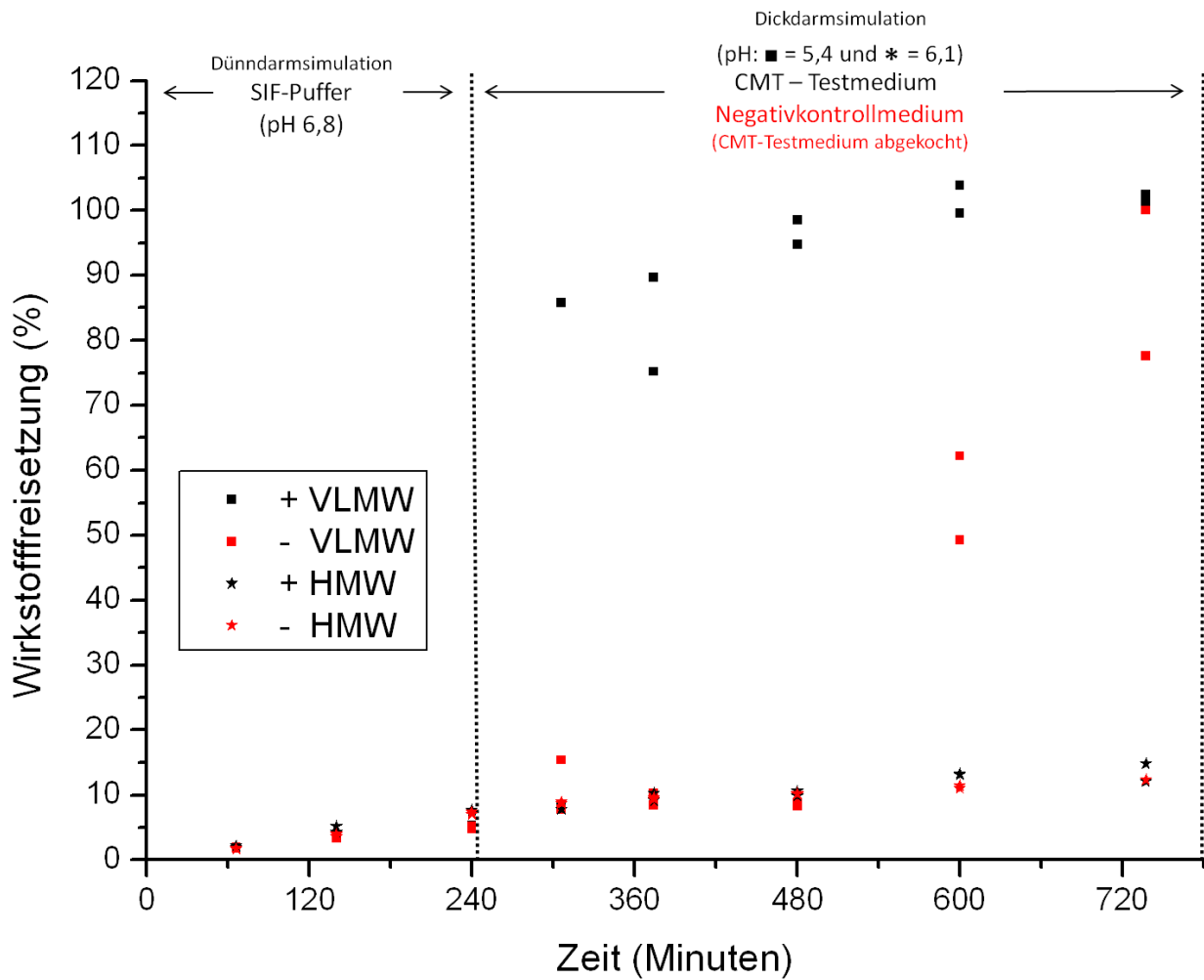


Abbildung 4.63 - Wirkstofffreisetzung von Filmtabletten mit einer partiellen EuRS-Isolierschicht und Chitosan VLMW bzw. HPMC/Chitosan HMW im CMT (n = 2)

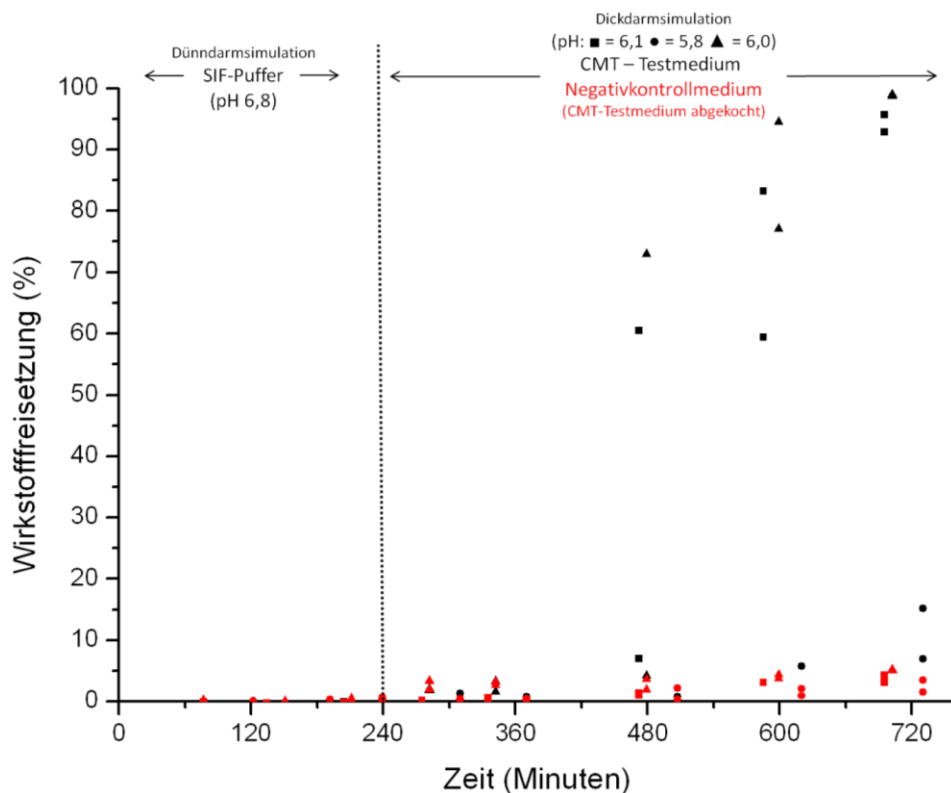


Abbildung 4.64 - Filmtabletten mit einer partiellen EuRS-Isolierschicht u. Chitosan VLMW bzw. HMW

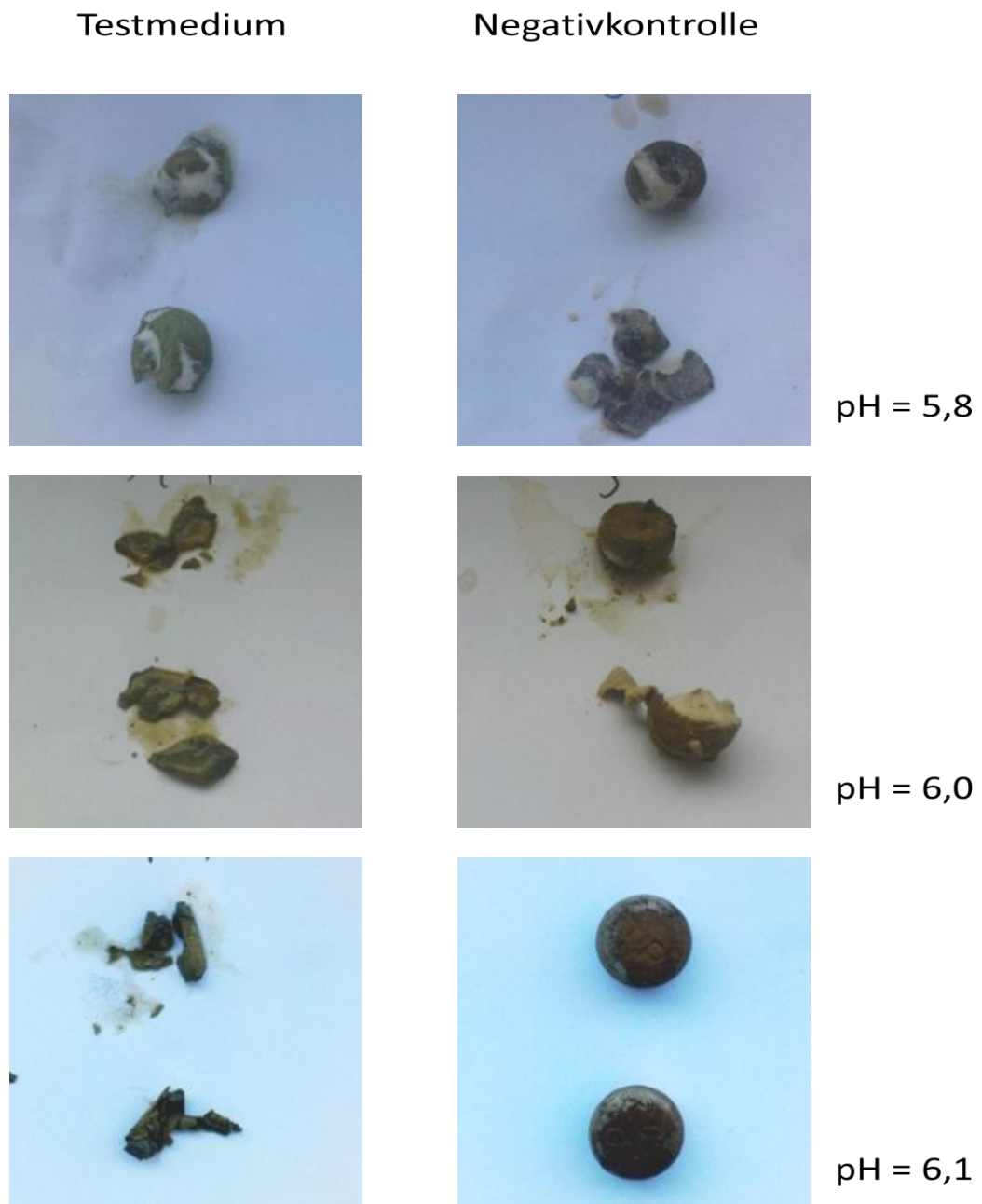
Links: Chitosan VLMW  
Mitte: HPMC/Chitosan HMW (Negativkontrollmedium)  
Rechts: HPMC/Chitosan HMW (Testmedium)

#### 4.8.4.2 Polymermischung

Die Polymermischung bestehend aus 75 % Kollicoat® Smartseal und 25 % Chitosan aufgetragen auf MCC-Kerne bzw. Schmelztabletten ( $5 \text{ mg/cm}^2$ ) konnte die vorzeitige Wirkstofffreisetzung stark verzögern. Die  $WSF_{3h}$  - Werte lagen sowohl für MCC-Kerne als auch Schmelztabletten bei nur 2 %, anstatt bei 13 % bzw. 28 % (siehe 4.6.3.2). Bei Untersuchungen im CMT setzten MCC-Kerne, mit einem Filmauftrag bestehend aus der Mischung Chitosan HMW und Kollicoat® Smartseal (25:75), nach 204 – 239 Minuten weniger als 0,4 % Wirkstoff in SIF-Puffer frei. Nach 472 – 479 Minuten im CMT konnte für zwei Filmtabletten ein steiler Anstieg im Freisetzungprofil bestimmt werden. In dem Zeitraum von 585 – 599 Minuten waren es bereits 4 Filmtabletten. Beim niedrigsten pH-Wert (5,8) unterschieden sich die Freisetzungswerte im Testmedium kaum von denen der Negativkontrolle, obwohl alle Filmtabletten aufgeplatzt waren. Der Wirkstoff wurde vermutlich wie unter 4.8.4.1 erläutert noch immer im Kernverband eingeschlossen. Im Negativkontrollmedium konnte für keine Probe ein starker Anstieg beobachtet werden, obwohl vier von sechs Filmtabletten aufgebrochen waren. Auch hier war bei drei, der vier genannten Filmtabletten noch der nahezu intakte Tablettenkern zu erkennen, worauf die geringe Freisetzung zurückzuführen ist (siehe Abbildung 4.65 und Abbildung 4.66).



**Abbildung 4.65 - Wirkstofffreisetzung von Filmtabletten (MCC-Kerne) mit der Polymermischung aus Kollicoat® Smartseal und Chitosan HMW  $5 \text{ mg/cm}^2$  im CMT (n = 3 x 2)**

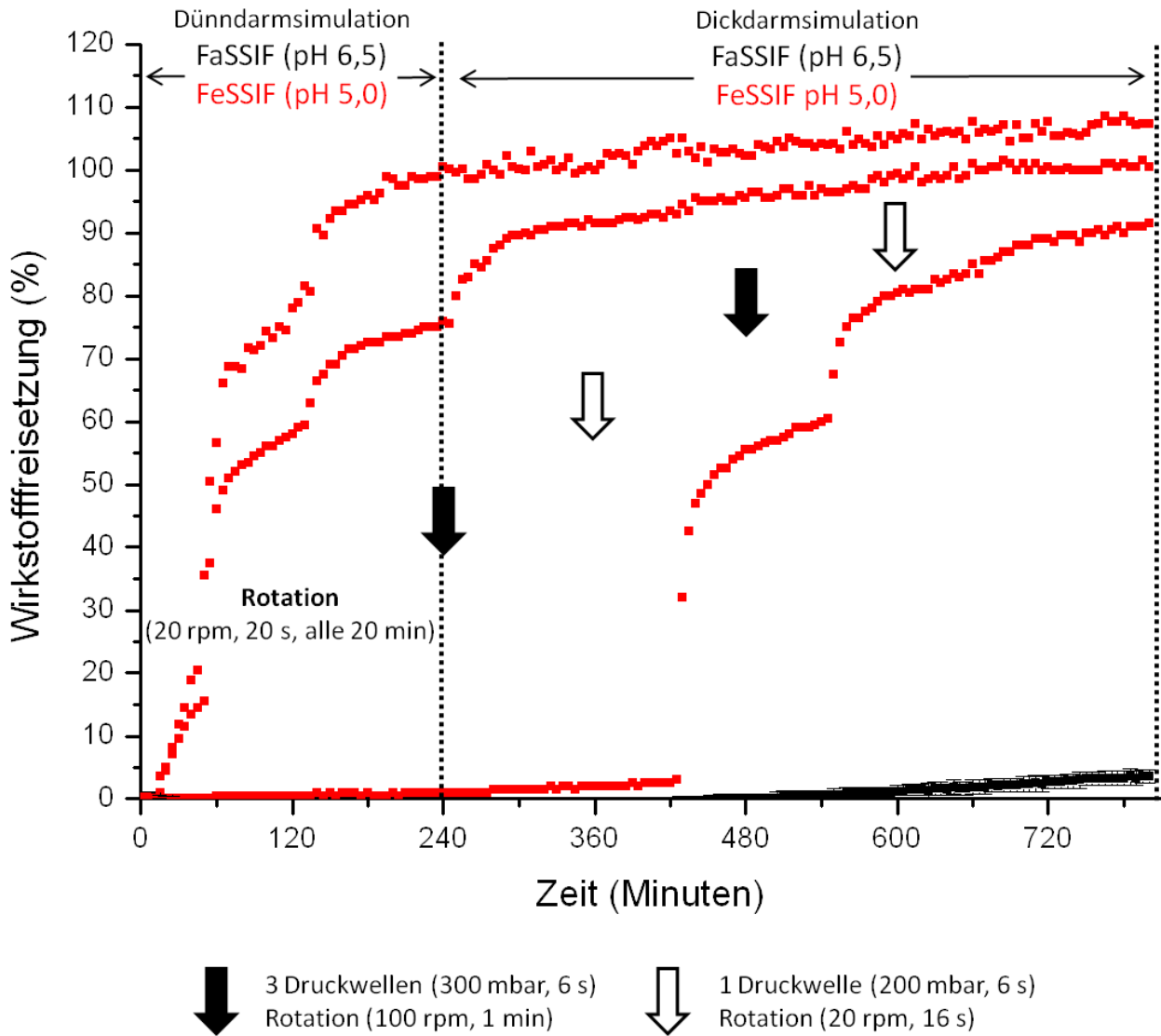


**Abbildung 4.66- Filmtabletten (MCC-Kerne) mit der Polymermischung aus Kollicoat® Smartseal und Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup>**

Oben: CMT ● (pH = 5,8)  
 Mitte: CMT ▲ (pH = 6,0)  
 Unten: CMT ■ (pH = 6,1)

Im biorelevanten Freisetzungssystem erwiesen sich diese Filmtabletten als äußerst stabil in FaSSIF. Sie setzten im Zeitraum von 12 Stunden lediglich 4 % des Wirkstoffes frei. Lediglich in FeSSIF kam es nach kurzer Zeit zum *dose dumping* von zwei der drei untersuchten Filmtabletten (siehe Abbildung 4.67). Die dritte Filmtablette platzte nach etwa





**Abbildung 4.67 - Wirkstofffreisetzung von Filmtabletten (MCC-Kerne) mit der Polymermischung aus Kollicoat® Smartseal und Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup> (n = 3)**

430 Minuten im Dickdarmmilieu auf. Wie bereits unter 4.8.3 beschrieben ist für retardierte Filmtabletten allerdings nur die Freisetzung in FaSSIF ausschlaggebend.

Um das Problem zu umgehen, dass der Polymerfilm zwar aufplatzt, aber der Wirkstoff nicht freigegeben werden kann, wurde die gleiche Überzugsdispersion auf Schmelztabletten aufgetragen. Die Wirkstofffreisetzung nach 205 – 215 Minuten lag hierbei unter 1 % in SIF-Puffer. Danach konnte im CMT kein klarer Trend zwischen Testmedium und Negativkontrolle festgestellt werden. Allein bei zwei Filmtabletten im Testmedium hoben sich die freigesetzten Mengen an Wirkstoff bei pH 6,0 nach 598 Minuten von den anderen Freisetzungswerten ab. Alle Filmtabletten im Testmedium

waren nach der Freisetzung aufgeplatzt. In der Negativkontrolle brachen drei von fünf Filmtabletten auf. Bei der durchgestrichenen Filmtablette in Abbildung 4.69 handelt es sich um ein Artefakt. In keiner der aufgebrochenen Filmtabletten ist ein Restkern zu erkennen. Das Herausschwemmen des Wirkstoffs nach dem Aufplatzen des Films hat also funktioniert. Allerdings konnte aufgrund des instabilen Filmverbandes kein Colon-Targeting erzielt werden (siehe Abbildung 4.68 und Abbildung 4.69).

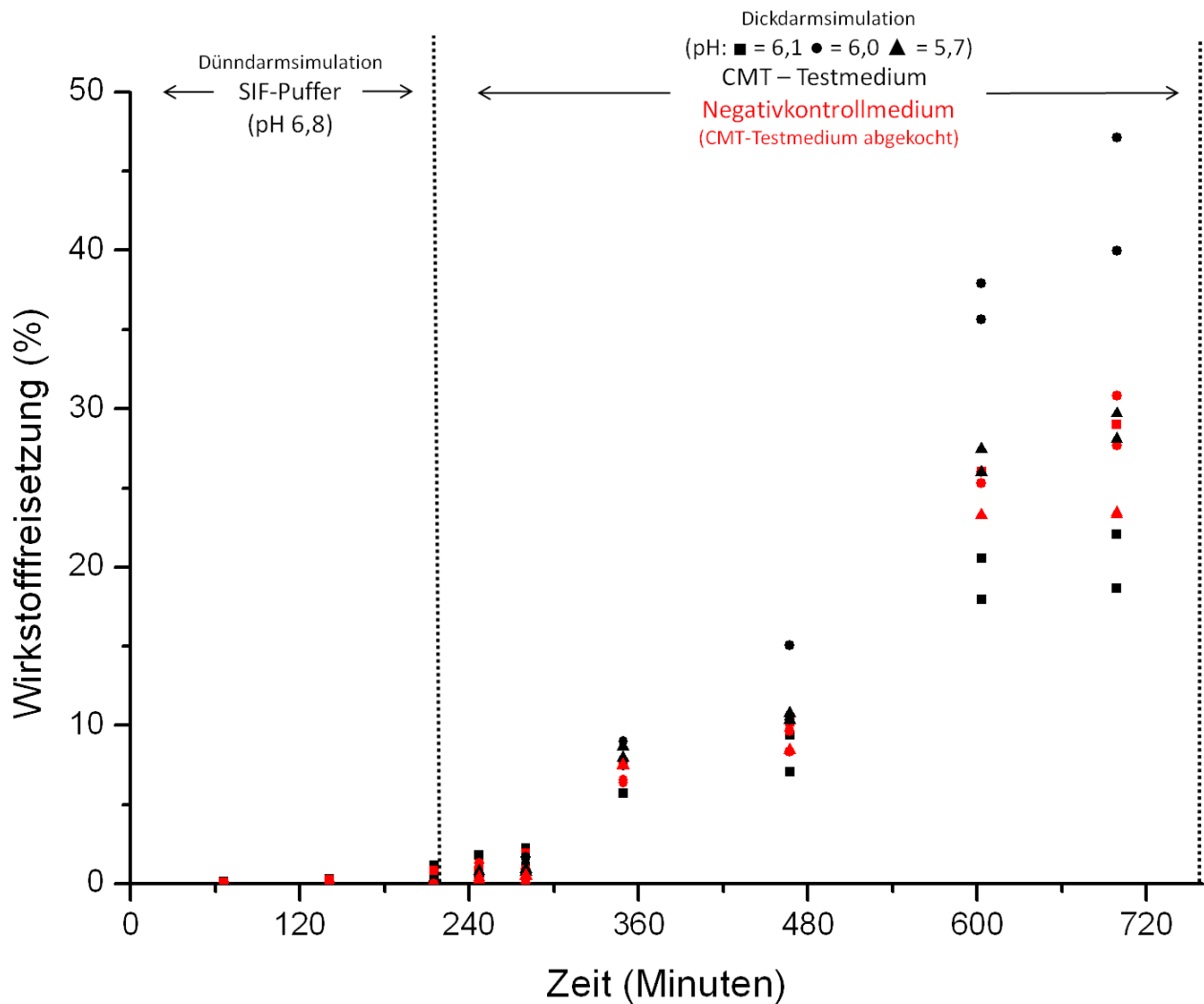


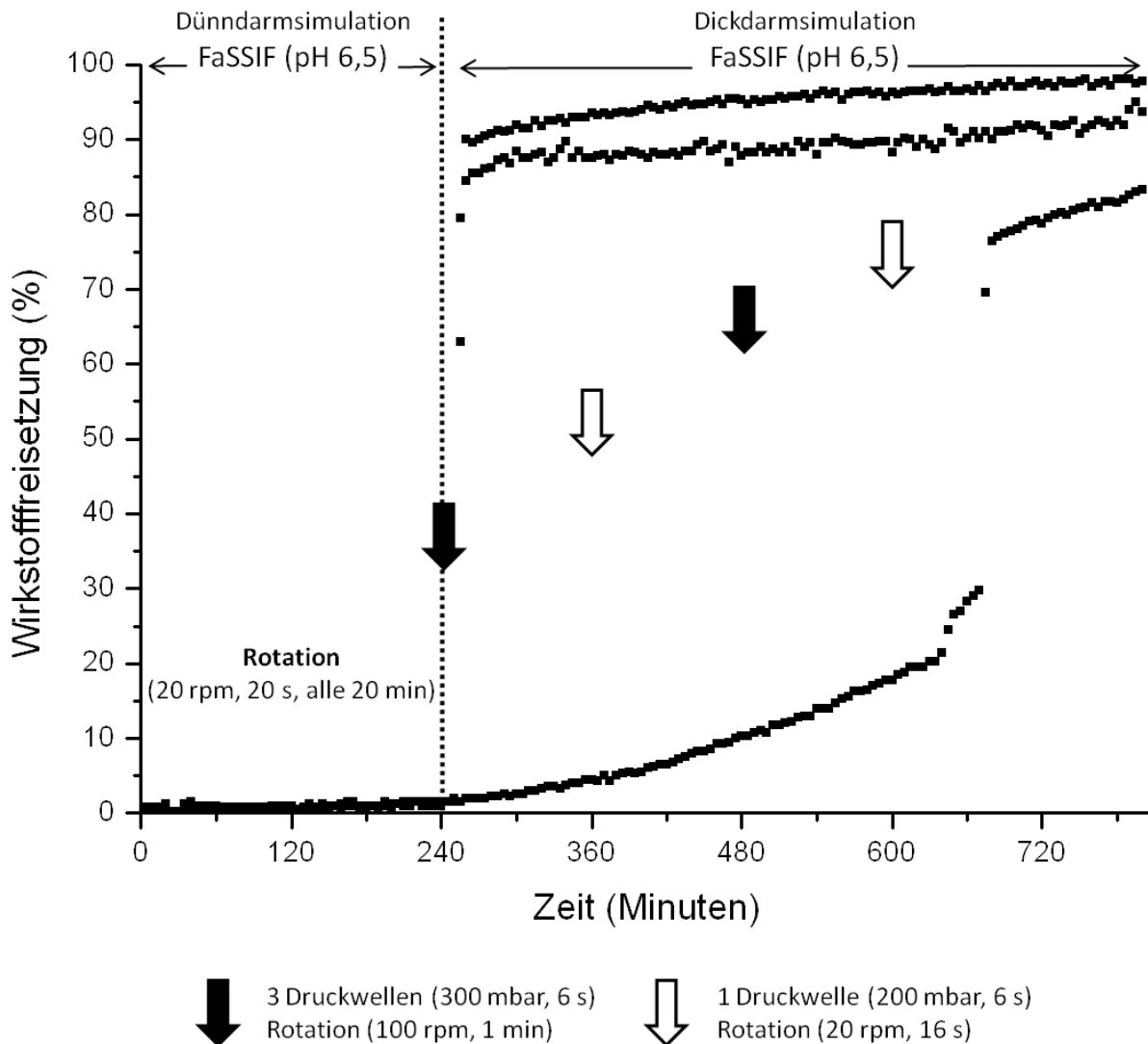
Abbildung 4.68 - Wirkstofffreisetzung von Filmtabletten (Schmelztabletten) mit der Polymermischung aus Kollicoat® Smartseal und Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup> im CMT (n = 3 x 2)



**Abbildung 4.69 - Filmtabletten (Schmelztabletten) mit der Polymermischung aus Kollicoat® Smartseal und Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup>**

Oben: CMT ▲ (pH = 5,7)  
Mitte: CMT ● (pH = 6,0)  
Unten: CMT ■ (pH = 6,1)

Wie eben gezeigt wurde, ist mit dieser Formulierung keine enzymatisch kontrollierte Wirkstofffreisetzung im Dickdarm möglich. Allerdings konnte im biorelevanten Freisetzungssystem gezeigt werden, dass mit dieser Polymermischung überzogene Schmelztabletten ein druckkontrolliertes Colon-Targeting erzielen können. Bei der Simulation der Ileoazäkklappenpassage platzten zwei von drei Filmtabletten auf und setzten den Wirkstoff schlagartig frei. Die dritte Filmtablette blieb zwar beim Übergang in das Dickdarmmilieu zuerst stabil, platzte aber nach erneut auftretenden Druckwellen nach etwa 11 Stunden auf und setzte dann ebenfalls den Wirkstoff sehr rasch frei (siehe Abbildung 4.70). In der Literatur wird von der drucksensitiven PCDC Kapsel berichtet. Diese bereits unter 1.3.2.4 beschriebene Formulierung ist komplexer aufgebaut und ermöglichte auch *in vivo* eine dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung (Muraoka *et al.* 1998).



**Abbildung 4.70 - Wirkstofffreisetzung von Filmtabletten (Schmelztabletten) mit der Polymermischung aus Kollicoat® Smartseal und Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup> (n = 3)**

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass einige grundlegende Ansätze zur dickdarm-spezifischen Wirkstofffreisetzung mit niedriger Wirkstoffabgabe im Dünndarm (2 – 7 %) entwickelt werden konnten.

MCC-Kerne mit einer partiellen EuRS-Schicht und Chitosan VLMW erwiesen sich, aufgrund zu geringer Filmstabilität, als nicht geeignet. Wurde stattdessen Chitosan HMW eingesetzt, waren die Filmtabletten aus dem Negativkontrollmedium nach der Freisetzung noch intakt, während die aus dem Testmedium aufgeplatzt waren. Dieser Colon-Targeting Effekt konnte allerdings aufgrund der schwachen Simulation der Scherbewegungen in der CMT-Apparatur, nicht im Freisetzungsprofil bestätigt werden.

Aufgetragene Polymermischungen auf MCC-Kerne waren allesamt im biorelevanten Freisetzungssystem für über 13 Stunden stabil (in FaSSIF). Im CMT platzten alle Filmtabletten im Testmedium auf. Im Freisetzungsprofil stiegen die Freisetzungswerte für vier von sechs Tabletten steil an, während zwei aus o. g. Grund keine gesteigerte Wirkstoffabgabe zeigten. Vermutlich pH-bedingt platzten auch vier Tabletten im Negativkontrollmedium auf, ohne einen Anstieg in der Wirkstofffreisetzung zu zeigen. Die Verwendung von Polymermischungen (75 % Kollicoat® Smartseal und 25 % Chitosan HMW) scheint sehr vielversprechend für eine dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung zu sein.

Wurde die gleiche Polymermischung auf Schmelztabletten aufgetragen, platzten all diese Filmtabletten im CMT auf. Die Hypothese, dass der Wirkstoff nach Aufplatzen der überzogenen Schmelztabletten, ohne zurückbleiben eines pastösen Kernes, sehr rasch heraus geschwemmt wird, konnte bestätigt werden. Diese Filmtabletten konnten zwar keine enzymatisch-kontrollierte Wirkstofffreisetzung erzielen, bei Untersuchungen in der biorelevanten Wirkstofffreisetzungssystem (in FaSSIF) konnte allerdings eine druckkontrollierte Freisetzung erreicht werden. Bei der Simulation der Ileozäkalklappenpassage bzw. getriggert durch die im Dickdarm herrschenden Druckwellen setzten diese Filmtabletten den Wirkstoff sehr rasch frei.

In einem letzten Schritt wurde getestet, ob mit Chitosan HMW und einem zusätzlichem magensaftresistenten Film überzogene Tabletten den kompletten GIT durchlaufen und den Wirkstoff spezifisch im Dickdarm freisetzen können. Diese Filmtabletten erwiesen sich bisher als am besten geeignet zur spezifischen Freisetzung durch enzymatischen Abbau im Dickdarm.

#### 4.8.5 Filmdableten mit Chitosan und zusätzlichem MSR - Überzug

Reine Chitosan Aufträge auf MCC-Kerne erreichten die besten Ergebnisse für die enzymatisch kontrollierte dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung. Da Chitosan LMW nicht mehr mit exakt dieser Spezifikation im Handel zu erwerben war (nur noch die VLMW Variante), wurde die HMW Variante verwendet. Es wurde eine zusätzliche HPMC (2 mg/cm<sup>2</sup>) und Eudragit<sup>®</sup> L 30 D-55 Schicht (5 mg/cm<sup>2</sup>) auf Chitosan HMW (5 mg/cm<sup>2</sup>) überzogene Filmdableten aufgetragen. Der magensaftresistente Filmüberzug, in Kombination mit der HPMC Isolierschicht kann, wie bereits unter 4.6.4 beschrieben, den Chitosanfilm vor dem Auflösen im sauren Milieu bewahren.

Im nächsten Schritt wurde die Stabilität dieser Filmdableten im biorelevanten Freisetzungssystem untersucht. In *SGF* wurden nur 1 – 2 % Wirkstoff freigesetzt. Nach dem Medienwechsel zur Simulation des Dünndarms wurden nach 300 Minuten 11,7 ± 3,9 % (Phosphatpuffer pH 6,8), 3,5 ± 1,5 % (FeSSIF) und 18,7 ± 1,1 % (FaSSIF) freigesetzt. Die Filmdableten blieben im simulierten Dickdarmmilieu, bei immer wieder auftretenden Rotationen und Druckimpulsen, für über 12 h intakt. Die  $WSF_{12h}$ -Werte lagen bei 30,2 ± 8,2 % (Phosphatpuffer pH 6,8), 2,9 ± 1,7 % (FeSSIF) und 47,0 ± 1,6 % (FaSSIF) (siehe Abbildung 4.71). Die sehr niedrigen Werte für das Medium FeSSIF sind darin begründet, dass der magensaftresistente Filmüberzug sich über den kompletten Freisetzungszeitraum nicht auflöste und dass aufgrund des niedrigen pH-Wertes keine sink-Bedingungen für den Wirkstoff Diclofenac vorlagen. Die Werte für die Freisetzung in Phosphatpuffer (pH 6,5) mit/ohne Tween 80-Zusatz (0,1 %) waren nicht signifikant verschieden zu den Werten in Phosphatpuffer pH 6,8 (nicht dargestellt).

Abbildung 4.72 zeigt die Aufnahmen der Filmdableten nach der Freisetzung in diversen Freisetzungsmidien. In Phosphatpuffer (pH 6,5) mit Tween 80 waren die Filmdableten teilweise in sich zusammengefallen, ohne aufzuplatzen. In allen anderen Freisetzungsmidien waren die Filmdableten stark aufgequollen.

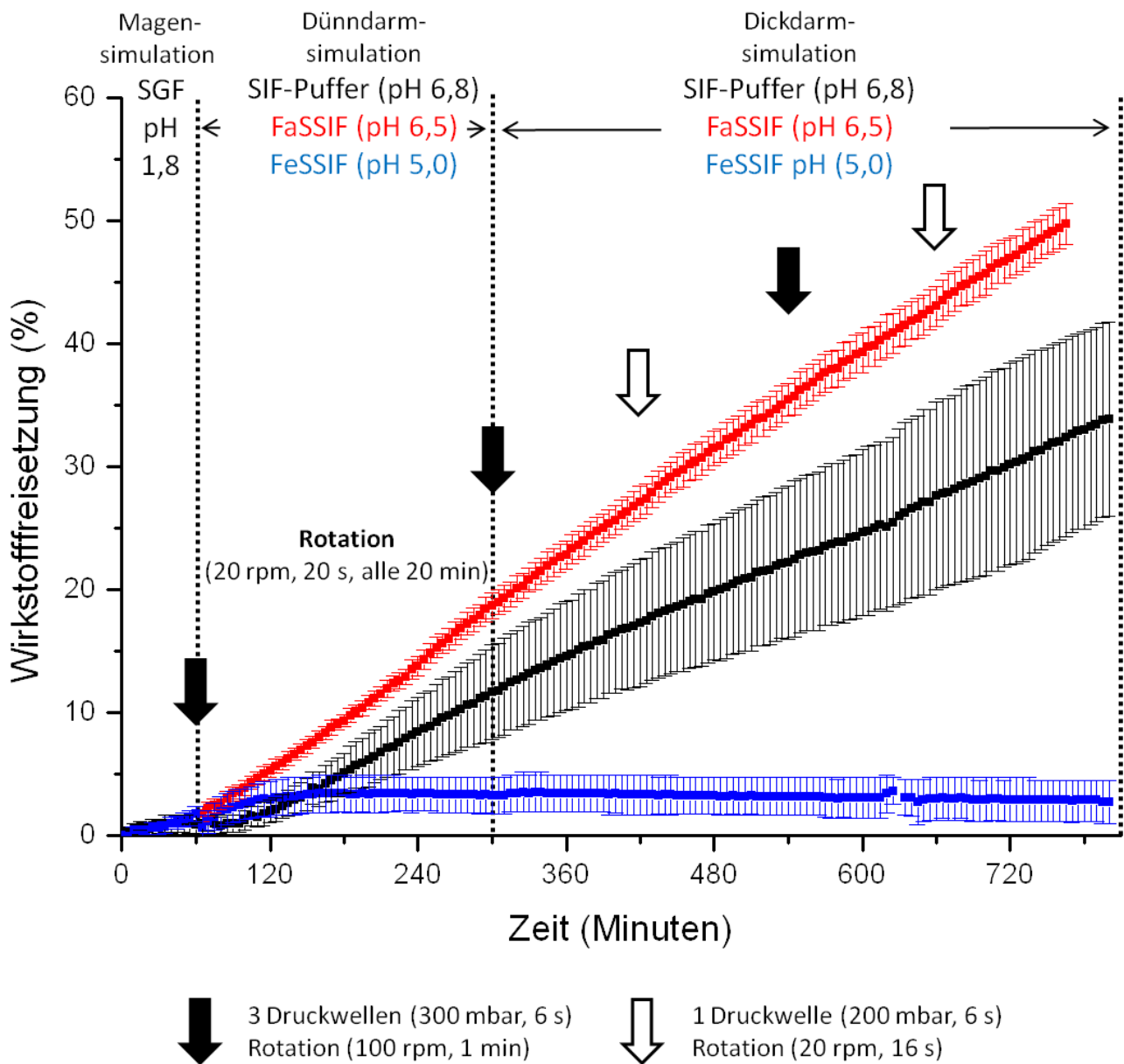
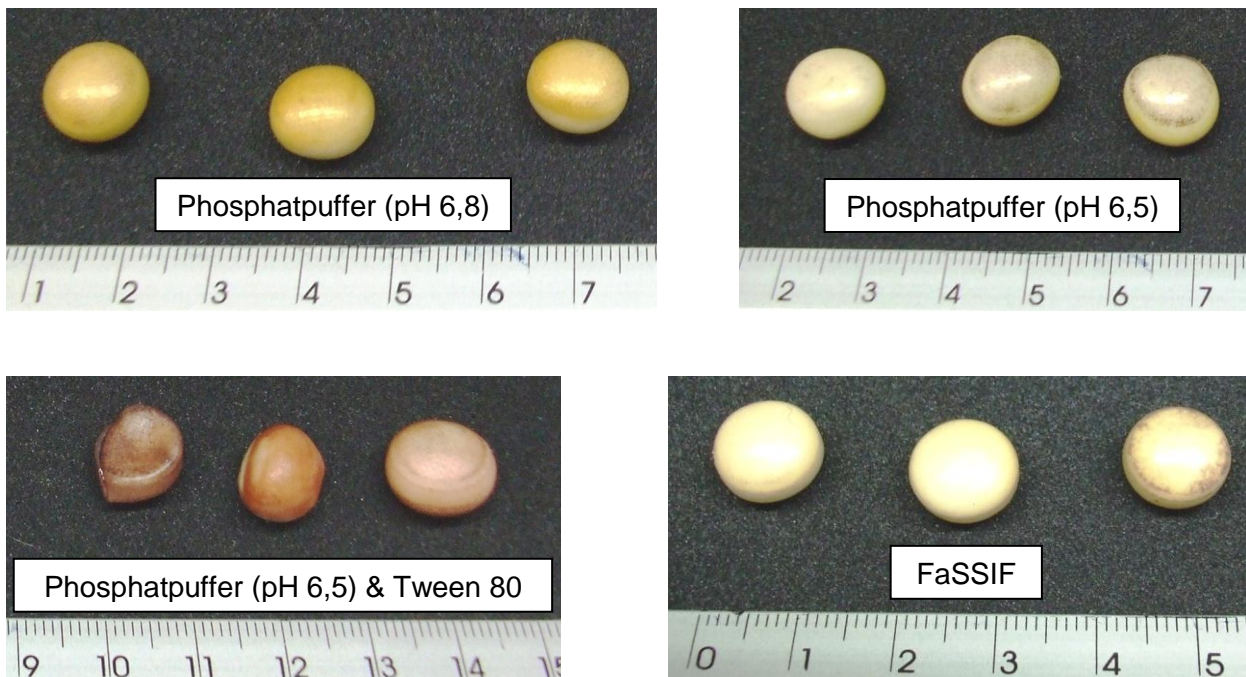


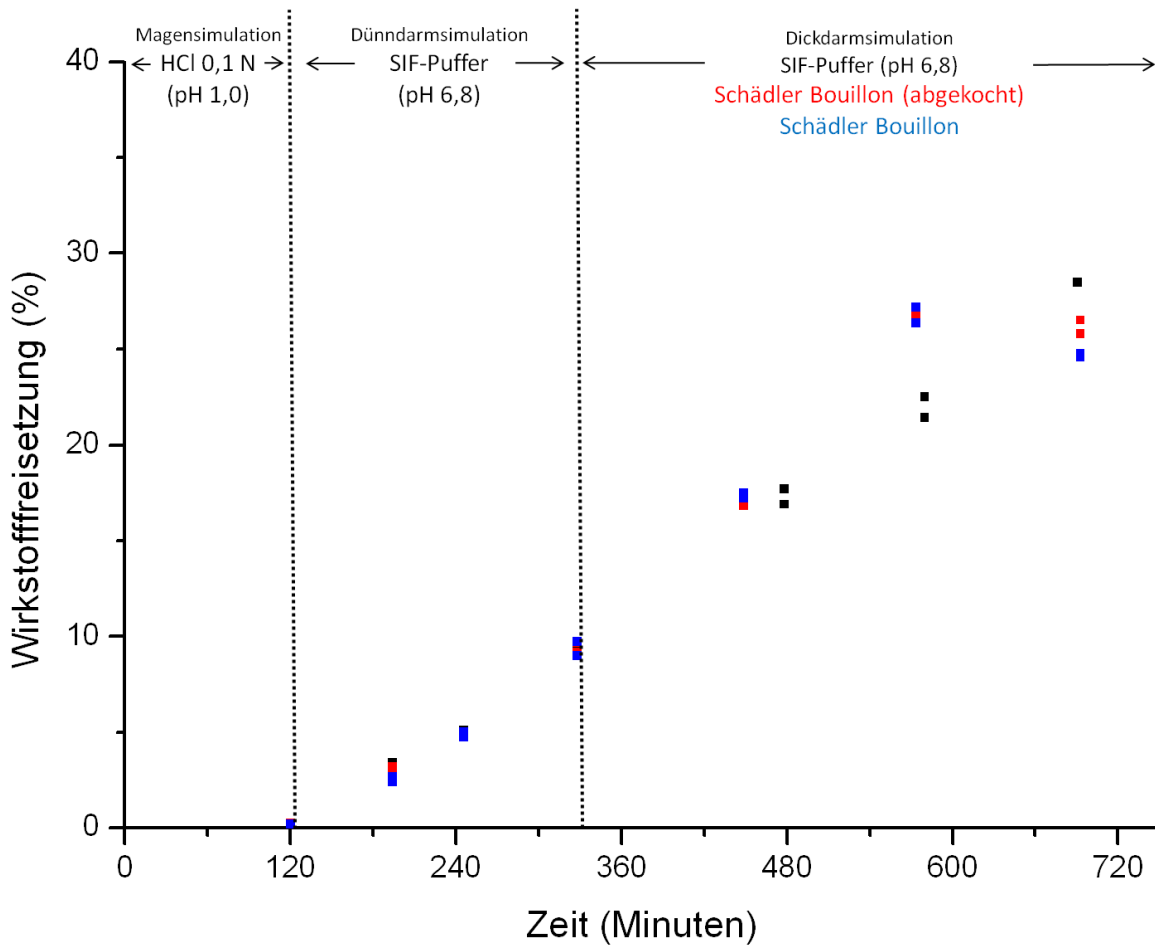
Abbildung 4.71 - Wirkstofffreisetzung von Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup> & HPMC 2 mg/cm<sup>2</sup> & Eudragit L 30 D-55 5 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten in der biorelevanten WSF-Apparatur ( $n_{\text{Phosphatpuffer}}=4$ ,  $n_{\text{FaSSiF}}=5$  und  $n_{\text{FeSSiF}}=3$ )



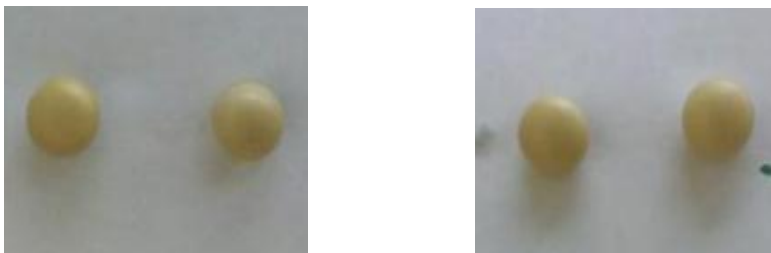
**Abbildung 4.72 - Chitosan  $5 \text{ mg/cm}^2$  & HPMC  $2 \text{ mg/cm}^2$  & Eudragit L 30 D-55  $5 \text{ mg/cm}^2$  Filmtabletten nach der Freisetzung in der biorelevanten WSF-Apparatur in diversen Medien**

Nachdem die Unversehrtheit der Filmtabletten in FaSSIF gezeigt werden konnte, wurde untersucht, wie sich diese FTA in der CMT-Apparatur verhalten, wenn reine Schädler Bouillon als Freisetzungsmittel verwendet wird. Ein Teil des Mediums wurde entsprechend des Negativkontrollmediums abgekocht ( $100 \text{ }^\circ\text{C}$ , 15 Minuten), der pH-Wert veränderte sich dabei nicht. Die Wirkstofffreisetzung war in beiden Freisetzungsmitteln (abgekocht bzw. nicht abgekocht) nicht signifikant von der in Phosphatpuffer (pH 6,8) verschieden. Somit konnte gezeigt werden, dass reine Schädler Bouillon nicht für den Abbau der Filmtabletten verantwortlich ist. Alle Filmtabletten waren nach 12 h noch immer intakt (siehe Abbildung 4.73 und Abbildung 4.74).





**Abbildung 4.73 - Wirkstofffreisetzung von Chitosan HMW (5 mg/cm<sup>2</sup>) & HPMC (2 mg/cm<sup>2</sup>) & Eudragit<sup>®</sup> L 30 D-55 (5 mg/cm<sup>2</sup>) Filmtabletten im CMT – reine Schädler Bouillon (n = 2)**



**Abbildung 4.74 - Chitosan HMW (5 mg/cm<sup>2</sup>) & HPMC (2 mg/cm<sup>2</sup>) & Eudragit L 30 D-55 (5 mg/cm<sup>2</sup>) Filmtabletten**

Links: FTA aus SB-Medium

Rechts: FTA aus abgekochtem SB-Medium

Zur Testung, ob diese Filmtabletten nach der simulierten Magenpassage (HCl 0,1 N) und Dünndarmpassage (SIF-Puffer) enzymatisch abbaubar sind, wurde der CMT verwendet. Nachdem innerhalb von 2 h in HCl (0,1 N) keine Wirkstofffreisetzung gemessen werden

konnte, wurden nach 305 – 317 Minuten in SIF-Puffer 9 – 10 % Wirkstoff freigesetzt. Im CMT kam es bei einem pH-Wert von 5,9 nach 562 - 785 Minuten zum ersten Mal zu einem steilen Anstieg in der Wirkstofffreisetzung. Die restlichen Freisetzungswerte unterscheiden sich kaum untereinander. Betrachtet man allerdings die Filmtabletten nach der Freisetzung, ist erkennbar, dass alle Filmtabletten nach der Freisetzung im Testmedium aufgeplatzt bzw. aufgelöst waren. Dies deutet auf eine dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung hin. Der Wirkstoff ist jedoch abermals bei drei Filmtabletten im noch bestehenden Tablettenkern gebunden. Wirkt also kein physikalischer Stress auf die Tablette, der den pastösen Tablettenkern mitsamt dem enthaltenen Wirkstoff aus den angerissenen Filmverband herausquetscht, scheint neben dem enzymatischen Abbau auch ein pH-Wert < 6,2 notwendig zu sein, um die Wirkstofffreisetzung zu erreichen. Alle Filmtabletten im Negativkontrollmedium waren nach der Freisetzung noch immer stabil (siehe Abbildung 4.75 und Abbildung 4.76).

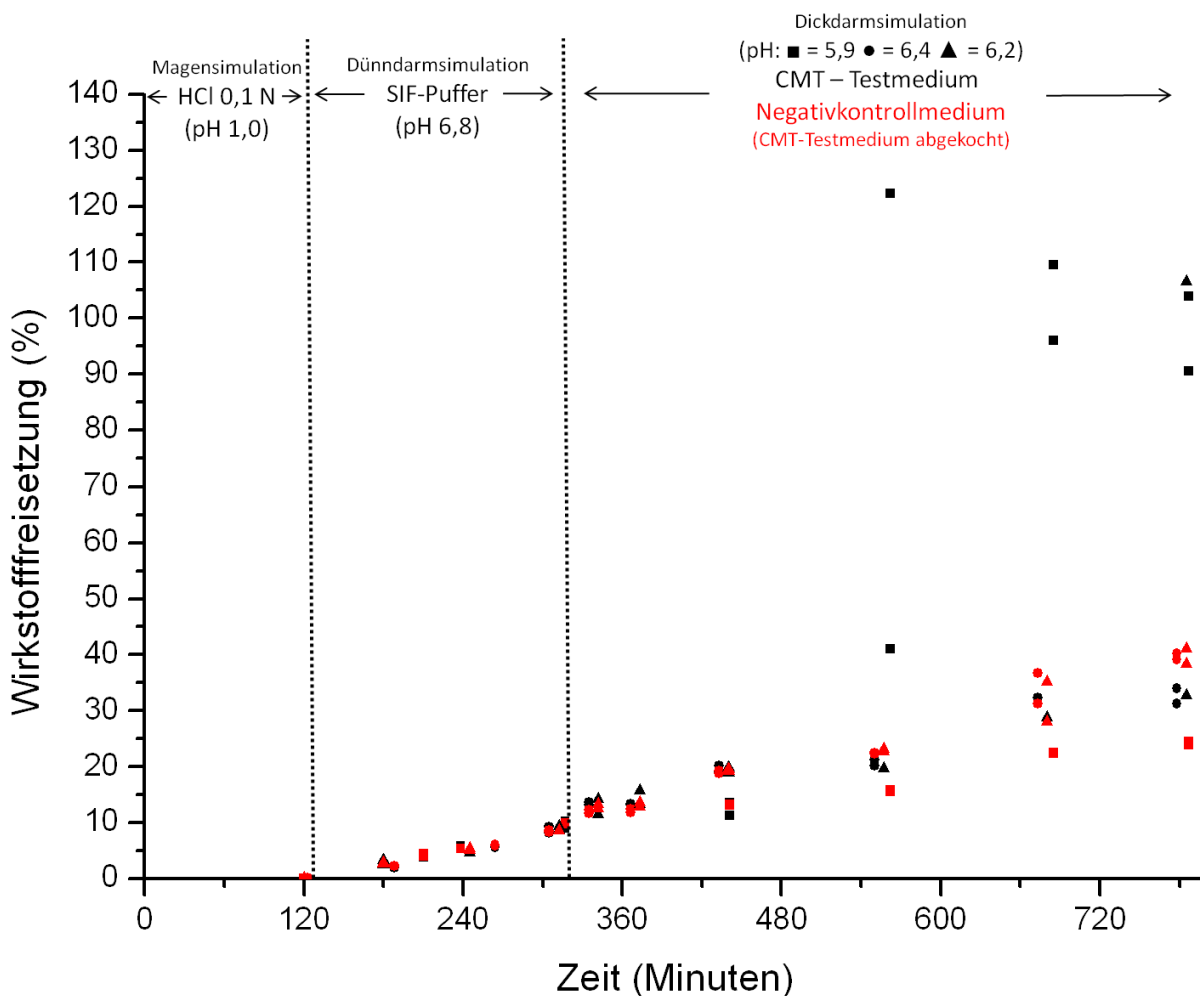
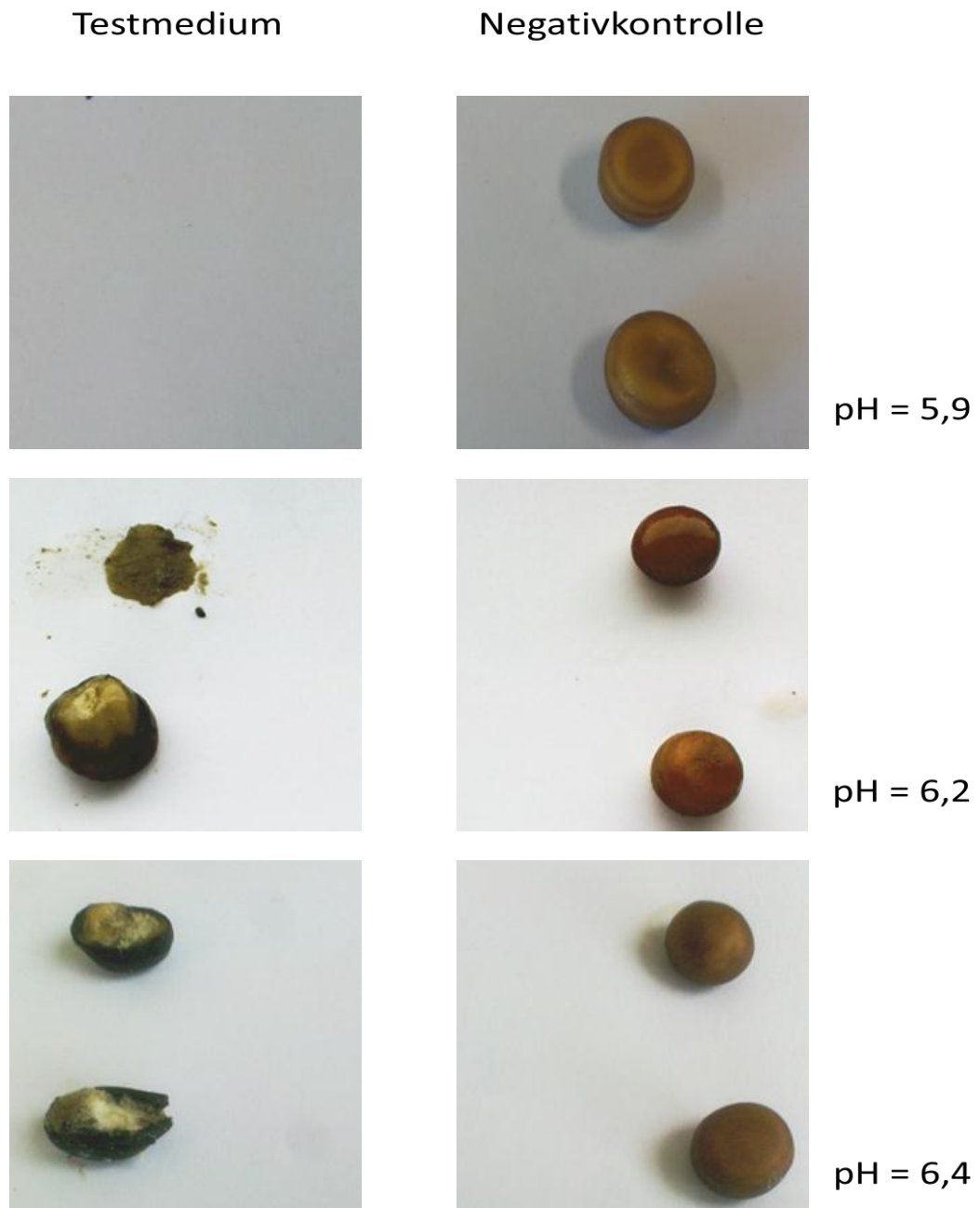


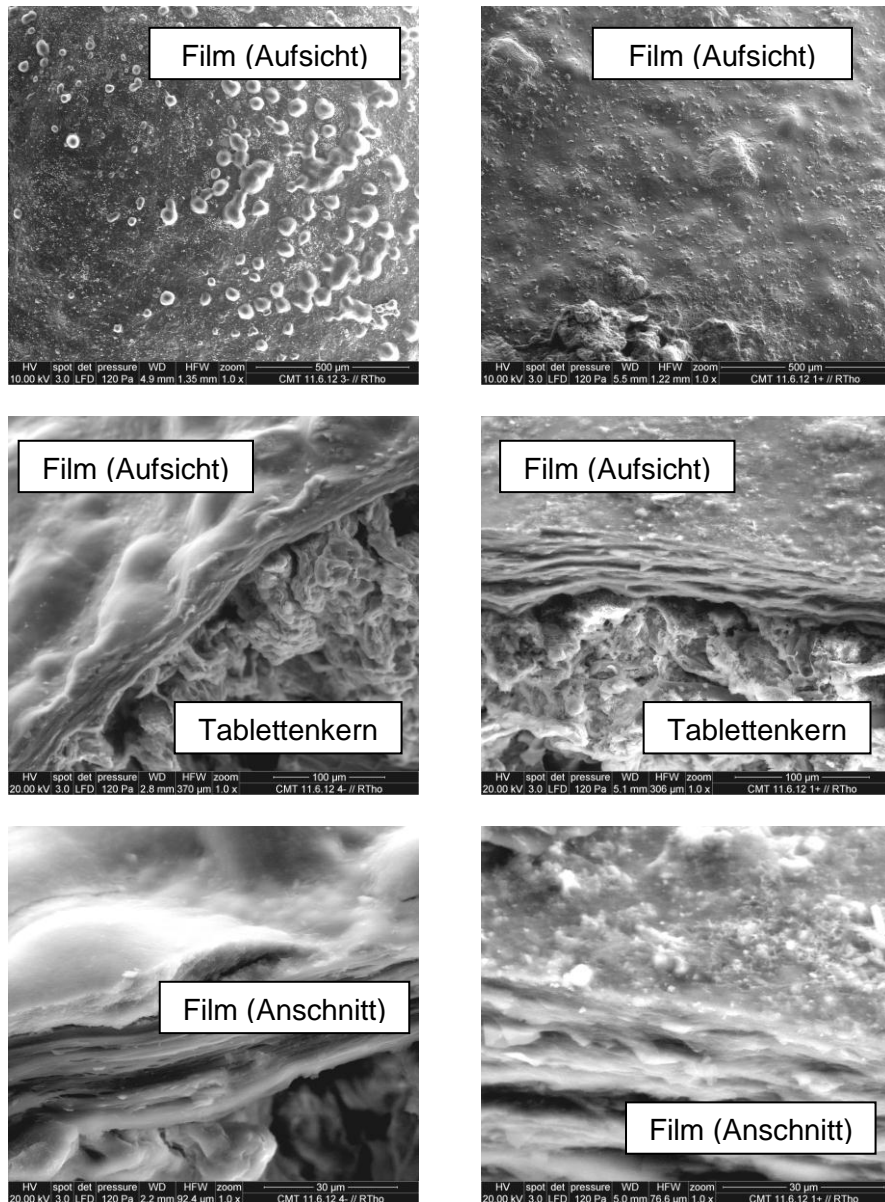
Abbildung 4.75 - Wirkstofffreisetzung von Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup> & HPMC 2 mg/cm<sup>2</sup> & Eudragit L 30 D-55 5 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten im CMT (n = 3 x 2)



**Abbildung 4.76 - Chitosan HMW 5 mg/cm<sup>2</sup> & HPMC 2 mg/cm<sup>2</sup> & Eudragit L 30 D-55 5 mg/cm<sup>2</sup> Filmtabletten**

Oben: CMT ■ (pH = 5,9)  
 Mitte: CMT ▲ (pH = 6,2)  
 Unten: CMT ● (pH = 6,4)

Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Filmtabletten aus dem CMT Versuch bei pH 6,4 (●) sind in Abbildung 4.77 dargestellt. Es kann kein Unterschied zwischen den Aussehen der Filmtabletten aus Testmedium und Kontrollmedium erkannt werden.



**Abbildung 4.77 – REM-Aufnahmen von Chitosan  $5 \text{ mg/cm}^2$  & HPMC  $2 \text{ mg/cm}^2$  & Eudragit L 30 D-55  $5 \text{ mg/cm}^2$  Filmtabletten nach der Freisetzung in der CMT-Apparatur**

Links: FTA aus dem Negativkontrollmedium  
 Rechts: FTA aus dem Testmedium  
 Oben u. mitte: FTA in der Aufsicht  
 Unten: FTA im Anschnitt

Abschließend kann festgestellt werden, dass Filmtabletten bestehend aus den Schichten Chitosan, HPMC und Eudragit<sup>®</sup> L für die dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung geeignet sind. Die Fotos aus Abbildung 4.76 beweisen dies deutlich. Es kann auch davon ausgegangen werden, dass die Filmtabletten, die aufgrund des pastösen Kernrückstandes keinen targeting Effekt in der Freisetzung zeigten, unter den physiologischen Druckverhältnissen im GIT den Wirkstoff dickdarmspezifisch freisetzen können.

## 5 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit bietet grundlegende Ansätze zur Realisation der dickdarm-spezifischen Wirkstofffreisetzung. Mittels handelsüblicher Methoden wurden Filmtabletten entwickelt, die leicht in größeren Chargen produziert werden können. Durch die Verwendung von ausschließlich monographierten bzw. im Handel erwerblichen Hilfsstoffen ist die toxikologische Bedenklichkeit als sehr gering einzustufen.

Die Einsatzbereiche für eine verzögerte Wirkstoffabgabe im Colon sind vielfältig. Hervorzuheben sind die perorale Applikation von Protein-/ Peptidarzneistoffen und die lokale Behandlung des Dickdarms bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und Dickdarmkrebs. Hierbei können die applizierte Dosis und damit auch die oft starken Nebenwirkungen der eingesetzten Wirkstoffe reduziert werden.

Zur Erzielung des Colon-Targetings wurden zahlreiche Arzneiformen entwickelt, die versuchen, die physiologischen Gegebenheiten des Gastrointestinaltraktes (GIT) auszunutzen. Beim zeitkontrollierten Ansatz ist es die relativ konstante Magen- und Dünndarmpassagezeit von Pellets (3 – 5 h) und Tabletten (5 – 7 h). Bei dem pH - kontrollierten Ansatz gibt es zwei Möglichkeiten. Manche Arbeitsgruppen versuchten den sehr niedrigen pH-Wert im Blinddarm, andere die sehr hohen pH-Werte im distalen Colon, jeweils im Vergleich zu den Bedingungen im Dünndarm, zu nutzen. Elektronisch gesteuerte Kapseln wurden entwickelt, die Zeit- bzw. pH-abhängig die Lage im GIT lokalisieren können und den Wirkstoff freigeben. Drucksensitive Formulierungen sollen erst bei den für den GIT sehr hohen intraluminalen Drücken des Dickdarms aufplatzen. Letztendlich wurde versucht den starken Anstieg von enzymsezernierenden Bakterien im Dickdarm auszunutzen. Nach der Ileozäkalklappe steigt die Bakterienzahl abrupt von  $10^3$  KBE/g auf bis zu  $10^{11}$  KBE/g an. Die sezernierten Enzyme können Polymerketten kürzen, wodurch Arzneiformen wie Matrices oder Filmtabletten den Zusammenhalt verlieren und schlagartig den Wirkstoff freisetzen.

Ein guter Ansatz besteht in der Herstellung von Kapseln, deren Wandmaterial aus Chitosan besteht. Diese konnten bereits gute *in vivo* Ergebnisse aufweisen. *In vitro* setzten diese etwa 20 % des Wirkstoffes in dem simulierten Magen- und Dünndarmmilieu

frei. Eine vollständige Wirkstofffreisetzung konnte nach 4 Stunden im Dickdarmmilieu gemessen werden (Tozaki et al. 1997).

Problematisch anzusehen ist allerdings, dass diese Kapseln nicht ohne weiteres in jedem Labor im großen Maßstab hergestellt werden können, die Stabilität der Kapseln nicht in einer biorelevanten Freisetzungsvorrichtung getestet wurde, die hohe vorzeitige Wirkstofffreisetzung (20%) und die Zeit für die dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung (4 h) verbesserungsfähig bleiben. Ein Patent beschreibt die Herstellung von Filmtabletten mit einem Chitosancoating. Allerdings findet man in diesem kaum detaillierte Beschreibungen zum besseren Verständnis der Formulierung (Sekigawa & Yoshiro 1991). Eine Beschreibung derartiger Filmtabletten findet sich ebenfalls in der Literatur. Jedoch besitzen diese Tabletten ein Subcoating aus Celluloseacetatphtalat und erzielen kein Colon-Targeting (Park et al. 2002). Wahrscheinlich ist dies darin begründet, dass die verwendete Dipping-Methode keine ausreichend dünnen und gleichmäßigen Polymerüberzüge auf den Tabletten gewährleistet.

In dieser Arbeit wurden diverse Lösungen aus Chitosan charakterisiert. Dünne und homogene Filme konnten in der Luftgleitschicht (INNOJET Aircoater 025) auf Tablettenkerne aufgetragen werden. Verwendet man Chitosan mit einem Deacetylierungsgrad von etwa 95 %, erhält man ab Kettenlängen mit  $M_n = 107.600$  g/mol bzw.  $M_w = 402.800$  g/mol sehr stabile Filmtabletten. Ein Aufbrechen des Filmverbandes im Dickdarm wird erreicht, wenn die einheitliche Kettenlänge den Wert von  $M_n = 57.300$  g/mol bzw.  $M_w = 133.800$  g/mol unterschreitet. Abhängig von der applizierten Menge Polymer setzen die Tabletten im Dünndarmmilieu nach drei Stunden etwa 10 – 15 % Wirkstoff frei. Solange die Mindestkettenlänge (s. o.) verwendet wird, hat die Kettenlänge keinen weiteren Einfluss auf die vorzeitige Wirkstofffreisetzung. Die Filmtabletten hielten in Stabilitätsuntersuchungen, nach Quellung in FaSSIF/FeSSIF (4 h), einem Druck von bis zu 10 N stand. Im biorelevanten Freisetzungssystem (FaSSIF) waren diese Filmtabletten für über 13 Stunden stabil. Im Colon-Mikroflora-Test (CMT) setzten die verwendeten Filmtabletten nach nur 2 – 4 Stunden im Dickdarmmilieu den Wirkstoff frei.

Da Chitosan im Sauren löslich ist, muss ein zusätzlicher magensaftresistenter Film auf die Tabletten aufgetragen werden. Es konnte gezeigt werden, dass bei der Verwendung von Eudragit® L 30 D-55 eine zusätzliche HPMC Isolierschicht nötig ist. Fehlt diese Zwischenschicht, platzen die Filmtabletten nach kurzer Zeit im Dünndarmmilieu auf.

Die dreifach beschichteten Filmtabletten (Chitoan HMW, HPMC, Eudragit® L 30 D-55) sind ebenfalls stabil in der biorelevanten Wirkstofffreisetzungsvorrichtung. In *SGF* wurden nur 1 – 2 % Wirkstoff freigesetzt. Im Dünndarmmilieu wurden Werte von  $11,7 \pm 3,9$  % (Phosphatpuffer pH 6,8),  $3,5 \pm 1,5$  % (*FeSSIF*) und  $18,7 \pm 1,1$  % (*FaSSIF*) nach 5 Stunden bestimmt. Relevant scheint hierbei vor allem der Wert für *FaSSIF* zu sein, da die Filmtabletten größenbedingt den Magen nur durch die im nüchternen Zustand auftretenden housekeeperwaves verlassen können.

Durch die Einführung einer partiellen Eudragit® RS Isolierschicht unter den Chitosanfilm konnte die vorzeitige Wirkstofffreisetzung auf etwa die Hälfte ( $WSF_{3h}$  - Wert 7%) gesenkt werden. Nach der Testung im CMT waren die Filmtabletten aus dem Testmedium aufgebrochen, die aus dem Negativkontrollmedium waren noch immer intakt. Allerdings zeigte sich das Problem, dass ein pastöser Tablettenkern im restlichen Filmverband zurückbleibt. Dieser wird in der Blattrührerapparatur aufgrund der schlechten Simulation der GIT-Stressbedingungen nicht heraus geschwemmt (Bauer-Brandl & Ritschel 2012). Der verwendete Füllstoff Avicel® wurde für die relativ schlechte Löslichkeit des Kernes im Filmverband verantwortlich gemacht.

Um dieses Problem zu lösen, wurden Schmelztabletten verpresst. Aufgrund der sehr gut löslichen Hilfsstoffe bildete sich in der Wirkstofffreisetzung bereits nach kurzer Zeit eine Lösung innerhalb des Filmverbandes. Platzt diese Filmtablette auf, kann eine sehr schnelle Wirkstoffabgabe erreicht werden.

Um die vorzeitige Wirkstofffreisetzung aus Tabletten bzw. Pellets mit Chitosan zu reduzieren, stellten Forschungsgruppen Mischungen mit Kollicoat® SR her. Coatings mit dieser Mischung in diversen Verhältnissen konnte allerdings kein Colon-Targeting erzielen. Die Wirkstofffreisetzung stieg im simulierten Dickdarmmilieu kaum an (Fan *et al.* 2009, Wei *et al.* 2010).

In der hier vorliegenden Arbeit wurden Polymermischungen von dem kationischen Polymethacrylat Kollicoat® Smartseal 30 D mit Chitosan HMW auf MCC-Kerne und Schmelztabletten aufgetragen. Mit steigendem Anteil des Polymethacrylats und erhöhter Auftragsmenge reduzierten sich die Quellung und die vorzeitige Wirkstofffreisetzung dieser Tabletten. Ein Auftrag von  $5 \text{ mg/cm}^2$  auf MCC-Kerne bzw. Schmelztabletten erzielte  $WSF_{3h}$  - Werte von nur noch 2 % in SIF - Puffer.

Unter Verwendung der MCC-Kerne waren die Filmtabletten im biorelevanten Freisetzungssystem über 13 h stabil. Im CMT wurden lediglich 0,4 % Wirkstoff nach 204 - 239 Minuten in SIF-Puffer freigesetzt. Aufnahmen zeigten, dass alle Filmtabletten im Freisetzungsmedium aufgebrochen waren. Allerdings trat dies auch teilweise im Negativkontrollmedium auf.

Trug man 5 mg/cm<sup>2</sup> der Polymermischung Chitosan HMW und Kollicoat<sup>®</sup> Smartseal 30 D im Verhältnis 25:75 auf Schmelztabletten auf, konnte kein eindeutiger Trend in der Wirkstofffreisetzung im CMT gemessen werden. Äußerst vielversprechend war aber die Freisetzung dieser Filmtabletten in der biorelevanten Wirkstofffreisetzungsapparatur. In FaSSiF wurden lediglich 1 – 1,5 % des Arzneistoffs freigesetzt. Bei der Nachahmung der Druckverhältnisse an der Ileozäkalklappe setzten zwei Filmtabletten in weniger als 15 Minuten schlagartig den Wirkstoff frei. Eine dritte Filmtablette benötigte 3 weitere Druckwellen (Simulation der Dickdarmperistaltik), bevor sie ebenfalls abrupt den Wirkstoff freisetzte. Vergleichbar den publizierten PCDC Kapseln kann mit dieser Formulierung eine druckkontrollierte dickdarmspezifische Wirkstofffreisetzung erzielt werden (Muraoka *et al.* 1998).

Durch die Weiterentwicklung des CMT, die Einführung von neuen Wiederfindungsraten und einem optimierten Negativkontrollmedium, konnten die entwickelten Filmtabletten noch besser auf eine enzymatisch kontrollierte Dickdarmfreisetzung untersucht werden. Durch die zusätzliche Untersuchung der Filmtabletten an einer biorelevanten Freisetzungsapparatur konnte zudem gezeigt werden, dass diese den Stressbedingungen im GIT unter „*fasted conditions*“ standhalten können. Die Kombination dieser zwei Methoden zur Testung von Filmtabletten zur dickdarmspezifischen Wirkstofffreisetzung ist absolut neuartig und effizient für Screenings einsetzbar.

Die erzielten Ergebnisse *in vitro* könnten zukünftig in Tierversuchen und durch die visuelle Verfolgung der Arzneiform im GIT des Menschen durch  $\gamma$ -szintigraphische bzw. magnetische Techniken bestätigt werden (Wilding *et al.* 2001, Weitschies *et al.* 2010, Sowmya *et al.* 2012). Besonders erfolgsversprechend, bezüglich Stabilität, geringer vorzeitiger Wirkstofffreisetzung und einer zuverlässigen, sowie schnellen Wirkstofffreisetzung im Dickdarm stellen MCC-Kerne, überzogen mit Chitosan HMW (5 mg/cm<sup>2</sup>), HPMC (2 mg/cm<sup>2</sup>) und Eudragit<sup>®</sup> L 30 D-55 (5 mg/cm<sup>2</sup>), dar.



Die Erfolge in der Zerkleinerung der Chitosanpartikeln könnte zukünftig genutzt werden, um Pseudolatices herzustellen (Bueb 1993, Bauer *et al.* 2012). Falls hierdurch die Klebrigkeit der Coatingdispersion gesenkt werden kann, wäre auch das Überziehen von Pellets denkbar. Bisher ist das Auftragen von Chitosan, aufgrund der hohen Klebrigkeit von kolloidalen Chitosanlösungen kaum mit großer Ausbeute möglich (Cervera *et al.* 2004). Zudem könnten, bedingt durch niedrigere Viskositäten der Pseudolatices, der Filmüberzugsprozess beschleunigt und damit ökonomischer gestaltet werden.



## 6 Literaturverzeichnis

Aktories K., Förstermann U., Hofmann F., Starke K. (2005); *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*; Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH, München;

Amer S., Badawy W. (2005); *An integrated platform for bio-analysis and drug delivery*; Curr Pharm Biotechno; 6 (1): 57-64.

Arzneibuch-Kommentar *Wissenschaftliche Erläuterungen zum Arzneibuch*; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; Stuttgart.

Badley A.D., Camilleri M., O' Connor M.K. (1993); *Noninvasive measurement of human ascending colon volume*; Nucl Med Commun; 14 (6): 485-489.

Bauer-Brandl A., Ritschel W.A. (2012); *Die Tablette*; Editio Cantor; Aulendorf.

Bauer H., Frömming K., Führer C. (2012); *Pharmazeutische Technologie*; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; Stuttgart.

Bauer K.H. (1998); *Colon Delivery, Arzneistoffabgabe im Dickdarmbereich*; Moderne Arzneiformen (Müller, R. H., Hildebrand, G. E.);

Bigucci F., Luppi B., Musenga A., Zecchi V., Cerchiara T. (2008); *Chitosan salts coated with stearic acid as colon-specific delivery systems for vancomycin*; Drug Deliv; 15 (5): 289-293.

Binns J., Stevens H.N.E., McEwen J., Pritchard G., Brewer F.M., Clarke A., Johnson E.S., McMillan I. (1996); *The tolerability of multiple oral doses of Pulsincap(TM) capsules in healthy volunteers*; J Control Release; 38 (2-3): 151-158.

Bueb W. (1993); *Untersuchung und Charakterisierung eines neuen Überzugsverfahrens in Verbindung mit der Verarbeitung neuartiger, thermogelierbarer Überzugsmaterialien*; Dissertation, Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie, Universität Freiburg;

Cassilly D., Kantor S., Knight L.C., Maurer A.H., Fisher R.S., Semler J., Parkman H.P. (2008); *Gastric emptying of a non-digestible solid: assessment with simultaneous SmartPill pH and pressure capsule, antroduodenal manometry, gastric emptying scintigraphy*; Neurogastroent Motil; 20 (4): 311-319.

Cervera M.F., Heinamaki J., Rasanen E., Antikainen O., Nieto O.M., Colarte A.I., Yliruusi J. (2004); *Determination of tackiness of chitosan film-coated pellets exploiting minimum fluidization velocity*; Int J Pharm; 281 (1-2): 119-127.

Chen R.H., Hwa H.D. (1996); *Effect of molecular weight of chitosan with the same degree of deacetylation on the thermal, mechanical, and permeability properties of the prepared membrane*; Carbohydr Polym; 29 (4): 353-358.

Chourasia M.K., Jain S.K. (2003); *Pharmaceutical approaches to colon targeted drug delivery systems*; J Pharm Pharm Sci; 6 (1): 33-66.

Cole G., Hogan J., Aulton M. (1995); *Pharmaceutical coating technology*; Taylor & Francis; Bristol.

Coupe A.J., Davis S.S., Evans D.F., Wilding I.R. (1991); *Correlation of the gastric emptying of nondisintegrating tablets with gastrointestinal motility*; Pharm Res; 8 (10): 1281-1285.

Cummings J.H. (1981); *Short chain fatty acids in the human colon*; Gut; 22 763-779.

Cummings J.H., Macfarlane G.T. (1991); *The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon*; J Appl Bacteriol; 70 (6): 443-459.

Davis S.S., Hardy J.G., Fara J.W. (1986); *Transit of pharmaceutical dosage forms through the small-intestine*; Gut; 27 (8): 886-892.

Dressman J.B., Thelen K., Jantratic E. (2008); *Towards quantitative prediction of oral drug absorption*; Clin Pharmacokinet; 47 (10): 655-667.

Dubey R., Dubey R., Omrey P., Vyas S.P., Jain S.K. (2010); *Development and characterization of colon specific drug delivery system bearing 5-ASA and Camylofine dihydrochloride for the treatment of ulcerative colitis*; J Drug Target; 18 (8): 589-601.

Evans D.F., Pye G., Bramley R., Clark A.G., Dyson T.J., Hardcastle J.D. (1988); *Measurement of gastrointestinal pH profiles in normal ambulant human-subjects*; Gut; 29 (8): 1035-1041.

Evonik I. (2009); *Manufacturers certificate of analysis - Eudragit L 30 D-55*;

Ewe K., Press A.G., Bollen S., Schuhn I. (1991); *Gastric-emptying of indigestible tablets in relation to composition and time of ingestion of meals studied by metal detector*; Digest Dis Sci; 36 (2): 146-152.

Ewe K., Schwartz S., Petersen S., Press A.G. (1999); *Inflammation does not decrease intraluminal pH in chronic inflammatory bowel disease*; Digest Dis Sci; 44 (7): 1434-1439.

Faas H., Hebbard G.S., Feinle C., Kunz P., Bresseur J.G., Indireskumar K., Dent J., Boesiger P., Thumshirn M., Fried M., Schwizer W. (2001); *Pressure-geometry relationship in the antroduodenal region in humans*; Am J Physiol-Gastr L; 281 (5): G1214-G1220.

- Fallingborg J., Christensen L.A., Jacobsen B.A., Rasmussen S.N. (1993); *Very-low intraluminal colonic pH in patients with active ulcerative-colitis*; Digest Dis Sci; 38 (11): 1989-1993.
- Fan L.F., He W., Chang Y.Z., Xiang B., Du Q., Wang F., Qin M., Cao D.Y. (2009); *Studies of chitosan/Kollocoat SR 30D film-coated tablets for colonic drug delivery*; Int J Pharm; 375 (1-2): 8-15.
- Fernandez-Hervas M.J., Fell J.T. (1998); *Pectin/chitosan mixtures as coatings for colon-specific drug delivery: an in vitro evaluation*; Int J Pharm; 169 (1): 115-119.
- Friend R. (1992); *Oral colon-specific drug delivery*; CRC Press;
- Garbacz G. (2010); *Entwicklung eines biorelevanten Freisetzungsgertes zur Simulation mechanischer Stressfaktoren bei der Magen-Darm-Passage von Arzneiformen*; Dissertation, Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie, Universität Greifswald;
- Garbacz G., Klein S. (2012); *Dissolution testing of oral modified-release dosage forms*; J Pharm Pharmacol; 64 (7): 944-968.
- Hanauer S.B., Sparrow M. (2004); *COLAL-PRED Alizyme*; Curr Opin Investig Drugs; 5 (11): 1192-1197.
- Hawkey C. (2008); *Study of COLAL-PRED(R) in the treatment of moderate acute ulcerative colitis*; Clinical Trials.gov.;
- Hawkswo G., Drasar B.S., Hill M.J. (1971); *Intestinal bacteria and hydrolysis of glycosidic bonds*; J Med Microbiol; 4 (4): 451-&.
- Hegarty M., Atkins G. (1995); *Controlled release device construction*; Patent WO 95/10263;
- Horter D., Dressman J.B. (2001); *Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract*; Adv Drug Deliver Rev; 46 (1-3): 75-87.
- Hovgaard L., Brondsted H. (1995); *Dextran hydrogels for colon-specific drug-delivery*; J Control Release; 36 (1-2): 159-166.
- Illum L. (1998); *Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient*; Pharm Res; 15 (9): 1326-1331.
- Katsuma M., Watanabe S., Takemura S., Sako K., Sawada T., Masuda Y., Nakamura K., Fukui M., Connor A.L., Wilding I.R. (2004); *Scintigraphic evaluation of a novel colon-targeted delivery system (CODES (TM)) in healthy volunteers*; J Pharm Sci; 93 (5): 1287-1299.
- Kaur K., Kim K. (2009); *Studies of chitosan/organic acid/Eudragit (R) RS/RL-coated system for colonic delivery*; Int J Pharm; 366 (1-2): 140-148.

Kesselhut J.F. (1994); *Synthese und Untersuchung von Dextranestern als filmbildende Hilfsstoffe zur gezielten Arzneistofffreisetzung im Dickdarm*; Dissertation, Pharmazeutische Technologie, Universität Freiburg;

Kesselhut J.F., Bauer K.H. (1995); *Development and characterization of dextran fatty-acid esters as excipients for colon-targeting dosage forms*; *Pharmazie*; 50 (4): 263-269.

Langguth P., Fricker G., Wunderl-Allenspach H. (2004); *Biopharmazie*; Wiley-VCH Verlag; Hoboken (USA).

Langner A., Borchert H., Mehnert W. (2011); *Biopharmazie*; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; Stuttgart.

Lee V.H.L., Yamamoto A. (1990); *Penetration and enzymatic barriers to peptide and protein absorption*; *Adv Drug Deliver Rev*; (4): 171-207.

Leopold C.S., Eikeler D. (1998); *Eudragit (R) E as coating material for the pH-controlled drug release in the topical treatment of inflammatory bowel disease (IBD)*; *J Drug Target*; 6 (2): 85-94.

Macfarlane G.T., Macfarlane S., Gibson G.R. (1998); *Validation of a three-stage compound continuous culture system for investigating the effect of retention time on the ecology and metabolism of bacteria in the human colon*; *Microbial Ecol*; 35 (2): 180-187.

Macleod G.S., Fell J.T., Collett J.H., Sharma H.L., Smith A.M. (1999); *Selective drug delivery to the colon using pectin : chitosan : hydroxypropyl methylcellulose film coated tablets*; *Int J Pharm*; 187 (2): 251-257.

Malhotra O.P., Philip G. (1965); *Hydrolytic enzymes of mammalian intestines .2. distribution of hydrolytic enzymes in dog guinea-pig squirrel albino rat and rabbit intestines*; *Indian J Med Res*; 53 (5): 410-&.

McAllister M. (2010); *Dynamic dissolution: A step closer to predictive dissolution testing?*; *Mol Pharmaceut*; 7 (5): 1374-1387.

McConnell E.L., Short M.D., Basit A.W. (2008); *An in vivo comparison of intestinal pH and bacteria as physiological trigger mechanisms for colonic targeting in man*; *J Control Release*; 130 (2): 154-160.

Moes A.J. (1993); *Gastroretentive dosage forms*; *Crit Rev Ther Drug*; 10 (2): 143-195.

Molly K., Woestyne M.V., Verstraete W. (1993); *Development of a 5-step multichamber reactor as a simulation of the human intestinal microbial ecosystem*; *Appl Microbiol Biot*; 39 (2): 254-258.

Moore W.E.C., Holdeman L.V. (1975); *Discussion of current bacteriological investigations of relationships between intestinal flora, diet, and colon cancer*; *Cancer Res*; 35 (11): 3418-3420.

- Mrsny R.J. (1992); *The colon as a site for drug delivery*; J Control Release; 22 (1): 15-34.
- Muranishi S. (1990); *Absorption enhancers*; Crit Rev Ther Drug; 7 (1): 1-33.
- Muraoka M., Hu Z.P., Shimokawa T., Sekino S., Kurogoshi R., Kuboi Y., Yoshikawa Y., Takada K. (1998); *Evaluation of intestinal pressure-controlled colon delivery capsule containing caffeine as a model drug in human volunteers*; J Control Release; 52 (1-2): 119-129.
- Mutschler E., Geisslinger G., Kroemer K., Ruth P., Schäfer-Korting M. (2008); *Arzneimittelwirkungen*; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft;
- Mutschler E., Geisslinger G., Kroemer K., Ruth P., M. S.-K. (2008); *Arzneimittelwirkungen*; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft;
- Nishihata T., Rytting J.H., Kamada A., Higuchi T. (1981); *Enhanced intestinal-absorption of insulin in rats in the presence of sodium 5-Methoxysalicylate*; Diabetes; 30 (12): 1065-1067.
- Orienti I., Cerchiara T., Luppi B., Bigucci F., Zuccari G., Zecchi V. (2002); *Influence of different chitosan salts on the release of sodium diclofenac in colon-specific delivery*; Int J Pharm; 238 (1-2): 51-59.
- Park H.S., Lee J.Y., Cho S.H., Baek H.J., Lee S.J. (2002); *Colon delivery of prednisolone based on chitosan coated polysaccharide tablets*; Arch Pharm Res; 25 (6): 964-968.
- Park J., Holmann K., Bish G., Krieger D., Ramlose D., Herman C., Wu S. (2008); *An alternative to the USP disintegration test for orally disintegrating tablets*;
- Peppercorn M., Goldman P. (1972); *Role of intestinal bacteria in metabolism of Salicylazosulfapyridine*; J Pharmacol Exp Ther; 181 (3): 555-&.
- Ph.Eur. *Europäisches Arzneibuch*; Deutscher Apotheker Verlag; Stuttgart.
- Philip A.K., Philip B. (2010); *Colon targeted drug delivery systems: a review on primary and novel approaches*; Oman medical journal; 25 (2): 79-87.
- Pozzi F., Furlani P., Gazzaniga A., Davis S.S., Wilding I.R. (1994); *The Time Clock System - a new oral dosage form for fast and complete release of drug after a predetermined lag time*; J Control Release; 31 (1): 99-108.
- Prizont R., Konigsberg N. (1981); *Identification of bacterial glycosidases in rat cecal contents*; Digest Dis Sci; 26 (9): 773-777.
- Rajpurohit H., Sharma P., Sharma S., Bhandari A. (2010); *Polymers for colon targeted drug delivery*; Indian J Pharm Sci; 72 (6): 689-696.

Riad L.E., Sawchuk R.J., McAlary M.M., Chan K.K. (1995); *Effect of food on the multiple-peak behavior after a single oral dose of Diclofenac sodium slow-release tablet in humans*; American journal of therapeutics; 2 (4): 237-242.

Rubinstein A., Nakar D., Sintov A. (1992); *Colonic drug delivery - Enhanced release of Indomethacin from cross-linked chondroitin matrix in rat cecal content*; Pharm Res; 9 (2): 276-278.

Rubinstein A., Radai R., Ezra M., Pathak S., Rokem J.S. (1993); *In vitro evaluation of calcium pectinate - A potential colon-specific drug delivery carrier*; Pharm Res; 10 (2): 258-263.

Sarlikiotis W., A. (1992); *Synthese und Untersuchung von Polyurethanen mit Kohlenhydrat-Segmenten als Hilfsstoffe zur Freisetzung von Peptidarzneistoffen im Dickdarm*; Dissertation, Pharmazeutische Technologie, Universität Freiburg;

Schiller C., Frohlich C.P., Giessmann T., Siegmund W., Monnikes H., Hosten N., Weitschies W. (2005); *Intestinal fluid volumes and transit of dosage forms as assessed by magnetic resonance imaging*; Aliment Pharm Ther; 22 (10): 971-979.

Schramm G. (1995); *Einführung in Rheologie und Rheometrie*; Haake GmbH; Karlsruhe.

Schulze-Delrieu K., Herman R.J., Shirazi S.S., Brown B.P. (1998); *Contractions move contents by changing the configuration of the isolated cat stomach*; Am J Physiol-Gastr L; 274 (2): G359-G369.

Schwalm N. (2007); *Galactomannan und Polyelektrolytkomplexe als Coatingmaterialien für die colon-spezifische Wirkstofffreisetzung*; Dissertation, Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie, Universität Freiburg;

Sekigawa F., Yoshiro O. (1991); *Coated solid medicament form having releasability in large intestine*; Patent 5,217,720;

Shepherd R., Reader S., Falshaw A. (1997); *Chitosan functional properties*; Glycoconjugate J; 14 (4): 535-542.

Siebenand S. (2008); *Pille mit hohem IQ*; Pharmazeutische Zeitung; (50): 4955.

Simon G.L., Gorbach S.L. (1986); *The human intestinal microflora*; Dig Dis Sci; 31 (9 Suppl): 147S-162S.

Sinha V.R., Kumria R. (2001a); *Colonic drug delivery: Prodrug approach*; Pharm Res; 18 (5): 557-564.

Sinha V.R., Kumria R. (2001b); *Polysaccharides in colon-specific drug delivery*; Int J Pharm; 224 (1-2): 19-38.



- Sinha V.R., Kumria R. (2002); *Binders for colon specific drug delivery: an in vitro evaluation*; Int J Pharm; 249 (1-2): 23-31.
- Sinha V.R., Kumria R. (2003); *Coating polymers for colon specific drug delivery: a comparative in vitro evaluation*; Acta pharmaceutica (Zagreb, Croatia); 53 (1): 41-47.
- Söderlind E. (2010); *Recent advances in predicting in vivo performance of oral extended release formulations*; 7th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology (Valetta);
- Sowmya C., Reddy C., S., Vishnu priya N., Sandhya R., Keerthi K. (2012); *Colon specific drug delivery systems: A review on pharmaceutical approaches with current trends*; International Research Journal Of Pharmacy;
- Steed K.P., Hooper G., Monti N., Benedetti M.S., Fornasini G., Wilding I.R. (1997); *The use of pharmacoscintigraphy to focus the development strategy for a novel 5-ASA colon targeting system ("TIME CLOCK (R)" system)*; J Control Release; 49 (2-3): 115-122.
- Steinhilber D., Schubert-Zsilavec M., Roth H. (2010); *Medizinische Chemie: Targets und Arzneistoffe: Targets - Arzneistoffe - Chemische Biologie*; Deutscher Apotheker Verlag;
- Stotzer P.O., Abrahamsson H. (2000); *Human postprandial gastric emptying of indigestible solids can occur unrelated to antral phase III*; Neurogastroent Motil; 12 (5): 415-419.
- Tannergren C., Bergendal A., Lennernas H., Abrahamsson B. (2009); *Toward an increased understanding of the barriers to colonic drug absorption in humans: Implications for early controlled release candidate assessment*; Mol Pharmaceut; 6 (1): 60-73.
- Thews, Mutschler E., P. V. (2007); *Anatomie Physiologie Pathophysiologie des Menschen*; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; Stuttgart.
- Tiwari G., Tiwari R., Pranay W., WAI A., Awani K., R. (2010); *Primary and novel approaches for colon targeted drug deliver - a review*; International Journal of Drug Delivery; (2): 1-11.
- Tozaki H., Emi Y., Horisaka E., Fujita T., Yamamoto A., Muranishi S. (1995); *Metabolism of peptide drugs by the microorganisms in rat cecal contents*; Biological & Pharmaceutical Bulletin; 18 (6): 929-931.
- Tozaki H., Komoike J., Tada C., Maruyama T., Terabe A., Suzuki T., Yamamoto A., Muranishi S. (1997); *Chitosan capsules for colon-specific drug delivery: Improvement of insulin absorption from the rat colon*; J Pharm Sci; 86 (9): 1016-1021.
- Tozaki H., Odoriba T., Okada N., Fujita T., Terabe A., Suzuki T., Okabe S., Muranishi S., Yamamoto A. (2002); *Chitosan capsules for colon-specific drug delivery: Enhanced localization of 5-aminosalicylic acid in the large intestine accelerates healing of TNBS-induced colitis in rats*; J Control Release; 82 (1): 51-61.

Ueda S., Hata T., Asakura S., Yamaguchi H., Kotani M., Ueda Y. (1994a); *Development of a novel drug-release system, Time-Controlled Explosion System (Tes) .1. concept and design*; J Drug Target; 2 (1): 35-44.

Ueda S., Ibuki R., Kawamura A., Murata S., Takahashi T., Kimura S., Hata T. (1994b); *Development of a novel drug-delivery system, Time-Controlled Explosion System (Tes) .4. in-vivo drug-release behavior*; J Drug Target; 2 (2): 133-140.

Van den Mooter G., Maris B., Samyn C., Augustijns P., Kinget R. (1997); *Use of azo polymers for colon-specific drug delivery*; J Pharm Sci; 86 (12): 1321-1327.

Van den Mooter G., Samyn C., Kinget R. (1992); *Azo polymers for colon-specific drug delivery*; Int J Pharm; 87 (1-3): 37-46.

Van den Mooter G., Samyn C., Kinget R. (1993); *Azo polymers for colon-specific drug-delivery .2. influence of the type of azo polymer on the degradation by intestinal microflora*; Int J Pharm; 97 (1-3): 133-139.

Van den Mooter G., Samyn C., Kinget R. (1994); *The relation between swelling properties and enzymatic degradation of azo polymers designed for colon-specific drug-delivery*; Pharm Res; 11 (12): 1737-1741.

Vandamme T.F., Lenourry A., Charrueau C., Chaumeil J. (2002); *The use of polysaccharides to target drugs to the colon*; Carbohydr Polym; 48 (3): 219-231.

Vanhoogdalem E.J., Deboer A.G., Breimer D.D. (1989); *Intestinal drug absorption enhancement - an overview*; Pharmacol Therapeut; 44 (3): 407-443.

Varshosaz J., Dehkordi A.J., Golafshan S. (2006); *Colon-specific delivery of Mesalazine chitosan microspheres*; J Microencapsul; 23 (3): 329-339.

Wei H., Li-Fang F., Min B., Yong-Zhen C., Bai X., Qing D., Feng W., Min Q., De-Ying C. (2010); *Chitosan/Kollocoat SR 30D film-coated pellets of Aminosalicylates for colonic drug delivery*; J Pharm Sci; 99 (1): 186-195.

Wei H., Qing D., De-Ying C., Bai X., Li-Fang F. (2008); *Study on colon-specific pectin/ethylcellulose film-coated 5-fluorouracil pellets in rats*; Int J Pharm; 348 (1-2): 35-45.

Weitschies W. (2001); *Eine Reise durch den Verdauungstrakt*; Pharmazeutische Zeitung; (14): 1108-1114.

Weitschies W. (2010); *Retardarzneiformen- physiologische Hürden und galenische Strategien*; Innovative Arzneiformen (Mäder K., Weidenauer U.);

Weitschies W., Blume H., Monnikes H. (2010); *Magnetic marker monitoring: High resolution real-time tracking of oral solid dosage forms in the gastrointestinal tract*; Eur J Pharm Biopharm; 74 (1): 93-101.

- Weitschies W., Wedemeyer R.S., Kosch O., Fach K., Nagel S., Soderlind E., Trahms L., Abrahamsson B., Monnikes H. (2005); *Impact of the intragastric location of extended release tablets on food interactions*; J Control Release; 108 (2-3): 375-385.
- Wilding I.R., Coupe A.J., Davis S.S. (2001); *The role of gamma-scintigraphy in oral drug delivery*; Adv Drug Deliver Rev; 46 (1-3): 103-124.
- Wilding I.R., Davis S.S., Pozzi F., Furlani P., Gazzaniga A. (1994); *Enteric-coated timed release systems for colonic targeting*; Int J Pharm; 111 (1): 99-102.
- Wilson C., G. (2003); *Colonic drug delivery*; Modified-release drug delivery technology (Rathbone M. J., Hadgraft J., Roberts M. S.); Marcel Dekker; New York (USA).
- Wohlschlegel C., K. (1990); *Enzymatisch abbaubare Polymere zur Freisetzung von Peptidarzneistoffen im Dickdarm*; Dissertation, Pharmazeutische Technologie, Universität Freiburg;
- Yamamoto A., Taniguchi T., Rikyuu K., Tsuji T., Fujita T., Murakami M., Muranishi S. (1994); *Effects of various protease inhibitors on the intestinal-absorption and degradation of insulin in rats*; Pharm Res; 11 (10): 1496-1500.
- Yang L. (2008); *Biorelevant dissolution testing of colon-specific delivery systems activated by colonic microflora*; J Control Release; 125 (2): 77-86.
- Yang L., Chu J.S., Fix J.A. (2002); *Colon-specific drug delivery: New approaches and in vitro/in vivo evaluation*; Int J Pharm; 235 (1-2): 1-15.
- Zambito Y., Di Colo G. (2003); *Preparation and in vitro evaluation of chitosan matrices for colonic controlled drug delivery.*; J Pharm Pharm Sci; 6 (2): 274-281.
- Zhang H., Neau S.H. (2001); *In vitro degradation of chitosan by a commercial enzyme preparation: Effect of molecular weight and degree of deacetylation*; Biomaterials; 22 (12): 1653-1658.
- Zhang H., Neau S.H. (2002); *In vitro degradation of chitosan by bacterial enzymes from rat cecal and colonic contents*; Biomaterials; 23 (13): 2761-2766.



Diese Seite enthält persönliche Daten. Sie ist deshalb nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.