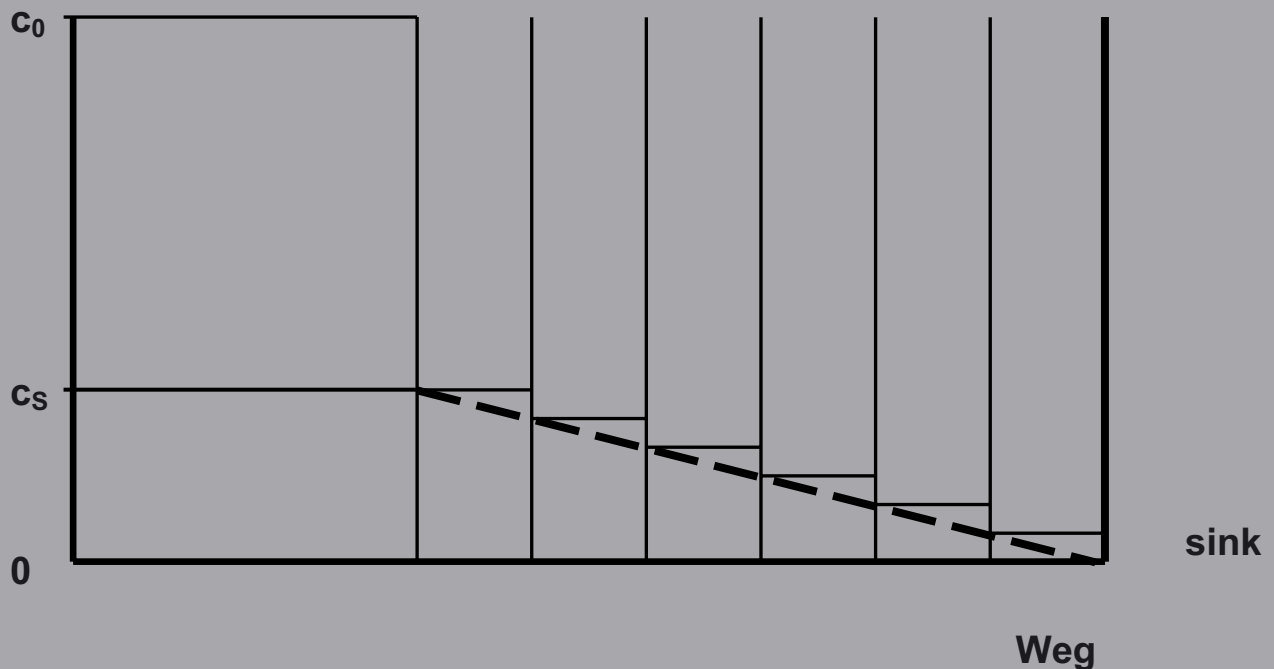


Martin U. Renner

Gelatinefilme als Arzneistoffträger



Cuvillier Verlag Göttingen

Gelatinefilme als Arzneistoffträger

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Martin Ulrich Renner

aus Köln

Düsseldorf 2003

Bibliografische Information Der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

1. Aufl. - Göttingen : Cuvillier, 2004
Zugl.: Düsseldorf, Univ., Diss., 2004
ISBN 3-86537-250-3

Gedruckt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

1. Berichterstatter: Prof. Dr. B. C. Lippold
2. Berichterstatter: Prof. Dr. P. Kleinebudde

Tag der mündlichen Prüfung: 23.01.2004

⊕ CUVILLIER VERLAG, Göttingen 2004
Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen
Telefon: 0551-54724-0
Telefax: 0551-54724-21
www.cuvillier.de

Alle Rechte vorbehalten. Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es nicht gestattet, das Buch oder Teile daraus auf fotomechanischem Weg (Fotokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.

1. Auflage, 2004
Gedruckt auf säurefreiem Papier

ISBN 3-86537-250-3

Die vorliegende Arbeit entstand am Institut für Pharmazeutische Technologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. B. C. Lippold. Durch seine ständige Ansprechbarkeit und Diskussionsbereitschaft hat er meine Arbeit sehr gefördert. Die hervorragend Betreuung und die Förderung des Besuchs von Weiterbildungsveranstaltungen und Kongressen hat nicht nur zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen, sondern auch dazu, dass ich die Zeit sehr genossen habe.

Herrn Prof. Dr. P. Kleinebudde danke ich für die Übernahme des Korreferats und die zügige Durchsicht der Arbeit.

Für die Unterstützung bei der Herstellung der mehrschichtigen Matrices mit Hilfe des Kaskadengießverfahrens möchte ich mich bei den Mitarbeitern der Firma Agfa Gevaert AG, insbesondere Herrn Dr. J. Siegel, Herrn Dr. G. Helling und Frau A. Streitenberger bedanken.

Der Zentralwerkstatt Chemie/Pharmazie der Heinrich-Heine-Universität danke ich für die Fertigung der Diffusions- sowie Freisetzungszellen.

Ein besonderer Dank gilt allen Mitarbeitern des Instituts für Pharmazeutische Technologie. Frau K. Matthée für die Durchführung zahlreicher DSC- und TMA-Messungen und Herrn Stich für die Konstruktionszeichnungen zur Anfertigung feinmechanischer Arbeiten.

Bei allen Mitarbeitern und Kollegen, die durch gute Zusammenarbeit, Diskussionsbereitschaft und gemeinsame Unternehmungen zur guten Atmosphäre beigetragen haben, möchte ich mich besonders herzlich bedanken. Ich werde die Zeit am Institut in sehr guter Erinnerung behalten.

A	EINLEITUNG	1
B	EINFÜHRUNG	3
1.	Transdermale Systeme.....	3
1.1.	Allgemeines	3
1.2.	Arzneistoffe.....	8
1.3.	Problematik der TDS.....	10
1.4.	TDS-Typen	11
1.4.1.	Membran-Typ.....	11
1.4.2.	Matrix-Typ.....	13
1.5.	Transmukosal-Systeme	20
1.6.	Materialien	20
2.	Zielsetzung und Vorgehensweise	21
3.	Gelatine.....	23
3.1.	Grundlagen	23
3.2.	Härtung.....	25
3.2.1.	Einfluss auf Eigenschaften.....	25
3.2.2.	Aminogruppen vernetzende Reagenzien.....	26
3.2.3.	Aktivierende Reagenzien	28
3.3.	Charakterisierung.....	30
3.3.1.	Differential Scanning Calorimetry.....	30
3.3.2.	Quellung und Wasserdampfsorption.....	31
3.3.3.	Diffusion.....	31
3.3.4.	Freisetzung	32
C	UNTERSUCHUNGEN UND ERGEBNISSE	33
1.	Modellarzneistoff Theobromin.....	33
2.	Untersuchungen an Gelatinefilmen.....	35
2.1.	Untersuchung zur Struktur	35

2.1.1.	Einfluss der Trocknungstemperatur	37
2.1.2.	Einfluss nachträglicher Trocknung	40
2.1.3.	Effekt durch unterschiedliche Gießunterlagen	41
2.1.4.	Einfluss der Konzentration der Gießlösung	42
2.1.5.	Strukturelle Veränderungen durch Härtung der Gelatine	43
2.1.6.	Unterschied Gelatine A und B.....	47
2.2.	Untersuchung der Quellung und des Wassergehalts.....	48
2.2.1.	Einfluss der Trocknungstemperatur	48
2.2.2.	Beeinflussung durch Härtung.....	49
2.3.	Wasserdampf-Sorptions-Untersuchungen	53
2.3.1.	Einfluss des Härtingsgrades	54
2.3.2.	Unterschied Gelatine Typ A und B.....	55
2.4.	Lösungsverhalten.....	56
2.5.	Herstellung standardisierter Gelatinefilme	57
2.6.	Löslichkeit und Verteilungskoeffizient des Arzneistoffs.....	58
2.7.	Zusammenfassung und Bewertung der Untersuchungen.....	60
3.	Diffusionsversuche.....	63
3.1.	Durchführung der Diffusionsstudien.....	63
3.2.	Diffusion durch gehärtete Gelatinefilme	65
3.2.1.	Härtungsgrad	65
3.2.2.	Rühren des Donatormediums	68
3.2.3.	Beschleunigte Trocknung	74
3.2.4.	Härtung nach Trocknung	74
3.2.5.	Temperatureinfluss	76
3.2.6.	Glutardialdehyd als Härter	77
3.3.	Zusammenfassung und Bewertung der Versuche zur Wirkstoffdiffusion durch gehärtete Gelatinefilme.....	78
4.	Freisetzungsuntersuchungen aus einfachen Matrices	81
4.1.	Herstellung arzneistoffhaltiger Gelatinematrix.....	81
4.2.	Durchführung der Untersuchungen.....	82
4.3.	Berechnung des Diffusionskoeffizienten	83

4.4.	Einfluss der Arzneistoffkonzentration und –partikelgröße	84
4.4.1.	Lösungsmatrix.....	84
4.4.2.	Suspensionsmatrix.....	85
4.4.3.	Beeinflussung durch Partikelgröße	86
4.5.	Gelatine Typ A und B.....	89
4.6.	Einfluss der Dicke der Matrices.....	90
4.7.	Effekt von Füllstoffen	91
4.8.	Zusammenfassung und Bewertung	93
5.	Mehrschichtige Gelatinematrixes.....	95
5.1.	Zweischichtige Matrices.....	96
5.1.1.	Herstellungsmöglichkeiten	99
5.1.2.	Freisetzung	99
5.1.3.	Einfluss der Schichtdicke	102
5.2.	Mehrschichtige Matrices	104
5.2.1.	Herstellung.....	105
5.2.2.	Freisetzung	107
5.2.3.	Freisetzungsmechanismus und Optimierung der Arzneistoffkonzentrationen	109
5.3.	Zusammenfassung und Bewertung	112
6.	Stabilität.....	114
6.1.	Untersuchung zur Stabilität der Härtung mittels DSC	114
6.2.	Stabilität der mehrschichtigen Filme	114
6.3.	Zusammenfassung und Bewertung	116
D	EXPERIMENTELLER TEIL.....	117
1.	Modellarzneistoff	117
1.1.	UV-Spektroskopische Bestimmung.....	117
1.2.	Bestimmung der Löslichkeit	118
1.3.	Bestimmung des Verteilungskoeffizienten Gelatinefilm/Wasser	119
1.4.	Luftstrahlmahlung	121
1.5.	Partikelgrößenbestimmung durch Laserbeugung	121

2.	Gelatinefilme	123
2.1.	Quellungsuntersuchungen	123
2.1.1.	Mikrometerschraube	123
2.1.2.	TMA	123
2.2.	Wasserdampfsorption	124
2.3.	Lösungsverhalten der Gelatinefilme.....	125
2.4.	Herstellung der Filme.....	125
2.4.1.	Einfache Filme	125
2.4.2.	Zweischichtige Filme.....	126
2.4.3.	Mehrschichtige Filme	127
3.	Versuchsaufbau für die Diffusionsversuche.....	129
4.	Freisetzungsuntersuchungen.....	131
5.	Differential Scanning Calorimetry (DSC)	134
5.1.	Lösungsverhalten der Gelatinefilme.....	134
5.2.	Gelatinestruktur.....	134
6.	Lagerungsstabilität.....	135
7.	Bezugsquellennachweis	135
8.	Abkürzungsverzeichnis.....	136
E	ZUSAMMENFASSUNG	138
F	LITERATURVERZEICHNIS	143

A EINLEITUNG

Arzneiformen mit länger andauernder konstanter Arzneistoffabgaberate haben in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen. Mit ihrem Einsatz ist eine Reihe von Vorteilen verbunden, die auf erhöhter Arzneimittelsicherheit und optimierter Wirksamkeit beruhen. Im Vergleich zu konventionellen Arzneiformen ist durch die reduzierte Applikationsfrequenz bei regelmäßig einzunehmenden Arzneistoffen die Compliance bei den Patienten erhöht. Außerdem kann durch konstante Arzneistoffzufuhr der Plasmaspiegel über einen langen Zeitraum konstant gehalten werden. Durch galenische Mittel wird die Arzneistoffabgabe aus der Arzneiform so gesteuert, dass das Risiko eines Unterschreitens der therapeutischen Wirkstoffkonzentration sowie eines Überschreitens der Konzentration in den toxischen Bereich reduziert bzw. verhindert wird. Die Arzneimittelsicherheit kann somit besonders bei Wirkstoffen mit geringer therapeutischer Breite verbessert werden.

So wurden perorale Retardarzneiformen entwickelt, die bei einer Einnahmefrequenz von nur einmal täglich zu nahezu konstanten, wenig fluktuierenden Plasmaspiegeln führen.

Als Alternative bietet die Galenik die Möglichkeit der Herstellung von Arzneiformen, die nicht oral anzuwenden sind. Diese Präparate haben neben der teilweise deutlich weiter erniedrigten Einnahmefrequenz den Vorteil, dass sie auch für Patienten mit gastrischen oder Schluckbeschwerden geeignet sind und sich auch für Arzneistoffe mit starkem First-Pass-Effekt anwenden lassen. Neben Injektabilia mit Depoteffekt kommen vor allem Arzneiformen in Frage, deren Wirkstoffe transdermal oder auch transmukosal in den Körper gelangen. Die Transdermalen Systeme (TDS) setzen Arzneistoffe über längere Zeit frei und führen so zu einer länger dauernden Zufuhr in den Organismus.

Trotz der galenischen Vorteile können TDS nur für eine begrenzte Anzahl von Wirkstoffen eingesetzt werden. Dies hängt zum einen mit den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Substanz zusammen. Löslichkeit im Stratum corneum, d.h. in der geschwindigkeitsbestimmenden Barriere, und Molekulargewicht spielen dabei eine maßgebliche Rolle. Zum anderen liegt dies an der

geringen Menge Substanz, die pro Zeit durch das Stratum corneum permeieren kann. Aus diesen Gründen werden transdermale Systeme vor allem mit niedrig dosierten Analgetika, Hormonen, Glyceroltrinitrat und Nikotin zur systemischen Therapie eingesetzt.

Man unterscheidet zwei unterschiedliche Typen an TDS: Der Membran-Typ enthält über einem Reservoir mit suspendiertem Arzneistoff eine Steuerungsmembran, durch die der Arzneistoff mit konstanter Geschwindigkeit heraus diffundiert. Der Nachteil dieses Systems besteht in dem Risiko der schlagartigen Freigabe des gesamten Arzneistoffs („dose-dumping“). Beim weiterentwickelten Matrix-Typ ist der Arzneistoff in ein homogenes Polymergerüst eingebettet und wird nach Wurzel-t-Kinetik, also nicht konstant, freigesetzt. Diese Tatsache ist an sich nicht problematisch. Einerseits bedient man sich nur des Anfangsbereichs der Wurzel-t-Kinetik, der annähernd linear ist. Andererseits wird die konstante Zufuhr zum Wirkort zum Großteil durch das Stratum corneum erzwungen. Dadurch ergeben sich allerdings naturgemäß interindividuelle Unterschiede. Der im TDS verbleibende Wirkstoff (bis zu mehr als 70 %) wird mit dem System entfernt und entsorgt. Neben der ungünstigen Wirtschaftlichkeit führt dies auch zu einer geringeren Arzneimittelsicherheit, da die hoch wirksamen Arzneistoffe eine potenzielle Gefahr für die Umwelt und für Kinder darstellen.

In weiteren Entwicklungen sollten Systeme entstehen, aus denen ein Großteil des eingebetteten Arzneistoffs annähernd konstant freigesetzt wird. Dabei ist auch ausreichende Arzneimittelsicherheit für den Anwender zu fordern, so dass Membran-Systeme zu vermeiden sind. Ziel der Arbeit (s. B 2.) ist daher die Entwicklung eines speziell aufgebauten Matrix-Systems mit weitgehend konstanter Freisetzung auf Basis von Gelatine.

B EINFÜHRUNG

1. Transdermale Systeme

1.1. Allgemeines

Kutan applizierte Arzneimittel können verschiedene Wirkorte haben (Flynn, 1993): **Lokale** Wirkung möglichst ohne systemische Nebenwirkung wird zum Beispiel bei Antimykotika angestrebt. **Regionale** Wirkung sollte etwa bei Muskelverspannungen oder Venenleiden erreicht werden, wobei der Wirkstoff zwar die Haut durchdringt, aber nur in bestimmten, der Haut benachbarten Körperregionen wirken soll. Eine **systemische** Wirkung im gesamten Organismus oder in einem, von der Haut entfernten Organ resultiert nach dem Transport von Wirkstoffen durch die Haut hindurch in den Blutkreislauf. Hier ist die lokale Wirkung eine unerwünschte Nebenwirkung.

Diese systemische Wirkung wird vor allem mit Arzneiformen erreicht, die sich unter dem Begriff Transdermale (Therapeutische) Systeme (TDS) zusammenfassen lassen.

Das Stratum corneum (S.c.) ist die Barriere der Haut, die den Menschen vor unerwünschten äußeren Einflüssen schützen soll. Auch für den Arzneistofftransport durch die Haut stellt das S.c. die geschwindigkeitsbestimmende Barriere dar (Lippold, 1981; Iordanskii, 2000). Mehrere Autoren haben sich mit Modellen zum Aufbau der Haut beschäftigt (Michaels, 1975; Landmann, 1991; Forslind, 1994 und 1997; Norlén, 2001 und 2002), hier soll jedoch nur kurz auf die möglichen Diffusionswege eingegangen werden.

Ein Arzneistoff kann auf verschiedene Weise durch die Haut penetrieren und anschließend resorbiert werden. Der Hauptweg, den Wirkstoffe durch die Haut nehmen, ist transepidermal, d.h. vor allem interzellulär und auch transzellulär (Abb. 1). Der transfollikuläre und transglanduläre Transport durch die Epidermis macht nur 0,1-1% aus (Bauer, 2002; Huschka, 1998).

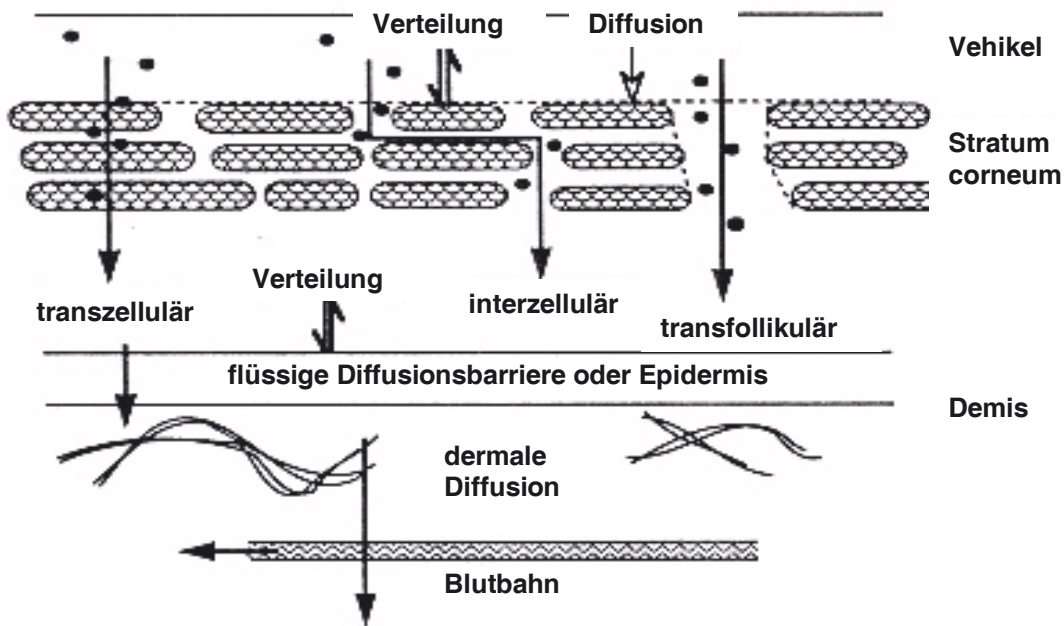


Abb. 1: Resorption und mögliche Diffusionswege durch die Haut

Diese Art der Arzneistoffdiffusion durch die Haut muss bei der Entwicklung eines Transdermalen Systems berücksichtigt werden.

Seit der Entwicklung des ersten TDS durch Alza am Anfang der siebziger Jahre (Zaffaroni, 1976) nimmt die Anzahl der Patentanmeldungen Jahr für Jahr stark zu (Cleary, 1993). Der Grund dafür liegt in der Suche nach neuen therapeutischen Systemen, die es ermöglichen, einen Arzneistoff dem Körper so zuzuführen, dass er zeitlich optimal und in erwünschter Konzentration vorliegt. In der Regel möchte man bei Dauermedikation einen gleichmäßigen Blutspiegel erreichen, ohne den Patienten durch häufige perorale Einnahmen zu belasten und damit die Compliance zu verschlechtern. Dies ist mit der gängigen peroralen Arzneimittelgabe schwer erreichbar.

TDS bieten deutliche therapeutische Vorteile gegenüber anderen Arzneiformen:

- Vermeidung des First-Pass-Effekts
- Kontrollierbare, konstante Blutspiegel (wie Infusion) (Abb. 2)
- Anwendbarkeit von Wirkstoffen mit kleinem therapeutischen Bereich, verbunden mit Reduktion der Nebenwirkungen
- Zufuhr jederzeit abbrechbar
- schmerzlose Applikation
- Anwendbarkeit von Arzneistoffen mit kurzer Halbwertszeit $t_{1/2}$
- geringere Applikationshäufigkeit, dadurch erhöhte Compliance
- Applizierbarkeit auch bei Patienten mit gastrischen Beschwerden oder mit eingeschränkter Schluckfunktion

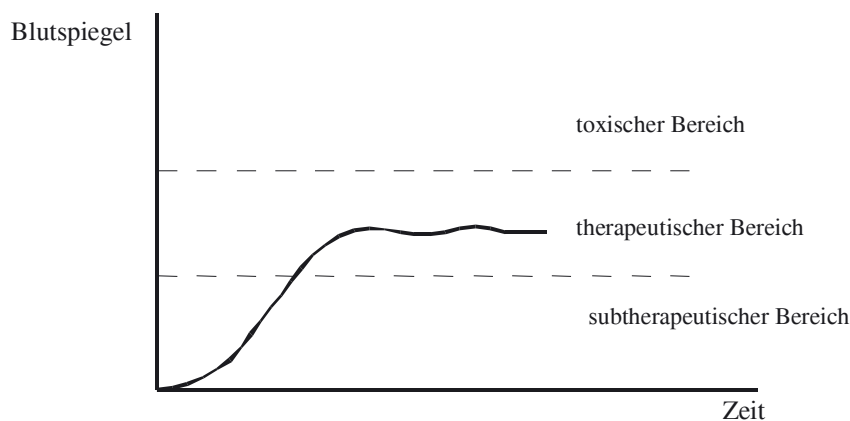


Abb. 2: Theoretischer Blutspiegelverlauf bei Anwendung eines TDS

Der Flux durch die Haut (oder allgemein durch jede Membran) wird, abgesehen vom Applikationsort, vor allem durch die Konzentration im Donator-System beeinflusst. Die treibende Kraft ist hierbei die passive Diffusion aufgrund des bestehenden Konzentrationsgefälles zwischen Donator und Akzeptor.

Dieser Flux (J) bzw. der Massenstrom in einer bestimmten Zeit (dm/dt) pro Flächeneinheit wird im steady state charakterisiert durch:

$$J = \frac{dm}{dt \cdot A} = \frac{D_B \cdot VK_{B/V}}{d_B} \cdot (c_V - c_B) = P_B \cdot (c_V - c_B)$$

Gl. 1

- D_B = Diffusionskoeffizient in der Membran/Barriere (z.B. S.c.)
- $VK_{B/V}$ = Verteilungskoeffizient zwischen Membran und Vehikel
- A = Penetrationsfläche
- d_B = Dicke der Barriere/der Membran
- c_V = Konzentration im Vehikel
- c_B = Konzentration in der Membran (dem Vehikel abgewandte Seite)
- P_B = Permeabilität des Arzneistoffs in der Barriere

Der Massentransport pro Fläche und pro Zeit ist also direkt proportional zum Diffusionskoeffizienten, zum Verteilungskoeffizienten und zur Differenz zwischen der Arzneistoffkonzentration im Vehikel und der Konzentration auf der Innenseite der Membran, außerdem umgekehrt proportional zur Dicke der Membran.

Diese Beziehung leitet sich aus dem ersten Fick'schen Diffusionsgesetz ab und gilt für isotrope Verteilungsmembranen. Das Stratum corneum kann stark vereinfacht als eine solche gesehen werden (Lieken, 2003; Lippold, 1981). Somit lässt sich das Gesetz näherungsweise auch für die passive Diffusion durch die Haut anwenden.

Unter angenommenen sink-Bedingungen im Akzeptor, gegeben bei Abtransport des Arzneistoffs aus der durchbluteten Epidermis in den gesamten Organismus und systemischer Aufnahme, ist c_B während des Diffusionsprozesses null. Die Diffusion folgt einer Kinetik erster Ordnung.

Ist nun allerdings die Konzentration im Vehikel über die gesamte Zeit der Anwendung konstant, so liegt eine Kinetik nullter Ordnung vor. Der Stoff penetriert die Membran mit gleichmäßiger Geschwindigkeit. Dies ist für einen

konstanten Arzneistoffspiegel im Blut Voraussetzung. Der konstante Fluss stellt sich erst ein, wenn sich das gesamte System im Fließgleichgewicht befindet. Das kann nach Durchlaufen einer lag-time (leere Barriere) oder eines burst-effects (mit Arzneistoff beladene Barriere) erfolgen.

1.2. Arzneistoffe

Die Anzahl der transdermal applizierbaren Arzneistoffe ist stark limitiert. Durch den Aufbau der Haut, die lipophile Barriere (Stratum corneum) und die darunter gelegenen hydrophileren Abschnitte (Dermis), muss ein Wirkstoff bestimmte Eigenschaften besitzen, um in ausreichender Menge zu penetrieren (Schiller, 2002; Osborne, 1990).

Entscheidend für den Flux ist neben der Konzentration und der Art des Vehikels (Lieken, 2003) vor allem die Lipophilie des Arzneistoffs, gekennzeichnet durch den Verteilungskoeffizienten (VK) zwischen lipophiler und hydrophiler Phase, üblicherweise zwischen Oktanol und Wasser gemessen. Das VK-Optimum für die transdermale Resorption soll dabei zwischen 100 und 1000 (Knoch, 1985; Mayorga, 1996) liegen.

Neben der Lipophilie des Arzneistoffs ist auch die Molekülgröße ein limitierender Faktor, wobei ein Molekulargewicht von 800-1000 als oberste Grenze angesehen wird (Knoch, 1985). Deutlich besser penetrieren Stoffe mit einem kleineren Molekulargewicht.

Im Stratum corneum liegt der Diffusionskoeffizient von Molekülen mit einem Molekulargewicht von 200-400 in der Regel bei ungefähr 10^{-10} cm²/s (Lippold, 1981; Franz, 1992), während er in Wasser ungefähr um den Faktor 10000 größer ist (Bauer, 2002).

Da man in jedem Fall nur einen geringen Massenfluss durch die Haut (Flux) erreichen kann, muss es sich bei transdermal anzuwendenden Arzneistoffen um hochpotente Wirkstoffe handeln, bei denen ein konstanter Wirkspiegel erwünscht ist. Eventuell angestrebte Fluktuation lässt sich transdermal schwer einstellen. Möglich ist es, die transdermale Zufuhr erst einige Zeit nach Applikation beginnen zu lassen, indem Schichten eingebracht werden, die durch äußere Einflüsse (z.B. Hydratation) ab Überschreiten einer kritischen Schwelle kollabieren und damit die Freisetzung des Arzneistoffs starten (Fischer, 1999; Piecha, 1999).

Eine weitere Limitierung ergibt sich durch die dermale Applikation selbst, denn der Arzneistoff sollte weder reizend noch sensibilisierend sein. Die auftretenden unerwünschten Hautreaktionen beruhen jedoch meist auf den Eigenschaften des Systems, vor allem Okklusion (Schmidt, 1989).

Nach diesen Einschränkungen bleiben nur noch wenige mögliche Arzneistoffe übrig, die sich zur transdermalen Applikation eignen. Einige davon sind bereits in Form von TDS auf dem Markt. Die meisten zugelassenen TDS dienen der Hormonersatztherapie und enthalten Estradiol, weitere existieren zum Beispiel mit Nicotin zur Raucherentwöhnung, Glyceroltrinitrat bei koronarer Herzkrankheit (verschiedene Systeme in Wolff, 1987) und Scopolamin gegen Reisekrankheit. Seit einigen Jahren und in der Klinik inzwischen unabdingbar werden Pflaster zur kontinuierlichen Analgesie mit Opiaten wie Fentanyl oder Buprenorphin eingesetzt (Cantor, 2002; Sturm, 2003).

1.3. Problematik der TDS

Problematisch ist bei Transdermalsystemen die Steuerung der Wirkstoffaufnahme. Damit durch Applikation des Systems gleiche Blutspiegel und damit gleiche Wirkung bei verschiedenen Anwendern erreicht werden, muss das System geschwindigkeitsbestimmend sein. Aufgrund des niedrigen Diffusionskoeffizienten von Arzneistoffen im Stratum corneum ist dies häufig nicht gegeben. In diesen Fällen steuert vor allem das Stratum corneum die Penetrations- und Resorptionsgeschwindigkeit des Arzneistoffs. Interindividuelle Unterschiede werden nicht beachtet (Iordanskii, 2000; Hadgraft, 1996).

Ein weiteres Problem für die pharmazeutische Entwicklung ist der relativ hohe Preis der TDS, bedingt durch hohe Herstellungskosten.

1.4. TDS-Typen

1.4.1. Membran-Typ

Diese zuerst entwickelten Transdermalsysteme, so auch das erste, im Patent von Alza beschriebene (Zaffaroni, 1976), bestehen aus einer undurchlässigen äußeren Abdeckschicht, einem flüssigen oder halbfesten Reservoir mit einer Wirkstofflösung oder -suspension, einer das System zur Haut hin abgrenzenden Membran und einer darauf aufgetragenen Klebeschicht (siehe Abb. 3). Die Klebeschicht ist nach außen mit einer Schutzschicht (release liner, RL) versehen, die vor der Applikation abgezogen wird. Bei Membranpflastern steuert eine Membran die Geschwindigkeit der Freigabe des Arzneistoffs. Man unterscheidet zwischen Verteilungsmembranen und mikroporösen Membranen. Im ersten Fall wird die Freisetzung durch den Diffusionskoeffizienten in der Membran selbst sowie den Membran/Reservoir-Verteilungskoeffizienten VK, im zweiten Fall durch die Diffusion durch die Poren und damit durch deren Größe, Anzahl, Länge und Tortuosität bestimmt. Der Verteilungskoeffizient zwischen Poren und Reservoirflüssigkeit kann mit 1 angenommen werden, da die Poren flüssigkeitsgefüllt sind.

Die Membran ist für die Wirkstoffaufnahme durch die Haut geschwindigkeitsbestimmend, wenn die Diffusion durch sie hindurch langsamer verläuft als die Diffusion durch die Haut. In diesem Fall ist das System geschwindigkeitsbestimmend und die In-vitro-Freisetzung aussagekräftig in Bezug auf den Flux in vivo.

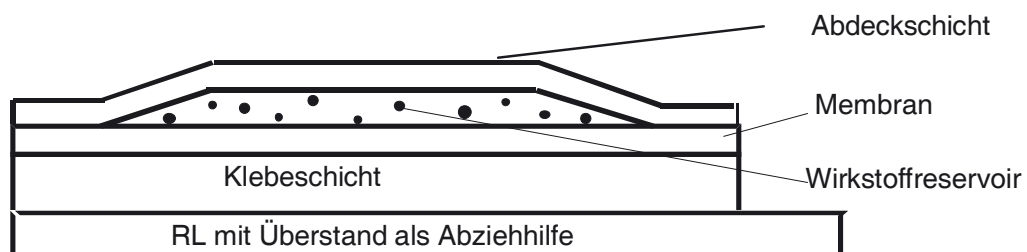


Abb. 3: Membran-Typ

Hergestellt werden solche TDS durch das „form-fill-seal“-Prinzip. Dabei wird die Wirkstofflösung oder –suspension in eine Form aus der Abdeckschicht gefüllt, mit der Membran abgedichtet und versiegelt. Dieser Herstellungsprozess ist, verglichen mit dem im folgenden Abschnitt beschriebenen Prozess für Matrixpflaster, aufwändig und kostenintensiv (Monkhouse, 1988; Merkle, 1985). Da eine Membran das Wirkstoffreservoir von der Haut trennt, besteht bei diesem Typ TDS die Gefahr einer schlagartigen Freisetzung von viel Wirkstoff (dose-dumping) bei Beschädigung der Membran (Ziegenmeyer, 1989; Dittgen, 1997). Dadurch ist eine kontrollierte Dosierung nicht mehr gegeben, und es kann zu Überdosierungen kommen, da die geschwindigkeitskontrollierende Barriere wegfällt.

Die Freigabekinetik der Membransysteme folgt dem 1. Fick'schen Diffusionsgesetz und ist, im Fall von Reservoirs mit suspendiertem Arzneistoff und nach Einstellung des Fließgleichgewichts nullter Ordnung. Der Arzneistoff wird also mit konstanter Geschwindigkeit freigesetzt. Dies gilt, solange die Konzentration im System konstant c_0 bzw. c_S (Sättigungskonzentration) bleibt.

Für den Anfang der Freisetzung durch die Membran mit Suspensionsreservoir lassen sich zwei Fälle unterscheiden: Die Membran ist mit Arzneistoff gesättigt, oder sie ist zu Anfang der Freisetzung leer. Im ersten Fall dauert es eine gewisse Zeit, bis sich die Membran halb entleert und sich ein Fließgleichgewicht eingestellt hat. Man spricht hier vom so genannten burst-effect. Im zweiten Fall, bei dem die Membran zu Beginn leer vorliegt, das heißt keinen Arzneistoff enthält, bezeichnet man die Zeit, die das System zum Aufbau des Fließgleichgewichts benötigt, als lag-time (Crank, 1975).

Für beide Fälle kann die gesamte Freisetzung mit der folgenden Gleichung beschrieben werden. Im Fall der lag-time ist die Gleichung mit dem zu subtrahierenden Term, beim burst-effect die Version mit dem Additions-Term anzuwenden.

$$Q_t = \frac{D \cdot F \cdot c_0}{d} \cdot \left(t \pm \frac{d^2}{6 \cdot D} \right) \quad \text{Gl. 2}$$

- Q_t = zur Zeit t freigesetzte Arzneistoffmenge
 D = Diffusionskoeffizient in der Membran bzw. den Poren
 F = Fläche der Membran bzw. der Poren (nichtgewundene Poren vorausgesetzt)
 c_0 = Konzentration im Reservoir
 d = Dicke der Membran
 t = Zeit

Zusätzlich zu den Werten in dieser Gleichung ist bei TDS mit unterschiedlichen Materialien von Membran und Reservoir der Verteilungskoeffizient VK zu berücksichtigen. Für beide Fälle (lag-time und burst-effect) ist der Arzneimittelfluss im steady-state gemäß 1. Fick'schem Gesetz also (Lippold, 1987):

$$\frac{dm}{dt} = \frac{D \cdot VK \cdot F}{d} \cdot c_0 \quad \text{Gl. 3}$$

Da auch die Haut eine Membran mit einem bestimmten Widerstand darstellt, die keinen Arzneistoff enthält, ergibt sich bei Anwendung von TDS in vivo immer der Fall einer lag-time, bevor sich der Gleichgewichtszustand einstellt.

1.4.2. Matrix-Typ

Bei Matrixsystemen liegt der Arzneistoff in einem festen Polymer vor, entweder gelöst oder meist heterogen als Suspension oder in Form von zahlreichen Mikrokompartmenten. Wie in Abb. 4 dargestellt, bestehen die Matrix-TDS aus einem Laminat aus einer nach außen begrenzenden Abdeckschicht, der

eigentlichen Matrix mit Arzneistoff, einer Klebeschicht und darauf einer vor Applikation abzuziehenden Schutzschicht (RL) (Lipp, 2000). Die Matrix kann auch selbstklebend sein, die Klebeschicht fällt dann weg. Die Freisetzung bei Matrixsystemen folgt \sqrt{t} -Kinetik.

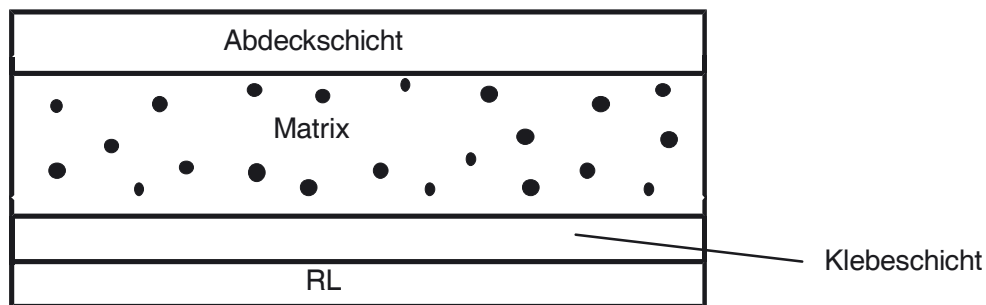


Abb. 4: Matrix-TDS

Die Herstellung der eigentlichen Matrix ist auf verschiedene Arten möglich: Der Arzneistoff kann gemeinsam mit dem Polymer in einem organischen Lösungsmittel gelöst werden, das anschließend bei erhöhter Temperatur und zum Teil bei reduziertem Druck entfernt wird (solvent evaporation, z.B. Hoffmann, 1991). Eine andere Möglichkeit besteht darin, die Wirkstoffpartikel in einem bei höherer Temperatur erweichten Träger einzuarbeiten und die Mischung dann bei Raumtemperatur erstarren zu lassen (hot melt-Technik). Beim Extrusionsverfahren werden der Arzneistoff und die Matrixsubstanz mittels hoher mechanischer Energie gemischt und ausgewalzt. Schließlich kann man den Arzneistoff in einem viskosen flüssigen oder halbfesten Träger dispergieren, der anschließend einer Polymerisation unterzogen wird (z.B. Silikonmatrix).

Bei den Systemen mit Mikroreservoir wird der Arzneistoff in einer hydrophilen Phase (z.B. PEG 400 mit Isopropylpalmitat) dispergiert und dann mit Hilfe hoher mechanischer Energie in den lipophilen Träger (in der Regel Silikon) eingearbeitet. Dabei entstehen Mikrokompartimente in einer Größenordnung von $<100 \mu\text{m}$ (Ziegenmeyer, 1989; Dittgen, 1997).

Um eine für das Pflaster richtige Größe zu erreichen, kann die entstehende Matrix zum Erhärten in spezielle Formen ausgegossen und anschließend mit den anderen Schichten verbunden werden. Im Produktionsmaßstab ist jedoch ein Ausstreichen oder Ausgießen durch spezielle Gießvorrichtungen (Rakel) mit anschließendem Übereinanderschichten zum Laminat und Stanzung zur Pflastergröße gängiger.

Bei Matrix-TDS kann es abweichend von der klassischen \sqrt{t} -Kinetik zu verschiedenen Freisetzungskinetiken kommen, bei denen die Geschwindigkeit nicht durch Diffusion aus der Matrix, sondern durch eine zusätzliche Membran, durch eine langsame Auflösegeschwindigkeit des Wirkstoffs oder durch Eindringen von Quellungsflüssigkeit und Fortschreiten der Quellungsfront mit eventueller Relaxation (case II oder super case II) bestimmt wird (Lippold, 1991; Jacques, 1974). Hier soll nur die Kinetik von Matrixsystemen behandelt werden, bei denen die Diffusion aus der Matrix die Freisetzung steuert. Die angeführten Gleichungen gelten also nur für hydrophobe, nicht quellbare Polymermatrices und für hydrophile, die vorgequollen sind oder so schnell quellen, dass das Fortschreiten der Quellungsfront den Freisetzungsvorgang nicht beeinträchtigt. Der Freisetzungsprozess aus Matrixsystemen ist mathematisch komplizierter als der von Membransystemen. Abgesehen von der Abhängigkeit der Diffusionsgeschwindigkeit vom Konzentrationsgefälle und dessen zeitlicher Abnahme bei nicht gesättigten Systemen muss beachtet werden, dass die Freisetzungsgeschwindigkeit auch mit zunehmendem Weg, den der heraus diffundierende Arzneistoff durch die Matrix zurücklegen muss, abnimmt. Die pro Zeiteinheit freigesetzte Arzneistoffmenge ändert sich dabei gemäß des 2. Fick'schen Gesetzes, das eine Ableitung des 1. nach dem Weg x ist:

$$\frac{dc}{dt} = \frac{d}{dx} \left(D \cdot F \cdot \frac{dc}{dx} \right) \quad \text{Gl. 4}$$

Anschaulich lässt sich dies anhand von Abbildung 5 verdeutlichen. Durch zunehmende Entleerung verlängert sich für den freiwerdenden Arzneistoff der

Diffusionsweg aus der Matrix in das Akzeptormedium. Durch Vergrößerung der Entleerungszone, in der sich ein linearer Konzentrationsgradient ausbildet, wird damit das Gefälle, also die treibende Kraft für die Diffusion, geringer.

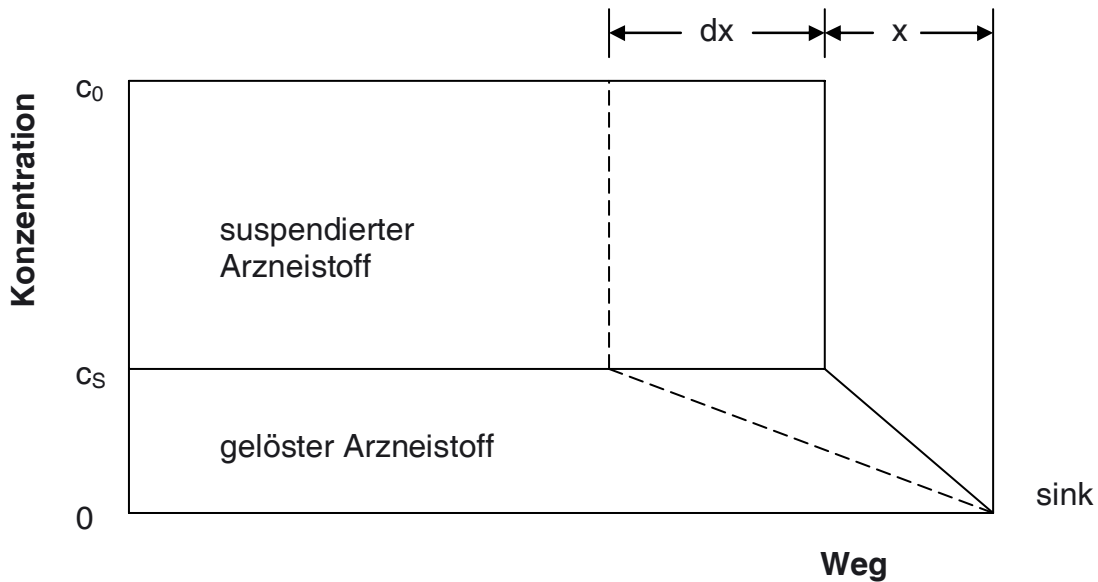


Abb. 5: Entleerungszonenvergrößerung dx

Für eine Matrix-Kinetik sind zwei Fälle zu unterscheiden, nämlich

- Lösungsmatrix und
- Suspensionsmatrix

Bei einer **Lösungsmatrix** liegt der Arzneistoff in der Matrix gelöst vor. Für diesen Fall stellt Crank (Crank, 1975) folgende Gleichung für die einseitige Diffusion eines Stoffes in einen sink auf:

$$Q_t = Q_\infty \cdot \left(1 - \sum_0^\infty \frac{8}{(2n+1)^2 \cdot \pi^2} \cdot e^{-\left(\frac{(2n+1)^2 \cdot \pi^2 \cdot Dt}{d^2}\right)} \right) \quad \text{Gl. 5}$$

Q_∞ = freigesetzte Stoffmenge zur Zeit $t \rightarrow \infty$ (entspricht Gesamtmenge)

Für kleine Zeiten (early time approximation) ergibt sich daraus eine Kinetik (freigesetzte Menge < 60 %), die der Beziehung folgt (Crank, 1977; Higuchi 1960 und 1962; Schneemann, 1983):

$$Q_t = Q_\infty \cdot 2 \cdot \sqrt{\frac{D}{\pi \cdot d^2}} \cdot \sqrt{t} \quad \text{Gl. 6}$$

Für große Zeiten (later time approximation, > 40 % freigesetzt) gilt:

$$Q_t = 1 - \frac{8}{\pi^2} \cdot e^{-\left(\frac{\pi^2}{d^2} \cdot Dt\right)} \quad \text{Gl. 7}$$

Übertragen auf ein System mit der Anfangskonzentration $c_0 = Q_\infty / (F \cdot d)$ geht Gleichung 6 in Gleichung 8 über. Diese Gleichung beschreibt den hier relevanten Anfangsbereich der Freisetzung bis ca. 60 % aus Lösungsmatrix-TDS.

$$Q_t = 2 \cdot F \cdot c_0 \cdot \sqrt{\frac{D}{\pi}} \cdot \sqrt{t} \quad \text{Gl. 8}$$

Trägt man Gleichung 7 und 8 gegen die Zeit auf, so erhält man zwei mögliche Kurven für die Freisetzungskinetik. Der Verlauf der gesamten Freisetzung entspricht einer Kombination beider Kurven, im Anfangsbereich nach Gleichung 7, im Endbereich nach Gleichung 8 (s. Abb. 6).

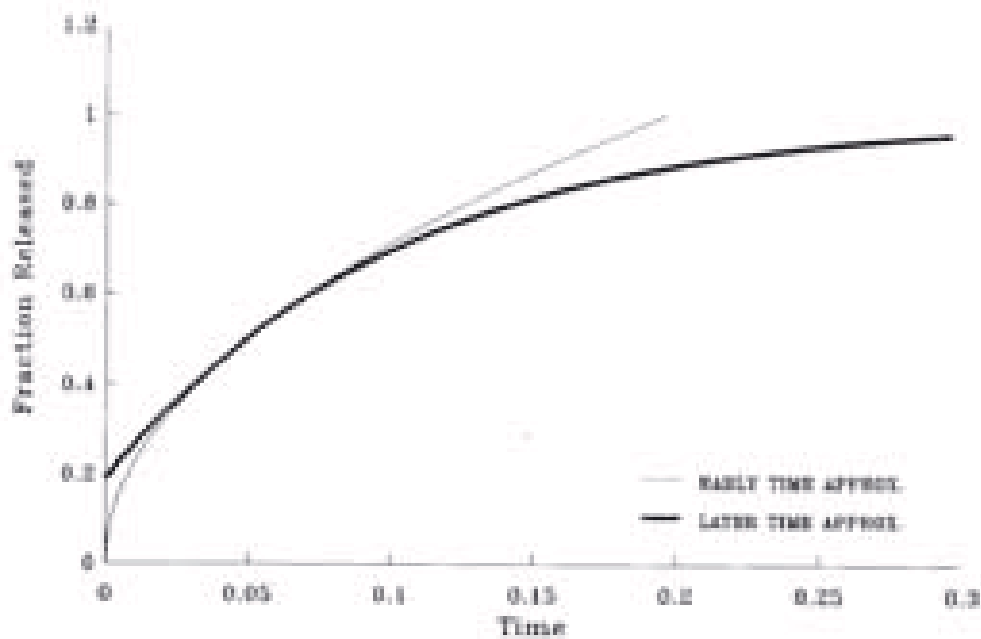


Abb. 6: Freisetzung aus einer Lösungsmatrix

Bei **Suspensionsmatrices**, also für Konzentrationen des Arzneistoffs in der Matrix (c_0) größer als die Sättigungskonzentration (c_s), wird allgemein die Beziehung von Higuchi (Higuchi, 1961) für eine einseitige Freisetzung aus planaren Systemen angegeben:

$$Q_t = F \cdot \sqrt{D \cdot c_s \cdot (2 \cdot c_0 - c_s)} \cdot \sqrt{t} \quad \text{Gl. 9}$$

Liegt eine noch größere Konzentration an suspendiertem Arzneistoff vor, ist also $c_0 \gg c_s$, so ist es einleuchtend, dass sich diese Gleichung vereinfachen lässt zu:

$$Q_t = F \cdot \sqrt{2 \cdot D \cdot c_s \cdot c_0} \cdot \sqrt{t} \quad \text{Gl. 10}$$

Bei einer Konzentration im System von $c_0 \rightarrow c_s$ führt Gleichung 10 zu einem Fehler von bis zu 11,3 % Abweichung vom exakten Wert.

Eine für alle Verhältnisse von c_0/c_s gültige Beziehung liefert Lee (Lee, 1992):

$$Q_t = \sqrt{D} \cdot c_s \cdot \left(\frac{1+H}{\sqrt{3 \cdot H}} \right) \cdot \sqrt{t}$$

Gl. 11

mit

$$H = 5 \cdot \frac{c_0}{c_s} - 4 + \sqrt{\left(\frac{c_0}{c_s} \right)^2 - 1}$$

Sowohl für Lösungs- als auch für Suspensionsmatrices gilt, dass alle Gleichungen, die auf diese Arzneiformen angewendet werden können, eine lineare Beziehung zwischen der kumulativen Menge freigesetzten Arzneistoffs und der Wurzel aus der Zeit beschreiben.

TDS dieses Typs setzen also in keiner Phase konstant, sondern immer nach \sqrt{t} -Kinetik frei. Teilbereiche, wie z.B. der Anfangsbereich, sind bei dieser Kinetik aber nahezu linear, was bei derartigen Abgabesystemen in der Praxis ausgenutzt wird. Anfangsbereich heißt im Falle der meisten Matrixpflaster, dass zwischen 4 bis maximal 20 bis 30 % des Arzneistoffs in der Praxis freigesetzt werden, der Rest verbleibt nach der Applikationsdauer im Pflaster (Wolff, 1985; Hadgraft, 1996).

1.5. Transmukosal-Systeme

Möglich ist auch eine transmukosale Applikation von Arzneistoffen auf der Mundschleimhaut (3m-Firmenliteratur, 2000; Schaberg, 2003; Bénès, 1997; Boddé, 1992). Diese stellt je nach Lokalisation eine mehr oder weniger deutlich verringerte Barriere im Vergleich zum Stratum corneum dar (Dittgen, 1997). Dadurch ist sowohl ein schnellerer Anstieg der Plasmakonzentration als auch ein schnellerer Abfall nach Entfernen des Systems aufgrund von geringerem Gewebedepot-Effekt (Prausnitz, 1996) zu erreichen.

Zu beachten sind dabei sowohl die zusätzlich mögliche, eventuell erwünschte Resorption in der Mundhöhle, falls das Pflaster keine Diffusionsbarriere nach außen hat, als auch die zusätzlichen technologischen Anforderungen an ein System, das im ständig feuchten Milieu haften und gesteuert freisetzen muss.

Für diese Art von Systemen ist ein hydrophiler Träger wie Gelatine besonders geeignet.

1.6. Materialien

Bei den Membran-TDS enthält das Reservoir häufig Ethanol zur Penetrationsbeschleunigung (McDaid, 1996) und ein Viskosierungsmittel (z.B. Hydroxypropylcellulose). Die Membran ist meist ein Poly-Ethylen-Vinylacetat-Copolymer, die zusätzliche Klebstoffschicht besteht in der Regel aus Silikon oder Polyisobutylen.

Das Gerüst der Matrix-TDS kann entweder selbstklebendes Polyisobutylen sein, aus Polyacrylaten oder deren Copolymerisaten mit Polyacrylamid und Polyvinylacetat bestehen oder aus Silikonelastomeren oder Styrol-Isopren-Copolymer aufgebaut sein (Lipp, 2000).

Bei beiden Typen besteht die Abdeckschicht aus Polyestern, Polyethylenterephthalat oder Laminaten mit Aluminiumfolie.

2. Zielsetzung und Vorgehensweise

Transdermale Systeme sind aufgrund ihrer Vorteile eine interessante Arzneiform zur kontinuierlichen Zufuhr von Wirkstoffen in den Organismus.

Im Rahmen dieser Arbeit wird nach einer Möglichkeit gesucht, TDS vom Matrix-Typ so herzustellen, dass ein Großteil des eingebetteten Arzneistoffs in etwa konstant freigesetzt wird. Als einfach zu verarbeitender Gerüstbildner wird Gelatine eingesetzt. Die untersuchten Gelatinefilme sollen durch einfaches Lösen der Gelatine mit anschließendem Ausgießen und Trocknen unter verschiedenen Bedingungen entstehen. Durch Zugabe von strukturbeeinflussenden Zusätzen soll die Gelatine verdichtet, ihr Lösungsverhalten verbessert und ihre Quellung erniedrigt sowie der Diffusionskoeffizient von Arzneistoffen in den Gelatinefilmen und damit die Freisetzungsrates aus den Matrices verringert werden.

Zu Beginn der Arbeit werden die strukturellen Eigenschaften der Gelatine und ihre Beeinflussung durch unterschiedliche Methoden (z.B. Härtung) evaluiert. Dabei gilt es herauszufinden, wie das Quellungsverhalten zu steuern ist und wie sich Veränderungen der Struktur (messbar mit Hilfe der DSC) erzeugen lassen. Beide Eigenschaften haben einen Einfluss auf den Diffusionswiderstand, messbar in Form des Diffusionskoeffizienten und des späteren Freisetzungsverhaltens aus den Gelatinematrixes.

Versuche zur Diffusion des Modellarzneistoffs Theobromin durch gegossene Gelatinefilme werden durchgeführt, um Zusammenhänge zwischen der Struktur und der Quellung der Filme sowie der Diffusionsrate bzw. dem Diffusionskoeffizienten des Arzneistoffs aufzudecken. Dabei werden auf unterschiedliche Art hergestellte Gelatinefilme eingesetzt.

Bei den folgenden Freisetzungsuntersuchungen werden Gelatinematrixes mit Arzneistoff beladen, um dessen Freisetzungskinetik zu untersuchen. Die dabei ermittelten Diffusionskoeffizienten werden mit den Ergebnissen der Versuche zur Diffusion durch Filme verglichen.

Um das Ziel der Arbeit zu erreichen, Gelatinematrices mit annähernd linearem Freisetzungsprofil herzustellen, soll ein stufenweiser Konzentrationsgradient an gelöstem Arzneistoff in die Matrix eingebaut werden. Vorschläge und Untersuchungen dazu finden sich vereinzelt in der Literatur (Wolff, 1985; Merkle, 1985). Dabei wird auf bisher pharmazeutisch nicht genutzte Methoden der Herstellung mehrschichtiger Systeme zurückgegriffen.

3. Gelatine

3.1. Grundlagen

Gelatine ist ein Polypeptidgemisch, das durch partielle alkalische oder saure Hydrolyse aus Gewebe und Knochen gewonnen wird. Für den Gelatine Typ A (acid) kommen Schweineschwarten, für den Typ B (basic) vor allem Knochen, Haut, Knorpel und Sehnen vom Rind zum Einsatz. Bei beiden Typen erfolgt eine Säurebehandlung, um das nicht stark vernetzte oder bereits aufgeschlossene Kollagen wasserlöslich zu machen. Bei dem alkalischen Aufschluss werden freie Säureamidgruppen des Glutamins und Asparagins hydrolysiert. Die unterschiedlichen Ausgangsmaterialien und Behandlungen führen zu unterschiedlichen Eigenschaften der resultierenden Gelatine. So unterscheiden sich die isoelektrischen Punkte, der von Typ A liegt zwischen pH 8,0 und 9,0, der des basisch hydrolysierten Typs B bei 4,8-5,4 (Gelita, 2002).

Die Zusammensetzung der Gelatine variiert je nach Art und Alter der Rohstoffe. Ausgangsstruktur ist das Tropokollagen, eine Helix aus drei Polypeptidketten. Jede dieser drei α -Ketten hat ein Molekulargewicht von 95000 Dalton und besteht aus ca. 1052 Aminosäuren, die in Aminosäuretripletts aneinandergereiht sind. Die erste Aminosäure ist dabei jeweils Glycin (Himmelman, 1977). Glycin ist mit ca. 35 % Hauptbestandteil, gefolgt von Prolin und Hydroxyprolin (zusammen 22 %) (Rose, 1977; Himmelman, 1973). Diese drei Aminosäuren sind für die Ausbildung der kristallinen Helixstruktur verantwortlich. Weitere 20 % bestehen aus den ionischen Aminosäuren Arginin, Lysin, Hydroxylysin, Glutaminsäure und Asparaginsäure (Rose, 1977; Himmelman, 1973). Neben den monomeren α -Ketten existieren auch dimere β - und trimere γ -Einheiten (Rose, 1977).

Der Einsatz von Gelatine erfolgt vor allem aufgrund ihrer temperaturabhängigen reversiblen Gelbildung. Pharmazeutisch findet sie Anwendung als Hauptbestandteil von Weich- und Hartgelatinekapiteln, als konsistenzgebende

Substanz bei Vaginalglobuli und Hydrogelen, zur Herstellung von Mikrokapseln, als Bindemittel zur Granulat- und Tablettenherstellung sowie als viskositätserhöhender Zusatz zur Stabilisierung von Emulsionen und Suspensionen (Koepff-Hinrichs, 1974).

Gelatine wird im Rahmen dieser Arbeit als Grundsubstanz zur Herstellung der Gelatinefilme und im weiteren Verlauf als Gerüstbildner für die Gelatinematrices eingesetzt. Die Auswahl als hydrophile Modellsubstanz erfolgt aufgrund der einfachen Verarbeitungsmöglichkeit von Gelatine. Die Sicherheit im Hinblick auf die Übertragung von Krankheiten wie TSE (Transmissible Spongiform Encephalopathy) wird aufgrund des Herstellungsprozesses im Zusammenhang mit einer gezielten Tierausswahl als ausreichend angesehen (Scientific Steering Committee, 2003).

Soweit nicht anderweitig bezeichnet, findet im Rahmen dieser Arbeit Gelatine vom Typ B Anwendung.

3.2. Härtung

3.2.1. Einfluss auf Eigenschaften

Durch Zusatz von vernetzenden Substanzen werden verschiedene Gelatineketten kovalent miteinander verbunden. Dabei entstehen inter- (zwischen zwei) oder intracatenare (innerhalb einer Kette) Verbindungen. Reaktiv sind die freien Carboxyl- sowie die Amino-, Amid- und Guanidinogruppen. Den ϵ -Aminogruppen von Lysin und Hydroxylysin kommt dabei die größte Bedeutung zu. Die Härtung verändert entscheidend die Eigenschaften der resultierenden vernetzten Gelatine:

- Erhöhung des Molekulargewichts
- Verlust der Wasserlöslichkeit („kochfest“, unlöslich bis 100 °C)
- Verminderung der Quelfähigkeit
- Erhöhung der mechanischen Stabilität
- Veränderung der Tertiärstruktur

Härtung erfolgt in der Regel in wässriger Lösung. Zwischen den diversen Möglichkeiten der Vernetzung bestehen erhebliche Unterschiede in der Stabilität der Verknüpfungen, der nötigen Reaktionszeit und damit auch der Art der Anwendung. Grob kann unterschieden werden in Härter, die zwei Aminogruppen der Gelatine vernetzen und solchen, die Carboxylgruppen aktivieren, die dann mit Aminogruppen zu Amiden weiterreagieren.

Vernetzenden Effekt haben auch anorganische Salze wie Chrom- oder Aluminiumsalze. Im Folgenden werden jedoch vor allem die organischen Substanzen behandelt, die praktisch in der Gelatine verarbeitenden Industrie (Pharma/Photo) eine Rolle spielen.

3.2.2. Aminogruppen vernetzende Reagenzien

Härter dieser Gruppe reagieren mit Amino-, Amid- oder Guanidinogruppen und vernetzen so Polypeptidketten. Dabei werden meist zwei Aminogruppen oder eine Amino- und eine Amidgruppe miteinander über unterschiedlich lange Brücken des im Polypeptid verbleibenden Härters verknüpft.

Das am längsten verwendete und bekannteste Reagenz ist Formaldehyd. Formaldehyd reagiert mit einem freien Amin der Gelatine zu Kollagen-Imin, dann weiter mit einem Amid oder einem weiteren Amin. Es verbleibt eine C1-Brücke im Polypeptid. Die Vernetzung mit Formaldehyd verläuft sehr langsam und resultiert in instabilen, teilweise reversiblen Verknüpfungen (Khor, 1996).

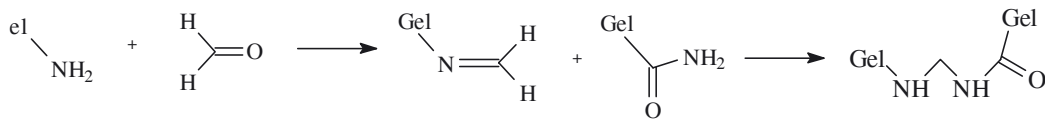


Abb. 7: Reaktion von Formaldehyd mit Gelatine (Gel.)

Sehr viel schneller und stabiler reagieren Dialdehyde wie Glyoxal, Malon-, Succin-, Glutar- und Adipdialdehyd. Dabei kommt vor allem Glutaraldehyd zum Einsatz, das 3600fach schneller als Formaldehyd reagiert (Gratzer, 1996; Jayakrishnan, 1996; Burness, 1977). Die Dialdehyde verknüpfen zwei freie Aminogruppen durch Bildung einer Schiffschen Base über unterschiedlich lange Kohlenstoffbrücken. Bei dem auch in dieser Arbeit eingesetzten Glutardialdehyd entsteht eine C5-Brücke (Abb. 8). Nach erfolgter Härtung kann durch Zugabe von Glycin überschüssiges Reagenz abgefangen werden (Friess, 1996/1998).

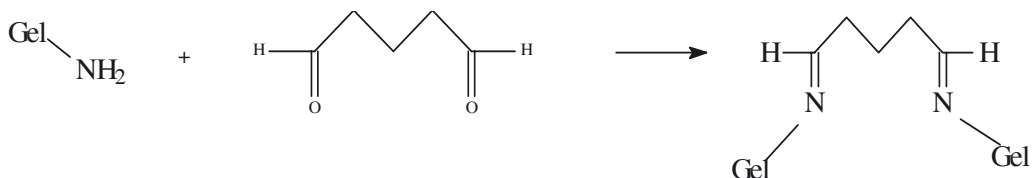


Abb. 8: Reaktion von Glutardialdehyd mit Gelatine

Die Reaktion mit Glyoxylsäure, der einfachsten Aldehydcarbonsäure, findet bei 60 °C und leicht alkalischem pH-Wert statt (Teuber, 1980). Auch dabei werden die basischen Gruppen der Gelatine vernetzt.

Di-Isocyanate, das heißt Verbindungen mit zwei endständigen Isocyanatgruppen, sind in wässrigem Milieu sehr reaktiv und werden daher vor allem aus organischen Lösungsmitteln eingesetzt. Dabei reagiert je eine Isocyanat-Gruppe mit einer freien Aminogruppe der Gelatine zu Harnstoffverbindungen. Die verbleibende Vernetzung ist über die Kettenlänge zwischen den Isocyanatgruppen variierbar.

Da auch Epoxy-Gruppen mit freien Aminen reagieren, werden auch Poly-(Di-) Epoxyverbindungen zur Härtung eingesetzt. Dabei kann zum Beispiel ein an C1- und an C3- mit 2,3-Epoxypropylen verethertes Glycerol zum Einsatz kommen. Die Vernetzungsbrückenlänge ist durch das Grundgerüst und die Seitenketten variierbar. Die Reaktion erfolgt verhältnismäßig langsam (Khor, 1996).

Hydroxy-Dichlor-Triazin, das sich im Wässrigen aus Trichlor-Triazin bildet, vernetzt Gelatine ebenfalls über freie Aminogruppen, die die Chloratome am Heterozyklus ersetzen, wodurch das aromatische Triazin als vernetzende Brücke verbleibt.

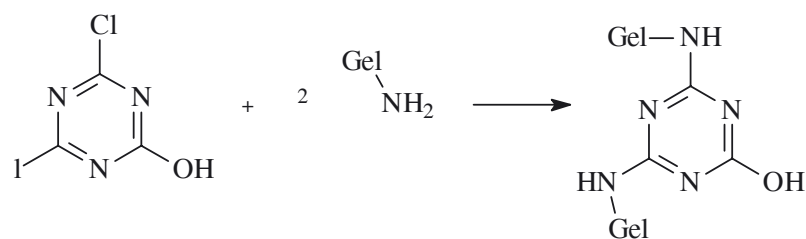


Abb. 9: Reaktion von Hydroxy-Dichlor-Triazin mit Gelatine

Die Reaktion verläuft deutlich schneller als bei Triacrylformal, welches über einen anderen Mechanismus vernetzend wirkt. Das an den drei Stickstoffen mit

Acrylsäure amidierende 1,3,5-Triazinan reagiert über die Vinylgruppen in den Seitenketten mit freien Aminogruppen des Kollagens. Der Heterozyklus verbleibt als Brücke im Kollagengerüst. Die Geschwindigkeit ist stark pH-abhängig, bei pH 5-7 eher langsam, im Alkalischen schneller (Himmelmann, 1977).

Die am schnellsten reagierenden Verbindungen dieser Klasse sind die Bis-Vinylsulfone (Himmelmann, 1977; Nakamura, 2000), die Polypeptide wie Triacrylformal in einer nukleophilen Addition über die endständige Doppelbindung jeweils mit einer freien Aminogruppe vernetzen. Die Länge der verbleibenden Vernetzungsbrücke ist über die Länge der Kette zwischen den Vinylsulfongruppen (Abb. 10: -CH₂-) variierbar.

Die in Abbildung 10 dargestellte Verbindung ist der in dieser Arbeit hauptsächlich eingesetzte Härter.

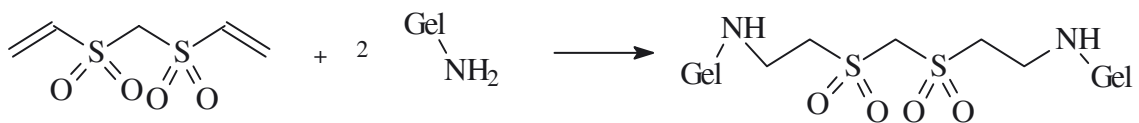


Abb. 10: Reaktion von Bisvinylsulfonen mit Gelatine

3.2.3. Aktivierende Reagenzien

Aktivierende Härtungsreagenzien fungieren als Reaktionsaktivatoren. Sie aktivieren Carboxylgruppen der Gelatine, die dann mit freien Aminogruppen amidische Bindungen eingehen und so die Gelatine vernetzen. Die Reagenzien werden nicht eingebaut, und ihre Reaktionsprodukte können nach der Aktivierungsreaktion ausgewaschen werden.

Diese Verbindungen reagieren in der Regel deutlich schneller als die vernetzenden. Da die Aktivierungsreaktion sehr schnell vonstatten geht, ist eine Vernetzung in wässrigen Gelatinelösungen ungünstig, da die resultierenden Verbindungen mangels nahem Reaktionspartner teilweise ineffizient zerfallen (Himmelmann 1977). Diese aktivierenden Härter werden daher in der Regel

über Gelatinefilme gegossen. Entscheidend ist dann das Verhältnis der Härtungsgeschwindigkeit zur Trocknungsgeschwindigkeit.

Salze des Isoxazols, bei denen der aromatische Stickstoff substituiert und damit quartär ist, reagieren nach Ringöffnung mit einer freien Carboxygruppe der Gelatine zu einem Ester. Diese aktivierte Gruppe reagiert dann weiter mit einer freien Aminogruppe der Gelatine zu einem inneren Amid.

Carbodiimide aktivieren freie Carboxygruppen und reagieren dann mit einer freien Aminogruppe unter Abspaltung eines Harnstoffderivats zu einem inneren Amid. Sie kommen sowohl zur Vernetzung von Gelatine und Kollagen (Kuijpers, 1999; Olde Damink, 1996; van Wachem, 1994), als auch bei Reaktionen zur Bindung von aktiven Proteinen (Valuev, 1997) zum Einsatz.

Die Reaktion erfolgt sehr schnell. Steht nicht sofort eine freie Aminogruppe zur Verfügung, zerfallen sie (Himmelmann, 1977).

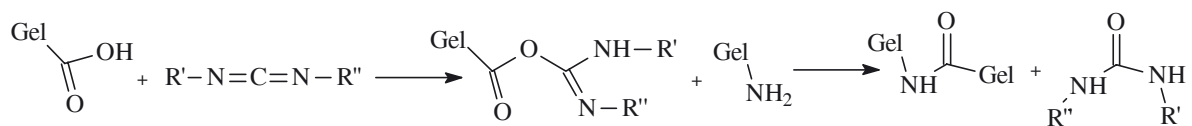


Abb. 11: Gelatinehärtung mit Carbodiimiden

Carbamoylpyridiniumsalze reagieren mit einer freien Carboxygruppe unter Abspaltung von Pyridin zu einem Anhydrid, das dann mit einer Aminogruppe zu einem inneren Amid weiterreagiert. Auch sie sind sehr reaktiv.

3.3. Charakterisierung

3.3.1. Differential Scanning Calorimetry

Die Differential Scanning Calorimetry (DSC) ist ein thermisches Analyseverfahren, mit dem man die Eigenschaften einer Substanz in Abhängigkeit von der Temperatur ermitteln kann. Die Messung der Wärmeaufnahme oder -abgabe der Probe, während sie ein Temperatur-Zeit-Programm durchläuft, lässt auf physikalische Eigenschaften wie Schmelz- und Erstarrungspunkt, Siede- und Taupunkt sowie Glasübergangstemperatur schließen. Auch die Temperatur, bei der Kristallisation auftritt oder die Substanz in Lösung geht, kann bestimmt werden.

Generell unterscheidet man zwei unterschiedliche Messmethoden, bei denen der Wärmestrom von einer Probe zu einer Referenz gemessen wird: Leistungskompensations-DSC und Wärmestrom-DSC. Bei der Leistungskompensations-DSC befinden sich Probe und Referenz in zwei separaten Öfen, in denen die Temperatur gleichzeitig konstant erhöht wird. Um eine gleichmäßige Temperatur in den Probengefäßen zu erreichen, ist bei Phasenübergängen der Probe mehr oder weniger Energie notwendig als bei der Referenz. Dabei wird direkt die Wärmestromdifferenz bestimmt.

Bei der im Rahmen dieser Arbeit eingesetzten Wärmestrom-DSC befinden sich Probe und Referenz in einem Ofen, und die Temperaturdifferenz zwischen ihnen wird bestimmt. Ist der thermische Widerstand der Messzelle bekannt, lässt sich über die Temperaturdifferenz der Wärmestrom berechnen. Solange in der Probe keine Phasenänderungen stattfinden, ist diese Temperaturdifferenz konstant. Findet jedoch ein Phasenübergang statt, dann ändert sich die Temperaturdifferenz, die Temperatur der Probe folgt nicht weiter dem eingestellten Temperaturprogramm der DSC.

Bei Zustandsänderungen der Probe gibt die Wärmestromdifferenz Auskunft über die freigewordene oder verbrauchte Energie. Dadurch lassen sich

Rückschlüsse auf die Art der Zustandsänderung sowie den Ursprungszustand bei Ausgangstemperatur ziehen.

3.3.2. Quellung und Wasserdampfsorption

Quellungsstudien und Untersuchungen zur Wasserdampfsorption dienen bei Gelatine häufig der Bestimmung von strukturellen Veränderungen (Teuber, 1990). So kann auch eine Aussage über den Härtegrad gemacht werden. Die Wasseraufnahme sollte dabei mit zunehmender Vernetzung abnehmen. Für Diffusionsversuche ist der Hydratationsgrad entscheidend, da mit zunehmendem Wassergehalt die Barrierefunktion von Hydrogelen abnimmt, der Diffusionskoeffizient also größer wird. Um Lagerungsstabilitäten vorhersagen zu können, ist der Wassergehalt bei verschiedenen relativen Feuchten wichtig.

Quellung ist mit Hilfe gravimetrischer Methoden oder Dickenbestimmungen analysierbar. Für Untersuchungen zur Wasserdampfsorption können Sorptions- und Desorptionsisothermen manuell und auch wie überwiegend in dieser Arbeit automatisch aufgenommen werden, indem bei definierter Temperatur die relative Feuchte stufenweise jeweils bis zur Gewichtskonstanz verändert wird (Melia, 1985).

Beide Methoden werden im Rahmen dieser Arbeit eingesetzt.

3.3.3. Diffusion

Durch Diffusionsversuche wird die Permeabilität bzw. der Diffusionskoeffizient einer Substanz durch eine bzw. in einer Membran untersucht. Dabei kann man sich bei kleinem Akzeptor- und/oder Donatormedium einer Franz-Diffusionszelle bedienen. Diese besteht aus zwei Glaskammern, zwischen denen die zu untersuchende Membran eingespannt wird. In eine Kammer wird Akzeptormedium, in die andere eine Lösung der zu untersuchenden Substanz (Donator) eingefüllt. Durch Messung der Konzentrationsänderung über die Zeit lässt sich mit Hilfe des 1. Fick'schen Gesetzes (Gl. 3) der Diffusionskoeffizient bestimmen.

3.3.4. Freisetzung

Freisetzungsuntersuchungen finden bei Herstellern von Transdermalsystemen in der Regel nur in der Qualitätskontrolle statt, um Chargenhomogenität und -konformität nachzuweisen (Gummer, 1989; Lohmann, 2000). Für die Generierung von pharmakokinetisch relevanten Daten über die Resorption aus Pflastern werden Diffusionsversuche z.B. durch Membranen oder haarfreie Maushaut, die das Stratum corneum der menschlichen Haut simulieren sollen, durchgeführt (McDaid, 1996; Walters, 1989). Das beruht auf der Tatsache, dass die Freisetzung aus dem System häufig nicht der geschwindigkeitsbestimmende Schritt bei der praktischen Anwendung ist, sondern die Penetration durch das Stratum corneum (s. B 1.3.).

Im Europäischen Arzneibuch sind mehrere Methoden zur Wirkstofffreisetzung aus Transdermalen Pflastern beschrieben (2.9.4 Ph. Eur.). Das sind die Freisetzungsscheibe, die Extraktionszelle und der rotierende Zylinder. Aufgrund der auch bei dickeren Filmen ausschließlich stattfindenden Diffusion nach oben aus den zu prüfenden TDS heraus wird in dieser Arbeit eine abgewandelte Form der Extraktionszelle verwendet (s. D 4.1.). Im Gegensatz zu den anderen Prüfmethode n kann dabei auch aus der Randregion heraus keine fehlerhafte Diffusion stattfinden.

C UNTERSUCHUNGEN UND ERGEBNISSE

1. Modellarzneistoff Theobromin

Der Modellarzneistoff sollte so gewählt werden, dass ein optimales, unproblematisches Arbeiten gewährleistet, eine einfache Detektion möglich und Interaktionen zur Gelatine ausgeschlossen sind. Weiterhin sollte der Arzneistoff den Kriterien der theoretisch vorstellbaren Zielarzneistoffe für eine praktische Anwendung entsprechen.

Dies betrifft vor allem die Löslichkeit des Arzneistoffs in wässrigen Medien, das Vorhandensein von Strukturelementen, die eine einfache UV-Detektion erlauben, keine ionischen bzw. stark sauren oder basischen Gruppen, die mit der Gelatine interagieren könnten, sowie Eigenschaften wie Molekulargewicht und Verteilungskoeffizient, die den Voraussetzungen für transdermale Therapie entsprechen (s. B 1.2.).

Als Modellarzneistoff wird Theobromin ausgewählt. Theobromin (3,7-Dimethylxanthin) ist der Hauptinhaltsstoff der Kakaopflanze *Theobroma Cacao* (Sterculiaceae). Wie Coffein und Theophyllin blockiert Theobromin vor allem Adenosinrezeptoren, wirkt dadurch positiv chronotrop und inotrop und hebt den Sympatikustonus. In deutlich höheren Konzentrationen hemmen Methylxanthine auch die Phosphodiesterase, die den Abbau von cAMP bremst.

Die relevanten Substanzeigenschaften des eingesetzten Theobromins sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tab. 1: Substanzeigenschaften von Theobromin

Theobromin		
C ₇ H ₈ N ₄ O ₂		
Molekulargewicht	180,2	Ph. Eur.
Schmelzpunkt	352°C	Sicherheitsdatenblatt
Löslichkeit c _S (25°C)	39,3 mg/100 ml	eigene Untersuchungen
Löslichkeit c _S (32°C)	66,5 mg/100 ml	eigene Untersuchungen
Partikelgröße, x ₅₀ (wie bezogen)	17,9 µm	eigene Untersuchungen
Partikelgröße, x ₅₀ (Luftstrahlmühle)	1,8 µm	eigene Untersuchungen
Absorptionsmaximum (Wasser)	273 nm	eigene Untersuchungen

2. Untersuchungen an Gelatinefilmen

Soweit nicht anders spezifiziert sind alle Gelatinefilme in dieser Arbeit aus Gelatine Typ B hergestellt. Die von der Gelatinefabrik Heilbronn bezogene Gelatine (Typ Z KN 807) hat gemäß Herstellerangaben folgende Eigenschaften: Sie weist einen pH-Wert (6,67 % in Wasser, 45 °C) und einen IEP von 5,1 auf, hat in 10%iger Lösung bei 40 °C eine Viskosität von 25,8 mPas und eine Gelfestigkeit nach Bloom (6,67 %, 10 °C) von 251 g.

Die gegossenen Filme, die untersucht werden, haben in der Regel eine Dicke von 100 µm oder sind auf diese Dicke normiert.

2.1. Untersuchung zur Struktur

Bei der Gelierung erreichen die Gelatineketten eine gewisse Ordnung. Bei dieser Sol-Gel-Umwandlung bilden sich erst geordnete Bereiche, in denen die Polypeptidketten in eine Einzelhelixstruktur übergehen. Drei dieser Einzelhelices (α -Ketten) aggregieren dann zu Tripelhelices, die für die Ausbildung des drei-dimensionalen Netzwerks verantwortlich sind (s. Abb. 15). Die Strukturbildung beruht hauptsächlich auf Wasserstoffbrückenbindungen zwischen einzelnen Polypeptidketten. Der Anteil Tripelhelices am Gelgerüst beträgt ca. 20 %.

Das Vorhandensein und das Ausmaß dieser strukturellen Ordnung können mit Hilfe der Differential Scanning Calorimetry (DSC, siehe B 3.3.1.) untersucht werden (Borchard, 1976; Reich, 1994-1996; Friess 1996 und 1998; Bigi, 1998; Schubnell, 2001).

Tripelhelix-Bereiche in Polymeren haben kristallinen Charakter. Kristalline Substanzen zeigen in DSC-Messungen einen Schmelzpunkt (T_m), an dem bei Polymeren die Umwandlung der Helix-Struktur in eine Knäuelstruktur (helix-to-coil transition) stattfindet. Der Schmelzpunkt ist durch eine sprunghafte Änderung der Enthalpie gekennzeichnet. Bei Auftragung der Temperatur gegen

den Wärmestrom wird dies durch einen endothermen Peak im DSC-Thermogramm dargestellt. Die Schmelztemperatur wird graphisch im Scheitelpunkt des Peaks ermittelt. Durch Integration des Wärmestroms über die Zeit oder die Temperatur lässt sich die Enthalpiezunahme der Probe und damit das Ausmaß an kristallinen Bereichen charakterisieren.

Die Polymerketten liegen im trockenen Film vor allem ungeordnet, in einer Art Knäuelstruktur vor. Nur Teile der Gelatine bestehen aus Tripelhelices. Die Zunahme der Beweglichkeit, das heißt der Übergang vom glasartigen in den gummi-elastischen Zustand bei einer bestimmten Temperatur, der Glasübergangstemperatur T_g (glass transition), kann ebenfalls mit der DSC bestimmt werden. Diese Phasenumwandlung ist durch eine Zunahme der Steigung der Enthalpie bei steigender Temperatur, also einer sprunghaften Veränderung der 1. Ableitung der Enthalpie gekennzeichnet. Die 1. Ableitung beschreibt die Wärmekapazität der Probe, die bei der T_g zunimmt. Im Thermogramm erkennt man eine endotherme Stufe, aus der die Glasübergangstemperatur graphisch als Mittelpunkt der Stufe ermittelt wird (Urbanetz, 1999; Zuleger, 2000; Rose, 1977; Friess, 1996; Reich, 1995).

Thermoanalytische Charakteristika sind stark von äußeren Bedingungen abhängig. Da Wasser mit einer T_g von -140 °C die Phasenumwandlungen von Polymeren deutlich erniedrigt und der Wassergehalt von Gelatine relativ hoch ist und stark variiert (siehe C 2.3.), ist eine Vorkonditionierung unerlässlich. Der Zusammenhang zwischen Wassergehalt und T_g beziehungsweise T_m ist in Abb. 12 dargestellt (Rose, 1977). Aufgrund dieses Einflusses werden alle Gelatinefilme vor den DSC-Messungen bei 60 % relativer Feuchte gelagert.

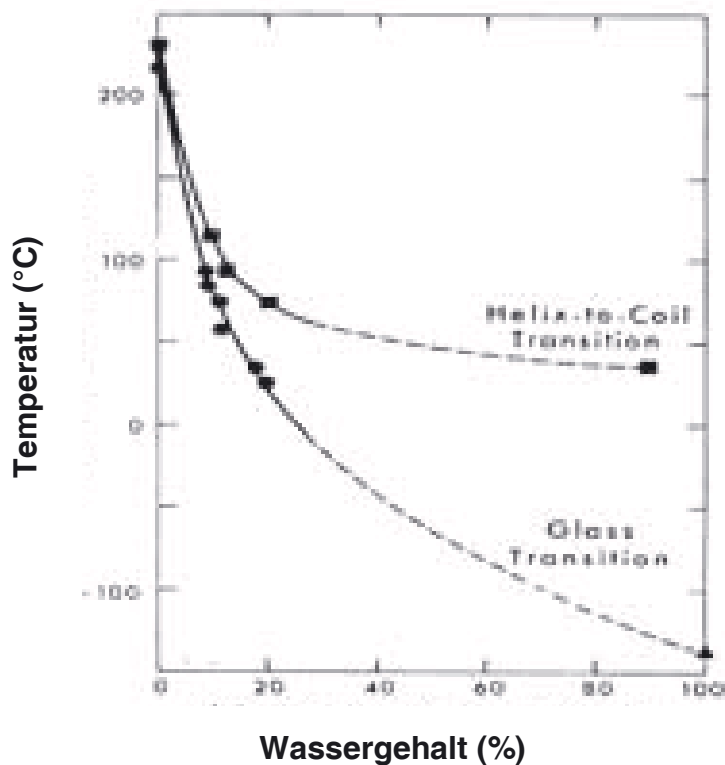


Abb. 12: Einfluss des Wassergehalts auf T_m und T_g von Gelatine (Rose, 1977)

Da davon auszugehen ist, dass die Art der Struktur einen Einfluss auf die Barrierefunktion für die Diffusion aus und durch die Gelatinefilme hat, werden verschiedene Einflussfaktoren auf die Ausbildung und Veränderung der thermoanalytischen Charakteristika geprüft.

2.1.1. Einfluss der Trocknungstemperatur

Der Einfluss der Trocknungstemperatur auf Gelatinefilme, die aus 10%igen Gelatinelösungen gegossen werden, wird untersucht. Dazu werden die Gelatinefilme bei 5, 20, 25, 30, 40 bzw. 60 °C getrocknet. Im Thermogramm zeigen alle Gelatinefilme einen charakteristischen Glasübergang zwischen 50 und 60 °C und einen Schmelzpeak bei ca. 90 °C. In Abb. 13 ist zu erkennen, dass dieser Schmelzpeak die Lage nicht verändert, jedoch mit steigender Trocknungstemperatur (T_{Tr}) immer kleiner wird.

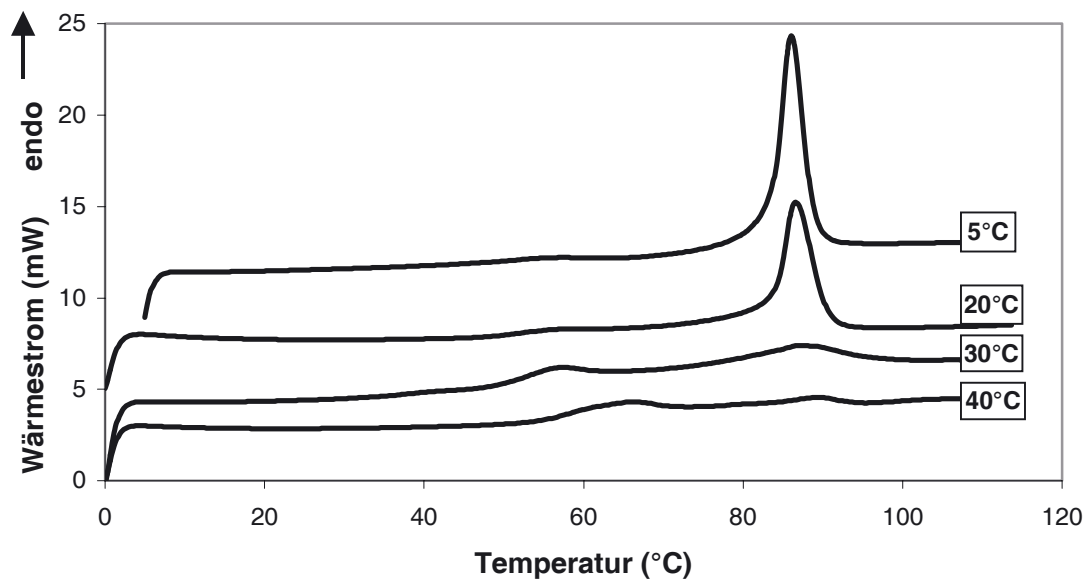


Abb. 13: DSC-Thermogramm von Gelatinefilmen, bei verschiedenen Temperaturen getrocknet; 5, 20 und 30 °C: parallel verschoben

Mit steigender Trocknungstemperatur sinkt also der Anteil an kristallinen Bestandteilen in der Gelatine, wobei der stärkste Abfall zwischen 25 und 40 °C zu beobachten ist. Bei höheren Trocknungstemperaturen fällt der Anteil an Tripelhelix-Bereichen gegen null, die Gelatinefilme liegen vollständig in Knäuelstruktur vor (Reich, 1995).

In Abb. 14 ist die Abnahme der aus den Schmelzpeaks berechneten Enthalpie dargestellt. Von der höchsten Schmelzenthalpie bei einer Trocknungstemperatur von 5 °C ($32,4 \pm 1,1$ J/g) fällt die Enthalpie bis zu einer Temperatur von 26 °C nur auf $20,9 \pm 1,0$ J/g ab. Danach reduziert sich der kristalline Anteil stark, bei 40 °C liegt die Schmelzenthalpie nur noch bei $1,3 \pm 0,6$ J/g.

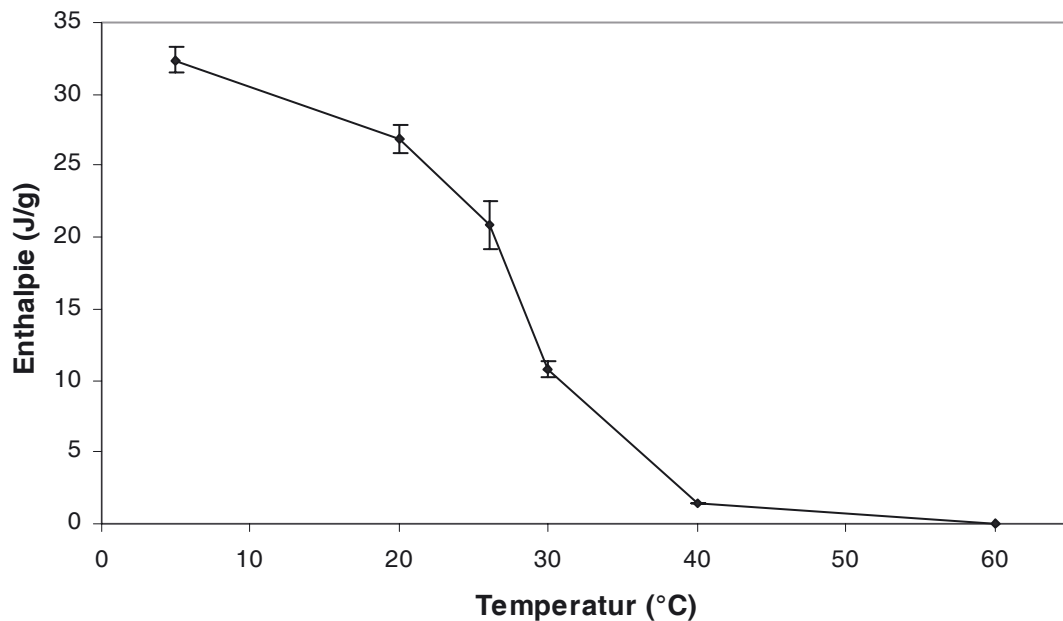


Abb. 14: Zusammenhang von Schmelzenthalpie und Trocknungstemperatur, $\Delta H \pm s$, $n = 3$

Der sigmoidale Verlauf ist in den Vorgängen, die während der Gelierung der Gelatine ablaufen, begründet (Abb. 15). Die Ausbildung von Tripelhelices bzw. kristalliner Bereiche erfolgt nur bei Trocknungstemperaturen unterhalb der Schmelztemperatur der 10%igen Gelatinegele, die bei ca. 35 °C liegt (s. C 2.4.). Der resultierende Zustand der Gelatine wird als Gel- oder Kaltform bezeichnet. Oberhalb dieser Grenztemperatur geliert die Gelatine nicht und trocknet in der Struktur, in der sie sich auch in Lösung (Sol) befindet: in einer ungeordneten Knäuelstruktur. Dieser Zustand wird als Heiß- oder Solform bezeichnet (Agfa, 2000).

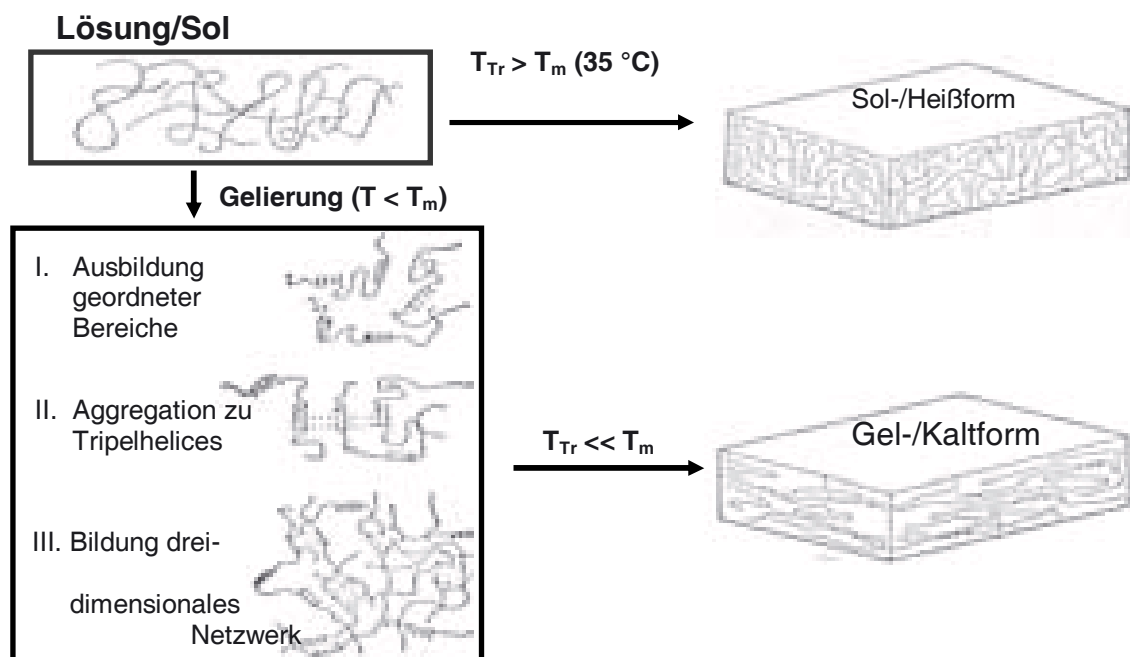


Abb. 15: Einfluss der Trocknungstemperatur auf die resultierende Struktur der Gelatine

Um für die weiteren Versuche, vor allem die Diffusionsuntersuchungen, optimale Gelatinefilme herzustellen, wird eine Trocknungstemperatur von 20 °C gewählt. Bei dieser Temperatur trocknen die Filme ausreichend schnell und haben einen hohen Anteil an kristallinen Bereichen. Diese sollten zu einem höheren Diffusionswiderstand als vollständig in der Knäuelstruktur vorliegende Filme führen.

2.1.2. Einfluss nachträglicher Trocknung

Gelatinefilme, bei 20 °C aus dem Sol-Zustand getrocknet (Kaltform), werden einer nachträglichen Trocknung bei 105 °C unterzogen. Dabei wird die Struktur derart verändert, dass sich im Thermogramm die Phasenübergänge wie erwartet (s. o., Abb. 12) zu deutlich höheren Temperaturen verschieben. Die Glasübergangstemperatur wird auf ca. 170 °C erhöht, die Schmelztemperatur

ist bei 220 °C zu determinieren und weist eine deutlich verringerte Schmelzenthalpie auf (Abb. 16).

Durch Lagerung bei 60 % r.F. und Raumtemperatur (RT) nimmt die Gelatine wieder Wasser auf. Die thermoanalytisch bestimmbaren Strukturcharakteristika werden wieder auf die Ursprungstemperaturen erniedrigt und auch die Schmelzenthalpie entspricht wieder dem Ausgangswert. Im Gegensatz zu einer anfänglichen Trocknung oberhalb der Schmelztemperatur wirkt sich eine nachträgliche Trocknung nur vorübergehend auf die Struktur aus. Die Veränderungen sind reversibel.

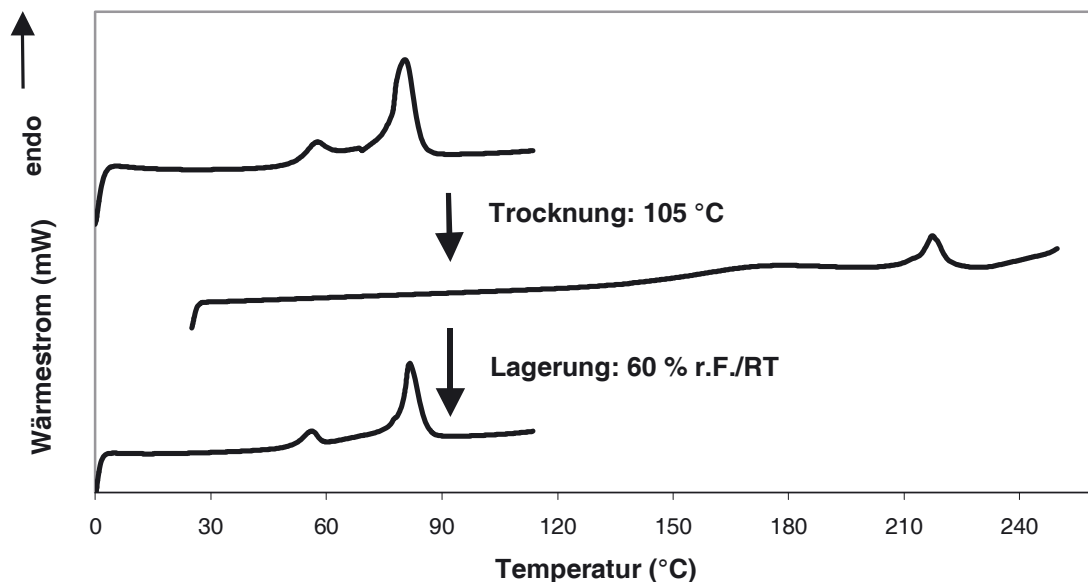


Abb. 16: Veränderung im Thermogramm durch nachträgliche Trocknung von Gelatinefilmen bei 105 °C und anschließender Lagerung bei 60 % r.F./RT

2.1.3. Effekt durch unterschiedliche Gießunterlagen

Auch unterschiedliche Unterlagen, auf die die Gelatinelösung gegossen wird, können einen Einfluss auf die resultierenden Eigenschaften der Gelatinefilme haben. Dies kann auf Wechselwirkungen des Unterlagenmaterials mit den

Polypeptidketten und dadurch folgender Orientierung in den Gelatinefilmen erfolgen oder aber im Fall von Thermoplastunterlagen durch Migration von Folienbestandteilen wie Weichmachern, die dann die Beweglichkeit und somit die Eigenschaften der Gelatine verändern können.

Untersucht werden neben Glas, Aluminium und Teflon Polymerfolien aus Polycarbonat (PK), Polyethylenterephthalat (PET), Polystyrol (PS) und Polyvinylchlorid (PVC). Die Haftwirkung der Gelatine auf Glas und Aluminium ist so stark, dass die trockenen Gelatinefilme nicht abziehbar sind. Alle anderen Folien zeigen sich schlecht benetzbar für die Gelatinelösung, die Abziehbarkeit ist gegeben, und die thermoanalytisch auswertbaren Eigenschaften sind einheitlich unverändert. Die unterschiedlichen Materialien haben keinen Einfluss auf die Strukturbildung der Gelatinefilme.

Für alle weiteren Untersuchungen wird Polycarbonat-Folie als Unterlage zum Gießen der Gelatinefilme ausgewählt.

2.1.4. Einfluss der Konzentration der Gießlösung

Um den Einfluss der Konzentration der Gelatine in der Gießlösung zu untersuchen, werden Lösungen von 10, 20, 30 und 50 % Gelatine in Wasser hergestellt. Wässrige Lösungen mit Konzentrationen > 50 % sind aufgrund der hohen Viskosität nicht mehr gießfähig. Die nach Trocknung bei 20 °C entstehenden Filme werden mittels DSC auf Unterschiede geprüft.

Bei den unterschiedlichen Konzentrationen bleibt die Temperatur, an der die Phasenumwandlungen stattfinden, unverändert. Wie auch beim Einfluss der Trocknungstemperatur können Unterschiede in der Schmelzenthalpie festgestellt werden.

In Abb.17 sind die Ergebnisse der Untersuchungen dargestellt. Die Enthalpie nimmt mit zunehmender Konzentration der Gießlösung von $22,4 \pm 0,6$ J/g (10 und 20 %) auf $18,7 \pm 0,1$ J/g (50 %) ab.

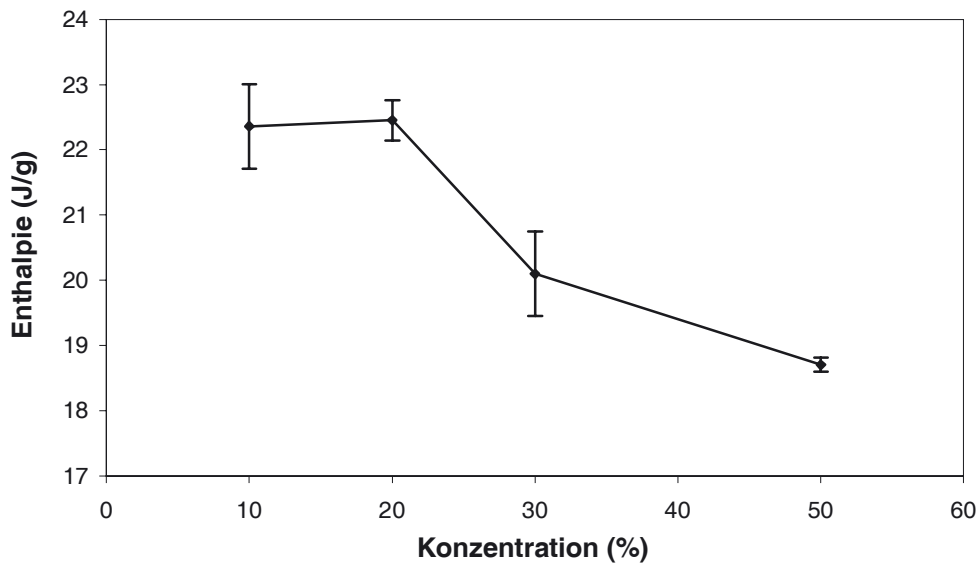


Abb. 17: Abhängigkeit der Schmelzenthalpie von der Gelatine-Konzentration in der Gießlösung, $\Delta H \pm s$, $n = 3$

Zu erklären ist dies mit der schnelleren Trocknung (niedrigeres Flüssigkeitsvolumen) und der höheren Dichte der höher konzentrierten Gelatinegele. Dies verhindert die vollständige Ausbildung der Tripelhelices und führt damit zu einer reduzierten Enthalpie.

2.1.5. Strukturelle Veränderungen durch Härtung der Gelatine

Vernetzende Reagenzien, Härter, werden eingesetzt mit dem Ziel, die Löslichkeit der Gelatine zu verringern bzw. die Filme unlöslich zu machen, die Struktur der Gelatine zu verdichten und dadurch und durch das reduzierte Quellungsvermögen den Diffusionskoeffizienten zu erniedrigen.

Die meisten Härter aus der Klasse der vernetzenden Härter (B 3.2.2.) reagieren relativ langsam, zerfallen auch nicht sehr schnell in wässriger Lösung und werden deshalb in der Regel zur Gelatinelösung zugesetzt. Die Reaktion speziell der häufig verwendeten Aldehyde mit den Polypeptidketten führt zu Vernetzungen, die nicht sehr stabil sind.

Aus diesem Grunde werden häufig aktivierende Härter (B 3.2.3.) eingesetzt, die sehr reaktiv sind und zu stabileren Verbindungen führen. Sie werden aufgrund

ihrer Instabilität in wässriger Lösung in der Regel über die fertigen Gelatinefilme gegeben. Dies hat den Nachteil, dass sich die Struktur der Filme bereits ausgebildet hat, der Anteil Tripelhelices konstant bleibt.

Durch Zugabe eines Härters zur Gelatinelösung ist eine vollständigere Härtung möglich. Aus diesem Grund wird Methylen-Bis-Vinylsulfon (VS, siehe Abb. 10) als Härter eingesetzt, der ausreichend schnell reagiert, zu stabilen Verbindungen führt und der Lösung zugesetzt werden kann.

Der Einfluss der Härtung auf die strukturellen Eigenschaften der Gelatine wird durch Einsatz verschiedener Härterkonzentrationen untersucht. Dabei kommen Konzentrationen zwischen 0,1 und 10 %, jeweils bezogen auf die Gelatinetrockenmasse, zum Einsatz. Nach Zugabe des Härters zur Gelatinelösung müssen die Filme schnell gegossen werden, da es sonst bereits zu Schlierenbildung und zu starker Viskositätserhöhung durch einsetzende Vernetzung in der Lösung kommt. Aus diesem Grund und um eine gleichmäßige Härtung zu erreichen, werden unterschiedliche Mengen Vinylsulfon in Form einer 1%igen wässrigen Lösung dem jeweiligen Gelatine-Sol zugesetzt.

Die Menge an Aminogruppen vernetzendem Härter, die für eine vollständige Vernetzung nötig ist, lässt sich über die Menge der Amino- und Guanidinogruppen in der Gelatine berechnen. Gelatine vom Typ B enthält 0,43 Mol ϵ -Amino- und 0,43 Mol Guanidinogruppen pro Kilogramm Gelatine (Himmelman, 1973). Das eingesetzte Vinylsulfon hat ein Molekulargewicht von 195,2 g/mol. Da ein Mol Vinylsulfon zwei Aminogruppen vernetzt, müssten 8,39 % des Härters bezogen auf die Gelatinetrockenmasse eingesetzt werden, um mit allen vorhandenen Amino- und Guanidinogruppen zu reagieren. Da jedoch davon auszugehen ist, dass kristalline Bestandteile eine höhere Diffusionsbarriere darstellen als die amorphen, auch vernetzten Bereiche, ist maximale Verknüpfung nicht von vornherein anzustreben. Ziel der Vernetzung sind geringe Quellung und niedriger Diffusionswiderstand.

Konzentrationen kleiner als 1 % des zur Gelatinelösung zugesetzten Härterers haben auf die in der DSC bestimmbaren Struktureigenschaften kaum erkennbaren Einfluss. Ab Konzentrationen von 1 % zeigen sich deutliche Effekte. Die Glasübergangstemperatur steigt von $68,5 \pm 2,0$ °C (ohne Härter) auf $74,0 \pm 0,9$ °C (2,5 % VS). Die Schmelztemperatur erhöht sich von $90,6 \pm 1,2$ (ohne Härter) auf $94,3 \pm 0,9$ °C (2,5 % VS). Beide Phasenübergänge bleiben ab einer Vinylsulfon-Konzentration von 2,5 % konstant.

In Abbildung 18 ist zu erkennen, dass die Veränderung der Schmelzenthalpie der kristallinen Bereiche deutlich ausgeprägt ist. Ohne Zusatz von Härter beträgt die Schmelzenthalpie $20,9 \pm 1,0$ J/g, bis zu einem Zusatz von 10 % VS sinkt sie auf $4,1 \pm 0,5$ J/g.

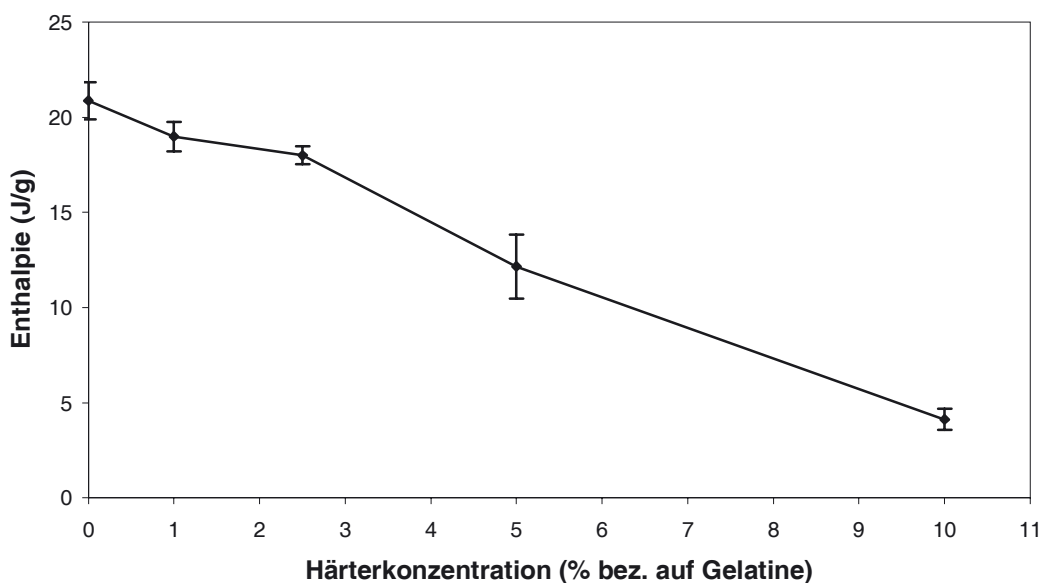


Abb. 18: Einfluss der Härterkonzentration auf die Schmelzenthalpie der Gelatinefilme, $\Delta H \pm s$, $n = 3$

Durch die Härtung von Gelatine ist die normale Ausbildung der Gelstruktur gestört. Die verknüpften Polypeptidketten können sich teilweise nicht mehr aus der Knäuelstruktur entfalten und weniger Tripelhelices werden ausgebildet. Der kristalline Anteil und damit die Schmelzenthalpie sinkt.

Der Anstieg der Glasübergangstemperatur ist durch das erhöhte Molekulargewicht der einzelnen Polypeptidketten und die damit verbundene reduzierte Beweglichkeit zu erklären.

Auch eine Härtung nach Trocknung der Gelatinefilme wird untersucht. Dabei wird die entsprechende Menge einer 1%igen, wässrigen Lösung des Vinylsulfons über die bei Raumtemperatur getrockneten Filme gegeben. In den Ergebnissen aus den DSC-Untersuchungen zeigt sich, dass die strukturellen Effekte der Härtung nach Trocknung vergleichbar mit denen durch Zugabe des Härtungsreagenzes zur Gelatinelösung sind: Die Glasübergangstemperatur erhöht sich nur sehr gering auf $70,9 \pm 0,9$ °C (5 % VS). Die Schmelztemperatur steigt etwas stärker an, auf $95,2 \pm 3,2$ °C bei Überschichten von 2,5 % bzw. auf $95,3 \pm 0,8$ °C bei nachträglicher Härtung mit 5 % Vinylsulfon. Vergleichsweise deutlicher ist auch in diesem Fall der Einfluss auf die Schmelzenthalpie. Bei Einsatz von 1 % Vinylsulfon verringert sich die Schmelzenthalpie nur wenig, auf $20,6 \pm 0,3$ J/g. Durch Erhöhung der Konzentration kann wiederum eine kontinuierliche Abnahme der kristallinen Bestandteile beobachtet werden. Bei einer Konzentration von 5 % Härter beträgt die Schmelzenthalpie noch $8,6 \pm 4,5$ J/g. Die nicht so stark ausgeprägte Erniedrigung der Schmelzenthalpie im Vergleich zu den Ergebnissen nach Zugabe des Härters zur Lösung ist damit zu erklären, dass die Struktur der Filme bereits ausgebildet ist (Kaltform) und der Härter vornehmlich in die amorphen Bereiche eindringt und diese härtet. Einige kristalline Strukturen werden jedoch auch verändert, da durch Überschichten mit Härterlösung Quellung stattfindet, wodurch sich kristalline Bereiche aufweiten bzw. wieder in die ungeordnetere Knäuelstruktur übergehen. Diese Strukturen werden dann durch Härter induzierte, kovalente Verbindungen so beeinflusst, dass eine anschließende Rückbildung der Tripelhelices nicht mehr erfolgen kann.

Veränderungen der Lage der Phasenübergänge sind wie oben mit den Verknüpfungen der Polypeptidketten zu längeren Ketten bzw. zu Netzen und damit eingeschränkter Beweglichkeit zu erklären.

2.1.6. Unterschied Gelatine A und B

Der unterschiedliche Einfluss von Härtung auf die verschiedenen Gelatinetypen A und B wird mit Hilfe von DSC ermittelt. Dabei kommt jeweils reine und mit unterschiedlichen Vinylsulfon-Konzentrationen (2,5, 5 und 10 %) gehärtete Gelatine zum Einsatz. Es ist kein Unterschied der Charakteristika feststellbar: Sowohl Glasübergangstemperatur als auch Schmelztemperatur von gleich stark gehärteten Gelatinefilmen sind unverändert.

Somit kann festgestellt werden, dass der Gelatinetyp keinen Einfluss auf die in der DSC detektierbaren Struktureigenschaften hat.

2.2. Untersuchung der Quellung und des Wassergehalts

Bei der Diffusion in Polymeren spielt der Hydratationsgrad, also der Wasseranteil (0 für kein Wasser bis 1), eine entscheidende Rolle (Yasuda, 1968 und 1969; Gunder, 1992; Lippold, 1991). Nach der Free-volume-Theorie von Yasuda nähert sich der Diffusionskoeffizient in Polymeren immer weiter dem Diffusionskoeffizienten in Wasser, je größer der Hydratationsgrad wird. Dabei bewegen sich die Änderungen in einem Rahmen von ungefähr fünf Zehnerpotenzen (ca. 10^{-10} cm²/sec in Polymeren, ca. 10^{-5} cm²/sec in Wasser).

Die Untersuchung der Quellung und der Einflussnahme darauf liefert also Informationen, die für die folgenden Untersuchungen der Diffusion und der Freisetzung wichtige Erkenntnisse für die Herstellung und Behandlung der Gelatinefilme darstellen.

2.2.1. Einfluss der Trocknungstemperatur

Die Untersuchung zum Einfluss der Trocknungstemperatur erfolgt an Filmen, die bei Temperaturen von 5, 10, 20, 25, 30, 40 und 60 °C entstanden sind. Die Filme werden anschließend bei 60 % r.F. und 25 °C gelagert, dann bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet bzw. in Wasser eingelegt und die jeweilige Veränderung relativ zur Ausgangsmasse ermittelt. Der Wassergehalt wird als Masseverlust nach Trocknung bezogen auf die Ausgangsmasse bestimmt. Der Quellungsfaktor ist der Multiplikator zwischen trockenem und gequollenem Gelatinefilm.

Die Auswertung der Ergebnisse zeigt, dass der Wassergehalt mit zunehmender Trocknungstemperatur abnimmt. Bei 5 °C getrocknete Filme enthalten 16,0 %, bei 60 °C getrocknete nur noch 12,6 % Restwasser.

Bei der Quellung stellt sich folgendes heraus: Bei 5 °C getrocknete Filme quellen um den Faktor 10,6, bei 30 °C getrocknete nehmen nur noch auf das

7,5fache zu. Die bei 40, bzw. 60 °C getrockneten Gelatinefilme waren nach Einlegen in Wasser aufgrund mangelnder Festigkeit nicht mehr auswertbar.

Erstaunlich sind die Ergebnisse insofern, als dass kristalline Anteile üblicherweise weniger Wasser enthalten und aufnehmen als amorphes Material. Es zeigt sich aber, dass die bei niedrigeren Temperaturen getrocknete Gelatine, die mehr kristalline Bereiche besitzt, nicht nur mehr Wasser enthält, sondern auch mehr Wasser aufnimmt.

2.2.2. Beeinflussung durch Härtung

Die Quellung wird, wie in Kapitel B 3.2. geschildert, stark vom **Härtungsgrad** beeinflusst. Das durch Wasserstoffbrückenbindungen gebildete Gerüst der Quartärstruktur der Gelatine kann zwischen den einzelnen Polypeptidketten relativ viel Wasser aufnehmen, ohne dass das Gerüst zerstört wird. Da die Polypeptidketten durch die Härtung jedoch miteinander kovalent vernetzt werden, können sie sich nicht mehr weit voneinander entfernen und das bestehende Netzwerk stark ausdehnen. Außerdem sind viele der hydrophilen Gruppen durch die Vernetzung nicht mehr verfügbar für die Anlagerung von Wasser. Die Quellfähigkeit sinkt mit steigendem Härungsgrad.

In Abbildung 19 sind die Quellungsfaktoren von unterschiedlich stark gehärteten Gelatinefilme dargestellt. Während die ungehärteten Filme noch um den Faktor 10 quellen, sinkt die Wasseraufnahme mit einsetzender Härtung stark ab. Bereits bei einer Vinylsulfon-Konzentration von 1 % nimmt die Gelatine nur noch das 3,2fache ihres Eigengewichts an Wasser auf. Bis zur Konzentration von 5 % Härter reduziert sich die Quellung weiter auf das nunmehr 2,3fache.

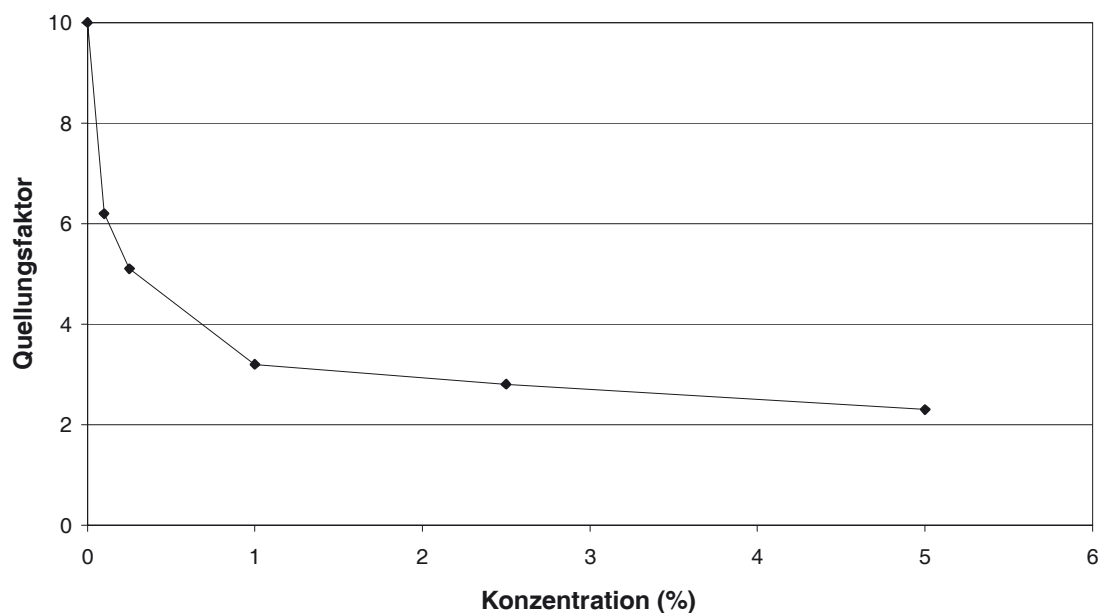


Abb. 19: Zusammenhang zwischen Quellung der Gelatinefilme und eingesetzter Konzentration an Vinylsulfon (VS)

Der Einfluss der **Trocknungsgeschwindigkeit** auf die Effektivität des Härters, bezogen auf den Quellungsfaktor, wird ermittelt, indem im Raum und im Umlufttrockenschrank bei Raumtemperatur getrocknete Gelatinefilme im Hinblick auf die anschließende Wasseraufnahme verglichen werden. Dabei stellt sich heraus, dass durch Erhöhung der Trocknungsgeschwindigkeit verringerte Quellung resultiert. Filme, die mit 2,5 % VS gehärtet werden, quellen nach Trocknung im Raum auf das 3,0fache, wohingegen solche, die im Umlufttrockenschrank getrocknet werden, nur noch einen Quellungsfaktor von 2,1 zeigen. Die Ursache dafür liegt in der Reaktionsweise und Stabilität des Härters, der zwei Aminogruppen vernetzt, wenn sie sich ausreichend nah beieinander befinden. Die Gelatinegele gehen durch beschleunigte Trocknung schneller in eine dichtere Struktur (Filme) über, somit gelangen die zu verknüpfenden Strukturelemente auch schneller in räumliche Nähe zueinander. In kurzer Zeit zerfällt weniger Härter wirkungslos, die schnelle Härtung führt zu einem dichteren Netzwerk, und die Quellung ist dadurch erniedrigt.

Auch die **Reaktionsgeschwindigkeit der Härtung** kann über die Veränderung im Quellungsverhalten bestimmt werden. Da mit zunehmendem Härtegrad die Quellung abnimmt, sollte mit fortschreitender Zeit die Entwicklung der Härtung in einem Gelatinefilm durch Quellungsversuche festzustellen sein. Diese Untersuchungen erfolgen bei verschiedenen Härterkonzentrationen. Die Filme werden anschließend schnell getrocknet (s.o.) und die Veränderungen der Dicke nach Quellung in Wasser zu unterschiedlichen Zeiten geprüft.

In Abb. 20 ist die zeitliche Entwicklung des Quellungsfaktors dargestellt. Daraus wird deutlich, dass die vollständige Vernetzung der Polypeptidketten nicht unmittelbar nach Trocknung stattfindet, sondern über einen längeren Zeitraum noch deutlich zunimmt. Der Quellungsfaktor ist zwar bereits nach der ersten Stunde der Trocknung stark verringert, jedoch ist die Quellung noch nicht maximal eingeschränkt. Im Beispiel für die Härtung mit 2,5 % Vinylsulfon quellen die Filme nach einer Stunde noch auf Faktor $3,20 \pm 0,40$, die Quellung nimmt im weiteren Verlauf aber noch auf $1,81 \pm 0,03$ ab. Dies deckt sich mit den Ergebnissen zur vollständigen Härtung aus den Versuchen zum Einfluss der Trocknungsgeschwindigkeit (s.o.).

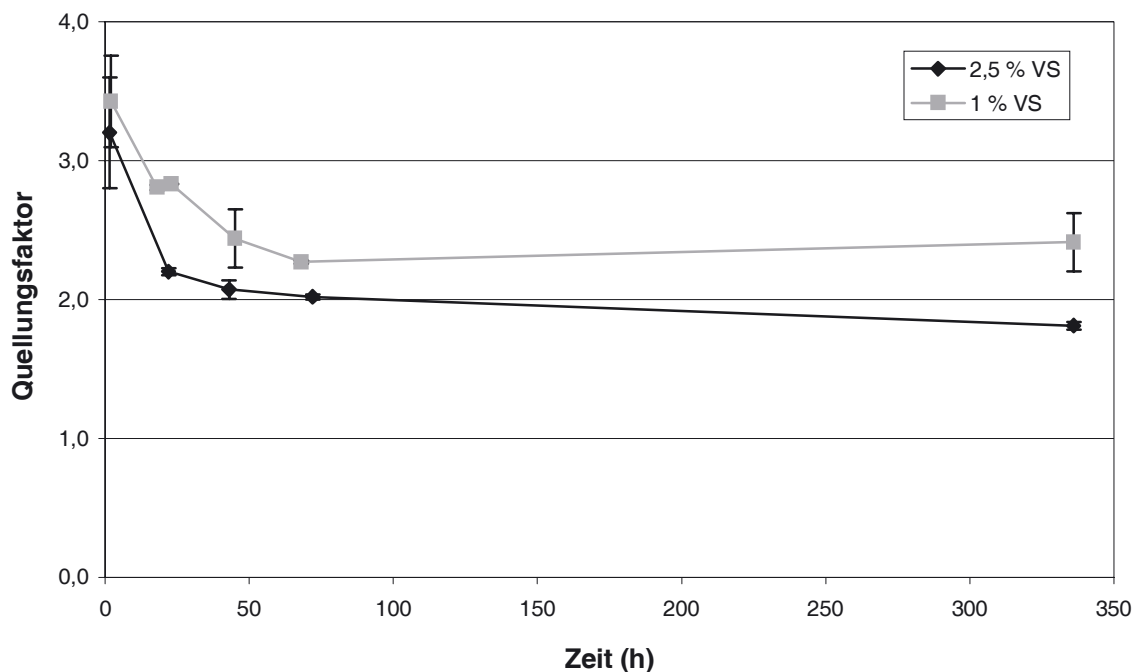


Abb. 20: Entwicklung des Quellungsfaktors von unterschiedlich stark gehärteten Gelatinefilmen mit zunehmender Zeit; $\bar{x} \pm s$ ($n = 3$)

Auch der Einfluss der **Härtung nach Trocknung** auf die Quellungseigenschaften der Gelatinefilme wird untersucht. Dabei wird der Härter in wässriger Lösung auf die bei 25 °C getrockneten Filmen gegeben. Die Gelatine wird also in ihrer bestehenden Form (Kaltform) gehärtet. Es ergeben sich Quellungsfaktoren von 2,8 (1 % VS), 1,9 (2,5 % VS) und 1,8 (5 % VS). Für diese reduzierte Quellung im Vergleich zu Filmen, bei denen der Härter zur Gelatinelösung zugesetzt wird, können zwei Gründe angeführt werden: Zum einen die bereits bestehende räumliche Nähe der Aminogruppen in den getrockneten Filmen zueinander und die damit schnell mögliche Vernetzung. Zum anderen sind bei Härtung die kristallinen Strukturen der Gelatine bereits ausgebildet. In ihnen findet aufgrund ihrer hohen Dichte und starren strukturellen Anordnung keine Härtung mehr, aber auch wie bereits erwähnt weniger Wasseraufnahme statt.

Die Härtung nach Trocknung führt also zu Strukturen, die noch dichter sind, als dies mit dem Einsatz von Vinylsulfon zur Gelatinelösung erreicht wird. Trotzdem werden Filme, die im weiteren in dieser Arbeit zum Einsatz kommen, in der Regel nicht nachträglich gehärtet. Die Ursache dafür ist vor allem Wellung, Verklebung und Verzerrung der planaren Filme nach Behandlung mit Härterlösung und die damit verbundene schwierigere Weiterverwendung in Diffusions- oder Freisetzungsuntersuchungen.

2.3. Wasserdampf-Sorptions-Untersuchungen

Der Zusammenhang zwischen der relativen Feuchte und dem Wassergehalt der Gelatinefilme wird mit Hilfe eines Geräts zur Bestimmung der Wasserdampf-Sorption (SPS-11) ermittelt. Dabei kann die relative Feuchte stufenweise reguliert werden. Bei Gewichtskonstanz wird die nächste eingestellte Stufe angesteuert (s. B 3.3.2.) und die Zunahme der Masse durch Wasserdampfaufnahme registriert. Mit der Software lassen sich aus den Daten automatisch Sorptions- und Desorptionsisothermen erstellen.

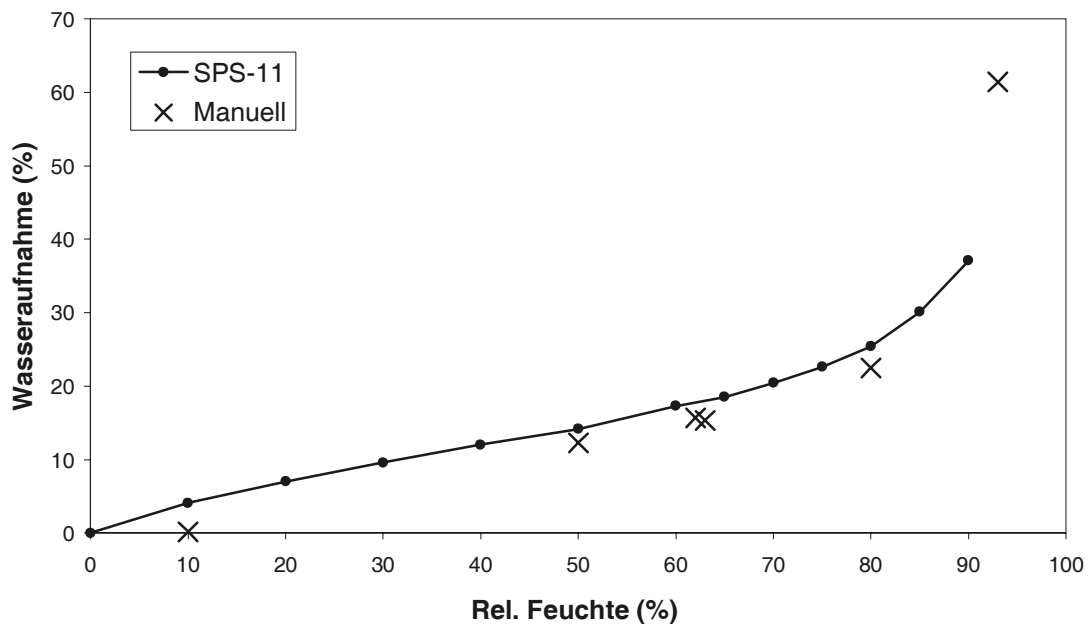


Abb. 21: Sorptionsisotherme von Gelatine (SPS-11, 0 - 90 % r.F.) und manuell im Hygrostaten (10, 50, 60, 63, 80 und 93 % r.F.) ermittelte Daten

Bei Vergleich der aus der SPS-11 Messung entstehenden Sorptionsisotherme mit Werten, die manuell durch gravimetrische Bestimmung nach 48 Stunden Lagerung bei verschiedenen relativen Feuchten in Hygrostaten ermittelt worden sind, ist kein großer Unterschied der Methoden feststellbar. Aufgrund der Einfachheit und der höheren Präzision (Handlingfehler und unvollständige Sorption ausgeschlossen) des Messgeräts und der automatischen Erstellung einer Sorptionsisotherme wird im Folgenden nur noch die SPS-11 benutzt.

2.3.1. Einfluss des Härungsgrades

Wie in Kapitel C 2.2.2. geschildert, hat der Härungsgrad einen Einfluss auf das Verhalten der Gelatine gegenüber Wasser. In den Sorptionsstudien bei verschiedenen relativen Feuchten zeigt sich mit steigendem Härungsgrad der Gelatinefilme eine Verschiebung der Sorptionsisotherme zu niedrigeren Werten des Wassergehalts und zu einer höheren kritischen Hygroskopizität. Als kritische Hygroskopizität oder hygroskopischer Punkt einer Substanz wird die relative Feuchte bezeichnet, bei der die Substanz anfängt, viel Wasser aufzunehmen bzw. sich zu verflüssigen.

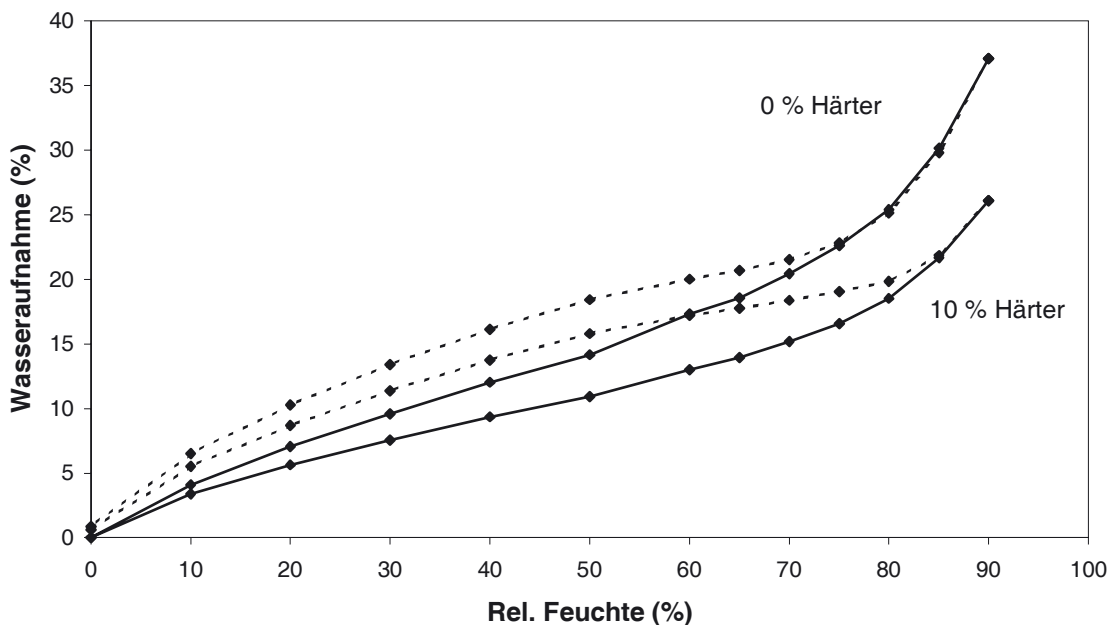


Abb. 22: Sorptions- (durchgezogen) und Desorptionsisotherme (gestrichelt) von gehärteten/ungehärteten Gelatinefilmen (SPS-11)

In Abb. 22 sind sowohl Sorptions- als auch Desorptionskurve der Filme mit 0 % und der mit 10 % Härter dargestellt. Aus ihnen ist die kritische Hygroskopizität der Filme durch graphische Interpolation bestimmbar. Sie liegt bei ca. 78 % r.F. für ungehärtete Gelatine und bei ca. 83 % r.F. für Gelatine, die mit 10 % VS gehärtet ist.

2.3.2. Unterschied Gelatine Typ A und B

Um zu untersuchen, ob sich Gelatine Typ A vom durchgängig hier verwendeten Typ B in ihren Sorptionseigenschaften unterscheidet, werden Wasserdampf-Sorptionsisothermen für beide Typen mit unterschiedlichen Härterkonzentrationen aufgenommen.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 23 dargestellt. Dabei wird deutlich, dass beide Typen sowohl ohne Härter als auch vernetzt mit 10 % Vinylsulfon einen sehr ähnlichen Verlauf der Sorptionsisotherme ergeben. Wie sich auch bereits aus Untersuchungen zur Struktur kein Unterschied zwischen den beiden Typen A und B feststellen ließ, zeigt sich analog hier, dass der Gelatintyp praktisch keinen Einfluss auf den Wassergehalt und die Wasseraufnahme bei verschiedenen relativen Feuchten hat.

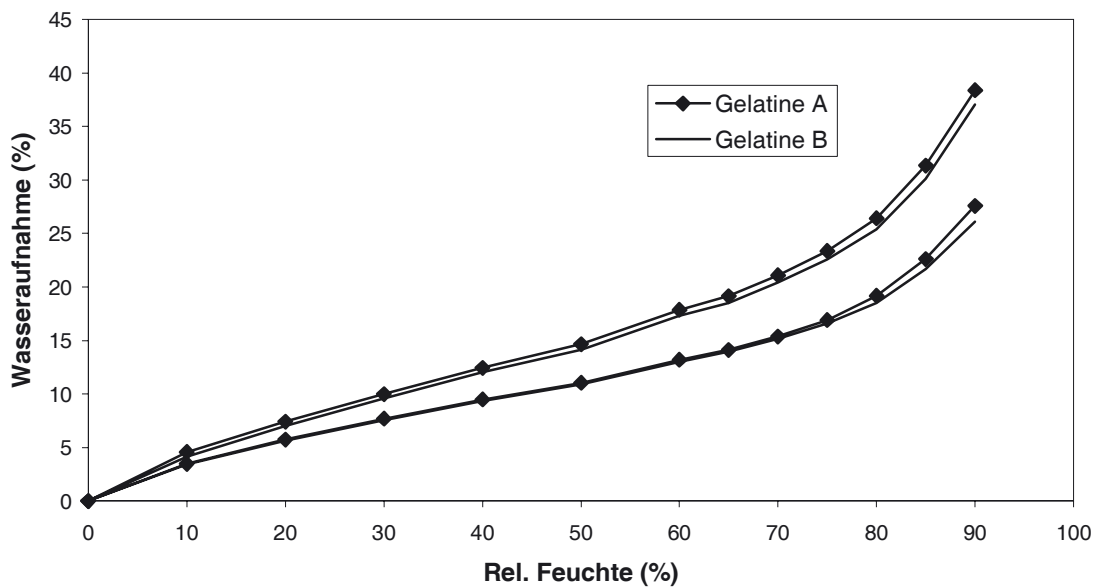


Abb. 23: Sorptionsisothermen (SPS-11) von Gelatine A und B mit 0 % (obere Kurven) bzw. 10 % Härter (untere Kurven)

Für alle weiteren Untersuchungen wird Gelatine Typ A nicht weiter untersucht. Gelatine Typ B wird im weiteren Verlauf einfach als Gelatine bezeichnet.

2.4. Lösungsverhalten

Das Lösungsverhalten von Gelatine in Wasser kann detailliert im Mikromaßstab in DSC-Untersuchungen geklärt werden. Dazu wird neben dem jeweiligen Gelatinefilm Wasser mit in das Probengefäß (hier: Mitteldrucktiegel) gegeben.

Auf dem Wasserbad zeigt sich für ungehärtete Gelatine erwartungsgemäß der Übergang in den Sol-Zustand bei ca. 35 °C. Gehärtete Gelatine dagegen ist ab einer Härterkonzentration von 1 % VS nicht mehr zu lösen. In der Fotoindustrie wird dies als „kochfest“ bezeichnet (Agfa, 2000).

Bestätigt werden diese Ergebnisse mit Hilfe der DSC. Im Thermogramm (Abb. 24) ist ein endothermer Lösungs- bzw. Schmelzpeak der ungehärteten Gelatine bei 32 °C zu erkennen. Die gehärtete Gelatine zeigt bis über 100 °C keine Veränderungen. Ein endothermer Peak, der einen Lösungsvorgang bedeuten könnte, ist erst bei 128 °C und einem Druck von > 2 bar zu erkennen.

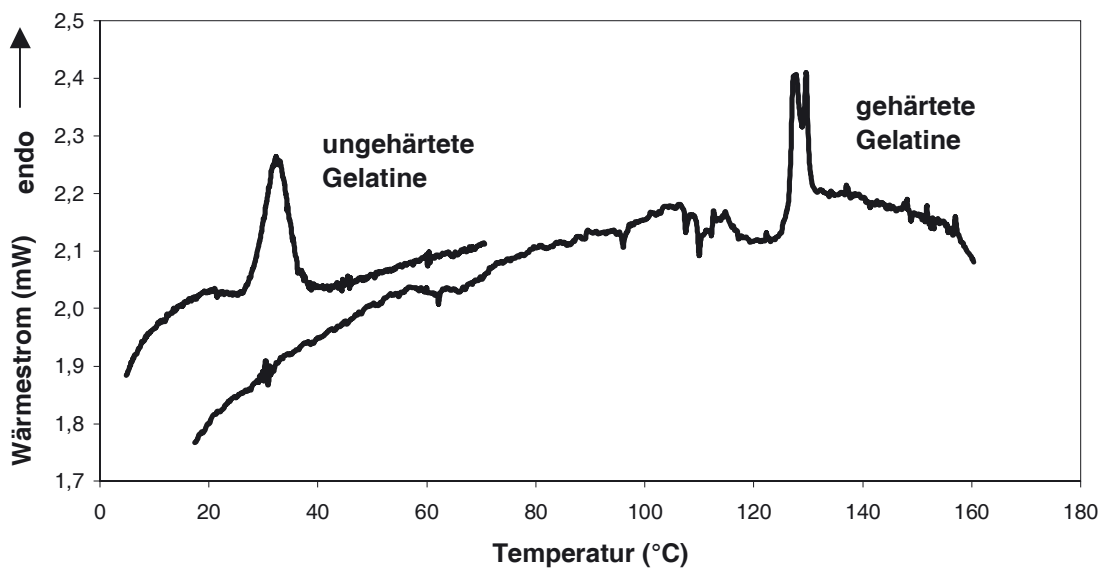


Abb. 24: DSC-Thermogramme ungehärteter und gehärteter Gelatine in Wasser (Mitteldrucktiegel)

Es kann somit festgestellt werden, dass Vinylsulfonkonzentrationen ab 1 % zu gehärteten Gelatinefilmen führen, die unter normalen atmosphärischen Bedingungen nicht mehr löslich sind.

2.5. Herstellung standardisierter Gelatinefilme

Die Herstellung der Gelatinefilme sollte standardisiert erfolgen, so dass konstante Eigenschaften gewährleistet sind. Erwünscht ist hierbei ein möglichst einfaches Verfahren, welches zu relativ hoher Kristallinität und geringer Quellung der Filme führt.

Für alle zu weiteren Untersuchungen hergestellten Filme wird Gelatine in Wasser zwei Stunden vorgequollen und dann auf 60 °C erhitzt. Zu dieser Lösung werden unterschiedliche Mengen einer 1%igen Vinylsulfonlösung gegeben, so dass wässrige Lösungen mit 10 % Gelatine und variablen Härterkonzentrationen resultieren. Nach Entfernung der Luftblasen im Ultraschallbad erfolgt Ausgießen der Gelatinelösung in PVC Ringe mit einem Durchmesser von 5 cm auf eine Polycarbonatfolie. Die Dicke der Filme wird über die ausgegossene Masse an Gelatinelösung kontrolliert. Die entstehenden Gele werden bei 20 °C getrocknet und können anschließend sofort oder nach Lagerung (60 % r.F., RT) für weitere Experimente verwendet werden.

2.6. Löslichkeit und Verteilungskoeffizient des Arzneistoffs

Für die Berechnung des Diffusionskoeffizienten mit Hilfe der Diffusionsgesetze benötigt man neben der Löslichkeit des Arzneistoffs in Wasser auch die Löslichkeit in der Membran, dem gequollenen Gelatinefilm. Der hier benötigte Verteilungskoeffizient ist das Verhältnis der Konzentration von Theobromin im Gelatinefilm zur Konzentration in Wasser.

Die Bestimmung der Löslichkeit des Arzneistoffs bei verschiedenen Temperaturen wird mit einer Suspension von Theobromin in Wasser durchgeführt, die nach Verdünnung UV-spektralphotometrisch vermessen wird. Der Verteilungskoeffizient wird nach Zugabe einer definierten Menge Gelatinefilm zu einer Theobrominlösung bestimmt. Über die spektralphotometrisch ermittelte Konzentrationsabnahme in der Lösung lässt sich die Konzentration im Gelatinefilm und damit der Verteilungskoeffizient berechnen.

Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse der Untersuchungen zur Interaktion der Gelatine mit Theobromin bei 25 und 32 °C. Die beiden Temperaturen resultieren daraus, dass vergleichende Diffusionsuntersuchungen bei diesen Temperaturen durchgeführt werden. Die Werte der Gelatinefilme ohne Härter bei 32 °C sind nicht angegeben, da sich die Proben bei dieser Temperatur bereits allmählich auflösen. Aus diesem Grund erfolgen die vergleichenden Diffusionsversuche mit ungehärteter Gelatine bei 25 °C. Spätere Untersuchungen, bei denen ausschließlich gehärtete Filme zum Einsatz kommen, werden v.a. bei 32 °C (Hauttemperatur) durchgeführt.

Tab. 2: Verteilungskoeffizient (VK) und Sättigungskonzentration im Film (c_{SF}) von Theobromin in unterschiedlich stark mit Vinylsulfon (VS) gehärteten, gequollenen (g) und wasserfreien (wf) Gelatinefilmen bei 25 und 32 °C und Dichte (ρ) der Gelatinefilme

	VK (25 °C)		VK (32 °C)		c_{SF} (25 °C) (mg/100 ml)		c_{SF} (32 °C) (mg/100 ml)		ρ (g/cm ³)
	g	wf	g	wf	g	wf	g	wf	
Ohne Härter	1,17	3,63	-	-	46	143	-	-	1,39
2,5 % VS	1,27	2,68	1,40	2,96	50	105	93	196	1,31
10 % VS	1,24	2,59	1,41	2,66	49	102	94	177	1,16

Die Verteilungskoeffizienten gequollener Filme/Wasser (VK, g) sind alle größer als 1. Das bedeutet, dass sich Theobromin in den Gelatinefilmen anreichert. Wird das Quellungswasser (s. C 2.2.), das gelöstes Theobromin enthält, berücksichtigt, lassen sich nominell VK-Werte zwischen Gelatine wasserfrei und Wasser berechnen. Sie liegen naturgemäß deutlich höher als diejenigen zwischen gequollenem Film und Wasser. Temperaturerhöhung führt zu leicht steigenden VK-Werten. Die berechneten Sättigungskonzentrationen in den gequollenen Filmen, berechnet nach $c_{SF} = VK \cdot c_S$, übersteigen die Sättigungskonzentrationen in Wasser (s. Tab. 1) entsprechend den VK-Werten. Für die Berechnungen nach Durchführung der Diffusions- und Freisetzungsversuche sind die Werte für den Verteilungskoeffizienten und die Sättigungskonzentration in den gequollenen Gelatinefilmen entscheidend. Sie gehen in die Berechnung des Diffusionskoeffizienten ein.

2.7. Zusammenfassung und Bewertung der Untersuchungen

Verschiedene Faktoren der Behandlung und Lagerung haben einen Einfluss auf die Eigenschaften der Gelatinefilme. Das betrifft sowohl die durch thermoanalytische Methoden charakterisierbaren Phasenübergänge als auch das Verhalten gegenüber Wasser.

Wasser hat einen großen Einfluss auf die Lage der Phasenumwandlungen der Gelatine. Sowohl die Schmelztemperatur (T_m), die Temperatur, bei der die helikalen Bereiche in die Knäuelform übergehen, als auch die Glasübergangstemperatur (T_g), bei der die Beweglichkeit der Polypeptidketten zunimmt und sich die Struktur vom glasartigen in den gummi-elastischen Zustand verändert, werden durch die Anwesenheit von Wasser beeinflusst. Sie nehmen mit steigendem **Wassergehalt** exponentiell ab. Dies hat seine Ursache in den niedrigen Phasenübergangstemperaturen von Wasser, an die sich die Phasenübergangstemperaturen der Gelatine/Wasser-Mischungen mit zunehmender Hydratation annähern.

Die Art der Herstellung beeinflusst ebenfalls die thermischen Eigenschaften von Gelatinefilmen. So wird durch zunehmende **Trocknungstemperatur** des Sols die Struktur immer weiter von einem teilkristallinen zu einem völlig amorphen Film verschoben. Die kristallinen Bestandteile nehmen ab und sind ab Temperaturen größer 30 °C in der DSC nicht mehr detektierbar. Die Schmelzenthalpie als Kriterium für den kristallinen Anteil sinkt proportional zur Trocknungstemperatur. Der deutliche Abfall zwischen 20 und 40 °C ist im Zusammenhang mit der Schmelztemperatur des Gelatinegels (nach DSC-Untersuchungen ca. 32 °C) zu sehen. Entstehen die Filme oberhalb dieser Temperatur, so trocknen sie im vorliegenden Zustand, der Knäuelstruktur (Sol- oder Heißform). Werden die Filme bei niedrigeren Temperaturen getrocknet, so bildet sich erst die Tripelhelix-Struktur des Gelgerüsts aus, in der dann auch die resultierenden, trockenen Filme vorliegen.

Durch unterschiedliche Trocknungstemperaturen wird auch der Wassergehalt und das Quellverhalten der Gelatinefilme beeinflusst. Mit zunehmender Trocknungstemperatur nehmen sowohl der Wassergehalt als auch der Quellungsfaktor in Wasser trotz Reduktion der kristallinen Bestandteile kontinuierlich ab.

Eine **nachträgliche Trocknung** bei 105 °C der fertigen, aus Gelatinelösung bei 20 °C getrockneten Gelatinefilme führt zu einer Verschiebung der T_m und der T_g zu höheren Temperaturen mit gleichzeitiger Erniedrigung der Schmelzenthalpie. Dies kann mit dem reduzierten Wassergehalt erklärt werden und ist innerhalb von 7 Tagen vollständig reversibel.

Der Einsatz verschiedener **Folien**, auf die das Gelatinesol gegossen wird, hat keinen Einfluss auf die Eigenschaften der entstehenden Filme.

Verschiedene **Konzentrationen der Gießlösung** haben dagegen Auswirkungen auf die Filmstruktur. Die Schmelzenthalpie nimmt mit zunehmender Gelatinekonzentration in der Gießlösung leicht ab. Die Lage der Phasenübergänge bleibt unverändert.

Zu entscheidenden Änderungen führt der Einsatz von Vinylsulfon als Reagenz zur **Härtung der Gelatine**. Durch zunehmende Härterkonzentration wird die Struktur der Gelatine, die physikalische Stabilität und das Verhalten gegenüber Wasser verändert. Bereits bei Einsatz von 1 % Vinylsulfon, bezogen auf die Masse der trockenen Gelatine, sind die Gelatinefilme völlig unlöslich in Wasser. In der DSC zeigt die vernetzte Gelatine ab einer Konzentration von 1 % VS mit steigendem Härtegrad eine kontinuierliche Abnahme der kristallinen Bereiche, charakterisiert durch die Schmelzenthalpie. Durch zunehmende Verknüpfung der Aminogruppen wird die Entfaltung der Polypeptidketten und die Ausbildung der Tripelhelices immer mehr behindert.

Gleichzeitig lässt sich ein Anstieg der Glasübergangstemperatur erkennen, erklärbar mit reduzierter Beweglichkeit der durch Vernetzung längeren Polypeptidketten.

Auch die Quellung wird durch steigende Härterkonzentration zunehmend verringert. Der Quellungsfaktor sinkt exponentiell von Faktor 10 bei Einsatz ungehärteter Gelatine bis auf Faktor 2 bei Härtung mit 10 % VS. Die Vollständigkeit der Härtung kann mit Hilfe der TMA überprüft werden und ist nach ca. 48 Stunden abgeschlossen.

Sorptionsuntersuchungen zeigen, dass die Wasserdampf-Sorption ebenfalls abnimmt, je höher der Anteil an eingesetztem Härter ist. Dadurch steigt die kritische Hygroskopizität proportional zur Härterkonzentration.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefasst und sind Grundlage für die zukünftige Herstellung standardisierter Gelatinefilme (C 2.5.).

Tab. 3: Einfluss der Zunahme verschiedener Faktoren auf wichtige Gelatineeigenschaften (T_m = Schmelztemperatur, T_g = Glasübergangstemperatur, T_{Tr} = Trocknungstemperatur, ↓ = Reduktion, → = keinen Einfluss, ↑ = Zunahme)

Eigensch. Faktoren	T_m	T_g	Enthalpie	Quellung	H₂O-Gehalt
Härterkonz.	(↑)	↑	↓↓	↓↓	↓
H₂O-Gehalt	↓	↓↓	→	-	-
T_{Tr}	→	→	↓↓↓	↓	↓

3. Diffusionsversuche

3.1. Durchführung der Diffusionsstudien

Die Versuche zur Diffusion durch Gelatinefilme werden in einer Blattrührer-Apparatur (Ph. Eur.) mit Wasser als Lösungsmittel, konserviert mit 0,01 % Natrium-Azid, durchgeführt. Dazu werden die unterschiedlichen Filme über ca. 50 ml Donatormedium in einer Glaskammer eingespannt, der Akzeptor ist das wässrige Medium im Freisetzungsgefäß (siehe D 3.). Durch Bestimmung der Konzentrationszunahme im Akzeptor im Steady-state lässt sich mit Hilfe des 1. Fick'schen Gesetzes (Gl. 3) nach Umformen zu Gleichung 12 der Diffusionskoeffizient D im Film berechnen. Er ist ein Maß für die Diffusionsgeschwindigkeit des Arzneistoffs in Gelatine. Damit ist er sowohl für die Geschwindigkeit der Diffusion durch Gelatinefilme als auch für die Freisetzung aus Gelatinematrices (s. Gleichungen zu Matrixarzneiformen B 1.4.2.) entscheidend.

Da die Gelatinefilme nach unterschiedlicher Härtung verschiedene strukturelle Eigenschaften aufweisen, ist zu erwarten, dass sich auch die Diffusionskoeffizienten unterscheiden.

$$D = \frac{dm \cdot d}{dt \cdot VK \cdot F \cdot c_0} \quad \text{Gl. 12}$$

Zur Berechnung von D nach dem Fick'schen Gesetz ist die Kenntnis verschiedener Faktoren nötig. Nach UV-spektralphotometrischer Messung und Ermittlung von dm/dt bzw. $\Delta m/\Delta t$ aus der Steigung der Konzentrationszunahme im Akzeptor und bekannter Diffusionsfläche ist die Kenntnis der Dicke der gequollenen Filme und des Verteilungskoeffizienten VK des Arzneistoffs zwischen unterschiedlich gehärteten, gequollenen Filmen und Wasser erforderlich. Der VK ist von der Härtung (gehärtet/ungehärtet) der Gelatinefilme und der Temperatur abhängig (s. C 2.6.). Er liegt für gequollene ungehärtete und gehärtete Filme zwischen ca. 1,2 (25 °C) und 1,4 (32 °C) (s. Tab. 2).

Da konstanter Arzneistofffluss für die einfache Bestimmung von D Voraussetzung ist, muss eine konstante Konzentration bestehen. Dies wird durch suspendierten Arzneistoff im Donator erreicht, wobei die für den Massentransport entscheidende Konzentration dann immer der Sättigungskonzentration entspricht. Je nach Temperatur, die aufgrund Untersuchungen ungehärteter und gehärteter Filme 25 bzw. 32 °C beträgt, variiert auch c_s im Gelatinefilm zwischen 39,3 und 66,5 mg/100 ml (s. Tab. 1).

3.2. Diffusion durch gehärtete Gelatinefilme

3.2.1. Härtingsgrad

Diffusionsversuche werden mit Gelatinefilmen durchgeführt, die ungehärtet sowie mit 1, 2,5, 5 und 10 % Vinylsulfon gehärtet sind. Die Konzentration bzw. die Masse im Akzeptor wird graphisch gegen die Zeit aufgetragen und aus der Steigung der Diffusionskoeffizient ermittelt. Es ist zu erwarten, dass mit steigendem Härtingsgrad der Diffusionskoeffizient in den Filmen abnimmt, da die Struktur der Filme dichter wird und sich das Quellvermögen reduziert.

Der Theorie entsprechend sollten die resultierenden Graphiken gemäß Abbildung 25 aussehen. Die lag-time kommt dadurch zustande, dass die Membranen, die Gelatinefilme, zu Beginn des Diffusionsprozesses leer sind, das heißt keinen Arzneistoff enthalten und sich in ihnen erst ein Konzentrationsgradient ausbilden muss (s. Gl. 2). Hat sich das Fließgleichgewicht („steady-state“) dann eingestellt, so findet eine gleichmäßige Diffusion von Arzneistoff durch die Membran statt. Dies gilt, solange die Arzneistoffkonzentration im Donator konstant bleibt. Fällt sie ab, so knickt auch die Kurve ab und geht nach einer Kinetik erster Ordnung auf den Endwert zu. Der lineare Bereich der Kurve (dünne, gerade Linie) wird für die Auswertung herangezogen.

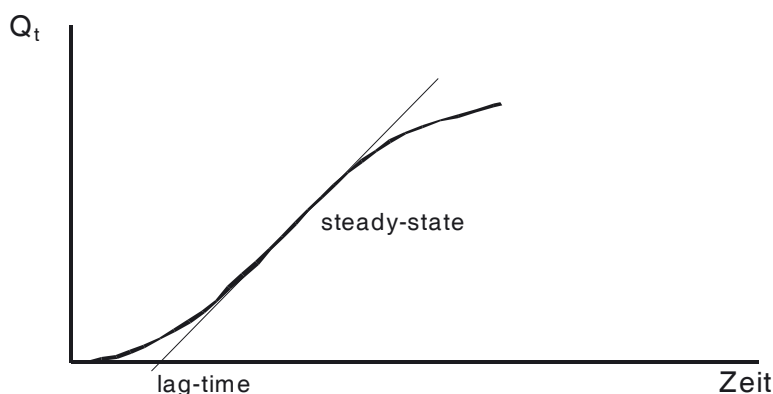


Abb. 25: Theoretischer Arzneistofftransport bei Diffusionsversuchen durch arzneistofffreie Gelatinefilme

Bei Auftragung des Theobromin-Massenflusses gegen die Zeit fällt zuerst auf, dass sich der Massentransport durch die auf gleiche Trockendicke (100 μm) normierten Gelatinefilme pro Zeit mit zunehmendem Härtingsgrad der Gelatine verringert. In Abbildung 26 ist die Diffusion durch unterschiedlich stark gehärtete Gelatinefilme im Vergleich zu ungehärteter Gelatine (daher bei 25 °C) dargestellt. Analoge Ergebnisse werden für den Wirkstoff Carbamazepin gefunden. Alle weiteren Untersuchungen beziehen sich auf Theobromin.

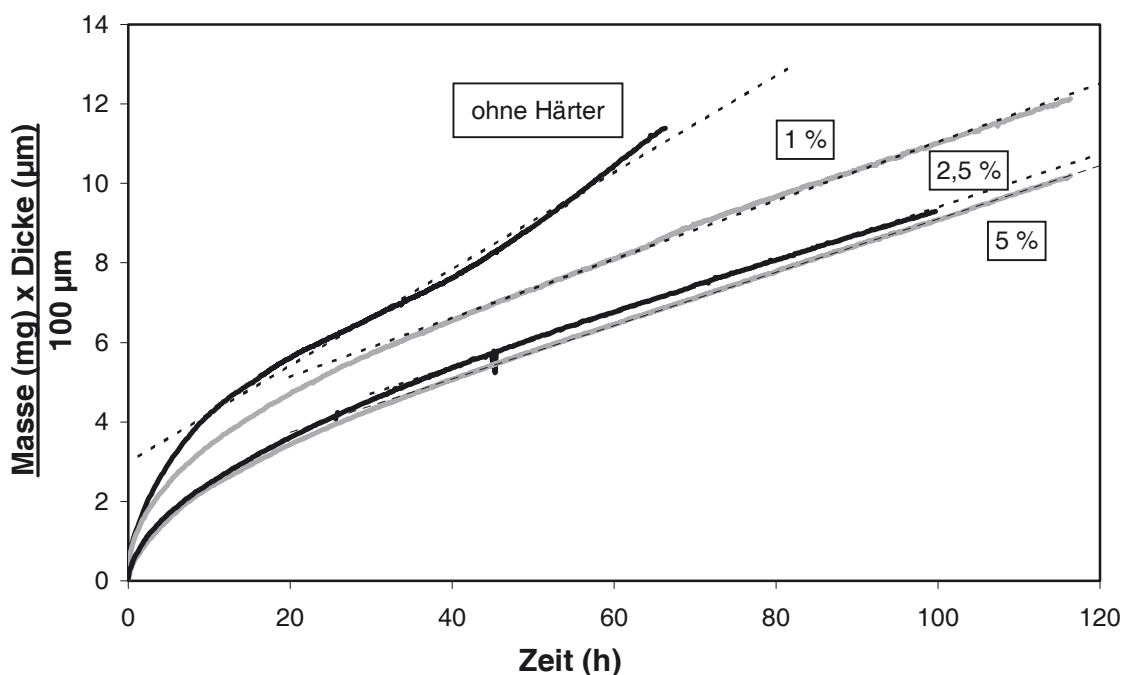


Abb. 26: Einfluss des Härtingsgrades auf den Massentransport durch Gelatinefilme (normiert auf 100 μm Trockenfilmdicke), Messung bei 25 °C, Beispielkurven

Die Steigung der Kurven nimmt mit zunehmendem Härtingsgrad von 0,122 mg/h (0 % Härter) auf 0,067 mg/h (5 % VS) für auf 100 μm normierte Filmdicke ab (Tab. 4). Dabei ist die Abnahme vor allem zwischen ungehärteten und mit 1 % VS gehärteten Gelatinefilmen feststellbar. Durch höhere Härtingsgrade ist keine weitere starke Änderung zu erkennen. Diese Tendenz kann

analog zur Quellung gesehen werden: Ab einer Härtung mit 1 % Vinylsulfon nimmt der Quellungsfaktor nur noch gering ab (s. C 2.2.2.).

In Tabelle 4 sind die aus der Steigung berechneten Diffusionskoeffizienten ($D_{\text{exp.}}$) und die Quellungsfaktoren der jeweiligen Filme dargestellt. Daraus wird deutlich, dass sich auch die Diffusionskoeffizienten mit zunehmendem Härtungsgrad der Filme verkleinern.

Tab. 4: Diffusionsgeschwindigkeiten ($\Delta m/\Delta t$), Quellungsfaktoren und berechnete Diffusionskoeffizienten ($D_{\text{exp.}}$) resultierend aus Diffusionsstudien durch Vinylsulfon (0 – 5 %) gehärtete Gelatinefilme (100 μm Trockenfilmdicke, $F = 19,6 \text{ cm}^2$), $25 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$, $\bar{x} \pm s$, $n = \text{mindest. } 3$

	0 %	1 %	2,5 %	5 %
$\Delta m/\Delta t \text{ (mg/h)}$	0,122	0,074	0,068	0,067
Quellungsfaktor	10	3,8	3,3	2,4
$D_{\text{exp.}} \text{ (x } 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s)}$	4,04 $\pm 0,39$	0,60 $\pm 0,03$	0,58 $\pm 0,09$	0,53 $\pm 0,02$

Die Diffusionskoeffizienten liegen ungefähr zwischen 0,5 und $4 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$. Das heißt, dass die Diffusion von Theobromin in der gequollenen Gelatine ca. Faktor 1000 langsamer ist als die Diffusion in Wasser, jedoch ca. 100fach schneller als die voraussichtliche Diffusionsgeschwindigkeit im Stratum corneum. Mit steigender Härterkonzentration nimmt nicht nur die Quellung, sondern auch der Diffusionskoeffizient in den Gelatinefilmen ab, allerdings beide nur wenig ausgeprägt. Bei diesem Versuchsaufbau ergibt sich ein

ermittelter Diffusionskoeffizient in ungehärteten Filmen von $4,04 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$, reduzierbar auf $0,53 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ durch Härtung mit 5 % Vinylsulfon und normaler Trocknung im Raum.

Was bei der Betrachtung der Freisetzungskurven weiterhin auffällt, ist die Abweichung des Anfangsbereichs vom typischen Verlauf einer Diffusionskurve (Abb. 26). Es zeigt sich ein burst-effect, der üblicherweise bei mit Arzneistoff gesättigten Filmen auftritt. Dafür kann es verschiedene mögliche Ursachen geben wie z.B. durch Auflegen der Filme auf das Donatormedium anhaftende Arzneistofflösung an der Außenseite der Filme, die dann schnell abgespült wird und zu einem schnellen Konzentrationsanstieg am Anfang führt oder eine zu Anfang unvollständige Quellung und ein sich dadurch im Verlauf des Diffusionsversuchs verändernder Diffusionskoeffizient.

Durch verschiedene Experimente (kontrolliert langes Quellen, Abwaschen der Filme nach dem Einspannen über der Donatorlösung und Einspannen mit erst nachträglichem Befüllen der Donatorkammer durch einen zusätzlichen Zugang) werden diese potentiellen Fehlerquellen ausgeschlossen.

3.2.2. Rühren des Donatormediums

Durch Einsetzen einer Diffusionszelle in ein Freisetzungsgefäß, bei dem sich nicht nur das Akzeptormedium mit einem Blattrührer, sondern auch das volumenmäßig viel geringere Donatormedium mit einem Magnetrührer rühren lässt, wird der potentielle Einfluss des ungerührten Donatormediums geprüft. Da der Donator wässrig ist, also einen deutlich höheren Diffusionskoeffizienten als in den Gelatinefilmen aufweist, ist von keinem Einfluss auf die Gesamtdiffusion auszugehen. Da die Gelatinefilme die geschwindigkeitsbestimmende Barriere darstellen, sollte ein ausreichend schneller Konzentrationsausgleich innerhalb des darunter liegenden Donatormediums möglich sein. Es wäre demnach eine gleichmäßige Konzentration im gesamten Donator, also auch an der entscheidenden Grenzfläche zum Gelatinefilm zu erwarten, was normalerweise in einer konstanten Diffusionsrate (nullte

Ordnung) nach einer kurzen lag-time resultieren sollte. Dies ist, wie in Abbildung 26 zu sehen, nicht der Fall.

Überraschenderweise ergeben die Versuche mit gerührtem Donator den erwarteten linearen Verlauf von Anfang an, mit deutlich größerem Massenfluss als bei den Diffusionsversuchen mit ungerührtem Donator. Erkennbar ist dies an der steileren Steigung der Graphen (Abb. 27). Der Konzentrationsausgleich durch Diffusion des Arzneistoffs innerhalb des wässrigen Donatormediums hat also einen Einfluss auf die Gesamtdiffusion und ist für den beobachteten Verlauf verantwortlich.

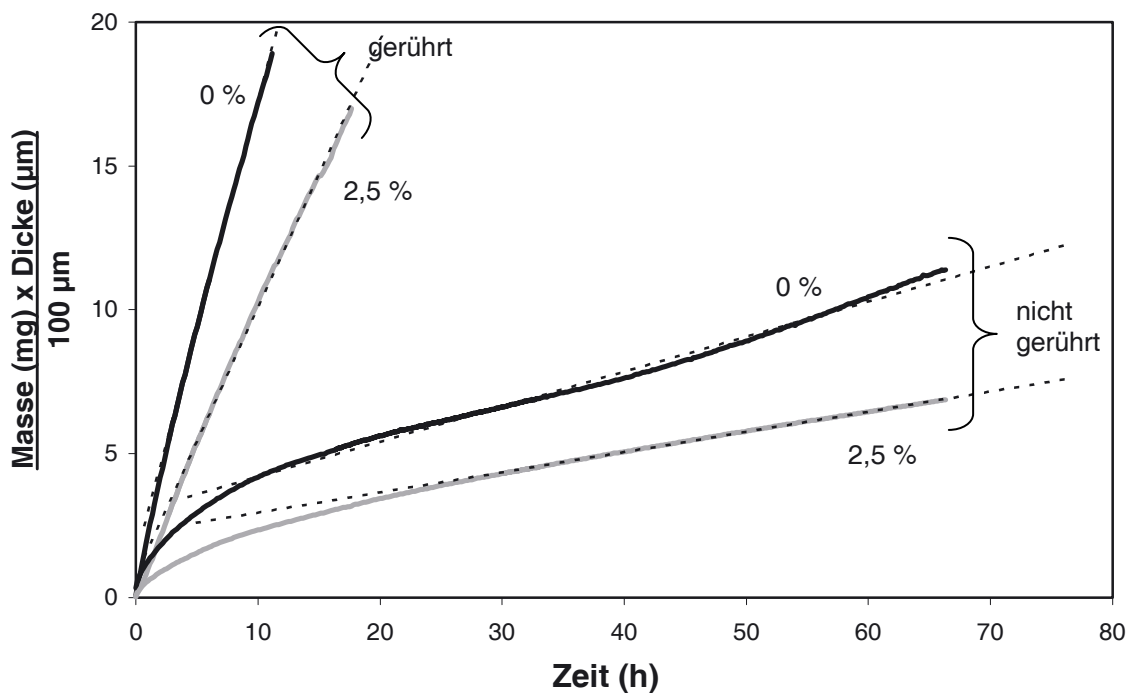


Abb. 27: Diffusionsversuche durch Gelatinefilme (0 und 2,5 % VS): Vergleich von nicht gerührtem (flachere Steigung) und gerührtem (steilere Steigung) Donator, $25 \pm 0,5$ °C, Beispielkurven

Somit sind alle bisher ermittelten Diffusionskoeffizienten nur scheinbare Diffusionskoeffizienten (D_{exp}) des Arzneistoffs in den gehärteten Gelatinefilmen. Sie stehen für die Diffusionsbarriere des gesamten Systems, die sich aus der

Summe der Barriere der Wasserschicht und des eigentlichen Widerstands der Gelatinefilme zusammensetzt.

Durch den Einsatz des Magnetrührers im Donator ist der Versuchsaufbau deutlich komplizierter. Es ist nur schwer möglich, mehrere Diffusionsversuche parallel durchzuführen. Aufgrund des dadurch resultierenden hohen Zeitaufwands werden einige Versuche mit gerührtem Donator durchgeführt und die resultierenden Daten mit den Daten aus Experimenten mit ungerührtem Donator verglichen.

Da sich die Widerstände der einzelnen Barrierschichten zum Gesamtwiderstand addieren und sich umgekehrt proportional zur Permeabilität P verhalten, kann aus dem echten Diffusionskoeffizienten in den Gelatinefilmen, ermittelt durch die Versuche mit gerührtem Donator, und dem Gesamtwiderstand des Systems (Wasserschicht und Gelatinefilm), festgestellt durch die Versuche mit ungerührtem Donator, der Widerstand der ruhenden Wasserschicht berechnet werden. Dies ist mit Hilfe der Gleichungen 12 und 13 möglich. Die Dicke der einzelnen Schichten ist bekannt bzw. wird gemessen, den Diffusionskoeffizienten liefern die experimentellen Daten, und der VK ist bestimmt für die Gelatinefilme (s. C 2.6.) und beträgt 1 für die Verteilung innerhalb der Wasserschicht.

$$R_{ges} = R_1 + R_2 + \dots \quad \text{Gl. 12}$$

$$R = \frac{1}{P} = \frac{d}{D \cdot VK} \quad \text{Gl. 13}$$

Nachdem der Widerstand der Wasserschicht berechnet ist, kann aus den jeweiligen Diffusionsversuchen mit ungerührtem Donator auch der wahre Diffusionswiderstand der Gelatinefilme durch umgekehrte Berechnung mit Hilfe der Gleichungen 12 und 13 ermittelt werden. Dadurch sollte die einfachere praktische Durchführung der Experimente mit ungerührtem Donator und die

anschließende rechnerische Ermittlung des wahren Diffusionskoeffizienten in den Gelatinefilmen möglich sein.

Die Graphen in Abbildung 28 zeigen, dass die Diffusion durch unterschiedlich stark gehärtete Gelatinefilme bei Rühren des Donators und des Akzeptors von Anfang an linear verläuft. Weiterhin ist zu erkennen, dass die Unterschiede in der Steigung stärker ausgeprägt sind.

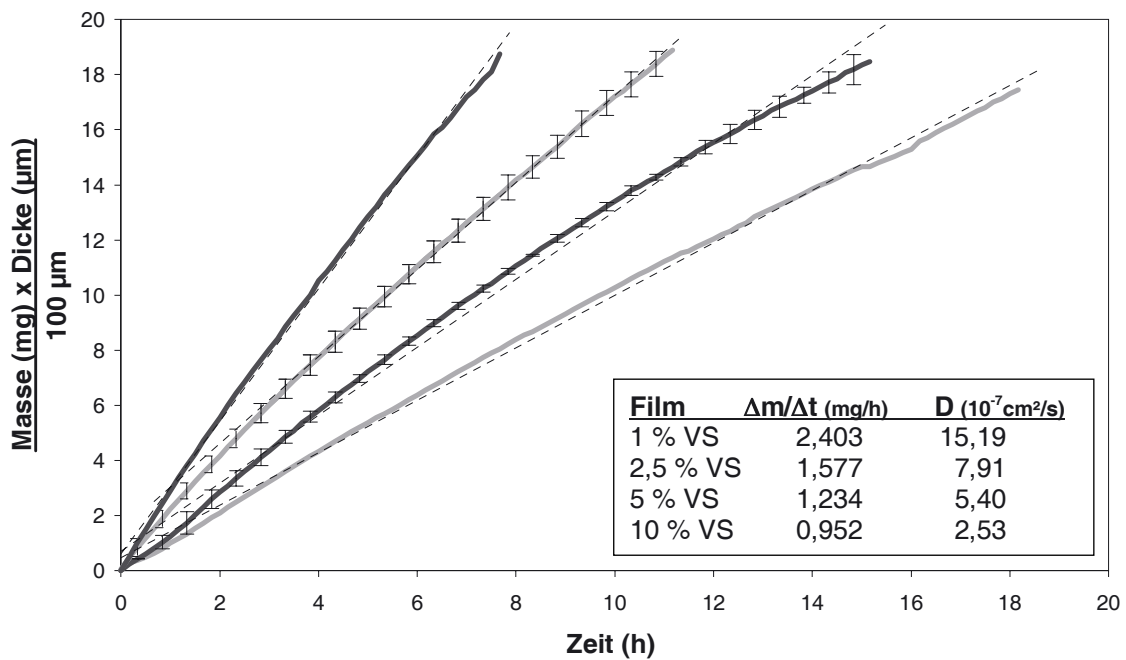


Abb. 28: Diffusionsversuche durch unterschiedlich stark gehärtete Gelatinefilme (normiert auf 100 µm Trockenfilmdicke), Donator gerührt; $F = 19,6 \text{ cm}^2$; $25 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$

In Tabelle 5 sind die Diffusionskoeffizienten aus den Versuchen mit und ohne Magnetrührer im Donator aufgeführt. Dabei wird deutlich, dass die unkorrigierten Werte aus den Diffusionsversuchen mit ungerührtem Donator um Faktor 5 - 30 kleiner sind als die Werte aus den Experimenten mit Rührer.

Tab. 5: Diffusionskoeffizienten in gehärteten Gelatinefilmen (1, 2,5, 5 % Vinylsulfon) durch experimentelle Bestimmung aus Versuchen mit gerührtem und ungerührtem Donator sowie durch rechnerische Bestimmung für die jeweilige Wasserschicht

	D (ungerührt) (x 10⁻⁷ cm²/s)	D (gerührt) (x 10⁻⁷ cm²/s)	D (Wasser) (x 10⁻⁶ cm²/s)
1% VS	0,60	15,19	4,06
2,5 % VS	0,58	7,91	3,78
5 % VS	0,53	5,40	3,76

Sowohl die Veränderung der Diffusionsgeschwindigkeiten als auch die der Diffusionskoeffizienten in unterschiedlich stark gehärteten Gelatinefilmen sind für die Experimente mit Rührer im Donatormedium (Abb. 28) stärker ausgeprägt als bei den Versuchen ohne Magnetrührer (Tab. 5). Dies ist verständlich, da die immer gleichbleibende Diffusionsbarriere der im Vergleich zu den Gelatinefilmen sehr viel dickeren Wasserschicht (2,5 cm) einen starken nivellierenden Effekt auf den gesamten Diffusionswiderstand hat.

Die Tendenz, dass mit zunehmender Härterkonzentration sowohl Fluxe als auch Diffusionskoeffizienten sinken, ist mit dem Effekt des Härters auf die Struktur des Gelatinegerüsts zu erklären. Durch den Einsatz von Härter wird das Netzwerk in den Gelatinefilmen dichter, die kovalenten Verknüpfungen schränken die Aufweitung ein und machen damit nur eine geringe Quellung möglich. Gleichzeitig stellt die dichtere Struktur eine höhere Barriere für die diffundierende Substanz dar.

Durch rechnerische Ermittlung ergeben sich Diffusionskoeffizienten für die ca. 2,5 cm dicke Wasserschicht von $4,06 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ (1 % VS), $3,78 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ (2,5 % VS) bzw. $3,76 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ für Filme, die mit 5 % Vinylsulfon gehärtet werden (Tab. 5). Dies entspricht recht gut den Erwartungen für Diffusionskoeffizienten von Substanzen dieses Molekulargewichts in Wasser (Bauer, 2002).

Die Berechnung der wahren Diffusionskoeffizienten in den gehärteten Gelatinefilmen aus den Daten der Versuche mit ungerührtem Donator ist damit theoretisch möglich. Obwohl die Werte für die Wasserschicht sehr nah beieinander liegen, führen sie aber bei geringen Schwankungen zu großen Fehlern, da die jeweiligen Reziprokwerte der Permeabilität zur Berechnung herangezogen werden.

Da die Tendenz der Beeinflussung der Diffusionsgeschwindigkeit hier entscheidend ist und im späteren Verlauf die Kinetik der Freisetzung betrachtet wird, werden weitere Versuche aus praktischen Gründen mit ungerührtem Donator durchgeführt. Dabei ist zu beachten, dass die dann ermittelten Diffusionskoeffizienten ($D_{\text{exp.}}$) keine wahren, sondern nur scheinbare Werte darstellen, bei denen nur die Richtung der Beeinflussung durch verschiedene Veränderungen der Bedingungen, nicht aber die absoluten Werte wichtig sind.

Zusätzlich zu den Diffusionskoeffizienten ist bei Betrachtung der Ergebnisse auch der Quellungsfaktor zu beachten, da durch zunehmende Härtung zwar ein größerer Diffusionswiderstand der Gelatinefilme entsteht, jedoch durch die reduzierte Quellung auch eine geringere Dicke der normierten Ausgangsfilme. Der Vergleich der Diffusionsgeschwindigkeit, ausgedrückt durch die Steigung, ist also nicht nur graphisch anschaulicher, sondern auch von praktischer Bedeutung, da in den einfachen Vergleichen der Steigungen sowohl der Diffusionskoeffizient als auch die Länge des Weges durch den gequollenen Film bei genormter Trockenfilmdicke eingeht.

Für eine Aussage über die Durchlässigkeit der gehärteten Gelatinefilme sind die Unterschiede der Fluxe (Steigungen) also wichtiger als die reinen Diffusionskoeffizienten, die jeweils in Zusammenhang mit den Quellungs-faktoren zu sehen sind. Auch bei den Freisetzungsuntersuchungen werden die trockenen Filme bezüglich ihrer Dicke normiert, was dort dann auch von Bedeutung für die Konzentration in den gequollenen Filmen ist.

3.2.3. Beschleunigte Trocknung

Bei beschleunigter Trocknung im Umlufttrockenschrank und Härtung mit 2,5 % Vinylsulfon ergeben sich Filme, die in Wasser nur auf Faktor 2,1 quellen und durch die, bei Normierung auf eine Dicke von 100 µm, der Arzneistoff mit einer Geschwindigkeit von 0,089 mg/h permeiert. Daraus ergibt sich eine berechnete Diffusionsbarriere von $D = 0,40 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$, also ein höherer Diffusionswiderstand als bei vergleichbaren, im Raum getrockneten Filmen. Da die Gelatinegele durch beschleunigte Trocknung schneller in eine dichtere Struktur (Filme) übergehen, befinden sich die zu verknüpfenden Aminogruppen auch früher in räumlicher Nähe. Die schnelle Härtung führt zu einem dichteren Netzwerk, der Diffusionskoeffizient und die Quellung (s. C 2.2.2) sind erniedrigt.

3.2.4. Härtung nach Trocknung

Durch Einsatz des Härtungsreagenzes nach Trocknung der Filme können sowohl Quellung als auch der Diffusionswiderstand weiter erniedrigt werden (Tab. 6).

Tab. 6: Diffusionsgeschwindigkeiten ($\Delta m/\Delta t$), Quellungsfaktoren und Diffusionskoeffizienten ($D_{\text{exp.}}$) resultierend aus Diffusionsstudien durch mit unterschiedlichen Mengen Vinylsulfon (0 – 5 %) nach Trocknung gehärtete Gelatinefilme (100 μm Trockenfilmdicke, $F = 19,6 \text{ cm}^2$), $25 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$, $\bar{x} \pm s$, $n = \text{mindest. } 3$

	0 %	1 %	2,5 %	5 %
$\Delta m/\Delta t \text{ (mg/h)}$	0,122	0,0793	0,0677	0,0527
Quellungsfaktor	10	2,8	1,9	1,8
D ($\times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$)	4,04 $\pm 0,39$	0,48 $\pm 0,01$	0,30 $\pm 0,02$	0,27 $\pm 0,03$

Der Diffusionswiderstand ist bereits bei einer nachträglichen Härtung mit 1 % Vinylsulfon ($D = 0,48 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$) etwas niedriger als nach Zugabe von 5 % VS zur Gelatinelösung. Der durch nachträgliche Härtung mit 5 % Vinylsulfon auf $0,27 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ weiter erniedrigbare Diffusionskoeffizient spiegelt sich auch in der geringeren Quellung der Filme wider. Durch Härtung werden die Filme bzw. die Polypeptidketten im jeweiligen Zustand vernetzt. Das bedeutet für den Härterzusatz zur Lösung, dass die Gelatineketten im Solzustand verknüpft werden, woraus eine reduzierte kristalline Struktur der entstehenden Filme resultiert (s. C 2.1.5.). Wird der Härter nach Filmbildung zugegeben, so bleibt die kristalline Struktur bestehen. Vernetzt und damit verdichtet werden die anderen Bereiche (ca. 80 %) des Gelatinefilms. Da kristalline Bereiche in der Regel weniger Wasser aufnehmen können als amorphe, ist bei diesen Filmen die Quellung stärker reduziert. Außerdem ist davon auszugehen, dass die Diffusionsgeschwindigkeit durch kristalline Bereiche aufgrund der geordneten, dichteren Struktur extrem beeinträchtigt ist. Das erklärt die Reduktion des

Diffusionskoeffizienten durch Härtung nach Filmbildung im Vergleich zur Zugabe des Härterers zur Lösung.

Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wird trotzdem die Härterlösung zum Gelatinesol zugesetzt, da die nachträgliche Härtung verschiedene Probleme in der praktischen Durchführung (wie ungleichmäßige Quellung, Wellung, Verklebung und Verziehen des zuvor planaren Films sowie die Ungewissheit der gleichmäßigen Härtung) mit sich bringt.

3.2.5. Temperatureinfluss

Der Vergleich dieser Daten mit Werten, die bei einer Temperatur von 32 °C bestimmt werden, ergibt die gleichen Tendenzen: Sowohl durch Erhöhung der Härterkonzentration als auch durch beschleunigte Trocknung im Umlufttrockenschrank lässt sich der Diffusionskoeffizient etwas bzw. deutlich herabsetzen. In Gelatinefilmen, die normal getrocknet werden und bei denen der Härter zur Gelatinelösung zugegeben wird, beträgt er bei Filmen, die mit 2,5 % Vinylsulfon gehärtet sind, $0,40 \pm 0,06 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ (zum Vergleich bei 25 °C: $0,58 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$). Für Gelatinemembranen, die mit 5 % VS gehärtet sind, ergibt sich ein Diffusionskoeffizient ($D_{\text{exp.}}$) von $0,38 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ (zum Vergleich bei 25 °C: $0,53 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$). Durch schnellere Trocknung der Gelatinefilme im Umlufttrockenschrank resultiert auch in Diffusionsversuchen bei 32 °C ein erhöhter Diffusionswiderstand, mit $D_{\text{exp.}} = 0,38 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ für mit 2,5 % und $0,27 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ für mit 5 % Vinylsulfon gehärtete Filme.

Die experimentellen Diffusionskoeffizienten von Theobromin in Gelatinefilmen erniedrigen sich also bei Temperaturerhöhung von 25 auf 32 °C.

Das ist nicht zu erwarten, da der Diffusionskoeffizient in Flüssigkeiten direkt proportional und exponentiell über die Viskosität mit der Temperatur verbunden ist (Flynn, 1974). Er sollte also mit steigender Temperatur ansteigen. Das Quellungsverhalten ist jedoch auch temperaturabhängig. Bei steigender Temperatur sinkt die Hydratation der Gelatinefilme, und die Filme zeigen

geringere Quellung. Der Quellungsfaktor erniedrigt sich um 3,25 % bei Erhöhung der Temperatur von 25 auf 32 °C. Dadurch ist zwar der gequollene Film dünner und somit der Diffusionsweg kürzer, jedoch wird zusätzlich auch das Netzwerk dichter. Dieser Effekt scheint für den Einfluss auf den Diffusionskoeffizienten entscheidender zu sein, was sich in sinkenden Diffusionskoeffizienten widerspiegelt.

Die folgenden, im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Freisetzen werden vor allem bei einer Temperatur von 32 °C durchgeführt. Diese Temperatur hat eine größere praktische Relevanz, da das Ziel der Arbeit die Entwicklung einer potenziell zur transdermalen Anwendung geeigneten Arzneiform ist und die Temperatur der Haut 32 °C beträgt (Teubner, 1980; Reimann, 1986).

3.2.6. Glutardialdehyd als Härter

Zum Vergleich mit den mit Vinylsulfon gehärteten Filmen wird auch die Diffusion durch Filme untersucht, die mit Glutardialdehyd gehärtet worden sind. Dabei zeigt sich, dass ein Zusatz von 5 % Glutardialdehyd die Quellung auf Faktor 3,3 und den Diffusionskoeffizienten auf $0,99 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ verringert. Dadurch wird gezeigt, dass auch Glutardialdehyd als potentielles Härtingsreagenz in Frage kommen kann und zu einer deutlichen Verlangsamung des Massenflusses und einer reduzierten Quellung der Filme führt.

Im weiteren Verlauf wird ausschließlich Vinylsulfon als Härtingsreagenz verwendet. Dies hat erstens Stabilitätsgründe, sowohl bei den entstehenden Filmen (s. B 3.2. und C 2.1.5.) als auch bei der Lagerung der Härtingssubstanz, und ist zweitens in der praktischen Anwendung (Ausgießen mit Lösung, Konzentrationseinstellung über Feststoffeinwaage) einfacher.

3.3. Zusammenfassung und Bewertung der Versuche zur Wirkstoffdiffusion durch gehärtete Gelatinefilme

Der Einfluss verschiedener Faktoren auf den Diffusionskoeffizienten von Theobromin in Gelatinefilmen ist untersucht worden. Dabei zeigt sich, dass Änderungen in der Herstellung und Härtung der Filme sowie die Art der Untersuchungsmethode unterschiedliche Effekte auf die resultierenden Diffusionskoeffizienten haben.

Durch Härtung der Gelatinefilme mit Vinylsulfon erniedrigt sich der Massentransport durch Gelatinefilme deutlich. Dies kann in Diffusionsstudien sowohl mit ungerührtem als auch mit gerührtem Donatormedium gezeigt werden. Mit zunehmender Härterkonzentration nehmen Massentransport durch und Diffusionskoeffizient in den Filmen ab. Bei den Versuchen mit ungerührtem wässrigen Donator zeigt sich, dass die Wasserschicht zwischen Gelatinefilm und Bodensatz im Donator einen starken Einfluss auf den Massentransport hat. Trotz erwarteter schneller Diffusion des Arzneistoffs in Wasser findet also offensichtlich kein ausreichend rascher Konzentrationsausgleich statt, und es entsteht ein Konzentrationsgefälle im Donatormedium unter der eigentlichen Barriere des Gelatinefilms. Dies liegt daran, dass diese Wasserschicht im Vergleich zu den Filmen (bis 200 µm) sehr dick (2,5 cm) ist. Die aus diesen Versuchen ermittelten Diffusionskoeffizienten stellen also nur experimentelle Werte dar, die zu vergleichenden Aussagen herangezogen werden können. Der wahre Diffusionskoeffizient, resultierend aus Experimenten mit gerührtem Donatormedium, ist aussagekräftiger. Er kann durch den Einsatz von 5 % Härter auf $5,40 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ reduziert werden. Rechnerisch ist aus den beiden Methoden bei Einsatz gleicher Filme der Diffusionskoeffizient in der Wasserschicht zu ermitteln. Dieser beträgt für den Arzneistoff Theobromin ca. $4 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$.

Der Massentransport durch und der Diffusionskoeffizient in Gelatinefilmen sind über das 1. Fick'sche Gesetz eng miteinander verbunden. Die Abnahme des

Diffusionskoeffizienten mit steigender Härterkonzentration kann durch die Entstehung eines dichteren Strukturnetzwerks erklärt werden. Durch Umsetzung mit Vinylsulfon entstehen längere und quervernetzte Ketten, die eine größere Diffusionsbarriere darstellen. Zu beachten ist zusätzlich noch die reduzierte Quellung der Filme mit zunehmendem Härungsgrad. Dies führt einerseits zu einer dichteren Struktur des Polypeptidnetzwerks, was in kleineren Diffusionskoeffizienten resultiert. Gleichzeitig wird jedoch auch der Diffusionsweg verkürzt, so dass die Diffusionsgeschwindigkeit ansteigen sollte. Da mit zunehmendem Härungsgrad abnehmende Diffusionskoeffizienten zu beobachten sind, überwiegen offensichtlich die strukturverändernden Effekte.

Durch schnellere Trocknung der Gelatine während der Härung wird der Diffusionskoeffizient ebenfalls beeinflusst. Die schnellere Trocknung bewirkt, dass sich die Aminogruppen, die vernetzt werden, schneller in räumlicher Nähe zueinander befinden und so effektiver durch den Härter verknüpft werden können. Härung nach Entstehung der trockenen Filme führt aus den gleichen Gründen zu einer weiteren Erniedrigung des Massentransports. Da die Gelatine im jeweils vorliegenden Zustand vernetzt wird, erfolgt im Solzustand Verknüpfung der ungeordneten Ketten der Knäuelform. Die Gelatine trocknet ohne Ausbildung von kristallinen Strukturen. Wird das Gelatinegel erst getrocknet und bildet dabei kristalline Tripelhelices aus, so führt der anschließende Einsatz von Härterlösung zur Vernetzung unter Erhaltung der kristallinen Bereiche. Damit werden die amorphen Bereiche der Gelatinefilme verstärkt vernetzt. Der hohe Diffusionswiderstand und das geringere Quellvermögen kristalliner Strukturen tragen zu einer stärkeren Reduktion des Diffusionskoeffizienten im gesamten Film bei.

Im Vergleich zu den Diffusionsuntersuchungen bei 25 °C führen die Versuche bei 32 °C (Hauttemperatur) zu niedrigeren Diffusionskoeffizienten. Auf den ersten Blick erstaunlich, ist dies mit dem geringeren Hydratationsgrad der Gelatinefilme bei höheren Temperaturen zu erklären. Die Struktur im wässrigen

Medium wird durch die reduzierte Quellung dichter, der Massenfluss durch die Filme ist erniedrigt.

Auch Glutardialdehyd zeigt sich als potentiell geeignetes Härtingsreagenz. Sowohl die Quellung als auch der Diffusionskoeffizient können durch den Einsatz der wässrigen Lösung als Härtingsreagenz gesenkt werden.

Aus praktischen Gründen werden die Gelatinefilme mit Vinylsulfon gehärtet, wobei die Härterlösung unmittelbar vor dem Ausgießen der Filme zum Gelatinesol zugesetzt wird und die Gele anschließend bei 25 °C getrocknet werden.

Die Diffusionsversuche finden vor allem mit ungerührtem Donator statt. Bei den berechneten Diffusionskoeffizienten handelt es sich dann um experimentelle Werte ($D_{\text{exp.}}$), die von den wahren Diffusionskoeffizienten aufgrund des verlangsamenden Effektes der Wasserschicht abweichen.

Die Gelatinefilme für die anschließenden Freisetzungsforschungen entstehen auf die gleiche Art. Die Freisetzung erfolgt vornehmlich in Freisetzungsmitteln, die auf 32 °C temperiert sind.

4. Freisetzungsuntersuchungen aus einfachen Matrices

4.1. Herstellung arzneistoffhaltiger Gelatinematrices

Für die Freisetzungsuntersuchungen werden Gelatinefilme mit Theobromin beladen. Dazu wird das Theobromin in der jeweiligen Menge zur Rohgelatine gegeben. Anschließend wird soviel Wasser hinzugefügt, dass nach Zugabe der Härterlösung ein 10%iges Gelatinesol ausgegossen werden kann. Nach Vorquellen bei Raumtemperatur für zwei Stunden wird die Gelatine durch Erwärmen auf 60 °C gelöst. Vinylsulfon wird in 1%iger, wässriger Lösung zugegeben. Wenn nicht anders angegeben, werden Matrices gegossen, deren Konzentration 2,5 % Vinylsulfon bezogen auf die Gelatinemasse beträgt. Das Sol wird wie bei unbeladenen Filmen (s. C 2.5.) auf Folien ausgegossen. Durch Trocknung bei 25 °C entstehen die Gelatinematrices.

Je nach Beladungsmenge sind zwei Fälle zu unterscheiden: Bei Matrices mit gelöstem Arzneistoff im gequollenen Gelatinefilm spricht man von Lösungsmatrices. Dabei werden in dieser Arbeit Lösungsmatrices eingesetzt, bei denen Theobromin in Sättigungskonzentration (c_s) vorliegt. Als Suspensionsmatrices werden Filme bezeichnet, deren Arzneistoffkonzentration die Sättigungskonzentration übersteigt. Im Rahmen dieser Arbeit liegt die Konzentration c bei $10 \times c_s$. Bei suspendiertem Arzneistoff ist die Partikelgröße des Theobromins zu beachten. Die Feststoffteilchen sollten nicht aus den dünnen Filmen herausragen. Größere Partikel haben außerdem den Nachteil, dass sie in der Suspension schneller sedimentieren. Dies führt beim Ausgießen zu unterschiedlich stark beladenen und durch Sedimentation nach dem Ausgießen zu inhomogen beladenen Filmen mit einer Zunahme des Feststoffanteils von oben nach unten. Kleine Partikel sind auch vorzuziehen, da große eingebettete Partikel durch langsame Lösungsgeschwindigkeit die Freisetzung beeinflussen können.

4.2. Durchführung der Untersuchungen

Die Freisetzungsuntersuchungen aus dicken Filmen werden in Gefäßen mit Blattrührer und einer Zelle ähnlich der Extraktionszelle für die Freisetzung aus Transdermalen Systemen (Ph. Eur.) durchgeführt (siehe D 4.). Die Fläche, die zur Freisetzung aus den Matrices zur Verfügung steht, beträgt 19,6 cm². Da das Akzeptormedium in den Gefäßen für die Freisetzung kleiner Arzneistoffmengen aus dünnen Filmen zu groß ist, wird über der Extraktionszelle eine Glasglocke eingespannt, in der sich ein kleineres Volumen (50 ml) an wässrigem Akzeptor befindet. Die Filme werden vor Einsatz in die Extraktionszelle für 5 min in wenig gesättigter, wässriger Theobrominlösung vorgequollen. Die Freisetzungsuntersuchungen erfolgen in der Regel bei 32 °C, die Konzentration im Akzeptor wird spektralphotometrisch mit Hilfe von Durchflussküvetten gemessen.

Gemäß der Theorie sollte die Freisetzung aus Matrices der Wurzel-t-Kinetik folgen. Wie in Kapitel B 1.4.2. beschrieben, resultiert dies aus dem 2. Fick'schen Gesetz (Gl. 4), der Ableitung des 1. nach dem Weg. Durch Umformen der jeweils gültigen Higuchi-Gleichung für Lösungs- bzw. Suspensionsmatrices (siehe Gl. 6 - 10) kann der Diffusionskoeffizient rechnerisch aus der Steigung des Graphen nach Auftragung der freigesetzten Arzneistoffmenge gegen die Wurzel der Zeit ermittelt werden.

4.3. Berechnung des Diffusionskoeffizienten

Freisetzungsuntersuchungen aus Lösungsmatrizes sollten zu einer Kinetik führen, deren Anfangsbereich (early time) mit Gleichung 8 zu beschreiben ist (B 1.4.2.). In der Praxis führt die Anwendung dieser Gleichung in den meisten Fällen zu einem Fehler im Anfangsbereich der Freisetzung, der mit der Einführung eines Korrekturfaktors (b) zu beheben ist (Lindner, 1995/96).

Dieser Korrekturfaktor ermöglicht die bessere Angleichung der experimentell ermittelten Freisetzungsprofile an den theoretischen Verlauf und damit auch die korrektere Ermittlung des Diffusionskoeffizienten. Gleichung 8 wird also durch Ergänzung um den Faktor b in Gleichung 14 überführt, mit der die Freisetzungskinetik aus Lösungsmatrizes gut beschrieben werden kann.

$$Q_t = 2 \cdot F \cdot c_0 \cdot \sqrt{\frac{D}{\pi}} \cdot \sqrt{t} \pm b \quad \text{Gl. 14}$$

Aus der Steigung a, resultierend durch die Auftragung der freigesetzten Masse Q_t gegen Wurzel t, kann der Diffusionskoeffizient ermittelt werden. Dazu wird Gleichung 15 herangezogen:

$$D = \left(\frac{a}{2 \cdot F \cdot c_0} \right)^2 \cdot \pi \quad \text{Gl. 15}$$

Analog wird bei der Gleichung für Suspensionsmatrices ein Korrekturfaktor b eingeführt. Dadurch geht Gleichung 10 in Gleichung 16 über.

$$Q_t = F \cdot \sqrt{D \cdot c_s \cdot (2 \cdot c_0 - c_s)} \cdot \sqrt{t} + b \quad \text{Gl. 16}$$

Der Diffusionskoeffizient wird in diesem Fall mit Hilfe von Gleichung 17 wiederum über die Steigung a berechnet.

$$D = \left(\frac{a}{F \cdot \sqrt{c_s \cdot (2 \cdot c_0 - c_s)}} \right)^2 \quad \text{Gl. 17}$$

4.4. Einfluss der Arzneistoffkonzentration und –partikelgröße

4.4.1. Lösungsmatrix

Die Freisetzung aus Gelatinefilmen mit gelöstem Theobromin folgt erwartungsgemäß einer Kinetik nach Wurzel t. Durch Ermittlung der Steigung bei Darstellung der freigesetzten Arzneistoffmasse gegen die Wurzel der Zeit ergibt sich im Beispiel von Abb. 29 eine Freisetzungsrates von $0,0821 \text{ mg}/\sqrt{\text{min}}$. Das Freisetzungsprofil einschließlich des Anfangsanstiegs kann mit berechneten Werten nach Gl. 14 bzw. 15 bis etwa 60 % freigesetzt gut simuliert werden. Der Korrekturfaktor b beträgt in diesem Beispiel der Freisetzung aus Filmen, die mit 2,5 % Vinylsulfon gehärtet sind, 0,128 mg. Die Simulation ist mit einem Diffusionskoeffizienten von $5,27 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ durchgeführt.

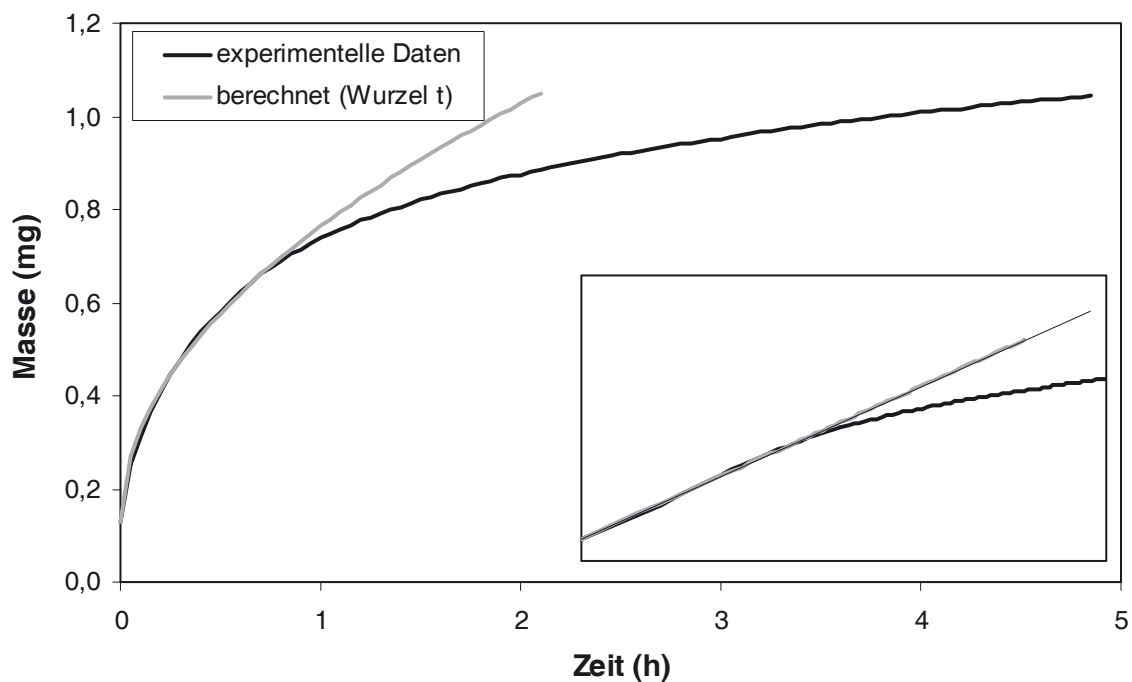


Abb. 29: Freisetzung aus Gelatinefilm (350 μm dick) mit gelöstem Theobromin, gehärtet mit 2,5 % VS, Beispielfilm; 32 °C; Darstellung gegen die Zeit und gegen Wurzel der Zeit (kleines Diagramm); Vergleich experimenteller und berechneter Werte, $D = 5,27 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$, $b = 0,128 \text{ mg}$, $\Delta m/\Delta\sqrt{t} = 0,0821 \text{ mg}/\sqrt{\text{min}}$; Q_t 1,17 mg = 100 %

Der mittlere Diffusionskoeffizient in den Lösungsmatrices beträgt $7,28 \pm 2,6 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ und ist somit praktisch gleich dem in Diffusionsstudien durch gehärtete Filme (ebenfalls mit 2,5 % Vinylsulfon) ermittelten Diffusionskoeffizienten von $7,91 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$.

Die Freisetzung des Arzneistoffs aus den Gelatinematrices erfolgt zu 100 % der theoretisch in den Filmen befindlichen Masse. Es findet also keine Zerstörung (z.B. durch die thermische Belastung beim Erwärmen) oder kovalente Verknüpfung (beispielsweise durch den Härter) im Verlaufe des Gieß- und Freisetzungprozesses statt.

4.4.2. Suspensionsmatrix

Bei Freisetzungsuntersuchungen aus Filmen, die mit dem 10fachen der Sättigungskonzentration an Theobromin beladen sind, ergibt sich erwartungsgemäß ebenfalls eine Kinetik, die proportional zur Wurzel der Zeit verläuft. Die Filme sind wiederum mit 2,5 % Vinylsulfon gehärtet, und die Freisetzungsuntersuchungen erfolgen bei 32 °C.

Die Freisetzungsrates lässt sich auch hier gut mit berechneten Werten bis etwa 70 % Freisetzung des Arzneistoffs reproduzieren (Abb. 30). Dazu wird Gleichung 16 bzw. 17 für Suspensionsmatrices herangezogen. Der Berechnung liegt der aus den experimentellen Daten ermittelte Diffusionskoeffizient $D = 11,43 \pm 0,01 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ zugrunde, der etwas größer ist als im Fall der Lösungsmatrices. Der Korrekturfaktor b ergibt sich ebenfalls aus den experimentellen Daten und beträgt -0,39 mg. Aus der Steigung der Ausgleichsgerade bei Auftragung der freigesetzten Masse an Theobromin gegen die Wurzel der Zeit lässt sich die Freisetzungsrates $\Delta m/\Delta\sqrt{t} = 0,112 \text{ mg}/\sqrt{\text{min}}$ ermitteln.

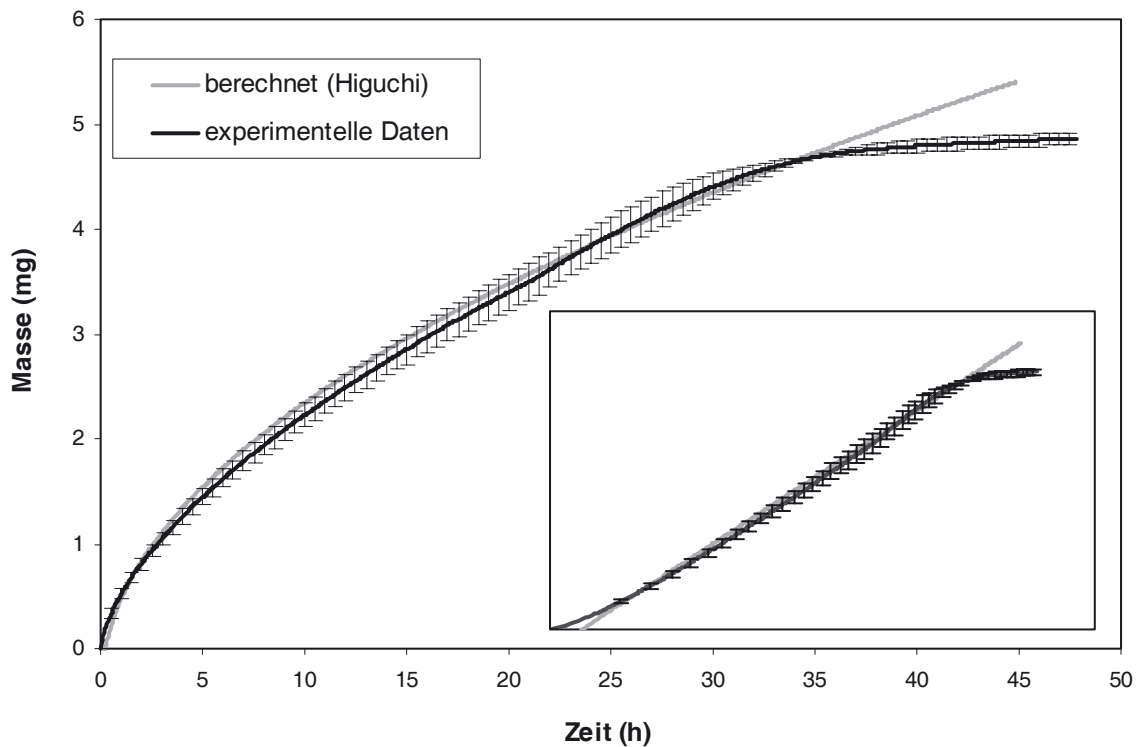


Abb. 30: Freisetzung aus Suspensionsmatrices; 32 °C; Darstellung gegen die Zeit und gegen Wurzel der Zeit (kleines Diagramm); Vergleich $\bar{x} \pm s$ ($n = 4$) mit berechneten Werten. $D = 11,43 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$, $b = -0,39 \text{ mg}$, $\Delta m/\Delta\sqrt{t} = 0,112 \text{ mg}/\sqrt{\text{min}}$; $Q_t 4,86 \text{ mg} = 100 \%$

4.4.3. Beeinflussung durch Partikelgröße

Der negative Achsenabschnitt am Anfang der Freisetzung aus Suspensionsmatrices könnte mit Sedimentation der Arzneistoffpartikel nach Ausgießen der Gelatinelösung vor der Erstarrung zum Gel zusammenhängen. Zur Überprüfung dieser These wird ein Gelatinefilm mit suspendiertem Theobromin mit der Unterseite nach oben in die Freisetzungszelle eingespannt. Die Freisetzung wird im Vergleich zu einer Suspensionsmatrix untersucht, die aus der gleichen Charge stammt und die mit der Oberseite nach oben eingelegt ist.

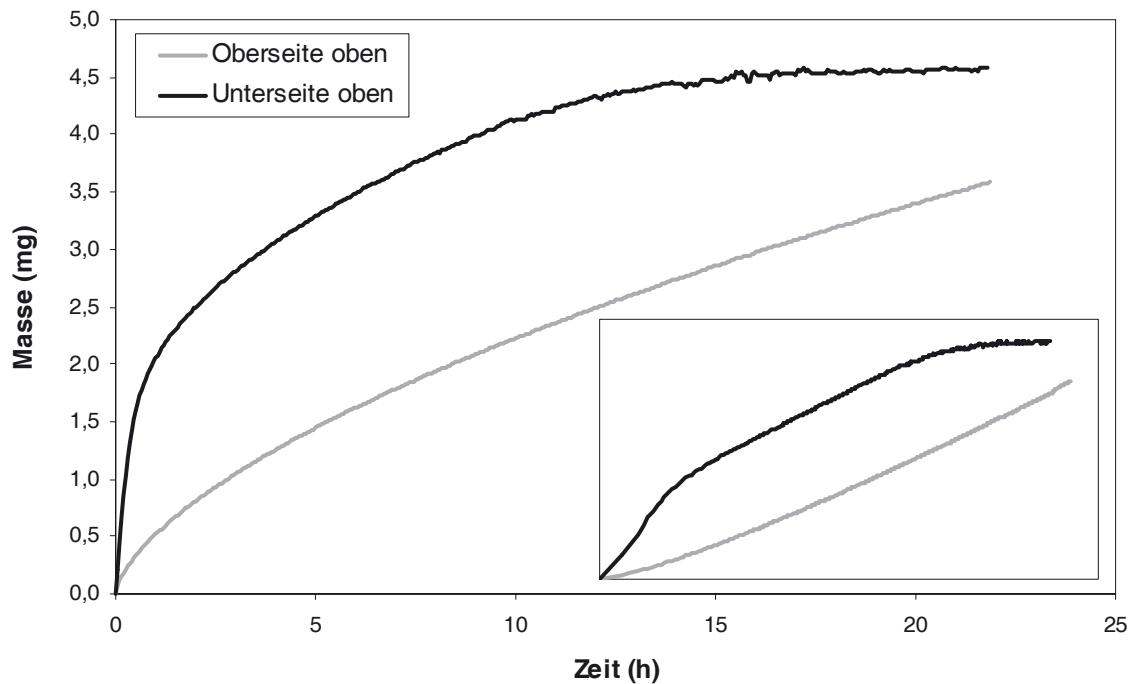


Abb. 31: Vergleich der Freisetzung aus Suspensionsmatrices, die mit der Oberseite oben (Mittelwert aus Abb. 30) bzw. mit der Unterseite oben in die Freisetzungszelle eingelegt sind; Darstellung gegen die Zeit und gegen Wurzel der Zeit (kleines Diagramm); Q_t 4,58 mg = 100 %

Es zeigt sich, dass der Anfangsanstieg bei den mit der Unterseite nach oben eingelegten Filmen deutlich steiler verläuft als bei denen, die mit der Oberseite oben in der Zelle sind. Dies wird besonders bei Auftragung gegen die Wurzel der Zeit deutlich (Abb. 31). Es ist zu erkennen, dass im Gegensatz zur vorher festgestellten negativen Abweichung von der Wurzel-t-Kinetik (negativer Korrekturfaktor) nun ein burst-effect zu Beginn beobachtet werden kann. Die anschließende Steigung ist in beiden Fällen identisch und führt demzufolge auch zu gleichen Diffusionskoeffizienten.

Die Theobrominpartikel sedimentieren offensichtlich nach dem Ausgießen der Gelatinelösung. Dies führt zu Matrices, deren Arzneistoffkonzentration an der Oberfläche geringer ist als auf der Unterseite. Die Freisetzung, bei der die Unterseite oben ist, ist daher im Anfangsbereich schneller. Kleinere Partikel, die

nach dem Stokes'schen Gesetz langsamer sedimentieren, sollten zu einer gleichmäßigeren Beladung innerhalb einer Suspensionsmatrix führen.

Die mittlere Partikelgröße des Theobromins (x_{50}) wird mit Hilfe einer Luftstrahlmühle von $17,88 \pm 0,09 \mu\text{m}$ auf $1,79 \pm 0,03 \mu\text{m}$ ($n = 3$) verkleinert. Diese Arzneistoffpartikel kommen für die Herstellung von Suspensionsmatrices zum Einsatz. Die resultierenden Freisetzungprofile folgen von Anfang an besser der Wurzel-t-Kinetik, was sich in einem kleineren Korrekturfaktor b bei Darstellung der Masse gegen Wurzel Zeit zeigt (Abb. 32).

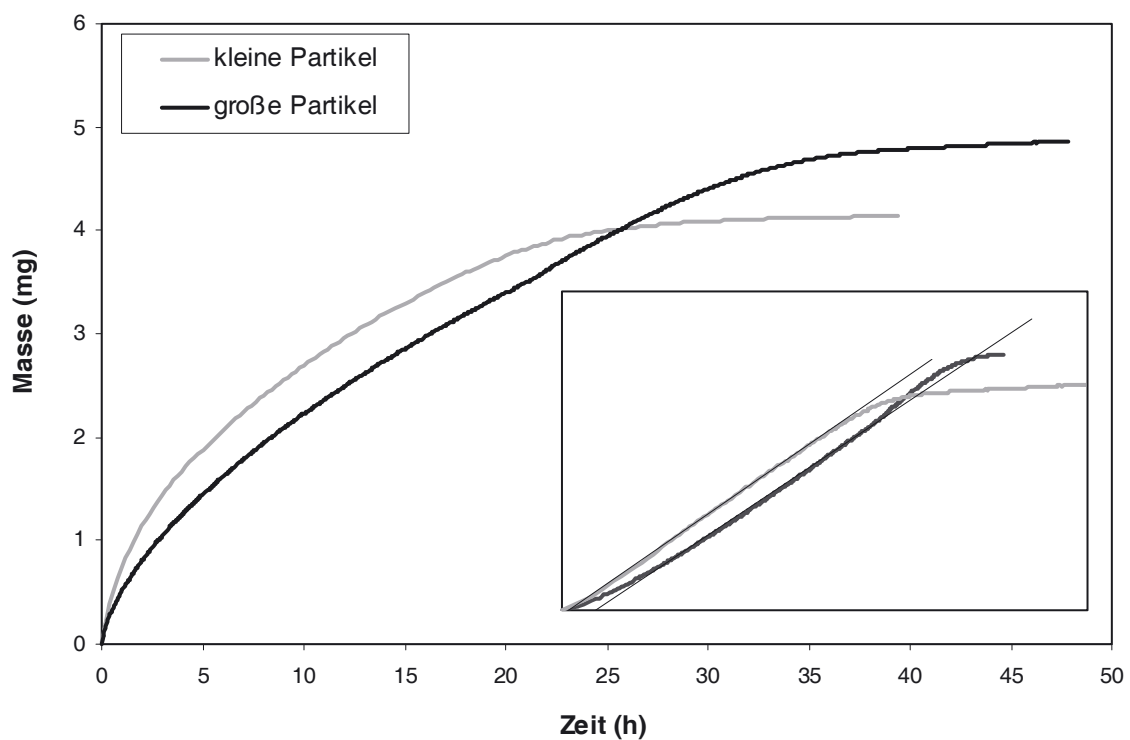


Abb. 32: Freisetzung aus Suspensionsmatrices; 32 °C; Darstellung gegen die Zeit und gegen Wurzel der Zeit (kleines Diagramm); Einfluss der Partikelgröße des Arzneistoffs: große Partikel (schwarze Linie): $b = -0,39 \text{ mg}$, $Q_t 4,86 \text{ mg} = 100 \%$ (s. Abb. 30); kleine Partikel (graue Linie): $b = -0,11 \text{ mg}$ (kleine Partikel), $Q_t 4,33 \text{ mg} = 100 \%$

4.5. Gelatine Typ A und B

Der Einfluss des Gelatinetyps (Typ A oder Typ B) auf die Freisetzung aus Suspensionsmatrixen wird untersucht. Dabei erfolgt die Beladung beider Typen mit der gleichen Menge Arzneistoff ($10 \times c_s$) und Härtung mit der gleichen Konzentration Vinylsulfon (2,5 %).

Aus den Freisetzungprofilen in Abb. 33 wird deutlich, dass die Freisetzung unabhängig vom Gelatinetyp verläuft.

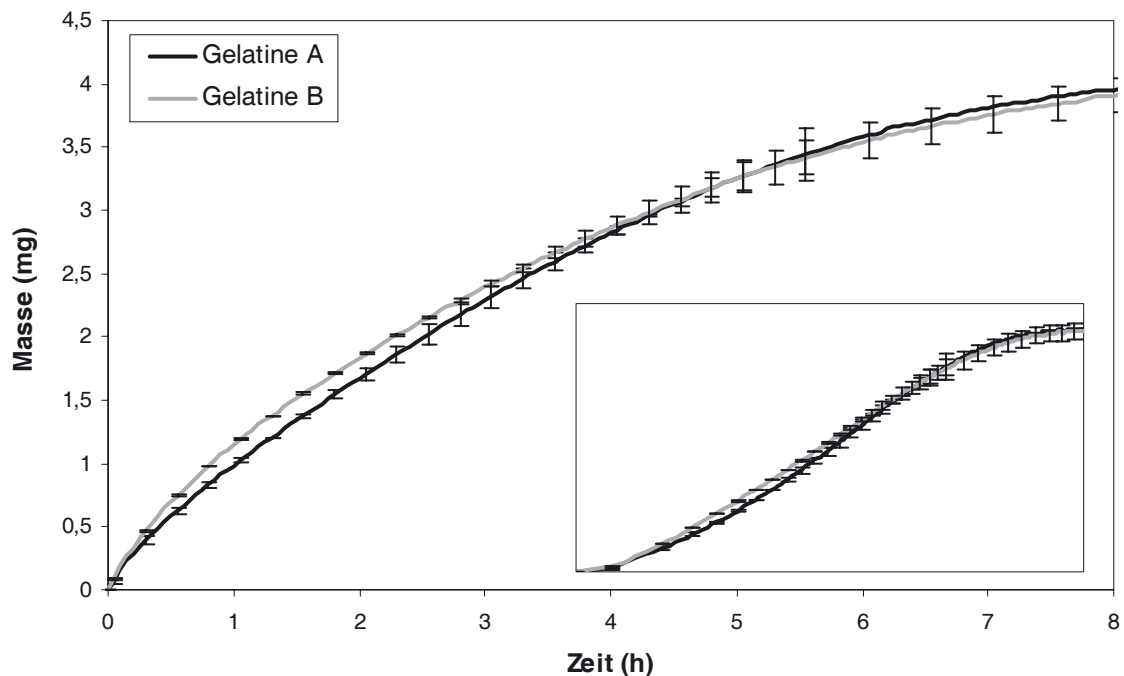


Abb. 33: Freisetzung aus Suspensionsmatrixen; 32 °C; Darstellung von $\bar{x} \pm s$ ($n = 3$) gegen die Zeit und gegen Wurzel der Zeit (kleines Diagramm); Vergleich Gelatine Typ A (schwarze) und Gelatine Typ B (graue Kurve); Q_t 4,20 mg = 100 %

4.6. Einfluss der Dicke der Matrices

Es werden verschieden dicke Matrices hergestellt und auf Unterschiede in der Freisetzungsrates, der Kinetik und dem Diffusionskoeffizienten untersucht. In Abb. 34 sind beispielhaft die Freisetzungskurven aus zwei unterschiedlich dicken Suspensionsmatrices dargestellt. Der dicke Film ist im gequollenen Zustand 210 μm dick, der dünnere 120 μm . Dabei ist zu erkennen, dass die Dicke der Filme keinen Einfluss auf die Freisetzungseigenschaften der beladenen Gelatinematrices hat. Die Steigungen bei Auftragung der freigesetzten Masse gegen die Wurzel der Zeit entsprechen sich und betragen 0,256 $\text{mg}/\sqrt{\text{min}}$ für den dicken und 0,241 $\text{mg}/\sqrt{\text{min}}$ für den dünnen Film.

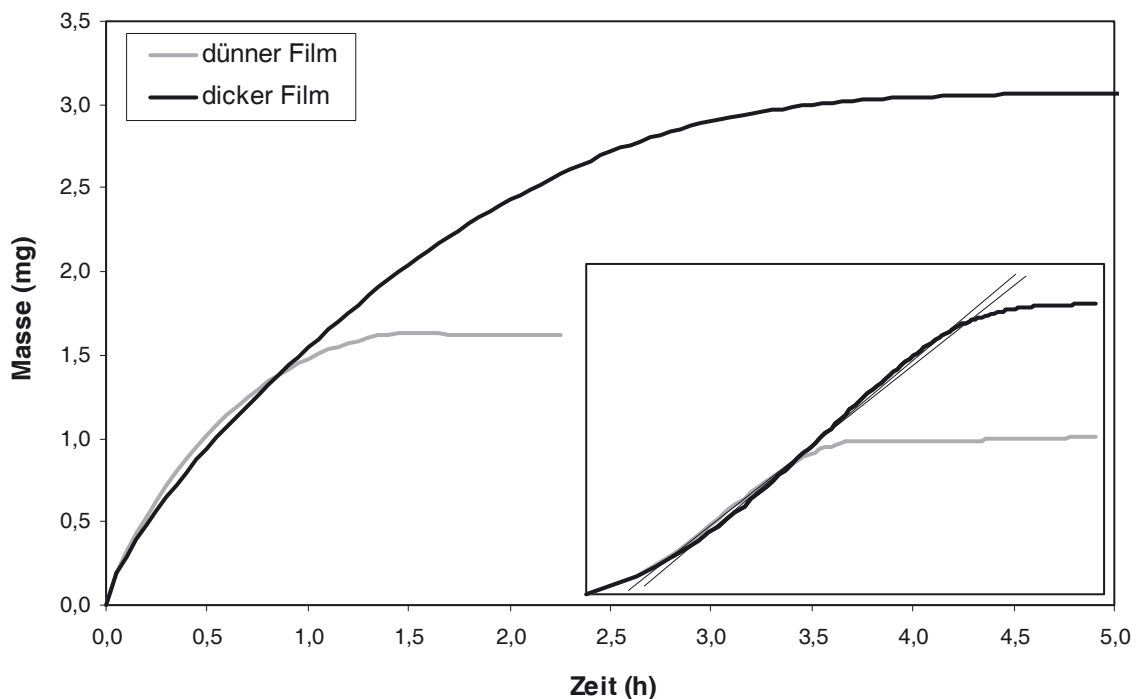


Abb. 34: Freisetzung aus Suspensionsmatrices; 32 °C; Darstellung gegen die Zeit und gegen Wurzel der Zeit (kleines Diagramm); Beispiel Vergleich dicke (210 μm) und dünne (120 μm) Filme; $\Delta m/\Delta\sqrt{t} = 0,256 \text{ mg}/\sqrt{\text{min}}$ (dicke), $0,241 \text{ mg}/\sqrt{\text{min}}$ (dünne Filme); Q_t 3,16 mg bzw. 1,79 mg = 100 %

4.7. Effekt von Füllstoffen

Um die Freisetzungsgeschwindigkeit weiter abzusenken, können Füllstoffe in den Gelatinefilmen eingesetzt werden. Diese verhindern die Diffusion in den eingenommenen Bereichen und verkleinern damit die für die Freisetzung zur Verfügung stehende Fläche. Außerdem führen sie zu einer Wegverlängerung, da der Arzneistoff den Weg um die Füllstoffpartikel herum nehmen muss und nicht auf direktem Weg aus der Matrix heraus diffundieren kann. Die Freisetzungsgeschwindigkeit wird durch solche Füllstoffe herabgesetzt (Kurka, 1985; Lippold, 1987 und 1989).

Im Rahmen dieser Arbeit wird der Effekt von anorganischen Füllstoffen (Quarzmehl und Zinkoxid) und von zugesetzten Polymeren (Eudragit NE und Polyvinylamin) auf die Freisetzung von Theobromin aus Gelatinefilmen untersucht. Dabei werden alle Füllstoffe zur Gelatinelösung zugesetzt und anschließend mit ausgegossen. Der Einfluss verschiedener Füllstoffkonzentrationen auf die Freisetzungseigenschaften aus den entstehenden Suspensionsmatrices wird untersucht. Bei den anorganischen Füllstoffen ist davon auszugehen, dass sie aufgrund der Verkleinerung der Diffusionsfläche aus und der Verlängerung des Diffusionswegs in den Matrices den Diffusionskoeffizienten erniedrigen. Die Polymere sollten durch einen niedrigen Diffusionskoeffizienten in reinen Polymerfilmen (Röhm; Monells Pagés, 1999; Jenquin, 1990) den Gesamtwiderstand der Matrices herab setzen.

Der Zusatz von Polyvinylamin, einem Polymer mit primären Aminogruppen und somit der Möglichkeit, mit der Gelatine kovalent durch das Härtingsreagenz vernetzt zu werden, führt zu Unverträglichkeiten mit der Gelatine. Ein Gießen der Filme ist nach Zusatz des Polyvinylamins nicht möglich.

Zinkoxid oder Eudragit NE als Füllstoff haben in Konzentrationen von 10, 25, und 50 %, Quarzmehl in Anteilen bis 75 % an den resultierenden trockenen Gelatinefilmen keinen Einfluss auf die Freisetzungsrates aus oder den Massenfluss durch die Filme. Daher ist auch kein Effekt durch steigende

Mengen an Füllstoff zu erkennen. Der Diffusionskoeffizient lässt sich durch ihren Einsatz nicht weiter herabsetzen.

Da die Filme um ca. Faktor 3 quellen (s. C 2.2.2.), reduziert sich der Massenanteil der Füllstoffe in den gequollenen Gelatinefilmen auf ca. ein Drittel (m/m) der eingesetzten Konzentration. Da für die Diffusionshemmung der Volumenanteil entscheidend ist, muss zusätzlich die Dichte der Füllstoffe berücksichtigt werden. Diese liegt z.T. deutlich über 1 (ZnO: 5,68 g/cm³, Quarzmehl: 2,65 g/cm³). Dadurch ist der Volumenanteil der Füllstoffe in den gequollenen Filmen noch niedriger. Für eine ursprünglich eingesetzte Konzentration von 75 % (m/m) Quarzmehl in trockenen Gelatinefilmen beträgt der effektive Volumenanteil in den gequollenen Matrices unter 10 % (V/V). Bei diesen Volumenanteilen an Füllstoff ist ein Effekt kaum zu erwarten. Die Änderungen im gesamten Matrixgerüst durch den Zusatz des Füllstoffs sind zu gering, um sich in den Diffusionseigenschaften widerzuspiegeln.

4.8. Zusammenfassung und Bewertung

Sowohl Lösungs- als auch Suspensionsmatrices auf Basis gehärteter Gelatine lassen sich gut herstellen. Die Freisetzung folgt in beiden Fällen Wurzel-t-Kinetik und ist mit Gleichung 14 (Lösungsmatrix) und Gleichung 16 (Suspensionsmatrix) zu beschreiben. Durch Ermittlung der Steigung aus der Darstellung der freigesetzten Masse gegen die Wurzel der Zeit und die Simulation lässt sich der Diffusionskoeffizient in den Matrices rechnerisch bestimmen. Er beträgt für Lösungsmatrices $7,28 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ und entspricht damit dem in Diffusionsversuchen ermittelten. Aus den Untersuchungen der Suspensionsmatrices ergibt sich ein Diffusionskoeffizient von $11,43 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$. Dieser im Vergleich zur Lösungsmatrix und zu den Ergebnissen aus den Diffusionsversuchen höhere Diffusionskoeffizient kann mit dem Anteil an suspendiertem Arzneistoff erklärt werden. Durch sich herauslösende Partikel entstehen im Laufe der Freisetzung Poren im Matrixgerüst, in die Wasser eindringt. Durch diese wassergefüllten Poren, die eine niedrigere Diffusionsbarriere als das Gelatinegerüst darstellen, kann der aus tieferen Bereichen freigesetzte Arzneistoff schneller diffundieren. Daraus resultiert eine beschleunigte Gesamtfreisetzung, und ein höherer Diffusionskoeffizient wird ermittelt.

Die Partikelgröße des Feststoffanteils hat einen Einfluss auf das Freisetzungsprofil aus Suspensionsmatrices. Große Partikel sedimentieren in den ausgegossenen Gelatinelösungen und führen somit zu einer inhomogenen Verteilung des suspendierten Arzneistoffs in den Filmen. Dies führt zu einer Verlangsamung der Freisetzung mit einer Abweichung von der Wurzel-t-Kinetik im Anfangsbereich. Durch Luftstrahlmahlung des Theobromins werden deutlich kleinere Partikel ($x_{50} = 1,79 \text{ }\mu\text{m}$ aus vorher $17,88 \text{ }\mu\text{m}$) erzeugt. Der Einsatz dieser kleinen Teilchen führt zur Behebung dieses Phänomens. Die Abweichungen und damit der Korrekturfaktor b (s. Gleichung 16) werden deutlich geringer. Die Freisetzung ist früher proportional zur Wurzel der Zeit.

Der Zusatz von diversen Füllstoffen zur Gelatinelösung führt zu keiner Veränderung der Freisetzungsrates aus den Matrices. Der Diffusionskoeffizient in den Filmen ist nicht reduziert. Dies erklärt sich aus den niedrigen Volumenanteilen (V/V) der Füllstoffe an den gequollenen hydrophilen Gelatinematrices. Diese resultieren trotz hoher Feststoffanteile (m/m) aus der Quellung der Matrices und der hohen Dichte der Füllstoffe.

Weder die Dicke der Matrices noch der Gelatine-Typ haben einen Einfluss auf das Freisetzungsprofil bzw. den resultierenden Diffusionskoeffizienten.

5. Mehrschichtige Gelatinematrices

Die mehrschichtigen Gelatinematrices werden mit Gelatine Typ B hergestellt, mit 2,5 % Vinylsulfon gehärtet und bei 32 °C freigesetzt. Für die Suspensionsmatrices wird ausschließlich die kleine Partikelgröße des Theobromins eingesetzt, um Sedimentationseinflüsse zu verhindern. Die Dicke der einzelnen Matrices variiert je nach Art der Schicht.

Mit Hilfe eines mehrschichtigen Aufbaus ist beabsichtigt, konstante Freisetzung aus den Gelatinematrices zu bewirken. Durch gezielte Konstruktion eines Konzentrationsgradienten, mit einem Gefälle von hoher Konzentration auf der dem Akzeptor abgewandten zu niedriger Konzentration auf der Seite, aus welcher der Arzneistoff freigesetzt wird, soll die langsamere Freisetzung am Ende der Wurzel-t-Kinetik beschleunigt werden. Dabei ist zu erwarten, dass sich mit Einsetzen der Quellung, also von Anfang an, ein gleichmäßiger Arzneistofffluss von den unteren, stärker beladenen Schichten des Trägersystems nach oben in Gang setzt.

Zuerst kommen Systeme zum Einsatz, die aus zwei Schichten mit unterschiedlichen Beladungen an Arzneistoff bestehen. Die untere Schicht ist immer eine Suspensionsmatrix, die zweite, daraufliegende Schicht kann leer sein oder so viel Arzneistoff enthalten, dass eine Lösungsmatrix mit Arzneistoff in Sättigungskonzentration entsteht.

Später werden dann mehrschichtige Matrixsysteme hergestellt, bei denen die Arzneistoffkonzentration kontinuierlich zur Oberseite hin in einzelnen Stufen abnimmt. Mehrere Schichten werden auf die Suspensionsmatrices gegossen, wobei jede eine andere, geringere Menge an gelöstem Theobromin enthält. Die dem Akzeptor entfernteste Schicht enthält den Arzneistoff in suspendierter Form.

5.1. Zweischichtige Matrices

Die beiden Zweischichtmatrices-Typen unterscheiden sich bezüglich ihrer zweiten Schicht (Oberseite): Sie besteht aus einer leeren Schicht (Abb. 35) oder einer Lösungsmatrix (Abb. 36). Die erste Schicht (Unterseite) enthält immer Theobromin in suspendierter Form.

Der Fall der leeren zweiten Schicht ist in Abb. 35 dargestellt. Bei der Freisetzung muss sich in der leeren Schicht der Dicke x erst ein Konzentrationsgradient (gestrichelte Linie) aufbauen, bevor die Freisetzung der Wurzel-t-Kinetik folgen kann. Dafür muss sich ein Teil der Suspensionsmatrix (dx) entleeren. Im Freisetzungsprofil wäre dies in einer Anfangsphase mit langsamer, sich aber steigender Geschwindigkeit übergehend in eine Wurzel-t-Kinetik sichtbar. Nach der lag-time sollte das Freisetzungsprofil proportional zur Wurzel der Zeit verlaufen, da ab hier ein System, vergleichbar mit einer teilentleerten Suspensionsmatrix, besteht. Die obere Schicht ($x + dx$) ist bis zu einer Arzneistoffkonzentration von 50 % der Sättigungskonzentration entleert, und naturgemäß besteht in diesem Bereich ein lineares Konzentrationsgefälle. Alternativ ist denkbar, dass die obere Schicht aufgrund ihrer hohen Dicke eine geschwindigkeitsbestimmende Barriere darstellt. Die Zunahme der Dicke (dx) wäre im Vergleich zur bestehenden Dicke (x) sehr gering, so dass es zu keiner nennenswerten Wegverlängerung käme. Hier entspräche das Freisetzungsprofil einer Kinetik nullter Ordnung.

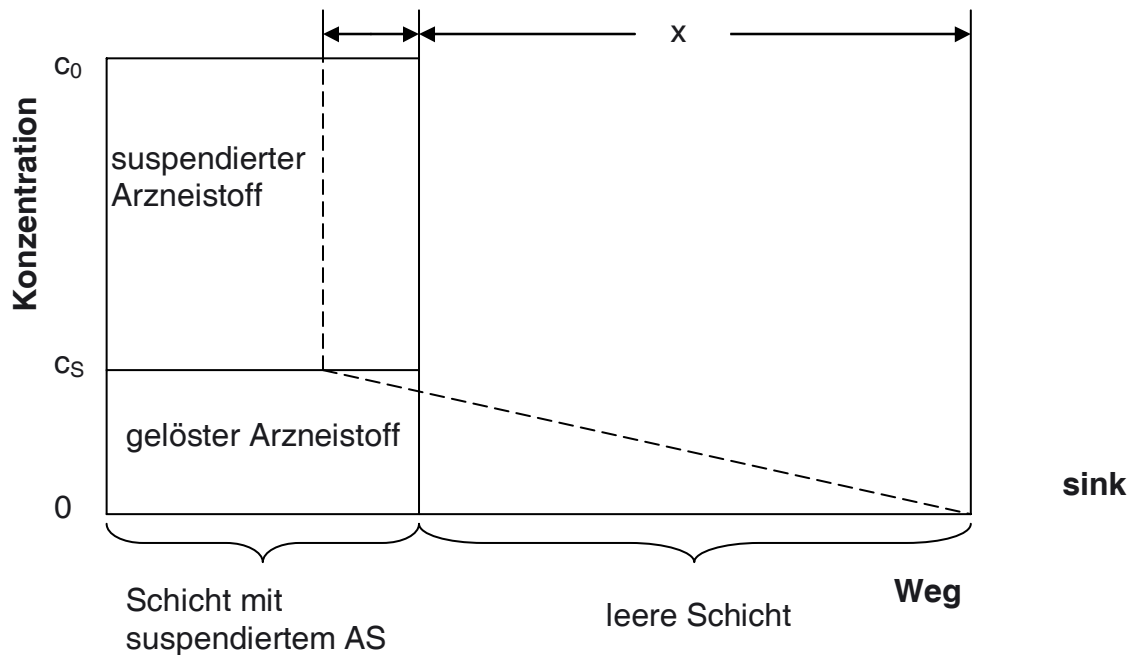


Abb. 35: Aufbau einer zweischichtigen Matrix, bestehend aus einer Suspensionsmatrix ($10 \times C_s$) und einer sich darüber befindlichen leeren Schicht; die Freisetzung erfolgt einseitig in den Akzeptor („sink“)

Im Fall der Lösungsmatrix (Abb. 36), die als zweite Schicht auf der Suspensionsmatrix liegt, beginnt die Freisetzung sofort nach Wurzel-t-Kinetik. Die Freisetzungskinetik sollte dabei im Anfangsbereich gemäß der Freisetzung aus Lösungsmatrices, im weiteren Verlauf nach der Suspensionsmatrix-Gleichung verlaufen. Dies würde sich in der Gesamtkurve der Freisetzung in einem raschen, sich aber verlangsamenden Anfangsverlauf (burst-effect) äußern. Sobald die Entleerungszone der zweiten Schicht die Suspensionsmatrix erreicht hat, die Lösungsmatrix also halbentleert ist, besteht in der oberen Schicht ein linearer Konzentrationsgradient (gestrichelte Linie). Eine Suspensionsmatrix mit breiter Entleerungszone liegt vor. Die Überlegungen zum weiteren Freisetzungsverlauf gelten nun analog zu denen für die zweite leere Schicht nach Ausbildung des Konzentrationsgradienten (s.o.).

Anhand des Einsatzes unterschiedlicher Schichtdicken der zweiten Schicht kann überprüft werden, ob sich die obere Schicht aufgrund ihrer Dicke wie eine Barriere verhält (s. C 5.1.3.). Dabei sollte das Freisetzungsprofil bei dünnerer oberer Schicht nach dem nunmehr kürzeren Anfangseffekt der Wurzel-t-Kinetik folgen.

Durch Berechnung mit Hilfe der Gleichungen für die Freisetzung aus Lösungs- bzw. Suspensionsmatrices wird versucht das Freisetzungsprofil zu simulieren (s. C 5.1.2.). Dadurch sollte sich zeigen lassen, dass sich die Freisetzung aus anfänglicher Lösungs- und später Suspensionsmatrix-Kinetik zusammensetzt bzw. welcher Kinetik sie folgt.

Für beide Typen von Zweischichtmatrices sollte der Massenfluss in der Endphase, charakterisiert durch die Steigung, gleich sein.

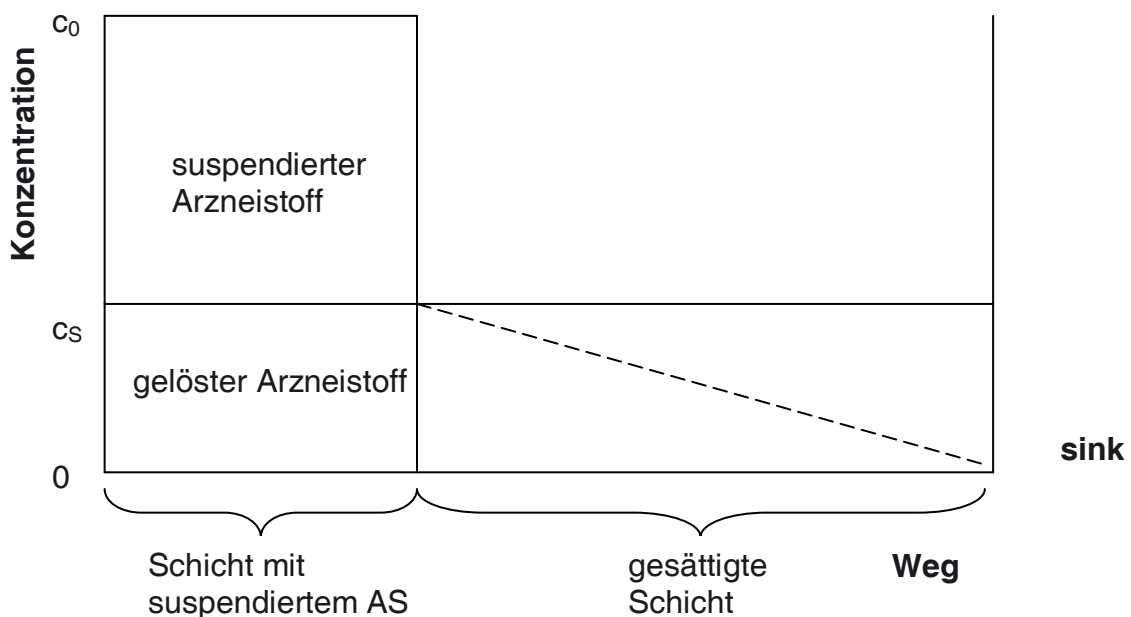


Abb. 36: Aufbau einer zweischichtigen Matrix, bestehend aus einer Suspensionsmatrix ($10 \times c_s$) und einer sich darüber befindlichen Lösungsmatrix (c_s); die Freisetzung erfolgt einseitig in den Akzeptor („sink“)

5.1.1. Herstellungsmöglichkeiten

Die Herstellung zweischichtiger Filme erfolgt zuerst manuell aus separat gegossenen, einschichtigen Filmen. Die entsprechenden Filme werden nach Aufstreichen von wenig härterhaltiger Gelatinelösung zusammengeklebt und nach Auflegen eines Gewichts erneut getrocknet. Dadurch resultieren planare Doppelschichten mit einer extrem dünnen Klebstoffzwischen­schicht.

Die Standardschichten mit suspendiertem Theobromin haben eine Trockenfilmdicke von 100 µm. Bei der leeren oder der Lösungsmatrix als zweiter Schicht werden verschiedene Schichtdicken hergestellt. Die Dicke entspricht teilweise der Dicke der darunter liegenden Suspensionsmatrix, ist in der Regel jedoch 2,5mal so dick.

5.1.2. Freisetzung

Die Freisetzung aus den zweischichtigen Gelatinefilmen erfolgt analog der Freisetzung aus einschichtigen Matrices (s. C 4.2.). Die leere oder gesättigte zweite Schicht ist nach dem Einlegen in die Zelle dem Akzeptor zugewandt.

Zum Vergleich mit den experimentell ermittelten Freisetzungprofilen wird die Freisetzungskinetik von einer Lösungsmatrix auf einer Suspensionsmatrix simuliert (s. Abb. 37). Die Werte berechnen sich dabei so, dass der Anfangsverlauf nach der Gleichung für die Freisetzung aus Lösungsmatrices berechnet wird (Gl. 14). Diese Phase dauert an, bis rechnerisch 50 % der oberen Schicht entleert sind ($Q_{t(Lsg.)50\%} = \frac{1}{2} Q_0$). Durch Einsetzen in Gleichung 14, mit Ersetzen der Konzentrationen (c) durch die jeweilige Masse (Q) pro Volumen (F x d), und Umformen ergibt sich nach Gleichung 18 die Zeit ($t_{(Lsg.)50\%}$), bis zu der die Freisetzung der Kinetik für Lösungsmatrices entspricht. Im weiteren Verlauf der Simulation folgt die Freisetzung der Wurzel-t-Kinetik für Suspensionsmatrices (Gl. 16, c wieder durch $Q/(F \times d)$ ausgetauscht), wobei die obere Schicht als bereits entleerter Teil (bis 50 % der Sättigungskonzentration

c_s , d.h. $c = 1/20 c_0$) dieser Suspensionsmatrix gilt. Daraus wird nun berechnet, wie groß der Anteil der freigesetzten Menge Arzneistoff ($Q_{t(\text{Susp.})}/Q_0$) ist, wenn über die gesamte Dicke eine Suspensionsmatrix vorgelegen hätte. Dazu dient Gleichung 19. Die Zeit, ab der die danach freigesetzte Masse aus der Gleichung für Suspensionsmatrices zu entnehmen ist ($t_{\text{Susp.}}$), berechnet sich nach Einsetzen von $Q_{t(\text{Susp.})}/Q_0$ in Gleichung 16 und dann nach Gleichung 20. Q_s wird dafür durch $1/10 Q_0$ ersetzt, da die Konzentration in den Suspensionsmatrices (c_0) 10 x die Sättigungskonzentration (c_s) beträgt. Die ab diesem Zeitpunkt ($t_{\text{Susp.}}$) aus der Suspensionsmatrix nach Gleichung 16 freigesetzte Arzneistoffmenge $Q_{t(\text{Susp.})}$ wird nun zu $Q_{t(\text{Lsg.})50\%}$ addiert, um die gesamte aus dem zweischichtigen System freigesetzte Arzneistoffmenge Q_t zu erhalten.

$$t_{(\text{Lsg.}) 50\%} = \left(\frac{0,5 \cdot d}{2 \cdot \sqrt{\frac{D}{\pi}}} \right)^2 \quad \text{Gl. 18}$$

$$\%_{(\text{Susp. entleert})} = 100 - \left(\text{Dicke}_{(\text{Susp.})} + \frac{1}{20} \text{Dicke}_{(\text{Lsg.})} \right) \cdot \frac{100}{\text{Dicke}_{(\text{Susp.} + \text{Lsg.})}} \quad \text{Gl. 19}$$

$$t_{\text{Susp.}} = \left(\frac{Q_{t(\text{Susp.})}}{Q_0} \right) \cdot 10 \cdot \frac{d^2}{1,9 \cdot D} \quad \text{Gl. 20}$$

In Abbildung 37 sind beispielhaft die Kurven der Freisetzung aus den beiden unterschiedlichen Typen von zweischichtigen Matrices unmittelbar nach Herstellung dargestellt. Die Trockenschichtdicke der Suspensionsschicht beträgt $100 \mu\text{m}$, die der zweiten Schicht $250 \mu\text{m}$. Für die Freisetzung aus der

zweischichtigen Matrix mit einer leeren zweiten Schicht auf der Suspensionsmatrix zeigt sich erwartungsgemäß eine lag-time. Für das System, das eine gesättigte zweite Schicht enthält, kann folgerichtig ein burst-effect beobachtet werden. Dies wird durch den verlangsamten bzw. beschleunigten Anfangsbereich der Freisetzung deutlich. Dieser erste Teil der Freisetzung dauert bei dem System mit leerer zweiter Schicht an, bis ca. 5 % der Arzneistoffmenge freigesetzt sind. Das System, das den burst-effect zeigt, ist nach Ablauf dieser Phase zu ca. 15 % entleert. Nach diesem relativ kurzen Anfangsverlauf der Freisetzung gehen bei beiden Systemen die Kurven in ein nahezu lineares Freisetzungsprofil über. Dies hält an, bis ca. 90 % des Arzneistoffs aus den Filmen freigesetzt sind. Danach knickt die Freisetzungskurve ab und geht in das Plateau des 100 %-Werts über. Bei Auftragung der freigesetzten Masse gegen die Wurzel der Zeit ist dementsprechend bei beiden Matrixsystemen keine direkte Abhängigkeit zu erkennen.

Wie in Abbildung 37 beispielhaft zu erkennen ist, entspricht die Simulation dem experimentell ermittelten Freisetzungsprofil für die gesättigte obere Schicht. Sowohl der anfängliche burst-effect als auch der folgende weitgehend lineare Verlauf lassen sich mit Hilfe der Berechnungen reproduzieren.

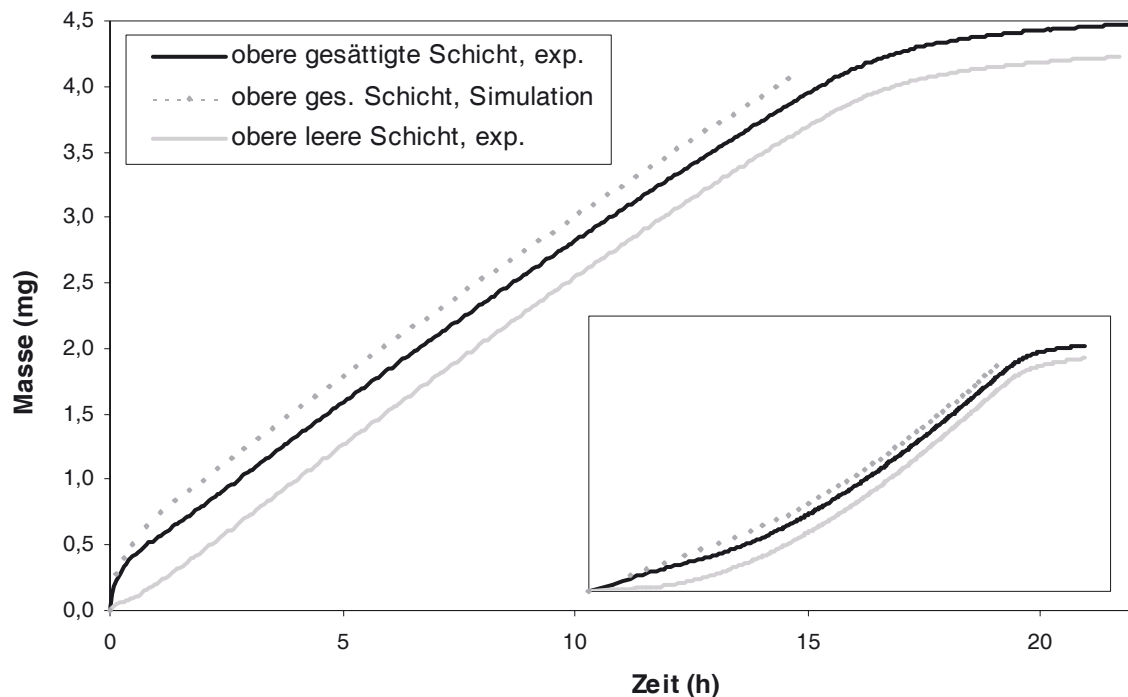


Abb. 37: Freisetzung aus zweischichtigen Matrices; 32 °C; Beispielfilme: Suspensionsmatrix 100 µm, zweite Schicht 250 µm (beides trocken); Darstellung gegen die Zeit und gegen Wurzel der Zeit (kleines Diagramm); Vergleich leere zweite Schicht und gesättigte zweite Schicht mit berechneten Werten (Simulation bis Lösungsmatrix halbentleert, dann Suspensionsmatrix); Q_t 4,47 mg = 100 %

5.1.3. Einfluss der Schichtdicke

Um den Einfluss der Schichtdicke auf die Freisetzung zu untersuchen, werden auf 100 µm dicke Suspensionsmatrices alternativ 250 µm und 100 µm dicke zweite Schichten geklebt und die Freisetzungsratespeziell im Anfangsbereich verglichen. Die Schichtdicke der zweiten Schicht sollte insofern einen Einfluss auf die Freisetzungprofile haben, als dass der Effekt am Anfang (burst-effect bzw. lag-time), der durch die zweite Schicht zustande kommt, kürzer bzw. abgeschwächer auftreten und der lineare Kurventeil mit wachsender Schichtdicke abnehmen sollte.

In Abbildung 38 sind beispielhaft die Anfangsprofile der Freisetzung (jeweils bis ca. 20 % freigesetzt) im Fall von dicken und dünnen, jeweils leeren und

gesättigten zweiten Schichten über Suspensionsmatrices dargestellt. Wie erwartet zeigen die Systeme mit den dicken zweiten Schichten einen deutlich stärkeren burst-effect (Kurve 4, gesättigte zweite Schicht) bzw. eine deutlich stärkere lag-time (Kurve 3, leere zweite Schicht) als die Filme mit den dünnen zweiten Schichten. Nach dieser ersten Freisetzungsphase verläuft die weitere Freisetzung auch bei den Systemen mit den dünnen zweiten Schichten (Kurven 1 und 2) nahezu linear, allerdings wie zu erwarten schneller. Die Generierung des linearen Bereichs der Freisetzungsprofile ist demnach nicht auf die Barrierefunktion der oberen Schicht zurückzuführen, da nach dieser Vorstellung bei dünnen oberen Schichten des gleichen Materials wie die Suspensionsmatrix keine Geschwindigkeitskontrolle stattfinden kann. Die Freisetzung hätte dann entsprechend des Zustands des Systems (teilentleerte Suspensionsmatrix) nach Wurzel-t-Kinetik verlaufen müssen.

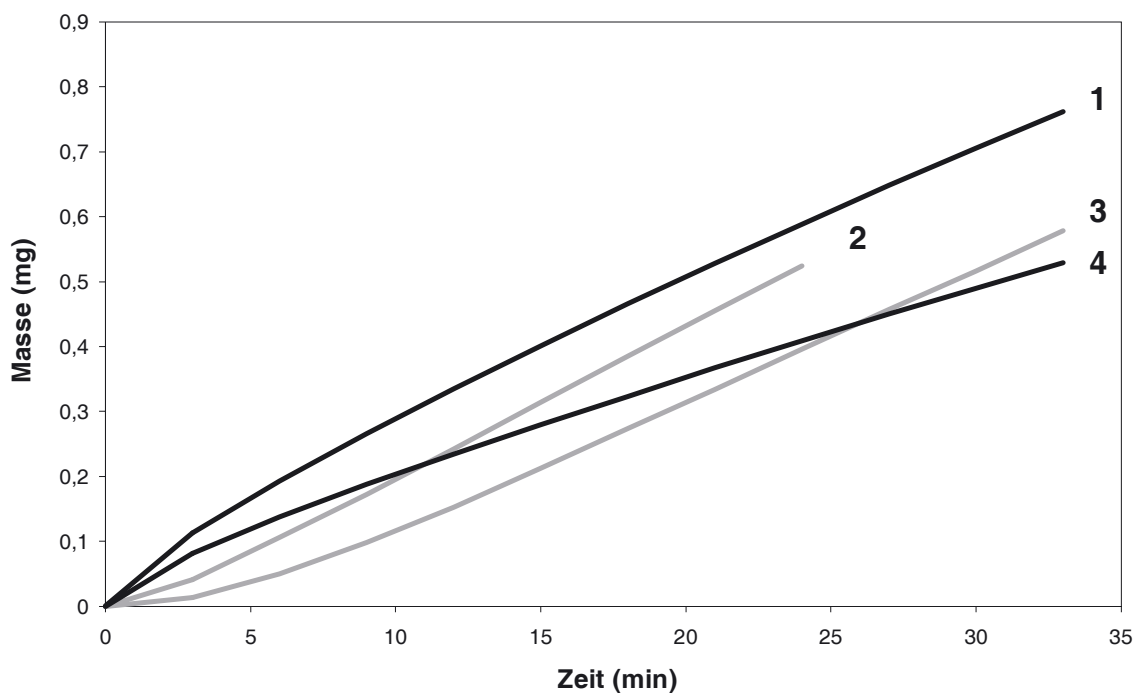


Abb. 38: Anfangsverlauf der Freisetzung aus zweischichtigen Matrices; 32 °C; Beispielfilme; Vergleich der Systeme mit leerer zweiter Schicht: Kurve 2 (dünne) und Kurve 3 (dicke zweite Schicht) sowie der Systeme mit gesättigter zweiter Schicht: Kurve 1 (dünne) und Kurve 4 (dicke zweite Schicht)

5.2. Mehrschichtige Matrices

Durch Systeme, die aus mehreren Schichten mit unterschiedlichen Mengen Arzneistoff oberhalb der Suspensionsmatrix bestehen, soll bereits bei der Herstellung ein Konzentrationsgradient von der unteren zur oberen, dem Akzeptor zugewandten Schicht entstehen. Wie in Abbildung 39 dargestellt, wird dabei von Schicht zu Schicht schrittweise die Konzentration erhöht, bis die Sättigungskonzentration in der letzten Schicht vor der Suspensionsmatrix erreicht wird. Die durch die einzelnen Schichten entstehenden Konzentrationsstufen im oberen (in der Abb. rechten) Teil des Systems sollten sich bei Beginn der Freisetzung schnell in einen linearen Gradienten (gestrichelte Linie) umwandeln. Dadurch muss sich der Konzentrationsgradient nicht erst einstellen, und es sollte am Anfang der Freisetzung weder zu einer lag-time noch zu einem burst-effect kommen. Es ist zu erwarten, dass die Freisetzung aus diesen mehrschichtigen Matrixsystemen dann vom Anfang bis zu 90 % Entleerung praktisch linear verläuft.

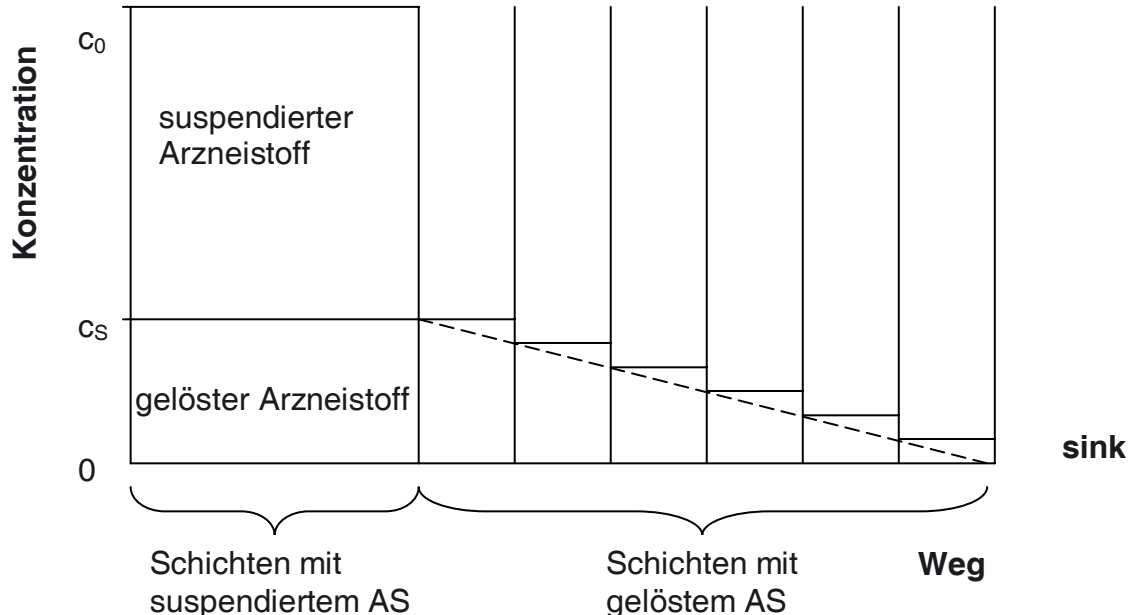


Abb. 39: Aufbau einer mehrschichtigen Matrix, bestehend aus einer Suspensionsmatrix ($10 \times c_s$) und mehreren sich darüber befindlichen Lösungsmatrices mit Konzentrationen $c \leq c_s$; die Freisetzung erfolgt einseitig in den Akzeptor („sink“)

5.2.1. Herstellung

Die manuelle Herstellung der mehrschichtigen Systeme ist zu aufwändig und nicht in gleicher Präzision zu bewältigen wie die maschinelle Herstellung auf Gießmaschinen, die in der Fotoindustrie eingesetzt werden. Dort werden verschiedene Gießtechniken angewandt:

Der Tauchantrag ist das einfachste Verfahren. Dabei wird eine Trägerfolie durch ein Tauchbad mit Schichtmaterial gezogen, ein dünner Film verbleibt auf dem Träger.

Beim Kaskadenguss (Abb. 40, links) werden durch die Trägerfolie die verschiedenen, übereinander laminar fließenden Lösungen für die einzelnen Schichten mitgezogen. Sie bilden auf dem Träger einen mehrschichtigen Film.

Beim Vorhangguss (Abb. 40, rechts) werden die Schichten gleichzeitig, nur leicht versetzt übereinander fließend, auf das Trägerband gegossen.

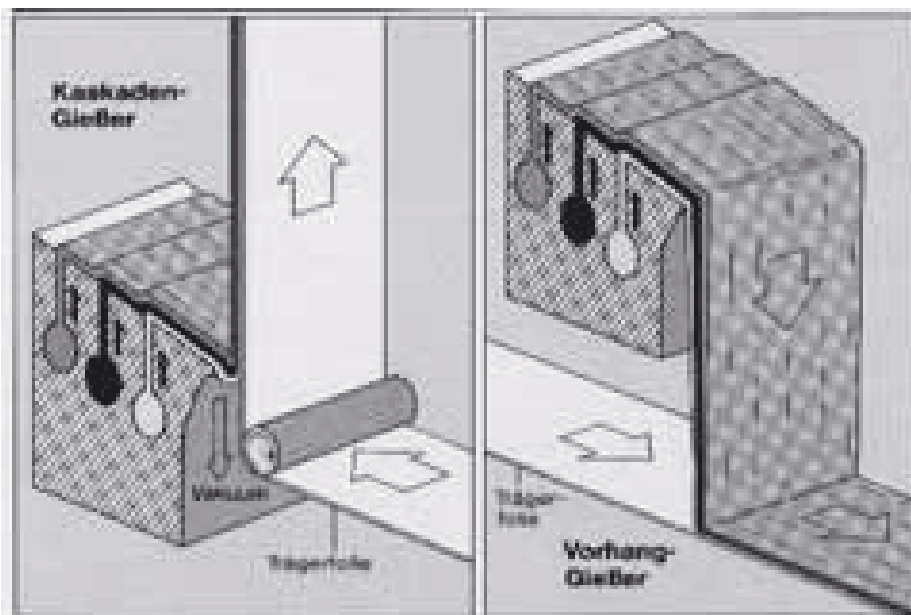


Abb. 40: Gießtechniken in der Fotoindustrie: Kaskadengießer (links) und Vorhanggießer (rechts)

Zum Ausgießen können Flüssigkeiten in einem Viskositätsbereich von 1 bis 30 mPas genutzt werden. Der Gerüstbildner der einzelnen Schichten besteht bei den entstehenden Fotofilmen bzw. dem Fotopapier aus Gelatine. Die wässrigen Gelatinelösungen müssen dabei auf der mit einem dünnen Gelatinefilm hydrophilisierten Trägerfolie haften. Dafür werden unterschiedliche Viskositäten und Oberflächenspannungen eingestellt. Meist enthält die oberste Schicht den Härter, der dann in die darunter liegenden Schichten diffundiert und diese härtet.

Im Anschluss an das Gießverfahren werden die Schichten durch Abkühlen in den Gelzustand überführt. Danach wird das Wasser (und ggf. die organische Phase von Emulsionströpfchen) durch Anlegen eines Vakuums und Durchlaufen eines Temperaturprogramms mit einem Luftstrom geringer Feuchte entfernt. So können Mehrschichtfilme mit bis zu 18 Schichten hergestellt werden, wobei jede Schicht eine Dicke von 1 bis 100 μm haben kann. Mehrfacher Antrag von jeweils einem Schichtpaket ist möglich.

Zur Herstellung von mehrschichtigen Filmen kommt in dieser Arbeit ein Kaskadengießer zum Einsatz. Der Härter wird wie bisher den einzelnen erwärmten Gelatinelösungen zugesetzt. Anschließend werden zügig mehrschichtige Bahnen gegossen, so dass die Viskosität der Lösung nicht zu stark ansteigt. Die gegossenen Einzelschichtdicken variieren zwischen 20 und 60 μm (Nassfilmdicke), was in Trockenschichtdicken von ca. 3 bis 9 μm resultiert. Insgesamt werden 12 Schichten in zwei Durchgängen übereinander gegossen. Die Gesamtschichtdicke beträgt ca. 70 μm im trockenen Zustand. Das Verhältnis von Suspensionsmatrix-Schichten zu allen darauffolgenden Schichten beträgt auch hier 1 : 2,5. Nach jedem der Durchgänge erfolgt eine Trocknungsphase für ca. 10 min. Nach der letzten Trocknung werden runde Matrices aus den Bahnen geschnitten, und die Freisetzung des enthaltenen Arzneistoffs wird mit Hilfe der Freisetzungszellen untersucht.

5.2.2. Freisetzung

Um festzustellen, ob sich die Ergebnisse der manuellen Herstellung der Zwei-Schicht-Matrices auf die maschinelle Herstellung übertragen lassen, werden zuerst Zwei-Schicht-Filme mit dem Kaskadengussverfahren produziert. Vier der 12 Schichten (entsprechend ca. 21 μm Trockenschichtdicke) bilden dabei die Suspensionsmatrix, die restlichen Schichten (trocken ca. 51 μm) sind entweder leer oder enthalten Theobromin in Sättigungskonzentration. Die Ergebnisse sollten denen aus Kapitel C 5.1.2. entsprechen.

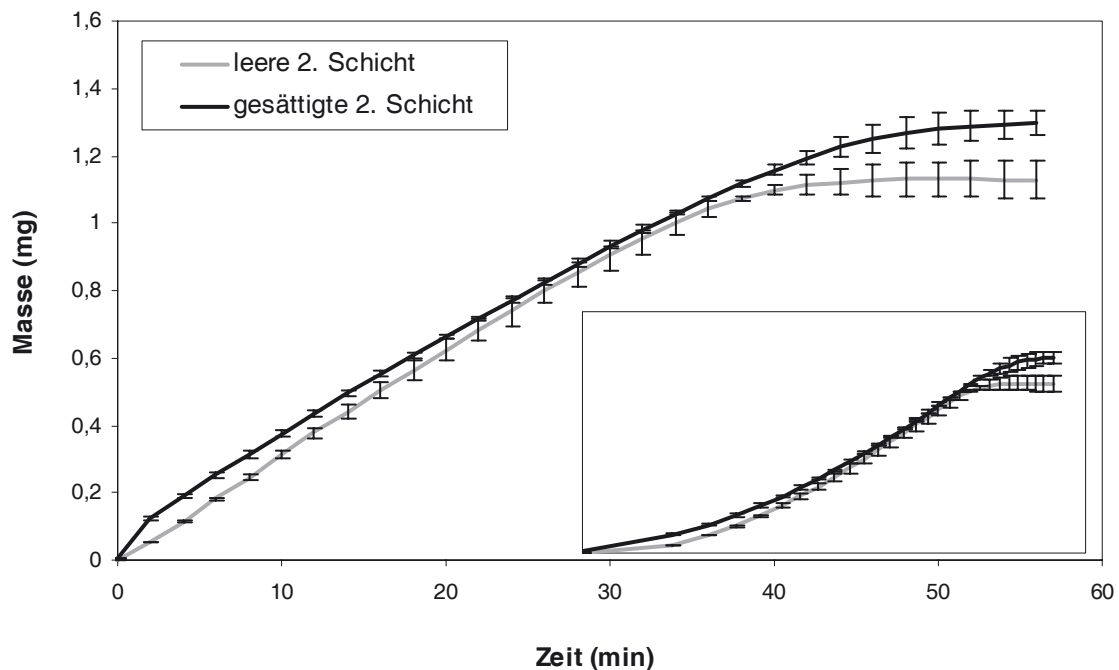


Abb. 41: Freisetzung aus zweischichtigen Matrices, maschinell hergestellt; 32 °C; Trockenschichtdicke: Suspensionsmatrix 21 μm , zweite Schicht 51 μm ; Darstellung $\bar{x} \pm s$ ($n = 3$) gegen die Zeit und gegen Wurzel der Zeit (kleines Diagramm); Vergleich leere zweite Schicht (grau) mit gesättigter zweiter Schicht (schwarz); Q_t 1,22 mg bzw. 1,40 mg = 100 %

In Abbildung 41 ist die Freisetzung aus diesen Systemen dargestellt. Erwartungsgemäß zeigt sich, dass die maschinell hergestellten mehrschichtigen Filme, bestehend aus Schichten mit lediglich zwei unterschiedlichen Konzentrationen (suspendierter Arzneistoff und leer bzw. Sättigungskonzentration), also vom Aufbau den Zwei-Schicht-Filmen entsprechend, diesen auch im Freisetzungsprofil gleichen. Am Anfang verursachen die gesättigten oberen Schichten einen burst-effect, bei den leeren oberen Schichten ist eine lag-time zu beobachten. Diese Effekte sind gegenüber denen der Zwei-Schicht-Filme (s. Abb. 37) abgeschwächt, da die oberen Schichten deutlich dünner sind. Auch der lineare Kurvenverlauf ist kürzer, da die Suspensionsschicht ebenfalls weniger dick gewählt worden ist. Insgesamt ist demnach die maschinelle Herstellung geeignet, die manuell produzierten Systeme zu reproduzieren.

Der Vorteil des maschinellen Filmgusses besteht vor allem darin, Systeme herzustellen, die aus mehreren Schichten unterschiedlicher Konzentration bestehen. Dazu wird, wie in Abb. 39 dargestellt, die Konzentration von der obersten bis zur Suspensionsmatrix-Schicht stufenweise erhöht. Der sich im Fall der Zwei-Schicht-Matrices erst allmählich ausbildende Gradient besteht von Anfang an.

Die hier hergestellten Systeme bestehen aus vier Schichten mit suspendiertem Arzneistoff, die insgesamt zu einer Trockenschichtdicke der Suspensionsmatrix von 19 μm führen. Darauf werden acht Schichten mit geringer werdender Konzentration (s. dazu C 5.2.3.) gegossen, die trocken 47 μm ausmachen. Aus dem Freisetzungsprofil aus diesen Mehrschichtsystemen (Abb. 42) wird deutlich, dass durch die Herstellung des Konzentrationsgradienten mit gelöstem Arzneistoff in den oberen Schichten auch der Anfangsbereich der Freisetzung linearisierbar ist. Der bei den Zwei-Schicht-Filmen beobachtete burst-effect bzw. die lag-time werden verhindert. Dadurch ist es möglich, ein System mit komplett praktisch linearer Freisetzungskinetik zu erzeugen. Der Arzneistoff wird gleichmäßig aus der Gelatinematrix freigesetzt.

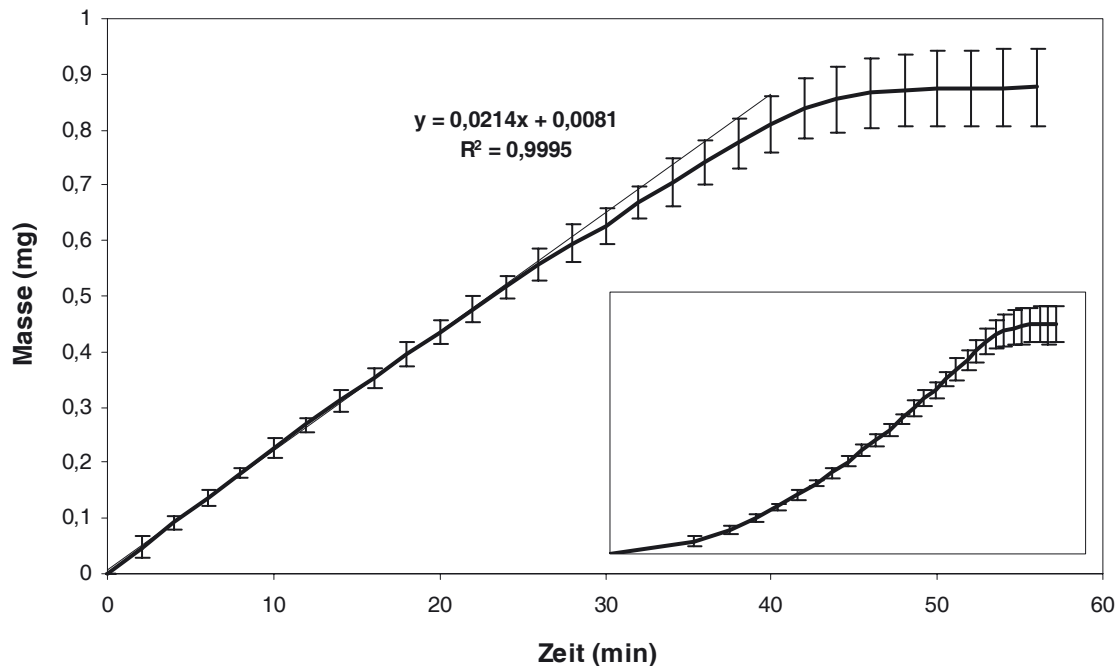


Abb. 42: Freisetzung aus mehrschichtigen Matrices, maschinell hergestellt; 32 °C; Trockenschichtdicke: Suspensionsmatrix 19 µm, restliche 8 Schichten 47 µm (Gradient); Darstellung $\bar{x} \pm s$ (n = 3) gegen die Zeit und gegen Wurzel der Zeit (kleines Diagramm); Q_t 0,88 mg = 100 %

5.2.3. Freisetzungsmechanismus und Optimierung der Arzneistoffkonzentrationen

Das Matrixsystem besteht aus mehreren Gelatineschichten mit unterschiedlichen Arzneistoffkonzentrationen. Der untere Teil besteht aus einer Suspensionsmatrix ($c \geq c_s$), die darüber liegenden Schichten enthalten gelöstes Theobromin ($c < c_s$). In diesen Schichten nimmt die Konzentration von unten nach oben ab. Durch Quellung in Wasser wird das System aktiviert. Von jeder höher konzentrierten Schicht (einschließlich der Suspensionsmatrix) diffundiert dann Arzneistoff in die darüber liegende Schicht mit geringerer Arzneistoffkonzentration. Im Fall der obersten Schicht wird der Arzneistoff in das Akzeptormedium abgegeben. Bei genauer Einstellung der Konzentration in den einzelnen Schichten und unter Berücksichtigung ihrer Dicke verlässt genau

so viel Arzneistoff eine jede Schicht nach oben heraus und diffundiert in die darüber liegende, niedriger konzentrierte, wie sie über die Unterseite von der darunter liegenden, höher konzentrierten Schicht aufnimmt. Damit ergibt sich über alle Schichten ein linearer Konzentrationsgradient, der in einer Freisetzung nach nullter Ordnung resultiert.

Die unterste Schicht, die Suspensionsmatrix, ist für die konstante Arzneistoffabgabe an sich nicht notwendig. Allerdings käme die lineare Freisetzung sehr bald zum Erliegen. Dies würde passieren, sobald das lineare Konzentrationsgefälle nicht mehr besteht, also nach Abgabe von mehr als der Hälfte der Arzneistoffmenge der oberen Schichten. Der weitere Verlauf der Freisetzung entspräche dann einer Wurzel-t-Kinetik. Die Suspensionsmatrix dient jedoch als Reservoir und führt damit zu einer längeren Arzneistofffreigabe aus dem System. Da die Freisetzung aus dieser Suspensionsmatrix erst zu einem Zeitpunkt einsetzt, zu dem ein reines Suspensionsmatrix-System bereits zu einem Großteil teilentleert wäre, ist die Freisetzungsrates hierbei praktisch konstant (s. C 5.1.2., auch Gleichungen). Der späte und kleine Ausschnitt aus der Freisetzungskinetik aus Matrices verläuft in seinem eingeschränkten Bereich nahezu linear. Dies kann auch durch Berechnungen mit Hilfe von Gleichung 18 simuliert werden (s. C 5.1.2.). Bei genauer Inspektion der Kurven zeigt sich, dass der lineare Bereich mit fortschreitender Zeit etwas abbiegt, die Freisetzung also etwas langsamer wird. Dies ist aus der Tatsache zu erklären, dass der Endbereich der Freisetzung in den Endbereich der Wurzel-t-Kinetik aus der Suspensionsmatrix übergeht.

Für die Implementierung des Gradienten sind die Konzentrationen in den einzelnen Gelatineschichten vorher zu berechnen und dabei an die Dicke der einzelnen Schichten anzupassen. Für den Fall, dass alle Schichten die gleiche Dicke haben (wie in Abb. 39 dargestellt), berechnet sich die Konzentrationsstufe zwischen den einzelnen Schichten durch Division der Sättigungskonzentration durch die Anzahl der Schichten (in Abb. 39: 6). In der untersten Schicht vor der Suspensionsmatrix ergibt sich c_s , in der dem Akzeptor zugewandten Schicht genau $1/6$ von c_s , also $1 \times$ die Konzentrationsstufe. Die

dazwischen liegenden Schichten enthielten in diesem Beispiel 2/6, 3/6, 4/6 bzw. 5/6 von c_s . In allen diesen gleich dicken Schichten stellt sich zur gleichen Zeit das Konzentrationsgefälle von der jeweiligen Konzentration zur Konzentration der darüber liegenden Schicht ein. Damit ist innerhalb des gesamten Schichtpakets der Konzentrationsgradient von $c = 0$ bis $c = c_s$ hergestellt. Das Dickenverhältnis der Suspensionsmatrixschichten zum Schichtpaket mit dem Konzentrationsgradient beträgt hier immer ca. 1 : 2,5.

Für ungleich dicke Schichten über der Suspensionsmatrix, also für die Schichten, die den Konzentrationsgradienten bilden, berechnet sich die Konzentration in der Einzelschicht (c_{Schicht}) über die Sättigungskonzentration (c_s) sowie dem Quotienten aus der Summe der Dicken der niedriger konzentrierten Schichten inklusive der jeweiligen Schicht (d_{Summe}) und der Gesamtdicke des Schichtpakets mit Konzentrationsgradient ($d_{\text{ges.}}$) nach $c_{\text{Schicht}} = c_s \times (d_{\text{Summe}} / d_{\text{ges.}})$.

Angenommen, man hätte unendlich viele Schichten, so würden keine Stufen, sondern ein linearer Konzentrationsgradient bestehen. Aus der Dicke einer bestimmten Schicht multipliziert mit dem Konzentrationsgefälle pro μm lässt sich die Konzentrationszunahme in der Schicht gegenüber der darüber befindlichen berechnen.

5.3. Zusammenfassung und Bewertung

Die untersuchten mehrschichtigen Gelatinefilme bestehen aus zwei oder mehr Schichten mit einer oder mehreren Konzentrationsstufen. In der unteren bzw. den unteren Schichten liegt der Arzneistoff immer suspendiert ($10 \times c_S$) vor. Bei den zunächst manuell hergestellten Zwei-Schicht-Systemen ist die darüber liegende Schicht leer oder mit Theobromin gesättigt (c_S). Maschinell werden Systeme aus 12 Schichten gegossen, entweder mit einer Konzentrationsstufe oder mit einem gestuften Konzentrationsgradienten oberhalb der Suspensionsmatrix.

Die Freisetzung aus den Filmen, die nur zwei Konzentrationen enthalten, zeigt im Anfangsbereich der Freisetzung eine lag-time im Falle einer leeren oberen Schicht und einen burst-effect für Filme mit gesättigter zweiter Schicht. Die leere obere Schicht nimmt in dieser Phase Arzneistoff aus der darunter liegenden Suspensionsmatrix auf. Ist die obere Schicht eine Lösungsmatrix, so entleert sich diese während des burst-effects zu 50 %. In beiden Fällen stellt sich erst ein linearer Konzentrationsgradient an gelöstem Theobromin von $c = c_S$ (Suspensionsmatrix) bis $c = 0$ (Akzeptorseite) in der oberen Schicht ein, mit anschließender Freisetzung aus der inzwischen bis zur Dicke der oberen Schicht entleerten Suspensionsmatrix. Die bereits fortgeschrittene Entleerung der Suspensionsmatrix führt dazu, dass nur ein Ausschnitt der Freisetzungskinetik zum Tragen kommt. In diesem späten Bereich ist die Freisetzungsrates auch bei Wurzel-t-Kinetik relativ konstant. Bei Darstellung der freigesetzten Masse gegen die Zeit verlaufen die Freisetzungskurven daher nahezu linear. In beiden Fällen der unterschiedlichen zweiten Schichten wird der Arzneistoff mit gleicher Geschwindigkeit konstant freigesetzt, bis die Systeme zu ca. 90 % entleert sind. Dies kann bei manuell und maschinell hergestellten Filmen unterschiedlicher Dicke gezeigt werden. Die Dicke der oberen leeren bzw. mit Arzneistoff gesättigten Schicht(en) hat somit nur einen Einfluss auf die Dauer der nicht linearen Anfangsphase. Die Dicke der unteren Suspensionsmatrix steuert die Dauer der Freisetzung. Durch rechnerische

Simulation mittels der Gleichungen für Lösungs- und Suspensionsmatrices (beide proportional zu Wurzel-t) lässt sich das Freisetzungsprofil sowohl im Anfangsbereich als auch in der linearen Phase reproduzieren.

Maschinell ist es möglich, mehrere Schichten übereinander zu gießen. Durch gezielte Berechnung der einzustellenden Konzentrationen in den einzelnen Schichten entsteht der Konzentrationsgradient über der Suspensionsmatrix in Form von Stufen bereits bei der Herstellung. Dadurch wird die lag-time bzw. der burst-effect zu Beginn der Freisetzung beseitigt, und die Freisetzung aus den mehrschichtigen Gelatinematrixen mit eingestelltem Konzentrationsgradienten verläuft von Anfang an linear.

6. Stabilität

6.1. Untersuchung zur Stabilität der Härtung mittels DSC

Die strukturellen Veränderungen der Gelatinefilme werden nach zweijähriger Lagerung bei 25 °C und 60 % r.F. mit Hilfe der DSC untersucht. Durchwegs finden dabei keine Veränderungen der Glasübergangs- und der Schmelztemperatur statt. Auch die Schmelzenthalpie als Charakteristikum für den Anteil kristalliner Bereiche verändert sich während der Lagerung nicht.

Für Filme, die mit 2,5 % Vinylsulfon gehärtet worden sind, ergibt sich nach einer zweijährigen Lagerung eine Glasübergangstemperatur T_g von $61,0 \pm 3,4$ °C. Die Schmelztemperatur T_m beträgt $90,5 \pm 1,6$ °C mit einer Schmelzenthalpie von $19,9 \pm 1,5$ J/g ($n = 3$). Die vergleichbaren, frisch hergestellten Filme zeigen eine T_g von $57,7 \pm 0,9$ °C, die T_m liegt bei $91,5 \pm 1,1$ °C, und die Schmelzenthalpie beträgt $18,9 \pm 1,0$ J/g. Dies entspricht auch den Ergebnissen in Kapitel C 2.1..

6.2. Stabilität der mehrschichtigen Filme

Die Stabilität des Konzentrationsgradienten in den mehrschichtigen Gelatinematrices wird über einen Zeitraum von vier Wochen untersucht. Als Stabilitätskriterium wird die Linearität der Freisetzung und die Steigung der Geraden herangezogen. Merkliche Diffusion in den mehrschichtigen Gelatinefilmen würde zu einem Konzentrationsausgleich zwischen den Schichten führen und damit zu einer Veränderung der Freisetzungskinetik. Die bei 25 °C/60 % r.F. gelagerten Gelatinematrices zeigen nach einer Lagerung von 14 Tagen nach wie vor Freisetzung nach nullter Ordnung. Lediglich im Anfangsbereich ist eine leichte Abweichung zu erkennen. Auch nach 4 Wochen bleibt das Freisetzungsprofil praktisch unverändert (Abb. 43).

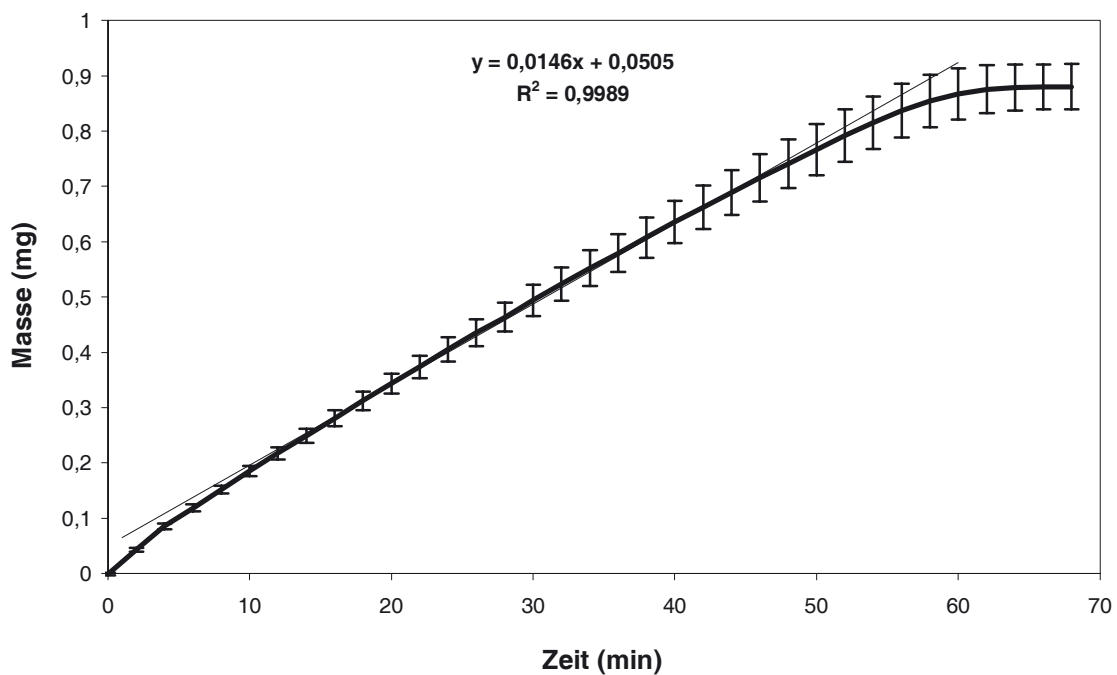


Abb. 43: Freisetzung aus mehrschichtigen Gelatinematrices mit Konzentrationsgradienten nach vierwöchiger Lagerung bei 32 °C/60 % r.F.; $\bar{x} \pm s$ (n = 3); R²-Wert von 18 bis 89 % freigesetzt; Q_t 0,87 mg = 100 %

Die Diffusion in den trockenen Filmen ist also so gering, dass nur leichte Effekte im Anfangsverlauf der Freisetzung zu erkennen sind.

Die Steigung der Freisetzungskurven ist nach 14tägiger Lagerung etwas geringer als die der Freisetzung unmittelbar nach Herstellung (vgl. Abb. 42). Der Diffusionskoeffizient in den gequollenen Filmen wird also kleiner. Das ist auf den Rückgang des Quellungsvermögens mit zunehmender Lagerung aufgrund von fortschreitender Härtung zurückzuführen. Diese innerhalb von 48 Stunden nach der Trocknung der Gelatinefilme auftretende Veränderung der Quellungseigenschaften ist bereits in Kapitel C 2.2.2. beschrieben worden. Danach ist der Härtungsprozess vollständig abgeschlossen, das Quellungsverhalten und damit auch der Diffusionskoeffizient bleiben konstant.

6.3. Zusammenfassung und Bewertung

Die Stabilität der Gelatinefilme ist anhand der Struktur der gehärteten Gelatine mit Hilfe der DSC untersucht worden. Dabei stellt sich heraus, dass die Gelatinefilme nach vollständiger Härtung (s. dazu C 2.2.2.) keinen weiteren strukturellen Veränderungen unterliegen. Die DSC-Charakteristika (Glasübergangs- und Schmelztemperatur sowie Schmelzenthalpie) bleiben auch bei Lagerung über zwei Jahre konstant.

Gelatinematrices mit Konzentrationsgradient sind bezüglich der Stabilität ihrer Freisetzungskinetik untersucht worden. Erwartungsgemäß verändert sich der Anfangsbereich des Freisetzungsprofils, da in den Gelatineschichten Diffusion von gelöstem Theobromin in die oberen Schichten mit geringerer Arzneistoffkonzentration stattfindet. Die Freisetzung verläuft jedoch auch nach einer Lagerung über vier Wochen weitgehend linear mit kaum veränderter Steigung. Weitergehende Untersuchungen zur Lagerungsstabilität sind empfehlenswert.

D EXPERIMENTELLER TEIL

1. Modellarzneistoff

Der Modellarzneistoff Theobromin (Theobrominum puriss. Ph. Eur.) ist von Caelo (Caesar & Loretz GmbH, Hilden) bezogen worden. Der Gehalt der Chargennummer 41233254 beträgt gemäß Analysenzertifikat 99,02 %. Die Identität wurde anhand eines UV-Spektrums überprüft.

1.1. UV-Spektroskopische Bestimmung

Mit dem Zweistrahl-UV/VIS-Spektralphotometer Lambda 40 (Perkin Elmer & Co. GmbH, Überlingen) wird das Spektrum des Arzneistoffs in einer Konzentration von 1 mg/100 ml in dem. Wasser mit einer 1 cm Küvette aufgenommen. Das Absorptionsmaximum von Theobromin liegt bei 273 nm. Diese Wellenlänge wird für die UV-spektralphotometrischen Bestimmungen im Rahmen der Diffusions- und Freisetzungsuntersuchungen verwendet.

Die Abhängigkeit der Absorption von der Konzentration an gelöstem Theobromin wird bei 273 nm ermittelt und damit die Gültigkeit des Lambert-Beer'schen Gesetzes bzw. die Linearität der Methode überprüft. Diese Untersuchungen werden bei 25 und 32 °C in 1 cm Quarzküvetten durchgeführt. Das entspricht den Temperaturen, bei denen die Diffusions- und Freisetzungsversuche durchgeführt werden.

Für einen Konzentrationsbereich von 0 bis 4 mg/100 ml ergibt sich ein linearer Zusammenhang zwischen Absorption und Konzentration (s. Abb. 44). Die Linearität ist bis zu einer Absorption von 2 bestimmt worden und gegeben. Die Absorptionmessungen sind demnach bei Verwendung von Durchflussküvetten (1 cm) bis zu einer Konzentration von 4 mg/100 ml mit Hilfe des UV/VIS-Spektralphotometers problemlos möglich.

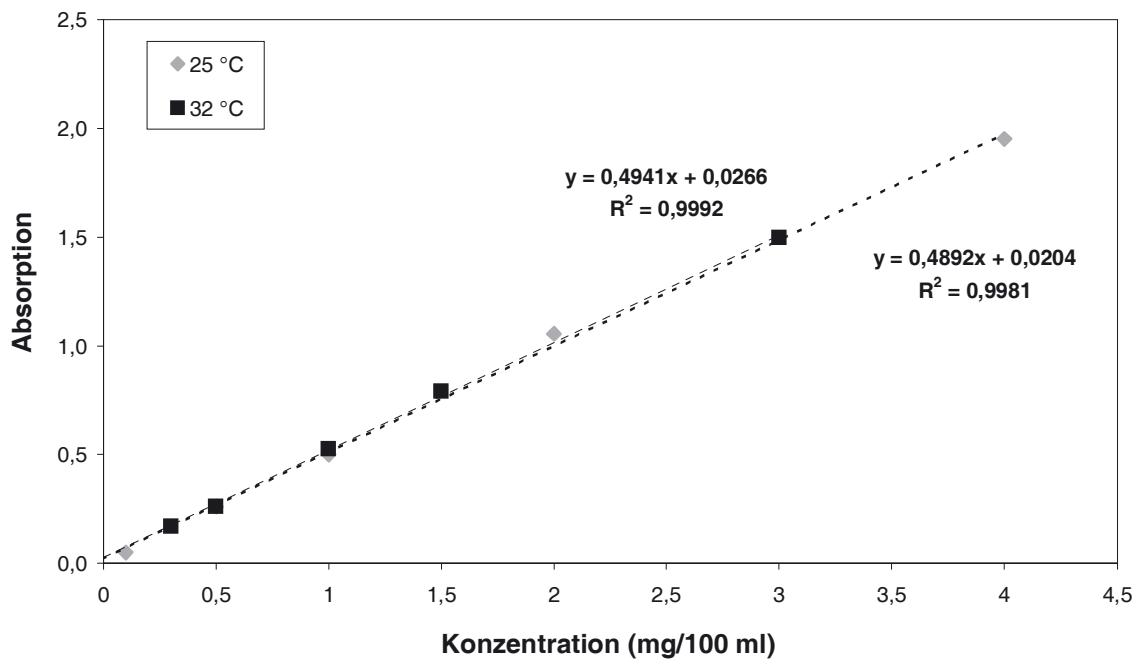


Abb. 44: Linearität der UV-Absorption von Theobromin in dem. Wasser bei einer Messwellenlänge von 273 nm; 1 cm Quarzküvetten

1.2. Bestimmung der Löslichkeit

Die Löslichkeit von Theobromin in dem. Wasser bei 25 sowie bei 32 °C wird durch die Endabsorption einer Theobromin-Suspension nach 24 Stunden Rühren (100 U/min) bestimmt. Nach adäquater Verdünnung werden die Proben UV-spektralphotometrisch bei 273 nm vermessen. Aus dem über die Absorption ermittelten Wert ergibt sich eine Löslichkeit von 39,3 mg/100 ml bei 25 °C und 66,5 mg/100 ml bei 32 °C.

Die Löslichkeit in den Gelatinefilmen wird über den Verteilungskoeffizienten (Gelatinefilm/Wasser) und die Löslichkeit in Wasser bestimmt. Die Berechnungen aus den Diffusions- und Freisetzungsuntersuchungen sind mit Hilfe dieser Werte durchgeführt.

1.3. Bestimmung des Verteilungskoeffizienten Gelatinefilm/Wasser

Der Verteilungskoeffizient VK wird über die Konzentration Theobromin in einem gequollenen Gelatinefilm im Verhältnis zur Konzentration des Arzneistoffs in dem. Wasser bestimmt. Um einen Konzentrationsausgleich zwischen den beiden Phasen (Gelatinefilm/dem. Wasser) zu erreichen, werden die Bestandteile eingewogen, für 24, 48, 72 bis 96 Stunden geschüttelt und die Absorption der wässrigen Phase nach jeweils 24 Stunden bei 273 nm gemessen, bis das Gleichgewicht eingestellt ist. Darüber wird die Konzentration an Theobromin und damit dessen Massenverlust in der wässrigen Phase ermittelt. Dies entspricht der in den Gelatinefilm diffundierten Arzneistoffmasse. Das Volumen der bei der VK-Bestimmung eingesetzten trockenen Gelatinefilme kann über die eingewogene Masse im Verhältnis zur vorher ermittelten Dichte des Films berechnet werden. Die dafür erforderliche Dichtebestimmung erfolgt durch Titration einer definierten Masse Gelatinefilm (ca. 0,7 g, genau gewogen) mit Cyclohexan in einem 25,0 ml Messkolben. Anschließend wird der Quotient aus der genauen Masse (unter Berücksichtigung des Restwassergehalts) und dem ermittelten Volumen gebildet. Für die Berechnung des Verteilungskoeffizienten wird dann die eingewogene Masse des jeweiligen trockenen Gelatinefilms durch dessen Dichte dividiert, um das entsprechende Volumen zu erhalten. Aus der Masse Arzneistoff in dem gequollenen Gelatinefilm, abzüglich der Masse, die sich im Quellungswasser löst, und dem Volumen des eingewogenen trockenen Films kann nun die Konzentration im Gelatinefilm berechnet werden. Das Verhältnis dieser Konzentration zur Restkonzentration in der wässrigen Phase entspricht dem Verteilungskoeffizienten (trockener Gelatinefilm/Wasser) bei der jeweiligen Temperatur. Für die Berechnung des Verteilungskoeffizienten zwischen gequollenem Gelatinefilm und Wasser wird der Quellungsfaktor und das Quellungswasser sowie die Arzneistoffmasse darin mit in die Berechnung einbezogen. Um den VK für die gequollenen Filme zu ermitteln, wird dann zur Masse Arzneistoff in den trockenen Filmen die Masse im Quellungswasser addiert, die sich über den Quellungsfaktor und die Konzentration in der

wässrigen Phase berechnet. Die Konzentration des Arzneistoffs im gequollenen Gelatinefilm lässt sich anschließend durch Bildung des Quotienten aus der ermittelten Masse Arzneistoff im gequollenen Film und der Summe des Volumens des trockenen Films und des Quellungswassers berechnen.

Der Einfluss des Konservierungsmittels (Natrium-Azid) wird durch Zugabe einer deutlich höheren Konzentration (0,25 %) als in den Diffusions- und Freisetzungsversuchen und Absorptionsmessung ausgeschlossen.

1.4. Luftstrahlmahlung

Die Vermahlung des Theobromins wird mit einer Luftstrahlmühle 50 AS (Hosokawa Alpine, Augsburg) durchgeführt. Die Förderrate des Arzneistoffs zur Mahlkammer wird auf 2 g/min eingestellt. Der Injektordruck beträgt 3 bar, als Mahldruck werden ebenfalls 3 bar gewählt.

1.5. Partikelgrößenbestimmung durch Laserbeugung

Die Partikelgrößenbestimmung des verwendeten Arzneistoffs wird mit einem Laserbeugungsgerät vom Typ Helos H1402/KF-Magic (Sympatec GmbH, Clausthal-Zellerfeld) durchgeführt. Dazu wird das Arzneistoffpulver direkt in den Pulvertrichter der Trockendispergiereinheit Rodos (ebenfalls Sympatec GmbH), die über Druckluft eine Trockendispergierung der Substanz ermöglicht, gegeben. Der Überdruck ist auf 1×10^5 Pa, der Unterdruck auf $0,86 \times 10^5$ Pa eingestellt. Der Messbereich beträgt 0,5/4,5 bis 875 μm . Die Ergebnisse in Form einer Volumenverteilung werden mit der Gerätesoftware Windox ausgewertet. Zur Charakterisierung der durchschnittlichen Partikelgröße eines Pulvers wird im Rahmen dieser Arbeit der x_{50} -Wert verwendet, der die Partikelgröße bei 50 % der Verteilungssumme darstellt. Um eine Aussage über die Partikelgrößenverteilung machen zu können, werden hier noch zusätzlich die 10 (x_{10}) und 90 (x_{90}) % Perzentile angegeben, die entsprechend die Partikelgrößen bei 10 bzw. 90 % der Verteilungssumme ausdrücken. Die Ergebnisse der Partikelgrößenanalyse des ungemahlenden und des mit der Luftstrahlmühle gemahlenden (D 1.4.) Theobromins sind in Tabelle 7 dargestellt.

Tab. 7: Messwerte der Partikelgrößenbestimmung von ungemahlenem und gemahlenem Theobromin; $\bar{x} \pm s$ (n = 3)

Probe	X_{10} (μm)	X_{50} (μm)	X_{90} (μm)
Theobromin (wie bezogen)	$3,28 \pm 0,06$	$17,88 \pm 0,09$	$35,89 \pm 0,02$
Theobromin (luftstrahlvermahlen)	$0,56 \pm 0,01$	$1,79 \pm 0,03$	$4,36 \pm 0,02$

2. Gelatinefilme

2.1. Quellungsuntersuchungen

2.1.1. Mikrometerschraube

Die Dicke der Filme wird mit einer Mikrometerschraube der Firma Mitutoyo Corp. (Kawasaki, Japan) mit einem Messbereich von 0 bis $25 \pm 0,001$ mm ermittelt. Um die Quellung zu bestimmen, werden die Filme für 24 Stunden in temperiertes dem. Wasser (25 bzw. 32 °C) eingelegt und vorher und nachher vermessen. Der Quellungsfaktor berechnet sich als der Quotient der Dicken nach und vor der Quellung.

2.1.2. TMA

Die Quellung wird durch Messung der Ausdehnung in Wasser mit Hilfe der TMA untersucht (Knop, 1998). Dazu kommt eine Mettler TA 3000 Anlage (Mettler Toledo, Gießen) mit einem TC 10A Prozessor und einer TMA 40 Messzelle zum Einsatz. Aus den Gelatinefilmen werden Flächen von ca. 2 x 2 mm herausgeschnitten und auf den Boden der Probenkammer gelegt. Darauf wird der Messfühler aufgesetzt und nach einer Vorkonditionierung von 5 min vortemperiertes dem. Wasser (250 µl) mit Hilfe einer Spritze mit Kanüle zugegeben. Das Messprinzip ist in Abbildung 45 dargestellt. Der spitze Quarz-Messfühler ($d = 1,1$ mm) hat eine Auflagekraft von 0,02 N. Zwischen Messspitze und Gelatinefilm kann optional noch eine Auflagescheibe aus Aluminiumoxid aufgelegt werden. Bei konstanter Temperatur (25 bzw. 32 °C) wird die Dickenzunahme der Filme durch Anhebung des Messfühlers über einen Zeitraum von 60 min gemessen. Der Quellungsvorgang geht innerhalb dieser Zeit in eine Plateauphase über. Er ist also abgeschlossen, und die Dicke verändert sich auch bei verlängerter Messung (2 Stunden) nicht weiter. Die Auswertung erfolgt graphisch mit der Mettler STAR^e-Software Version 6.01 (ebenfalls Mettler Toledo GmbH).

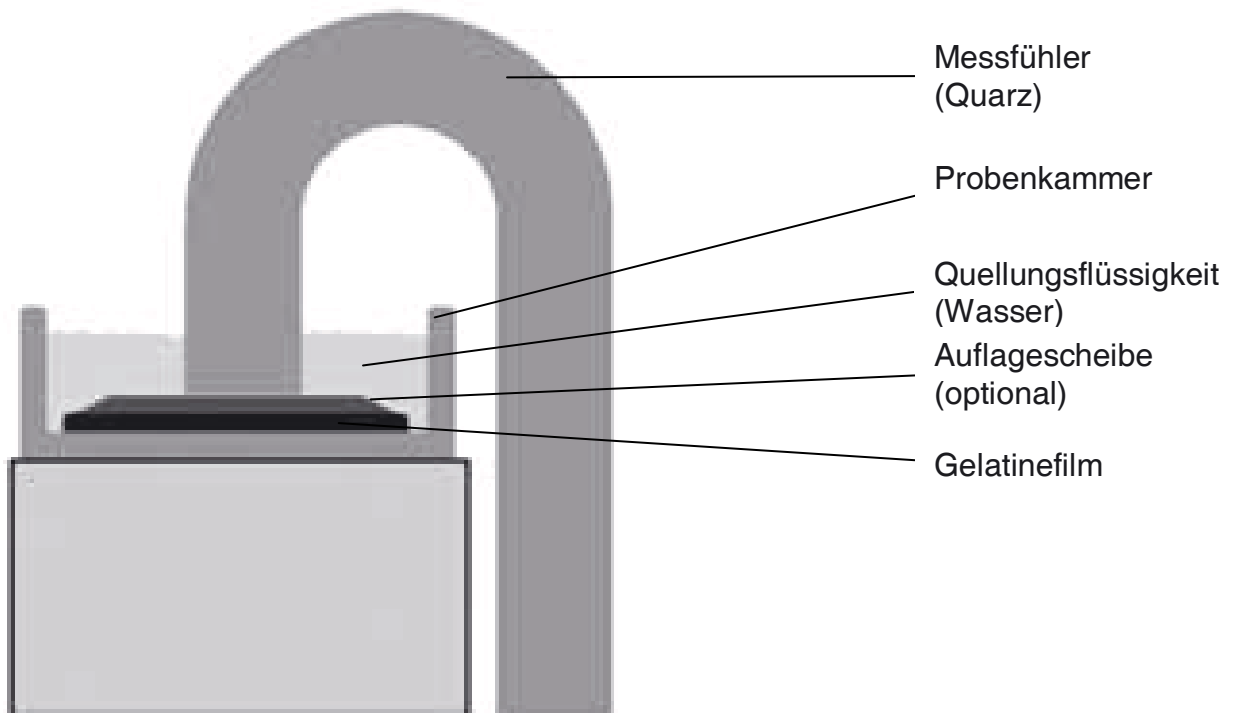


Abb. 45: Messprinzip der Quellungsuntersuchungen mit Hilfe der TMA und dem auf den Gelatinefilm aufgesetzten Messfühler

2.2. Wasserdampfsorption

Die Untersuchungen zur Wasserdampfsorption der Gelatinefilme erfolgt mit Hilfe einer SPS-11 (Projekt Messtechnik, Ulm). Die Sorptions- und Desorptionsisothermen werden mit Hilfe der dazugehörigen Gerätesoftware Release 2.2.8 (ebenfalls Projekt Messtechnik) ermittelt. Die relativen Feuchten werden stufenweise verändert, zwischen 0 und 60 % in 10 %-Schritten, weiter bis 90 % r.F. in 5 %-Einheiten. Die Desorption erfolgt bei den gleichen relativen Feuchten, allerdings in umgekehrter Reihenfolge. Die Proben werden alle 5 min gewogen und die Masse mit den vorherigen Werten verglichen. Zur jeweils nächsten Stufe wird bei Gewichtskonstanz aller 11 Proben (Massenabweichung < 0,01 % über 60 min), jedoch spätestens nach 48 Stunden übergegangen.

2.3. Lösungsverhalten der Gelatinefilme

Die Untersuchung der Löslichkeit der Gelatinefilme erfolgt in Mitteldrucktiegel in der DSC (s. D 5.1.) sowie im Becherglas mit dem. Wasser durch Temperaturerhöhung im Wasserbad. Dazu werden 0,5 g Gelatine und 10,0 ml dem. Wasser in das Becherglas (10 ml) gegeben und die Temperatur bei 20 °C beginnend in Schritten von 1 °C/min bis 60 °C erhöht. Das Verhalten des Gelatinefilms wird visuell beobachtet und dessen Zusammenhalt durch Bewegen mit einem Glasstab überprüft. Bei den Filmen, die bei 60 °C noch intakt sind, wird die Temperatur des dem. Wassers bis zum Siedpunkt erhöht und die Filme für eine Stunde bei 100 °C gekocht. Die Filme werden anschließend aus dem Wasser genommen und visuell auf Schäden untersucht.

2.4. Herstellung der Filme

2.4.1. Einfache Filme

Gelatine wird mit der berechneten Menge Wasser und Theobromin für zwei Stunden vorgequollen. Das Ansatzverhältnis der einzelnen Bestandteile ist in Tabelle 8 aufgeführt. Die vorgequollene Masse wird dann im Wasserbad auf 60 °C erwärmt. Anschließend wird die entsprechende Menge Härterlösung hinzugegeben (Tab. 8) und die gerührte Lösung zur Austreibung von Gasen für 2 min in ein Ultraschallbad (Ultracleaner Typ 07, Eltrosonic GmbH, Wiesbaden) gestellt. Unmittelbar im Anschluss erfolgt das Ausgießen der Lösung in PVC-Ringe ($d = 7$ cm) auf Polycarbonat-Folie. Durch Berechnung der benötigten Masse an Gelatinelösung wird die resultierende Filmdicke gesteuert. Die erstarrten Gelatinegele werden anschließend bei verschiedenen Temperaturen (5 – 60 °C) getrocknet. Teilweise erfolgt beschleunigte Trocknung mit Hilfe von handelsüblichen Haartrocknern mit Kaltstufe.

Tab. 8: Ansatzverhältnis der einzelnen Bestandteile für das Gießen von verschiedenen Gelatinefilmen (leere Filme, Lösungs- und Suspensionsmatrices); unterschiedliche Härtermengen (1%ige Lösung) wird unmittelbar vor Ausgießen zugesetzt

Härterkonz. (%) im Film		0	1	2,5	5	10
Substanz						
Gelatine		1	1	1	1	1
dem. Wasser		9	8	6,5	4	4
Theobromin	leerer Film	-	-	-	-	-
	gelöst (c_s)	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007
	suspendiert	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Härter	Lösung (1%)	-	1	2,5	5	5
	fest	-	-	-	-	0,05
Gelatinekonzentration (%)		10	10	10	10	10

2.4.2. Zweischichtige Filme

Separat werden unterschiedliche, einschichtige Gelatinefilme gegossen. Zwei wie in D 2.4.1. beschrieben hergestellte einfache Filme werden mit Hilfe von sehr wenig wässriger Gelatinelösung mit Härter zusammengeklebt und getrocknet. Dabei ist eine Schicht jeweils eine Suspensionsmatrix, die zweite Schicht ist entweder eine Lösungsmatrix, oder sie enthält keinen Arzneistoff („leere Schicht“). Die Konzentrationen bzw. Zusammensetzungen der einzelnen Schichten sind analog dem Ansatz der einfachen Filme (s. Tab. 8). Die Härterkonzentration beträgt bei den zweischichtigen Systemen 2,5 %.

2.4.3. Mehrschichtige Filme

Die mehrschichtigen Filme entstehen auf einer Maschine nach dem Prinzip des Kaskadengießverfahren (s. C 5.2.1., Abb. 40). Die Gießmaschine M 88 (Agfa Gevaert AG, Leverkusen) hat eine Gussbreite von 21 cm auf einer Bahnlänge von 2 m. Der Aufsteigespalt, d.h. der Spalt, durch den die Gelatinelösungen Richtung Trägerfolie transportiert werden, hat eine Breite von 1,2 mm. Die verwendete Trägerfolie aus PET (120 µm), ist mit einer 5 µm dicken Gelatineschicht beschichtet. Diese Hydrophilisierung hat den Zweck, dass die warmen Gelatinelösungen an dem ansonsten schlecht zu benetzenden Polymer haften bleiben und mitgezogen werden können. Dadurch bildet sich ein gleichmäßiger, dünner Film aus. Die Geschwindigkeit, mit der die Trägerfolie bewegt wird, ist auf 25 m/min eingestellt.

Zur maschinellen Reproduktion der zweischichtigen Filme werden zuerst viele (hier: 12) Schichten mit lediglich zwei unterschiedlichen Konzentrationen (Ansatzverhältnis s. Tab. 8) gegossen. Die Herstellung der Gelatinelösungen erfolgt analog zu der für die einfachen Filme (D 2.4.1.). Wie bei den anschließend beschriebenen mehrschichtigen Systemen mit Konzentrationsgradient ist das Verhältnis von Suspensionsmatrix-Schichten zu den restlichen Schichten (hier jeweils leer oder mit Arzneistoff in Sättigungskonzentration) ca. 1 : 2,5. Die Bahnen werden anschließend zum Trocknen automatisch in einen Trocknungskanal eingebracht. Das Trocknungsprogramm ist in 13 Trocknungsabschnitte unterteilt. Der Luftstrom wird im ersten Trocknungsabschnitt mit einer Geschwindigkeit von 12 m/s, 21 °C und einer Feuchte von 2 g/kg, in den beiden nächsten Abschnitten mit 2 bzw. 4 m/s, 15 °C und einer Feuchte von 3 g/kg über die Bahn geführt. In den weiteren Trocknungsphasen liegt die Luftgeschwindigkeit bei 18 m/s, die Temperatur variiert zwischen 25 und 39 °C und die Feuchte wird auf Werte zwischen 3 und 5 g/kg eingestellt. Die Trocknung dauert insgesamt ca. 5,5 min.

Mehrschichtige Filme mit Konzentrationsgradienten werden in zwei Durchgängen, in denen jeweils sechs Schichten übereinander gegossen werden, mit der Gießmaschine hergestellt. Die Ansatzverhältnisse für die insgesamt acht Schichten mit variablen Konzentrationen, die auf die vier Schichten mit suspendiertem Arzneistoff gegossen werden, sind in Tabelle 9 aufgelistet. Um dickere Trockenschichten zu erzielen, kommen teilweise höher konzentrierte Gelatinelösungen mit geringerer Wassermenge zum Einsatz. Die Härterlösung wird wie bei den einfachen Filmen erst unmittelbar vor dem Ausgießen dazu gegeben. Nach Guss der ersten 6 Schichten (4 Suspensionschichten und Schichtnummern 1 und 2 mit hohen Anteilen an gelöstem Theobromin) erfolgt eine Trocknungsphase. Anschließend werden die Gelatinelösungen mit den Schichtnummern 3 – 8 (Tab. 9) in aufsteigender Reihenfolge auf das getrocknete Schichtpaket des ersten Durchgangs gegossen. Die Bahn wird erneut in den Trocknungskanal überführt und getrocknet.

Tab. 9: Ansatzverhältnis und Schichtdicke beim Gießen von mehrschichtigen Gelatinefilmen mit Konzentrationsgradienten für die 8 Schichten unterschiedlicher Konzentration auf der Suspensionsmatrix (4 Schichten, Gesamtdicke 140 µm, Zusammensetzung s. Tab. 8: „2,5% Härter“); Härter wird unmittelbar vor dem Gießen zugesetzt

Schichtnr.	1	2	3	4	5	6	7	8
Substanz								
Gelatine	1	1	1	1	1	1	1	1
dem. Wasser	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
Theobromin (x 10⁻³)	6,7	5,6	4,8	4,3	3,6	2,7	1,7	0,6
Härterlösung (1%)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Gelatinekonz. (%)	10	10	10	10	10	10	10	10
Dicke (nass, µm)	50	60	20	30	40	50	50	60

3. Versuchsaufbau für die Diffusionsversuche

Die Versuche zur Diffusion durch Gelatinefilme werden mit Hilfe einer eigens konstruierten Zelle (Abb. 46) in einer Blattrührer-Apparatur, Typ DT 6 (Erweka Apparatebau GmbH, Heusenstamm), die den Anforderungen des Ph. Eur. entspricht, durchgeführt. Die Anordnung im Freisetzungsgefäß ist auf der Fotografie (Abb. 47) zu erkennen. Für den Blattrührer wird eine Geschwindigkeit von 100 U/min eingestellt. Als Akzeptormedium dienen 1000 ml dem. Wasser, konserviert mit 0,01 % Natrium-Azid. Das Freisetzungsgefäß ist im Wasserbad mit Hilfe eines Thermostats Julabo MD (Julabo Labortechnik GmbH, Seelbach) auf 25 bzw. $32 \pm 0,5$ °C temperiert. Die unterschiedlichen Filme werden mit Hilfe von POM-Ringen (Polyoxymethylen) auf den oberen Rand der Glaskammer der Diffusionszelle gepresst. Die Diffusionsfläche entspricht der Größe der Öffnung der Glaskammer und beträgt 19,6 cm². In dieses Glasgefäß werden ca. 50 ml Donatormedium gefüllt, bestehend aus einer gesättigten Theobrominlösung mit einem Überschuss an festem Arzneistoff. In späteren Versuchen wird der Donator mit Hilfe eines Rührfischs mit einem Magnetrührer Ikamag Rec-G (IKA Labortechnik, Janke und Kunkel GmbH & Co. KG, Staufen) gerührt. Die einzelnen Freisetzungsgefäße sind über Teflon-Schläuche durch eine Schlauchpumpe Ismatec IPC-8 V1.34 (Ismatec Labortechnik, Glattbrugg-Zürich, Schweiz) mit dem Zweistrahl-UV/VIS-Spektralphotometer Lambda 2 (Perkin-Elmer & Co. GmbH, Überlingen) verbunden. Den Probenentnahme-Einheiten sind Teflonfritten vorgeschaltet, die eine Ansaugung ungelöster Partikel verhindern. Die Absorption der Lösung wird in den Durchflussküvetten (1 cm) alle 3 min automatisch bei einer Wellenlänge von 273 nm UV-spektralphotometrisch bestimmt.

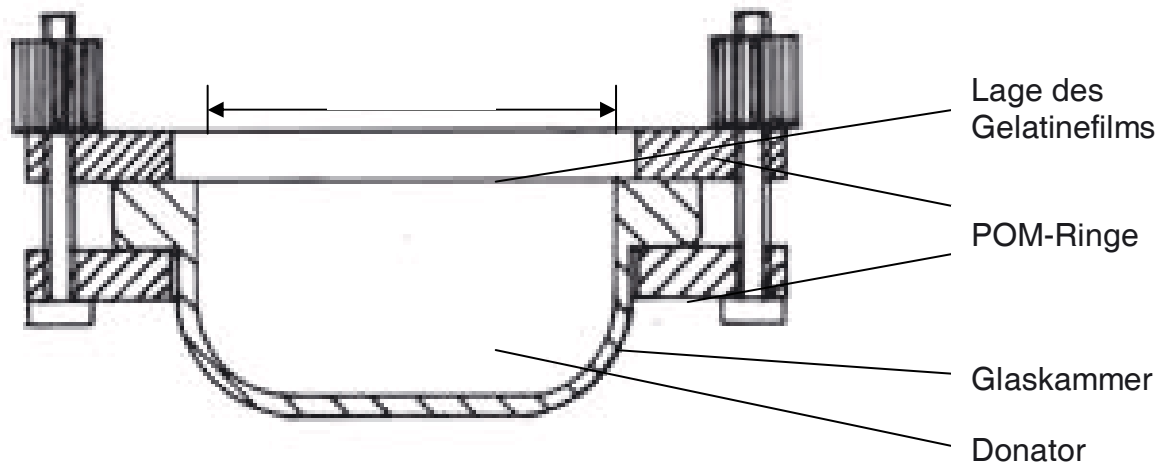


Abb. 46: Querschnitt durch die Diffusionszelle; mit Hilfe der POM-Ringe werden die Gelatinefilme auf der Glaskammer fixiert

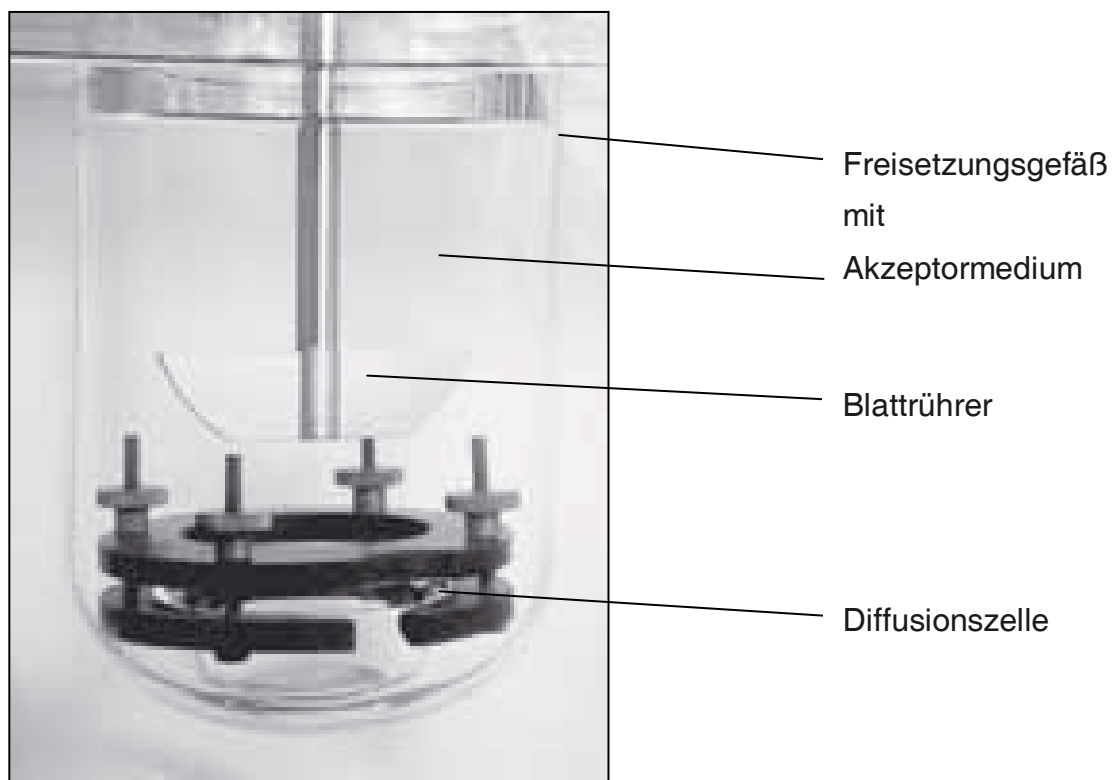


Abb. 47: Fotografie des Versuchsaufbaus für die Diffusionsuntersuchungen durch Gelatinefilme; zu erkennen ist die Diffusionszelle (s. Abb. 46) mit den schwarzen POM-Ringen und der eingespannten Glaskammer; darüber der Rührer im Freisetzungsgefäß

4. Freisetzungsuntersuchungen

Die Freisetzungsuntersuchungen werden mit den gleichen Geräten und den gleichen Einstellungen wie bei den Diffusionsversuchen durchgeführt.

Anstelle der Diffusionszellen werden Freisetzungszellen konstruiert, die der Extraktionszelle für die Freisetzung aus Transdermalen Systemen (2.9.4, Ph. Eur.) ähneln. Eine solche Freisetzungszelle ist in Abbildung 48 schematisch dargestellt. Das Unterteil besteht aus Edelstahl (V2A) mit einer runden Vertiefung (Durchmesser 64 mm), in welche die Gelatinematrices eingelegt werden. Für die Herstellung der restlichen Bestandteile, die der Fixierung der Filme dienen, ist Teflon verwendet worden. Die Freisetzungsfläche wird durch die Öffnung des auf die Filme drückenden Teflonrings (Innendurchmesser: 50 mm) bestimmt und beträgt 19,6 cm². Diese Zellen werden in die Freisetzungsgefäße mit dem. Wasser eingebracht (Abb. 49). Damit auch geringe freigesetzte Theobrominmengen bestimmt werden können, hat das wässrige Akzeptormedium ein geringeres Volumen (400 ml) als bei den Diffusionsversuchen. Auch dies ist für die Freisetzung aus den dünnen Filmen noch zu groß. Auf die Extraktionszelle wird in diesen Fällen eine Glasglocke mit Hilfe eines Teflonrings gepresst, in der sich ein kleineres Volumen (50 ml) an wässrigem Akzeptor befindet. Ein kleinerer Rührer aus Glas taucht in die Glaszelle ein und rührt durch einen IKA-Rührer RW 18 (IKA Labortechnik, Janke und Kunkel GmbH & Co. KG, Staufen) den Akzeptor mit einer Geschwindigkeit von 100 U/min. Diese Konstruktion ist in Abbildung 50 dargestellt. Auch hier wird das Medium über Teflonschläuche mit der Schlauchpumpe durch Durchflussküvetten gepumpt und im UV/VIS-Spektralphotometer alle 2 bzw. 3 min bei 273 nm bestimmt.

Die in gemittelten Freisetzungskurven eingezeichneten Punkte mit Standardabweichung dienen der Verdeutlichung der Streuung.

Die Gelatinematrices werden vor Einsatz in die Extraktionszelle für 5 min mit wenig gesättigter wässriger Theobrominlösung vorgequollen.

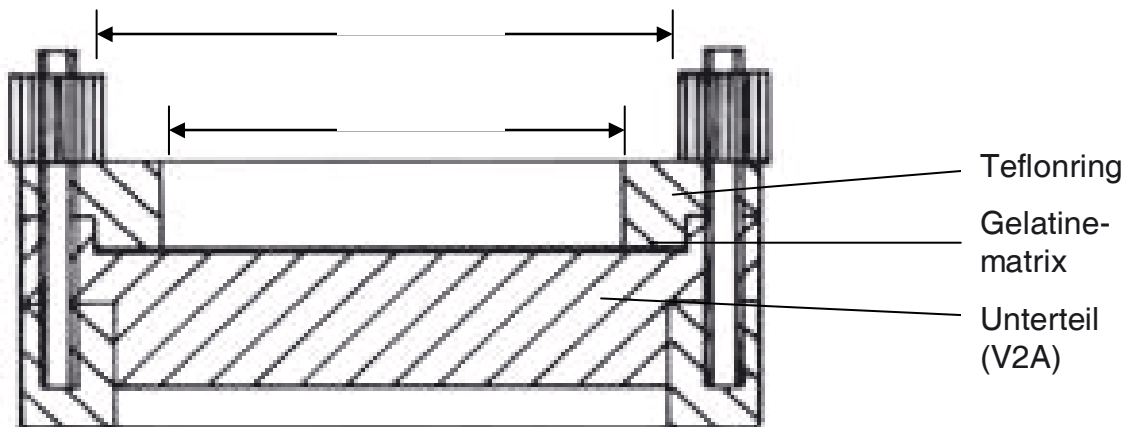


Abb. 48: Freisetzungszelle für die Freisetzung aus dicken Gelatinematrixes:
 Unterteil und Gewindeteile aus Edelstahl, restliche Teile aus Teflon

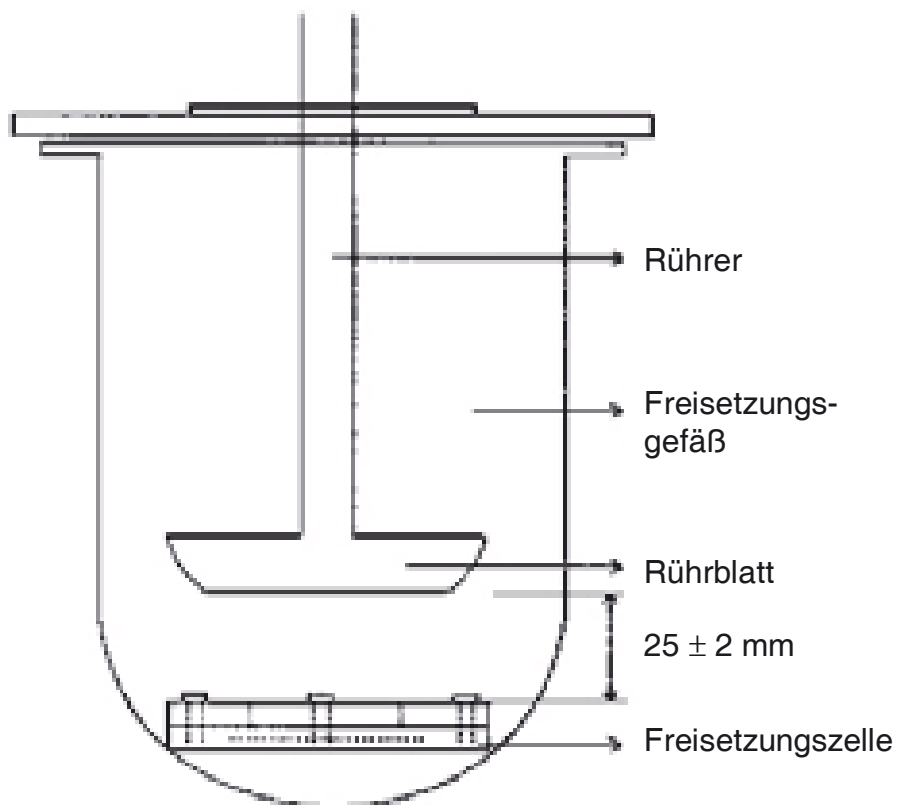


Abb. 49: Versuchsaufbau bei den Freisetzungsuntersuchungen aus dicken Gelatinematrixes mit Hilfe der Freisetzungszelle (s. Abb. 48)

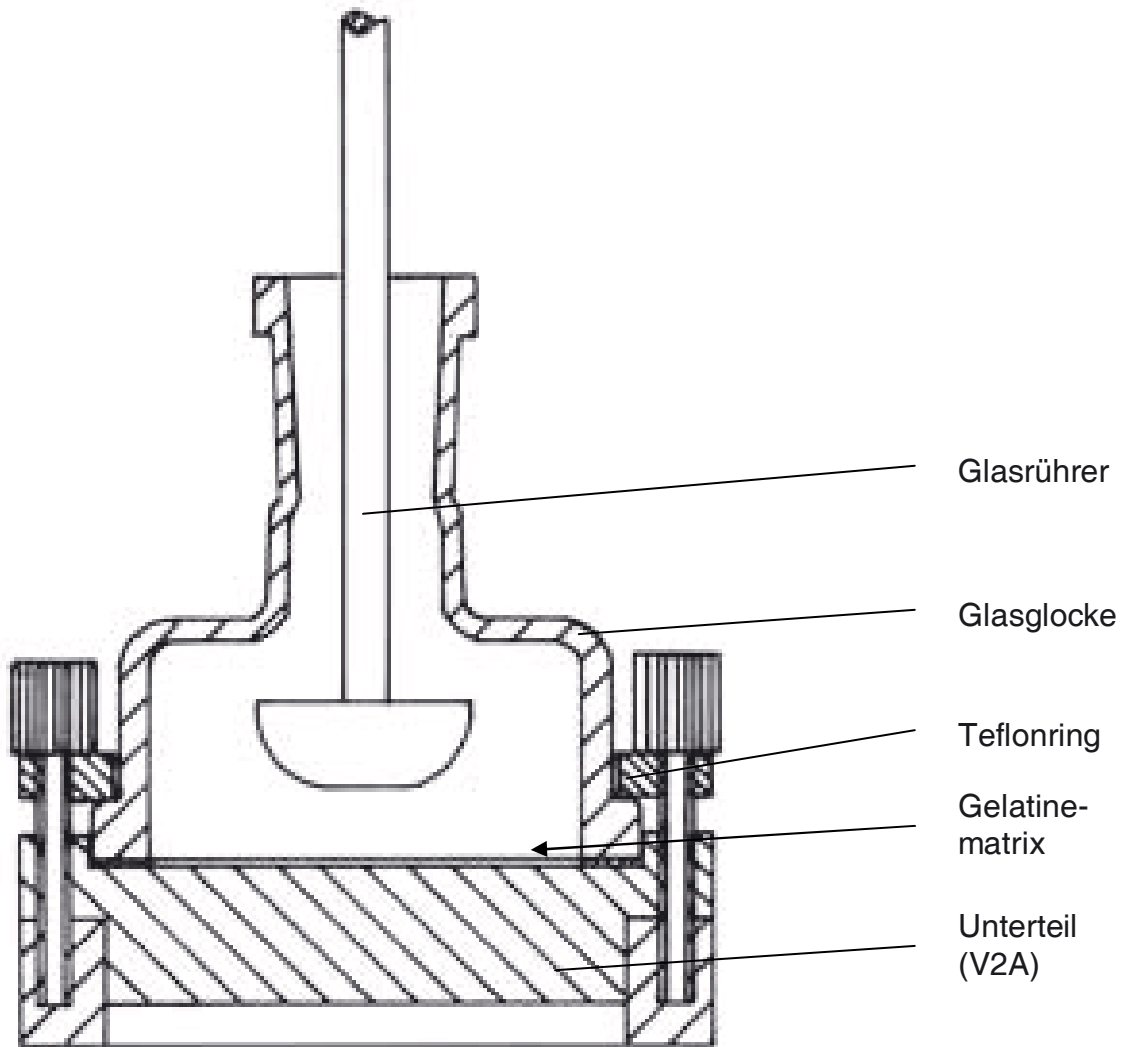


Abb. 50: Modifizierte Freisetzungszelle mit Akzeptormedium in Glasglocke zur Freisetzung aus dünnen Gelatinematrices

5. Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Die thermoanalytische Charakterisierung der Gelatinefilme erfolgt mit einer DSC 821^e (Mettler Toledo GmbH, Gießen). Als Referenz dient ein leerer Proben Tiegel. Die Kalibrierung für Temperatur und Enthalpiemessungen erfolgt routinemäßig mit Indium. Für die Strukturuntersuchungen (C 2.1.) werden verschleißbare 40 µl Standardaluminiumtiegel eingesetzt. Bei den Untersuchungen zum Lösungsverhalten der Gelatinefilme mit Hilfe der DSC (C 2.4.) werden Mitteldrucktiegel aus Stahl (120 µl) verwendet. Beide Tiegelarten werden zur Durchführung der Charakterisierung in der DSC verschlossen. Die Messzelle wird während der Messung mit Stickstoff mit einer Durchflussrate von 50 ml/min gespült. Zur Auswertung der Ergebnisse wird die Gerätesoftware STAR^e-Software Version 6.01 (ebenfalls Mettler Toledo GmbH) verwendet. Die Enthalpie des Schmelzvorgangs wird über die Fläche des Schmelzpeaks durch Integration, die Glasübergangstemperatur durch graphische Ermittlung des midpoints ermittelt.

5.1. Lösungsverhalten der Gelatinefilme

Für die Untersuchungen zum Lösungsverhalten der Gelatine in Wasser werden ca. 10 mg Probe (gehärtete bzw. ungehärtete Gelatinefilme) in einen Mitteldrucktiegel eingewogen. Nach Zugabe von ca. 65 mg dem. Wasser wird der Tiegel verschlossen und einem Aufheizprogramm von 0 bis 180 °C unterworfen. Die Aufheizrate beträgt 1 °C/min.

5.2. Gelatinestruktur

Die Untersuchungen zur Gelatinestruktur erfolgt in Standardtiegel. Zur Bestimmung der Glasübergangstemperatur und des Schmelzpunktes werden ca. 10 mg der unterschiedlich stark gehärteten Gelatinefilme in die Aluminiumtiegel eingewogen und diese durch Kaltschweißen verschlossen. Die Proben werden zwischen 0 und 200 °C mit einer Aufheizrate von 10 °C/min auf

thermische Ereignisse analysiert. Vor und nach Durchlaufen des Temperaturprogramms erfolgt Wägung der Tiegel, um evtl. Massenverlust (vor allem durch Restwasser) durch Undichtigkeit oder Aufplatzen des Tiegels festzustellen.

6. Lagerungsstabilität

Für die Untersuchungen zur Lagerungsstabilität werden die Filme bei 25 °C und 60 % r.F. (über gesättigter Lösung von NaBr in Wasser) eingelagert (Nyqvist, 1983). Dies entspricht den Vorgaben der ICH-Guideline von 1993.

7. Bezugsquellennachweis

Carbamazepin	Desitin Arzneimittel GmbH, Hamburg
Eudragit NE 30 D	Röhm Pharma GmbH, Weiterstadt
Gelatine Typ A, 260 Bloom	DGF stress AG, Eberbach
Gelatine Typ B, 250 Bloom (Z KN 807)	Agfa Gelatinefabrik, Heilbronn
Glutardialdehyd	Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe
Polycarbonatfolie (Pokalon [®])	Lonza-Werke GmbH, Weil am Rhein
Methylen-Bis-Vinylsulfon	Agfa Gevaert AG, Leverkusen
Quarzmehltypen:	
Silmikron 795-10/1, Sikron SF500/800	Quarzwerke GmbH, Frechen
Mikrosil 350/500	Euroquarz GmbH, Dorsten
Polyvinylamin (MP 1256)	BASF AG, Ludwigshafen
Theobromin	Caesar & Loretz GmbH, Hilden

8. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AS	Arzneistoff
b	Korrekturfaktor für die Wurzel-t-Kinetik
c	Konzentration
c_0	Gesamtkonzentration
c_s	Sättigungskonzentration
d_{Schicht}	Schichtdicke
$d_{\text{ges.}}$	Dicke des gesamten Schichtpakets mit Konzentrationsgradient
D	Diffusionskoeffizient
$D_{\text{exp.}}$	experimentell ermittelter Diffusionskoeffizient
dem.	demineralisiert
DSC	Differential Scanning Calorimetry
F	Fläche
Gl.	Gleichung
ΔH	Enthalpieänderung
ICH	International Conference on Harmonisation
IEP	Isoelektrischer Punkt
Konz.	Konzentration
Lsg.	Lösung
MG	Molekulargewicht
n	Stichprobenumfang
Ph. Eur.	Europäisches Arzneibuch
Q_0	Gesamtarzneistoffmenge

Q_t	freigesetzte Arzneistoffmenge zur Zeit t
$Q_{t\ 50\%}$	freigesetzte Arzneistoffmenge = 50 % der Gesamtmenge
$Q_{t(Lsg.)}$	aus der Lösungsmatrix freigesetzte Menge zur Zeit t
r.F.	relative Feuchte
RT	Raumtemperatur
s	Standardabweichung
S.c.	Stratum corneum
t	Zeit
Tab.	Tabelle
TDS	Transdermales System
T_g	Glasübergangstemperatur
T_m	Schmelztemperatur
TMA	Thermomechanische Analyse
T_{Tr}	Trocknungstemperatur
Upm	Umdrehungen pro Minute
VS	Vinylsulfon
\bar{x}	Mittelwert
x_{50}	Median (Wert bei 50 % der Verteilungssumme)
x_{10}/x_{90}	10 % bzw. 90 % Perzentile (10 bzw. 90 % der Verteilungssumme)
λ	Wellenlänge

E ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit untersucht die Möglichkeit, annähernd konstante Freisetzungsraten aus Transdermalen Systemen (TDS) vom Matrixtyp zu generieren. Dazu werden Matrices mit mehrschichtigem Aufbau und sich schichtweise verändernder Konzentration so hergestellt, dass ein Konzentrationsgradient in dem System resultiert. Die Eignung von Gelatine als Matrixbildner wird ausführlich untersucht. Für eine langsame Freisetzung ist ein kleiner Diffusionskoeffizient in dem Gelatinegerüst Voraussetzung. Durch verschiedene Veränderungen der Struktur, die in einem dichteren Netzwerk sowie in reduzierter Quellung resultieren, wird eine Erniedrigung der Diffusions- und Freisetzungsraten angestrebt. Die Charakterisierung der Struktur erfolgt mit Hilfe der DSC.

Diffusions- und Freisetzungsforschungen werden in speziellen Zellen mit wässrigem Akzeptor durchgeführt. Die Konzentrationsbestimmung erfolgt UV-spektralphotometrisch.

Zum Zweck der **Charakterisierung der Gelatinestruktur** werden Gelatinefilme auf unterschiedliche Art hergestellt und vorbehandelt. Anschließend erfolgt die Untersuchung ihrer Phasenübergänge mittels der DSC. Deutlich ist ein Glasübergangstemperatur bei 50 - 60 °C und im Fall der kalt getrockneten Filme ein Schmelzpeak bei ca. 90 °C zu erkennen. Dabei zeigt sich, dass die entsprechende Schmelzenthalpie der kristallinen Tripelhelices der Gelatine mit zunehmender Trocknungstemperatur des Gelatinesols abnimmt. Bei Trocknungstemperaturen ab 40 °C sind keine kristallinen Anteile mehr zu detektieren. Dies ist im Zusammenhang mit der Schmelztemperatur des wässrigen Gelatinegels (32 °C) zu sehen, oberhalb derer die Gelatinefilme im amorphen Knäuelzustand trocknen. Nur bei Trocknung unterhalb dieser Temperatur bildet sich die Tripelhelix-Struktur aus, die dann zu Gelatinefilmen der teilkristallinen Gel-/Kaltform führt. Eine leichte Verringerung der Schmelzenthalpie ist auch mit steigender Gelatinekonzentration in der Lösung zu beobachten.

Werden die trockenen Filme (Gelform, Wassergehalt ca. 14 %) nachträglich bei 105 °C getrocknet, so führt dies aufgrund des erniedrigten Wassergehalts bis zum völligen Wasserverlust zum Anstieg der Glasübergangs- und der Schmelztemperatur und zur Reduktion der Schmelzenthalpie. Diese Veränderungen sind vollständig reversibel.

Durch Einsatz von Härtungsreagenzien, insbesondere Vinylsulfon, in der Regel zum Gelatinesol zugegeben, werden die Polypeptidketten der Gelatine verknüpft. Dies führt zum Anstieg der Glasübergangstemperatur der Gelatine. Die kristallinen Bereiche der nunmehr völlig wasserunlöslichen Gelatinefilme nehmen mit steigendem Härungsgrad ab, da sich durch die veränderten Strukturen beim Trocknen keine Tripelhelices mehr ausbilden können.

Die Gelatinestruktur bleibt in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften über zwei Jahre stabil.

Deutliche Veränderungen sind auch im Quellungsverhalten zu beobachten. Mit zunehmendem Härungsgrad sinkt der Quellungsfaktor von 10 für ungehärtete Gelatine bis auf unter Faktor 2 für vollständig gehärtete Filme. Dabei ist über die Reduktion der Quellung der zeitliche Verlauf der Härung zu beobachten, die nach 48 Stunden abgeschlossen ist. Sorptionsuntersuchungen zeigen, dass die Wasserdampf-Sorption und damit der entsprechende Wassergehalt ebenfalls abnimmt, je mehr Härter eingesetzt wird.

In Versuchen zur **Diffusion durch Gelatinefilme** zeigt sich, dass der Massentransport durch und der Diffusionskoeffizient in den Filmen mit steigender Härterkonzentration abnehmen. Dies lässt sich durch den Einfluss der Härung auf die Struktur erklären. Durch die Vernetzung entsteht ein dichteres Gerüst, das eine größere Diffusionsbarriere darstellt. Die reduzierte Quellung hat offensichtlich einen geringeren Einfluss, da parallel zur Strukturverdichtung zwar der Diffusionsweg verkürzt wird, insgesamt aber verlangsamer Transport zu beobachten ist. In vergleichenden Versuchen mit gerührtem und ungerührtem Donator ist zu erkennen, dass die Wasserschicht zwischen Bodensatz und eingespanntem Gelatinefilm einen starken Einfluss

auf den Massenfluss hat. Dies ist mit der hohen Dicke der Wasserschicht im Vergleich zu den Gelatinefilmen zu erklären. Der ermittelte Diffusionskoeffizient in den Gelatinefilmen (25 °C) lässt sich durch Zusatz von Härterlösung zum Gelatinesol von $15,2 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ (1 % VS) auf $5,4 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$ (5 % VS) erniedrigen. Durch Härtung nach Herstellung der Gelatinefilme ist eine weitere Reduktion des Diffusionskoeffizienten möglich. Bei der Trocknung können sich hier noch kristalline Tripelhelix-Bereiche ausbilden, die zum Diffusionswiderstand beitragen. Bei der anschließenden Härtung werden dann diese Tripelhelices mitvernetzt. Allerdings führt die Härtung nach Trocknung zu gewellten, in sich verzogenen und damit nicht planaren Filmen, die schlecht in Diffusions- oder Freisetzungszellen eingesetzt werden können. Daher wird die Methode nicht weiter verfolgt und die Härterlösung zum Gelatinesol zugegeben.

Freisetzungsforschungen bei 32 °C an einschichtigen Matrices ergeben erwartungsgemäß, dass sowohl die Freisetzung aus Lösungs- als auch aus Suspensionsmatrices der Wurzel-t-Kinetik folgt. Aus der Steigung bei Darstellung der freigesetzten Masse gegen die Wurzel der Zeit wird der Diffusionskoeffizient des Arzneistoffs in den Matrices berechnet. Der Diffusionskoeffizient in Lösungsmatrices stimmt dabei mit dem aus den Versuchen zur Diffusion durch Gelatinefilme überein. Der Diffusionskoeffizient in Suspensionsmatrices ist höher, was mit dem Anteil löslicher und damit Poren bildender Arzneistoffpartikel erklärt werden kann.

Die Partikelgröße des suspendierten Arzneistoffs hat einen Einfluss auf das Freisetzungsprofil. Große Partikel sedimentieren in den ausgegossenen Gelatinelösungen. Die resultierende erniedrigte Konzentration im oberen Teil der Filme führt zu einer verlangsamten Freisetzung im Anfangsbereich. Kleinere, durch Luftstrahlmahlung hergestellte Partikel beheben diesen Effekt.

Durch Zusatz von verschiedenen Füllstoffen zur Gelatinematrix lässt sich der Diffusionskoeffizient des Arzneistoffs in den Matrices nicht erniedrigen.

Die Freisetzungsraten und der Diffusionskoeffizient werden weder vom Gelatinetyp noch von der Dicke der Matrices beeinflusst.

Zweischichtige Systeme, bestehend aus einer unteren Suspensionsmatrix und einer darauf befindlichen Lösungsmatrix oder einer leeren Schicht, weisen grundsätzlich anderes Verhalten auf. Im Freisetzungsprofil der Systeme mit einer oberen Lösungsmatrix zeigt sich zu Anfang ein burst-effect, im Fall mit einer oberen leeren Schicht ist eine lag-time zu erkennen. Für beide Fälle kann diese Anfangsphase mit der Arzneistoffdiffusion in der oberen Schicht erklärt werden. In dieser Schicht stellt sich zunächst ein linearer Konzentrationsgradient mit abnehmender Konzentration von unten nach oben ein. Wenn die Konzentration in der oberen Schicht auf 50 % der Sättigungskonzentration abgefallen ist, beginnt die untere Suspensionsmatrix-Schicht die Freisetzung zu steuern. Nach dem Anfangsbereich setzen diese Systeme bis ca. 90 % Entleerung den Arzneistoff praktisch konstant frei.

Es zeigt sich, dass die Dicke der oberen Schicht zwar einen Einfluss auf die Dauer der Anfangseffekte, nicht jedoch auf den Verlauf der zwei Phasen der Freisetzung hat. Die Dicke der unteren Suspensionsmatrix beeinflusst die Dauer der Gesamtentleerung, also vor allem den linearen Bereich.

Durch rechnerische Simulation der Freisetzungsprofile mit Freisetzung aus einer Lösungsmatrix am Anfang und der Suspensionsmatrix im späteren Verlauf lässt sich die Freisetzungskurve in beiden Phasen gut reproduzieren. Da die obere Schicht als Entleerungszone der Suspensionsmatrix sehr dick ist, kommt nur ein kurzer Ausschnitt aus dem Ende der Freisetzung nach Wurzel-t-Kinetik aus Suspensionsmatrices zum Tragen. In diesem Bereich ist die Freisetzung aus Matrices relativ konstant, daher ist bei den Freisetzungskurven eine Proportionalität zur Zeit und keine Abhängigkeit von der Wurzel der Zeit zu erkennen.

Mehrschichtige Gelatinematrices werden mit Hilfe eines Kaskadengießverfahrens gegossen. Diese Systeme bestehen aus zwölf Gelatineschichten, in die unterschiedliche Mengen Theobromin eingebettet sind. Zu unterst befindet sich eine vierschichtige Suspensionsmatrix, darüber liegen acht Schichten mit nach oben stufenweise abfallenden Konzentrationen an gelöstem Arzneistoff. Im Vergleich zu den Zwei-Schicht-Systemen ist daher der Konzentrationsgradient in den oberen Schichten bereits eingestellt, und die Konzentration in

der Gesamtheit dieser Schichten beträgt 50 % c_s . Erwartungsgemäß bleibt durch die gezielte Berechnung der Konzentrationen in den einzelnen Schichten die nicht lineare Anfangsphase (burst-effect bzw. lag-time) der Freisetzung aus den zweischichtigen Matrices aus, und die Mehrschicht-Systeme setzen von Anfang an praktisch konstant frei.

Versuche zur Lagerungsstabilität zeigen nach vier Wochen eine leichte Veränderung des Freisetzungprofils, vermutlich durch Diffusion des Arzneistoffs zwischen den Schichten. Längere Stabilitätsuntersuchungen sind empfehlenswert.

Insgesamt ist es somit möglich, durch gezielte Einstellung eines stufenweisen Konzentrationsgradienten in einem mehrschichtigen System eine konstante Arzneistofffreisetzung aus Matrixarzneiformen zu erzielen.

F LITERATURVERZEICHNIS

- 3M Deutschland GmbH: Transmucosal drug delivery system, Firmenliteratur zu Cydot™ bzw. 3M™ Buccal Delivery System, (2000)
- Agfa Gevaert AG: Gelatine, Persönliche, schriftliche Kommunikation, (2000)
- Bauer K.H., Frömming K.-H., Führer C.: Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie, 7. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, (2002)
- Bénès L., Claustrat B., Horrière F., Geoffriau M., Konsil J., Parrott K.A., DeGrande G., McQuinn R.L., Ayres J.W.: Transmucosal, oral controlled-release, and transdermal drug administration in human subjects: A crossover study with melatonin; J. Pharm. Sci. 86, 1115-1119 (1997)
- Bigi A., Panzavolta S., Roveri N.: Hydroxyapatite-gelatin films: a structural and mechanical characterization; Biomaterials 19, 739-744 (1998)
- Bigi A., Bracci B., Cojazzi G., Panzavolta S., Roveri N.: Drawn gelatin films with improved mechanical properties; Biomaterials 19, 2335-2340 (1998)
- Boddé H.E., de Vries M.E., Lehr C.-M., Bouwstra J.A., Verhoef J.C., Ponec M., Craane-van Hinsberg W.H.M., Junginger H.E.: Buccal drug delivery: mucoadhesion requirements and transmucosal transport barriers, in Drug Targeting and Delivery (ed. Junginger H.E.) 57-70, Ellis Horwood, New York, (1992)
- Borchard W., Bergmann K., Emberger A., Rehage G.: Thermodynamische Eigenschaften des Systems Gelatine-Wasser; Progr. Colloid and Polymer Sci. 60, 120-129 (1976)

- Burness D.M., Pouradier J.: The hardening of gelatin and emulsions, in *The Theory of Photographic Process* (ed. James T.H.) 51-67, Macmillan + Co., New York, (1977)
- Cantor A.S., Ocheltree T.W.: Composition for the transdermal delivery of fentanyl, Patent WO 02/26217 A2, Welt (2002)
- Cleary G.W.: The first two decades of transdermal drug delivery and a peak into the 1990's, in *Dermal and Transdermal Drug Delivery* (eds. Gurny R., Teubner K.) Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, (1993)
- Crank J.: *Mathematics of diffusion*, Clarendon Press, Oxford, (1975)
- Dittgen M.: Transdermale Therapeutische Systeme (TTS), in *Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen*, (eds. Müller R.H., Hildebrand G.E.) Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, (1997)
- Fischer W.: Biphaseische Transdermalsysteme, Patent DE 198 44 079 A 1, Bundesrepublik Deutschland, (1999)
- Flynn G.L., Yalkowsky S.H., Roseman T.J.: Mass transport phenomena and models: Theoretical concepts; *J. Pharm. Sci.* 63, 479-510 (1974)
- Flynn G.L.: Topical and transdermal delivery – provinces of realism, in *Dermal and Transdermal Drug Delivery* (eds. Gurny R., Teubner K.) Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, (1993)
- Forslind B.: Domain mosaic model of the skin barrier; *Acta Derm. Venereol* (Stockh.) 74, 1-6 (1994)
- Forslind B., Engström S., Engblom J., Norlén L.: A novel approach to the understanding of human skin barrier function; *J. Dermatol. Sci.* 14, 115-125 (1997)

- Franz T.J., Tojo K., Shah K.R., Kydonieus A.: Transdermal delivery, in Treatise on Controlled Drug Delivery (ed. Kydonieus A.), 341-422, Marcel Dekker, Inc., New York, (1992)
- Friess W., Lee G., Groves M.J.: Insoluble collagen matrices for prolonged delivery of proteins; *Pharmaceutical Development and Technology* 1, 185-193 (1996)
- Friess W., Lee G.: Basic thermoanalytical studies of insoluble collagen matrices; *Biomaterials* 17, 2289 (1996)
- Friess W.: Collagen - biomaterial for drug delivery; *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 45, 113-136 (1998)
- Gelita Gruppe: Die Gelatineproduktion; Firmenliteratur (2002)
- Gratzer P.F., Pereira C.A., Lee J.M.: Solvent environment modulates effects of glutaraldehyde crosslinking on tissue-derived biomaterials; *J. Biomed. Mater. Res.* 31, 533-543 (1996)
- Gummer C.L.: The in vitro evaluation of transdermal delivery, in *Transdermal Drug Delivery* (ed. Hadgraft J., Guy R.H.) 117-196, Marcel Dekker, Inc., New York, (1989)
- Gunder W.: Mechanismus der Freisetzung von Arzneistoffen aus Ethylcellulose-Mikrokapseln, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (1992)
- Hadgraft J.: Pharmaceutical aspects of transdermal nitroglycerin; *Int. J. Pharm.* 135, 1-11 (1996)
- Huschka C.: Untersuchungen zur Wirkung von Biotin auf humane Keratinozyten und zur Modulation der Biotinpenetration in humane Haut, Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle (1998)

- Higuchi T.: Physical chemical analysis of percutaneous absorption from creams and ointments; J. Soc. Cosmet. Chem. 11, 85 (1960)
- Higuchi T.: Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspensions; J. Pharm. Sci. 50, 874 (1961)
- Higuchi T.: Analysis of data on the medicament release from ointments; J. Pharm. Sci. 51, 802 (1962)
- Himmelman W.: Kurzreferat, Agfa Gevaert AG (1973)
- Himmelman W.: in Colloquium über Härtung, Herstal, Agfa Gevaert AG, (1977)
- Hoffmann H.R., Meconi R., Wolff M., Zerbe H.: Controlled-release drugsystem and process for preparing it, Patent EP 0 144 486 B1, Europa (1991)
- Iordanskii A.L., Feldstein M.M., Markin V.S., Hadgraft J., Plate N.A.: Modeling of the drug delivery from a hydrophilic transdermal therapeutic system across polymer membrane; Eur. J. Pharm. Biopharm. 49, 289-293 (2000)
- Jacques C.H.M., Hopfenberg H.B., Stannett V.: Super case II transport of organic vapors in glassy polymers, in Permeability of Plastic Films and Coatings to gases, vapors, and liquids (ed. Hopfenberg H.B.), 73-86, Plenum Press, New York, (1989)
- Jayakrishnan A., Jameela S.R.: Glutaraldehyde as a fixative in bioprotheses and drug delivery matrices; Biomaterials 17, 471-484 (1996)
- Jenquin M.R., Liebowietz S.M., Sarabia R.E., McGinity J.W.: Physical and chemical factors influencing the release of drugs from acrylic resin films; J. Pharm. Sci. 79, 811-816 (1990)
- Khor E.: Methods for treatment of collagenous tissues for bioprotheses; Biomaterials 18, 95-105 (1996)

- Knoch A., Merkle H.P.: Theorie und Praxis transdermaler Freisetzungssysteme; Acta Pharm. Technol. 31, 197-209 (1985)
- Knop K., Matthée K.: Quellungsmessungen von dünnen Polymerfilmen mittels TMA; Mettler User Com; 9-10 (1998)
- Koepff-Hinrichs K., Koepff P.: Gelatine in Pharmazie und Medizin; Pharm. Ind. 36, 104-107 (1974)
- Kuijpers A.J., Engbers G.H.M., Feijen J., De Smedt S.C., Meyvis T.K.L., Demeester J., Krijgsveld J., Zaat, S.A.J., Dankert J.: Characterization of the network structure of carbodiimide cross-linked gelatin gels; Macromolecules 32, 3325-3333 (1999)
- Kurka P.: Füllstoffgesteuerte Freisetzung aus Matrixarzneiformen, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (1985)
- Landmann L.: Die Permeabilitätsbarriere der Haut; Pharmazie in unserer Zeit 20, 155-163 (1991)
- Lee P.I.: Diffusion-controlled matrix systems, in Treatise on Controlled Drug Delivery (ed. Kydonieus A.), 155-198, Marcel Dekker, Inc., New York, (1992)
- Lieken, J.: Einfluss von hydrophilen und lipophilen Vehikeln auf die Wirkstoffpenetration durch die Haut, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (2003)
- Lindner W.D., Lippold B. C.: Drug Release From Hydrocolloid Embeddings with High or Low Susceptibility to Hydrodynamic Stress; Pharm. Res. 12, 1781-1785 (1995)
- Lindner W.D., Möckel J.E., Lippold B.C.: Controlled release of drugs from hydrocolloid embeddings; Pharmazie 51, 263-272 (1996)

- Lipp R.: Strategien und Technologien zur Optimierung von Matrix-Transdermalsystemen, Habilitation, Freie Universität Berlin (2000)
- Lippold B.C.: Biopharmazie: Eine Einführung zu den wichtigsten Arzneiformen, 2. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart (1981)
- Lippold B.C., Kurka P.: Füllstoffgesteuerte Freisetzung aus Suspensionsmatrices (Laminaten), Pharmazie 42, 729-731 (1987)
- Lippold B.C.: Choice of lipophilic polymer material for transdermal therapeutic systems (TTS) and control of release, Pharm. Ind. 49,1295-1300 (1987)
- Lippold B.C., Kurka P.: Füllstoffgesteuerte Freisetzung aus Suspensionsmatrix-Laminaten auf Basis von Silicon mit konstanter Abgaberate, Acta Pharm.Technol. 35, 82-83 (1989)
- Lippold B.C.: Quellende Polymere für Hydrogel- und Hydrokolloideinbettungen mit retardierter Wirkstofffreisetzung; Pharmazie in unserer Zeit 20, 179-185;(1991)
- Lohmann Therapie-Systeme AG (LTS): Mündliche Korrespondenz (2000)
- Mayorga P., Puisieux F., Couarraze G.: Formulation study of a transdermal delivery system of primaquine; Int. J. Pharm. 132, 71-79 (1996)
- McDaid D.M., Deasy P.B.: Formulation development of a transdermal drug delivery system for amlodipine base; Int. J. Pharm. 133, 71-83 (1996)
- Melia C.D., Hadgraft J., Kellaway I.W., Jones R.T.: The drying of gelatin films; Int. J. Pharm. Tech. 6, 7-12 (1985)
- Melia C.D., Hadgraft J., Kellaway I.W., Jones R.T.: The equilibrium moisture content of gelatin films; Int. J. Pharm. Tech. 6, 13-17 (1985)

- Michaels A.S., Chandrasekaran S.K., Shaw J.E.: Drug permeation through human skin: Theory and in vitro experimental measurements; AICHE J 21, 985-996 (1975)
- Monells Pagés R.: Steuerung und Stabilität der Arzneistofffreisetzung aus Diffusionspellets überzogen mit der wässrigen Polymethacrylatdispersion Eudragit RS 30 D, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (1999)
- Monkhouse D.C., Huq A.S.: Transdermal drug delivery – problems and promises; Drug Dev. Ind. Pharm. 14, 183-209 (1988)
- Merkle H.P., Knoch A., Gienger G.: Release kinetics of polymeric laminates for transdermal delivery: Experimental evaluation and physical modelling; J. Contr. Release 2; 99-110; (1985)
- Nakamura T., Yamazaki K., A silver halide photographic light-sensitive material, Patent EP 0974865 A1, Europa, (2000)
- Norlén L.: Skin barrier formation: The membrane folding model; J. Invest. Dermatol. 117, 823-829 (2001)
- Norlén L.: Skin barrier structure and function: The single gel phase model; J. Invest. Dermatol. 117, 830-836 (2001)
- Norlén L.: The human skin barrier - cosmetic implications; Euro Cosmetics, 31-36 (2002)
- Nyqvist, H.: Saturated salt solutions for maintaining specified relative humidities, Int. J. Pharm. Technol. Prod. Manuf., 4, 47-48 (1983)
- Olde Damink L.H.H., Dijkstra P.J., van Luyn M.J.A., van Wachem P.B., Nieuwenhuis P., Feijen J.: Cross-linking of dermal sheep collagen using a water-soluble carbodiimide; Biomaterials 17, 765-773 (1996)

- Osborne D.W.: Computational methods for prodrug or drug analogue selection optimized for percutaneous delivery, in Topical Drug Delivery Formulations (eds. Osborne D.W., Amann A.H.), Marcel Dekker, Inc., New York, (1990)
- Piecha T.: Entwicklung einer Membran mit zeitlich verzögerter Diffusion von Wirkstoffen zur Verwendung in transdermalen therapeutischen Systemen, Diplomarbeit, Fachhochschule München, (1999)
- Prausnitz M.R.: The effects of electric current applied to skin: A review for transdermal drug delivery; Adv. Drug Deliv. Rev. 18, 395-425 (1996)
- Reich G.: Wirkungsweise und Optimierung des Weichmacherzusatzes in Weichgelatinekapselformen; Pharm. Ind. 56, 915-920 (1994)
- Reich G.: Einfluß der Trocknung auf Struktur und Eigenschaften von Gelatinekapselformen; Pharm. Ind. 57, 63-67 (1995)
- Reich G.: Einfluß der Sorbitol-Spezifikation auf Struktur und Eigenschaften von Weichgelatinekapselformen; Pharm. Ind. 58, 941-946 (1996)
- Reimann H.: Vehikeleffekte bei Methylnicotinat-Lösungssalben, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (1986)
- Rose P.I.: Gelatin, I. General Properties, in The Theory of Photographic Process (ed. James T.H.) 51-67, Macmillan + Co., New York, (1977)
- Röhm GmbH, Eudragit - (Trans-)dermale Therapiesysteme, Firmeninformation
- Schiller M., Schmidt P.C.: Arzneistoffe zum Aufkleben; Pharm. Ztg. 147, 18-26 (2002)
- Schmidt R.J.: Cutaneous side effects in transdermal drug delivery: Avoidance strategies, in Transdermal Drug Delivery (ed. Guy J.H.R.H.) 83-97, Marcel Dekker, Inc., New York, (1989)

- Schneemann H.: Einfluß von Vehikeln auf die Bioverfügbarkeit von Betamethason-17-benzoat aus Lösungs- und Suspensionssalben, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (1983)
- Schaberg M.S., Duan D.C., Pournoor K.: Pyrrolidonoethyl (Meth)Acrylate containing pressure sensitive adhesive compositions, Patent WO 03/006568 A1, Welt (2003)
- Schubnell M.: Bestimmung der Kristallinität bei Polymeren aus DSC-Messungen; User Com (Mettler Toledo), 12-13 (2001)
- Scientific Steering Committee, European Commission, Health & Consumer Protection Directorate-General: Updated opinion on the safety with regard to TSE risks of gelatine derived from ruminant bones or hides (2003)
- Sturm C., Siffermann A., Frey O.R.: Transdermale therapeutische Systeme in der Schmerztherapie; Krankenhauspharmazie 24, 7-14 (2003)
- Teuber K.: Herstellung und Charakterisierung stark quellender Gelatinederivate, Dissertation, Eberhard-Karls-Universität Tübingen (1990)
- Teubner A.: Einfluß verschiedener Salbengrundlagen auf die Wirksamkeit von Nicotinsäurebezylolester in Lösungssalben, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (1980)
- Urbanetz N.A.: Stabilität und Stabilisierung fester Dispersionen auf der Basis von Polyethylenglykol, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (1999)
- Valuev I.L., Chupov V.V., Valuev L.I.: Chemical modification of polymers with physiologically active species using water-soluble carbodiimides; Biomaterials 19, 41-43 (1997)

- van Wachem P.B., van Luyn M.J.A., Olde Damink L.H.H., Dijkstra P.J., Feijen J., Nieuwenhuis P.: Biocompatibility and tissue regeneration capacity of crosslinked dermal sheep collagen; *J. Biomed. Mat. Res.* 28, 353-363 (1994)
- Walters K.A.: Penetration enhancers and their use in transdermal therapeutic systems, in *Transdermal Drug Delivery* (eds. Hadgraft J., Guy R.H.), Marcel Dekker, Inc., New York, (1989)
- Wolff M., Cordes G., Luckow V.: In vitro and in vivo-release of nitroglycerin from a new transdermal therapeutic system; *Pharm. Res.* 2, 1- 54 (1985)
- Wolff M., Cordes G., Rehe A.: Transdermale Systeme mit Glyceroltrinitrat im Vergleich; *DAZ* 127, 601-609 (1987)
- Yasuda H., Lamaze C.E., Ikenberry L.D.: Permeability of solutes through hydrated polymer membranes. Part I. Diffusion of sodium chloride; *Makromol. Chem.* 118, 19-35 (1968)
- Yasuda H., Ikenberry L.D., Lamaze C.E.: Permeability of solute through hydrated polymer membranes. Part II. Permeability of water soluble organic solutes; *Makromol. Chem.* 125, 108-118 (1969)
- Yasuda H., Peterlin A., Colton C.K., Smith K.A., Merrill E.W.: Permeability of solutes through hydrated polymer membranes. Part III. Theoretical background for the selectivity of dialysis membranes; *Makromol. Chem.* 126, 177-186 (1969)
- Zaffaroni A.: Medical Bandage, Patent US 3,996,934, USA, (1976)
- Ziegenmeyer J.: TTS: Transdermale Applikation von Arzneistoffen, *Pharm. Ztg.* 134, 24-30, (1989)
- Zuleger S.: Polymerpartikelerosion als Mechanismus der Freisetzung aus Hydrokolloid-Retardarzneiformen, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (2000)