

Alexander Glomme

**Biorelevante Löslichkeit
schwerlöslicher Arzneistoffe**



Cuvillier Verlag Göttingen

Biorelevante Löslichkeit schwerlöslicher Arzneistoffe

**Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften**

**Vorgelegt beim
Fachbereich Biochemie, Pharmazie
und Lebensmittelchemie
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
in Frankfurt am Main**

**von
Alexander Glomme**

aus Köln

Frankfurt am Main, 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.: Göttingen, Univ., Diss., 2004
ISBN 3-86537-263-5

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

Dekan: Prof. Dr. H. Schwalbe

1. Gutachter: Prof. Dr. J.B. Dressman

2. Gutachter: Prof. Dr. J. Kreuter

Datum der Disputation: 22.06.2004

⊕ 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 3-86537-263-5

DANKSAGUNG

Ich möchte zuerst Frau Prof. Dr. Dressman dafür danken, dass Sie die Betreuung meiner Arbeit übernommen hat. Sie war mit ihrer offenen und herzlichen Art jederzeit eine Ansprechpartnerin für mich. Die wertvollen Anregungen und wissenschaftlichen Diskussionen haben sehr zum Gelingen der Arbeit beigetragen.

Ganz besonders möchte ich mich bei Herrn Dr. Joachim März für die vielen fachlichen Diskussionen und Hilfestellungen bedanken. Durch ihn habe ich einen wertvollen Einblick in die pharmazeutische Präklinik erhalten. Sehr vermissen werde ich die angenehme Arbeitsatmosphäre und die vielen netten Kollegen.

Für die Übernahme des Zweitgutachtens möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Kreuter ganz herzlich bedanken.

Frau Brunner und Frau Jakobs danke ich für die Unterstützung bei den allgemeinen Labortätigkeiten. In Frau Brunner hatte ich bei Fragen zur HPLC-Analytik immer eine kompetente Ansprechpartnerin.

Der Firma Merck danke ich für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung von Labor und Material sowie die finanzielle Unterstützung.

Zum Schluss möchte ich meiner Freundin Yvonne Kiefer und meinen Eltern, die mich mit Rat, Tat und Geduld bei der Arbeit unterstützten, einen besonderen Dank aussprechen.

INHALTSVERZEICHNIS

DANKSAGUNG	I
INHALTSVERZEICHNIS	II
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	VI
1 EINLEITUNG	1
1.1 Einführung.....	1
1.2 Löslichkeit	3
1.2.1 Thermodynamische Betrachtung der Löslichkeit.....	3
1.2.1.1 Enthalpie.....	4
1.2.1.2 Entropie.....	5
1.2.1.3 Temperatur	6
1.2.1.4 LogP.....	6
1.2.1.5 Schmelzpunkt	6
1.2.2 Polymorphismus.....	6
1.2.3 pH-Wert.....	7
1.2.4 Einflussnahme auf die Löslichkeit	8
1.2.5 Berechnungsalgorithmen	10
1.2.5.1 Computerprogramme.....	11
1.2.5.1.1 WSKOWWIN	11
1.2.5.1.2 ACD/Solubility DB	11
1.2.5.1.3 Artificial Neural Network	11
1.2.5.1.4 HYBOT	11
1.2.5.1.5 ABSOLV	12
1.2.6 Methoden der Löslichkeitsmessung	12
1.2.6.1 Shake-Flask.....	12
1.2.6.2 Potentiometrische Titration.....	13
1.2.6.3 Turbidimetrie.....	16
1.3 Arzneistoff-Resorption unter physiologischen Bedingungen	18
1.3.1 Magen	19
1.3.2 Dünndarm	20
1.3.2.1 Freisetzung.....	21
1.3.2.2 Wirkstoffaufnahme.....	23
1.4 Einfluss der Gallenkomponenten auf die Resorption.....	25
1.4.1 Gallensalze	25
1.4.2 Lezithin.....	27

1.4.3	Verbesserte Resorption.....	29
1.4.4	Verschlechterte Resorption	30
1.5	Biopharmaceutics Classification System.....	31
2	ZIELSETZUNG	34
3	MATERIAL UND METHODEN	36
3.1	Materialien.....	36
3.1.1	Untersuchungssubstanzen.....	36
3.1.1.1	Substanzauswahl.....	36
3.1.1.2	Physikochemische Eigenschaften	37
3.1.1.3	Verwendete Chargen.....	38
3.1.1.4	Struktur der Untersuchungssubstanzen	39
3.1.1.5	Indikationen der Untersuchungssubstanzen	43
3.1.2	Verwendete Geräte	44
3.1.3	Labormaterialien.....	45
3.1.4	Gallensalze	46
3.1.5	Lezithin	46
3.2.1	Untersuchungsmedien	48
3.2.2.1	Methodenentwicklung	49
3.2.2.1.1	Thermomixer	49
3.2.2.1.2	Vectaspin	50
3.2.2.1.3	Bohdan-Syntheseautomat	51
3.2.2.1.4	Mikrotiterplatten	52
3.2.2.1.5	Whatman UniPrep/MiniPrep	53
3.2.2.2	Verwendete Shake-Flask Methode	55
3.2.2.3	HPLC-Methoden	58
3.2.3	pSol-Methode (potentiometrische Titration)	60
3.2.3.1	Aufbau des Gerätes.....	60
3.2.3.2	Blank-Titration.....	61
3.2.3.3	Versuchsdurchführung.....	61
3.2.3.4	Messung unter Zugabe eines Kosolvenz	62
3.2.3.5	Auswertung der Messung	62
3.2.4	Messung des Verteilungskoeffizienten Oktanol/ Wasser.....	63
3.2.4.1	Verwendete Geräte.....	63
3.2.4.2	Verwendete Chemikalien.....	63
3.2.4.3	HPLC- Bedingungen.....	64
3.2.4.4	Messungen	65
3.2.4.5	Auswertung.....	65
3.2.5	Berechnung des logD-Werts	67

3.2.6	Fehlerbetrachtungen	68
4	ERGEBNISSE	70
4.1	Methodenvergleich - potentiometrische Titration versus Shake-Flask	70
4.1.1	Vergleich der Methoden nach Zeitaufwand	77
4.1.2	Vergleich der Methoden nach Substanzverbrauch	79
4.1.3	Vergleich nach Genauigkeit	80
4.1.4	Universalität der Methoden	80
4.1.5	Erstellung eines pH-Profiles	80
4.1.6	Verwendbare Untersuchungsmedien	82
4.1.7	Vorteile des pSol-Gerätes	83
4.1.8	Vorteile der Shake-Flask Methode	83
4.1.9	Zusammenfassung	84
4.2	Korrelation zwischen gemessenen und berechneten Löslichkeiten	85
4.3	Solubilisierender Effekt von Gallensalzen	89
4.3.1	Neutralsubstanzen	89
4.3.1.1	Danazol	89
4.3.1.2	Phenytoin	93
4.3.1.3	Felodipin	95
4.3.1.4	Beclometasondipropionat	97
4.3.1.5	Dexamethason	97
4.3.1.6	Betamethason	99
4.3.1.7	Griseofulvin	100
4.3.1.8	Testosteronpropionat	102
4.3.1.9	Dronabinol	102
4.3.2	Säuren	106
4.3.2.1	Glibenclamid	106
4.3.2.2	Mefenaminsäure	108
4.3.2.2	Niclosamid	111
4.3.2.4	Hydrocortison-Hemisuccinat	112
4.3.3	Ampholyt - Levothyroxin	113
4.3.4	Basen	114
4.3.4.1	Ketoconazol	114
4.3.4.2	Miconazolnitrat	118
4.3.4.3	Dipyridamol	120
4.3.4.4	Albendazol	122
4.3.4.5	Itraconazol	123
4.3.4.6	Amiodaronhydrochlorid	125

4.4	Gallensalzabhängiges Dosis-Löslichkeitsverhältnis	128
5	AUSWERTUNG	130
5.1	Löslichkeitsverhältnis Gallensalzmizelle-Wasser	130
5.1.1	Berechnung von logSR	130
5.1.1.1	Fehlerrechnung.....	131
5.1.2	Allgemeine Betrachtung der logSR-Werte.....	132
5.1.3	Das Löslichkeitsverhältnis für Neutralstoffe.....	134
5.1.3.1	Berechnung der Löslichkeit von Neutralstoffen in NaTC/Lezithin Mizellen.....	137
5.1.4	Das Löslichkeitsverhältnis für ionisierbare Verbindungen	139
5.1.4.1	Die Basen Dipyridamol, Ketoconazol und Miconazol.....	141
5.1.4.2	Die Säuren Glibenclamid, Mefenaminsäure und Niclosamid	143
5.1.4.3	Der Ampholyt: Levothyroxin.....	148
5.1.4.4	Zusammenfassung	149
6	ZUSAMMENFASSUNG	151
6.1	Löslichkeitsbestimmung mit der miniaturisierten Shake-Flask Methode ...	151
6.2	Löslichkeitssteigerung durch Gallensalze	152
6.3	Adaption des BCS für die Entwicklung	154
6.4	Relevanz für Drug-Design	154
	ANHANG	156
	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	171
	TABELLENVERZEICHNIS	174
	LITERATURVERZEICHNIS	178
	CURRICULUM VITAE	187

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AUC	area under the curve
BCS	Biopharmaceutics Classification System
Caco-2	cancerogene Colonzelle
CMC	kritische Mizellbildungskonzentration
IR	Immediate Release
Lez.	Lezithin
LogD	Verteilungskoeffizient Oktanol/Wasser für ionisierbare Substanzen
LogP	Verteilungskoeffizient Oktanol/Wasser
NaTC	Natriumtaurocholat
Smp	Schmelzpunkt
So	intrinsische Löslichkeit
SR	Solubility ratio
S _w	Löslichkeit im Wasser
THC	Tetrahydrocannabinol

1 EINLEITUNG

1.1 Einführung

Die Pharmaforschung hat sich seit Beginn der 90er Jahre grundlegend geändert. Um die Effektivität der Forschung zu steigern und die Zeit bis zur Markteinführung einer Entwicklungssubstanz zu verkürzen, traten neue Technologien wie die Kombinatorische Chemie in den Vordergrund. Mit dieser Methode sollten vor allem viele (>100 000) neue, möglichst diverse Verbindungen synthetisiert werden. Zur selben Zeit gelang es auch, das Testen von Verbindungen zu automatisieren (High-Throughput-Screening) und die Vielzahl der neuen Verbindungen zu testen. Der Erfolg dieser Technologien ist aber bisher zweifelhaft. Trotz der enorm gestiegenen Anzahl von chemischen Verbindungen ist die Zahl der auf dem Markt neu eingeführten Medikamente in den letzten zehn Jahren nicht gestiegen.

Ein Grund dafür kann die Auswahl der Substanzen sein, die sich im HTS-Pool befinden. Die dort enthaltenen Substanzen wurden aufgrund ihrer strukturellen Diversität ausgewählt und decken den gesamten chemischen Eigenschaftsraum ab.

Für Arzneistoffe ist dieser Eigenschaftsraum allerdings wesentlich eingeschränkter. Die Löslichkeit einer chemischen Verbindung kann, wie Abbildung 1-1 zeigt, innerhalb eines Bereichs von mindestens 15 Zehnerpotenzen liegen.

fg/ml			pg/ml			ng/ml			µg/ml		mg/ml			
1	10	100	1	10	100	1	10	100	1	10	100	1	10	100

Abbildung 1-1: Löslichkeitsbereich von chemischen Verbindungen

Soll aus einer chemischen Verbindung jedoch ein Arzneimittel werden, sind nur Substanzen mit einer Löslichkeit von mehr als 100 µg/ml als unproblematisch zu betrachten. In dem Bereich von 1 - 100 µg/ml ist meist eine besondere Formulierung des Arzneistoffes notwendig. Substanzen mit einer noch schlechteren Löslichkeit (< 1 µg/ml) sind als Wirkstoffe eher ungeeignet.

In jüngster Zeit wird daher vermehrt untersucht, welche Eigenschaften eine chemische Verbindung zu einer "drug-like"-Verbindung machen. Lipinski [1997] untersuchte die auf dem Markt vorkommenden Verbindungen und stellte die "Rule of five" auf.

Die Obergrenzen für einen Arzneistoff sind demnach:

- Molekulargewicht	< 500 Dalton
- Oktanol/H ₂ O-Koeffizient	< 5
- Anzahl der Wasserstoffbrückenbindungs-Akzeptoren	< 10
- Anzahl der Wasserstoffbrückenbindungs-Donatoren	< 5

Ein weiterer Grund für das Scheitern einer Substanz liegt an der Schwerpunktsetzung während ihrer Optimierung. Über das Drug-Design und das high-throughput in-vitro Screening wurde früher bei der Entwicklung von Substanzen ausschließlich die spezifische Bindung am Rezeptor oder am Enzym optimiert, ohne auf pharmakokinetische Aspekte zu achten [Curatolo, 1998]. Kennedy [1997] untersuchte den Grund für das Scheitern von 198 klinischen Kandidaten. Bei 40 Prozent der Kandidaten musste die Entwicklung aufgrund einer unzureichenden Pharmakokinetik gestoppt werden. Möglicherweise ist diese Zahl noch größer, da die fehlende Wirksamkeit (30 %) ebenfalls pharmakokinetischer Natur sein kann.

Die Optimierung auf die Bindung am Rezeptor hin, hat dazu geführt, dass die meisten Substanzen zu groß, zu lipophil und vor allem sehr schlecht löslich sind. Oft wird die schlechte Löslichkeit aber erst bei der Entwicklung einer oralen, festen Formulierung zum "unlöslichen" Problem, da selbst bei den ersten in-vivo Versuchen am Tier das Löslichkeitsproblem durch Verwendung organischer Lösungsmittel umgangen wird.

In der pharmazeutischen Entwicklung ist es jedoch meist nicht mehr denkbar, den Wirkstoff nochmals chemisch zu verändern. Der Versuch, die Substanz durch eine geeignete Formulierung zu retten, ist teuer, zeitaufwendig und führt nicht immer zum Erfolg. Wird die Entwicklung einer Substanz erst in diesem Stadium gestoppt, so wurde viel Entwicklungsarbeit und vor allem Kapital fehlinvestiert.

Die Löslichkeit einer Substanz sollte daher so früh wie möglich bekannt sein. Für die Evaluierung der Bindungstestergebnisse und die erste Hit-Evaluierung ist eine Berechnung der Löslichkeit ausreichend. Mit fortschreitender Entwicklung der Verbindungsklasse sollte die Löslichkeit jedoch experimentell ermittelt werden. Für die Ent-

wicklung einer peroralen Formulierung und die Beurteilung von klinischen Studien ist die Bestimmung der Löslichkeit unter simulierten gastrointestinalen Bedingungen angezeigt.

1.2 Löslichkeit

Die Löslichkeit ist das Vermögen oder die Tendenz einer Substanz, sich mit einer anderen gleichförmig zu vermischen (Hawley's Condensed Chemical Dictionary, 11th Ed.). Die Löslichkeit einer Substanz bei einer bestimmten Temperatur ist definiert als gesättigte Konzentration der gelösten Substanz.

1.2.1 Thermodynamische Betrachtung der Löslichkeit

Wenn ein Festkörper mit einem Lösungsmittel zusammengebracht wird, so löst er sich auf bis die Lösung gesättigt ist. Die Sättigung stellt einen Gleichgewichtszustand dar, bei dem das chemische Potential des Festkörpers gleich seinem chemischen Potential in der Lösung ist.

Die freie Mischungsenthalpie nach Gibbs (ΔG_{mix}) gibt an, ob und in welchem Ausmaß sich zwei Verbindungen mischen, um eine homogene Phase zu bilden. Wenn ΔG_{mix} negativ ist, tritt Mischung auf. Dabei ist die freie Mischungsenthalpie definiert als:

$$\Delta G_{\text{mix}} = \sum_i n_i \mu_i - \sum_i n_i \mu_i^{\text{reiner Zustand}}$$

mit:

ΔH_{mix} Mischungsenthalpie (ΔH_{mix}) der zu lösenden Substanz (u) und des Lösungsmittels (v) ist gleich der Differenz zwischen den Enthalpien der reinen Komponenten und der Enthalpie der Mischung ($\Delta H_{\text{mix}} = H_{\text{uu}} + H_{\text{vv}} - H_{\text{uv}}$),

T Temperatur in Grad Kelvin,

ΔS_{mix} Mischungsentropie.

1.2.1.1 Enthalpie

Die Enthalpie (ΔH) beschreibt meist die Energie, die zum Bilden oder Lösen von Bindungen notwendig ist. Bei der Bildung einer Bindung wird Energie freigesetzt, das System gewinnt an thermischer Energie und es wird eine negative Enthalpie gemessen. Für die Auflösung in Wasser ist die Mischungsenthalpie (ΔH_{mix}) des gelösten Stoffes (u) und des Lösungsmittels (v) die Differenz zwischen den Enthalpien der reinen Komponenten und der Enthalpie der Mischung.

$$\Delta H_{\text{mix}} = H_{\text{uu}} + H_{\text{vv}} - H_{\text{uv}}$$

Beim Auflösen eines Stoffes in Wasser finden folgende Interaktionen statt:

1. Beim Übergang eines festen, kristallinen Stoffes in die wässrige Lösung ist zunächst die Gitterenergie zu überwinden. Über den hypothetischen Zustand der unterkühlten Schmelze als quasi flüssigen Aggregatzustand geht der Stoff in Lösung.
2. Für hydrophobe Substanzen muss ein „Käfig“ in die Wasserstruktur geformt werden. Hierfür wird Energie benötigt.
3. Nachdem die Substanz in den Wasserkäfig eingelagert ist, kann sich das Wasser wieder restrukturieren. Die treibende Kraft (5 - 6 kcal/mol) ist die Maximierung der H-Brücken Wechselwirkungen der Wassermoleküle. Dabei wird Energie frei, jedoch nicht in der Größenordnung, wie sie bei der Zerstörung der Wasser-Cluster verloren ging.
4. Die Substanz im Käfig bildet Bindungen mit dem Lösungsmittel, z. B. Wasserstoffbrückenbindungen. Auch hierbei wird Energie frei.

Zur vollständigen Beschreibung der gegenseitigen Wechselwirkung unpolarer Moleküle im Wasser müssen weitere enthalpische Faktoren berücksichtigt werden, die dem Lösungsvorgang entgegenwirken:

5. Die Dispersionskräfte zwischen dem Kohlenwasserstoff und den Wassermolekülen an der Oberfläche sind aufgrund der geringen Polarisierbarkeit der O-Atome geringer als zwischen zwei assoziierten Kohlenwasserstoffen.

6. Die Wassermoleküle an der Oberfläche hydrophober Moleküle sind nicht durch vier H-Brücken komplett abgesättigt. Werden die Wassermoleküle durch Assoziation zweier unpolarer Moleküle freigesetzt, so können sie alle vier H-Brücken ausbilden (s. Abb. 1-2). Dieser Enthalpiegewinn (Kohäsionsenergie) ist besonders bei Wasser sehr groß.

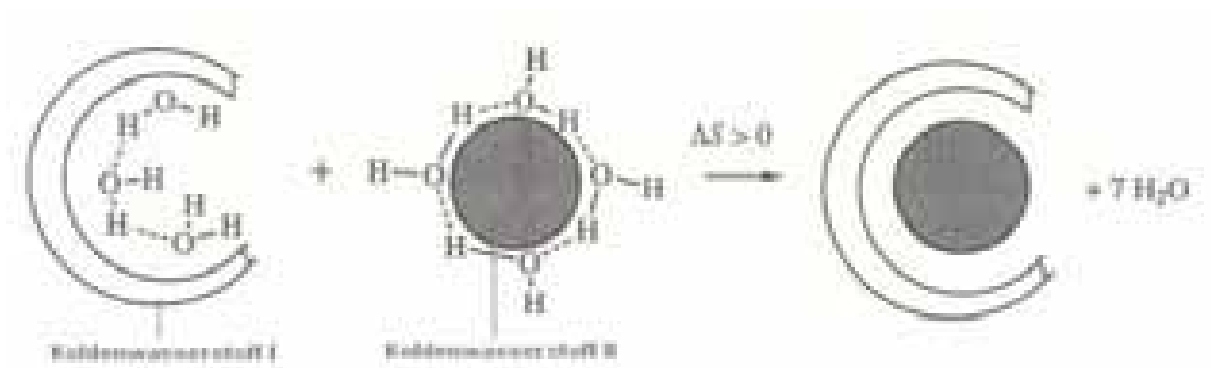


Abbildung 1-2: Entstehung der Kohäsionsenergie

1.2.1.2 Entropie

Die Entropie ist die treibende Kraft, die auf eine erhöhte Unordnung des Systems hinwirkt.

Bei der Auflösung eines Moleküls kommen folgende Entropien vor:

1. Die negative Entropie für das Öffnen eines Käfigs (erhöhte Ordnung). Besonders in Wasser müssen sich die H_2O -Moleküle stark um das hydrophobe Molekül herum anordnen.
2. Die negative Entropie, die sich bildet, wenn das Wasser um die Oberfläche der gelösten Substanz eine quasi-kristalline Struktur bildet (erhöhte Ordnung).
3. Die positive Entropie, die durch die Mischung (niedrige Ordnung) zweier reiner Substanzen (hohe Ordnung) entsteht.

In diesem System wird deutlich, dass die Punkte 1 und 2 einer Auflösung entgegenwirken, Punkt 3 dagegen auf eine Auflösung hinwirkt.

1.2.1.3 Temperatur

Eine Temperaturerhöhung hat folgende Effekte:

1. Die molekulare Bewegung erhöht sich und senkt so die Ausrichtung der Wasserstoffbrückenbindungen, das heißt, es ist weniger Energie notwendig, das Cluster des Wassers zu zerstören.
2. Die steigende Temperatur senkt die Mischungsentropie, da sie die Ordnung in der reinen Phase verringert.
3. Die Moleküle sind in der Lage, leichter aus dem Kristallgitter zu entweichen.
4. Durch eine erhöhte Temperatur erreicht das Produkt $T \div S$ (s. Seite 3) einen höheren Wert.

Mit steigender Temperatur steigt in der Regel die Löslichkeit des Wirkstoffes.

1.2.1.4 LogP

Der logP-Wert (partition coefficient) ist definiert als das Verhältnis der Konzentration einer Verbindung in einer nicht-mischbaren Phase, in der Regel in Oktanol, zur Konzentration der Verbindung in wässriger Phase.

Die oben beschriebene Solvationsenergie hängt direkt mit dem Verteilungskoeffizienten eines Stoffes zusammen [Ingendoh, 1998]. Für lipophile Verbindungen mit einem hohen logP-Wert bedarf es einer hohen Energie, um sie in Wasser zu lösen.

1.2.1.5 Schmelzpunkt

Die Löslichkeit eines Stoffes ist dann erreicht, wenn die bei der Solvatisierung (hier: Hydratisierung) freigesetzte Energie gerade die zur Gitterauflösung erforderliche Energie kompensiert. Daraus folgt, dass die Löslichkeit einer Substanz umso besser ist, je weniger Sublimationsenergie aufgewendet werden muss. Daher ist die kristalline Form mit dem niedrigsten Schmelzpunkt, (d. h. die Form mit der niedrigsten Sublimationsenergie) die mit der größten Löslichkeit.

Als Faustregel kann gelten, dass eine um 100°C höher schmelzende Verbindung eine um den Faktor 10 geringere Löslichkeit aufweist.

1.2.2 Polymorphismus

Die Fähigkeit einer Substanz mehrere unterschiedliche kristalline Formen zu bilden, nennt man Polymorphismus. Farbe, Härte, Schmelzpunkt und andere Eigenschaften einer Substanz hängen von der polymorphen Form ab. Da der Schmelzpunkt eines Feststoffes mit seiner Löslichkeit korreliert, zeigen Polymorphe oft unterschiedliche

Löslichkeiten. Sollte während eines Formulierungsprozesses die falsche, metastabile (z. B. thermodynamisch instabile) Form verwendet werden, die sich dann in die stabile Form umwandelt, so kann dies zu einer schlechteren Löslichkeit und Resorptionsquote führen.

1.2.3 pH-Wert

Die Veränderung des pH-Wertes einer Lösung ist eine der am häufigsten angewandten Methoden, schwache Elektrolyten in Lösung zu bringen. Schwache Säuren und Basen können durch eine Veränderung des pH-Wertes des wässrigen Mediums leicht gelöst werden. In der Regel ist die Löslichkeit einer sauren Substanz bei einem beliebigen pH-Wert durch ihren pK_a -Wert und die intrinsische Löslichkeit definiert.

Die Gesamtkonzentration einer schwachen Säure in einer Lösung (C_{tot}) setzt sich aus der Konzentration der undissoziierten Form (C_{HA}) und der Konzentration des dissoziierten Anions (C_{A^-}) zusammen:

$$C_{\text{tot}} = C_{\text{HA}} + C_{\text{A}^-}$$

Das Verhältnis zwischen der Konzentration der freien Säure und dem ionisierten Anion der Säure ist durch die Henderson-Hasselbalch Gleichung

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log(C_{\text{A}^-}/C_{\text{HA}})$$

gegeben. Wenn die Konzentration der freien Säure in der Lösung gesättigt ist, kann C_{HA} in der obigen Gleichung durch die intrinsische Löslichkeit S_{HA} ersetzt werden:

$$S_{\text{HA}} = C_{\text{HA}} / C_{\text{HA(s)}} = C_{\text{HA}}$$

Das Auflösen der Gleichung nach C_{A^-} ergibt:

$$C_{\text{A}^-} = S_{\text{HA}} \cdot 10^{(\text{pH} - \text{p}K_a)}$$

Durch Einsetzen in die oben genannte Gleichung berechnet sich die gesamte Löslichkeit wie folgt:

$$S_{\text{tot}} = S_{\text{HA}} \cdot (1 + 10^{(\text{pH} - \text{p}K_a)})$$

Aus dieser Gleichung leitet sich ab, dass die Konzentration der ionisierten Form, wenn der pH-Wert dem pK_a -Wert entspricht, gleich der Konzentration der freien Säure ist. Die Löslichkeit bei diesem pH-Wert ist somit genau doppelt so groß wie die intrinsische Löslichkeit.

Da sich die Löslichkeit von Säuren und Basen in Abhängigkeit vom pH-Wert spiegelbildlich verhalten, gilt diese Gesetzmäßigkeit ebenso für Basen:

$$S_{\text{tot}} \mid S_{\text{B}} / 12 \cdot 10^{/pK_{\text{a}4} - \text{pH}} \left(\right)$$

Ampholyte

Für einen zweifach protonierbaren Ampholyten gilt:

$$S \mid C_{\text{X}^+} + 2 C_{\text{HX}} + 2 C_{\text{HX}_2^+}$$

In dieser Gleichung stellt C_{HX} eine Konstante (intrinsische Löslichkeit) dar. Durch ähnliche Umformulierungen wie oben ergibt sich für die pH-abhängige Löslichkeit eines Ampholyten:

$$S \mid S_0 \cdot \left(1 + 10^{/pH - pK_{\text{a}2}} + 10^{/pK_{\text{a}1} - \text{pH}} \right)$$

1.2.4 Einflussnahme auf die Löslichkeit

Während der Entwicklung eines Medikaments kann die Löslichkeit sowohl durch die chemische Optimierung, als auch durch die Formulierung des Wirkstoffes verbessert werden. Das größte Potential, ein Arzneimittel mit geeigneten Eigenschaften zu entwickeln, besitzt der Synthese-Chemiker, der mit dem Wirkstoff die physiko-chemischen Eigenschaften wie Lipophilie, Schmelzpunkt, pK_{a} -Wert und eben auch die Löslichkeit festlegt. Seine Synthese entscheidet, in welchem Bereich die Löslichkeit des Wirkstoffes liegt, ob z. B. im Picogramm- oder im Grammbereich (s. Abb.1-1). Durch Faktoren wie die Rezeptoraffinität, die Stabilität und die Permeabilität sind die Möglichkeiten der Löslichkeitsoptimierung jedoch begrenzt. Die anschließende Formulierung des Wirkstoffes kann die Löslichkeit in der Regel höchstens noch um weitere zwei bis drei Zehnerpotenzen steigern.

Der Chemiker besitzt bei der Wirkstoffoptimierung verschiedene Möglichkeiten, die Löslichkeit der Verbindung zu erhöhen. Durch die Zerstörung der Molekülsymmetrie sinkt der Schmelzpunkt und infolgedessen erhöht sich die Löslichkeit. Das Einführen von Bindungen, um die das Molekül rotieren kann sowie die Vermeidung von Doppelbindungen oder das Öffnen von Ringstrukturen sind Maßnahmen, die ebenfalls zu einer besseren Löslichkeit führen können.

Eine hohe Lipophilie dagegen wirkt sich negativ auf die Löslichkeit aus. Durch die Entfernung oder Verringerung lipophiler Substituenten, bzw. die Einführung polarer Gruppen in die Leitstruktur wird die Löslichkeit gesteigert. Bei sehr lipophilen Neutralsubstanzen wird durch die Einführung einer sauren oder basischen Gruppe der

logP-Wert gesenkt. Ionisierbare Verbindungen können durch die Steigerung ihrer Säure- oder Basenstärke löslicher gemacht werden.

Ist die Löslichkeit der Säuren und Basen nicht ausreichend, kann eine Salzbildung bzw. deren Optimierung hilfreich sein.

Chemisch ist auch die Synthese eines Löslichkeits-Prodrugs möglich. Hierbei wird der Wirkstoff chemisch mit einer solubilisierenden Gruppe derivatisiert. Diese Gruppe muss jedoch so gewählt sein, dass sie im Körper wieder abgespalten wird und den unveränderten Wirkstoff freisetzt [Ingendoh, 1988].

Die pharmazeutische Einflussnahme auf die Löslichkeit des Wirkstoff ist auf die Veränderung seiner physikalischen Eigenschaften sowie des umgebenden Lösungsmediums begrenzt. Zu den galenischen Maßnahmen gehören:

- Reduzierung der Partikelgröße
 - o Mikronisation
 - o Nanosuspension
- Modifizierung der Kristalleigenschaft
 - o Polymorphe
 - o Solvatation
- Verwendung von Solubilisatoren
 - o Senkung der Oberflächenspannung
 - o Einbettung des Arzneistoffes in Mizellen
- Komplexbildung (z. B. mit Cyclodextrin)
- Wirkstoffdispersion in Carrier
 - o Gefriertrocknung
 - o Eutektisches Gemisch
 - o Feste Dispersion
 - o Feste Lösung
- Verwendung von Kosolvenzien (z. B. Ethanol)
- Veränderung des pH-Wertes in der Nähe des zu lösenden Wirkstoffes im GI-Trakt (z. B. Na_2CO_3 als Füllstoff).

Um zu beurteilen, ob eine Löslichkeitserhöhung erzielt werden sollte, muss erst die Löslichkeit der reinen Substanz bestimmt werden.

1.2.5 Berechnungsalgorithmen

Nach der Einführung des High-Throuput-Screenings sowie der Kombinatorischen Chemie ist die Zahl der sehr lipophilen und schwerlöslichen Verbindungen stark angestiegen. Die Berechnung der Wasserlöslichkeit zu einem frühen Zeitpunkt des Drug-Discovery-Prozesses ist daher ein sehr sinnvolles Werkzeug, um Kandidaten mit guten Wirkeigenschaften selektieren zu können, bzw. schlecht lösliche Verbindungen zu identifizieren, um ihre Löslichkeit in der Leadoptimierung zu verbessern. Zur Zeit sind einige Computerprogramme erhältlich, mit deren Hilfe die Löslichkeit von Verbindungen aus der chemischen Struktur berechnet werden kann. Die Genauigkeit der errechneten Werte reicht aus, um dem Synthese-Chemiker als Orientierung für seine weiteren Synthesepläne dienen zu können.

Unter der großen Vielzahl von Möglichkeiten, die Löslichkeit einer Substanz aus der Struktur zu berechnen, ist der Ansatz von Hansch et al. [1968] einer der bedeutendsten. Demnach gilt für viele organische Lipide die folgende Korrelation:

$$\log S = A \log K_{OW} + B$$

mit: $\log K_{OW}$ Oktanol/Wasser-Verteilungskoeffizient,
A und B Konstanten in Abhängigkeit von den betrachteten Lipiden.

Von dieser Gleichung ausgehend, kann nach Yalkowsky [1999] eine für alle Nicht-elektrolyte geltende Gleichung aufgestellt werden:

$$\log S = 0.8 - \log K_{OW} - 0.01 (Smp - 25)$$

mit: Smp = Schmelzpunkt, Smp = 25°C für Flüssigkeiten

Diese Gleichung vereint auf sehr einfache Weise die beiden physikalischen Größen, die für die Löslichkeit von entscheidender Bedeutung sind. Der Schmelzpunkt ist, wie oben erwähnt, das Maß für die Gitterenergie und der $\log K_{OW}$ -Wert ein Maß für die Solvationsenergie.

Mit Hilfe der Gleichung lässt sich der Einfluss des $\log P$ -Werts sowie des Schmelzpunkts zeigen. Besitzen zwei Substanzen einen ähnlichen Schmelzpunkt, unterscheiden sich jedoch in einer $\log P$ -Einheit, so ist die Substanz mit dem um eine Einheit niedrigeren $\log P$ -Wert um den Faktor zehn besser löslich. Bei gleichem $\log P$ -Wert ist die bei 100°C niedriger schmelzende Substanz um den Faktor 10 besser löslich.

Die im Folgenden aufgeführten Programme berechnen alle die Löslichkeit über die Lipophilie, einige verwenden den logP-Wert direkt, andere ermitteln die Lipophilie über die Wasserstoffbrückenbindungsstärke, die Polarisierbarkeit oder andere Oberflächencharakteristika.

1.2.5.1 Computerprogramme

1.2.5.1.1 WSKOWWIN

Die Firma Syracuse fügt in ihrem Programm WSKOWWIN zu der Yalkowsky Gleichung noch einige Korrekturfaktoren ($O f_i$) für die verschiedensten Gruppenfragmente hinzu [Meylan, 2000]. Die erforderlichen logP-Werte und Schmelzpunkte werden von dem Programm berechnet. Es können aber auch die experimentell bestimmten Werte verwendet werden.

1.2.5.1.2 ACD/Solubility DB

Der Algorithmus, der dem Berechnungsprogramm von Advanced Chemistry Development Inc. (ACD) zugrunde liegt, wurde ebenso von der Yalkowsky-Gleichung abgeleitet. ACD/Solubility DB bestimmt die wässrige Löslichkeit organischer Verbindungen bei 25°C. Für Säuren und Basen kann die Löslichkeit bei pH-Werten zwischen 0 und 14 bestimmt werden. Die Korrelationsparameter für einen Vergleich zwischen gemessenen und berechneten Löslichkeiten lagen bei $n = 993$, $sd = 0.58$ und $r^2 = 0.957$. Auch dieses Programm berechnet die Löslichkeit einer Verbindung allein aus ihrer Struktur.

1.2.5.1.3 Artificial Neural Network

Die Gruppe um Huuskonen [1998] versuchte die wässrige Löslichkeit mit einem neuronalen Netzwerk zu berechnen. Als Grundlage für das Modell wurden über 100 topologische Parameter verwendet. Für eine Testgruppe, die aus Arzneistoffen bestand, konnte die Löslichkeit mit einer Standardabweichung von 1.25 vorhergesagt werden. Für phosphorhaltige Pestizide sowie sehr schwer lösliche Verbindungen ($\log S < -5.5$) konnte das Programm weniger erfolgreich angewendet werden.

1.2.5.1.4 HYBOT

HYBOT ist ein Programm, das die Löslichkeit einer Verbindung aus der Stärke der Wasserstoffbrücken-Donatoren (HD) und -Akzeptoren (HA) sowie der Polarisierbarkeit berechnet [Faller, 2001].

Die Löslichkeit wird aus folgender halb-empirischen Gleichung berechnet:

$$\log(1/S_w) = 40.422 - 0.17 \cdot \text{Polarisierbarkeit} - 0.13 \cdot \text{HA} - 0.08 \cdot \text{HD}$$

1.2.5.1.5 ABSOLV (Sirius Analytical Instruments Ltd.)

Abraham benutzt für seinen Löslichkeitsalgorithmus ähnliche Eigenschaften wie das HYBOT-Programm.

$$\log S_w = 0.518 - 1.004 R_2 + 0.771 \phi_2^H + 2.168 \zeta_{O_2^H} + 4.238 \eta_{O_2^H} - 3.362 \zeta_{O_2^H} \eta_{O_2^H} - 3.99 V_X$$

mit

R_2 überschüssige molare Refraktion,

ϕ_2^H Polarisierbarkeit / Dipolarität,

$\zeta_{O_2^H}$ Acidität der Wasserstoffbrückenbindung,

$\eta_{O_2^H}$ Basizität der Wasserstoffbrückenbindung,

V_X McGowan Volumen,

Bei dieser Berechnung führt eine erhöhte Neigung zur Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen sowie eine gesteigerte Polarisierbarkeit zu einer verbesserten Löslichkeit. Die „überschüssige molare Refraktion“ und ein großes Volumen der Substanz wirken sich hingegen negativ auf die Löslichkeit aus [Abraham, 1999].

1.2.6 Methoden der Löslichkeitsmessung

1.2.6.1 Shake-Flask

Die Shake-Flask-Methode bestimmt die Löslichkeit bei einem pH-Wert unter Gleichgewichtsbedingungen. Hierbei wird die Probe zusammen mit dem Untersuchungsmedium in einen Kolben (flask) gegeben und geschüttelt (shake). Ziel ist die Herstellung einer gesättigten Lösung. Dies wird durch das Auftreten eines Niederschlags angezeigt. Besonders wichtig bei dieser Methode ist, dass sich ein Gleichgewicht einstellt. Danach wird die Probe filtriert und die Konzentration der gewonnenen Lösung quantifiziert. Es wird eine thermodynamische und - im Gegensatz zur Turbidimetrie - keine kinetische Löslichkeit bestimmt. Die Gefahr, die Löslichkeit einer übersättigten Lösung zu bestimmen ist gering. Außerdem wird die Löslichkeit von der stabilsten Form der untersuchten Substanz bestimmt. Dies ist ein Vorteil gegenüber den nachfolgenden Methoden. Hinzu kommt, dass durch die analytische Methode Verunreinigungen der Substanz entdeckt werden können, die zu einem falschen Ergebnis der Messung führen würden.

1.2.6.2 Potentiometrische Titration

Die potentiometrische Säure-Base-Titration zur Bestimmung der Löslichkeit einer Substanz beruht auf einer charakteristischen Verschiebung der Titrationskurve im mittleren pH-Bereich, in dem Präzipitation auftritt.

Bei der Titration wird ein exaktes Volumen einer standardisierten Säure oder Base zu einer Lösung gegeben, die eine ionisierbare Substanz enthält. Dabei wird kontinuierlich mit einer Glas-Elektrode der pH-Wert bestimmt. Um die Genauigkeit der Messung zu erhöhen, wird der Lösung 0.15 M KCl hinzugefügt. Durch Begasung der Lösungsoberfläche mit Argon werden pH-Effekte durch CO_2 aus der Luft verhindert.

Durch das anschließende Auftragen des pH-Wertes gegen den Verbrauch an Titrand wird eine potentiometrische Titrationskurve erhalten.

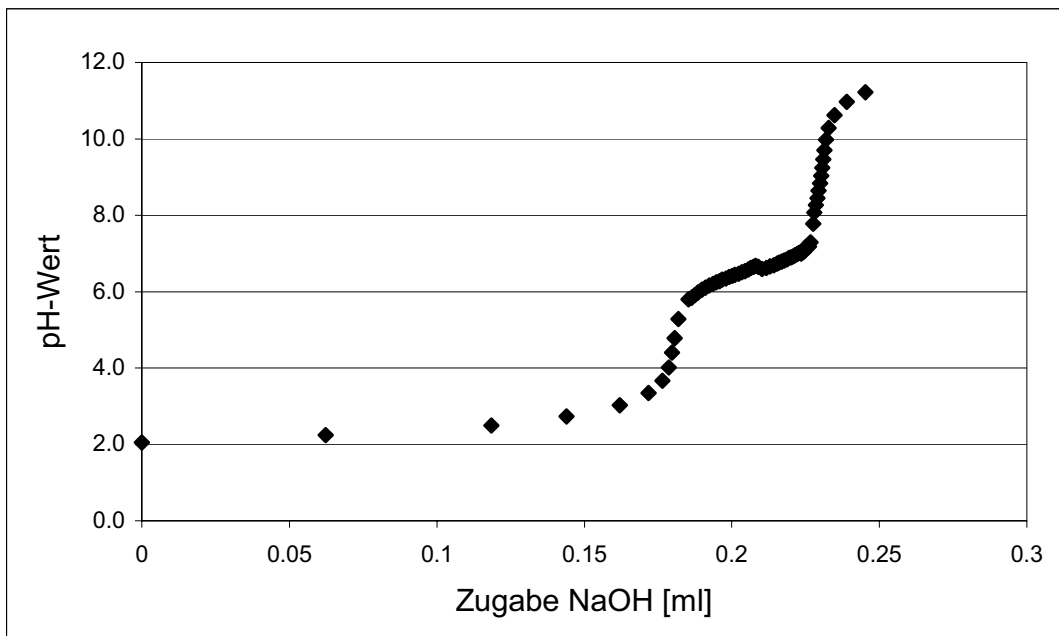


Abbildung 1-3: Potentiometrische Titrationskurve von Mefenaminsäure, gemessen mit dem pSol-Gerät bei 37°C

Analysiert man die Titrationskurve beginnend im basischen Milieu ($\text{pH} \gg \text{pK}_a$), so ist der Wirkstoff zunächst vollständig gelöst, da er ionisiert vorliegt. Im Bereich des pK_a -Werts ($\text{pH} = \text{pK}_a$) liegt die Substanz zu einem gewissen Teil bereits undissoziiert vor und beginnt auszufallen. Mit saurer werdendem pH-Wert schreitet auch die Präzipitation fort.

Die Bestimmung der Löslichkeit mit dieser Messmethode ist möglich, da die Präzipitation bewirkt, dass sich der pK_a -Wert bei Säuren zu einem scheinbar höheren pK_a^{app} -Wert verschiebt. Bei Basen ergeben sich kleinere pK_a^{app} -Werte. Die in

Abb.1-3 vermessene Mefenaminsäure besitzt einen pK_a -Wert von 4.6. In der oben dargestellten Titrationskurve liegt der pK_a -Wert am Wendepunkt mit der geringsten Steigung. Der scheinbare pK_a -Wert hingegen befindet sich in diesem Beispiel eher bei pK_a 7. Aus der großen Differenz zwischen dem pK_a -Wert und dem pK_a^{app} -Wert kann auf einen schwer löslichen Stoff geschlossen werden. Die Differenz hängt jedoch auch von der Menge der Untersuchungssubstanz ab.

Das Ausmaß der Verschiebung des pK_a -Wertes kann aus einer solchen Titrationskurve nur schwer ermittelt werden. Daher wird zur besseren graphischen Darstellung der Bjerrum-Plot herangezogen.

Beim Bjerrum-Plot (Differenzplot) wird die durchschnittliche Anzahl gebundener Protonen \bar{n}_H gegen den pH-Wert aufgetragen. Man erhält einen solchen Plot, indem die Titrationskurve, die keine Substanz enthält (Blanktitration) von der Titrationskurve der Substanzmessung subtrahiert wird. Die Anzahl der gebundenen Protonen kann jedoch auch berechnet werden. Die Gesamtzahl aller in Lösung befindlichen Protonen setzt sich aus den Protonen der zutitrierten Säure, bzw. Base und den Protonen der Mess-Substanz zusammen. Eine sehr genaue Einwaage ist daher von großer Bedeutung. Außerdem muss die Anzahl (n) der protonierbaren Gruppen im Molekül bekannt sein.

Über den pH-Wert kann die tatsächliche Konzentration an freien Protonen bestimmt werden. Die Differenz aus der Gesamtzahl aller Protonen und den tatsächlich frei vorliegenden Protonen ist gleich der Anzahl an gebundenen Protonen. Wird letztere durch die Konzentration des Wirkstoffes dividiert, so erhält man die durchschnittliche Anzahl gebundener Protonen pro Molekül Substanz.

$$\bar{n}_H = ([HCl] - [NaOH] + nC - [H^+] + K_w/[H^+])/C$$

mit: K_w = Ionenprodukt des Wassers.

Abbildung 1-4 zeigt den Bjerrum-Plot für die zuvor dargestellte Titrationskurve von Mefenaminsäure. Bei einer durchschnittlichen Anzahl gebundener Protonen von $\bar{n}_H = 0.5$, dem pK_a -Wert der Substanz, liegt die Hälfte aller Protonen am Molekül gebunden vor. Nun ist die Differenz der pK_a -Werte graphisch leichter zu ermitteln und eine Berechnung der intrinsischen Löslichkeit möglich.

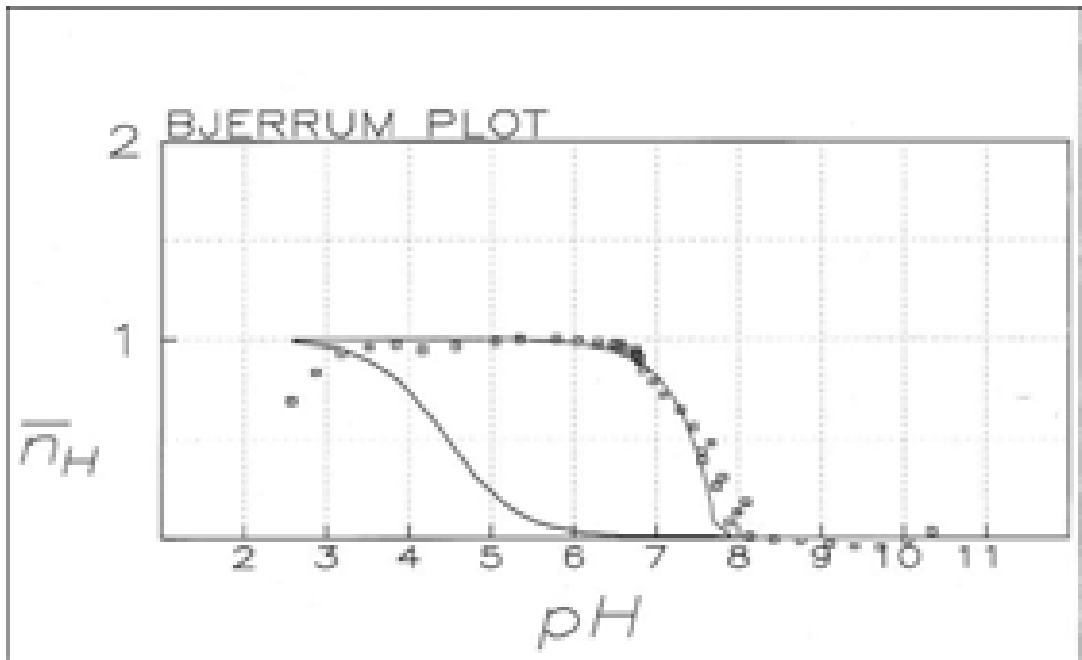


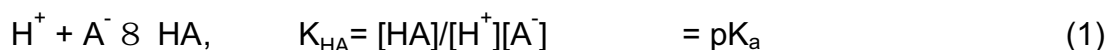
Abbildung 1-4: Bjerrum-Plot von Mefenaminsäure, gemessen mit dem pSol-Gerät bei 37°C

Die linke Kurve des Plots wird von der Software des pSol-Geräts aus dem bekannten pK_a -Wert der Verbindung berechnet. Sie entspricht einer Titration bei der die undissoziierte Säure zu jedem Zeitpunkt der Messung in gelöster Form vorliegen würde. Die rechte Kurve wurde rechnerisch aus den Messpunkten gemittelt. Sie wird fortlaufend durch eine gewichtete mathematische Methode der kleinsten Fehlerquadrate präzisiert.

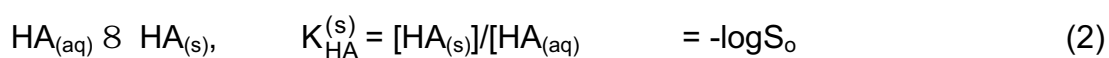
Ermittlung der Löslichkeit

Die für die Bestimmung der Löslichkeit notwendigen Gleichungen sollen im Folgenden für eine Säure erläutert werden. Für Basen und Ampholyte gelten entsprechende Gleichungen.

Für eine Säure gilt:



Zusätzlich bildet sich ein Gleichgewicht zwischen der gelösten, freien Säure und der präzipitierten Säure:



mit S_0 Löslichkeit der ungeladenen Substanz.

Für den Wert $\bar{n}_H = 0.5$, auf den bereits in Abbildung 1-4 eingegangen wurde, gilt folgendes Gleichgewicht:

$$[A^-] = [HA] + [HA]_s \quad (3)$$

Hier wird der Term $[HA]_s$ neu eingeführt. Dieser Wert entspricht nicht der Konzentration an präzipitierter Säure $[HA_{(s)}]$ aus Gleichung (2), die eine Gleichgewichtskonzentration darstellt, sondern $[HA]_s$ stellt die Konzentration an Substanz dar, die pro Liter als Präzipitat vorliegen kann.

Für den scheinbaren pK_a^{app} -Wert gilt:

$$pK_a^{app} = ([HA] + [HA]_s) / ([A^-] [H^+]) = K_{HA} (1 + ([HA]_s / [HA])) \quad (4)$$

Die Gesamtmenge an Substanz ist gegeben durch:

$$C = [A^-] + [HA] + [HA]_s \quad (5)$$

Durch mathematische Verknüpfung der Gleichungen (3) und (5) wird der Term $[HA]_s$ in der Gleichung (4) eliminiert. Die intrinsische Löslichkeit kann abschließend mit folgender Gleichung berechnet werden:

$$\log S_0 \mid \log C / 204 \mid pK_a^{app} - 4 pK_a \mid$$

C Konzentration der Probe,

S_0 Löslichkeit des ungeladenen Wirkstoffes,

pK_a gemessener pK_a -Wert des Wirkstoffes ohne Präzipitation,

pK_a^{app} gemessener pK_a -Wert des Wirkstoffes mit Präzipitation.

Mit der bekannten intrinsischen Löslichkeit und den durch die Titration bekannten Ionen-Konzentrationen, kann über weitere Gleichungen ein Löslichkeits-pH-Profil erstellt werden. Zusätzliche Details verdeutlicht die Literatur von Avdeef [1998; 2000; 2001].

1.2.6.3 Turbidimetrie

Bei dieser Methode wird ein in DMSO gelöster Wirkstoff in Intervallen von je einer Minute in eine pH 7 gepufferte Lösung gegeben. Nach der Detektion einer Trübung mittels Lichtstreuung werden noch einige Teilmengen der Lösung hinzugefügt. Anschließend kann das verbrauchte Volumen graphisch gegen die Trübung aufgetragen werden. Die Löslichkeit ergibt sich dadurch, dass zu dem Punkt zurückextrapoliert wird, an dem die Präzipitation begann. Mit dieser Methode können 50 bis 300 Proben pro Tag vermessen werden. Die Verwendung von DMSO erhöht jedoch die

Löslichkeit bis zu einem unbekanntem Ausmaß [Avdeef, 2002]. Ursache dafür ist, dass sich in der DMSO-Verdünnung leicht eine übersättigte Lösung bildet.

Die Messungen beruhen darauf, dass die Substanz ausfällt, wenn das thermodynamische Gleichgewicht zwischen gelöster und ungelöster Substanz überschritten wird. Fällt die Substanz aber aufgrund einer übersättigten Lösung verzögert aus, wird nicht die gewünschte thermodynamische Löslichkeit gemessen, sondern eine "falsche" kinetische Löslichkeit. In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, dass nicht erkennbar ist, in welcher Form eine Substanz ausfällt. Die am schnellsten ausfallende Kristallform muss nicht die stabilste sein und unterschiedliche Kristallformen können sich deutlich in ihrer Löslichkeit unterscheiden. Eine Verschiebung des pH-Wertes während der Messung oder Verunreinigungen der Substanz werden bei dieser Methode nicht erkannt und können zu falschen Werten führen.

Für Faller und Wohnsland [2001] besitzt die turbidimetrische Methode noch zwei weitere Nachteile. Zum einen kann die Löslichkeit nur in dem Bereich von $(\log 1/S_w) = 3 - 6$ [M] genau bestimmt werden. Daher ist es häufig nur möglich, den Löslichkeitsbereich abzuschätzen. Zum anderen wird die Löslichkeit in einigen Fällen überschätzt, besonders bei klebrig-öiligen Verbindungen, für die eine optische Detektion schwierig ist. Tabelle 1-1 fasst die Vor- und Nachteile der drei Methoden zusammen.

Methoden	Vorteile	Nachteile
pSOL	<ul style="list-style-type: none"> • pH-abhängiges Löslichkeitsprofil • geringer Substanzverbrauch • gute Ergebnisse 	<ul style="list-style-type: none"> • geringer Durchsatz (50 Subst./Jahr) • keine Automatisierung • keine Neutralsubstanzen
Shake-Flask/HPLC	<ul style="list-style-type: none"> • sehr gute Ergebnisse • ähnelt den Freisetzungsprofilen • gleichzeitige Reinheitsprüfung • variables Medium 	<ul style="list-style-type: none"> • komplizierte Automatisierung • Durchsatz 400-500 Subst./Jahr • Pufferkapazität/pH-Stabilität
Turbidimetrie	<ul style="list-style-type: none"> • hoher Durchsatz (96er Platten) • Automatisierung 	<ul style="list-style-type: none"> • ölige Substanzen? • Amorphe Substanzen? • Polymorphismus ? • Hydrate ? • übersättigte DMSO-Lösung? • Reinheit? • Detektion? • schlechte Korrelation mit Shake-Flask

Tabelle 1-1: Tabellarischer Vergleich der Löslichkeitsbestimmungsmethoden

1.3 Arzneistoff-Resorption unter physiologischen Bedingungen

Für pharmazeutische Wirkstoffe wird am häufigsten die feste, orale Applikation verwendet. Ursache dafür ist, dass diese Applikationsform aufgrund ihrer einfachen und angenehmen Anwendung die größte Compliance beim Patienten findet. Hierdurch wird auch seitens der Pharmaindustrie eine Abgabeform als Tablette oder Kapsel bevorzugt. Ansonsten ist das Risiko viel zu groß, dass die Konkurrenz durch die Entwicklung einer oralen Form zum Marktführer wird. Hinzu kommt die einfachere und meist preiswertere Produktion dieser Darreichungsformen.

Mit welcher Geschwindigkeit und in welchem Ausmaß der Arzneistoff seinen Wirkort erreicht, hängt von seinen physikalisch-chemischen Eigenschaften, der pharmazeutischen Formulierung und von den physiologischen Bedingungen im Gastrointestinal-Trakt ab. Durch die Darmwand kann nur die Menge an Wirkstoff aufgenommen werden, die dort gelöst vorliegt.

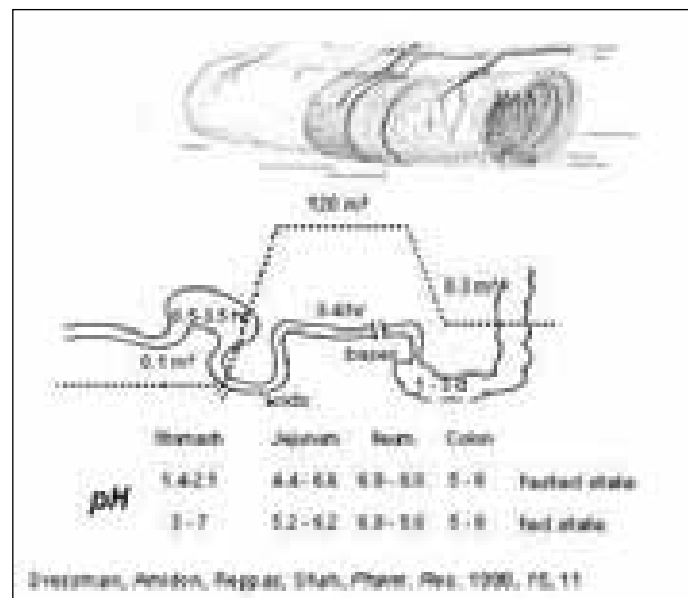


Abbildung 1-5: Physiologie des GI-Traktes

Nach dem die Tablette geschluckt wurde, gelangt sie durch den Ösophagus in den Magen.

1.3.1 Magen

Die Tablette wird im Magen mit Salzsäure (zur Denaturierung), und gegebenenfalls Pepsin (zur Proteinverdauung) und Lipasen (zur Fettverdauung) versetzt. Der pH-Wert im gesunden, nüchternen Magen beträgt in der Regel pH 1 bis pH 2. Ein basischer Wirkstoff wird bei diesem pH-Wert protoniert und liegt dann gut löslich als ionisiertes Molekül vor. Saure Arzneistoffe dagegen lösen sich nur bis zu ihrer intrinsischen Löslichkeit (Löslichkeit im undissoziierten Zustand) auf.

Das Milieu des Magens kann bei säureinstabilen Verbindungen zur Hydrolyse oder anderen Formen der Zersetzung führen und so die resorbierbare Dosis verringern. Galenisch kann diesem Problem jedoch mit magensaftresistenten Überzügen begegnet werden. Auch schlechtlösliche Säuren, die im sauren Milieu ausfallen würden, können so unbeschädigt durch den Magen transportiert werden.

Alternativ hierzu werden diese Wirkstoffe mit der Nahrung verabreicht, da diese den pH-Wert vorübergehend auf einen Wert zwischen pH 5 und pH 6 erhöht.

Eine große Bedeutung für die Bioverfügbarkeit eines Arzneistoffes kann die Verweilzeit des Medikaments im Magen haben. Die gesamte Wirkstoffmenge, die später am Wirkort verfügbar ist, wird durch die Verweilzeit meist nicht beeinflusst. Anders sieht es jedoch mit der zeitlichen Verfügbarkeit aus. Die Geschwindigkeit der Magenentleerung hängt besonders von dessen Füllungszustand ab, da der nüchterne und der mit Nahrungsbrei gefüllte Magen ein unterschiedliches Entleerungsverhalten aufweisen. Nüchtern tritt eine als Interdigestive Migrating Motor Complex (IMMC) bezeichnete Abfolge von elektrisch stimulierten Muskelkontraktionen auf, die sich in Richtung Dünndarm ausbreiten. Die Dauer der einzelnen Phasen variiert individuell, wobei eine mittlere Gesamtdauer des IMMC von zwei Stunden angenommen wird [Minami, 1984]. Während der ungefähr 30 bis 45 Minuten dauernden Phase 1 ist der Magen weitgehend in Ruhe. Im Laufe der Phase 2 (ungefähr 30 min) kommt es in unregelmäßigen Abständen zu Kontraktionen, während in der nur 5 bis 15 Minuten andauernden Phase 3 heftige motorische Aktivitäten auftreten. Diese werden auch "housekeeper waves" genannt, da durch die Kontraktionen unverdauliche größere Objekte aus dem Magen entleert werden. Anschließend klingt in einer als Phase 4 bezeichneten Übergangsphase die Aktivität wieder ab.

Nicht zerfallende Arzneiformen zählen zu der Kategorie der für den Magen unverdaulichen großen Objekte. Demzufolge werden diese nach nüchterner Einnahme während der Phasen 2 und 3 des IMMC entleert. Allgemein kann man davon ausge-

hen, dass nicht zerfallende Arzneiformen nach nüchterner Einnahme innerhalb eines Zykluses (also innerhalb von ungefähr zwei Stunden) entleert werden. Da die aktuelle Phase des IMMC zum Zeitpunkt der Einnahme nicht bekannt ist, sind Vorhersagen über den Zeitpunkt der Magenentleerung nicht möglich.

Bei Tabletten, die im nüchternen Zustand mit einem Getränk aufgenommen werden, sind die Unterschiede in der Verweilzeit nicht so ausgeprägt. Dies liegt daran, dass Flüssigkeiten den nüchternen Magen entsprechend einer Kinetik erster Ordnung mit einer Halbwertszeit von ungefähr 10 bis 20 Minuten verlassen. Doch auch hier wird durch hyper- oder hypotonische, pH-acide, kalorienhaltige und viskose Getränke die Verweilzeit im Magen verzögert. Zu kalte Getränke werden im Magen erst auf Körpertemperatur gebracht.

Damit eine feste Arzneiform schnell und zuverlässig in den Dünndarm gelangt, ist ein Glas mit 200 – 250 ml stillem Wasser am besten geeignet. Die Tablette sollte auf diese Weise eingenommen innerhalb von 5 bis 20 Minuten durch den Magen in den Darm gelangen.

Nach Nahrungsaufnahme ändert sich die Motorik des Magens grundlegend. Neben unregelmäßigen Kontraktionen treten jetzt wiederkehrend drei vom Korpus ausgehende, sich distal fortleitende Kontraktionen pro Minute auf. Der Mageninhalt wird dadurch in Richtung des Pylorus transportiert. Zusätzlich wird er im Bereich des Antrums zerkleinert und klassiert ("Antrummühle"), wobei nur ausreichend zerkleinerte Bestandteile über den Pylorus in den Dünndarm entleert werden [Weitschies, 2001]. Bei fester Nahrung wird die Verweilzeit der Tablette vor allem durch die Partikelgröße, das Volumen und den Kohlenhydrate-, Eiweiss- bzw. Fettgehalt der Nahrung bestimmt.

Aus der verlängerten Magenverweilzeit im fed-state ergibt sich für Substanzen, die im oberen Dünndarmbereich schnell freigesetzt werden und leicht permeabel sind, eine verzögerte und verringerte Maximalkonzentration (t_{\max} und C_{\max}) im Plasma. Wirkstoffe mit schlechter Permeabilität oder schlechter Freisetzung werden durch die verlängerte Verweilzeit im Magen weniger beeinflusst.

1.3.2 Dünndarm

Die Resorption des Wirkstoffes findet vor allem im Dünndarm statt. Daher ist es unbedingt notwendig, dass der Wirkstoff an dieser Stelle in ausreichender Konzentration gelöst vorliegt. Die Konzentration wird von den im Folgenden beschriebenen Parametern beeinflusst.

1.3.2.1 Freisetzung

Eine besonders große Bedeutung kommt der Freisetzung des Wirkstoffes aus der Arzneiform zu, da nur der freigegebene Anteil des Wirkstoffs gelöst und resorbiert werden kann. Das Ausmaß der Freisetzung (DR = Dissolution Rate) wird durch die folgende Gleichung beschrieben:

$$DR = \frac{dX}{dt} = \frac{A \cdot D}{h} \left(C_s - \frac{X_d}{V} \right)$$

mit:

- A Oberfläche des Wirkstoffes,
- D Diffusionskoeffizient des Wirkstoffes,
- h Dicke der Diffusionsschicht,
- C_s Sättigungskonzentration des Wirkstoffes unter GI-Bedingungen,
- V Volumen, in dem der Wirkstoff gelöst wird,
- X_d Menge Wirkstoff, die schon gelöst vorliegt.

Aus der Gleichung ergeben sich folgende Sachverhalte:

- A Oft besteht nur die Möglichkeit, über eine Mikronisierung der Partikelgröße und die damit verbundene Vergrößerung der Oberfläche (A ↑) die Freisetzung zu erhöhen.
- D, h Der Diffusionskoeffizient und die Schichtdicke können nicht beeinflusst werden. Letztere hängt vor allem von der Bewegung des Darms ab, d. h. von der Intensität der Durchmischung und der Darmmotilität.
- C_s Eine gut lösliche Substanz (nach BCS, s. Kap. 1.5) hat bei entsprechender Formulierung keine Freisetzungsprobleme (hoher C_s-Wert). Ist die Substanz jedoch schlecht löslich ist die Freisetzungsrage meist begrenzt.
Die Löslichkeit (C_s) im Darmmilieu ist sehr stark von den physiologischen Bedingungen abhängig. Der pH-Wert, die solubilisierenden Gallenkomponenten, die Pufferkapazität des Mediums und die Zusammensetzung der Nahrung haben einen großen Einfluss auf die Löslichkeit.
Der pH-Wert im Dünndarm steigt von pH 5 im Duodenum auf pH 7 – 7.5 im Ileum. Das bedeutet, dass im vorderen Bereich des Dünndarms besonders Basen in der protonierten Form vorliegen und daher an diesem Ort eine erhöhte Löslichkeit aufweisen. Bei Säuren, die im Magen noch völlig undissoziiert vorliegen, erhöht sich die Löslichkeit in den hinteren Dünndarmbereichen.

Der pH-Wert des Dünndarms ist nur in geringem Ausmaß von der Nahrungsaufnahme abhängig, sodass pH-abhängige Löslichkeitseffekte nur in wenigen Fällen zu erwarten sind.

Zusätzlich können pharmazeutische Hilfsstoffe eingesetzt werden, die durch eine erhöhte Benetzung des Wirkstoffes oder durch Einschluss des Wirkstoffes in Mizellen, die Löslichkeit steigern. Den Wirkstoff nicht in einer kristallinen, sondern einer amorphen Form zu verarbeiten, kann ebenfalls zu einer erhöhten Löslichkeit führen.

C_s, V Durch die Nahrung wird jedoch sowohl das Volumen im Dünndarm als auch die Gallensalzkonzentration deutlich erhöht. Letztere führt zu einer verbesserten Löslichkeit und durch ein größeres Volumen besteht die Möglichkeit, mehr Substanz in Lösung zu bringen.

X_d Da die Auflösung des Wirkstoffes diffusionsgesteuert ist, hängt sie von der Wirkstoffkonzentration der Umgebung ab. Demzufolge erreicht man bei schwerlöslichen Substanzen eine bessere Freisetzung, wenn der gelöste Stoff zügig von der Darmwand resorbiert wird. Hieraus ergibt sich, dass die Permeabilität indirekt auch die Freisetzung eines Arzneistoffes beeinflusst.

Ein einfaches Hilfsmittel, um mögliche Freisetzungsprobleme abzuschätzen, ist das

$$\text{Dosis-Löslichkeitsverhältnis: } D/S \mid \frac{\text{Dosis } \Psi \text{mg}}{\text{wässrige Löslichkeit } \Psi \text{mg/ml}}$$

Es zeigt an, ob die Bedingungen im Gastrointestinal-Trakt für die Freisetzung des Arzneistoffes geeignet sind. Als Ergebnis der Gleichung wird das Volumen (ml) angegeben, das benötigt wird, um die gesamte Dosis des Arzneistoffs zu lösen. Ist mehr Volumen notwendig, als im GI-Trakt vorhanden, so muss eine unvollständige Freisetzung und demzufolge auch eine unvollständige Absorption erwartet werden [Dressman, 2000]. Abschließend soll noch angemerkt werden, dass für die Freisetzung und das Auflösen des Wirkstoffes nur eine begrenzte Zeit zur Verfügung steht. Die Transitzeit durch den Magen und Dünndarm beträgt im nüchternen Zustand im Durchschnitt nur drei bis fünf Stunden [Dressman, 1998].

1.3.2.2 Wirkstoffaufnahme

Die effektive Permeabilität wird indirekt über den Massentransport mit CaCo-2-Zellen oder der Perfusionsmethode gemessen. Das Fick'sche Gesetz lässt sich zu folgender Gleichung zusammenfassen:

$$J_m = P_m (C_m) \frac{dM}{dt} \frac{1}{A}$$

mit:

- J_m Massentransport durch die Darmwand,
- P_m effektive Permeabilität,
- C_m Konzentration des Wirkstoffes an der Membran,
- A Oberfläche.

Die entscheidenden Kenngrößen für die Resorption eines Arzneimittels sind demnach die Permeabilität der Darmwand und die Konzentration des gelösten Stoffes.

Für die anschließende passive Diffusion durch die Darmwand gilt das Fick'sche Gesetz:

$$J_m = D_m \left(\frac{dC_m}{dx} \right) = D_m (C_m(0) - C_m(h)) \frac{1}{h}$$

mit:

- J_m Massentransport durch die Darmwand,
- h Dicke der Diffusionsschicht,
- C Konzentration des Wirkstoffes auf der apikalen Seite (0) und auf der basolateralen Seite (h),
- D_m Diffusionskoeffizient der Membran.

$$D_m = \frac{RT}{6\phi\xi r N_A}$$

mit

- R Gaskonstante,
- T Temperatur,
- ξ Viskosität,
- r Molekülradius,
- N_A Avogadrokonstante.

Wie aus der Gleichung entnommen werden kann, ist das Konzentrationsgefälle die treibende Kraft der Resorption. Aus dem Diffusionskoeffizienten wird zudem deutlich, dass die Resorption für große Moleküle erschwert ist.

Neben der passiven transzellulären Diffusion (2) hat der gelöste Arzneistoff noch weitere Möglichkeiten durch die Darmwand zu gelangen. Besonders kleine Moleküle, mit einem Molekulargewicht von weniger als 250 g/mol gelangen zwischen den Zellen parazellulär (1) durch die Darmwand. Manche Moleküle werden aktiv über Carrier (4) auf die basolaterale Seite befördert. Denkbar ist auch der Einschluss in Membranvesikel (3, Endocytose).

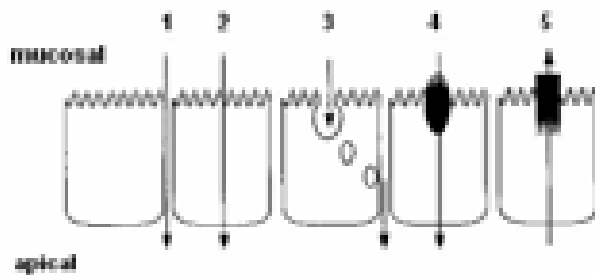


Abbildung 1-6: Resorptionsmechanismen eines Arzneistoffes durch die Darmwand

Die Substanz kann jedoch über P-Glykoproteine (P-gp) direkt wieder aus der Darmwand ins Darmlumen zurücktransportiert werden (5). Im Gegensatz zu den meisten anderen Transportproteinen in der apikalen Membran transportiert das P-Glykoprotein sowohl strukturell als auch funktionell verwandte Verbindungen aus der Zelle. In der apikalen Membran von Caco-2 Zellen sind P-gps überexprimiert, was zu einem übermäßigen Efflux von großen lipophilen Substanzen führt. Analog zu dem Efflux durch die P-gps im GI-Trakt, ist die Aufnahme auch durch Multi-drug resistance related (mdr)-Proteine in den Tumor verhindert.

Um die effektive Permeabilität zu errechnen, muss von der Arzneistoffmenge, die über die oben beschriebenen Wege in die Darmwand gelangt ist, die Wirkstoffmenge abgezogen werden, die von Proteinen wieder ins Darmlumen zurücktransportiert wird. Durch den First-pass-Effekt kann die Wirkstoffmenge, die dem Körper zur Verfügung steht nochmals reduziert werden.

1.4 Einfluss der Gallenkomponenten auf die Resorption

Die Gallensalze und ihre physiologischen Funktionen werden hier gesondert behandelt, da sie für die vorliegende Arbeit eine besondere Bedeutung haben.

1.4.1 Gallensalze

Für die Verdauung und Resorption von Nahrungsfetten im Magen-Darm-Trakt benötigt der Körper die Gallensalze. Sie gehören zur Gruppe der Steroide und werden in der Leber aus Cholesterol gebildet. Ausgehend von der Cholsäure leiten sich durch Abspaltung der Hydroxylgruppen an den C-Atomen 7 und 12 sowie durch Konjugation mit Glycin, bzw. Taurin zwölf verschiedene Gallensäurederivate ab. Die wichtigsten beim Menschen vorkommenden Gallensäuren sind die Cholsäure, die Chenodesoxycholsäure, die Desoxycholsäure und die Lithocholsäure. Die Säuren treten in der Gallenflüssigkeit meist in Form ihrer wasserlöslichen Natriumsalze auf.

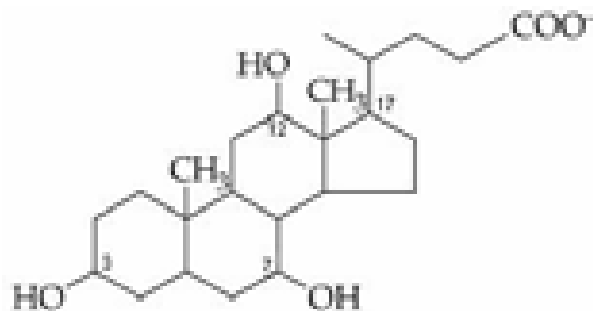


Abbildung 1-7: Strukturformel von Cholsäure

Die physiologische Aufgabe der Gallensäuren bei der Verdauung von Lipiden ist vor allem auf ihre Tensideigenschaften zurückzuführen. Die Gallensäuren sorgen für die Emulgierung der Fette, das heißt für die Bildung kleiner Fetttröpfchen im wässrigen Nahrungsbrei und erhöhen so die Angriffsfläche der fettspaltenden Enzyme. Demnach werden Gallensalze vor allem nach der Nahrungsaufnahme benötigt, was sich in einem deutlichen Anstieg ihrer Konzentration widerspiegelt. Im nüchternen Zustand liegt eine durchschnittliche Gallensalzkonzentration von circa 3 bis 4 mmol vor. Diese Werte weisen jedoch große individuelle Schwankungen auf. Werte zwischen 0 und 6 mmol sind die Regel, aber auch bis zu 15 mmol Gallensalz konnten gefunden werden [Tangermann, 1986; Peeters, 1980]. Nach der Nahrungsaufnahme gibt die Gallenblase vermehrt Gallensäure frei. Maximalwerte von bis zu 30 mmol Gallensalz

kommen vor, die durchschnittliche Menge liegt jedoch bei 15 mmol.

Nachdem die Gallensäuren ihre physiologische Funktion erfüllt haben, werden bis zu 90 % im Dünndarm zurückresorbiert und gelangen über den Blutweg in die Leber und schließlich wieder in die Gallenblase (enterohepatischer Kreislauf). Die Gesamtmenge an Gallensalzen, die im Körper pro Tag zirkuliert, liegt zwischen 15 und 30 g [Borgström, 1985].

Gallensäuren reichern sich aufgrund ihrer amphiphilen Eigenschaft an den Grenzflächen, bzw. an der Oberfläche von Flüssigkeiten an. Dadurch sind sie in der Lage, das Cluster des Wassers aufzubrechen, die Grenz- bzw. Oberflächenspannung zu reduzieren und somit zu einem deutlichen Energiegewinn in der Lösung beizutragen (s. Kapitel 1.2.1.1). Die Zerstörung des Wasserclusters führt durch die kleinen Wassermoleküle zu einer besseren Benetzung der zu lösenden Substanz. Die Löslichkeit der Substanz wird erleichtert und beschleunigt. Schon die Konzentration an Gallensalz, die im nüchternen Zustand vorliegt, reicht aus, den Benetzungswinkel deutlich zu senken und die Auflösungs geschwindigkeit zu erhöhen [Bakatselou, 1991].

Gallensäure bilden in einer Konzentration oberhalb der kritischen Mizellbildungskonzentration (CMC) kugelhähnliche Mizellen aus. Die Mizellen, die von Gallensalzen gebildet werden, unterscheiden sich von den Mizellen anderer anionischer Tenside vor allem durch ihre geringe Größe und die hohe CMC. Im Unterschied zu diesen Solubilisatoren bestehen Gallensalze nicht aus einer hydrophilen, polaren Kopfgruppe und einem flexiblen, lipophilen Alkylrest. Gallensalze besitzen ein starres und unpolares Steroidgerüst. Die Oberseite dieses Gerüsts ist mit lipophilen Alkylgruppen ausgestattet, an der Unterseite befinden sich die hydrophilen Hydroxylgruppen. Die kurze Seitenkette weist zusätzlich einen hydrophilen Charakter auf.

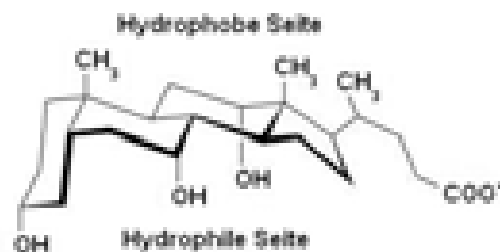


Abbildung 1-8: Räumliche Struktur von Cholsäure

Gallensalze bilden sehr kleine Mizellen, wobei deren Aggregationszahl von der Anzahl der sich gegenseitig abstoßenden Hydroxylgruppen im Molekül abhängt. Demzufolge bilden Trihydroxygallensäuren Mizellen mit einer Aggregationszahl von 2 - 8, Dihydroxygallensäuren hingegen mit einer Aggregationszahl von 4 - 60. Die Gallensalze besitzen aufgrund ihrer hohen Polarität eine hohe CMC. Diese steigt mit zunehmender Anzahl an Hydroxylgruppen sowie mit Taurin- bzw. Glycin-Konjugation. Je löslicher ein Gallensalz ist, desto höher ist die CMC.

Gallensalz	CMC [mM/L]	Aggregationszahl
Natriumcholat	20	3.1
Natriumdesoxycholat	13	5.8
Natriumtaurocholat	18	2.6
Natriumtaurodeoxycholat	17	5.4

Tabelle 1-2: Kritische Mizellkonzentration und Aggregationszahl einiger Gallensalze, nach Coello et al. (1996)

Mit sinkendem pH-Wert, abnehmender Temperatur sowie steigender Ionenstärke der Lösung, nimmt die Aggregationszahl der Mizelle zu.

1.4.2 Lezithin

Neben den Gallensalzen enthält die Gallenflüssigkeit bis zu 3 % Lezithin. In welcher Konzentration dieses in den Dünndarm abgegeben wird, hängt von der Menge des abgegebenen Gallensalzes ab. Das Gallensalz/Lezithin-Verhältnis schwankt zwischen 2.5:1 und 5:1 [Schersten, 1973]. Das in dieser Arbeit verwendete Verhältnis von 4:1 gibt die physiologischen Bedingungen am Besten wieder.

Die lezithinhaltige Mischmizelle unterscheidet sich von der reinen Gallensalzmizelle durch eine niedrigere kritische Mizellbildungskonzentration ($CMC < 1 \text{ mM}$) und einen deutlich gesteigerten Mizellendurchmesser. Dieser beträgt bei 15 mmol NaTC 40 Å und in einer Mischmizelle, die Lezithin und Danazol enthielt 2275 Å [Naylor, 1995]. Auch die Löslichkeitskapazität der gemischten Mizelle ist gegenüber der Kapazität der einfachen Gallensalzmizelle deutlich erhöht.

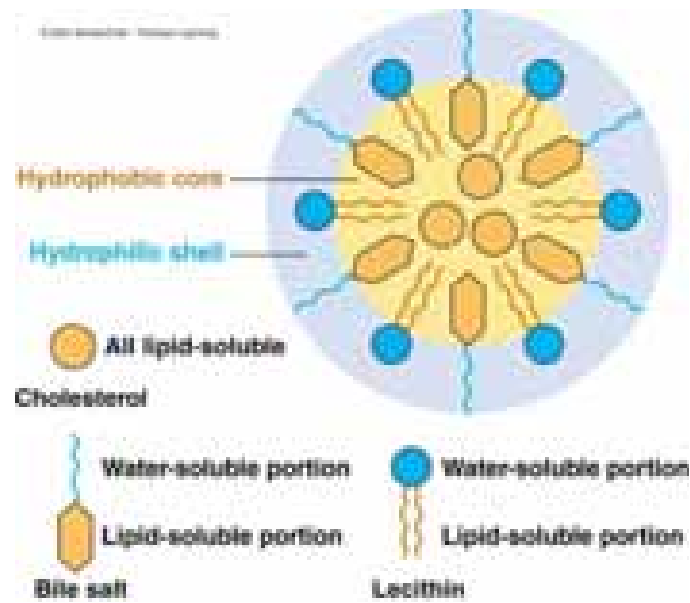


Abbildung 1-9: Schematische Abbildung einer Mischmizelle

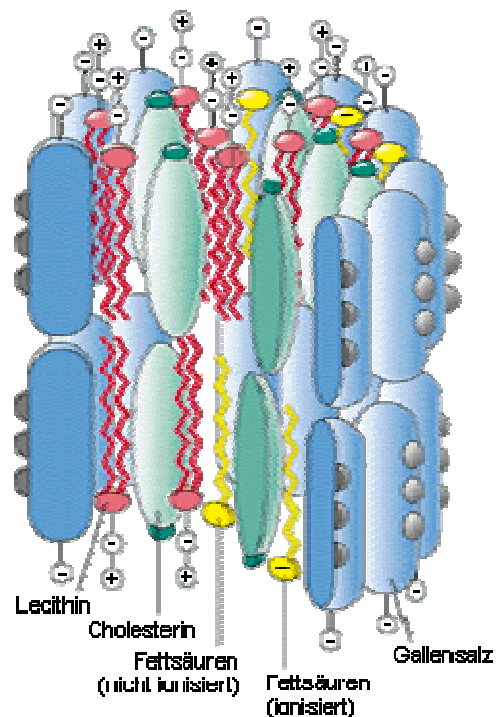


Abbildung 1-10: Lipid-Mizelle: Struktur einer gemischten Mizelle

Die hydrophilen Gruppen der Moleküle sind nach außen gerichtet; die hydrophoben Molekülbereiche befinden sich im Innern der Mizelle [Schmidt, 1985].

1.4.3 Verbesserte Resorption

Besonders wichtig ist bei Gallensäuren ihre Funktion als Solubilisator. Die Bildung von Mizellen und der Einschluss lipophiler Verbindungen erhöht die Löslichkeit und die Lösungsgeschwindigkeit von schwerlöslichen Verbindungen deutlich.

Bakatselou [1996] konnte für sechs Corticoide eine Beziehung zwischen dem logP-Wert, der Wasserlöslichkeit und der Löslichkeit in Natriumtaurocholat aufstellen:

$$\log SR = 0.61 \log P + 2.217$$

SR Löslichkeitsverhältnis. Dies ist der Quotient aus den Löslichkeitskapazitäten der Untersuchungssubstanz pro mol Gallensalz und pro Mol Wasser.

LogP Verteilungskoeffizient Oktanol/Wasser.

Je lipophiler die untersuchte Substanz ist, desto größer ist das Löslichkeitsverhältnis. Dies wiederum besagt für Wirkstoffe mit einem hohem logP-Wert, dass die Löslichkeit einer Substanz im Gallensalz gegenüber der Wasserlöslichkeit deutlich erhöht ist. Nur für diese lipophilen Wirkstoffe macht es aus physiologischer Sicht überhaupt Sinn, in die Mizelle zu penetrieren. Aufgrund ihrer geringen Wasserlöslichkeit würden sie am Resorptionsort nicht in ausreichend hoher Wirkstoffkonzentration vorliegen. In der Mizelle gelöst, kann jedoch deutlich mehr Wirkstoff zur Darmwand transportiert werden.

Für lipophile Substanzen der BCS-Klassifizierung II, d. h. schwerlösliche, gut permeable Arzneistoffe, kann daher erwartet werden, dass sie durch die erhöhte Gallensalzkonzentration in Folge der Nahrungsaufnahme besser löslich sind und ihre Resorption in den Körper dadurch erhöht ist. Dies konnte für die Substanzen Itraconazol [logP = 6.08, Barone, 1993; Feola, 1997; Van-Peer, 1989], Chloroquin [logP = 4.63, Tulpule, 1982], Halofantrin [Humberstone, 1996], Gemfibrozil [logP = 4.48, Luner, 1994], Gluthetimid [logP = 1.90, Bates, 1966], Griseofulvin [logP = 2.47, Bates, 1966] und Danazol [logP = 4.53, Bakatselou, 1991] nachgewiesen werden. Valium[®] MM (Diazepam), Konakion[®] MM (Phytomenadion) und Cernevit[®] (Multivitamin) werden deshalb sogar als Lösung verabreicht, in der als Solubilisatoren Glykocholsäure und Lecithin verarbeitet wurden [Rote Liste, 2003].

Hydrocortison, das unter dem Einfluss von Gallensalzen eine kaum verbesserte Löslichkeit zeigt, löst sich jedoch mit zunehmender Gallensalzkonzentration aufgrund erhöhter Benetzbarkeit schneller auf [Naylor, 1993]. Für Substanzen mit einem engen Resorptionsfenster, kann die erhöhte Auflösungs geschwindigkeit zu einer ver-

besserten Resorption führen.

1.4.4 Verschlechterte Resorption

Für einige Substanzen wie z. B. Bropirimin [$\log P=1.63$; Emori, 1995], Cefadroxil [$\log P= -0.008$ Carmona-Ibanez, 1999], und Chinin [$\log P=4.65$ Fritzsich, 2000) wird bei Anwesenheit von Gallensalzen eine verminderte Resorption beobachtet.

Bei Cefadroxil ist bekannt, dass es sowohl passiv resorbiert wird, als auch über einen Carrier-vermittelten Transport durch die Darmwand gelangt. Um den Einfluss von Gallensalzen auf die Resorption von Cefadroxil zu untersuchen, führte Carmona-Ibanez in-situ Versuche am Rattendünndarm durch. Bei einer Cefadroxil-Konzentration, die weit unter der für eine Sättigung des Carriers notwendigen Konzentration liegt, konnte eine verminderte Resorption beobachtet werden. Das Gallensalz ist bei einer solchen Konzentration ein nichtkompetitiver Hemmer des aktiven Transports von Cefadroxil. In-vivo hat Taurocholat auf die Resorption des Wirkstoffes keinen Einfluss.

Für Bropirimin wurde bei der Ratte beobachtet, dass in einem in-situ Modell die Resorption des Wirkstoffes mit zunehmender Natriumglycocholat-Konzentration abnahm. Emori erklärt diesen Effekt damit, dass durch den Einschluss des Wirkstoffes in die Mizelle, thermodynamische Aktivität von Bropirimin verloren geht. Der Wirkstoff, so Emori, hätte durch die Mizelle eine zweite Diffusionsschicht zu überwinden. Fraglich ist allerdings, ob der Wirkstoff erneut aus der Mizelle heraus diffundieren muss, um resorbiert zu werden.

Die Resorption von Chinin unter Zugabe von Gallensalzen wurde von Fritzsich mit zwei verschiedenen Methoden untersucht. Zum einen verwendete er das Lipid-Membran-Modell von Neubert/Fürst und zum anderen benutzte er Caco-2 Zellen. Die zuletzt genannte Methode erwies sich als ungeeignet. Allein die Anwesenheit von Gallensalzen führt zu einer Zerstörung des Monolayers. Die Abnahme der Permeabilität von Chinin, die mit dem Lipid-Membran-Modell beobachtet wurde, könnte an den in-vitro Bedingungen liegen.

In-vivo wird bei Chinin in einer erhöhten Wirkstoffkonzentration jedoch nicht die Permeabilität (z. B. durch Gallensalze) eingeschränkt, sondern der Metabolismus sowie der Efflux (durch P-Glykoproteine) des Wirkstoffs erhöht. Chinin ist bei Konzentrationen von weniger als 1 mM ein verhältnismäßig selektiver Inhibitor für 2D6 und 3A4. Bei höheren Konzentrationen inhibiert der Wirkstoff zusätzliche CYP450 Enzyme [FDA, 1997].

Zusammenfassend ist zu sagen, dass ähnlich dieser beiden Fallbeispiele die Behauptung einer reduzierten Resorption mittels Gallensalze oft schlecht begründet und in-vivo nicht nachweisbar ist.

1.5 Biopharmaceutics Classification System

Nach der oralen Gabe eines Medikamentes laufen folgende Prozesse ab. Zuerst muss die Tablette den Wirkstoff freigegeben (Dissolution) und sich der Arzneistoff im Magen-Darm-Saft lösen. Nur die gelöste Substanz kann die Darmwand erreichen, in den Körper penetrieren und über das Blut zum Wirkort gelangen. Löslichkeit und Permeabilität sind demnach Substanzeigenschaften, die für die Bioverfügbarkeit einer Substanz von großer Bedeutung sind. Wie schnell eine Substanz dem Körper zur Verfügung steht, wird durch die Freisetzung des Wirkstoffes aus der Tablette und die Löslichkeit der Substanz bestimmt. Die Menge an gelöstem Stoff, die dann tatsächlich ins Blut gelangt, wird durch die Permeabilität bestimmt.

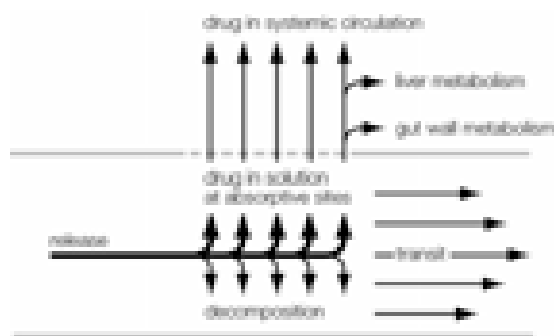


Abbildung 1-11: „Schicksal“ des Arzneistoffes im Dünndarm

Die FDA hat unter Berücksichtigung dieser Substanzeigenschaften das "Biopharmaceutics Classification System" (BCS) als Richtlinie für Bioverfügbarkeit-/Bioäquivalenz-Studien vorgeschlagen. Die Arzneistoffe werden ihrer Löslichkeit, bzw. Permeabilität entsprechend in vier Gruppen eingeteilt:

BCS-Klasse	Löslichkeit	Permeabilität
I	hoch	hoch
II	niedrig	hoch
III	hoch	niedrig
IV	niedrig	niedrig

Die Löslichkeit einer Substanz ist als "hoch" zu bewerten, wenn sich der Arzneistoff in seiner Höchstdosierung über den gesamten gastrointestinalen pH-Bereich

(pH 1 – 8) in 250 ml Flüssigkeit auflösen lässt.

Eine hohe Permeabilität eines Arzneistoffes liegt vor, wenn das Ausmaß an Absorption mehr als 90 Prozent beträgt [FDA Guidance]. Im Idealfall wird die absolute Bioverfügbarkeit aus Pharmakokinetik-Studien errechnet. Stehen solche Daten nicht zur Verfügung, wird die Permeabilität in-vitro mit CaCo-2 Zellen (Adenocarcinom-Zellen) oder in vivo mit einem Perfusionsmodell [Lennernäs, 1998] bestimmt.

Die Einteilung von Substanzen in die vier BCS-Klassen dient als Hilfsmittel, um für Immediate Release (IR)-Arzneiformen aus in-vivo Messungen von Wirkstoffen, eine geeignete in-vitro Dissolution-Spezifikation zu entwickeln. Des Weiteren gibt die Einteilung Auskunft über die zu erwartende Absorption nach oraler Applikation.

Substanzen, die der ersten Klasse des BCS-Systems angehören, lösen sich schnell auf und werden sehr gut resorbiert. Zeitlich wird die Resorption vor allem von der Magenentleerung bestimmt. Bei diesen Klasse-I-Substanzen kann die Zulassungsbehörde auf teure Bioverfügbarkeits- und Bioäquivalenzstudien verzichten. Ansonsten reicht es bei dieser Klasse aus, durch die Bestimmung eines einzelnen Messpunktes die Bioäquivalenz zu bestätigen. Bei einer IR-Arzneiform müssen nach 30 Minuten 85 Prozent des Wirkstoffes freigesetzt sein [Lipka, 1999].

Bei Klasse-II-Substanzen sind die niedrige Löslichkeit bzw. eine langsame Freisetzungsgeschwindigkeit die resorptionslimitierenden Eigenschaften. Hat sich der Wirkstoff erst gelöst, wird er aufgrund der guten Permeabilität schnell resorbiert. Bei dieser BCS-Klasse sind physiologische Parameter, wie der pH-Wert des Gastrointestinaltraktes und die solubilisierende Wirkung der Gallensalze von großer Bedeutung. Technologisch kann bei dieser Klasse versucht werden, z. B. durch eine Verkleinerung der Partikelgröße, eine Erhöhung der Benetzbarkeit oder durch Lyophilisierung, Einfluss auf die schlechte Löslichkeit zu nehmen. Darüber hinaus kann eine in-vivo/in-vitro Korrelation für diese Arzneistoffe für den Fall erwartet werden, wenn die in-vitro Dissolutionstests der in-vivo Freisetzung entsprechen. Dabei sollte das Untersuchungsmedium dem Volumen, der Elektrolytkonzentration, dem pH-Wert und der Gallensalzkonzentration des Magen-Darm-Milieus entsprechen.

Die Klasse-III-Substanzen besitzen eine hohe Löslichkeit, aber eine niedrige Resorption. Ihre schlechte Bioverfügbarkeit ist durch die Arzneiform nicht zu beeinflussen. Substanzen der BCS-Klasse IV besitzen sowohl eine schlechte Wasserlöslichkeit, als auch eine schlechte Permeabilität.

Für die Substanzen der beiden letzten Klassen ist es nur schwer bzw. gar nicht mög-

lich, mit Dissolutiontests die in-vivo Resorption zu simulieren, da nicht die Freisetzung, sondern die Permeabilität ihre Resorption bestimmt bzw. mitbestimmt.

2 ZIELSETZUNG

Die Löslichkeit eines Arzneistoffes ist für dessen Resorption nach peroraler Anwendung eine der wichtigsten Eigenschaften. Nur eine Substanz, die am Resorptionsort gelöst vorliegt, kann durch die Darmwand penetrieren und in den systemischen Kreislauf gelangen. Ist die Löslichkeit des Wirkstoffes zu gering, können in der zur Verfügung stehenden Zeit nur kleine Mengen in das Blut gelangen. Besonders bei einem schwerlöslichen Arzneistoff sollte daher bekannt sein, ob er im Darm in einer ausreichend hohen Konzentration gelöst vorliegt. Dabei reicht es nicht aus, die wässrige Löslichkeit zu kennen, da die Löslichkeit eines schwer-wasserlöslichen Arzneistoffes im Körper sehr oft durch den pH-Wert und die Gallensalzkonzentration im Dünndarm beeinflusst wird.

Die Entwicklung eines Arzneistoffes ist mit viel mehr Zeit und Aufwand verbunden, wenn der Arzneistoff schlecht löslich ist. Viele Probleme in der Entwicklung würden aber überhaupt nicht auftreten, wenn in der präklinischen Pharmaforschung Löslichkeitsprobleme frühzeitig erkannt und chemisch optimiert würden. Hierfür ist eine Löslichkeitsbestimmungsmethode erforderlich, die mit Substanzmengen < 5 mg auskommt.

Zunächst musste daher eine Methode entwickelt werden, mit der die Löslichkeiten mit kleinsten Substanzmengen bestimmt werden konnten. Anforderungen an diese Methode waren ein hoher Durchsatz, eine hohe Reproduzierbarkeit der Werte und eine einfache Handhabung. Außerdem sollten die Messwerte mit denen aus der traditionellen Shake-Flask Methode übereinstimmen. Die Verwendung unterschiedlicher Medien musste problemlos möglich sein.

Zwei Methoden zur Löslichkeitsbestimmung wurden untersucht:

- a) Die potentiometrische Löslichkeitsbestimmung mit dem pSOL der Firma Sirius war kurz vor Beginn der Arbeit neu auf dem Markt eingeführt worden. Die Vorteile dieses Gerätes sollten in einem sehr niedrigen Substanzverbrauch und der Aufnahme von pH-abhängigen Löslichkeitsprofilen liegen.
- b) Die klassische Shake-Flask Methode sollte miniaturisiert und an die zuvor beschriebenen Anforderungen angepasst werden.

Des Weiteren sollte in der vorliegenden Arbeit der löslichkeitsteigernde Effekt von Gallensalzen auf schwerlösliche Arzneistoffe unter Variation des pH-Wertes untersucht werden. Dafür wurde die Löslichkeit von Säuren, Basen und Neutralstoffen bei

unterschiedlichen Natriumtaurocholat-Konzentrationen und bei verschiedenen pH-Werten gemessen. Zum Vergleich wurden die Löslichkeiten in einem Gemisch aus Natriumtaurocholat und Lezithin im Verhältnis 4:1 bestimmt.

Durch die Bestimmung der Löslichkeit bei 3.75 mmol NaTC/Lez (präprandialer Zustand) und bei 15 mmol NaTC/Lez. (postprandialer Zustand) lässt sich der Einfluss der Nahrungsaufnahme auf die Löslichkeit grob abschätzen.

Abschließendes Ziel der Arbeit war die Entwicklung eines Algorithmus zur Berechnung der Löslichkeit in NaTC/Lez.-Mizellen. Dieser kann zur Abschätzung von "food effects" verwendet werden. Die Löslichkeit unter simulierten intestinalen Bedingungen zu kennen, kann bei der Entscheidung helfen, ob ein schwer wasserlöslicher Stoff weiterentwickelt werden soll oder nicht.

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Materialien

3.1.1 Untersuchungssubstanzen

3.1.1.1 Substanzauswahl

Die wichtigste chemische Eigenschaft für die Auswahl der Untersuchungssubstanzen war ihre sehr geringe Löslichkeit im wässrigen Milieu. Des Weiteren sollten die Substanzen lipophil sein und einen Verteilungskoeffizient Oktanol/ Wasser > 2 haben. Außerdem war es erforderlich, dass die Substanzen einen hohen Schmelzpunkt besitzen. Hintergrund für diese Substanzanforderungen ist die Yalkowsky-Gleichung $-\log S_w = -0.01 \cdot (MP - 25) - \log P + 0.8$.

Diese Gleichung für die Berechnung von Löslichkeiten zeigt, dass ein hoher Schmelzpunkt und ein hoher $\log P$ -Wert meist Indikatoren für eine geringe Löslichkeit sind (s. Kap. 1.2.5).

Die nach den oben genannten Kriterien getroffene Vorauswahl an Wirkstoffen wurde durch das Molekulargewicht weiter eingeeengt. Um die Daten zum Aufbau von Resorptionsmodellen verwenden zu können, wurden nur Substanzen ausgewählt, bei denen die Resorption durch passive, transzelluläre Diffusion erfolgt. Wirkstoffe mit einem Molekulargewicht von weniger als 250 g/mol nutzen neben der passiven, transzellulären Diffusion auch die parazelluläre Resorption, um durch die Darmwand zu gelangen. Bei Substanzen mit einem Molekulargewicht von mehr als 750 g/mol muss hingegen mit einer erschwerten Diffusion gerechnet werden, da die Molekülgröße den Diffusionskoeffizient erheblich beeinflusst (s. Kap. 1.3.2.2). Es wurden daher Wirkstoffe gewählt, die mit ihrem Molekulargewicht im Bereich zwischen 250 und 750 g/mol liegen.

Um die pH-Abhängigkeit der Löslichkeit unter Einfluss von Gallenkomponenten zu untersuchen, wurden aus den möglichen Untersuchungssubstanzen neben Neutralstoffen auch Säuren, Basen und - mit Levothyroxin - ein Ampholyt gewählt. Säuren und Basen sollten möglichst nicht identische pK_a -Werte aufweisen.

3.1.1.2 Physikochemische Eigenschaften

Aus einer Datenbank der Firma Merck mit den physikochemischen Eigenschaften der auf dem Markt befindlichen Wirkstoffe, wurden die folgenden schwerlöslichen Substanzen ausgewählt [Daten aus dem Merck Index, Beilstein, Hansch, 1990 u. 1995].

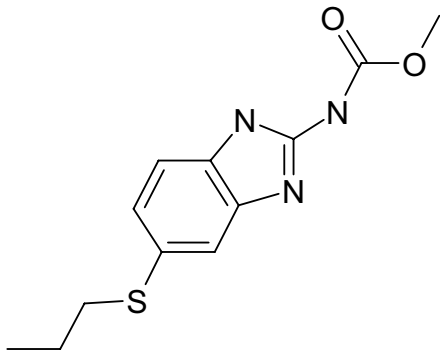
Wirkstoff	logP	MW [g/mol]	Schmelzpunkt [°C]	ac pK _{a1}	ac pK _{a2}	bas pK _{b1}	bas pK _{b2}
Albendazol	3.04	265.3	210	11.83		3.30	
Amiodaronhydrochlorid	7.19	681.8	163			8.73	
Beclomethason-dipropionat	4.10	521.1	212				
Betamethason	1.72	392.5	234				
Betamethason-17-valerat	3.60	476.6	184				
Danazol	4.53	337.5	226				
Dexamethason	1.89	392.5	262				
Dipyridamol	3.90	504.6	162			6.21	
Dronabinol	6.97	314.5	25	10.60			
Felodipin	4.26	384.3	145				
Glibenclamid	4.73	494.0	173	4.99			
Griseofulvin	2.47	352.8	221				
Hydrocortison	1.61	362.5	220				
Hydrocortison-21-Hemisuccinat	2.35	484.5	171	4.54			
Itraconazol	5.66	705.7	166			4.00	
Ketoconazol	4.02	531.4	146			6.51	2.94
Ketotifenfumarat	3.69	425.5	192			8.62	
Levothyroxin	7.23	776.9	236	2.12	6.83	8.41	
Mefenaminsäure	4.58	241.3	230	4.46			
Miconazolnitrat	5.15	416.1	183			6.17	
Niclosamid	4.67	327.2	204	5.77			
Phenytoin (freie Säure)	2.47	252.3	296	8.41			
Testosteronpropionat	3.72	344.5	120				
Trifluoperazindihydrochlorid	5.03	480.4	243			8.10	3.90

Tabelle 3-1: Physikalisch-chemische Eigenschaften der Untersuchungssubstanzen

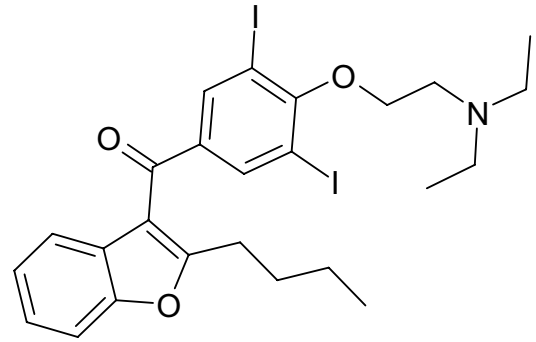
3.1.1.3 Verwendete Chargen

Wirkstoff	Charge	Firma
Albendazol	Lot 80H0751	Sigma
Amiodaron-HCl	Lot 87H0597	Sigma
Beclomethason-dipropionat	Lot 58H0439	Sigma
Betamethason	Lot 66H1145	Sigma
Betamethason-17-valerat	Lot 93H0330	Sigma
Danazol USP 23	L-262400	BMP GmbH, Hamburg
Dexamethason	Lot 119H1328	Sigma
Dipyridamol	Lot 79H1380	Sigma
Dronabinol	Ch-B.: 110401	THC Pharma
Felodipin micronised 24-01	Lot 41688-01	Astra Haessle AB, Moelndal
Glibenclamid	Lot 119H1330	Sigma
Griseofulvin	Lot 50209015	Aldich
Hydrocortison-21-Hemisuccinat	Lot 37H5011	Sigma
Itraconazol	Lot 10153176	Janssen Pharmaceutica
Ketoconazol	Lot P1446i	Biomol
Ketotifen-fumarat	Lot 38H0374	Sigma
Levothyroxin	Lot 70K18445	Sigma
Mefenaminsäure	Lot 29H0444	Sigma
Miconazolnitrat	3961C	ICN
Niclosamid	Lot 36H1239	Sigma
Phenytoin (freie Säure)	Lot 05731-059	Aldich
Testosteronpropionat	Lot 77H0387	Sigma
Trifluoperazin-2HCl	Lot 36H0807	Sigma

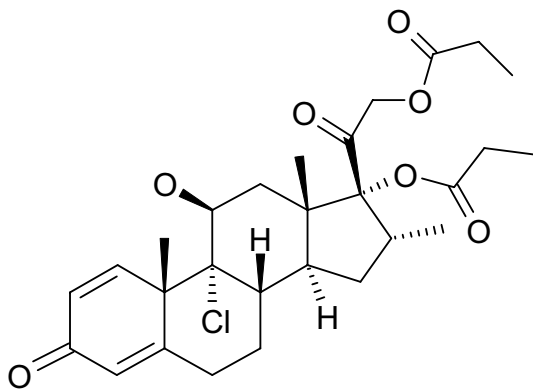
Tabelle 3-2: Verwendete Chargen der Wirkstoffe

3.1.1.4 Struktur der Untersuchungssubstanzen

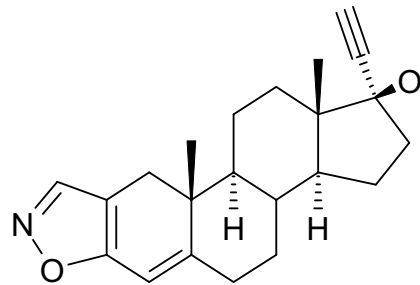
Albendazol



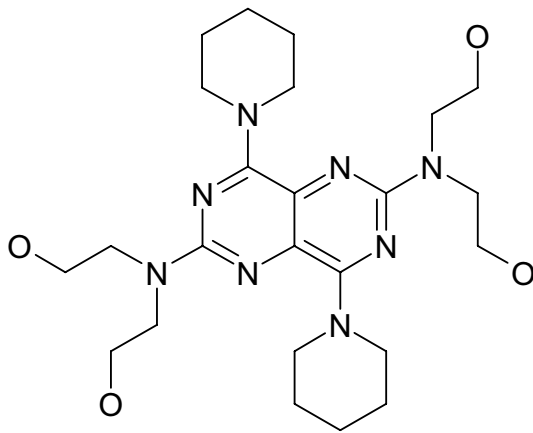
Amiodaron



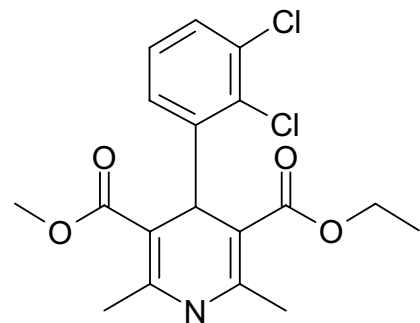
Beclometasondipropionat



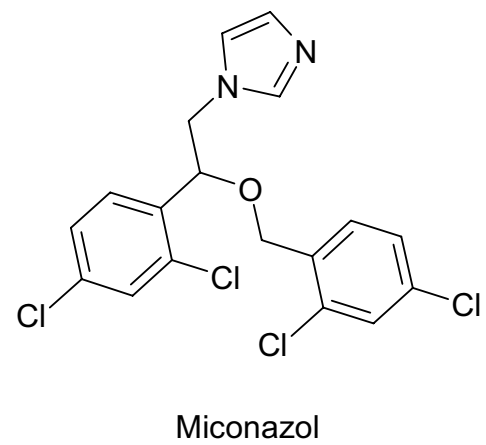
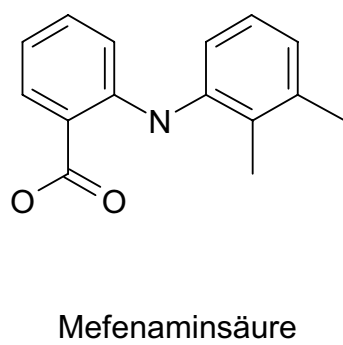
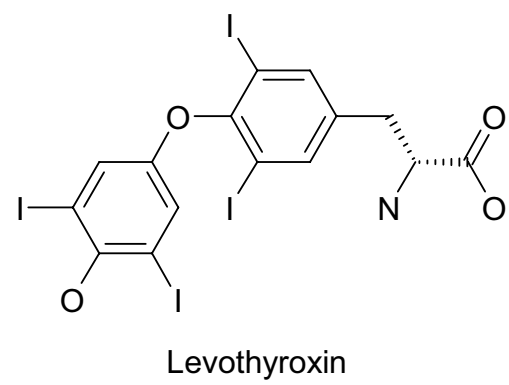
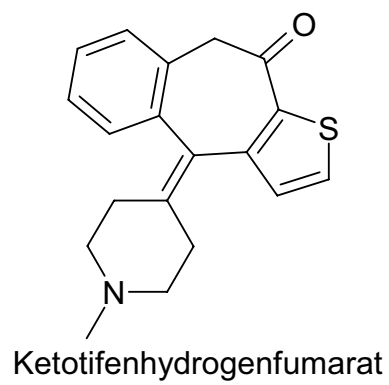
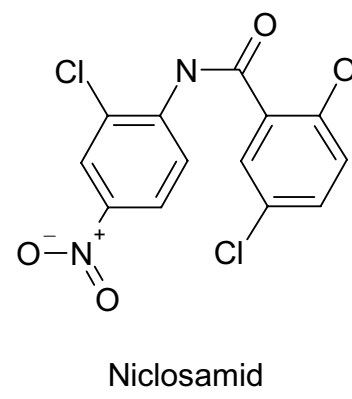
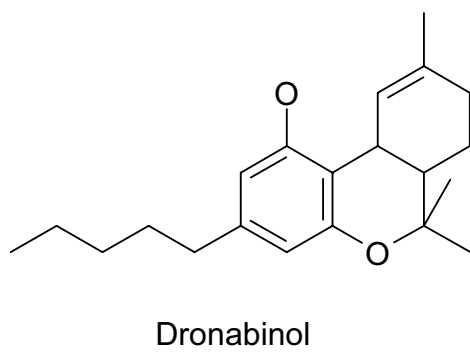
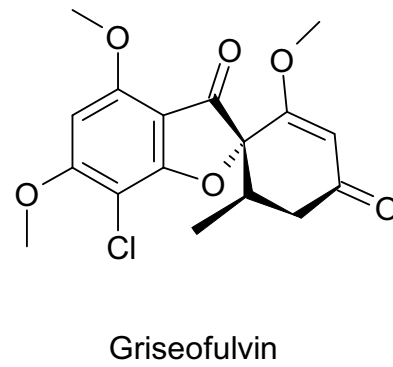
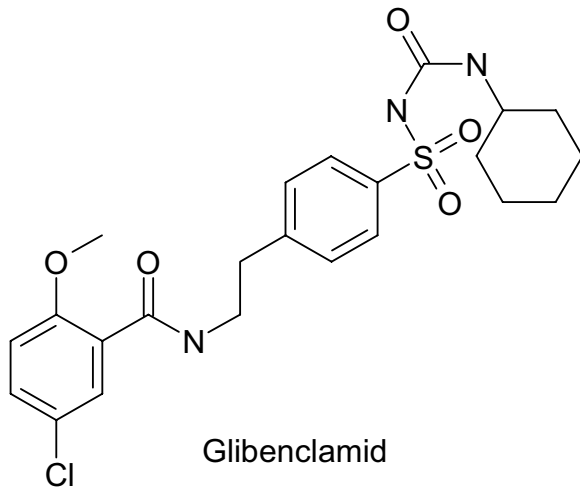
Danazol

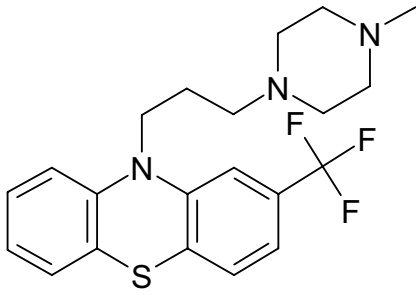


Dipyridamol

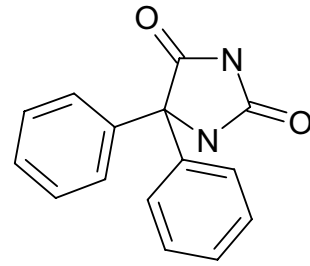


Felodipin

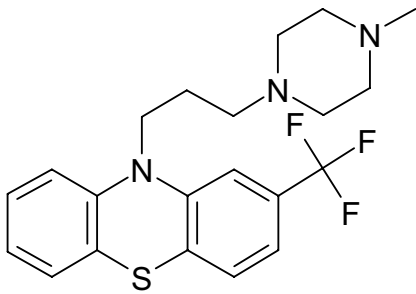




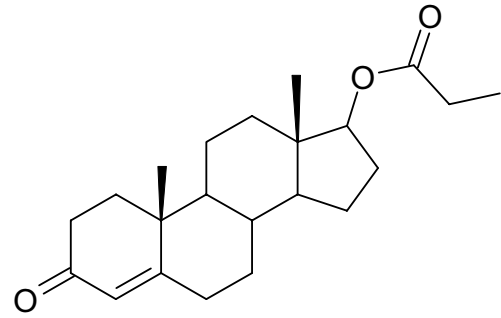
Trifluoperazindihydrochlorid



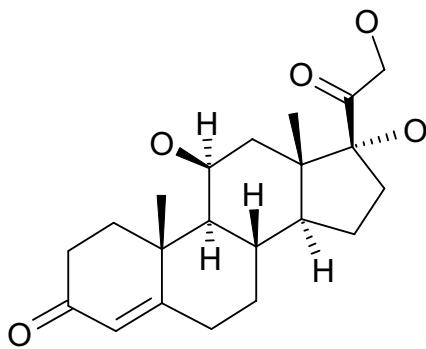
Phenytoin



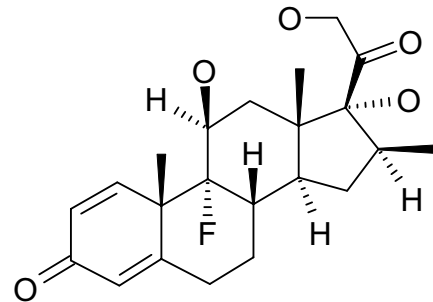
Trifluoperazindihydrochlorid



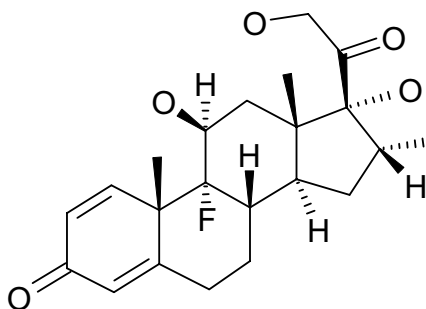
Testosteronpropionat



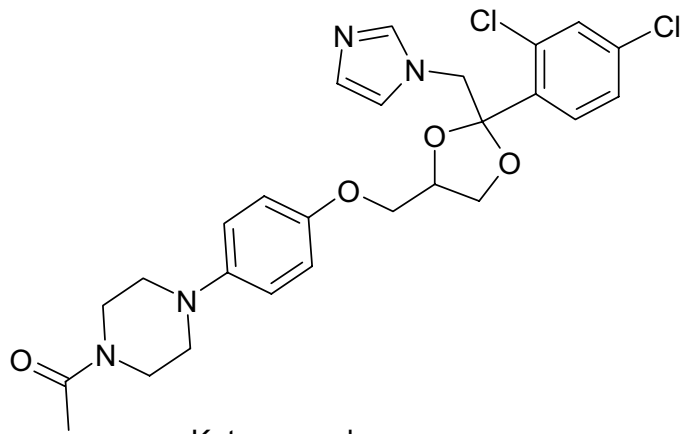
Hydrocortison



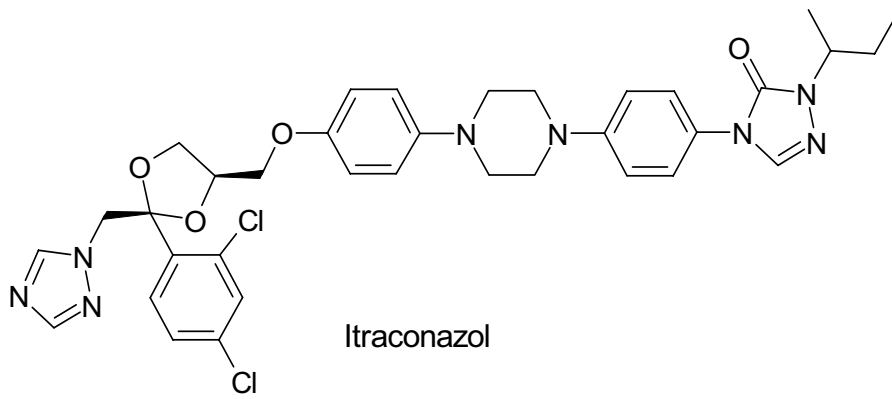
Betamethason



Dexamethason



Ketoconazol



Itraconazol

3.1.1.5 Indikationen der Untersuchungssubstanzen

Wirkstoff	Indikation	Maximaldosis [mg]
Albendazol	Anthelminthikum	400
Amiodaron-HCl	Antiarrhythmikum	200
Beclomethason-dipropionat	Broncholytikum/Antiasthmaticum	0.4 (inhalativ)
Betamethason	Glucocorticoid	0.5
Betamethason-17-valerat	Glucocorticoid/Dermatikum	1.22 mg/g (topisch)
Danazol USP 23	Gonadotropin-Antagonist	200
Dexamethason	Glucocorticoid	8
Dipyridamol	Thrombozytenaggregationshemmer	75
Dronabinol	Antiemetikum	2.5
Felodipin micronised 24-01	Antihypertonikum/ Kalzium-Antagonist	10
Glibenclamid	Antidiabetikum	3.5
Griseofulvin	Antimykotikum	500
Hydrocortison	Glucocorticoid	10
Hydrocortison-21-hemisuccinat	Glucocorticoid	1334 (i.v./i.m.)
Itraconazol	Antimykotikum	100
Ketoconazol	Antimykotikum	200
Ketotifen-fumarat	Broncholytikum/Antiasthmaticum	1
Levothyroxin	Schilddrüsentherapeutikum	0.12
Mefenaminsäure	Analgetikum/Antirheumatikum	500
Miconazolnitrat	Antimykotikum	20 mg/g (topisch)
Niclosamid	Anthelminthikum	500
Phenytoin	Antiepileptikum	100
Testosteron-propionat	Sexualhormone	50 (i.m.)
Trifluoperazin-2HCl	Psychopharmakum, Sedativum	20

Tabelle 3-3: Indikationen der Untersuchungssubstanzen und ihre höchste Dosierung

3.1.2 Verwendete Geräte

Gerät	Hersteller
HPLC	
Merck LaChrom L-4500A Diode Array Detector	Merck, Darmstadt, Germany
Merck LaChrom L-7360 Column Oven	Merck, Darmstadt, Germany
Merck LaChrom D-6000A Interface	Merck, Darmstadt, Germany
Merck LaChrom L-6200 Intelligent Pump	Merck, Darmstadt, Germany
Merck LaChrom AS-4000 Intelligent Auto Sampler	Merck, Darmstadt, Germany
Dynamic mixer (for fitting to the L-6200 pump)	Hitachi, San Jose, USA
Sartorius MC 1 Analysenwaage	Sartorius AG, Göttingen, Germany
Milli Q Gradient A10	Millipore, Bedford, USA
CG 820 Labor-pH-Meter	Schott, Mainz, Germany
Schüttler TiMix S Control	Johanna Otto GmbH, Hechingen, Germany
Inkubationshaube TH 15	Johanna Otto GmbH, Hechingen, Germany
Sonorex TK 52 Ultraschallbad	Bandelin electronic, Berlin, Germany
Whatman Processor P40	Whatman, Kent, UK
pSol-3 Instrument	Sirius Analytical Instruments, East Sussex, UK
Thermomixer comfort	Eppendorf, Hamburg, Germany
Rotavap Heidolph VV2000	Heidolph Instruments, Schwabach, Germany
Wasserbad Büchi 461	Büchi, Flawil, Schweiz
Membranpumpe	Vacuubrand, Wertheim, Germany

Tabelle 3-4: Laborausstattung

3.1.3 Labormaterialien

Für die Arbeit wurden folgende Chemikalien und Materialien verwendet:

Substanz/Material	Spezifikation	Hersteller
Natriumtaurocholat	Ch-B.: 31K5301	Sigma, Deisenhofen, Germany
Ei-Lecithin	Lipoid E PC Ch-B.:105013-1	Lipoid GmbH, Ludwigshafen, Germany
NaCl	1.01540.0500	Merck, Darmstadt, Germany
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	1.06346.1000	Merck, Darmstadt, Germany
Ammoniumacetat	Ch-B.: 1116	Merck, Darmstadt, Germany
HCl		Merck, Darmstadt, Germany
Kaliumhydrogenphthalat		
Natronlauge		Merck, Darmstadt, Germany
Methanol	Lichrosolv gradient grade	Merck, Darmstadt, Germany
Acetonitril	Lichrosolv gradient grade	Merck, Darmstadt, Germany
Chloroform	Lichrosolv gradient grade	Merck, Darmstadt, Germany
Phosphorsäure		Merck, Darmstadt, Germany
Diethylamin	Ch-B.: 803010	Merck-Schuchardt, Hohenbrunn, Germany
Wasser	Milli Q	Millipore, Bedford, USA
UniPrep Syringeless Filter	0.45 µm PTFE	Whatman, Kent, UK
MiniPrep Syringeless Filter	0.45 µm PTFE	Whatman, Kent, UK
Nalgene 4 mm Syringe Filter	0.45 µm Cellulose Acetat	Nalge Nunc, Rochester, USA
Nalgene 4 mm Syringe Filter	0.2 µm Neylon	Nalge Nunc, Rochester, USA
Nalgene 4 mm Syringe Filter	0.45 µm Neylon	Nalge Nunc, Rochester, USA
Reaktionsgefäß	Safe Lock 2.0 ml	Eppendorf, Hamburg, Germany
Spritzen	1.0 ml	Terumo, Tokyo, Japan
Zentrifugenfilter VectaSpin 3™	0.45 µm PVDF	Whatman, Kent, UK

Tabelle 3-5: Labormaterialien

3.1.4 Gallensalze

Im folgenden sollen die verwendeten Gallenkomponenten kurz vorgestellt werden. Die Hauptbestandteile der menschlichen Galle sind die Glykocholsäure und die Taurocholsäure, die überwiegend als Natriumsalze vorliegen. Das Verhältnis der Salze zueinander liegt bei einem Drittel Taurochololat zu zwei Dritteln Glykocholat.

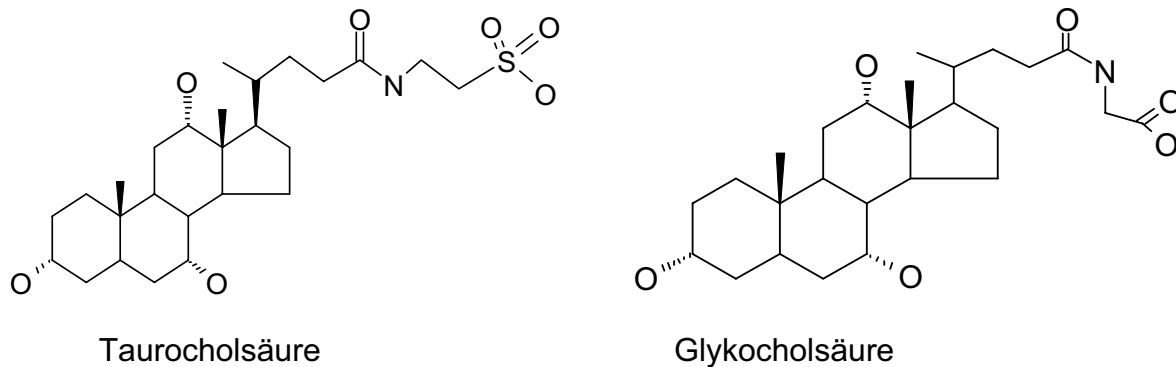


Abbildung 3-1: Struktur der Gallensäuren Taurocholsäure und Glykocholsäure.

Dass für die vorliegenden Untersuchungen jedoch das Taurochololat verwendet wurde und nicht das doppelt so häufig vorkommende Natriumglykocholat, liegt in den pK_a -Werten der Gallensäuren begründet. Die Taurocholsäure besitzt als Sulfonsäure einen pK_a -Wert von 1.8 - 2.0 [O'Maille, 1977; Eastwood, 1975] während die Glykocholsäure als Karbonsäure einen pK_a -Wert von ca. 4.41 aufweist [Nair, 1971]. Für die Untersuchungen im pH-Bereich des Gastrointestinal-Traktes war es erforderlich, dass es nicht zu einer Ionisierung des Gallensalzes kommt. Bei einem sauren pH-Wert von 5 liegt jedoch nur das Natriumtaurochololat vollkommen ionisiert vor und wurde daher für die Messungen bevorzugt.

Pedersen et al. [2000] zeigten zudem, dass sich die gemessenen Löslichkeiten für Danazol in Natriumglykocholat und in Natriumtaurochololat sowohl bei unterschiedlichen Gallensalzkonzentrationen als auch unter Zugabe von Lezithin im Verhältnis 1:1 und 4:1 nur im Bereich der Messgenauigkeit unterscheiden.

3.1.5 Lezithin

Lezithin ist eine esterartig aufgebaute Verbindung aus je 1 Mol Glycerin, Phosphorsäure, Cholin und zwei Molekülen Fettsäure. Bei den Fettsäuren handelt es sich meist um je eine gesättigte und eine ungesättigte Fettsäure, im allgemeinen Öl-, Palmitin-, Stearin- und Linolsäure sowie Arachidonsäure.

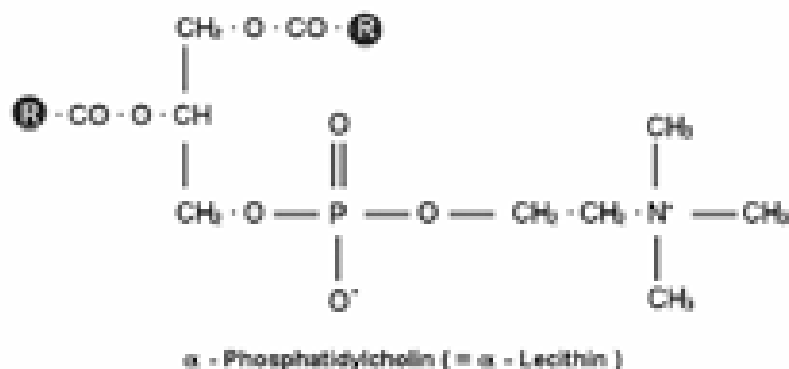


Abbildung 3-2: Allgemeine Struktur von Lezithin

Da die Zusammensetzung der Fettsäuren variiert, ist die Angabe einer definierten Molmasse nicht möglich. Für die Herstellung der NaTC/Lez. Mizellen wurde in der vorliegenden Arbeit von einer Molmasse (Lipoid E PC-Lezithin) von 786.7 g/mol ausgegangen.

Reppas [mündl. Kommunikation] untersuchte, welches im Handel erhältliche Lezithin in bezug auf die Fettsäurezusammensetzung am ehesten dem menschlichen, biliären Phospholipid entspricht. Tabelle 3-6 verdeutlicht, dass das Ei-Lezithin dem Soja-Lezithin vorzuziehen ist, da das Ei-Lezithin sowohl in quantitativer als auch in qualitativer Fettsäurezusammensetzung den biliären Phospholipiden des Menschen ähnelt [Angelico, 1992; Hatsushika, 1993; Hayes, 1992; Hay, 1993]. Die Zusammensetzung der Lezithine ist den entsprechenden Spezifikationsblättern der Firma Lipoid GmbH zu entnehmen.

	humane biliäre Phospholipide ¹	Ei-Lezithin ²	fett-freiem Soja-Lezithin ³
Palmitinsäure	~ 50	~ 31.5	~ 14
Stearinsäure	~ 8	~ 12.5	~ 5.5
Palmitoleinsäure	~ 5	~ 2	-
Ölsäure	~ 14	~ 30.5	~ 6.5
Linolsäure	~ 20	~ 15	~ 71.5
Arachidonsäure	~ 2	~ 3.5	-
Summe der 6 Fettsäuren	~ 99	~ 95	~ 97.5

Tabelle 3-6: Zusammensetzung von Fettsäuren (mol %) in humanen, biliären Phospholipiden, in Ei-Lezithin und in fett-freiem Soja-Lezithin

¹ überwiegend Phosphatidylcholin

² Lipoid E PC (98 % Phosphatidylcholin), Lipoid GmbH (Germany)

³ Lipoid S 100 (94 % Phosphatidylcholin, 3 % Lysophosphatidylcholin), Lipoid GmbH (Germany)

3.2 Methoden

3.2.1 Untersuchungsmedien

Die Arzneistoffe wurden in folgenden Medien untersucht:

- a) Pufferlösung mit Natriumtaurocholat,
- b) Pufferlösung mit Natriumtaurocholat und Lezithin.

Für die Pufferlösung werden 3.954 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ und 6.186 g NaCl in einem Liter Wasser gelöst und mit Natronlauge oder Salzsäure auf den entsprechenden pH eingestellt.

- a) Zu dem Puffer mit dem gewünschten pH wird die entsprechende Menge NaTC hinzugefügt und unter Rühren gelöst. Es wurden Untersuchungsmedium mit NaTC-Konzentrationen von 1, 3.75, 7.5, 15 und 30 mmol eingewogen.
- b) Um den Zustand im GI-Trakt zu simulieren, wird zur taurocholathaltigen Pufferlösung Lezithin in einem NaTC/Lez.-Verhältnis von 4:1 hinzugefügt. Als Vorlage zur Herstellung der Medien dient das Fasted State Simulated Intestinal Fluid [Galia, 1998]. Die entsprechende Menge NaTC wird in 2/3 der oben beschriebenen Pufferlösung (mit eingestelltem pH-Wert) gelöst. Anschließend wird die gewünschte Menge einer Lezithin-Lösung (100 mg/ml Chloroform) hinzugefügt, wobei sich eine milchig-trübe Emulsion bildet. In einem auf 40°C erwärmten Wasserbad wird das Chloroform mit Hilfe eines Rotavapors mit dazugehöriger Membranpumpe und Vakuum-Controller entfernt. Man beginnt mit einem Druck von 250 mbar und senkt ihn nach 15 Minuten auf ca. 100 mbar. Es entsteht eine klare mizellare Lösung, die nicht mehr den Geruch von Chloroform aufweisen darf. Ansonsten muss mit dem Evaporieren fortgefahren werden. Nach dem Abkühlen der mizellaren Lösung auf Raumtemperatur wird die Lösung auf das gewünschte Volumen aufgefüllt.

Folgende NaTC-Konzentrationen wurden untersucht:

- 1, 3.75 (präprandialer Zustand bei pH 6.5), 7.5, 15 (postprandialer Zustand bei pH 5)) und 30 mmol NaTC unter Zusatz von Lezithin im Verhältnis 4:1.

Folgende pH-Werte wurden untersucht:

pH 5, 6, 7

für einige Säuren und Basen zusätzlich pH 3, 4 und 8.

3.2.2 Shake-Flask Methode

In der Pharmaforschung wird von einer neuen chemischen Verbindung meist nicht mehr als 20 mg hergestellt. Mit dieser Substanzmenge sollen möglichst alle präklinischen Untersuchungen durchgeführt werden. Daher war es eine der Zielsetzungen der vorliegenden Arbeit, eine Löslichkeitsbestimmungsmethode mit einem sehr geringen Substanzverbrauch zu entwickeln. Außerdem wurde der Anspruch an die Methode gestellt, einen hohen Durchsatz zu ermöglichen.

3.2.2.1 Methodenentwicklung

3.2.2.1.1 Thermomixer

Zuerst wurde versucht, den in der Literatur häufig verwendeten Erlenmeyerkolben durch ein kleineres Gefäß zu ersetzen. Als geeignet erwiesen sich die Reaktionsgefäße Safe Lock der Firma Eppendorf mit einem Volumen von 2.0 ml. Diese eigentlich für die PCR (polymerase-chain-reaction) entwickelten Gefäße haben den Vorteil, dass sie zusammen mit dem für sie entwickelten Thermomixer comfort eine gute Einheit bilden. Schüttelgeschwindigkeit und Temperatur sind sehr variabel einstellbar. Nach der gewünschten Schüttelzeit wird die Untersuchungslösung mit der Spritze aufgezogen und durch einen Filter ins HPLC-Vial gespritzt. Die Wahl des Filters ist von entscheidender Bedeutung. Das benötigte Volumen an Untersuchungsmedium und die gemessene Löslichkeit hängen vom Filtermaterial ab.

Untersucht wurde daher, welcher Filter für die Versuche am besten geeignet ist.

Die Filter unterschieden sich vor allem im Filtermaterial. Es wurden Nylon-, Celluloseacetat-, Polyvinylidenfluorid (PVDF)- und Polytetrafluorethylen (PTFE)-Filter getestet. Des Weiteren wurde die optimale Porenweite der Filter ermittelt, wobei nur Filter mit den Porenweiten von 0.2 μm und 0.45 μm untersucht wurden. Außerdem konnte zwischen Filterdurchmessern von 4, 13 und 25 mm gewählt werden.

Filterdurchmesser

Die Filter mit 25 mm Durchmesser besitzen ein zu großes Totvolumen. Um den Verlust an Untersuchungsmedium so gering wie möglich zu halten, sind Filter mit einem Durchmesser von 4 mm am besten geeignet. Ein Nachteil dieser Filter ist jedoch, dass schon geringe Mengen Feststoff, die vom Filtermaterial adsorbiert werden, ausreichen, die Poren zu verstopfen. Die Untersuchungslösung muss mit einem erhöhten Druck durch den Filter gepresst werden und kann diesen zum Platzen bringen.

Porengröße

Aus dem oben genannten Grund ist es ungünstig, Filter mit einer Porengröße von $0.2\ \mu\text{m}$ zu verwenden. Dies führt lediglich zu einem noch höheren Pressdruck. Da eigene Versuche gezeigt haben, dass die gemessenen Löslichkeiten unabhängig von den beiden Porengrößen sind, sollten Filter mit einer Porengröße von $0.45\ \mu\text{m}$ verwendet werden.

Filtermaterial

Von den untersuchten Filtermaterialien Nylon, Celluloseacetat, Polyvinylidenfluorid (PVDF) und Polytetrafluorethylen (PTFE) eignete sich das PTFE am besten. Dieses Material zeichnet sich dadurch aus, dass es keine Wechselwirkungen mit dem untersuchten Wirkstoff und dem wässrigen Puffer eingeht.

Alternativen zum Spritzenfilter

Mit folgenden Alternativen wurde versucht, die enormen Pressdrücke, die sich beim Filtrieren mit einer Spritze und der Verwendung eines Einmal-Filters aufbauen, zu umgehen.

3.2.2.1.2 Vectaspin

Bei dieser Methode wird das Filtrat mit Hilfe der Zentrifugalkraft durch den Filter gedrückt. Der Vectaspin der Firma Whatman besteht aus zwei Einheiten, einem Grundkörper und einem etwa halb so großen Einsatz, an dessen Unterseite der Filter eingelassen ist. Der Wirkstoff wird zusammen mit dem Untersuchungsmedium in den Einsatz gegeben und geschüttelt. Zum anschließenden Filtrieren wird der Vectaspin zentrifugiert. Danach kann das Filtrat aus dem unteren Einsatz entnommen und analysiert werden.

Die Methode erwies sich für die Löslichkeitsmessungen als ungeeignet, da schon während des Schüttelns Lösung durch den Filter tropfte.

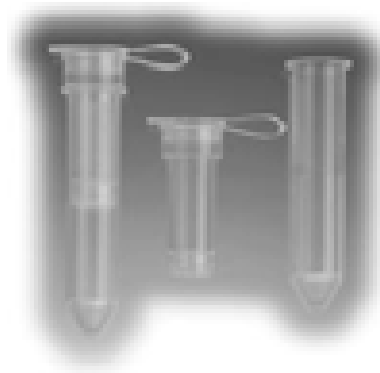


Abbildung 3-3: Vectaspin-Filter der Firma Whatman

3.2.2.1.3 Bohdan-Syntheseautomat

Das Prinzip dieser Methode beruht darauf, dass die Lösung statt durch manuelles Zusammendrücken einer Spritze, mit Hilfe von Pressluft durch den Filter gedrückt wird. Die Reaktionsgefäße des Bohdan-Synthese-Automates werden eigentlich mit Harz gefüllt, an dem eine chemische Reaktion durchgeführt wird. Für die Löslichkeitsbestimmung war es möglich, auf den Ausgang des Reaktionsgefäßes einen 4 mm Spritzenfilter aufzusetzen. Das Gerät wurde anschließend, wie in Abbildung 3-4 abgebildet, zusammengesetzt. In der unteren Box des Automaten befinden sich entsprechende Auffangbehältnisse für die Lösung. An das Gerät wird von oben Pressluft angelegt und die Lösung durch den Filter gedrückt.

Auch diese Methode erwies sich für die vorliegenden Untersuchungen als ungeeignet, da sich die Reaktionsgefäße nicht gleichmäßig mit der Pressluft leerten. Nachdem einige Reaktionsgefäße leer waren, entwich die Pressluft hauptsächlich durch diese Gefäße und für die restlichen Behältnisse war der Druck der Pressluft nicht mehr hoch genug.



Abbildung 3-4: Bohdan-Synthese-Automat

3.2.2.1.4 Mikrotiterplatten

Das Gerät besteht aus einer Mikrotiterplatte, wobei der Filter am Boden der Platte befestigt ist. Die Titerplatte wird auf ein Rack aufgesetzt, welches dem Auffangen der einzelnen Lösungen dient. Beide Platten werden in ein luftdicht abschließendes Gefäß gestellt. Durch das Anlegen eines Vakuums gelangt das Filtrat durch den Filter.

Die Löslichkeitsbestimmung mit der Mikroplatte von Robbins Scientific schien zwei Vorteile zu haben. Zum einen wird die Filtration dadurch erreicht, dass statt des Pressdruckes ein Vakuum an das System angelegt wird. Zum anderen sind die Mikrotiterplatten mit unterschiedlichen Volumina erhältlich, so dass eine Minimierung des Volumens möglich gewesen wäre.

Wie bei dem zuvor beschriebenen Vectaspin-Filter, hielten auch diese Filter während der langen Schütteldauer nicht dicht und somit musste die Methode verworfen werden.

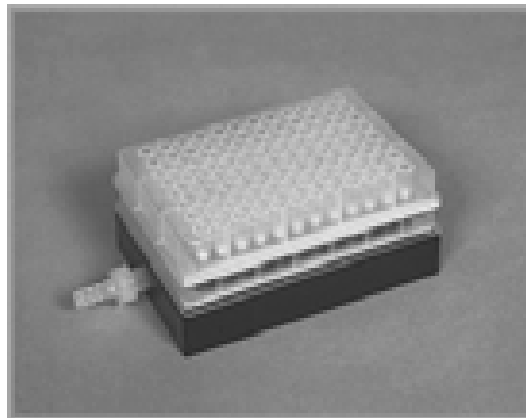


Abbildung 3-5: Filterplate™-96 Microplate von Robbins Scientific

3.2.2.1.5 Whatman UniPrep/MiniPrep

Der abgebildete UniPrep Filter besteht aus zwei Teilen. In dem unteren Teil (dem Reaktionsgefäß) findet die eigentliche Löslichkeitsmessung statt. Substanz und Lösungsmedium werden in diesem Teil zusammengebracht und mit dem oberen Stempelgefäß abgedichtet.



Abbildung 3-6: Whatman UniPrep- und MiniPrep-Filter

Der Vorteil dieses Filters, im Gegensatz zu dem zuvor erwähnten Vectaspin und den Mikrotiterplatten, liegt darin, dass die Lösung zunächst gar nicht mit dem Filter in Berührung kommt. Erst nach dem Schütteln wird das Stempelgefäß, in dessen Boden sich der Filter befindet, in das Reaktionsgefäß gedrückt. Das System schließt sehr gut ab, sodass kein Filtrat verloren geht. Zwar tritt auch bei dieser Filtration ein sehr hoher Druck auf, aber von der Firma Whatman gibt es für die Filtration eine automatische Presse. Maschinell können bis zu zwanzig Filter gleichzeitig filtriert werden.



Abbildung 3-7: Presse für die UniPrep-Filter

In die großen UniPrep-Filter passen 2 – 3 ml Flüssigkeit hinein, in die MiniPrep-Filter hingegen nur 0.5 ml. Die MiniPrep-Filter haben jedoch dieselbe Abmessung wie ein HPLC-Vial und können somit direkt nach dem Filtrieren analytisch vermessen werden.

Vorversuche zeigten, dass bei den Löslichkeitsbestimmungen in der HPLC mit den MiniPrep-Filtern eine deutlich kleinere Peakfläche für die Probesubstanz erzielt wurde, als mit den UniPrep-Filtern. Um die Filter vergleichen zu können, wurden folgende Versuche durchgeführt:

1. Der Wirkstoff wurde in einen 50 ml Erlenmeyerkolbengegeben, mit dem Untersuchungsmedium versetzt und 48 Stunden geschüttelt. Danach wurde die Lösung direkt durch einen 4 mm Spritzenfilter, bzw. durch Uni- und MiniPrep's filtriert.
2. Der Wirkstoff wurde 48 h lang im UniPrep geschüttelt und dann filtriert.
3. Der Wirkstoff wurde 48 h lang im MiniPrep geschüttelt und dann filtriert.

Filtertyp	Herkunft der zu filtrierenden Lösung	Peak- Fläche	Standardabw.
Spritzenfilter	50 ml Erlenmeyer	156287	6473
UniPrep	Uniprep	157760	3175
	50 ml Erlenmeyer	155835	4017
MiniPrep	Miniprep	70887	6638
	50 ml Erlenmeyer	98196	2024

Tabelle 3-8: Vorversuch, zur Überprüfung der Eignung der Whatman UniPrep, bzw. MiniPrep.

n = 10; Schüttelzeit = 48 h; Wirkstoff: Glibenclamid; Filtermaterial: 0.45 µm PTFE

Diese Versuche zeigen, dass der 0.45 µm PTFE- Spritzenfilter und der entsprechende UniPrep-Filter ähnliche Peakflächen ergeben.

Bei den Messungen mit dem MiniPrep-Filter wird eine deutlich kleinere Peakfläche gemessen. Da sowohl die im MiniPrep direkt geschüttelte Lösung, als auch die im Erlenmeyerkolben geschüttelte Lösung kleinere Peakflächen ergeben, scheint der Filter die Ursache für den Substanzverlust zu sein. Vermutlich wird der Wirkstoff vom Filtermaterial adsorbiert. Dieser Effekt tritt bei dem sehr kleinen Volumen der MiniPrep-Filter besonders hervor. Für eine Adsorption am Filter spricht auch, dass die verminderte Peakfläche nur im wässrigen Milieu auftritt. Wird der Versuch mit in Acetonitril gelöstem Glibenclamid wiederholt, ist die Peakfläche der im MiniPrep gefilterten Proben genauso groß, wie die der ohne Filtration vermessenen Standards. Bei diesen Messungen wird das lipophile Lösungsmittel vom Filtermaterial adsorbiert. Aus diesen Vorversuchen wurde außerdem die Konsequenz gezogen, die ersten Tropfen des Filtrats stets zu verwerfen.

3.2.2.2 Verwendete Shake-Flask Methode

a) Herstellung des Standards:

In einen 100 ml Messkolben werden ca. 20 mg Substanz exakt eingewogen. Der Kolben wird bis zur Hälfte mit einem Gemisch aus Acetonitril und Methanol im Verhältnis 50:50 aufgefüllt. Danach wird der Kolben für zehn Minuten ins Ultraschallbad gestellt und nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur bis zur Eichmarke mit dem zuvor erwähnten Gemisch aufgefüllt.

Die Untersuchungssubstanz Levothyroxin löst sich in diesem Gemisch nicht vollständig auf. Daher wurde der Erlenmeyerkolben zur Hälfte mit Ethanol gefüllt und dann 1 ml 1N HCl hinzugefügt. Nach dem Ultraschallbad und dem Abkühlen auf Raum-

temperatur wurde mit Ethanol aufgefüllt. Das dissoziierte Levothyroxin ist nun ausreichend löslich. Von jeder Substanz werden zwei dieser Urstandards hergestellt. Sie werden in der HPLC vermessen und ihre Konzentrationen verglichen. So kann ein Fehler bei der Einwaage ausgeschlossen werden.

Von einem der so hergestellten Urstandards werden drei Verdünnungen hergestellt, sodass für die Erstellung einer Kalibriergerade vier verschiedene Konzentrationen zur Verfügung stehen.

b) Bestimmung der Schütteldauer

Bei der Bestimmung der Löslichkeit mit der Shake-Flask Methode spielt die Zeit eine entscheidende Rolle. Wie lange dauert es, bis sich ein thermodynamisches Gleichgewicht zwischen gelöster und ungelöster Substanz einstellt? Kann bei der Vermessung von Substanzen Zeit eingespart werden, ohne dass Abstriche in der Messgenauigkeit gemacht werden müssen? Um diese Frage beantworten zu können, wurde bei den zuerst vermessenen Substanzen die Löslichkeit bei allen Gallensalzkonzentrationen nach 4, 8, 24 und 48 Stunden bestimmt. Die Ergebnisse sind im Anhang (Tabelle 6-2 bis 6-9) dargestellt.

Ein großer zeitbedingter Unterschied zwischen den jeweils gemessenen Löslichkeiten ist bei den meisten Stoffen nicht zu erkennen, in der Regel liegt der Unterschied im Bereich der Standardabweichung. Lediglich bei Glibenclamid, Levothyroxin und Ketoconazol liegen die Löslichkeiten der 4-Stundenwerte deutlich unterhalb der Ergebnisse, die zu den anderen Zeitpunkten erhoben wurden. Bei diesen Substanzen werden daher bei den weiteren Messungen erst nach 8 und 24 Stunden die Messwerte genommen. Danazol, Mefenaminsäure und Phenytoin zeigen schon nach kurzer Zeit sehr konstante Werte, sodass bei ihnen durch Probennahmen nach vier und acht Stunden die Messzeit stark verkürzt werden kann. Dipyridamol und Felodipin zeigen von der Zeit der Probennahme unabhängige Löslichkeitswerte. Bei diesen Substanzen werden Proben nach 4 und 24 Stunden vermessen. Auf die 48-Stundenwerte wird verzichtet, da keine deutliche Löslichkeitssteigerung zu beobachten war. Auch die Messreihe in NaTC/Lez.-Mizellen zeigt, dass die Löslichkeitsmessungen im Rahmen der Standardabweichung nicht von dem Zeitpunkt der Probennahme beeinflusst werden.

Für eine zweite Gruppe von Untersuchungssubstanzen wurde eine Schüttelzeit von 24 Stunden gewählt, da nach dieser Zeit immer von einer konstanten Löslichkeit ausgegangen werden kann. Auch aus zeitlichen Gründen erweist sich diese Schüt-

telzeit als ideal, da vor allem bei der Herstellung von NaTC/Lez.-Mizellen eine längere Vorbereitungszeit für die Proben zu veranschlagen ist. Von einer möglichen Probennahme nach vier Stunden wird abgesehen, da Stoffe wie Glibenclamid, Levothyroxin und Ketoconazol gezeigt haben, dass für sie 4 Stunden Schüttelzeit zu wenig sind, um ein thermodynamisches Gleichgewicht zu erreichen. Auch die USP empfiehlt eine Schütteldauer von 24 Stunden, um zu einer Gleichgewichtseinstellung zu kommen [USPXXI].

Fazit: Empfehlenswert sind für die Löslichkeitsbestimmungen in Gallensalz- und NaTC/Lez.-Lösung Probenentnahmen nach 8 und 24 Stunden.

c) Eigentliche Löslichkeitsbestimmung

Die zu untersuchende Substanz wird im Überschuss in eine Whatman UniPrep- Filterkammer gegeben. Es werden 3 ml Untersuchungsmedium hinzugefügt und die Filterkammer mit dem Filterstempel verschlossen. Die Probe wird in den auf 37°C temperierten Schüttler gestellt und je nach Substanz 8 oder 24 Stunden bei 450 rpm geschüttelt. Die Proben werden nach der Hälfte der Schüttelzeit aus dem Schüttler genommen und kontrolliert. Bei Neutralstoffen reicht es aus, die Proben visuell auf einen Überschuss an Feststoff zu überprüfen, bei Säuren und Basen wird zusätzlich der pH-Wert kontrolliert. Sollte sich die Substanz vollständig gelöst haben, wird erneut Untersuchungssubstanz hinzugefügt. Da die Pufferkapazität manchmal zu gering ist, um den pH-Wert stabil zu halten, muss der gewünschte pH-Wert durch Zugabe der erforderlichen Menge 0.1 M NaOH/0.1 M HCl wieder eingestellt werden.

Nach der vorgegebenen Schüttelzeit wird nochmals der pH-Wert der Probe kontrolliert. Anschließend wird die Probe filtriert, indem der Filterstempel mit Hilfe des Whatman Prozessors in die Filterkammer gepresst wird. Dem möglichen Verlust von Wirkstoff durch Adsorption an das Filtermaterial wird durch das Verwerfen des ersten halben Milliliters Filtrat Rechnung getragen. Anschließend wird das Filtrat in die vorbereiteten Vials gegeben und mit der HPLC vermessen.

Bei der Vorbereitung der Proben für die HPLC-Analytik muss darauf geachtet werden, dass die Probe nicht auf Raumtemperatur abkühlt, da sonst die Gefahr der Präzipitation besteht. Bei einer der verwendeten HPLC-Anlagen stand ein temperierbarer Autosampler zur Verfügung. In diesem Fall genügte es, die Vials im Autosampler rechtzeitig zu temperieren und zügig zu arbeiten. Bei dem nicht beheizbaren Autosampler wurde in die Vials ein organisches Lösungsmittel (0.25 ml Methanol) vorge-

geben. Das Lösungsmittel verhindert das Präzipitieren des Wirkstoffs nach Zugabe von 1 ml Probenfiltrat.

Es wurden jeweils mindestens Dreifachbestimmungen durchgeführt.

3.2.2.3 HPLC-Methoden

Das Ziel bei der Entwicklung der HPLC-Methoden war, bei möglichst vielen Substanzen mit der gleichen Säule und denselben Fließmitteln arbeiten zu können. Die Methoden sollten sich möglichst nur in der prozentualen Zusammensetzung der Fließmittel, der Laufzeit und der gemessenen Wellenlänge unterscheiden.

Auch bei den späteren Löslichkeitsbestimmungen ist es wichtig, nicht für jede Substanz erst eine neue Methode entwickeln zu müssen, sondern schnell auf eine Standardmethode zurückgreifen zu können.

Als beste Lösung erwies es sich, die Säuren separat mit einer eigenen Methode zu analysieren, während die Basen und die Neutralstoffe mit einer anderen Methode quantifiziert wurden.

Säuren:

Für die Säuren wurde eine 250·4 mm LiChrosorb® RP-18 (5 µm) Säule mit ACN (LiChrosolv gradient grade) und 0.01 N HCl als Fließmittel verwendet.

Die Bedingungen im Einzelnen waren:

Substanz	Fließmittelverhältnis ACN : 0.01N HCl	Fluss [ml/min]	Wellenlänge [nm]	Retentionszeit [min]
Glibenclamid	55:45	1.5	230	3.5
Hydrocortison-21-Hemisuccinat	35:65	1.5	246	5.1
Mefenaminsäure	55:45	1.5	220	11.8
Niclosamid-Ethanolamin	60:40	1.5	320	5.8
Phenytoin	40:60	1.5	212	3.7

Basen und Neutralstoffe:

Für die Basen und Neutralstoffe wurde eine 250·4 mm LiChrospher® 60 RP-select B (5 µm) Säule verwendet.

Als Fließmittel kam eine 0.5-prozentige Ammoniumacetat-Lösung und eine 0.2-prozentige methanolische Diethylaminlösung zum Einsatz.

Die Bedingungen im Einzelnen waren:

Substanz	Fließmittelverhältnis (NH ₄) ₂ AC-Lsg. : DEA-Lsg.	Fluss [ml/min]	Wellenlänge [nm]	Retentionszeit [min]
Albendazol	45:55	1.5	230	5.0
Griseofulvin	45:55	1.5	294	6.2
Dexamethason	45:55	1.5	241	4.1
Betamethason	45:55	1.5	241	4.2
Beclomethason-dipropionat	30:70	1.5	242	4.6
Betamethason-17-valerat	30:70	1.5	240	2.5
Itraconazol	30:70	1.5	260	4.8
Danazol	30:70	1.5	280	4.0
Felodipin	30:70	1.5	362	3.9
Testosteron-propionat	30:70	1.5	244	7.3

Dipyridamol und Miconazol:

Substanz	Fließmittelverhältnis (NH ₄) ₂ AC-Lsg.:DEA-Lsg.:ACN	Fluss [ml/min]	Wellenlänge [nm]	Retentionszeit [min]
Dipyridamol	30:55:15	1.5	294	5.1
Miconazol	30:45:25	1.5	227	8.1

Ketoconazol:

Substanz	Fließmittelverhältnis ACN : H ₂ O : DEA-Lsg	Fluss [ml/min]	Wellenlänge [nm]	Retentionszeit [min]
Ketoconazol	48:47:05	1.0	218	4.2

Dronabinol:

Dronabinol entspricht strukturell dem Δ^9 -Tetrahydrocannabinol. Im Gegensatz zur natürlichen Biosynthese entstehen bei der chemischen Synthese jedoch drei weitere Isomere. Die beste Trennung der Isomere konnte mit einem Gradienten erreicht werden.

Substanz	Fließmittelverhältnis 0.1%TFA : ACN	Fluss [ml/min]	Wellenlänge [nm]	Retentionszeit [min]
Dronabinol	0 min 70:30 (gradient) 3 min 70:30 15 min 20:80 22 min 20:80 23 min 70:30	1.0	212	26.6

Levothyroxin und Amiodaron:

Für die Analytik von Levothyroxin und Amiodaron wurde eine Chromolith™ Performance RP-18e (100 x 4.6 mm) verwendet. Diese Säule hat den Vorteil, dass durch ihre geringe Länge und ihre Säulenbeschaffenheit die Retentionszeit der Substanzen ohne Qualitätsverlust stark verkürzt werden konnte. Da beide Substanzen einen hohen logP-Wert besitzen, konnte durch den Einsatz dieser Säule eine Verkürzung der Laufzeit und damit eine deutliche Erhöhung des Durchsatzes erreicht werden.

Substanz	Fließmittelverhältnis Phosphatpuffer (pH 3) : ACN	Fluss [ml/min]	Wellenlänge [nm]	Retentionszeit [min]
Amiodaron-hydrochlorid	45:55	1.5	240	4.9
Levothyroxin	70:30	2.0	225	4.8

3.2.3 pSol-Methode (potentiometrische Titration)

3.2.3.1 Aufbau des Gerätes

Das pSol-Gerät ist sehr einfach aufgebaut. Es besteht aus einem Reagenzglas, in dem die Titration stattfindet und einem temperierbaren Glasgefäß. In das Reagenzglas werden die Elektrode und drei sehr feine Kapillaren eingeführt, die die Elektrolytlösung, Natronlauge und Salzsäure hinzufügen. Die Messung wird mit dem Computer gesteuert.



Abbildung 3-8: pSol-Instrument der Firma Sirius Analytical Instruments

3.2.3.2 Blank-Titration

Am besten vor jeder Messung, zumindest aber zu Beginn jeder Woche, sollte eine Überprüfung des Gerätes, bzw. der Titranden erfolgen. Die Natronlauge wird gegen eine genau eingewogene Menge Kaliumhydrogenphthalat titriert und anschließend der Titrationsfaktor ermittelt. Nachdem die genaue Konzentration der Natronlauge bekannt ist, wird die Salzsäure gegen die Natronlauge titriert und auch für die Salzsäure der Titrationsfaktor bestimmt. Bis auf einen geringen Aufwand bei der Startprozedur läuft dieser Prozess automatisch ab. Auch die Berechnung des Titrationsfaktors wird von dem Gerät selbst durchgeführt.

Nachdem beide Titranden kalibriert worden sind, wird eine Säure-Base-Blank-Titration durchgeführt. Es wird mit HCl auf pH 2 titriert und mit der Natronlauge auf pH 12 zurücktitriert. Für die Auswertung der späteren Messung und die Bestimmung des Elektrodenfehlers ist die Blank-Titration unerlässlich.

3.2.3.3 Versuchsdurchführung

In das Probenglas wird 0.1 bis 1 mg der zu untersuchenden Substanz exakt eingewogen und das Probenglas in das Temperiergefäß gestellt. Das pD-3 Programm wird gestartet.

In das Programm wird eingegeben, ob man im wässrigen Milieu arbeiten will, oder ob ein organisches Kosolvenz verwendet werden soll. Weiterhin benötigt das Programm die Information, um was für eine Substanzklasse es sich handelt. Liegt eine Säure, eine Base oder ein Ampholyt vor? Für diese Einteilung ist auch die Eingabe einer generellen Formel (z. B. BHCl für das Säurechlorid einer Base) notwendig, die angibt, wie viele Protonen vorliegen und ob die Substanz eine Reinsubstanz ist oder ein Salz.

Um die Titrationsbedingungen (Anzahl der Messpunkte, Volumen der einzelnen Titrationsschritte) besonders gut an eine Substanz anpassen zu können, wird die Titrationskurve vor der Messung berechnet. Dafür ist die präzise Angabe des pK_a -Werts und des Molekulargewichts notwendig. Die Eingabe des $\log P$ -Werts ist nicht unbedingt erforderlich, ermöglicht aber die Berechnung der Löslichkeit und erhöht damit die Genauigkeit der simulierten Titrationskurve.

Weitere notwendige Angaben sind die exakte Einwaage der Probe, die Anzahl der gewünschten Messungen (maximal drei), das Volumen des Puffers, in dem die Messung durchgeführt werden soll und zuletzt der pH-Bereich, der vermessen werden

soll.

Zu Beginn der Messung wird die Elektrode in einen Puffer von pH 7 gehalten und so zum einen auf diesen pH-Wert kalibriert, zum anderen wird die Abweichung der pH-Messung überprüft. Bei einer Abweichung von weniger als

0.02 mV kann mit der eigentlichen Messung begonnen werden.

Ein Rührfisch, die Elektrode und die drei feinen Kapillaren für Säure, Base und Puffer werden mit destilliertem Wasser abgespült und in das Probengefäß eingeführt. Hierbei ist darauf zu achten, dass sich die Elektrode und die Kanülen nicht berühren. Der Magnetrührer wird eingeschaltet.

Das Gerät wird selbständig eine geringe Menge Säure oder Base zugeben, um die vorgelegte Substanz zu lösen. Nach automatischer Zugabe der verlangten Menge Puffer wird der gewünschte Start-pH eingestellt. Die gelöste Substanz ist wieder ausgefallen und liegt fein verteilt in Lösung vor. Die automatische Sammlung von Messpunkten folgt.

3.2.3.4 Messung unter Zugabe eines Kosolvenz

Die Messung mit einem Kosolvenz läuft genauso ab, wie die vorher beschriebene Messung im wässrigen Milieu. Zur Probensubstanz wird jedoch zusätzlich ein geringer Anteil eines organischen Lösungsmittels gegeben. Für die vorliegenden Ergebnisse wurde als Kosolvenz meist Methanol verwendet. Während man im wässrigen Milieu die Wahl hat, wie viele Titrationsen man hintereinander durchführt, empfiehlt es sich mit Methanol immer mindestens drei Läufe durchzuführen. Durch Zugabe von unterschiedlichen Mengen Methanol erhält man drei intrinsische Löslichkeiten bei unterschiedlichen Volumenprozent Methanol und die Software extrapoliert anschließend selbständig den $\log S_o$ -Wert für die intrinsische Wasserlöslichkeit (0 Volumenprozent Kosolvenz).

3.2.3.5 Auswertung der Messung

In Kapitel 1.2.6.2 wurde beschrieben, dass die Löslichkeit nach der Gleichung

$\log S_o = \log(C/204) - pK_a^{app} + 4 pK_a$, berechnet wird. Die mit dem Gerät gelieferte Soft-

ware berechnet aus den Datenpunkten den Bjerrum-Plot und daraus wiederum den scheinbaren pK_a -Wert. Ebenfalls erwähnt wurde, dass die Kurve durch eine gewichtete mathematische Methode der kleinsten Fehlerquadrate berechnet wird. Über einen iterativen Algorithmus wird die theoretische Kurve auf die Messpunkte gefittet. Die Qualität der Ergebnisse steigt mit jeder neuen Berechnung, da für den neuen Fit

auf die zuletzt berechneten Daten zurückgegriffen wird. Die Übereinstimmung der Datenpunkte mit dem Plot wird durch den GOF-Wert (Goodness of Fit) angegeben. Sobald der GOF-Wert konstant bleibt, ist die Berechnung des logSo-Wertes abgeschlossen. Durch das Ausschließen von "Outliern", kann die Güte der Kurve eventuell noch verbessert werden.

3.2.4 Messung des Verteilungskoeffizienten Oktanol/ Wasser

Der Verteilungskoeffizient Oktanol/ Wasser (logP- Wert) wurde mittels einer HPLC-Methode bestimmt.

3.2.4.1 Verwendete Geräte

Gerät	Spezifikation
Pumpe	L- 6200 Intelligent Pump
Detektor	L- 3000 Photo Diode Array Detector
Autosampler	AS- 4000 Intelligent Auto Sampler
Thermostat	T- 6300 Column Thermostat
Interface	D- 6000 Interface
Säule	Superspher 100 RP-18 LiChroCART (50*4 mm)
	Superspher 100 RP-18 LiChroCART (75*4 mm)
pH-Meter	CG 820 (Schott)

Tabelle 3-7: Für die Messungen des logP-Wertes verwendete Geräte

Alle Geräte stammen von der Firma Merck-Hitachi, nur das pH- Meter ist von der Firma Schott.

3.2.4.2 Verwendete Chemikalien

- Methanol, LiChrosolv (Merck)
- Phosphatpuffer pH 6.88 +/- 0.02 (Merck)
- Phosphorsäure 20 %
(hergestellt aus 235 ml 85 % Phosphorsäure p.A. (Merck) und 765 ml deionisiertes Wasser)
- deioniertes Wasser

Lösungsmittel

900 ml Methanol + 100 ml deionisiertes Wasser

Probenvorbereitung

Von der Substanz werden ca. 0.001 mmol eingewogen und mit 5 ml Methanol versetzt. Die Lösung wird für zehn Minuten in ein Ultraschallbad gestellt. Falls die Lösung danach noch trüb ist, wird die Probe durch einen Einmalfilter mit der Porengröße 0.45 µm filtriert und anschließend in die Vials der HPLC-Anlage gefüllt.

3.2.4.3 HPLC- Bedingungen

Säule	Superspher 100 RP-18 LiChroCART 50 Å mm (Merck) oder Superspher 100 RP-18 LiChroCART 75 Å mm (Merck)
Flussrate	1.0 ml/min
Temperatur	37°C
Detektor	210 nm als Standardeinstellung, ist aber variabel
Injektionsvolumen	10 µl

Mobile Phasen

	Methanol	Phosphatpuffer (pH 6.88)
a)	750 ml	250 ml
b)	700 ml	300 ml
c)	650 ml	350 ml
d)	600 ml	400 ml
e)	550 ml	450 ml
f)	500 ml	500 ml
g)	450 ml	550 ml
h)	400 ml	600 ml
i)	350 ml	650 ml
j)	300 ml	700 ml
k)	250 ml	750 ml
l)	200 ml	800 ml

Die 12 mobilen Phasen werden durch einen Teflonfilter filtriert und im Ultraschallbad 15 Minuten lang entgast. Der pH der mobilen Phase liegt zwischen 7.6 – 8.4 (abhängig vom prozentualen Anteil an Methanol). Der pH-Wert von jeder mobilen Phase wird mit der 20-prozentigen Phosphorsäure auf pH 7.20 justiert.

3.2.4.4 Messungen

Die Retentionszeit der Wirkstoffe wird in den 12 mobilen Phasen bestimmt. Nach jedem Wechsel der mobilen Phase wird die Säule 15 Minuten lang mit der neuen Phase äquilibriert. Danach wird durch die Injektion von Thioharnstoff ($c \sim 0.1$ mg/ml mobile Phase) die Totzeit bestimmt.

3.2.4.5 Auswertung

Für die Auswertung wird zuerst der Kapazitätsfaktor k' bestimmt.

$$k' = \frac{\text{Retentionszeit des Wirkstoffes} - 4 \text{ Totzeit}}{\text{Totzeit}}$$

Anschließend wird der $\log k'$ gegen die Volumenprozent Methanol aufgetragen. Mit den drei Datenpunkten, die den höchsten Wassergehalt aufweisen, wird eine lineare Regression durchgeführt und auf 0 % Methanol extrapoliert. Der Y-Achsenabschnitt ergibt den $\log k^{\text{app}}$ -Wert.

Über den $\log k^{\text{app}}$ -Wert kann der $\log P$ -Wert (Oktanol/Wasser) berechnet werden. Der $\log P$ ist unabhängig von der Größe des Moleküls. Dies gilt allerdings nicht für den $\log k^{\text{app}}$ -Wert, da die Retentionszeit durch Interaktionen mit dem Säulenmaterial von der Molekülgröße abhängig ist. Daher ist eine Korrektur erforderlich.

Säuren und Basen sind bei dem eingestellten pH-Wert von 7.2 ionisiert. Da der $\log P$ -Wert für nichtionisierte Moleküle gilt, ist auch hierfür eine Korrektur notwendig. Die pK_a -Werte für Säuren und Basen müssen bekannt sein.

Für die neutralen Moleküle

$$\log \left(\frac{\text{ion}_{\text{corr}}}{\text{neutral}} \right) = 0,$$

für die Säuren

$$\log \left(\frac{\text{ion}_{\text{corr}}}{\text{acid}} \right) = \log \left(\frac{1}{12} \cdot 10^{4(pK_a - pH)} \right),$$

für die Basen

$$\log \left(\frac{\text{ion}_{\text{corr}}}{\text{base}} \right) = \log \left(\frac{1}{12} \cdot 10^{pK_a - 4pH} \right).$$

Anhand dieser Überlegungen wird deutlich, dass man durch Variation des pH-Werts, anstatt der Methanolkonzentration, den pK_a -Wert einer Substanz auch mit der HPLC ermitteln kann.

Für die Berechnung des tatsächlichen $\log P$ -Wertes ergibt sich folgende Formel:

$$\log P_{\text{OW}} = a \log k^{\text{app}} + b \text{ion}_{\text{corr}} - c \text{ion}_{\text{corr}}^2 - d \text{MW} + e \text{MW}^2 + f$$

a, b, c, d, e und f = Korrekturfaktoren

Nach einer Kalibrierung mit Eichsubstanzen kann unter Verwendung dieser Gleichung der $\log P_{OW}$ berechnet werden. Die erhaltenen $\log P$ -Werte sind vom Messinstrument, der Säule und dem Säulenmaterial unabhängig.

Die Abbildung 3-9 zeigt die Korrelation zwischen dem $\log P_{OW}$ -Wert und dem aus $\log k^{app}$, ion_{corr} und dem Molekulargewicht errechneten Wert.

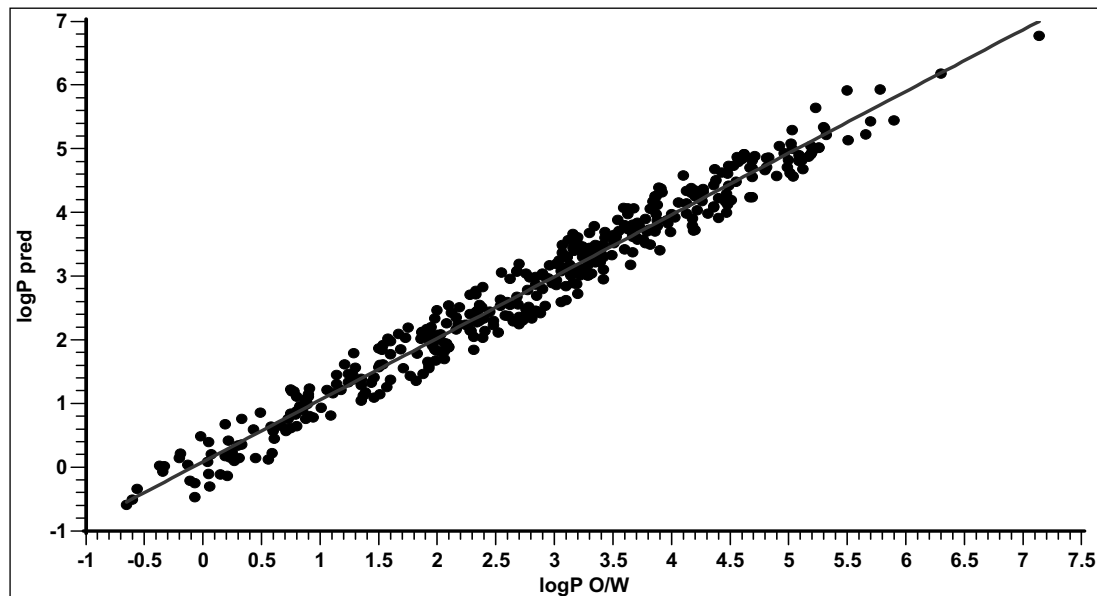


Abbildung 3-9: Korrelation zwischen den gemessenen $\log P$ -Werten aus der Literatur und den mit Hilfe der HPLC bestimmten und berechneten $\log P$ -Werten

Die zur Kalibrierung verwendeten Substanzen sind im Anhang (Tabelle 6-10) aufgeführt [März, unpublished data].

Für eine Säule vom Typ LiChroCART Superspher 100 RP-18, 75 μ m ergibt sich folgende Gleichung:

$$\log P_{OW} = 1.081 \log k^{app} + 0.215 \text{ ion}_{corr} - 3.688E-3 \text{ MW} + 0.335$$

($n = 47$, $r^2 = 0.97$, $s = 0.30$).

3.2.5 Berechnung des logD-Werts

Der Verteilungskoeffizient logD für Oktanol/Wasser wird nur im Zusammenhang mit ionisierbaren Molekülen verwendet. Ansonsten entspricht der logD-Wert dem logP. Im Allgemeinen ist der Verteilungskoeffizient logD definiert als die Summe der Konzentrationen aller geladenen und neutralen Zustandsformen einer Substanz im organischen Lösungsmittel, geteilt durch die Konzentrationen der gleichen Zustandsformen in Wasser. Die Konzentration der geladenen Ionen hängt dabei entscheidend vom pH-Wert der Lösung und dem pK_a-Wert der Substanz ab.

Es ist häufig nicht möglich, den logD-Wert über das gesamte pH-Spektrum experimentell zu bestimmen, da die Konzentration des nicht-ionisierten Moleküls bei hohen logD-Werten in der wässrigen Phase äußerst gering ist und somit kaum analysiert werden kann. Erschwerend kommt hinzu, dass sich die Phasen Oktanol und Wasser nicht scharf genug trennen lassen und somit schwer festzustellen ist, ob die analysierte, sehr geringe Konzentration wirklich nur aus der wässrigen Phase stammt. Ein Zahlenbeispiel soll die Schwierigkeit bei der experimentellen logP-Bestimmung verdeutlichen. Bei einem logP > 5 kommt auf 100 000 Moleküle in der organischen Phase, ein Molekül in der wässrigen Phase. Analysiert wird hierbei die wässrige Phase, also das eine Molekül. Durch die unpräzise Phasentrennung kann es leicht passieren, dass einige der 100 000 Moleküle bei der Analytik mitbestimmt werden. Schon ein einzelnes Molekül mehr in der wässrigen Phase führt zu einer doppelt so hohen Konzentration der Substanz in der wässrigen Phase. Experimentell ermittelte hohe logP- oder logD-Werte sind daher oft mit einem großen Fehler behaftet. Eine Berechnung dieser Werte führt daher oft zu besseren Ergebnissen.

Bei den Algorithmen nutzt man zur Bestimmung des pH-abhängigen logD-Profiles das Wissen, dass für eine Vielzahl einfach-geladener Moleküle, die Differenz zwischen dem logD des ionisierten Moleküls und dem logD des ungeladenen Moleküls vier log-Einheiten beträgt. Oft liegt diese Differenz bei Säuren etwas oberhalb von vier und bei Basen etwas unterhalb von vier [Scherrer, 1989; Avdeef, 1996]. In den unten angegebenen Algorithmen verändert sich der logD-Wert aber nur äußerst gering, wenn für Säuren statt 4, 4.5 und für Basen 3.5 eingesetzt wird.

Für Säuren gilt:

$$\log D = \log / 10^{\log P} \cdot 2 \cdot 10^{(\log P - 4.44 + pK_a - 2 \cdot pH)} \left(4 \log / 12 \cdot 10^{(4 - pK_a - pH)} \right)$$

für Basen:

$$\log D = \log \left(\frac{10^{\log P} \cdot 2 \cdot 10^{(\log P - 4.42 - \text{pKa}(\text{base}) - \text{pH})}}{4 \cdot \log \left(\frac{1}{2} \cdot 10^{(\text{pKa}(\text{base}) - \text{pH})} \right)} \right),$$

und für Ampholyte:

$$\log D = \log \left(\frac{10^{\log P} \cdot 2 \cdot 10^{(\log P - 4.44 - \text{pKa}_2 - \text{pH})} \cdot 2 \cdot 10^{(\log P - 4.42 - \text{pKa}(\text{base}) - \text{pH})}}{4 \cdot \log \left(\frac{1}{2} \cdot 10^{(\text{pKa}_2 - \text{pH})} \right) \cdot 2 \cdot 10^{(\text{pKa}(\text{base}) - \text{pH})} \right).$$

Die Algorithmen wurden von März [mündl. Kommunikation] nach Pliska et al. [1995] modifiziert.

3.2.6 Fehlerbetrachtungen

Fehlerquellen bei der Bestimmung der logP- bzw. der Berechnung der logD-Werte:

Die experimentellen logP-Werte wurden sowohl mit dem GLpKa-Gerät der Firma Sirius Analytical Instruments, als auch mit der in Kap. 3.2.4 beschriebenen HPLC-Methode bestimmt. Aus den experimentell bestimmten Werten und den Literaturwerten wurde die Standardabweichung bestimmt. Generell gilt, wie bereits im vorhergehenden Kapitel erwähnt, dass der logP-Wert von sehr lipophilen Substanzen sehr schwer zu bestimmen und daher oft Fehler behaftet ist. Die Messgenauigkeit des logP-Werts von Substanzen mit einem logP-Wert zwischen 0 und 3 liegt nach März [mündl. Kommunikation] bei 0.3 bis 0.4 log-Einheiten. Substanzen mit einem logP > 4.5 weisen einen höheren Fehler von 0.5 bis 1.0 log-Einheit auf.

An dieser Stelle sollen auch Fehlerquellen bei der Bestimmung der Löslichkeit erwähnt werden, die jedoch nicht genauer analysiert wurden. Die meisten von ihnen sind allerdings in die Standardabweichung der Löslichkeitswerte eingegangen.

- Fehler bei der Einwaage:

Sowohl die Herstellung der Vergleichsstandards für die HPLC, als auch die Herstellung der NaTC-, bzw. der Lezithinlösung sind mit Wägefehlern behaftet. Bei der Herstellung dieser Lösungen treten auch Volumenfehler auf.

- Reinheitsfehler:

Des Weiteren ist zu beachten, dass vor allem das Lezithin keine 100-prozentige Reinheit besitzt. Vom Hersteller werden 98 % garantiert. Ebenso können Verunreinigungen bei den Untersuchungssubstanzen zu einer verbesserten Löslichkeit führen.

- Temperaturfehler:

Einen erheblichen Einfluss auf die Löslichkeit hat die Temperatur. Die Schüttelapparatur wurde auf 37°C erwärmt. Die Genauigkeit des Gerätes wird mit $\pm 2^\circ\text{C}$ angege-

ben. Ein wesentlich größerer Fehler kann auftreten, wenn die Probe aus der temperierten Schüttelapparatur herausgenommen und bei Raumtemperatur analysiert wird. Um ein Ausfallen der Substanz zu verhindern, wurde in die HPLC-Vials 0.25 ml organisches Lösungsmittel vorgegeben. Filter und Pipetten wurden für die Filtration vorgewärmt. Hierbei besitzen die UniPrep-Filtern den Vorteil, dass die komplette Filtriereinheit in den Schüttler gestellt werden kann.

4 ERGEBNISSE

4.1 Methodenvergleich - potentiometrische Titration versus Shake-Flask

Im folgenden Kapitel wird auf die Unterschiede zwischen den zur Löslichkeitsbestimmung verwendeten Methoden eingegangen. Zu Beginn der vorliegenden Arbeit stellte sich zunächst die Frage, welche Methode für die Löslichkeitsmessungen am geeignetsten ist. Sowohl für die eigenen Messungen, als auch für die Löslichkeitsuntersuchungen der Firma Merck mussten bestimmte Kriterien erfüllt werden. Für die Löslichkeitsmessungen unter dem Einfluss von Gallensalzen waren Genauigkeit, ein hoher Durchsatz und die problemlose Verwendung unterschiedlicher Medien vorrangig. Durch die große Anzahl an Messungen wurde außerdem ein geringer Substanzverbrauch angestrebt.

Aufgrund seines geringen Substanzverbrauchs und der Möglichkeit ein pH-abhängiges Löslichkeitsprofil zu vermessen, interessierte die Firma Merck zu Beginn der Arbeit besonderes das pSol-Gerät.

Dipyridamol

Für Dipyridamol konnten folgende Löslichkeiten mit den unterschiedlichen Methoden ermittelt werden:

pH	Shake-Flask	pSol	pSol Kosolvenz MeOH*	pSol Kosolvenz MeOH**
	Löslichkeit [µg/ml]	Löslichkeit [µg/ml]	Löslichkeit [µg/ml]	Löslichkeit [µg/ml]
3.5	2199.4 ∂ 99.4			
4.2	342.7			
5.0	54.1 ∂ 2.2	39.9 ∂ 4.98	120.1	88.9
6.0	10.5 ∂ 0.94	5.5 ∂ 0.66	16.5	12.2
7.0	4.9 ∂ 0.13	2.1 ∂ 0.25	6.2	4.6
7.8	6.0 ∂ 0.22	1.8 ∂ 0.22	5.3	3.9

Tabelle 4-1: Bestimmung der Löslichkeit von Dipyridamol bei 37°C mit unterschiedlichen Methoden

* Messung mit dem Kosolvenz MeOH. Es wurden alle 9 Messpunkte verwendet.

** Messung mit dem Kosolvenz MeOH. Die Messpunkte bei 21.9 % MeOH wurden nicht in die Berechnung der Regressionsgeraden einbezogen.

Bei der potentiometrischen Löslichkeitsbestimmung wurde die Messung unter Zusatz

von unterschiedlichen Mengen Methanol wiederholt.

Volumenprozent Methanol	$-\log S_0$ [M]
8.9	4.905
10.5	4.812
12.7	4.618
16.0	4.264
21.9	3.869
21.9	3.931
33.3	4.073
45.5	3.642
62.2	2.743

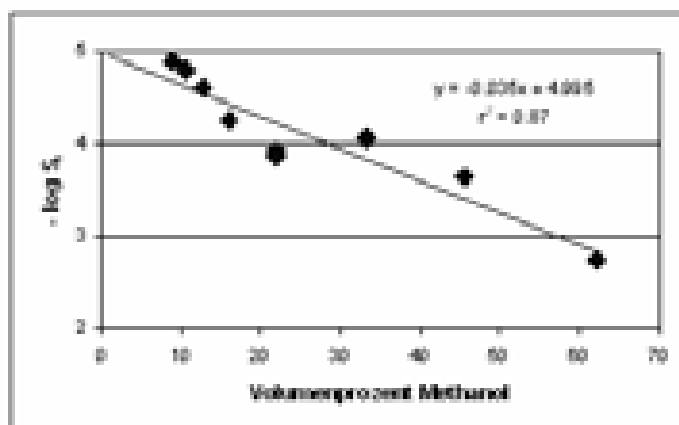


Tabelle 4-2: Löslichkeitsbestimmung von Dipyridamol mit dem pSol-Gerät unter Verwendung eines Kosolvenz (Methanol)

Bestimmt wurden der Logarithmus der intrinsischen Löslichkeiten ($\log S_0$) bei unterschiedlichen Volumenprozent Methanol. Der extrapolierte y-Achsenabschnitt ergibt den $-\log S_0$ -Wert im wässrigen Milieu.

Nach der Extrapolation auf 0 Volumenprozent Methanol wird eine intrinsische Löslichkeit von $-\log S_0 = 4.995$ oder $5.1 \mu\text{g/ml}$ bestimmt. Mit Hilfe dieses S_0 -wertes lassen sich die in Tabelle 4-1, Spalte 4 (pSol (Methanol)*) angegebenen, pH-abhängigen Löslichkeiten errechnen. Die Werte in Spalte 5 (pSol (Methanol)**) unterscheiden sich von denen der vorhergehenden Spalte nur dadurch, dass die Werte bei 21.9 % Methanol als Ausreißer betrachtet wurden. Hierdurch verbesserte sich die Korrelation der Geraden ($r^2 = 0.95$). Die Löslichkeitswerte veränderten sich infolgedessen vor allem bei den niedrigen pH-Werten.

Glibenclamid

Für Glibenclamid konnten mit den unterschiedlichen Methoden folgende Löslichkeiten ermittelt werden:

pH	Shake-Flask Löslichkeit [µg/ml]	pSol Löslichkeit [µg/ml]	pSol Kosolvenz MeOH* Löslichkeit [µg/ml]	pSol Kosolvenz MeOH** Löslichkeit [µg/ml]	pSol Kosolvenz ACN Löslichkeit [µg/ml]
2.0	0.07 ∂ 0.002	0.22 ∂ 0.11	0.06	0.03	0.05
3.0	0.06 ∂ 0.01	0.22 ∂ 0.11	0.06	0.03	0.05
5.0	0.10 ∂ 0.06	0.35 ∂ 0.14	0.01	0.05	1.01
6.0	0.62 ∂ 0.15	1.58 ∂ 0.44	0.56	0.29	5.35
7.0	5.62 ∂ 0.72	13.17 ∂ 3.66	5.13	2.64	48.7
8.0	51.2 ∂ 0.29		51.2	26.3	
9.0	98.6 ∂ 0.83				
11.8	531.6 ∂ 9.60				

Tabelle 4-3: Bestimmung der Löslichkeit von Glibenclamid bei 37°C mit unterschiedlichen Methoden

Potentiometrisch wurde die Löslichkeit auch in Methanol und Acetonitril bestimmt. Die Löslichkeiten, die in Acetonitril gemessen wurden, zeigten eine sehr gute Linearität. Das bedeutet aber nicht, dass die sich daraus ergebenden wässrigen Löslichkeiten eine gute Übereinstimmung mit den Shake-Flask Daten aufweisen.

Volumenprozent ACN	- log S ₀ [M]
27.8	4.74
32.9	4.53
38.7	4.26

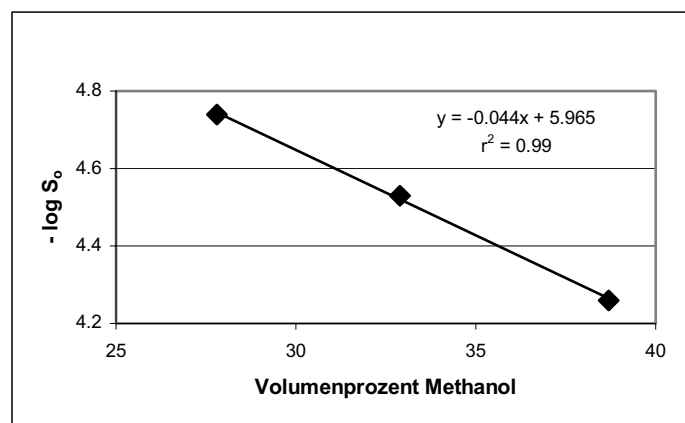


Tabelle 4-4: Löslichkeitsbestimmung von Glibenclamid mit dem pSol-Gerät unter Verwendung des Kosolvenz Acetonitril

Die Messungen mit dem Kosolvenz Methanol ergaben folgende Werte:

Volumenprozent Methanol	- log S ₀ [M]
17.0	6.431
23.9	5.896
28.3	5.006
29.0	4.428
34.6	6.772
48.2	4.371
55.3	4.36
58.0	3.875
68.3	3.691

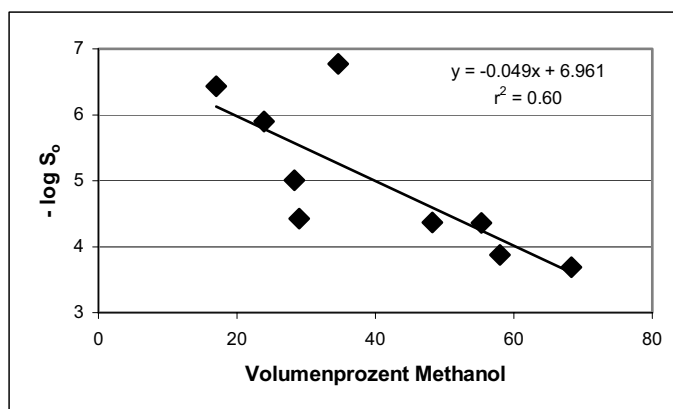


Tabelle 4-5: Löslichkeitsbestimmung von Glibenclamid mit dem pSol-Gerät unter Verwendung des Kosolvenz Methanol

In der Tabelle 4-3 sind die aus der Geraden ermittelten Löslichkeiten dargestellt. Werden alle Werte der Geraden genommen, so entsprechen die ermittelten Löslichkeiten (pSol (Methanol)*) denen mit der Shake-Flask Methode bestimmten Werten. Nimmt man allerdings die drei deutlichen Ausreißer bei ca. 30 Prozent Methanol aus der Geradengleichung heraus, so ergeben sich nur halb so große Löslichkeiten (pSol (Methanol)**) wie in Spalte 5 der Tabelle 4-3. Der Faktor 2 liegt durchaus im Rahmen der Messgenauigkeit der Shake-Flask Methode. Dass jedoch einige Werte bei der Regression um über 1.5 log-Einheiten von der Regressionsgerade abweichen, zeigt die Notwendigkeit von mindestens 6 bis 9 Einzelmessungen. Am Beispiel des Glibenclamids wird die Schwierigkeit mit dem Zusatz von organischem Lösungsmittel deutlich. Mit Acetonitril ergibt sich eine bessere lineare Korrelation als mit dem Kosolvenz Methanol. Die sich hieraus ergebenden wässrigen Löslichkeiten entsprechen aber nicht denen der Shake-Flask Methode. Auch die Auswertung der Löslichkeiten unter dem Zusatz von Methanol erweist sich als schwierig. Nur unter Einbeziehung der Ausreißer erhält man die gleichen Werte, wie mit der Shake-Flask Methode.

Mefenaminsäure

pH	Shake-Flask	pSol	pSol Kosolvenz MeOH
	Löslichkeit [µg/ml]	Löslichkeit [µg/ml]	Löslichkeit [µg/ml]
2	0.06 ∂ 0.002	0.06 ∂ 0.02	0.96
3	0.07 ∂ 0.01	0.06 ∂ 0.02	0.98
5	0.65 ∂ 0.03	0.19 ∂ 0.08	3.12
6	7.18 ∂ 0.15	1.41 ∂ 0.58	22.37
7	67.2 ∂ 3.27	13.7 ∂ 5.62	
8	357.0 ∂ 2.79		
9	486.2 ∂ 3.13		

Tabelle 4-6: Bestimmung der Löslichkeit von Mefenaminsäure bei 37°C mit den unterschiedlichen Methoden

Die Löslichkeit der Mefenaminsäure bei niedrigen pH-Werten wurden von dem pSol sehr akkurat gemessen. Erst bei höheren pH-Werten wird die Diskrepanz zu den mit der Shake-Flask Methode ermittelten Löslichkeiten größer. Die Zugabe von Kosolvenz führt trotz guter Korrelation nicht zu einem besseren Ergebnis.

Messung im Kosolvenz:

Volumenprozent Methanol	- log S ₀ [M]
22.4	4.528
34.2	4.267
37.4	3.567
48.9	3.182
52.8	3.309
74.5	2.395

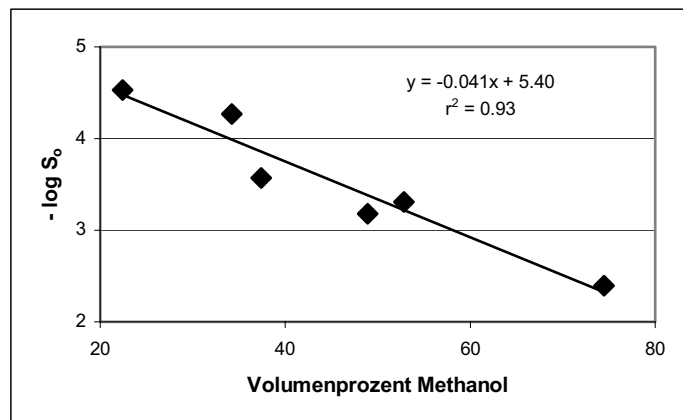


Tabelle 4-7: Löslichkeitsbestimmung von Mefenaminsäure mit dem pSol-Gerät unter Verwendung des Kosolvenz Acetonitril

Phenytoin

Auch bei Phenytoin zeigt sich, dass die mit dem pSol im wässrigen Milieu ermittelten Löslichkeiten gut mit den durch die Shake-Flask Methode bestimmten Werten übereinstimmen. Auch bei diesem Wirkstoff lohnt es sich nicht, mit einem Kosolvenz zu messen. Trotz eines Korrelationskoeffizienten von $r^2 = 0.97$ waren die Werte um den Faktor 6 höher als bei der Shake-Flask Methode.

pH	Shake-Flask Löslichkeit [$\mu\text{g/ml}$]	pSol Löslichkeit [$\mu\text{g/ml}$]	pSol Kosolvenz MeOH Löslichkeit [$\mu\text{g/ml}$]
5	31.00 \pm 2.03	20.62 \pm 2.67	126.8
6		20.70 \pm 2.69	127.1
7		21.49 \pm 2.81	130.9
8		29.52 \pm 3.98	168.1

Tabelle 4-8: Bestimmung der Löslichkeit von Phenytoin bei 37°C mit den unterschiedlichen Methoden

Volumenprozent Methanol	- log So [M]
6	3.106
10	2.874
11.2	2.884
19.2	2.507
21.2	2.211
42.4	1.583

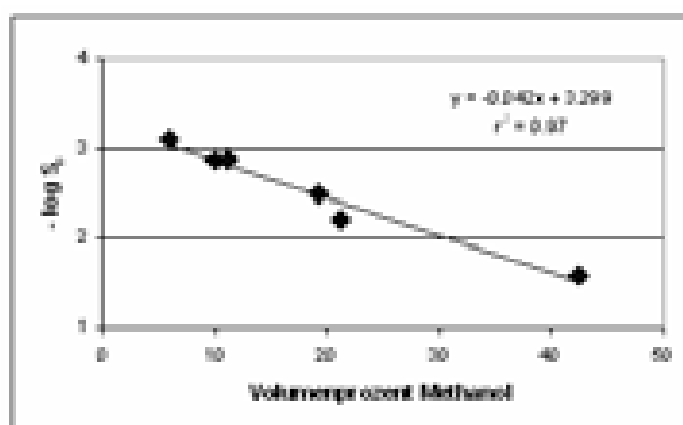


Tabelle 4-9: Löslichkeitsbestimmung von Phenytoin mit dem pSol unter Verwendung des Kosolvenz Methanol

Levothyroxin

Bei Levothyroxin gelang es nicht, mit dem pSol eine auswertbare Messung im wässrigen Milieu durchzuführen. Vermutlich traten aufgrund von Präzipitation große Sprünge im Bjerrum-Plot auf und machten eine eindeutige Bestimmung von pK_a^{app} unmöglich. Die Löslichkeitswerte, die man unter dem Zusatz von Methanol erhielt, sind zwar ausgezeichnet, bei der Betrachtung der Korrelation zwischen $-\log S_0$ und dem Volumenprozent Methanol scheinen sie jedoch eher ein Zufallsprodukt zu sein.

pH	Shake-Flask Löslichkeit [$\mu\text{g/ml}$]	pSol Kosolvenz Methanol Löslichkeit [$\mu\text{g/ml}$]
5	0.26 ± 0.1	0.22
6	0.27 ± 0.1	0.24
7	0.49 ± 0.1	0.45

Tabelle 4-10: Bestimmung der Löslichkeit von Levothyroxin bei 37°C mit den unterschiedlichen Methoden

Volumenprozent Methanol	$-\log S_0$ [M]
12.2	5.54
17.8	6.15
33.2	6.24
40.6	5.37
48.9	5.45
62.9	5.37

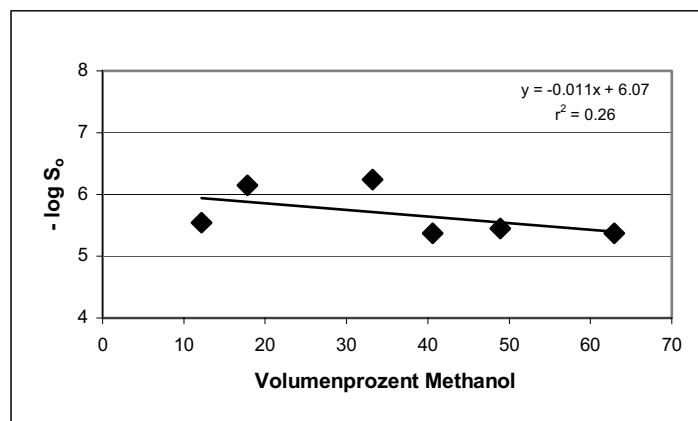


Tabelle 4-11: Löslichkeitsbestimmung von Levothyroxin mit dem pSol unter Verwendung des Kosolvenz Methanol

4.1.1 Vergleich der Methoden nach Zeitaufwand

Bei dem **pSol-Gerät** ist die Zeit eine Variable, die nur schwer zu Beginn der Messung abgeschätzt werden kann. Dies liegt daran, dass das Gerät bei seinen Messungen selbst bestimmt, wie viel Zeit benötigt wird, bis nach der Zugabe der Titrationslösung der pH-Wert gemessen wird. Das Instrument verlangsamt die Aufnahme- frequenz der pH-Messungen, sobald es sich der berechneten vollständigen Freisetzung des Wirkstoffes nähert, da in diesem pH-Bereich mehr Zeit benötigt wird, damit sich weitere Substanz auflösen kann. Die zeitliche Problematik besteht nun darin, dass das pSol-Gerät den pH-Wert über die Spannung an der Elektrode misst und den Messpunkt erst dann aufzeichnet, wenn sich ein stabiles Gleichgewicht (∂ 0.01 mV/sec) zwischen gelöster und ungelöster Substanz eingestellt hat. Je schlechter löslich eine Substanz ist, desto mehr Zeit wird für die Einstellung des Gleichgewichts benötigt. Die Tabelle 4-12 verdeutlicht, dass Glibenclamid (24.3 h) und Mefenaminsäure (14.6 h), mit intrinsischen Löslichkeiten von 0.06 µg/ml, wesentlich mehr Zeit benötigen als Phenytoin (5.4 h) und Dipyridamol (3.1 h).

Außerdem werden in diesem kritischen pH-Bereich mehr Messpunkte aufgezeichnet, da für jede neue Messung nur sehr wenig neue Titrationslösung hinzugegeben wird. Eine sehr genaue Messung in diesem Bereich ist unbedingt erforderlich, da hier die entscheidenden Punkte für den Verlauf der Titrationskurve, und damit für die Bestimmung der Löslichkeit, ermittelt werden. Die gesamte Messung kann durch eine Veränderung der Messempfindlichkeit der Elektrode oder durch eine erhöhte Mindestzugabe an Titrationslösung beschleunigt werden, wodurch sich jedoch die Gefahr eines Messfehlers erhöht.

Dauert eine Messung im wässrigen Milieu sehr lange (> 10 Stunden), bedeutet dies, dass die Substanz sehr schwer löslich ist und die Messung besser unter dem Zusatz von organischem Lösungsmittel wiederholt werden sollte, da dadurch eventuell die Messdauer verkürzt und die Genauigkeit erhöht werden kann.

Bei der potentiometrischen Löslichkeitsbestimmung kommen zu der reinen Messzeit noch die wöchentlichen Kalibrierungen des Puffers und der Titranden hinzu, die mindestens einen halben Tag beanspruchen. Nach einer Löslichkeitsbestimmung ist es zudem sinnvoll, die Elektrode für einige Stunden zum Elektrolytausgleich in eine Kaliumchlorid-Lösung zu stellen. Auch für die Auswertung werden mindestens 15 Minuten benötigt.

Die Erfahrungen mit dem pSol-Gerät zeigten, dass maximal drei Löslichkeitsbestim-

mungen pro Woche möglich waren, wenn die Löslichkeit des Wirkstoffes - wie bei der Shake-Flask Methode - dreifach bestimmt werden sollte.

	log P	Shake-Flask Puffer	pSol 0.15 M KCl	pSol 0.15 M KCl+MeOH	pSol 0.15 M KCl+ACN
Dipyridamol	3.47	25 h	3.1 h	30.9 h (9 Mess.)	24.4 h (3 Mess.)
Glibenclamid	4.39	25 h	24.3 h	119.4 h (9 Mess.)	
Mefenaminsäure	5.12	25 h	14.6 h	64.1 h (6 Mess.)	
Phenytoin	2.47	25 h	5.4 h	36.1 h (6 Mess.)	
Levothyroxin	4.12	25 h	n. a.	21.2 h (6 Mess.)	

Tabelle 4-12: Benötigte Messzeit in Stunden für die unterschiedlichen Substanzen und verschiedenen Bestimmungsmethoden

n.a. = nicht auswertbar

Für die Löslichkeitsbestimmungen mit dem pSol-Gerät wird bei Zugabe von unterschiedlichen Volumenprozent eines Kosolvenz gemessen. Die Anzahl der Messungen ist in Klammern hinter der Messzeit angegeben.

Die **Shake-Flask Methode** ist, wie bereits beschrieben, zeitlich definiert. Für die Schüttelzeit würden häufig schon acht Stunden genügen, 24 Stunden sind jedoch auf jeden Fall ausreichend. Das Herstellen der Pufferlösungen und der Vergleichstandards sind mit weiteren 10 Minuten zu berücksichtigen. Die arbeits- und zeitintensivsten Tätigkeiten bilden die Entwicklung der HPLC-Methode, deren Durchführung sowie die Auswertung. Bei den Löslichkeitsbestimmungen zahlreicher Merck-Substanzen zeigte sich jedoch, dass viele Substanzen mit derselben oder zumindest sehr ähnlichen Methoden vermessen werden können. Die Methodenfindung wird durch die vorherige Berechnung der Löslichkeit stark vereinfacht, da auf diese Weise die Lipophilie und die ungefähre Löslichkeit der Substanzen bereits bekannt sind. Der zeitliche Vorteil gegenüber der potentiometrischen Methode liegt darin, dass man bei der HPLC-Methode viele unterschiedliche Proben parallel laufen lassen kann.

Im Gegensatz zum pSol, mit dem maximal bis zu drei Proben in der Woche gemessen werden, können mit der Shake-Flask Methode bis zu zwanzig unterschiedliche Wirkstoffe pro Woche untersucht werden. Werden mit einer Substanz Löslichkeitsuntersuchungen in verschiedenen Medien durchgeführt, ist allein die HPLC-Analytik der zeitlimitierende Faktor. In der vorliegenden Arbeit wurden die Wirkstoffe bei unterschiedlichen Gallensalzkonzentrationen vermessen. Dabei wurden teilweise an

einem Tag mehr als 100 Proben geschüttelt, die anschließende Analytik benötigte allerdings mehr als einen Tag.

4.1.2 Vergleich der Methoden nach Substanzverbrauch

Der Substanzverbrauch bei beiden Methoden hängt vor allem von der Löslichkeit der Untersuchungssubstanzen ab. Um die Sättigungslöslichkeit einer gut löslichen Substanz zu ermitteln, wird mehr Wirkstoff benötigt als bei einer schwer löslichen Verbindung. Eine Berechnung der Löslichkeit, wie sie das pSol-Gerät vor der Einwaage der Substanz vornimmt, ist auch bei der Shake-Flask Methode von Vorteil, da der notwendige Substanzverbrauch damit abgeschätzt werden kann.

Für das pSol-Gerät werden bei einer Dreifachbestimmung meist 100 – 500 µg Substanz benötigt. Da es besser ist, zwei bis drei Dreifachbestimmungen durchzuführen, liegt der Substanzverbrauch meist unter 1.5 mg.

Bei der Shake-Flask Methode muss die Substanz im Überschuss vorliegen. Durch eine Berechnung der Löslichkeit vor der Messung, kann dieser Überschuss so gering wie möglich gehalten werden. Eine visuelle Kontrolle der Probe nach dem Schütteln sollte dennoch durchgeführt werden. Es muss noch ungelöste Substanz vorhanden sein.

Auch bei dieser Methode sind für eine schlechtlösliche Verbindung 200 µg Substanz ausreichend. Für die Löslichkeitsbestimmung bei einem einzelnen pH-Wert reicht in der Regel eine Doppelbestimmung aus. Wird die Konzentration der beiden Einzelmessungen in der HPLC doppelt bestimmt, sollte auch ein analytischer Fehler minimiert sein. Der Substanzverbrauch ist aber vor allem von der Anzahl der Messungen und der Herstellung des Standards abhängig. Jeder weitere pH-Wert, bei dem die Löslichkeit bestimmt werden soll, verbraucht Substanz.

Bei der Shake-Flask Methode wird zusätzlicher Wirkstoff für die Herstellung des Standards benötigt. Hier kann durch eine hohe Einwaage der Wägefehler reduziert werden. Mit einer sehr präzisen Waage und der entsprechenden Sorgfalt kann diese Einwaage allerdings auf ca. 1 mg reduziert werden.

Insgesamt betrachtet werden für die Löslichkeitsbestimmung mit dem pSol-Gerät bei drei Dreifachbestimmungen meist nur 1-2 mg Wirkstoff benötigt. Mit dieser Menge kommt man auch bei der Shake-Flask Methode aus, wenn die Löslichkeit nur für einen pH-Wert doppelt bestimmt wird.

4.1.3 Vergleich nach Genauigkeit

Die Ergebnisse der Löslichkeitsbestimmungen zeigen, dass bei den meisten Messungen die Standardabweichungen der Shake-Flask Messungen nur halb so groß sind, wie bei den Messungen mit dem pSol-Gerät. Die höhere Genauigkeit spricht eindeutig für die Shake-Flask Methode. Hinzu kommt, dass die Auswertung der Shake-Flask Methode wesentlich eindeutiger ist und somit keine eigenen Interpretationen möglich sind. Bei der potentiometrischen Messung weist die erhaltene Titrationskurve oft einige Ausreißer auf, die vor der Auswertung entfernt werden müssen. Die Herausnahme einzelner Punkte kann das Endergebnis jedoch sehr verändern.

Die Messungen, die mit organischem Kosolvenz durchgeführt wurden, sind in der Auswertung oft eindeutiger, allerdings sollten mindestens sechs Datenpunkte gesammelt werden. Dies bedeutet einen erhöhten Zeitaufwand und führt nicht unbedingt zur verbesserten Übereinstimmung mit den Shake-Flask Ergebnissen.

4.1.4 Universalität der Methoden

Mit dem pSol-Gerät können aufgrund des Messprinzips (Säure-Base-Titration) nur ionisierbare Substanzen vermessen werden. Dagegen kann mit der Shake-Flask Methode auch die Löslichkeit von Neutralsubstanzen bestimmt werden. Voraussetzung für die Detektion durch die HPLC-Anlage ist lediglich eine chromophore Gruppe.

Mit beiden Methoden sind Substanzen nicht zu bestimmen, die sich im wässrigen Milieu zersetzen. Bei der Shake-Flask Methode wird der Zerfall einer Substanz aber aufgrund der Analytik auffallen, beim pSol nicht unbedingt.

4.1.5 Erstellung eines pH-Profiles

Das pSol-Gerät ist in der Lage, über einen großen pH-Bereich die Löslichkeit nach jeder Messung in Schritten von 0.1 pH-Einheiten wiederzugeben. Allerdings sind hier Einschränkungen zu beachten. Das pSol-Gerät kann das Löslichkeitsprofil nur bis zu dem pH-Wert angeben, bei dem sich die Substanz vollständig aufgelöst hat. Das pH-Profil lässt sich zwar durch eine erhöhte Substanzeinwaage erweitern, dies führt aber zu verlängerten Messzeiten und einer erniedrigten Messgenauigkeit.

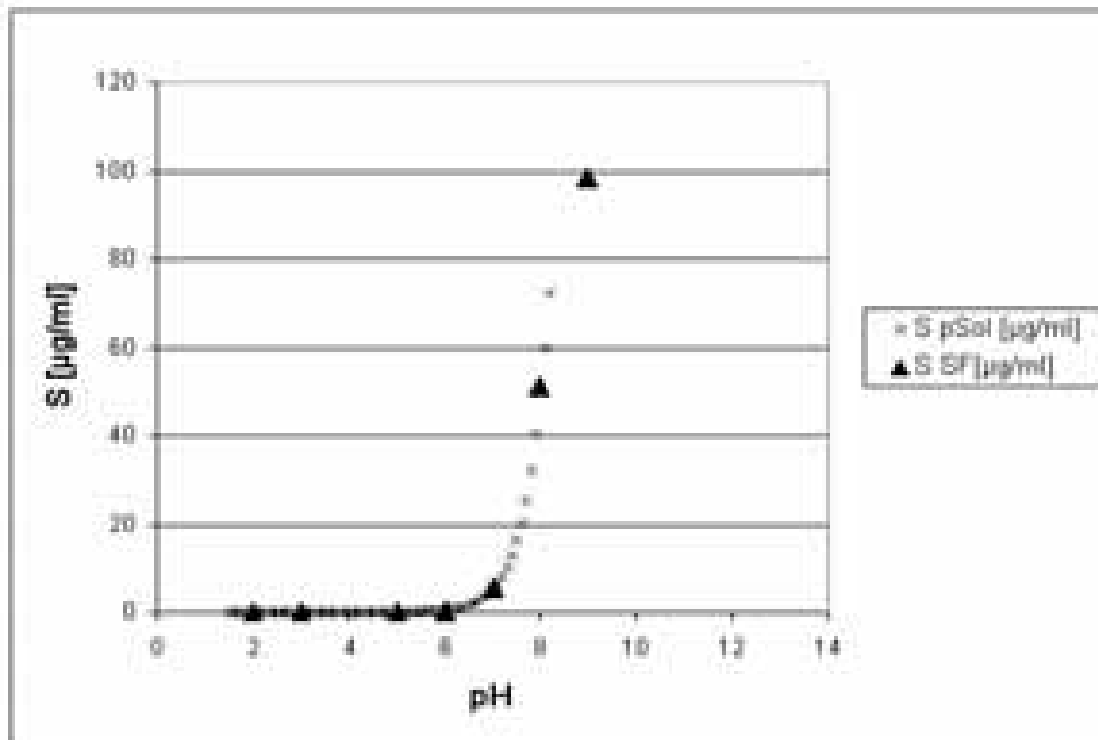


Abbildung 4-1: Löslichkeits-pH-Profil von Glibenclamid, bestimmt mit der Shake-Flask Methode und dem pSol-Gerät

Um mit Hilfe der Shake-Flask Methode ein solches pH-Profil zu erstellen, bedarf es eines wesentlich höheren Arbeitsaufwandes. Für jeden gewünschten pH-Wert muss zunächst ein Puffer hergestellt werden. Zusätzlich werden die Messungen dadurch erschwert, dass bei hohem Dissoziationsgrad die Pufferkapazität des Mediums schnell erschöpft ist und sich der pH-Wert im Untersuchungsmedium verändert. Der pH-Wert ist daher unbedingt zu kontrollieren und bei Bedarf nachzustellen. Eventuell würde es sich auch empfehlen, dem Puffer einen Indikator hinzuzufügen, der die Veränderung des pH-Wertes visuell erkennbar macht.

Es stellt sich die Frage, welche pH-Werte aus physiologischer Sicht interessant sind. Neben dem pH-Wert des Magen (ca. pH 1 - 2) sind für die Resorption die pH-Werte zwischen pH 5 und pH 7.5 von Bedeutung. Häufig ist es daher ausreichend drei bis vier pH-Werte exemplarisch zu untersuchen. Diese Lösungen können sehr schnell für die Shake-Flask Messungen auf Vorrat hergestellt werden (Haltbarkeit mind. 1 Monat). Bei der pH-Messung mit der Shake-Flask Methode muss kontrolliert werden, ob noch genügend Bodensatz vorhanden ist, damit sichergestellt werden kann, dass die Sättigungslöslichkeit gemessen wird. Bei Bedarf kann mehr Wirkstoff hinzugegeben werden. Der Lösung sollte dann jedoch mehr Zeit zur Gleichgewichtseinstellung gegeben werden.

Falls kein Bodensatz mehr vorhanden ist, kann auf weitere Wirkstoffzugabe auch verzichtet werden, um den Substanzverbrauch gering zu halten. Auf diese Weise ist über die Einwaage, zumindest die Angabe einer Mindestlöslichkeit möglich. Ein weiterer Vorteil der Shake-Flask Methode ist, dass durch die anschließende HPLC-Analytik Verunreinigungen der Substanz sowie pH-instabile Verbindungen erkannt werden können.

Für diese Messungen war das pSol weniger geeignet, da es, wie bereits beschrieben, nicht bei jedem pH-Wert die Löslichkeit wiedergeben kann. Die Löslichkeiten von Glibenclamid bei pH 8, pH 9 und pH 11.8 (531.6 µg/ml, in der Abbildung 4-1 nicht dargestellt) konnten nur mit der Shake-Flask Methode bestimmt werden. Diese pH-Werte sind zwar physiologisch nicht von Bedeutung, waren aber für die Entwicklung eines Modells zur Bestimmung der pH-abhängigen Wirkstoffverteilung in Gallensalzmizellen notwendig. Das pSol würde für Löslichkeitsbestimmungen bei diesen hohen pH-Werten mehr Wirkstoff benötigen, als der Computer für die Substanz berechnet. In einer zweiten Messreihe kann zwar mehr Wirkstoff verwendet werden, die hohe Einwaage führt jedoch zu einer verlängerten Messzeit und es besteht die Gefahr, dass während der Messung Präzipitation auftritt.

4.1.6 Verwendbare Untersuchungsmedien

Die Elektrode des pSol benötigt für optimale Werte eine Elektrolytlösung als Untersuchungsmedium. Standardmäßig wird eine 0.15 M KCl benutzt.

Um den Einfluss von Gallenkomponenten auf die Löslichkeit von Arzneistoffen unter gastrointestinalen Bedingungen zu untersuchen, wurde das FaSSIF-Medium verwendet. Neben Chlorid-Ionen sind in diesem Medium Phosphat-Ionen, NaTC und Lecithin enthalten. Es ist zu erwarten, dass die Phosphat-Ionen die potentiometrische Titration beeinflussen. Die pK_a -Werte der Phosphorsäure müssen die Titrationskurve der Messsubstanz beeinträchtigen, da auch die Wendepunkte der Phosphorsäure bestimmt werden. Die pH-Titration des pSol-Geräts ist für gepufferte Systeme nicht vorgesehen.

Nach Avdeef [Homepage pION] lassen sich mit dem pSol auch Löslichkeiten in Anwesenheit von Gallensalzen ermitteln. Eine Probemessreihe mit Phenytoin zeigte jedoch, dass die mit dem pSol gemessenen Werte wesentlich höher waren, als die mit der Shake-Flask Methode ermittelten und durch die Literatur bestätigten Werte.

NaTC [mmol]	Löslichkeiten bestimmt mit Shake-Flask [µg/ml]	Löslichkeiten bestimmt mit dem pSol [µg/ml]
0	31.0 ± 2.03	21.49 ± 2.81
1	29.6 ± 0.30	30.82 ± 0.56
3.75	29.8 ± 0.46	82.73 ± 1.26
7.5	32.6 ± 0.74	102.31 ± 14.49

Tabelle 4-13: Löslichkeitsbestimmung von Phenytoin bei unterschiedlichen Gallensalzkonzentrationen

Die Löslichkeiten (37°C, pH7) wurden mit der Shake-Flask Methode und dem pSol-Gerät gemessen.

Generell liegt der Vorteil der Shake-Flask Methode darin, dass das Medium sehr flexibel gewählt werden kann. Bei dem pSol muss nach einem Wechsel des Mediums die Elektrode erneut kalibriert werden.

4.1.7 Vorteile des pSol-Gerätes

Für die potentiometrische Löslichkeitsbestimmung mit dem pSol-Gerät spricht vor allem der geringe Substanzverbrauch. Für die Messungen der vorliegenden Arbeit reichte eine Substanzeinwaage von oft nur 100 µg aus. Dass man mit dieser geringen Wirkstoffmenge und einer einzigen Messung das pH-abhängige Löslichkeitsprofil aufnehmen kann, ist die zweite interessante Besonderheit dieses Gerätes.

4.1.8 Vorteile der Shake-Flask Methode

Die Shake-Flask Methode weist gegenüber der potentiometrischen Löslichkeitsbestimmung einige Vorteile auf. Die Möglichkeit, mit dieser Methode auch Neutralstoffe vermessen zu können, erweitert ihren Anwendungsbereich in bezug auf die Untersuchungssubstanzen. Das Medium, in dem die Löslichkeitsmessung durchgeführt werden soll, kann wesentlich besser variiert werden. Die bei dem pSol notwendige Kalibrierung der Elektrode auf das neue Medium entfällt. Die Ergebnisse, die man mit der klassischen Shake-Flask Methode erhält, weisen eine höhere Genauigkeit und eine größere Zuverlässigkeit auf.

Zuletzt sei noch bemerkt, dass die anschließende HPLC-Messung zwar der zeitaufwendigste Schritt ist, diese Analytik jedoch den Vorteil hat, dass mögliche Unreinheiten oder Instabilitäten der Substanz erkannt werden können. Für die Genauigkeit der Daten ist dies ein Vorteil, da Verunreinigungen die eigentliche Löslichkeit verfälschen können.

4.1.9 Zusammenfassung

Für die weiteren Untersuchungen wurde die Shake-Flask Methode verwendet. Dafür sprach vor allem, dass bei dieser Methode das Medium mit den Gallensalzen jederzeit variiert werden kann. Nachdem für die verschiedenen Untersuchungssubstanzen HPLC-Methoden ermittelt waren, konnte mit einem deutlich höheren Durchsatz gemessen werden als mit dem pSol-Gerät. Die im Rahmen der Shake-Flask Methode erforderliche Schüttelzeit von 24 Stunden erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass die thermodynamische stabilste Form vermessen wird. Somit ist die etwas längere Messdauer eher ein Vorteil. Nicht zuletzt lässt die größere Präzision der Ergebnisse nur die Shake-Flask Methode zu.

Für die Löslichkeitsbestimmungen der Firma Merck wurde ebenfalls die Shake-Flask Methode gewählt. Hier überzeugte vor allem der hohe Durchsatz und die gleichzeitige Reinheitsprüfung. Sie wogen den Nachteil des hohen Substanzverbrauchs von maximal 5 mg auf. Außerdem sollten bereits schon in der Präklinik die Löslichkeiten in speziellen Medien gemessen werden. Eine unzureichende Löslichkeit führt schon bei Tierversuchen zu Resorptionsproblemen. Das Wissen um die Löslichkeit eines Wirkstoffes unter Zusatz von Lösungsvermittlern ist daher für die pharmazeutische Präklinik und die Präformulierung von Bedeutung.

4.2 Korrelation zwischen gemessenen und berechneten Löslichkeiten

In diesem Abschnitt werden die gemessenen Löslichkeiten mit den berechneten verglichen. Die Berechnung der Löslichkeiten erfolgte auf zwei verschiedene Arten. Die erste beruht auf der Formel von Yalkowsky [1999]. Für die zweite Kalkulation wurde das Programm WSKOWWIN v.1.40 verwendet. Bei diesem Programm der Firma Syracuse sind zwei Berechnungsvarianten möglich. Zum einen kann nur die Struktur der Verbindung in Form eines SMILES-codes, MOL- oder DF-files eingegeben werden. Aus der Struktur errechnet das Programm den logP-Wert sowie die intrinsische Löslichkeit. Beim WSKOWWIN v.1.40 besteht jedoch auch die Möglichkeit, die gemessenen physikochemischen Parameter, logP und Schmelzpunkt, einzugeben. Um eine Auswahl zwischen den beiden Berechnungsvarianten zu treffen, musste überprüft werden, bei welcher von ihnen die berechneten Werte am besten mit den experimentellen Löslichkeiten übereinstimmten.

Die Löslichkeit nach Yalkowsky berechnet sich aus:

$$-\log S_o = 1.09 \log P + 0.01 (\text{Smp.} - 25) - 0.64$$

Für Flüssigkeiten wird der Schmelzpunkt (Smp.) = 25°C gesetzt.

Das Computerprogramm WSKOWWIN berechnet die Löslichkeit mit folgendem Algorithmus:

$$\log S_o = -1.03 \log P - 0.011(\text{Smp.} - 25) + 0.34 + \sum f_j$$

f_j Korrekturfaktoren

Für die Berechnung wurden die Werte aus Tabelle 2-1 verwendet.

Mit den folgenden Gleichungen wurde aus $\log S_o$ die pH-abhängige Löslichkeit berechnet.

Für Säuren:

$$S[\text{mg/ml}] = (10^{-(\log(10^{-\log S_o} + 10^{-(\log S_o - 4 - \text{pKa}_{\text{acid}} + \text{pH})) - \log(1 + 10^{-(\text{pKa}_{\text{acid}} + \text{pH}))}))} \cdot \text{Mw}$$

Für Basen:

$$S[\text{mg/ml}] = (10^{-(\log(10^{-\log S_o} + 10^{-(\log S_o - 4 + \text{pKa}_{\text{base}} - \text{pH})) - \log(1 + 10^{(\text{pKa}_{\text{base}} - \text{pH}))}))} \cdot \text{Mw}$$

Für Levothyroxin (Ampholyt):

$$S[\text{mg/ml}] = (10^{-(\log(10^{-\log S_o} + 10^{-(\log S_o - 4 + \text{pKa}_{\text{base}} - \text{pH})) + 10^{-(\log S_o - 4 - \text{pKa}_{\text{acid1}} + \text{pH})) + 10^{-(\log S_o - 4 - \text{pKa}_{\text{acid1}} - \text{pKa}_{\text{acid2}} + (2 \text{ pH}))} - \log(1 + (10^{(\text{pKa}_{\text{base}} - \text{pH}))} + (10^{-(\text{pKa}_{\text{acid1}} + \text{pH})) + (10^{-(\text{pKa}_{\text{acid1}} - \text{pKa}_{\text{acid2}} + (2 \text{ pH}))))))} \cdot \text{Mw}$$

Wirkstoff	gemessene Löslichkeit [µg/ml]	kalk. Löslichkeit ¹ WSKOWWIN [µg/ml]	kalk. Löslichkeit ² WSKOWWIN [µg/ml]	kalk. Löslichkeit ³ Yalkowsky-Gleichung [µg/ml]
Albendazol	0.95	40.76	4.61	10.70
Amiodaron	0.01	0.01	0.03	0.13
Beclometason-diprop.	0.46	0.69	0.35	1.42
Betamethason	63.00	116.00	30.20	256.00
Betamethason-17-Valerat	5.90	0.44	0.47	3.92
Danazol	0.21	6.10	0.50	0.52
Dexamethason	92.00	116.00	16.00	72.30
Dipyridamol	4.92	3.56	0.75	7.73
Dronabinol	0.03	0.01	0.11	0.01
Felodipin	0.86	6.05	5.19	2.98
Glibenclamid	5.60	6.49	8.76	66.60
Griseofulvin	10.40	136.00	17.30	96.30
Hydrocortison	326.00	217.00	59.50	420.00
Itraconazol	2.17E-04	1.75E-04	1.52E-03	3.60E-02
Ketoconazol	5.98	0.10	7.93	9.71
Ketotifenfumarat	837.00	189.00	908.00	354.00
L-Thyroxin	0.50	1.00	1.59	4.76
Mefenaminsäure	67.20	376.71	36.48	45.60
Miconazolnitrat	0.26	0.01	0.13	0.50
Niclosamid-Ethanolamin	1.00	30.26	3.47	2.75
Phenytoin	31.00	328.00	8.10	10.90
Terfenadinhydrochlorid	1.77	0.14	4.70	3.35
Testosteronpropionat	1.87	0.57	0.71	1.92
Triamcinolon	168.00	497.00	48.20	480.00
Trifluoperazindihydrochlorid	303.00	1.49	146.00	85.70

Tabelle 4-14: Vergleich der bei pH 7 gemessenen Löslichkeiten mit den berechneten Löslichkeiten

- ¹ mit WSKOWWIN v.1.40 kalkulierte Löslichkeit aus berechneten logP-Werten und Schmelzpunkten
- ² mit WSKOWWIN v.1.40 kalkulierte Löslichkeit aus gemessenen logP-Werten und Schmelzpunkten
- ³ Löslichkeit nach Yalkowsky [1999]

Um die Ergebnisse besser vergleichen zu können, wurden die Werte logarithmiert und graphisch aufgetragen.

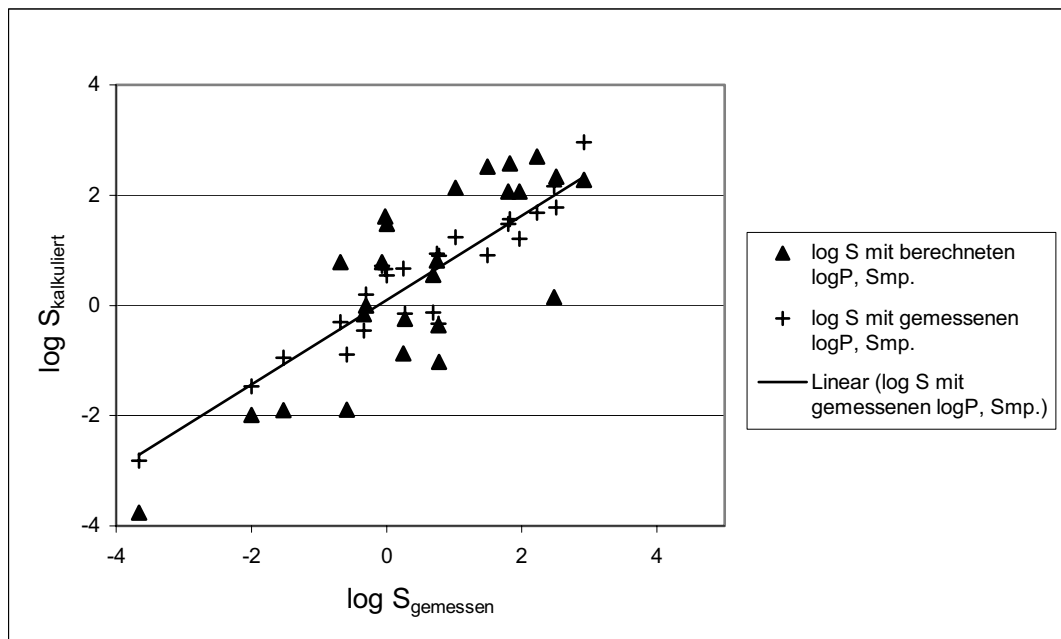


Abbildung 4-2: Korrelation zwischen den gemessenen Löslichkeiten und den mit dem WSKOWWIN v.1.40 berechneten Löslichkeiten

Die mit dem WSKOWWIN v.1.4 ohne Eingabe von bestimmten logP-Werten und Schmelzpunkten berechneten Löslichkeiten weisen die größten Abweichungen ($r^2 = 0.66$; Standardabweichung = 1.0) auf. Wesentlich genauer werden die vom Programm berechneten Werte, sobald die experimentell bestimmten Eigenschaften eingesetzt werden ($r^2 = 0.88$; Standardabweichung = 0.44). Die um ca. 0.5 höhere Standardabweichung bei den vollständig berechneten Werten lässt sich durch die Ungenauigkeit der kalkulierten Schmelzpunkte erklären. Dies verdeutlicht die Abbildung 4-3, in der die gemessenen Schmelzpunkte von Arzneistoffen mit den von dem Computerprogramm Syracuse MpBpVp 1.31 berechneten Schmelzpunkten korreliert werden. Der Berechnungsalgorithmus für den Schmelzpunkt ist in beiden Programmen derselbe. Der Fehler bei der Berechnung der Schmelzpunkte beträgt $\approx 53^\circ\text{C}$. In der zuvor genannten Gleichung von Meylan, geht der Schmelzpunkt mit dem Term $0.011 \cdot (\text{Smp.} - 25)$ ein. Der Fehler von 53°C geht in die Standardabweichung von $\log S_0$ mit ca. 0.5 log-Einheiten ein.

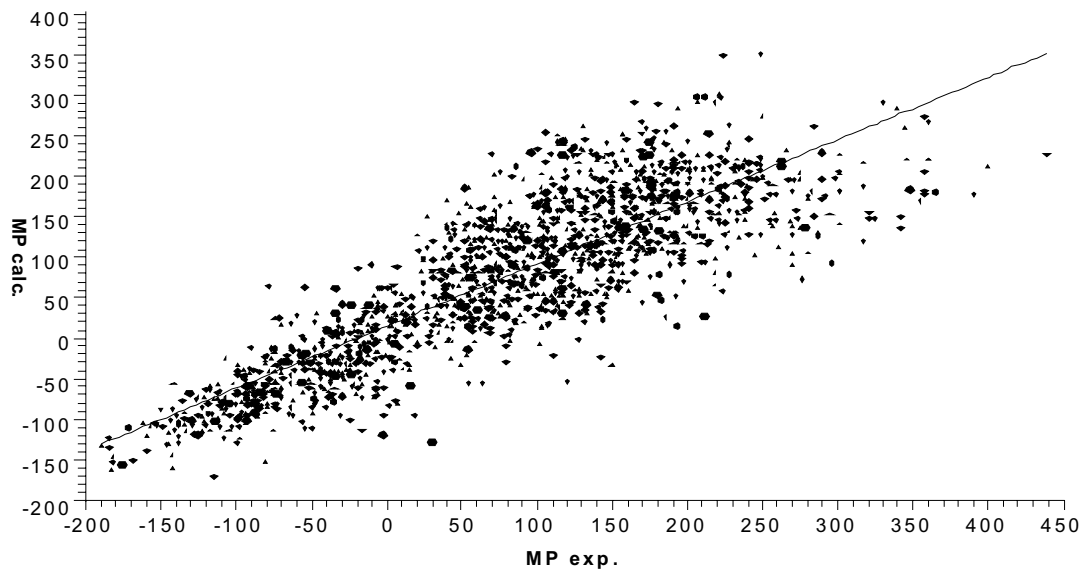


Abbildung 4-3: Korrelation von gemessenen Schmelzpunkten mit den von Syracuse MpBpVp 1.31 berechneten Schmelzpunkten [März, unpublished data]

Statistische Parameter: $n = 1599$, $r^2 = 0.73$, $s = 53$

Vorzugsweise sollten die Schmelzpunkte und der logP-Wert bekannt sein. In diesem Fall kann versucht werden, die Löslichkeit direkt aus der Yalkowsky-Gleichung zu berechnen. Diese Werte sind in Spalte 5 der Tabelle 4-14 wiedergegeben.

Der Vergleich mit dem Computerprogramm ergibt folgende Abbildung:

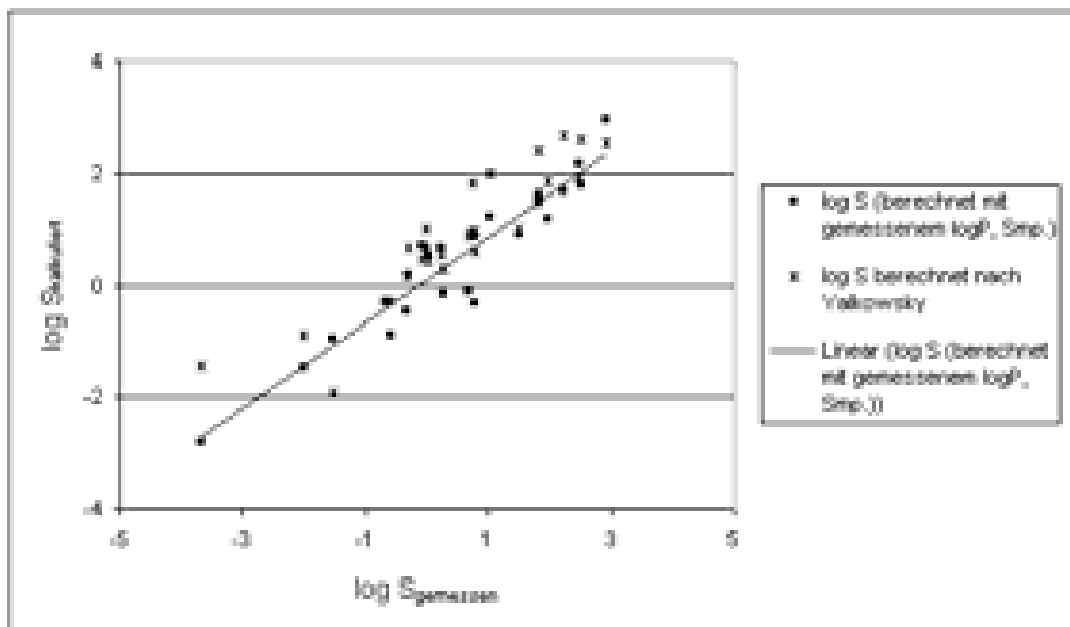


Abbildung 4-4: Korrelation zwischen den gemessenen Löslichkeiten und den mit dem WSKOWWIN v.1.40 Programm (Symbol \square), bzw. nach der Yalkowsky-Gleichung (Symbol \circ) berechneten Löslichkeiten

Die in der letzten Spalte der Tabelle 4-14 berechneten Löslichkeiten, die mit dem Yalkowsky-Algorithmus bestimmt wurden, zeigen ebenfalls eine gute Korrelation mit den gemessenen Werten ($r^2 = 0.84$; Standardabweichung = 0.5). Auch für diese berechneten Löslichkeiten wurden die experimentell bestimmten logP-Werte und Schmelzpunkte benutzt. Die beiden verwendeten Berechnungsalgorithmen unterscheiden sich vor allem in dem von Meylan eingefügten Korrekturfaktor. Dieser kann die Genauigkeit der Werte geringfügig verbessern.

Fazit: Für die Berechnung der Löslichkeit ist das Programm WSKOWWIN vor allem deshalb am Besten geeignet, da es die Löslichkeit aus der Struktur berechnen kann und die experimentellen logP-Werte und Schmelzpunkte nicht zwingend benötigt. Auch unter Hinzunahme der gemessenen Schmelzpunkte und Verteilungskoeffizienten weisen die durch das Programm bestimmten Löslichkeiten die grösste Übereinstimmung mit den experimentell ermittelten Löslichkeiten auf.

4.3 Solubilisierender Effekt von Gallensalzen

4.3.1 Neutralsubstanzen

4.3.1.1 Danazol

Danazol ist ein Gonadotropin-Inhibitor, der die Produktion von Östrogen in den Eierstöcken hemmt. Kapseln mit 100 bis 200 mg Wirkstoff werden bei Endometriose oder bei einer benignen Knoten- und Zystenbildung eingesetzt.

Danazol ist ein sehr gutes Beispiel für das unterschiedliche Löslichkeitsverhalten von organischen Substanzen in den beiden untersuchten Medien. In Anwesenheit von Natriumtaurocholat nimmt die Löslichkeit von Danazol bis zum Erreichen der kritischen Mizell-Konzentration kaum zu. Danach steigt die Löslichkeit mit zunehmender Gallensalzkonzentration linear an. Die CMC liegt für die reinen NaTC-Mizellen bei 4.4 – 6.6 mmol NaTC [Bakatselou, 1990; TenHoor, 1991]. Bei den im Verhältnis 4:1 gemischten NaTC/Lez.-Mizellen liegt die CMC bei 0.25 mmol [Naylor, 1993]. Aufgrund der sehr niedrigen CMC scheint die Löslichkeit in NaTC/Lez.-Mizellen direkt linear anzusteigen.

Für Danazol wurden folgende Löslichkeiten ermittelt:

NaTC [mmol]	Löslichkeit ohne Lezithin [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit ohne Lezithin [mmol/l]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [mmol/l]
0	0.21 ± 0.04	6.126E-04	0.21 ± 0.04	6.13E-04
1	0.32 ± 0.05	9.512E-04	2.18 ± 0.20	6.31E-03
3.75	0.30 ± 0.07	8.919E-04	10.32 ± 0.18	3.04E-02
7.50	1.27 ± 0.06	3.767E-03	15.42 ± 0.41	4.49E-02
15	7.13 ± 0.43	2.113E-02	31.63 ± 0.79	9.37E-02
30	21.31 ± 0.744	6.315E-02	50.41 ± 0.86	1.49E-01

Tabelle 4-15: Löslichkeiten von Danazol bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC, bzw. NaTC/ Lez (4:1)

Weiterhin ist zu erkennen, dass die Löslichkeit in den gemischten Mizellen stärker ansteigt, als in den reinen NaTC-Mizellen. Während sich die Löslichkeit bei den reinen NaTC-Mizellen pro mmol NaTC nur um $0.9 \mu\text{g/ml}$ erhöht, steigt sie bei den gemischten Mizellen um $2 \mu\text{g/ml}$ pro mmol NaTC/Lez. Dies scheint zunächst keine große Steigerung zu sein. Wird jedoch die Löslichkeit bei 15 mmol NaTC betrachtet, so hat sie sich im Vergleich zur wässrigen Löslichkeit ($0.21 \mu\text{g/ml}$) in den reinen NaTC-Mizellen um das 34-fache auf $7.13 \mu\text{g/ml}$ erhöht. Noch größer fällt der Effekt bei dem gemischten Mizellsystem aus, wo sich die Löslichkeit von Danazol um das 150-fache auf $31.6 \mu\text{g/ml}$ gesteigert hat.

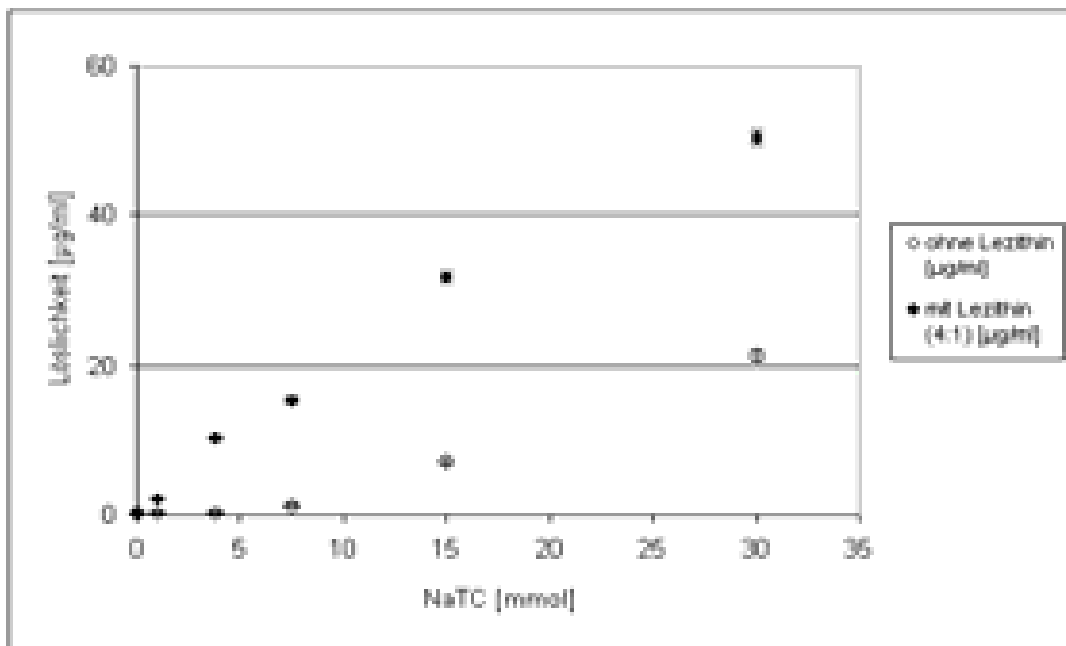


Abbildung 4-5: Löslichkeit von Danazol unter dem Einfluss von Gallenkomponenten

Von Interesse sind auch die Werte, die den "fasted-" und "fed-state" simulieren. Im präprandialen Zustand (fasted-state) wurde bei einer Mizellkonzentration von 3.75 mmol NaTC und 0.94 mmol Lezithin für Danazol eine Löslichkeit von 10.32 µg/ml gemessen. Im postprandialen Zustand, also nach einer Mahlzeit, erhöht sich die Gallensalzkonzentration auf ungefähr 15 mmol NaTC und 3.75 mmol Lezithin. Die Löslichkeit von Danazol beträgt bei dieser Mizellkonzentration 31.6 µg/ml. Zwischen den beiden Zuständen hat sich die Löslichkeit verdreifacht. Sunesen et al. [1999] konnten für Danazol im nüchternen Zustand eine Bioverfügbarkeit von 14 % feststellen. Nach der Mahlzeit wurde eine erhöhte Bioverfügbarkeit von 55 % bestimmt. Dies entspricht einer Steigerung um das Vierfache.

pH-Abhängigkeit

Bei den ersten Versuchen wurde auch die Löslichkeit von Neutralsubstanzen bei unterschiedlichen pH-Werten untersucht (Tabelle 4-16). Eine pH-abhängige Löslichkeit für Danazol in Anwesenheit von NaTC konnte nicht festgestellt werden. Die Ergebnisse schwanken im Rahmen der Messgenauigkeit.

NaTC [mmol]	Löslichkeit bei pH 5 ohne Lezithin [µg/ml]	Löslichkeit bei pH 6 ohne Lezithin [µg/ml]	Löslichkeit bei pH 7 ohne Lezithin [µg/ml]
0	0.20	0.23	0.24
1	0.32	0.41	0.33
3.75	0.30	0.31	0.33
7.5	1.27	1.22	1.32
15	7.13	7.04	6.82
30	21.31	21.09	21.49

Tabelle 4-16: pH-abhängige Löslichkeit von Danazol bei 37°C in Abhängigkeit von der NaTC-Konzentration

Vergleich mit Literatur-Werten

In der Tabelle 4-17 werden den eigenen Messwerten die Ergebnisse von Bakatselou und Naylor gegenüber gestellt. Die eigenen Bestimmungen (Spalte 4) und die von Bakatselou (Spalte 2) stimmen bis auf den Löslichkeitswert in reinem Puffer sehr gut überein. Diese Diskrepanz lässt sich unter anderem auf unterschiedliche Chargen zurückführen. Die in Spalte zwei und drei von Bakatselou und Naylor erhobenen

Werte stammen von der gleichen Charge, der doppelt so hohe Wert von Naylor wurde jedoch zwei Jahre später vermessen. Auch das Alter einer Charge übt demnach einen Einfluss auf die Löslichkeit aus. Die wässrige Löslichkeit von 2.79 µg/ml wurde mit einer anderen Charge vermessen.

NaTC [mmol]	Löslichkeit ¹ ohne Lezithin [µg/ml]	Löslichkeit ² ohne Lezithin [µg/ml]	Löslichkeit ³ ohne Lezithin [µg/ml]	Löslichkeit ² mit Lezithin (4:1) [µg/ml]	Löslichkeit ³ mit Lezithin (4:1) [µg/ml]
0	0.52 ± 0.04	1.05 ± 0.93	0.21 ± 0.04	2.8 ± 1.2*	0.21 ± 0.04
0.1	0.66 ± 0.01	2.68 ± 0.41		2.3 ± 0.24	
1	0.73 ± 0.93	3.02 ± 0.43	0.32 ± 0.05		2.18 ± 0.20
3.75	0.79 ± 0.02	2.86 ± 0.06	0.30 ± 0.07	9.1 ± 3.51	10.32 ± 0.18
7.5	1.12 ± 0.06	5.95 ± 0.48	1.27 ± 0.06		15.42 ± 0.41
15	6.10 ± 0.23	20.02 ± 1.41	7.13 ± 0.43	29.3 ± 6.59	31.63 ± 0.79
30	21.69 ± 0.52		21.31 ± 0.744	51.7 ± 6.66	50.41 ± 0.86

Tabelle 4-17: Vergleich der gemessenen Löslichkeiten von Danazol mit Literaturdaten

¹ Bakatselou [1991], ²Naylor [1995] sowie ³eigene Messungen

* die Werte aus Spalte 3 und 5 wurden mit unterschiedlichen Chargen ermittelt

4.3.1.2 Phenytoin

Das Anti-Epileptikum Phenytoin wird in einer Dosis von 100 mg verabreicht. Es verhält sich aufgrund seines hohen pK_a -Wertes (8.41) bei den untersuchten pH-Werten von 5, 6 und 7 wie eine Neutralsubstanz (Tabelle 4-18). Daher wurden die Messungen mit NaTC/Lez. nur noch bei pH 7 durchgeführt.

NaTC [mmol]	Löslichkeit bei pH 5 ohne Lezithin [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit bei pH 6 ohne Lezithin [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit bei pH 7 ohne Lezithin [$\mu\text{g/ml}$]
0	30.16	29.09	31.00
1	30.56	29.10	29.60
3.75	30.25	29.13	29.80
7.5	31.30	31.28	32.60
15	42.89	43.32	48.60
30	63.59	60.84	64.30

Tabelle 4-18: pH-abhängige Löslichkeit von Phenytoin bei 37°C in Abhängigkeit von der NaTC-Konzentration

Im Gegensatz zum zuvor beschriebenen Danazol wird bei Phenytoin durch den Zusatz von NaTC, bzw. NaTC/Lez. ein sehr geringer löslichkeitssteigernder Effekt beobachtet. Bei 15 mmol reiner NaTC-Lösung ist nicht einmal eine Verdopplung der Löslichkeit zu beobachten. Diese wird erst bei dem gemischten Mizellsystem erreicht. Der Unterschied zwischen 3.75 mmol NaTC/Lez. (fed-state) und 15 mmol NaTC/Lez. (fasted-state) beträgt bei Phenytoin noch nicht einmal den Faktor 2. Cook et al. [2001] untersuchten den Einfluss des "food-effects" auf die Bioverfügbarkeit von Phenytoin. Der Arzneistoff wurde nach acht Stunden Nüchternheit bzw. nach einer fetthaltigen Mahlzeit verabreicht. Hierbei konnte kein Einfluss der Mahlzeit auf die Bioverfügbarkeit von Phenytoin gezeigt werden.

NaTC [mmol]	Löslichkeit ohne Lezithin [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit ohne Lezithin [mmol/l]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [mmol/l]
0	31.0 ± 2.03	0.123	31.0 ± 2.03	0.123
1	29.6 ± 0.30	0.117	32.5 ± 1.27	0.129
3.75	29.8 ± 0.46	0.118	39.6 ± 1.52	0.157
7.5	32.6 ± 0.74	0.129	44.5 ± 1.58	0.176
15	48.6 ± 1.33	0.193	58.5 ± 1.88	0.232
30	64.3 ± 1.05	0.255	88.7 ± 0.68	0.352

Tabelle 4-19: Löslichkeiten von Phenytoin bei pH 7 in Abh. von NaTC, bzw. NaTC/Lez (4:1)

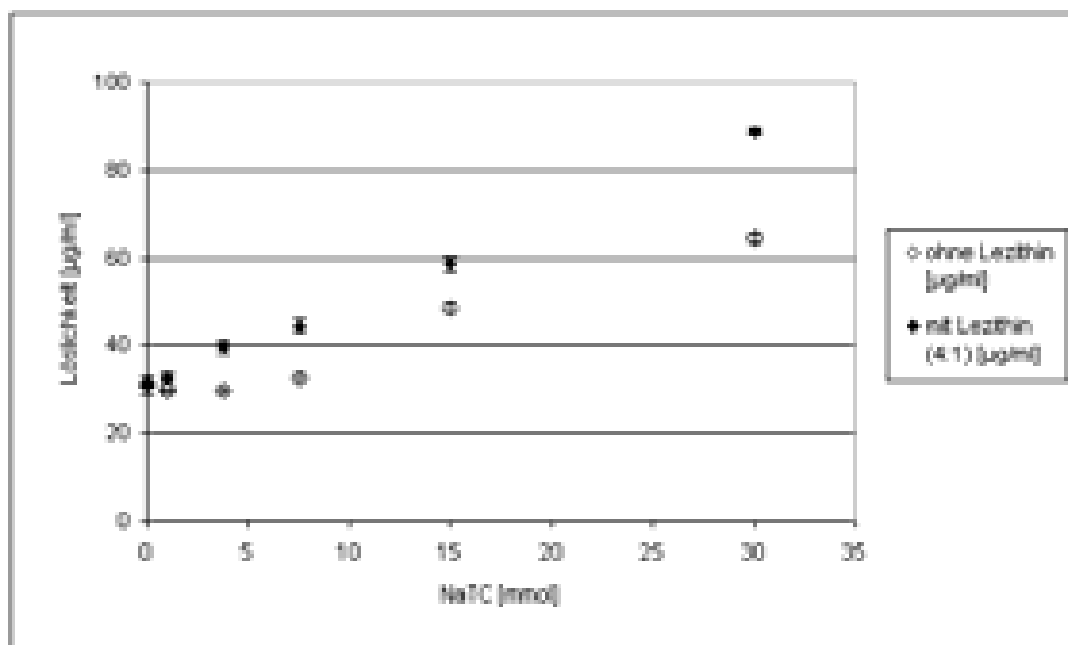


Abbildung 4-6: Löslichkeit von Phenytoin unter dem Einfluss von Gallenkomponenten

Für die Löslichkeit von Phenytoin in Phosphatpuffer bestimmte Mithani [1996] einen Wert von $33.67 \mu\text{g/ml}$ bei pH 5.5. Auch dieser Wert bestätigt unsere Messungen.

4.3.1.3 Felodipin

Das Antihypertonikum Felodipin wird bei essentieller Hypertonie in den Dosierungen 2,5, 5 und 10 mg verabreicht. In den Untersuchungen zeigt der Wirkstoff einen ähnlichen Verlauf, wie die bereits zuvor beschriebenen Substanzen. Auch bei diesem neutralen Wirkstoff ist keine pH-abhängige Löslichkeit zu erkennen. Die verbesserte Löslichkeit in Gallensalzmizellen ist bei Felodipin noch ausgeprägter als bei den bereits beschriebenen Substanzen.

Bei Zugabe von 15 mmol NaTC wurde die Löslichkeit des Wirkstoffes um das 60-fache auf 53 µg/ml erhöht. In den gemischten NaTC/Lez. Mizellen erhöht sich die Löslichkeit bei 15 mmol NaTC um das 300-fache auf 258.5 µg/ml.

NaTC [mmol]	Löslichkeit ohne Lezithin [µg/ml]	Löslichkeit ohne Lezithin [mmol/l]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [µg/ml]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [mmol/l]
0	0.86 ± 0.03	2.23E-03	0.86 ± 0.09	2.23E-03
1	0.67 ± 0.04	1.75E-03	10.40 ± 0.57	2.71E-02
3.75	1.30 ± 0.09	3.37E-03	57.81 ± 0.67	1.50E-01
7.5	14.0 ± 0.77	3.64E-02	96.95 ± 2.33	2.52E-01
15	53.0 ± 2.77	1.38E-01	258.49 ± 3.63	6.73E-01
30	162.1 ± 1.78	4.22E-01	481.15 ± 59.43	1.25E+00

Tabelle 4-20: Löslichkeiten von Felodipin bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC, bzw. NaTC/ Lez (4:1)

Für das Felodipin konnte Scholz et al. [2002] bei Hunden eine um den Faktor zwei erhöhte Bioverfügbarkeit feststellen, wenn der Wirkstoff nach einer Mahlzeit (5-prozentige Glucoselösung) eingenommen wurde. Die Löslichkeit steigert sich in den vorliegenden Messungen ungefähr um den Faktor 4.5.

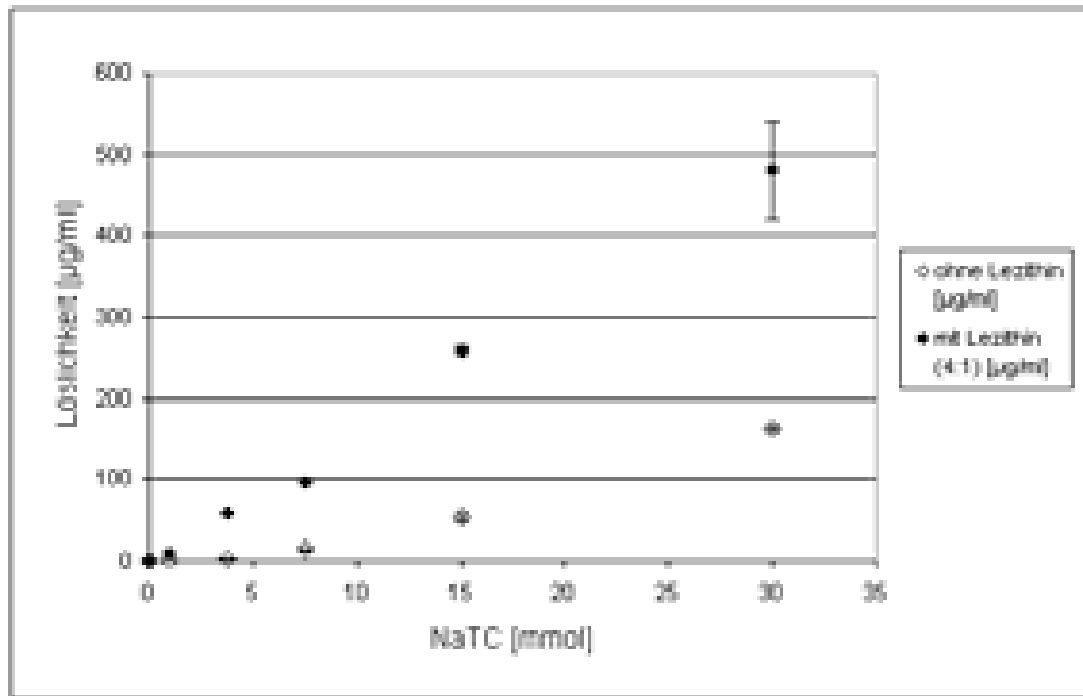


Abbildung 4-7: Löslichkeit von Felodipin unter dem Einfluss von Gallenkomponenten

pH-Abhängigkeit

Auch für Felodipin konnte gezeigt werden, dass der pH-Wert des Dünndarms keinen Einfluss auf die Löslichkeit des Wirkstoffes hat.

NaTC [mmol]	Löslichkeit bei pH 5 ohne Lezithin [µg/ml]	Löslichkeit bei pH 6 ohne Lezithin [µg/ml]	Löslichkeit bei pH 7 ohne Lezithin [µg/ml]
0	0.87	0.82	0.86
1	0.85	0.86	0.67
3.75	1.23	1.33	1.30
7.5	14.15	13.28	14.00
15	51.29	49.18	53.01
30	153.55	166.75	162.10

Tabelle 4-21: pH-abhängige Löslichkeit von Felodipin bei 37°C in Abhängigkeit von der NaTC-Konzentration

Bei den im Folgenden beschriebenen Substanzen wurden die Messreihen zeitlich verkürzt, indem bei diesen Substanzen auf die Löslichkeitsbestimmung bei unterschiedlichen pH-Werten verzichtet und nur bei pH 7 gemessen wurde. Die bisher ermittelten Daten rechtfertigen diese Maßnahme, da gezeigt werden konnte, dass die

Löslichkeit von neutralen Substanzen wie erwartet, nicht vom pH-Wert abhängen. Des Weiteren wurde auf Messungen mit den Gallensalzkonzentrationen 1 mmol und 3.75 mmol verzichtet. Es galt vor allem, die lineare Steigung zwischen der Gallensalzkonzentration und der Löslichkeit zu ermitteln. Da diese Linearität bei reinen Natriumtaurocholatzmizellen erst nach der CMC von 6.6 mmol NaTC zu bestimmen ist, wurde auf die genannten Konzentrationen verzichtet. Bei den gemischten Mizellen wurden ebenfalls die NaTC-Konzentrationen von 7.5, 15 und 30 mmol gewählt, um die Werte der verschiedenen Gallensalz-Mizellen besser vergleichen zu können. Bei Betamethason, Dexamethason und Hydrocortison wurden die in der NaTC-Lösung bestimmten Werte aus der Dissertation von Bakatselou [1990] übernommen und nur die Werte in gemischten Mizellen gemessen.

4.3.1.4 Beclometasondipropionat

Für das Glucocorticoid wurden folgende Löslichkeiten bestimmt.

NaTC [mmol]	Löslichkeit ohne Lezithin [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit ohne Lezithin [mmol/l]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [mmol/l]
0	0.46	8.83E-04	0.46	8.83E-04
7.5	0.92 \pm 0.122	1.77E-03	3.84 \pm 0.196	7.37E-03
15	3.26 \pm 0.181	6.26E-03	9.84 \pm 0.335	1.89E-02
30	14.26 \pm 0.359	2.74E-02	24.65 \pm 0.235	4.73E-02

Tabelle 4-22: Löslichkeiten von Beclometasondipropionat bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC und NaTC/ Lez (4:1)

4.3.1.5 Dexamethason

Bei Dexamethason sind für das reine Natriumtaurocholatz-Medium die Messwerte von Bakatselou übernommen worden. Die Werte in den gemischten Mizellen wurden selbst gemessen.

NaTC [mmol]	Löslichkeit ohne Lezithin [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit ohne Lezithin [mmol/l]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [mmol/l]
0	92 \pm 2	2.34E-01	92.00 \pm 10.51	2.34E-01
3.75	109 \pm 2	2.78E-01		
7.5	114 \pm 2	2.90E-01	202.74 \pm 21.02	5.17E-01
15	137 \pm 3	3.49E-01	254.57 \pm 2.204	6.49E-01
30	193 \pm 5	4.92E-01	368.64 \pm 42.38	9.39E-01

Tabelle 4-23: Löslichkeiten von Dexamethason bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC und NaTC/ Lez (4:1)

Das Glucocorticoid Dexamethason wird als Antiallergikum in Konzentrationen zwischen 0.5 und 8 mg verabreicht. Bei einer wässrigen Löslichkeit von ca. 100 $\mu\text{g/ml}$ sollte sich die Substanz im Darm in einem Volumen von ca. 250 ml vollständig lösen. Eine Abhängigkeit zwischen der Bioverfügbarkeit von Dexamethason und der Aufnahme von Nahrung konnte in der Literatur daher auch nicht festgestellt werden. Um Irritationen im Magen zu lindern, sollte Dexamethason dennoch während der Mahlzeit oder mit Milch eingenommen werden.

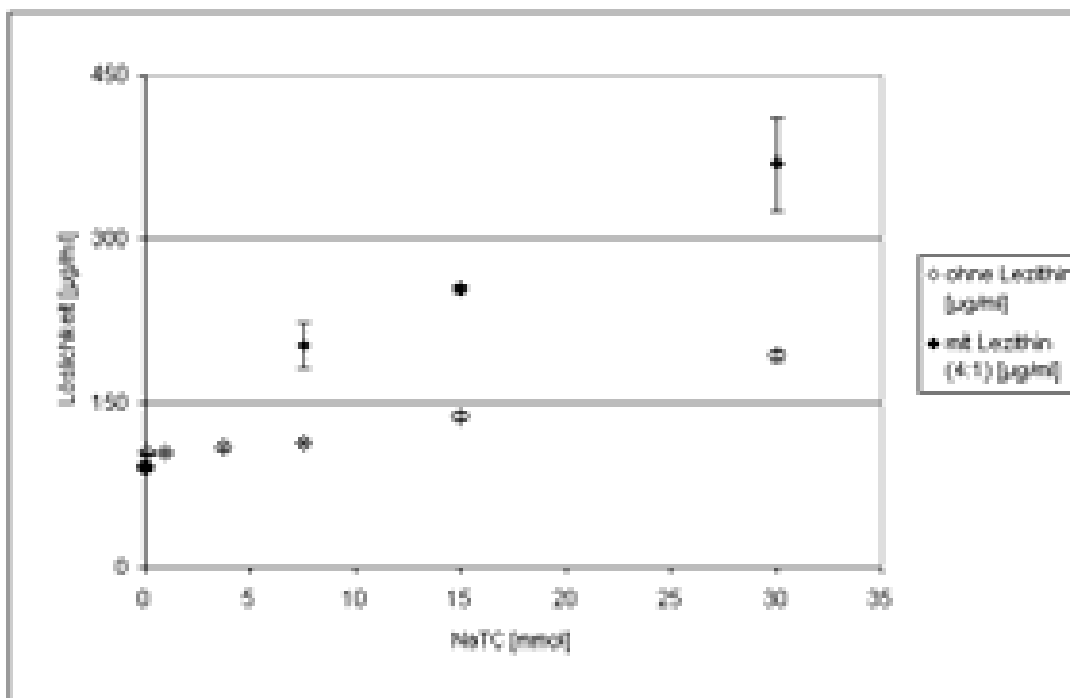


Abbildung 4-8: Löslichkeit von Dexamethason unter dem Einfluss von Gallenkomponenten

4.3.1.6 Betamethason

NaTC [mmol]	Löslichkeit ohne Lezithin [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit ohne Lezithin [mmol/l]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [mmol/l]
0	63 ± 2	1.61E-01	65.75 ± 3	1.61E-01
0.1	64 ± 1	1.63E-01		
1	63 ± 1	1.61E-01		
3.75	69 ± 3	1.76E-01		
7.5	69 ± 1	1.76E-01	88.07 ± 2	2.24E-01
15	86 ± 2	2.19E-01	129.67 ± 1	3.30E-01
30	118 ± 5	3.01E-01	184.87 ± 5	4.71E-01

Tabelle 4-24: Löslichkeiten von Betamethason bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC und NaTC/Lez (4:1)

Betamethason ist ebenfalls ein Glucocorticoid und wird bei allergischen Erkrankungen eingesetzt. In Deutschland wird es vor allem als Dermatikum verwendet. In oraler Darreichungsform wird es nur von der Firma Essex Pharma als Celestamine[®] angeboten. Die Dosis beträgt 0.5 mg. Wie das Dexamethason wird Betamethason vollständig in weniger als 250 ml Wasser gelöst. Ob die Tablette vor oder nach dem Essen eingenommen wird, hat deshalb keinen Einfluss auf die Bioverfügbarkeit des Wirkstoffes.

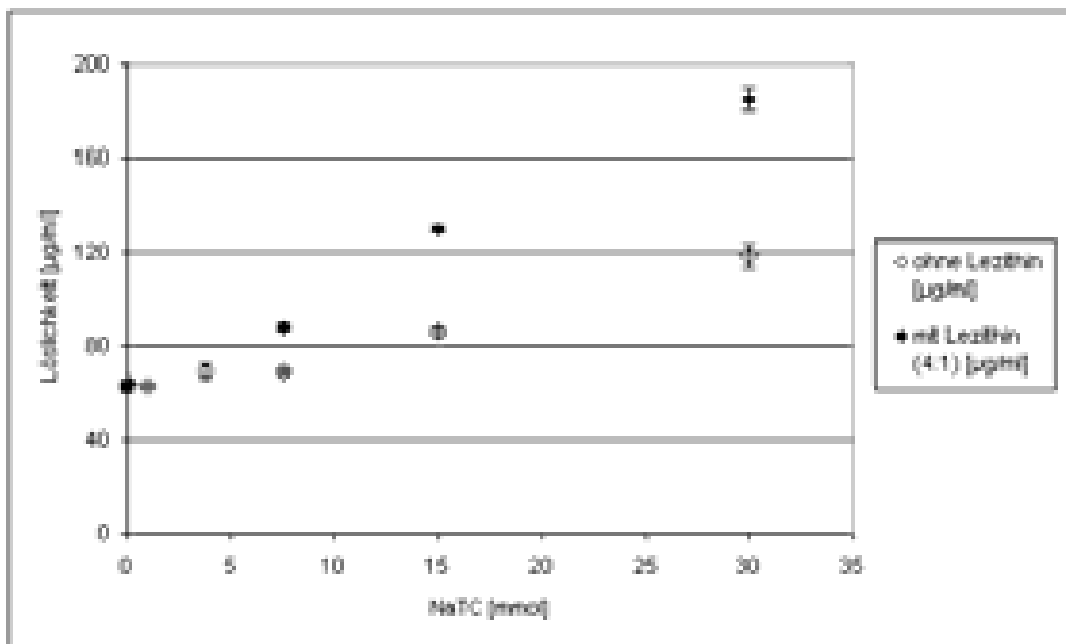


Abbildung 4-9: Löslichkeit von Betamethason unter dem Einfluss von Gallenkomponenten

4.3.1.7 Griseofulvin

Griseofulvin ist ein Antimykotikum, das nur gegen Dermatophyten wirkt; wahrscheinlich indem es als Spindelgift die Mitose hemmt. Obwohl es gegen Lokalmykosen gerichtet ist, muss Griseofulvin systemisch angewandt werden, da es nur so in neugebildetes Kreatin einlagert wird. Dieses eignet sich dann nicht mehr als Nährboden für Pilze.

NaTC [mmol]	Löslichkeit ohne Lezithin [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit ohne Lezithin [mmol/l]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [mmol/l]
0	10.4 \pm 0.05	2.94E-02	10.4 \pm 0.05	2.94E-02
7.5	18.6 \pm 0.24	5.28E-02	55.9 \pm 1.93	1.59E-01
15	31.8 \pm 1.58	9.01E-02	71.7 \pm 11.89	2.03E-01
30	56.8 \pm 0.99	1.61E-01	128.1 \pm 26.03	3.63E-01

Tabelle 4-25: Löslichkeiten von Griseofulvin bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC und NaTC/Lez (4:1)

Die Löslichkeit wird in den reinen NaTC-Mizellen von 10 $\mu\text{g/ml}$ im Puffer auf 31.8 $\mu\text{g/ml}$ bei 15 mmol NaTC gesteigert. In den gemischten Mizellen löst sich bei 15 mmol NaTC mit 71.7 $\mu\text{g/ml}$ mehr als doppelt soviel. Aus der linearen Korrelation errechnet sich für 3.75 mmol NaTC/Lez. eine Löslichkeit von 31 $\mu\text{g/ml}$. Zwischen "fed" und "fasted" sollte damit eine Löslichkeitsdifferenz von einem Faktor zwei liegen.

In der Literatur untersuchten Aoyagi et al.[1982] den Einfluss der Nahrung auf die Bioverfügbarkeit von zwei verschiedenen Griseofulvin-Formulierungen. Diese unterschieden sich in ihrer Mikronisierung. Bei beiden Formulierungen stieg die Bioverfügbarkeit an, wenn der Wirkstoff zusammen mit der Nahrung verabreicht wurde. Die Konzentrationsspitze im Serum war bei der ultramikronisierten Formulierung im postprandialen Zustand doppelt so groß, wie im nüchternen Zustand.

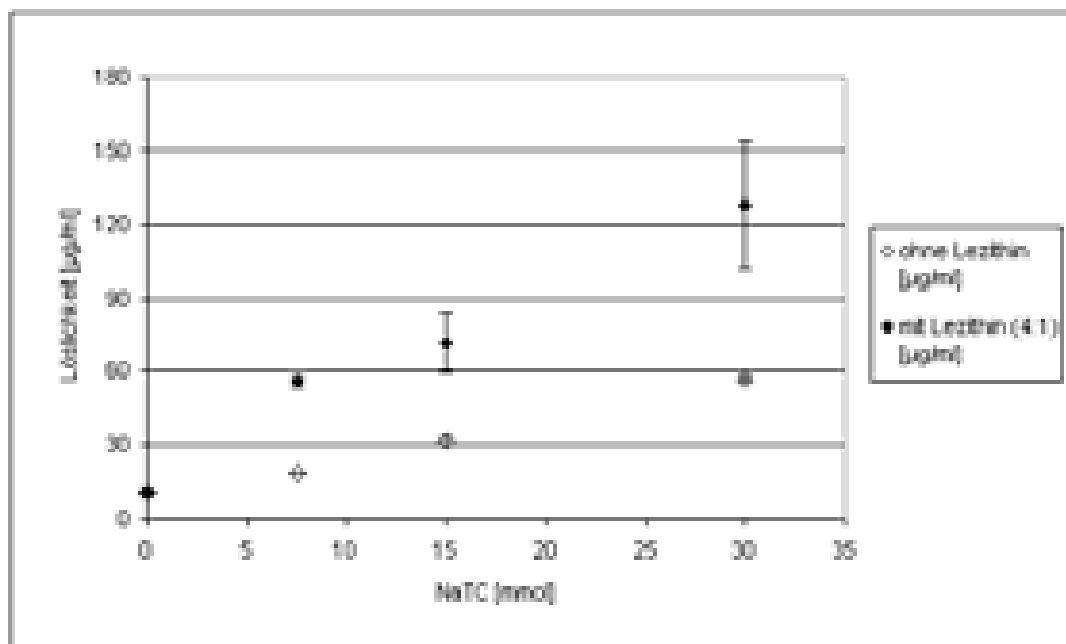


Abbildung 4-10: Löslichkeit von Griseofulvin unter dem Einfluss von Gallenkomponenten

Die folgende Tabelle zeigt erneut die Zuverlässigkeit der miniaturisierten Shake-Flask Methode. Die eigenen Messwerte liegen nur geringfügig unterhalb der Werte von Hörter [1999]. Ursache dafür kann die Verwendung unterschiedlicher Chargen sein.

NaTC [mmol]	Löslichkeit ohne Lezithin ¹ [µg/ml]	Löslichkeit ohne Lezithin ² [µg/ml]
0	10.4 ± 0.05	17.8 ± 0.4
7.5	18.6 ± 0.24	23.4 ± 0.35
15	31.8 ± 1.58	35.4 ± 0.29
30	56.8 ± 0.99	61.9 ± 0.44

Tabelle 4-26: Vergleich der gemessenen Löslichkeiten von Griseofulvin mit Literaturdaten

¹eigene Messungen und ²Messungen von Hörter

4.3.1.8 Testosteronpropionat

Testosteronpropionat wird zur Substitutionstherapie eingesetzt. Der Wirkstoff wird für die intramuskuläre Applikation in Erdnuss- oder Rizinusöl gelöst. Der Arzneistoff wurde in die experimentelle Messreihe mit einbezogen, um das Spektrum von Substanzeigenschaften besser abzurunden.

NaTC [mmol]	Löslichkeit ohne Lezithin [µg/ml]	Löslichkeit ohne Lezithin [mmol/l]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [µg/ml]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [mmol/l]
0	1.868 ± 0.071	5.42E-03	1.87 ± 0.071	5.42E-03
7.5	2.78 ± 0.417	8.07E-03	88.07 ± 1.874	2.56E-01
15	37.58 ± 2.982	1.09E-01	105.46 ± 1.404	3.06E-01
30	93	2.70E-01	239.67 ± 5.107	6.96E-01

Tabelle 4-27: Löslichkeiten von Testosteronpropionat bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC und NaTC/Lez (4:1)

4.3.1.9 Dronabinol

Dronabinol ist der synthetisch hergestellte Wirkstoff des Pflanzenstoffs Tetrahydrocannabinol (THC). THC ist der aktive Inhaltsstoff von Marihuana. Es führt zu einem sogenannten "high" Gefühl, kann aber auch den Appetit anregen und den Brechreiz mildern. In Amerika ist es seit 1985 als Mittel gegen Brechreiz nach der Chemotherapie von Krebspatienten anerkannt. Seit 1992 wird es auch bei AIDS-Patienten zur Appetitsstimulierung angewendet. Die Dosis der Kapseln liegt bei 2.5-10 mg Wirkstoff.

In Deutschland ist Dronabinol bei der Behandlung von AIDS- und Krebs-Patienten mit Schmerzen und Kachexie indiziert. Weiterhin ist es für Patienten mit Multipler Sklerose oder Querschnittslähmung angezeigt, die muskuläre Krämpfe oder Spastiken haben. Die Notwendigkeit des Wirkstoffes wird aber weiterhin diskutiert. Dronabinol ist in Deutschland nicht als Fertigarzneimittel erhältlich, sondern kann nur als Rezeptursubstanz verschrieben werden. Der Wirkstoff fällt unter das Betäubungsmittelgesetz.

Ähnlich wie das Phenytoin, verhält sich Dronabinol ($pK_a = 10.60$) im gastrointestinalen pH-Bereich wie ein Neutralstoff. Die Löslichkeitsbestimmungen wurden daher bei pH 7 durchgeführt. Beim Dronabinol ($\log P = 6.97$; $SMP = 25^\circ C$) musste mit einer

äußerst geringen Wasserlöslichkeit gerechnet werden. Erschwerend kam hinzu, dass durch die Auflagen des Betäubungsmittelgesetzes nicht mehr als 100.0 mg Wirkstoff zur Verfügung standen. Die Möglichkeit, die intrinsische Löslichkeit mit mehreren Bestimmungen zu ermitteln, bestand also nicht.

Bestimmung der Wasserlöslichkeit

Die Löslichkeit von Dronabinol wurde zunächst in einem organischen Lösungsmittel bestimmt, in dem es sich gut löst. Am einfachsten ist es, die Standardlösung als Ausgangsmittel zu verwenden, da diese für die Gehaltsbestimmung ohnehin vorrätig ist. Von der Standardlösung werden zwei Verdünnungsreihen angesetzt. Bei der ersten Versuchsreihe wurde zur Verdünnung organisches Lösungsmittel verwendet. Bei der zweiten Messreihe wurden die selben Verdünnungsschritte durchgeführt, jedoch wurde als Lösungsmittel die Phosphatpufferlösung pH 7 verwendet. Durch den Vergleich der beiden Messreihen kann leicht festgestellt werden, ab welchem Wassergehalt sich bei Dronabinol eine verminderte Löslichkeit einstellt. Von diesem Wassergehalt aus wurde dann in kleineren Schritten mit Puffer verdünnt, um besser auf 100 Prozent Wassergehalt extrapolieren zu können.

Verdünnung mit ACN	Dronabinol in organ. Standard [$\mu\text{g/ml}$]	Verdünnung mit Puffer	Anteil H_2O [%]	Dronabinol in Puffer [$\mu\text{g/ml}$]
Standard 1	11.00	Standard 1	0	11.00
1:1	5.50	1:1	50	5.50
1:4	2.75	1:4	75	1.63
1:7	1.57	1:7	85.7	0.20
1:10	1.10	1:10	90	0.14
1:20	0.55	1:20	95	0.09

Tabelle 4-28: Löslichkeitsbestimmung von Dronabinol durch Messungen in unterschiedlichen Acetonitril-Konzentrationen und Extrapolation auf 0 Volumenprozent Acetonitril

Bei einer Verdünnung von 1:1 ist das Dronabinol auch noch im Puffer vollständig gelöst. Bei einer Verdünnung von 1:4 ist der Gehalt in beiden Medien jedoch nicht mehr identisch. Bei einem Wassergehalt von 75 % ist bereits 1 $\mu\text{g/ml}$ weniger löslich als bei der vergleichbaren Verdünnung mit organischem Lösungsmittel. Aus den letzten drei Messungen bei 85.7 %, 90 % und 95 % Wassergehalt, wurde mit Hilfe der linearen Regression die reine Wasserlöslichkeit bestimmt. Aus diesen Werten berechnet sich eine Löslichkeit von $S_0 = 0.03 \mu\text{g/ml}$ Dronabinol.

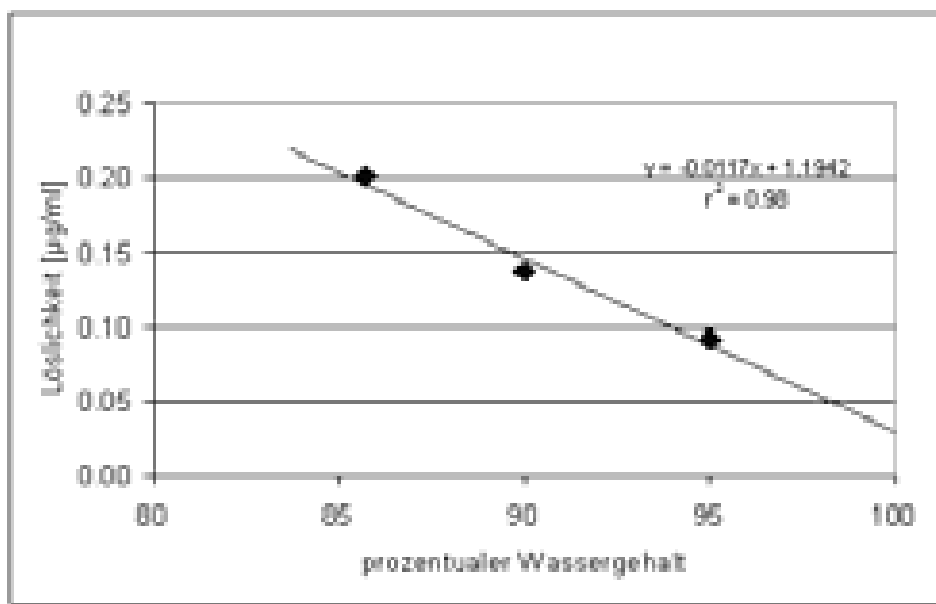


Abbildung 4-11: Löslichkeitsbestimmung von Dronabinol durch Extrapolation auf 0 % Acetonitril

Löslichkeitsbestimmungen in Gallensalzmizellen

NaTC [mmol]	Löslichkeit ohne Lezithin [µg/ml]	Löslichkeit ohne Lezithin [mmol/l]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [µg/ml]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [mmol/l]
0	0.03*	9.54E-05	0.03*	9.54E-05
7.5	0.2	6.44E-04	95.5	3.04E-01
15	39.2 ± 10.6	1.25E-01	191.0	6.07E-01
30	177.0	5.63E-01	257.0	8.17E-01

Tabelle 4-29: Löslichkeiten von Dronabinol in Abhängigkeit von NaTC und NaTC/Lez (4:1)

* extrapolierter Wert (s. Text)

Auffällig bei Dronabinol sind die enormen Löslichkeitssteigerungen, die unter dem Einfluss von Gallensalzen beobachtet werden. Zwischen der extrapolierten Wasserlöslichkeit von $0.03 \mu\text{g/ml}$ und der Löslichkeit im postprandialen Zustand ($191 \mu\text{g/ml}$) liegt ein Faktor 6000. Aus der linearen Korrelation lässt sich für den nüchternen Zustand eine Löslichkeit von $87 \mu\text{g/ml}$ berechnen. Der Wirkstoff sollte aufgrund der Löslichkeitsergebnisse im postprandialen Zustand besser bioverfügbar sein.

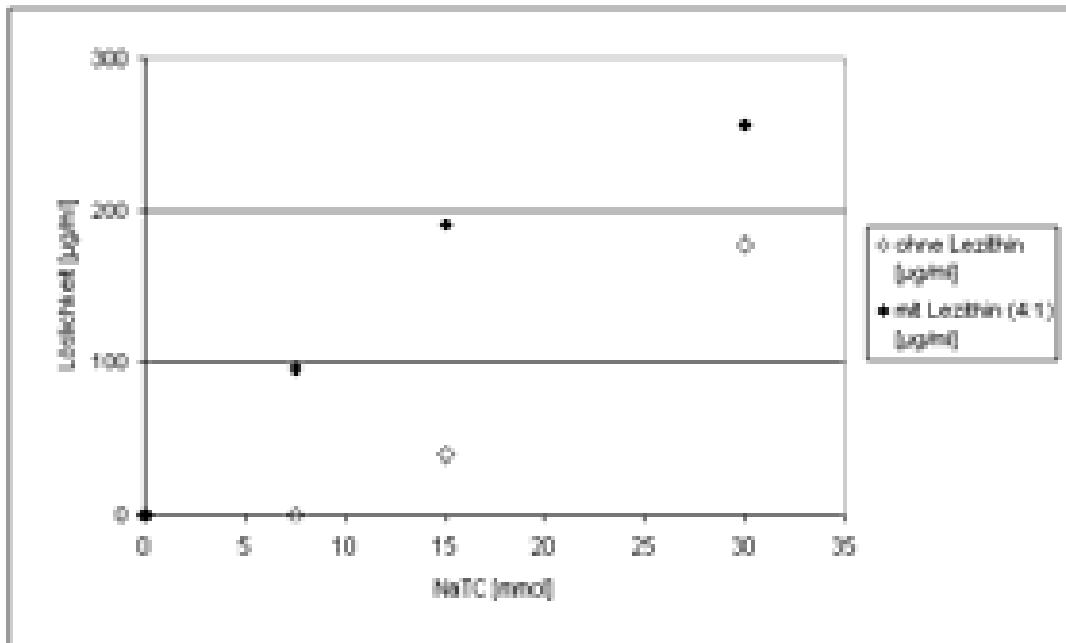


Abbildung 4-12: Löslichkeit von Dronabinol unter dem Einfluss von Gallenkomponenten

4.3.2 Säuren

4.3.2.1 Glibenclamid

Das Antidiabetikum Glibenclamid gehört mit einem pK_a von 4.99 zu den untersuchten Wirkstoffen mit einer Säuregruppe. Im sauren Milieu löst sich das undissoziierte Glibenclamid erwartungsgemäß nur sehr wenig. Für die undissoziierte Form des Glibenclamids konnte bei pH 2 eine Löslichkeit von $1.3 \text{ E-}4 \text{ mmol/l}$ bestimmt werden. Bei pH 11.9 wurde eine Löslichkeit von 1.1 mmol/l gemessen. Diese Säure ist ein typisches Beispiel dafür, dass sich die wässrige Löslichkeit zwischen dem vollständig ionisiertem und dem nicht-ionisiertem Molekül um einen Faktor von ca. vier Zehnerpotenzen ändert. Das pH-abhängige Löslichkeitsprofil dissoziierbarer Wirkstoffe verläuft dabei sigmoidal.

Die Löslichkeitssteigerung in reinen NaTC-Mizellen ist für ungeladene Moleküle deutlich größer als für den ionisierten Wirkstoff. Bei pH 2 und pH 3 ist die Löslichkeit bei 30 mmol NaTC um den Faktor 45 größer als in wässriger Pufferlösung. Für das ionisierte Molekül (pH 7-11.9) ist nur eine zwei- bis vierfache Löslichkeitssteigerung zu beobachten. Die Löslichkeit in gemischten NaTC/ Lez.-Mizellen ist vor allem bei pH 5 noch deutlich erhöht. Um bei Säuren und Basen den Unterschied zwischen dem fed- und dem fasted-state beurteilen zu können, muss neben der unterschiedlichen Gallensalzkonzentration auch die Veränderung des pH-Wertes berücksichtigt werden. Im präprandialen Zustand, bei $3.75 \text{ mmol NaTC/Lez.}$ liegt ein durchschnittlicher pH-Wert von 6.5 vor. Im postprandialen Zustand steigt die Acidität im Jejunum auf pH 5. Bei Glibenclamid nimmt die Löslichkeit durch die Nahrungsaufnahme zunächst ab (ca. $5 \text{ }\mu\text{g/ml}$ bei pH 6.5 gegen $2.8 \text{ }\mu\text{g/ml}$ bei pH 5). Es ist offensichtlich, dass der solubilisierende Effekt der Gallensalzmizelle bei pH 5 gegenüber der Löslichkeitssteigerung durch die erhöhte Dissoziation bei pH 6.5 unbedeutend wird. Die Substanz löst sich unter gastro-intestinalen Bedingungen nicht infolge der Gallensalze auf, sondern aufgrund des pH-Gradienten. Allerdings ist auch im postprandialen Zustand in tieferen Dünndarmabschnitten ein durchschnittlicher pH-Wert von 6.5 vorhanden und die Säure kann leicht aufgelöst werden.

Dies wird auch durch die Literatur bestätigt. Marathe et al. [2000] untersuchten den Einfluss der Nahrungsaufnahme auf die Pharmacokinetik einer Metformin/ Glibenclamid Tablette. Die Kombination der Wirkstoffe zeigt für Metformin und Glibenclamid Bioverfügbarkeiten, wie sie auch für die Einzelsubstanzen gemessen werden.

Nahrung beeinflusste die Bioverfügbarkeit in keinem nennenswerten Ausmaß.

Unterschiedliche Nahrung	Unterschiedliche Nahrung	Unterschiedliche Nahrung	Unterschiedliche Nahrung	Unterschiedliche Nahrung	Unterschiedliche Nahrung
1	2	3	4	5	6
7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30
31	32	33	34	35	36
37	38	39	40	41	42
43	44	45	46	47	48
49	50	51	52	53	54
55	56	57	58	59	60
61	62	63	64	65	66
67	68	69	70	71	72
73	74	75	76	77	78
79	80	81	82	83	84
85	86	87	88	89	90
91	92	93	94	95	96
97	98	99	100	101	102
103	104	105	106	107	108
109	110	111	112	113	114
115	116	117	118	119	120
121	122	123	124	125	126
127	128	129	130	131	132
133	134	135	136	137	138
139	140	141	142	143	144
145	146	147	148	149	150
151	152	153	154	155	156
157	158	159	160	161	162
163	164	165	166	167	168
169	170	171	172	173	174
175	176	177	178	179	180
181	182	183	184	185	186
187	188	189	190	191	192
193	194	195	196	197	198
199	200	201	202	203	204
205	206	207	208	209	210
211	212	213	214	215	216
217	218	219	220	221	222
223	224	225	226	227	228
229	230	231	232	233	234
235	236	237	238	239	240
241	242	243	244	245	246
247	248	249	250	251	252
253	254	255	256	257	258
259	260	261	262	263	264
265	266	267	268	269	270
271	272	273	274	275	276
277	278	279	280	281	282
283	284	285	286	287	288
289	290	291	292	293	294
295	296	297	298	299	300

Tabelle 4-30: Löslichkeit von Glibenclamid bei 37°C in Abhängigkeit von NaTC

4.3.2.2 Mefenaminsäure

End-pH	NaTC [mmol]	Löslichkeit ohne Lezithin [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit ohne Lezithin [mmol/l]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [mmol/l]		
pH 2	0	0.06 \pm 0.002	2.62E-04				
	7.5	0.27 \pm 0.02	1.12E-03				
	15	3.40 \pm 0.08	1.41E-02				
	30	15.89 \pm 3.86	6.59E-02				
pH 3	0	0.07 \pm 0.01	2.87E-04				
	7.5	0.23 \pm 0.09	9.50E-04				
	15	3.78 \pm 0.25	1.57E-02				
	30	19.01 \pm 0.53	7.88E-02				
pH 5	0	0.65 \pm 0.03	2.71E-03			0.65 \pm 0.03	2.71E-03
	1	0.69 \pm 0.02	2.84E-03			2.10 \pm 0.10	0.0088
	3.75	0.60 \pm 0.03	2.48E-03			8.90 \pm 0.35	0.0370
	7.5	0.52 \pm 0.12	2.14E-03			11.4 \pm 0.16	0.0472
	15	5.27 \pm 0.27	2.18E-02	27.2 \pm 0.90	0.1129		
	30	22.13 \pm 1.00	9.17E-02	45.5 \pm 19.88	0.1884		
pH 6	0	7.20 \pm 0.15	2.98E-02	7.20 \pm 0.15	2.98E-02		
	1	5.87 \pm 0.08	2.43E-02	9.60 \pm 0.10	0.0397		
	3.75	6.44 \pm 0.22	2.67E-02	18.1 \pm 0.19	0.0751		
	7.5	6.58 \pm 0.38	2.73E-02	24.8 \pm 0.35	0.1026		
	15	19.44 \pm 0.34	8.06E-02	46.6 \pm 0.70	0.1932		
	30	58.82 \pm 5.47	2.44E-01	95.1 \pm 4.16	0.3940		
pH 7	0	67.2 \pm 3.27	2.79E-01	67.2 \pm 3.27	2.79E-01		
	1	58.5 \pm 0.61	2.42E-01	80.8 \pm 1.06	0.3350		
	3.75	65.1 \pm 0.29	2.70E-01	94.8 \pm 1.84	0.3928		
	7.5	64.0 \pm 5.71	2.65E-01	141.2 \pm 4.42	0.5853		
	15	153.5 \pm 2.18	6.36E-01	248.2 \pm 2.26	1.0288		
	30	343.2 \pm 30.01	1.42E+00	529.9 \pm 11.06	2.1962		
pH 8	0	357.0 \pm 2.79	1.48				
	7.5	418.7 \pm 3.55	1.74				
	15	546.4 \pm 4.82	2.26				
	30	838.0 \pm 8.68	3.47				
pH 9	0	486.2 \pm 3.13	2.01				
	7.5	585.0 \pm 4.70	2.42				
	15	715.2 \pm 8.29	2.96				
	30	1000.0 \pm 8.79	4.14				

Tabelle 4-31: Löslichkeit von Mefenaminsäure bei 37°C in Abhängigkeit von NaTC

Die Mefenaminsäure ist die zweite untersuchte Säure und zeigt ein ähnliches Verhalten wie das zuvor beschriebene Glibenclamid. Das Analgetikum ist in Deutschland in Form von zwei Fertigarzneimitteln auf dem Markt. Dabei handelt es sich um das Ponalar[®] mit 500 mg Wirkstoff von der Firma Gödecke und das Parkemed[®] von

Parke-Davis mit 250 mg Mefenaminsäure. Bei dem zuletzt genannten Fertigarzneimittel fällt auf, dass für die Formulierung Natriumdodecylsulfat und Sojalecithin verwendet wurde. Natriumdodecylsulfat ist wie NaTC ein anionischer Solubilisator. Das Ziel, die Löslichkeit durch eine gemischte Mizelle zu optimieren, wird somit bereits in der Formulierung deutlich.

In wässriger Pufferlösung ist zwischen pH 2 mit $2.6 \cdot 10^{-4}$ mmol/l und pH 9 mit 2.01 mmol/l erneut ein Löslichkeitsunterschied von vier Zehnerpotenzen zu beobachten. Der Einfluss von Gallensalzen auf die Löslichkeit des Analgetikums im nicht-ionisiertem Zustand ist hingegen deutlich größer. Bei pH 2 und pH 3 erhöht sich die Löslichkeit von 0.06 µg/ml um das 260-fache. Demgegenüber löst sich das dissoziierte Molekül bei Anwesenheit von NaTC nur um den Faktor zwei bis drei besser. Betrachtet man die Löslichkeit von Mefenaminsäure bei 30 mmol NaTC in Anwesenheit von Lecithin im gastrointestinalen pH-Bereich, so ist jeweils eine doppelt so hohe Löslichkeit zu beobachten.

Die Abbildung 4-13 gibt die Löslichkeit von Mefenaminsäure in Abhängigkeit von Gallensalz wieder. Die ausgefüllten Abbildungspunkte geben die Löslichkeit in der gemischten NaTC/Lec.-Mizelle wieder und die nicht-ausgefüllten Punkte die Löslichkeit in reinen NaTC-Mizellen. Anhand der Abbildung wird die Bedeutung des pH-Wertes deutlich. Bei pH 5 und pH 6 ist eine Löslichkeitsverbesserung um das 70- bzw. 13-fache zu beobachten. Trotz dieser enormen Löslichkeitssteigerung erreichen die Werte gerade die Löslichkeit von pH 7 im reinen, wässrigen Milieu.

Bei pH 7 sind die solubilisierenden Effekte deutlich geringer (immerhin noch 8-fach). Aufgrund der hohen Wasserlöslichkeit (67.2 µg/ml) kann jedoch eine deutliche Verbesserung erreicht werden.

Im präprandialen Zustand bei 3.75 mmol NaTC/Lec. (pH 6.5) lösen sich ca. 56 µg/ml und im postprandialen Zustand bei 15 mmol NaTC/Lec. (pH 5) 27.2 µg/ml. Auch bei Mefenaminsäure überwiegt der pH-Gradient die löslichkeitssteigernden Effekte der Gallenkomponenten. Bestätigt werden diese Ergebnisse durch Bioverfügbarkeitsstudien. Hamaguchi [1986 u. 1987] und Welling [1989] konnten keine nahrungsbedingten Effekte beobachten.

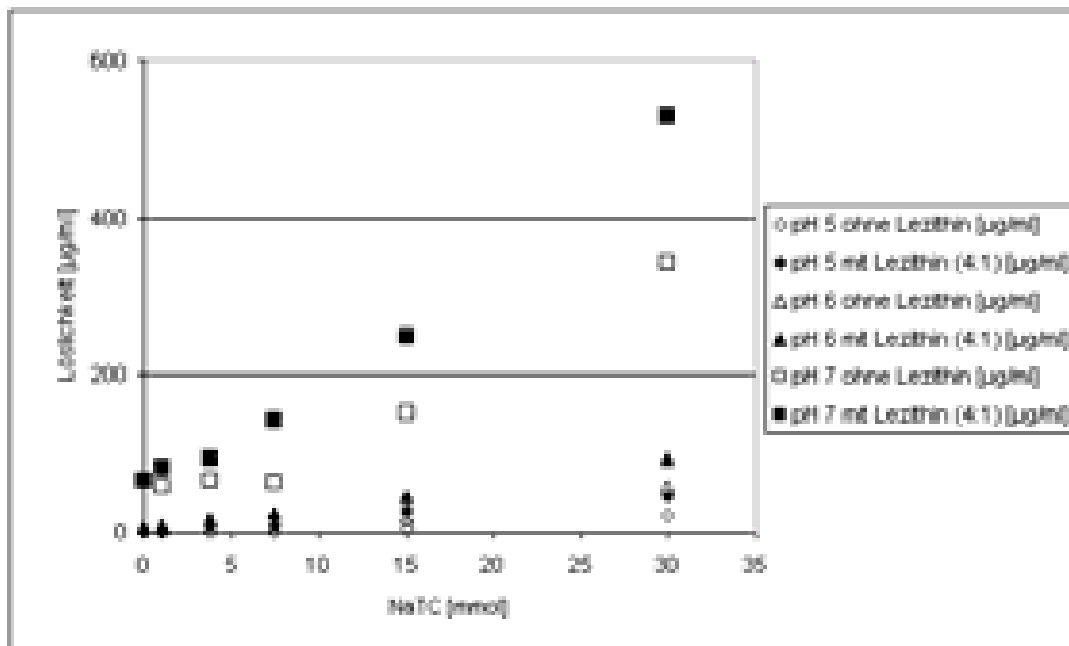


Abbildung 4-13: pH-abhängige Löslichkeit von Mefenaminsäure unter dem Einfluss von Gallenkomponenten

4.3.2.2 Niclosamid

	NaTC [mmol]	Löslichkeit ohne Lezithin [µg/ml]	Löslichkeit ohne Lezithin [mmol/l]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [µg/ml]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [mmol/l]
pH 2	0	0.005 ± 0.0013	1.38E-05		
	7.5	0.33 ± 0.08	8.52E-04		
	15	2.97 ± 0.12	7.64E-03		
	30	8.21 ± 0.33	2.12E-02		
pH 3	0	0.005 ± 0.0013	1.38E-05		
	7.5	0.3 ± 0.1	7.62E-04		
	15	3.19 ± 0.17	8.21E-03		
pH 4	0	0.011	2.96E-05		
	7.5	0.39 ± 0.15	1.01E-03	6.87 ± 0.29	1.77E-02
	15	3.47 ± 0.09	8.93E-03	13.8 ± 0.16	3.55E-02
	30	12.73 ± 0.29	3.28E-02	33.45 ± 16.32	8.62E-02
pH 5	0	0.03	8.76E-05	0.03	8.76E-05
	7.5	0.11 ± 0.01	2.96E-04	7.10 ± 0.05	1.83E-02
	15	1.49 ± 0.22	3.84E-03	13.77 ± 0.10	3.55E-02
	30	12.17	3.13E-02	39.01 ± 0.93	1.00E-01
pH 6	0	0.17 ± 0.07	4.33E-04	0.17 ± 0.07	4.33E-04
	7.5	0.22 ± 0.03	5.67E-04	7.35 ± 0.08	1.89E-02
	15	2.55 ± 0.3	6.58E-03	14.83 ± 0.19	3.82E-02
	30	14.23	3.67E-02	40.16 ± 0.66	1.03E-01
pH 7	0	1.01 ± 0.08	2.58E-03	1.01 ± 0.08	6.61E-04
	7.5	1.48 ± 0.19	3.81E-03	9.75 ± 0.29	2.51E-02
	15	18.0	4.64E-02	21.2 ± 0.49	5.46E-02
	30	51.0	1.31E-01	45.65 ± 32.1	1.18E-01
pH 8	0	5.1 ± 0.82	1.33E-02	5.1 ± 0.82	5.50E-03
	7.5	33.0 ± 0.51	8.50E-02	42.92 ± 0.27	1.11E-01
	15	116 ± 0.6	2.99E-01	66.56 ± 0.92	1.71E-01
	30	282 ± 4.8	7.26E-01	187.74 ± 51.71	4.84E-01
pH 9	0	5.15	1.33E-02		
	7.5	36.94 ± 3.19	9.51E-02		
	15	116.09 ± 2.27	2.99E-01		
	30	345.17 ± 14.44	8.89E-01		

Tabelle 4-32: Löslichkeit von Niclosamid bei 37°C in Abhängigkeit von NaTC

Niclosamid, ein chloriertes Nitrosalicylat, ist einer der ältesten Wirkstoffe, der in der Human- und Tiermedizin zur Bekämpfung von Bandwürmern eingesetzt wird. Er wirkt allein gegen die intestinalen Cestodenformen, wobei jedoch nicht alle Arten gleich gut entfernt werden. Die Wirkung beruht auf einem Eingriff in den Parasitenstoffwechsel am Scolex. Infolgedessen kommt es zu einer ATP-Verarmung bei gleichzeitiger Lactatanhäufung. Dadurch wird der Bandwurm für Proteasen angreifbar und

wird verdaut [Ungemach, 1999] Niclosamid ist in Form des Humanpräparates Yomesan[®] bzw. als veterinärmedizinisches Präparat Mansonil[®] erhältlich. Erwartungsgemäß verhält sich Niclosamid in bezug auf Löslichkeitseigenschaften wie die vorhergehenden schlechtlöslichen, schwachen Säuren.

4.3.2.4 Hydrocortison-Hemisuccinat

Die Löslichkeit des Glucocorticoids Hydrocortison wurde durch die Einführung einer Bernsteinsäure und die anschließende Bildung eines Natriumsalzes deutlich verbessert. Das Salz ist um den Faktor 10 besser löslich als der Neutralstoff. In Tabelle 4-33 sind die von Bakatselou [1990] gemessenen Daten für Hydrocortison aufgeführt. Tabelle 4-34 zeigt die deutliche Verbesserung der Löslichkeit beim Hydrocortison-Hemisuccinat.

NaTC [mmol]	Löslichkeit ohne Lezithin [$\mu\text{g}/\text{ml}$]	Löslichkeit ohne Lezithin [mmol/l]
0	326 \pm 6	1.52E-02
0.09	312 \pm 1	2.54E-03
0.93	346 \pm 8	2.03E-02
3.75	377 \pm 4	1.01E-02
7.5	425 \pm 1	2.54E-03
15	528 \pm 4	1.01E-02
30	683 \pm 6	1.52E-02

Tabelle 4-33: Löslichkeiten von Hydrocortison bei unterschiedlichen Gallensalzkonzentrationen

NaTC [mmol]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [$\mu\text{g}/\text{ml}$]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [mmol/l]
0	3168 \pm 6.9	6.85
7.5	3221 \pm 6.9	6.96
15	3294 \pm 7.1	7.12
30	3415 \pm 7.3	7.38

Tabelle 4-34: Löslichkeiten von Hydrocortison-Hemisuccinat bei pH 7 in unterschiedlichen Gallensalzkonzentrationen

Das Hydrocortison-Hemisuccinat hat einen pK_a -Wert von 2.35 und liegt bei pH 7 vollständig ionisiert vor.

4.3.3 Ampholyt - Levothyroxin

Levothyroxin (T4) ist das ein Isomer des Schilddrüsenhormons Thyroxin. Schilddrüsenhormone beeinflussen den Protein-, Fett-, und Kohlenhydratstoffwechsel. Damit wirken sie auf Wachstum und Entwicklung ein. Sie stimulieren den Sauerstoffverbrauch in fast allen Zellen des Körpers, was zu einem erhöhten Energiehaushalt und Wärmeproduktion führt. Zusätzlich besitzen Schilddrüsenhormone einen stimulierenden Effekt auf das Herz.

Oral verabreichtes Levothyroxin wird vor allem bei der Suppressions- u. Substitutionstherapie von Schilddrüsenmalignomen eingesetzt, aber auch bei Hypothyreose sowie benignen Strumen mit euthyreoter Funktionslage.

Da Levothyroxin ein Wirkstoff mit einem sehr engen therapeutischen Bereich ist, wird der Patient langsam auf die geeignete Dosis eingestellt. Zusätzlich ist zu beachten, dass T4 eine Halbwertszeit von 9 Tagen besitzt. Um Schwankungen in der Bioverfügbarkeit zu verhindern, sollte ein Patient während der Behandlung mit T4 nicht auf ein anderes generisches Medikament umgestellt werden. Eine erhöhte Bioverfügbarkeit des Generikums kann zu Herzschmerzen und Arrhythmien führen. Bei einem solchen Arzneistoff sind eine schlechte Löslichkeit und eine schlechte Freisetzung besonders ungünstig. Bevorzugt wird deshalb statt der freien Säure das Natriumsalz des Levothyroxins verwendet. Als freie Säuren sind nur das Thyreocomb[®] und das Thyreotom[®] in unterschiedlichen Dosierungen erhältlich.

Die gleichzeitige Einnahme von Nahrung kann die Absorption von Levothyroxin senken [Benvenga, 1995]. Dies scheint jedoch vor allem an den Mineralien (z. B. Eisen, Aluminium) zu liegen, die mit dem Wirkstoff Komplexe bilden. Levothyroxin sollte daher auf nüchternen Magen eine Stunde vor dem Essen genommen werden.

End-pH	NaTC [mmol]	Löslichkeit ohne Lezithin [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit ohne Lezithin [mmol/l]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [mmol/l]
5	0	0.26 ± 0.09	3.39E-04	0.26 ± 0.09	3.39E-04
	1	0.40 ± 0.05	5.09E-04	1.70 ± 0.22	2.16E-03
	3.75	0.50 ± 0.20	6.37E-04	4.80 ± 1.01	6.21E-03
	7.5	1.22 ± 0.28	1.57E-03	10.1 ± 0.73	1.30E-02
	15	5.63 ± 1.77	7.24E-03	17.3 ± 9.40	2.23E-02
	20	13.31 ± 0.96	1.71E-02		
	30	16.89 ± 2.04	2.17E-02	115.2 ± 18.82	1.48E-01
6	0	0.27 ± 0.10	3.44E-04	0.27 ± 0.10	3.44E-04
	1	0.39 ± 0.04	4.96E-04	1.6 ± 0.19	2.07E-03
	3.75	0.53 ± 0.15	6.77E-04	5.2 ± 0.17	6.74E-03
	7.5	1.38 ± 0.39	1.78E-03	11.6 ± 0.8	1.49E-02
	15	5.04 ± 1.09	6.48E-03	19.7 ± 2.2	2.53E-02
	20	11.96 ± 0.45	1.54E-02		
	30	16.53 ± 2.37	2.13E-02		
7	0	0.5 ± 0.10	6.30E-04	0.5 ± 0.10	6.30E-04
	1	0.6 ± 0.03	7.79E-04	1.7 ± 0.17	2.13E-03
	3.75	0.8 ± 0.09	1.03E-03	9.8 ± 7.85	1.26E-02
	7.5	1.7 ± 0.45	2.18E-03	12.2 ± 1.73	1.57E-02
	15	6.4 ± 1.28	8.26E-03	21.2 ± 1.86	2.73E-02
	20	17.7 ± 1.17	2.28E-02		
	30	19.7 ± 1.47	2.53E-02	64.7 ± 6.53	8.33E-02

Tabelle 4-35: Löslichkeiten von Levothyroxin bei unterschiedlichen Gallensalzkonzentrationen

4.3.4 Basen

4.3.4.1 Ketoconazol

Ketoconazol ist eine Base mit einem pK_a -Wert von 6.51. Die pH-abhängige Wasserlöslichkeit wurde von Hörter [1999] untersucht und ist in Tabelle 4-36 dargestellt. Wie die zuvor beschriebenen Wirkstoffe zeigen auch die Werte für Ketoconazol, dass sich die Löslichkeiten, betrachtet man das gesamte pH-Profil, um vier Zehnerpotenzen verändern.

pH	Löslichkeit [$\mu\text{g/ml}$]
7.5	4.67 ± 0.16
7.0	5.48 ± 0.12
6.5	7.36 ± 0.37
6.0	14.9 ± 0.57
5.5	33.8 ± 2.1
4.63	190.8 ± 4.0
3.68	1654.9 ± 55.4
2.98	14608 ± 505.2

Tabelle 4-36: Löslichkeit von Ketoconazol in Phosphatpuffer bei unterschiedlichen pH-Werten [Hörter, 1999]

Wird nur der Bereich von pH 5 - 7 betrachtet, der im GI-Trakt vorherrscht, so steigert sich die Löslichkeit von pH 7 bis pH 5 um das 13-fache von $6 \mu\text{g/ml}$ auf $81 \mu\text{g/ml}$. In Anwesenheit von Gallensalzen verändert sich dieses Verhältnis zu Gunsten der weniger dissoziierten Base.

Die von Hörter bestimmten Löslichkeiten von Ketoconazol in Gallensalzmizellen sind nicht direkt mit den eigenen Werten vergleichbar, da sie bei anderen pH-Werten vermessen wurden. Betrachtet man die Größenordnung der Messwerte, so werden die vorliegenden Werte jedoch bestätigt.

End-pH	NaTC [mmol]	Löslichkeit pH 5 ohne Lezithin [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit pH 5 ohne Lezithin [mmol/l]	Löslichkeit pH 5 mit Lezithin (4:1) [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit pH 5 mit Lezithin (4:1) [mmol/l]
5	0	81.10 \pm 8.33	0.15	81.102 \pm 8.33	0.15
	1	87.09 \pm 3.68	0.16	100.23 \pm 2.27	0.19
	3.75	92.57 \pm 3.21	0.17	132.74 \pm 4.73	0.25
	7.5	97.65 \pm 3.88	0.18	246.26 \pm 8.10	0.46
	15	229.0 \pm 2.66	0.43	399.48 \pm 7.94	0.75
	30	444.0 \pm 21.93	0.84	687.17 \pm 101.12	1.29
6	0	15.92 \pm 0.71	0.03	15.92 \pm 0.71	0.03
	1	16.61 \pm 0.48	0.03	14.66 \pm 0.15	0.03
	3.75	16.12 \pm 1.13	0.03	32.49 \pm 1.34	0.06
	7.5	19.52 \pm 1.38	0.04	75.17 \pm 2.26	0.14
	15	65.48 \pm 1.82	0.12	157.40 \pm 6.07	0.30
	30	162.48 \pm 5.19	0.31	368.63 \pm 10.10	0.69
7	0	5.98 \pm 0.27	0.01	5.98 \pm 0.27	0.01
	1	6.08 \pm 0.20	0.01	6.64 \pm 0.67	0.01
	3.75	8.21 \pm 0.54	0.02	16.81 \pm 0.67	0.03
	7.5	12.43 \pm 0.29	0.02	45.33 \pm 1.89	0.09
	15	38.82 \pm 1.26	0.07	93.12 \pm 2.76	0.18
	30	110.18 \pm 2.16	0.21	211.97 \pm 9.66	0.40
7.8	0	3.64	0.01		
	7.5	8.55 \pm 0.03	0.02		
	15	30.94 \pm 0.91	0.06		
	30	107.98	0.20		

Tabelle 4-37: Löslichkeit von Ketoconazol bei verschiedenen Gallensalzkonzentrationen und pH-Werten

Postprandial (pH 5, 15 mmol NaTC/Lez.) 400 $\mu\text{g/ml}$

Präprandial (pH 6.5, 3.75 mmol NaTC/Lez.) ca. 10 $\mu\text{g/ml}$

Ein Food-Effekt ist jedoch nicht zu erwarten, weil im nüchternen Zustand der niedrige pH-Wert im Magen einen sehr bedeutenden Beitrag zur Löslichkeit leistet. Die postprandial erhöhte Löslichkeit im Dünndarm wiederum, gleicht den erhöhten pH-Wert im Magen aus. Es ändert sich also eigentlich nur der Hauptort der Wirkstofffreisetzung.

NaTC [mmol]	Löslichkeit pH 5.5 ohne Lezithin [µg/ml]	Löslichkeit pH 5.5 mit Lezithin (4:1) [µg/ml]	Löslichkeit pH 7.5 ohne Lezithin [mmol/l]
0	36.0 ± 1.4	34.4 ± 0.91	4.7 ± 0.13
0.1	36.9 ± 0.6	36.0 ± 0.27	4.9 ± 0.17
1	39.0 ± 0.9	49.9 ± 0.41	6.2 ± 0.31
3	40.5 ± 1.8	71.1 ± 2.17	6.8 ± 0.17
7.5	58.4 ± 0.7	164.9 ± 3.6	10.0 ± 0.26
15	128.5 ± 5.1	287.9 ± 13.1	27.4 ± 2.01
30	275.0 ± 11.3		83.5 ± 4.18

Tabelle 4-38: Literaturwerte von Hörter [1999]

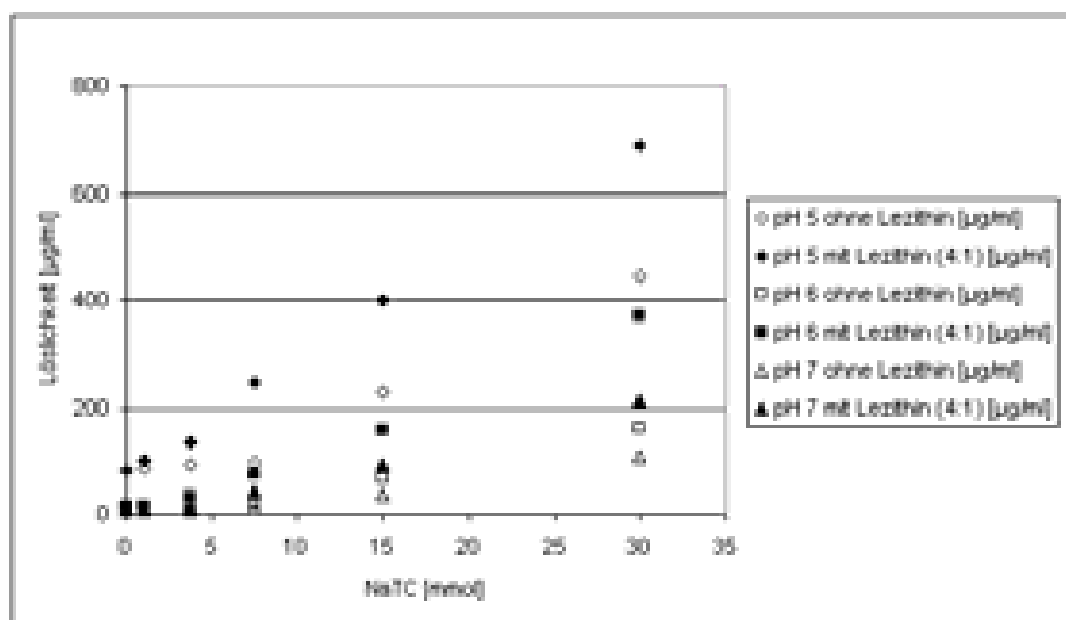


Abbildung 4-14: pH-abhängige Löslichkeit von Ketoconazol unter Einfluss von Gallenkomponenten

Die ausgefüllten Datenpunkte geben die Löslichkeit in den gemischten Mizellen mit einem NaTC/Lez.-Verhältnis von 4:1 wieder.

In der Literatur wird der Einfluss der Nahrungsaufnahme auf die Bioverfügbarkeit von Ketoconazol unterschiedlich beschrieben. Daneshmend et al. [1984] fanden bei einer üblichen Dosis an Ketoconazol keinen Unterschied in der AUC, gleich ob die Untersuchungen im prä- oder postprandialen Zustand durchgeführt wurden. Gascoigne et al. [1981] beobachteten eine erhöhte Wirkstoffkonzentration nach einem Standard-Frühstück, während andere Autoren entweder keinen Effekt oder eine Abnahme der

AUC nach einem Frühstück feststellten [Brass, 1982; Mannisto, 1982]. Allerdings ist es bei diesem Wirkstoff nicht möglich, den oftmals ausgebliebenen Anstieg der Bioverfügbarkeit damit zu begründen, dass die Gallensalze keinen solubilisierenden Effekt auf Ketoconazol ausüben. Vielmehr können andere Faktoren die Resorption beeinflussen. Wie bei Itraconazol wird die Resorption von der Acidität im Magen stark beeinflusst. Hinzu kommt, dass bei Ketoconazol der first-pass-Effekt und eventuell auch p-Glycoproteine eine große Rolle spielen. Bei einer erhöhten Wirkstoffkonzentration werden zusätzlich CYT-P450-Enzyme inhibiert und der Wirkstoff dadurch schneller metabolisiert.

4.3.4.2 Miconazolnitrat

Das Miconazolnitrat besitzt einen pK_a -Wert von 6.65 und somit eine fast ebenso große Säurekonstante wie das zuvor beschriebene Ketoconazol. Die Effekte, die die Gallensalze auf diesen Wirkstoff ausüben sind jedoch wesentlich größer als bei Ketoconazol. Bei einem pH-Wert von 6 wird deutlich, dass Miconazol trotz geringerer Löslichkeit im Puffer ($0.97 \mu\text{g/ml}$ vs. $15.9 \mu\text{g/ml}$) bei 30 mmol NaTC, eine höhere Löslichkeit aufweist. Bei Ketoconazol erhöht sich die Löslichkeit in den gemischten Mizellen um das 23-fache, bei Miconazol um das 410-fache.

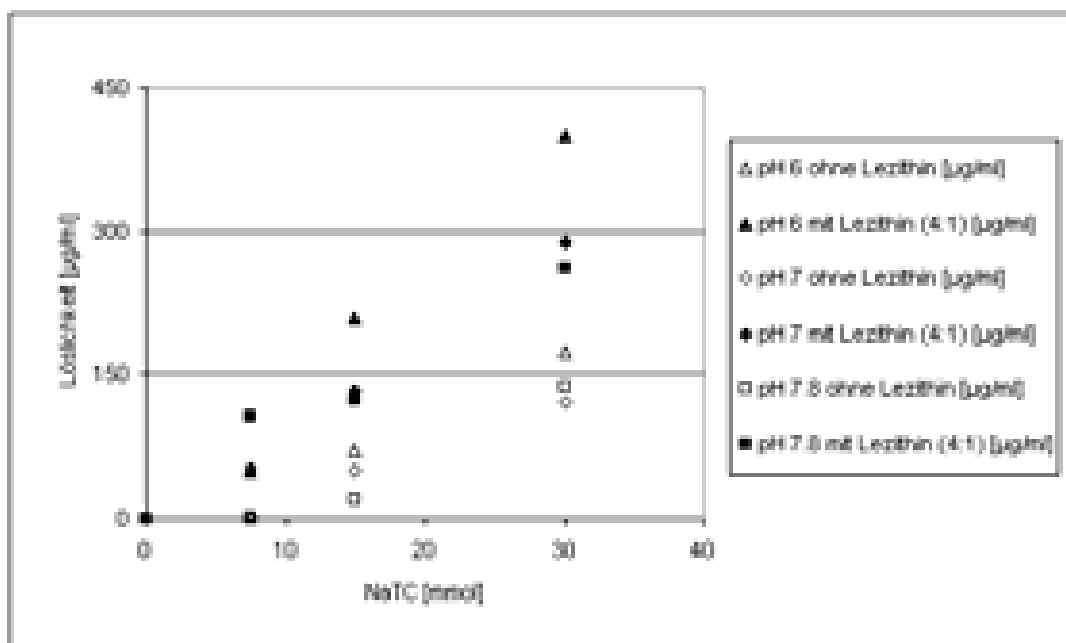


Abbildung 4-15: pH-abhängige Löslichkeit von Miconazol unter Einfluss von Gallenkomponenten

End-pH	NaTC [mmol]	Löslichkeit ohne Lezithin [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit ohne Lezithin [mmol/l]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [mmol/l]
pH 4.2	0	52.11 \pm 21.34	0.11		
	7.5	40.84 \pm 3.31	0.09		
	15	241.30 \pm 5.14	0.50		
	30	894.34 \pm 63.23	1.87		
pH 5	0	12.12 \pm 0.21	0.03		
	7.5	21.87 \pm 0.89	0.05		
	15	280.27 \pm 63.00	0.58		
	30	546.33	1.14		
pH 5.4	0			2.47 \pm 0.17	0.01
	7.5			253.00 \pm 89.01	0.53
	15			377.24 \pm 34.41	0.79
	30			627.93 \pm 56.72	1.31
pH 6	0	0.97 \pm 0.07	0.00	0.97 \pm 0.07	0.00
	7.5	3.13 \pm 0.11	0.01	49.28 \pm 8.21	0.10
	15	70.25 \pm 0.86	0.15	208.95 \pm 32.54	0.44
	30	174.33	0.36	400.59 \pm 12.57	0.84
pH 7	0	0.26 \pm 0.07	0.00	0.26 \pm 0.07	0.00
	7.5	1.63 \pm 0.31	0.00	52.88 \pm 30.81	0.11
	15	50.10 \pm 8.25	0.10	133.77 \pm 3.75	0.28
	30	122.00	0.25	289.00 \pm 14.45	0.60
pH 7.8	0	0.18 \pm 0.04	0.00	0.18 \pm 0.04	0.00
	7.5	1.70 \pm 0.30	0.00	106.99 \pm 0.24	0.22
	15	18.12 \pm 0.65	0.04	123.37 \pm 0.56	0.26
	30	137.34 \pm 1.93	0.29	261.46 \pm 1.46	0.55

Tabelle 4-39: Löslichkeiten von Miconazol unter Einfluss von Gallenkomponenten

Wegen der deutlichen Erhöhung der Löslichkeit in Anwesenheit von Gallenkomponenten und im sauren pH-Bereich ist es nicht zu erwarten, dass die Löslichkeit die Bioverfügbarkeit von Miconazol limitiert.

4.3.4.3 Dipyridamol

Beim Koronardilatator Dipyridamol tritt eine Besonderheit auf, die nur bei diesem Wirkstoff beobachtet wurde. In gemischten Mizellen ist die Löslichkeit von Dipyridamol bei hohen Gallensalzkonzentrationen niedriger als in reinen Natriumtaurocholatomizellen.

End-pH	NaTC [mmol]	Löslichkeit ohne Lezithin [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit ohne Lezithin [mmol/l]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [$\mu\text{g/ml}$]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [mmol/l]		
pH 3.5	0	2199.4 \pm 99.4	4.36				
	7.5	2248.4 \pm 381.9	4.46				
	15	3945.7 \pm 216.1	7.82				
	30	7495.5 \pm 413.3	14.85				
pH 4.2	0	342.7	0.68				
	7.5	700.7 \pm 22.1	1.39				
	15	1002.9 \pm 332.1	1.99				
	30	1607.2 \pm 45.0	3.18				
pH 5.0	0	54.1 \pm 2.2	0.11			54.1 \pm 2.2	0.11
	1	54.2 \pm 1.9	0.11			65.1 \pm 1.1	0.13
	3.75	57.6 \pm 2.3	0.11			90.3 \pm 4.4	0.18
	7.5	94.9 \pm 3.7	0.19			136.4 \pm 3.1	0.27
	15	290.1 \pm 18.7	0.57	249.8 \pm 7.4	0.49		
	30	1004.9 \pm 12.1	1.99	478.7 \pm 0.1	0.95		
pH 6.0	0	10.5 \pm 0.94	0.02	10.5 \pm 0.94	0.02		
	1	10.2 \pm 0.65	0.02	13.8 \pm 0.24	0.03		
	3.75	19.7 \pm 0.87	0.04	23.3 \pm 0.55	0.05		
	7.5	49.9 \pm 0.97	0.10	44.6 \pm 0.54	0.09		
	15	159.7 \pm 4.39	0.32	100.9 \pm 12.26	0.20		
	30	598.9 \pm 19.56	1.19	285.6 \pm 14.91	0.57		
pH 7.0	0	4.9 \pm 0.13	0.01	4.9 \pm 0.13	0.01		
	1	5.4 \pm 0.37	0.01	6.9 \pm 0.21	0.01		
	3.75	11.4 \pm 0.76	0.02	15.3 \pm 0.35	0.03		
	7.5	38.6 \pm 1.30	0.08	32.7 \pm 0.48	0.06		
	15	135.7 \pm 2.92	0.27	94.4 \pm 13.05	0.19		
	30	504.2 \pm 33.42	1.00	222.1 \pm 2.89	0.44		
pH 7.8	0	6.0 \pm 0.22	0.01				
	7.5	53.6 \pm 0.86	0.11				
	15	200.1 \pm 3.77	0.40				
	30	633.4 \pm 10.92	1.26				

Tabelle 4-40: pH-abhängige Löslichkeit von Dipyridamol unter dem Einfluss von Gallenkomponenten

Bei den pH-Werten 5, 6 und 7 steigt die Löslichkeit zunächst in den gemischten Mizellen stärker an, da hier die kritische CMC schneller erreicht ist. Bei 7.5 mmol NaTC steigt auch die Löslichkeit in den Mizellen ohne Lezithin an und übertrifft bei pH 6 und pH 7 bereits die Löslichkeit der gemischten Mizellen. Bei pH 5 verhindert vermutlich die Dissoziation des Moleküls, dass bereits bei 7.5 mmol NaTC eine größere Löslichkeit in reinen Natriumtaurocholatzmizellen erreicht wird.

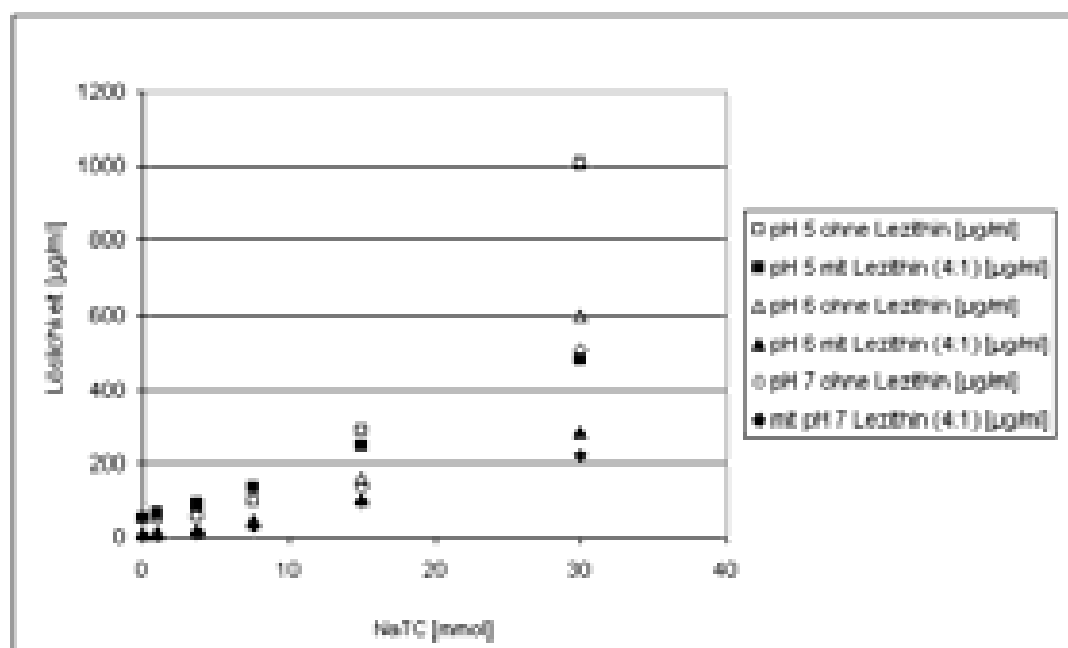
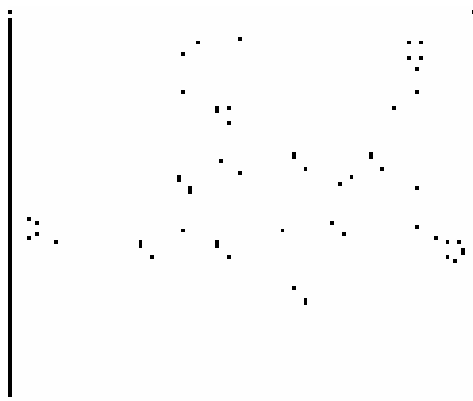


Abbildung 4-16: Löslichkeit von Dipyridamol bei pH 5, 6 und 7 unter Einfluss von Gallenkomponenten

Die Ursache für diese Besonderheit liegt vermutlich in der strukturellen Symmetrie, des Dipyridamols. Für diesen Wirkstoff lässt sich nur ein einziger basischer pK_a -Wert bestimmen, obwohl mindestens zwei Dipyridamol-Stickstoffe (vermutlich vom Piperidin-Ring) protonierbar sein müssten.



Für Dipyridamol konnte [Kostewicz, 2002] bei pH 6.5 eine Löslichkeitssteigerung zwischen 0 und 10 mmol NaTC/Lez. (4:1) um den Faktor 75 feststellen und bei pH 5 zwischen 0 und 20 mmol NaTC/Lez. eine 4-fache Steigerung. Der nahrungsbedingte Effekt fällt bei Dipyridamol sehr gering aus. Nach der Einnahme einer 100 mg Dosis im gesättigten Zustand stieg die AUC nur um 12 % gegenüber der Einnahme im nüchternen Zustand. Auch hier ist davon auszugehen, dass die verschlechterte Auflösung des Wirkstoffes im Magen durch eine erhöhte Auflösung im Dünndarm ausgeglichen wird.

4.3.4.4 Albendazol

In Deutschland befindet sich mit dem Wirkstoff Albendazol nur das Eskazole[®] von der Firma GlaxoSmithKline auf dem Markt. Es wird als Anthelmentikum vor allem gegen Fuchs- und Hundebandwurmbefall eingesetzt. Schon dem Beipackzettel ist zu entnehmen, dass die Bioverfügbarkeit von Albendazol durch die gleichzeitige Aufnahme von Nahrungsmitteln gesteigert wird. Der Hersteller empfiehlt nicht nur, dass Medikament während der Mahlzeit einzunehmen, sondern dass die Tabletten für eine bessere Wirkstoffaufnahme mit einer fetthaltigen Kost eingenommen werden sollten.

Der löslichkeitssteigernde Effekt von Gallenkomponenten auf das Anthelmentikum Albendazol ist tatsächlich relativ groß. Linearität in den gemischten Mizellen vorausgesetzt, errechnet sich für eine NaTC-Konzentration von 3.75 mmol eine Löslichkeit von 2.75 µg/ml. Im postprandialen Zustand ist demnach eine 4- bis 5-fach verbesserte Löslichkeit des Wirkstoffs zu erwarten.

NaTC [mmol]	Löslichkeit ohne Lezithin [µg/ml]	Löslichkeit ohne Lezithin [mmol/l]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [µg/ml]	Löslichkeit mit Lezithin (4:1) [mmol/l]
0	0.95 ± 0.085	3.57E-03	0.95 ± 0.085	3.57E-03
7.5	1.79 ± 0.089	6.73E-03	4.73 ± 0.338	1.78E-02
15	4.71 ± 0.031	1.77E-02	10.45 ± 0.561	3.94E-02
30	11.9 ± 1.083	4.48E-02	23.14 ± 0.597	8.72E-02

Tabelle 4-41: Löslichkeiten von Albendazol bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC, bzw. NaTC/Lez (4:1)

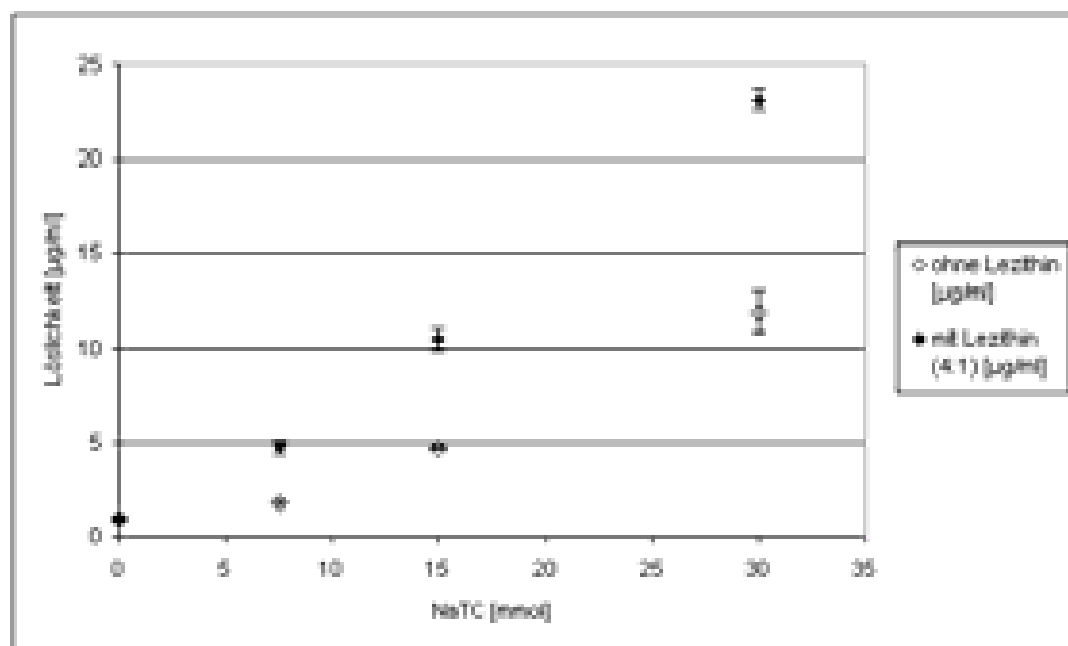


Abbildung 4-17: Löslichkeit von Albendazol unter dem Einfluss von Gallenkomponenten

4.3.4.5 Itraconazol

Bei Itraconazol trat eine besondere Schwierigkeit auf. Die Löslichkeit des Antimykotikums in der wässrigen Pufferlösung ist so gering, dass sie mit der HPLC-Analytik nicht zu bestimmen ist. Bei den zuvor untersuchten Wirkstoffen wurde gezeigt, dass die Löslichkeit in Anwesenheit von Lezithin stets linear verläuft. Daher wurde für Itraconazol die Löslichkeit bei 3.75, 7.5, 15 und 30 mmol NaTC gemessen und gegen die Gallensalzkonzentration aufgetragen. Anschließend wurde auf 0 mmol NaTC/Lez. extrapoliert und so die wässrige Löslichkeit bestimmt. Daraus resultiert der in Tabelle 4-42 für 0 mmol NaTC angegebene Wert.

NaTC [mmol]	Löslichkeit mit Lezithin [µg/ml]	Löslichkeit mit Lezithin [mmol/l]
0	* 0.0002	2.99E-07
3.75	0.04 ± 0.010	5.53E-05
7.5	0.06 ± 0.005	8.50E-05
15	0.12 ± 0.015	1.71E-04
30	0.26 ± 0.032	3.66E-04

Tabelle 4-42: Löslichkeit von Itraconazol bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC und NaTC/Lez (4:1).

* extrapolierter Wert (s. Text)

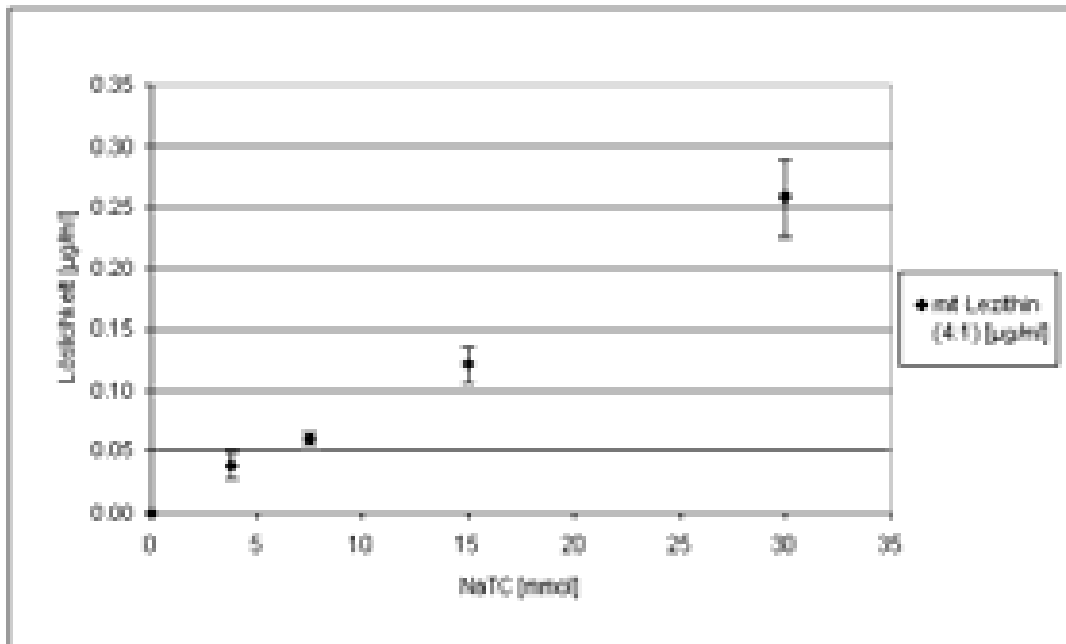


Abbildung 4-18: Löslichkeit von Itraconazol unter dem Einfluss von Gallenkomponenten

Bei der Einnahme von Itraconazol muss dem pH-Wert des Magens besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden. Schafer-Korting [1993] untersuchte die Optimierung der Pharmakokinetik in der antifungalen Therapie. Er stellte fest, dass die Absorption von Azolen durch eine erniedrigte Azidität im Magen beeinträchtigt wird. Bei gleichzeitiger Behandlung mit säureneutralisierenden Arzneimitteln sollte die Tabletten frühestens 2 Stunden nach der Mahlzeit eingenommen werden. Janssen-Cilag empfiehlt bei Patienten mit Achlorhydrie die Kapseln mit einem Cola-Getränk einzunehmen, um den pH-Wert in den sauren pH-Bereich zu verschieben. Im Regelfall wird jedoch empfohlen, Itraconazol mit der Mahlzeit einzunehmen. Die Löslichkeitssteigerung durch die Gallensalze im postprandialen Zustand überwiegt demnach die Löslichkeitsverminderung durch Abnahme der Acidität im Magen. Die eigenen Messungen zeigen zwischen dem nüchternen und dem gesättigten Zustand eine Verbesserung der Löslichkeit um das Dreifache. Die Löslichkeit steigt von 0.04 µg/ml auf 0.120 µg/ml. Barone et al. [1993] konnten in ihrer Arbeit einen in-vivo Anstieg der Maximalkonzentration von 140 ng/ml im präprandialen Zustand auf 239 ng/ml im postprandialen Zustand zeigen.

4.3.4.6 Amiodaronhydrochlorid

Dass Löslichkeitsbestimmung mit der in dieser Arbeit entwickelten Methode durchaus fehlschlagen können, wenn der pH-Wert nicht kontrolliert wird, sollte am Beispiel des Amiodaronhydrochlorids gezeigt werden. Die Messungen wurden zuerst durchgeführt, ohne den pH-Wert zu kontrollieren.

NaTC [mmol]	Löslichkeit bei pH5 [µg/ml]	Löslichkeit bei pH6 [µg/ml]	Löslichkeit bei pH7 [µg/ml]
0	2.6 ± 0.6	0.5 ± 0.7	
1	15.1 ± 5	1.9 ± 0.3	3.4 ± 0.4
3.75	27.7 ± 5.9	20 ± 6.4	4.5 ± 1.2
5	87.0 ± 8.6	91.2 ± 48.7	2.8 ± 0.6
6	7.3 ± 0.7	0.3 ± 0.2	34.6 ± 40.4
7.5	423 ± 164	460 ± 334	380 ± 461
10	1177 ± 168	911 ± 67.7	573 ± 297
12.5	264.6 ± 16.2	233 ± 234	805 ± 124
15	1848 ± 438	1299 ± 177	889 ± 413
30	3615 ± 1459		
1 + Lec	17.2 ± 3.3	220 ± 4.3	124.5 ± 11
3.75 + Lec	147 ± 19	442 ± 205	541 ± 62
7.5 + Lec	242 ± 70	1486 ± 3.4	1947 ± 1012
15 + Lec	949 ± 254	4015 ± 2125	4618 ± 171
30 + Lec	5606 ± 3345	5817 ± 5110	7066 ± 2282

Tabelle 4-43: Löslichkeit von Amiodaron bei pH 5, 6 und 7 in unterschiedlichen Gallensalzkonzentrationen

Ursache für die sehr großen Löslichkeitsschwankungen ist der pH-Wert, der bei Amiodaronhydrochlorid aufgrund der geringen Pufferkapazität von 10 ÷ 2 mEQ/l pH nicht konstant gehalten werden konnte. Bei einem Probenvolumen von 2.0 ml ist die Kapazität schnell aufgebraucht, vor allem dann, wenn statt der freien Base das Salz einer starken Säure vermessen wird. Zusätzlich führt auch die deutlich bessere Löslichkeit zu einer schnellen Erschöpfung der Pufferkapazität.

Um den Einfluss der Einwaage auf den pH-Wert zu kontrollieren, wurden unterschiedliche Mengen an Amiodaronhydrochlorid mit der gleichen Pufferlösung vermessen. Der pH-Wert wurde direkt nach Zugabe der Lösung und nach 24 Stunden gemessen.

Einwaage [mg]	pH Start	pH Ende
0	7.02	7.03
3.1	7.02	6.97
15	7.02	6.69
24	7.02	6.52
34.6	7.02	6.34
40.2	7.02	5.68
70.8	7.02	5.45

Tabelle 4-44: pH-Wert Messung von Amiodaronhydrochlorid bei unterschiedlichen Einwaagemengen

Die Tabelle zeigt, dass der pH-Wert bei höheren Einwaagen um 1.5 Einheiten sinkt. Bei einem basischen pK_a -Wert von 8.73 ist mit einem deutlichen Dissoziationseffekt zu rechnen. Die Substanz löst sich aufgrund des veränderten pH-Wertes vollständig auf. Wird der pH-Wert nicht überprüft, sondern nur das Vorhandensein eines Bodensatzes, so wird fehlerhafterweise statt einer Korrektur des Milieus weiterer Wirkstoff hinzugegeben. Durch den neuen Überschuss an Wirkstoff und die erneute thermodynamische Gleichgewichtseinstellung sinkt der pH weiter.

Weitere Salzeffekte

Das Ketotifenfumarat und das Dihydrochlorid des Trifluoperazin wurden ebenfalls vermessen, erwiesen sich jedoch für die vorliegenden Untersuchungen als ungeeignet. Ausgewählt wurden die Substanzen aufgrund der für ihre freien Basen berechneten Löslichkeiten. Ketotifen, mit einem $\log P$ -Wert von 3.69 und einem Schmelzpunkt von 153°C hat eine berechnete intrinsische Löslichkeit von $20\ \mu\text{g/ml}$ und das Trifluoperazin ($\log P = 5.03$; Smp. = 25°C) eine Löslichkeit von $10.2\ \mu\text{g/ml}$. Auf dem Markt erhältlich und als Wirkstoffe eingesetzt werden die Salze dieser Basen, das Ketotifenhemifumarat und das Dihydrochlorid des Trifluoperazins.

Aus Tabelle 4-45 wird deutlich, dass die Salze bessere Löslichkeiten aufweisen als für ihre freien Basen berechnet wurde. Für Untersuchungen in Gallensalzen war die Standardabweichung bei den Löslichkeitsbestimmungen zu groß, um eine Korrelation aufstellen zu können. Die beiden Wirkstoffe wurden auch deshalb nicht weiter untersucht, da Substanzen mit einer Löslichkeit im gastrointestinalen pH-Bereich von mindestens $1.0\ \text{mg/ml}$ keine Löslichkeitsverbesserung durch Gallensalze benötigen.

	pH	Löslichkeit in 0 mmol NaTC [µg/ml]	Löslichkeit in 15 mmol NaTC [µg/ml]	Löslichkeit in 30 mmol NaTC [µg/ml]
Ketotifen* fumarat	5	1360 ± 426	2379 ± 615	4674 ± 329
	6	880 ± 41	1217 ± 158	4678 ± 454
	7	838 ± 177	1333 ± 279	4524 ± 58
Trifluoperazin*2HCl	5	1381 ± 103	2685 ± 210	n.u.
	6	1208 ± 75	2506 ± 93	
	7	303 ± 53	2196	

Tabelle 4-45: Löslichkeiten von Ketotifenfumarat und Trifluoperazindihydrochlorid

4.4 Gallensalzabhängiges Dosis-Löslichkeitsverhältnis

Für die untersuchten Wirkstoffe wurde das Dosis-Löslichkeitsverhältnis (s. Kapitel: 1.3.2.1) aus drei verschiedenen Löslichkeiten bestimmt. Neben der wässrigen Löslichkeit wurde zur Berechnung des D/L-Verhältnisses auch die Löslichkeit im simulierten prä- und postprandialen Zustand verwendet. Werte, die bei 3.75 mmol NaTC/Lez. bzw. bei pH 6.5 nicht experimentell bestimmt worden sind, wurden über eine lineare Korrelation, bzw. Mittelwertbildung bestimmt. Aus der Roten Liste wurde die Höchstdosierung der Arzneistoffe entnommen.

Wirkstoff	S _{pH 7.0} [µg/ml]	S _{fasted} [µg/ml]	S _{fed} [µg/ml]	Dosis [mg]	D/S _{Puffer (pH7)} [l]	D/S _{fasted} [l]	D/S _{fed} [l]
Albendazol	0.95	2.75	10.45	400	421	145	38
Betamethason	63	77.5	129	0.5	0.008	0.006	0.004
Danazol	0.21	10.32	31.63	200	952	19	6
Dexamethason	92	146.6	254	8	0.1	0.1	0.031
Dipyridamol	54	19.3	250	75	1.4	3.9	0.3
Dronabinol	0.03	56.7	191	2.5	83.3	0.04	0.01
Felodipin	0.86	57.8	258.5	10	11.6	0.17	0.04
Glibenclamid	0.1	4.9	2.8	3.5	35.0	0.7	1.3
Griseofulvin	10.4	31	71.7	500	48	16	7
Itraconazol	0.0002	0.04	0.12	100	500000	2500	833
Ketoconazol	81	24.65	400	200	2.5	8.1	0.5
Levothyroxin	0.26	7.5	17.3	0.12	0.5	0.02	0.01
Mefenaminsäure	0.65	56.5	27.2	500	769	9	18
Niclosamid	0.03	4	13.8	500	16667	125	36
Phenytoin	31	39.6	58	100	3.2	2.5	1.7

Tabelle 4-46: Dosis-Löslichkeitsverhältnis für die oral verfügbaren Wirkstoffe

Das Dosis-Löslichkeitsverhältnis gibt an, welches Volumen notwendig ist, um den Wirkstoff in der angegebenen Dosis vollständig zu lösen. In den meisten Bioverfügbarkeitsstudien werden 200-250 ml Wasser verabreicht. Zusammen mit dem Magen- und Darmvolumen (50 ml) ist im GI-Trakt im nüchternen Zustand ein Volumen von 250-300 ml zu erwarten. Nach der Einnahme einer Mahlzeit erhöht sich das Volumen auf 500-1000 ml. Für die reine Wasserlöslichkeit ist bei fast allen Wirkstoffen ein sehr hohes Volumen notwendig. Nur Wirkstoffe mit einer sehr niedrigen Dosierung, wie Betamethason (0.5 mg) und Dexamethason (8 mg) lösen sich im wässrigen Milieu voll-

ständig auf. Zusätzlich zu der niedrigen Dosierung besitzen diese Wirkstoffe auch noch eine annehmbare Löslichkeit. Bei den anderen Stoffen ist mit zunehmender Gallensalzkonzentration eine zum Teil deutliche Abnahme des notwendigen Volumens zu beobachten. Die Gallensalzkonzentration des nüchternen Zustandes reicht aus, damit sich Dronabinol, Felodipin und Levothyroxin auflösen. Die vollständige Löslichkeit von Dipyridamol im postprandialen Zustand ist sowohl auf den sauren pH-Wert (pH 5) als auch auf die solubilisierende Wirkung der Gallensalze zurückzuführen. Dieser Effekt wird auch bei der Base Ketoconazol deutlich, die sich unter präprandialen Bedingungen in 8 Liter löst, unter postprandialen Bedingungen jedoch in 0.5 Liter. Bei den untersuchten Säuren wirkt im postprandialen Zustand der gesenkten pH-Wert dem solubilisierende Effekt der Gallensalze entgegen. Das D/L-Verhältnis von Glibenclamid und Mefenaminsäure ist im fasted-state bei pH 6.5 niedriger als im fed-state bei pH 5.

Für sehr schwache Basen (Albendazol, Ketoconazol u. Itraconazol) ist der pH-Wert des Magens ebenfalls zu berücksichtigen, da sich im sauren Milieu der Wirkstoff wesentlich besser löst.

Wirkstoff	So [µg/ml]	Dosis [mg]	D/S [l]
Albendazol ¹	320	400	1.25
Itraconazol ²	1.86	100	53.76
Ketoconazol ³	14609	200	0.01

Tabelle 4-47: Dosis-Löslichkeitsverhältnis für oral verfügbare Azole bei sauren pH-Werten

¹ Löslichkeit bei pH 1.2, abgeschätzt aus einem Freisetzungsprofil [Galia, 1999]

² Löslichkeit bei pH 1.18 [Hörter, 1999]

³ Löslichkeit bei pH 2.98 [Hörter, 1999]

Nach der BCS-Klassifizierung wären nur die oben erwähnten Corticoide gut löslich, da für die Einteilung in die vier Klassen die wässrige Löslichkeit als Maßstab verwendet wird. Bei der Entwicklung eines Arzneistoffes sollte jedoch zusätzlich die Löslichkeit unter gastrointestinalen Bedingungen berücksichtigt werden.

5 AUSWERTUNG

5.1 Löslichkeitsverhältnis Gallensalzmizelle-Wasser

5.1.1 Berechnung von logSR

Für die gemessenen Löslichkeitswerte wurde das Verhältnis (solubility ratio = SR) zwischen der Löslichkeit des Wirkstoffes im Gallensalz zur Löslichkeit im Wasser berechnet.

Das Löslichkeitsverhältnis berechnet sich nach:

$$\log SR = \log \left(\frac{C_{Sx}}{C_{So}} \right)$$

mit:

$$C_{Sx} = C_{\text{Substanz}} [\text{mol/l}] / C_{\text{Gallensalz}} [\text{mol/l}],$$

$$C_{So} = S_{o \text{ Puffer}} [\text{mol/l}] / C_{\text{Wasser}} [\text{mol/l}],$$

$S_{o \text{ Puffer}} [\text{mol/l}]$ Löslichkeit des Wirkstoffes in Pufferlösung,

$C_{\text{Wasser}} [\text{mol/l}]$ Mol Wasser pro Liter Wasser = 55.56 mol/l.

Wird die Löslichkeit des Wirkstoffes gegen die Konzentration des Gallensalzes aufgetragen, so ergibt die Steigung der Geraden den C_{Sx} -Wert.

Aus der Steigung lässt sich berechnen, wieviel Mol Substanz pro Mol Gallensalz gelöst werden kann.

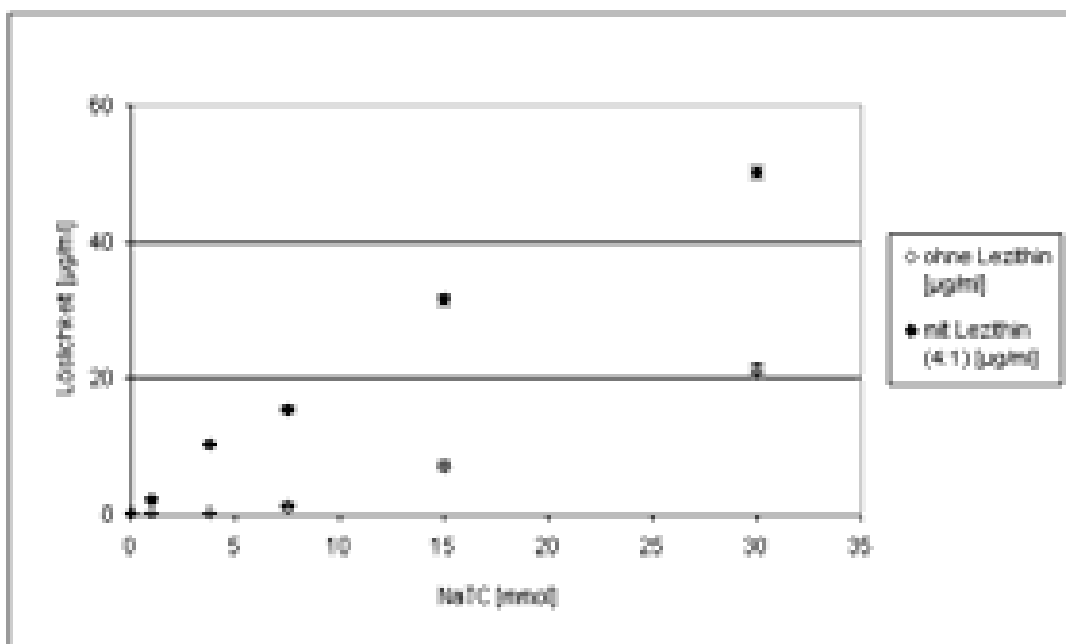


Abbildung 5-1: Löslichkeit von Danazol unter dem Einfluss von Gallenkomponenten

Die Abbildung 5-1 verdeutlicht noch einmal das unterschiedliche Verhalten der Mizellen. Eine Linearität in den reinen Natriumtaurocholatzmizellen wird erst nach dem Erreichen der CMC beobachtet. Für die lineare Regression wurden daher nur die Löslichkeitswerte bei 7.5, 15 und 30 mmol NaTC verwendet. Für die Bestimmung der Geradensteigung bei den gemischten NaTC/Lez.-Mizellen konnten dagegen alle Werte verwendet werden, da die CMC der Mischmizelle bei ca. 0.6 mmol NaTC/Lez.(4:1) liegt.

5.1.1.1 Fehlerrechnung

Der Fehler für die Funktion $SR = C_{sx}/C_{so}$ berechnet sich nach dem Fehlerfortpflanzungsgesetz wie folgt:

$$\epsilon_{SR} = \sqrt{\left(\frac{\partial SR}{\partial C_{so}} \right)^2 \omega_{C_{so}}^2 + \left(\frac{\partial SR}{\partial C_{sx}} \right)^2 \omega_{C_{sx}}^2}$$

mit:

$$\left(\frac{\partial SR}{\partial C_{so}} \right)^2 \quad \text{Ableitungen der Funktion SR nach } C_{so} = 4 \frac{C_{sx}}{C_{so}^2},$$

$$\left(\frac{\partial SR}{\partial C_{sx}} \right)^2 \quad \text{Ableitungen der Funktion SR nach } C_{sx} = \frac{1}{C_{so}},$$

$\omega_{C_{so}}^2$ Fehler von C_{so} .

Dies ist der Fehler aus der Steigung, wenn die Löslichkeit der Substanz im Gallensalz gegen die Konzentration des Gallensalzes aufgetragen wird.

$\omega_{C_{sx}}^2$ Fehler von C_{sx}

Dies ist die Standardabweichung aus den Löslichkeitsbestimmungen im Puffer.

Daraus folgt:

$$\epsilon_{SR} = \sqrt{\left(\frac{\partial SR}{\partial C_{so}} \right)^2 \omega_{C_{so}}^2 + \left(\frac{\partial SR}{\partial C_{sx}} \right)^2 \omega_{C_{sx}}^2}$$

Die Fehler für $\log SR$ fallen sehr klein aus. Der Grund dafür ist, dass bei der Bestimmung der Steigung C_{sx} sehr gute Korrelationen erzielt wurden.

5.1.2 Allgemeine Betrachtung der logSR-Werte

Für alle Wirkstoffe wurden die logSR-Werte ermittelt und in Abbildung 5-2 gegen ihre logD-Werte aufgetragen. Die Löslichkeiten der Säuren und Basen wurden bei unterschiedlichen pH-Werten gemessen, sodass für diese Substanzklassen mehrere Messpunkte existieren. Aus der Abbildung wird eine klare Tendenz erkennbar. Substanzen mit einem niedrigen logD-Wert besitzen auch einen niedrigen logSR-Wert. Besonders bei Glibenclamid (rote Quadrate) und Mefenaminsäure (blaue Quadrate) fällt auf, dass die logSR-Werte mit steigendem logD nicht linear ansteigen. Da sich Säuren und Basen anscheinend anders als Neutralstoffe verhalten, wurden sie getrennt betrachtet.

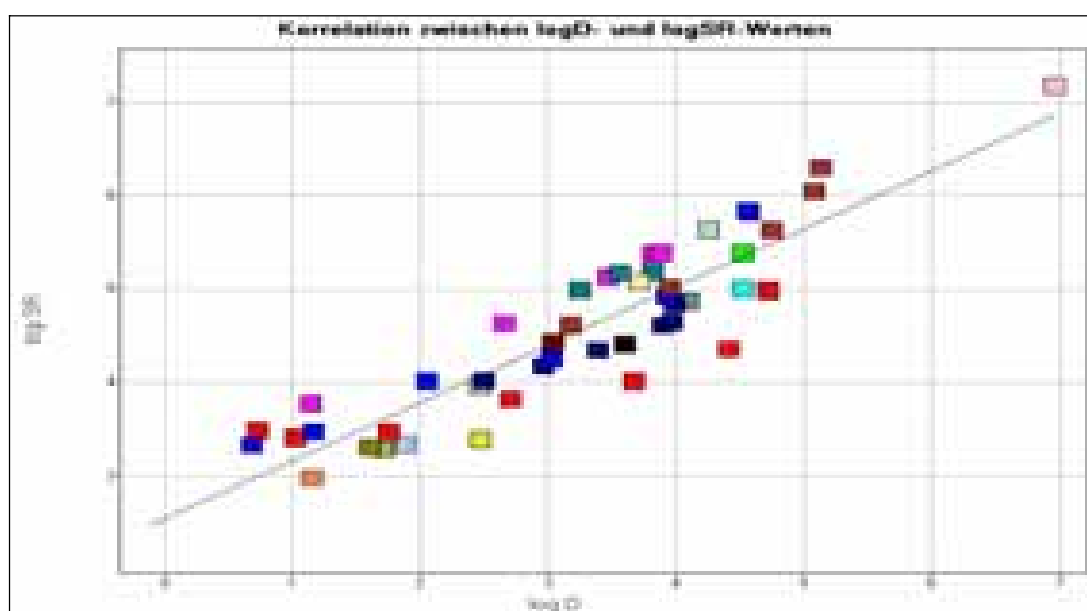


Abbildung 5-2: Korrelation zwischen dem Verteilungskoeffizienten Oktanol/Wasser für ionisierte Moleküle (logD) und dem Löslichkeitsverhältnis Wirkstoff/NaTC (logSR)

Wiedergegeben sind nur die Werte für die Messungen in NaTC-Mizellen.

Color by Substanz	Hydrocortison-21-Phenylacetat	Desamethason	Phenyleton
Albendazole	Isoniazid	Dipyrone	Tetracycline propylsuccinate
Baclofen	Fenitoin	TT-Palmitin	TT-NaTC
Betamethason	Lidocain	Glibenclamid	Tiamin
Desamethason-TT-ester	Mefenaminsäure	Griseofulvin	Statistical Measures
Dexamethason	Miconazole	Hydrocortison	$\log SR = 2.57 + 0.614 \cdot \log D$
Dexamethason-Li	Nifedipin		$R = 0.608$

Legende der Wirkstoffe

Das Löslichkeitsverhältnis der Wirkstoffe in Mischmizellen liegt, wie Abbildung 5-3 zeigt, immer über dem Löslichkeitsverhältnis der reinen NaTC-Mizellen.

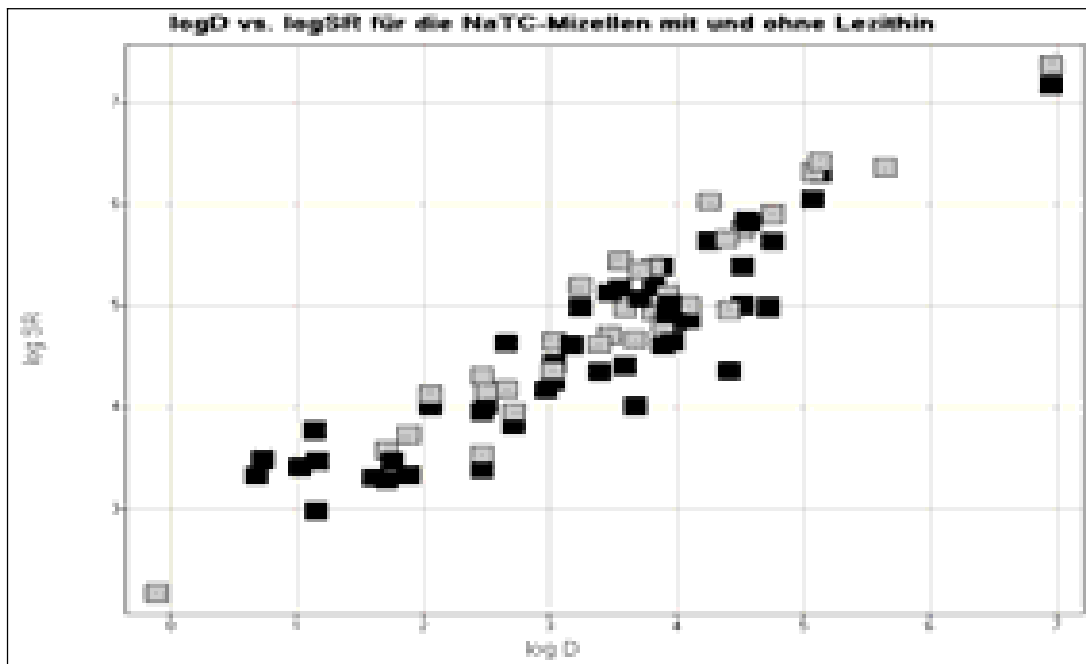


Abbildung 5-3: Korrelation zwischen logD- und logSR-Wert

Wiedergegeben sind die Werte für die Messungen in NaTC-Mizellen. (schwarze Quadrate) und für die Messungen in gemischten Mizellen (graue Quadrate).

5.1.3 Das Löslichkeitsverhältnis für Neutralstoffe

Tabelle 5-1 zeigt, dass die logSR-Werten bei Neutralstoffen in reinem Natriumtaurochololat immer kleiner sind als die Werte in den gemischten Mizellen.

Substanz	Lez.	log SR	log D
Albendazol ²	o	4.43 ± 0.05	3.04 ± 0.10
	m	4.65 ± 0.07	
Beclometason-dipropionat	o	4.87	4.10 ± 0.13
	m	5.00	
Betamethason ¹	o	3.28 ± 0.02	1.72 ± 0.25
	m	3.57 ± 0.03	
Betamethason-17-valerat	o	4.40	3.60 ± 0.30
	m	4.97	
Danazol	o	5.38 ± 0.09	4.53 ± 0.32
	m	5.74 ± 0.09	
Danazol Lit	o	5.00	
Dexamethason ¹	o	3.33 ± 0.02	1.89 ± 0.42
	m	3.73 ± 0.06	
Felodipin	o	5.64 ± 0.04	4.26 ± 0.42
	m	6.03 ± 0.02	
Griseofulvin	o	3.96 ± 0.01	2.47 ± 0.46
	m	4.30 ± 0.05	
Hydrocortison ¹	o	3.30 ± 0.02	1.61 ± 0.34
Itraconazol ²	m	6.36 ± 1.49	5.66 ± 0.46
Phenytoin	o	3.39 ± 0.10	2.47 ± 0.49
	m	3.53 ± 0.03	
Testosteronpropionat	o	5.07 ± 0.03	3.72 ± 0.44
	m	5.35 ± 0.06	
THC	o	7.17 ± 1.26	6.97 ± 0.44
	m	7.37 ± 1.25	
Triamcinolon ¹	o	2.97 ± 0.04	1.16 ± 0.13

Tabelle 5-1: Das Löslichkeitsverhältnis (logSR) für neutrale Substanzen und der Verteilungskoeffizient Oktanol /Wasser

In der Spalte Lez. steht ein o (= ohne Lezithin) für reine NaTC-Mizellen und ein m (= mit Lezithin) für NaTC/Lez.-Mizellen.

¹ logSR wurde mit den Messwerten von [Bakatselou, 1990] bestimmt.

² Albendazol ($pK_a = 3.3$) und Itraconazol ($pK_a = 4.0$) sind sehr schwache Basen, verhalten sich im intestinalen pH-Bereich aber wie Neutralstoffe.

Graphisch wird deutlich, dass die LogSR-Werte der gemischten Mizellen über den Werten der reinen NaTC-Mizellen liegen. Bei der Fehlerbetrachtung fällt auf, dass

vor allem der logD-Wert einen Fehler von 0.2 - 0.5 log-Einheiten aufweist. Die Fehler der logSR-Werte sind dagegen sehr gering. Dies ist auf die guten Korrelationen bei der Ermittlung der linearen Regression zurückzuführen.

Sehr große Fehlerbalken sind dagegen bei den beiden Substanzen Itraconazol ($\log D = 5.66$) und Dronabinol ($\log D = 6.97$) zu beobachten. Für beide Substanzen konnten aufgrund ihrer hohen logD-Werte die wässrigen Löslichkeiten nicht direkt bestimmt werden. Die Löslichkeiten mit einem Kosolvenz zu messen und dann auf 0 Volumenprozent Kosolvenz zurück zu extrapolieren, führt zu einem deutlich höheren Fehler als die direkte Bestimmung der Löslichkeit im Puffer.

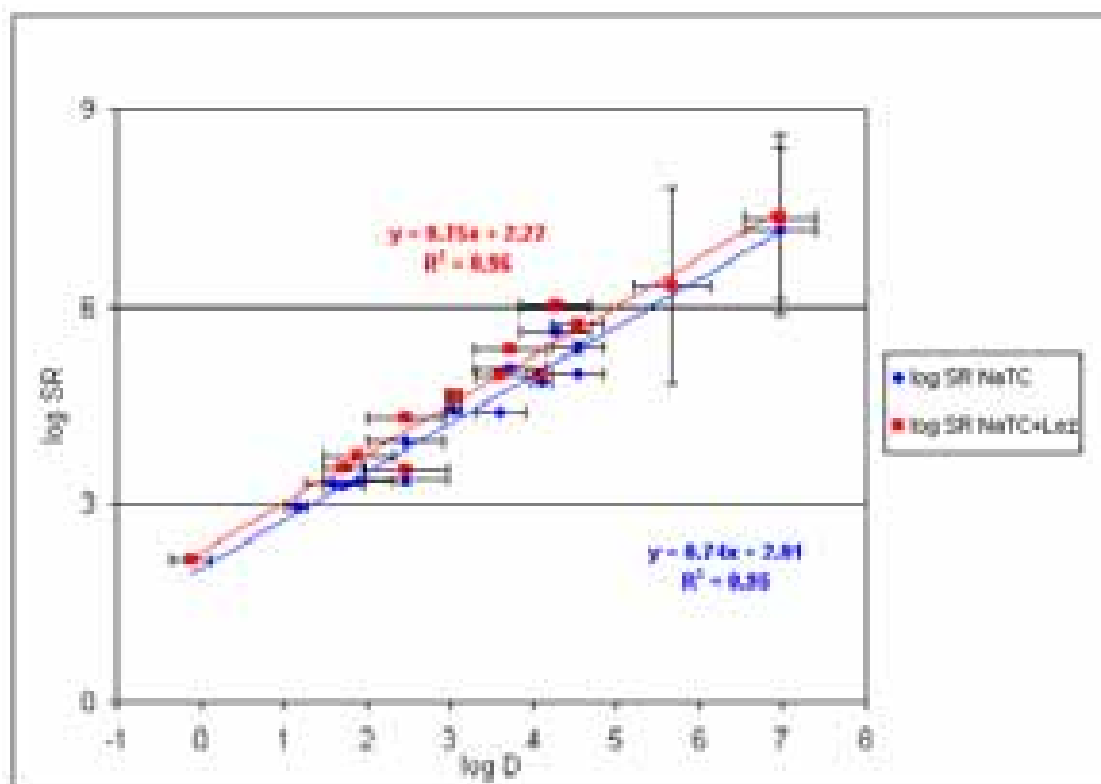


Abbildung 5-4: Korrelation zwischen logD- und logSR-Werten für Neutralstoffe

Für die Korrelation zwischen dem Verteilungskoeffizienten Mizelle/Wasser und Okta-nol/Wasser lassen sich die nachfolgenden Geradengleichungen bestimmen.

Für reine NaTC-Mizellen gilt:

$$\log SR \mid 0.74 \log D - 2.01 \quad n = 14; r^2 = 0.95; sd = 0.26$$

Für gemischte NaTC/Lez.-Mizellen (Verhältnis 4:1) gilt:

$$\log SR \mid 0.75 \log D + 2.27 \quad n = 13; r^2 = 0.96; sd = 0.30$$

Die beiden Geraden in Abbildung 5-4 verlaufen fast parallel zueinander. Bestätigt wird dieses Ergebnis von den Geradengleichungen. Die beiden Gleichungen unterscheiden sich nur in ihrer Konstanten. Diese ist bei den gemischten Mizellen um 0.26 log-Einheiten größer, als in den reinen NaTC-Mizellen. Nach der oben angeführten Gleichung setzt sich der logSR-Wert aus der Wirkstoffkonzentration pro Mol Gallensalz und der Wirkstoffkonzentration pro Mol Wasser zusammen. Da der Nenner des Quotienten, der S_o -Wert, für die einzelnen Substanzen derselbe ist, unterscheiden sich die logSR-Werte aufgrund des Steigungsverhältnisses Löslichkeit pro Gallensalzeinheit. Bei allen Neutralstoffen war demnach in den gemischten Mizellen immer eine bessere Solubilisierung zu beobachten, als in den reinen Taurocholat-Mizellen. Der Faktor von 0.26 log-Einheiten ergibt entlogarithmiert ungefähr den Faktor 2. Die Löslichkeitsverbesserung in den gemischten Mizellen ist also ungefähr doppelt so hoch, wie in den einfachen Mizellen. Wenn sich also, z.B. beim Albendazol, die Löslichkeit von 0 mmol NaTC (1 µg/ml) auf 30 mmol NaTC (12 µg/ml) um das 12-fache steigert, so ist bei den gemischten Mizellen über denselben Gallensalzbereich eine Steigerung um das fast 24-fache zu beobachten (1 µg/ml zu 23 µg/ml). Diese Regelmäßigkeit gilt allerdings nur oberhalb der CMC der reinen NaTC-Mizellen.

Der Versuch, den Algorithmus durch Einbeziehung des Schmelzpunktes zu verbessern, ergab kein eindeutiges Ergebnis. Für die reinen NaTC-Mizellen wurde der Schmelzpunkt (Smp.) als signifikant gewertet und es ergab sich die folgende Gleichung:

$$\log SR = 0.60 \log D + 0.004 \text{ (Smp.)} - 3.244 \quad n = 14; r^2 = 0.97; sd = 0.2$$

Sowohl r^2 als auch die Standardabweichung verbesserten sich gegenüber dem vorherigen Algorithmus. Es wäre durchaus verständlich, wenn der Schmelzpunkt bei der Berechnung des logSR eine Rolle spielt, da er die Löslichkeit des Wirkstoffes beeinflusst. Die Aufnahme des Wirkstoffes in die Mizelle ist aber vor allem durch die Lipophilie gesteuert. Die Korrekturterme vor dem logD-Wert und dem Schmelzpunkt bestätigen dies. In den gemischten NaTC/Lez.-Mizellen schlug die Korrelation jedoch fehl. Sowohl der Schmelzpunkt als auch der log Smp wurden als nicht signifikant bewertet. Das gleiche Resultat wurde auch für die Säuren und Basen erhalten. Eine endgültige Aussage zu treffen ist allerdings nicht möglich, da bei der Substanzauswahl nicht auf den Schmelzpunkt geachtet wurde und viele Wirkstoffe in einem ähnlichen Bereich (>200°C) schmelzen.

5.1.3.1 Berechnung der Löslichkeit von Neutralstoffen in NaTC/Lezithin Mizellen

Aus der zuvor ermittelten Geradengleichung lässt sich die Löslichkeit eines neutralen Wirkstoffes bei jeder beliebigen Gallensalzkonzentration berechnen.

Es gilt folgende Gleichung:

$$S_{(\text{NaTC/Lez}_{(4:1)})} = C_{\text{NaTC/Lez}} \left(\frac{S_o}{C_{\text{H}_2\text{O}}} \right)^{10^{(0.75 + \log P \cdot 2.27)}} \cdot S_o$$

Mit:

S_o Löslichkeit im wässrigen Puffer

$C_{(\text{NaTC/Lez})}$ Konzentration NaTC/Lez., bei der die Löslichkeit berechnet werden soll.

$C_{\text{H}_2\text{O}}$ 55.55 mol/l H_2O

LogP Verteilungskoeffizient Oktanol/Wasser

Um die Löslichkeit bei einer beliebigen Gallensalzkonzentration ($\text{NaTC/Lez}_{(4:1)}$) berechnen zu können, wird demzufolge nur der logP-Wert und die Wasserlöslichkeit S_o benötigt.

Diese beiden Größen können bereits mit vielen Computerprogrammen berechnet werden, so dass eine grobe Abschätzung der Löslichkeit bei einer gemischten Gallensalz-Mizellen Konzentration ganz ohne Messung erfolgen kann. Empfehlenswert scheint es jedoch noch zu sein, den S_o -Wert experimentell zu ermitteln, da ein ungenau berechneter Wert das Löslichkeitsverhältnis sehr stark beeinflusst.

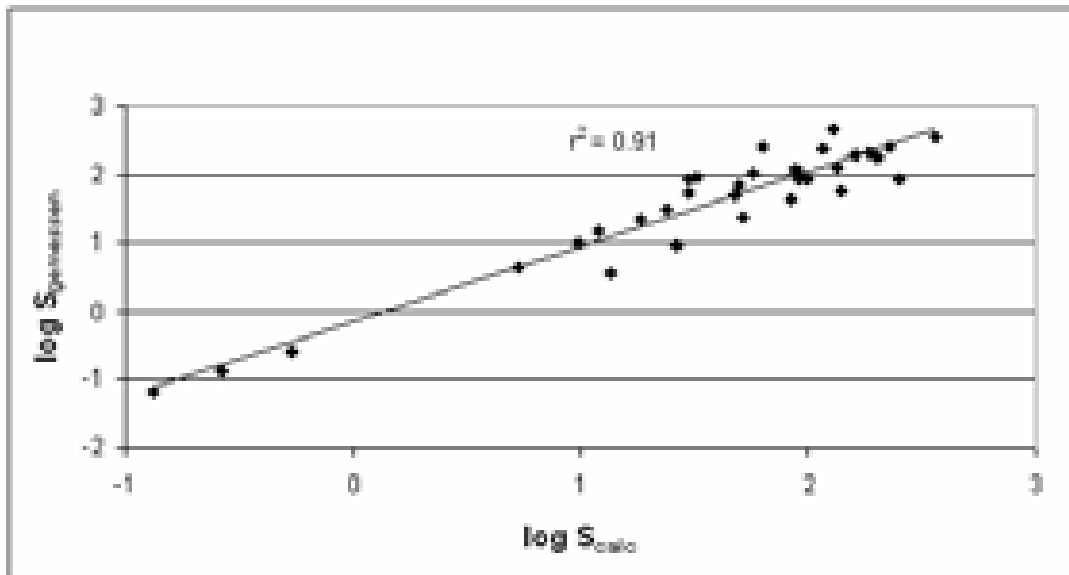


Abbildung 5-5: Korrelation zwischen gemessenen und berechneten Löslichkeiten bei unterschiedlichen NaTC-Lez.-Konz.

Für die berechneten Werte wurden experimentell ermittelte wässrige Löslichkeit verwendet.

Von großer Bedeutung sind besonders die NaTC/Lez.-Konzentrationen bei 3.75 mmol und 15 mmol NaTC. Sie beschreiben die durchschnittlichen Gallensalzkonzentrationen im prä- und postprandialen Zustand des Intestinaltrakts.

Eine deutlich erhöhte Löslichkeit bei 15 mmol Gallensalz gegenüber dem Wert bei 3.75 mmol lässt einen "food effect" aufgrund einer verbesserten Löslichkeit erwarten. In der folgenden Tabelle sind die gemessenen und berechneten Löslichkeitsverhältnisse zwischen dem präprandialen und dem postprandialen Zustand wiedergegeben. Die Löslichkeitssteigerung aufgrund der erhöhten Gallensalzkonzentration im gesättigten Zustand, wurde mit experimentellen Bioverfügbarkeiten aus der Literatur verglichen. Auch für diese Bioverfügbarkeiten wurde das Verhältnis zwischen nüchternem und gesättigtem Zustand gebildet. Es zeigt sich, dass der durch die Nahrungsaufnahme bedingte Unterschied in der Bioverfügbarkeit, sowohl durch die experimentellen, als auch durch die berechneten Löslichkeitsverhältnisse gut wiedergegeben werden kann.

Für schwerlösliche, neutrale Arzneistoffe, bei denen die Löslichkeit der resorptionsbestimmende Schritt ist, kann demnach durch die Berechnung der Löslichkeiten ein nahrungsbedingter Effekt auf die Bioverfügbarkeit abgeschätzt werden.

Wirkstoff	gemessenes Löslichkeitsverhältnis fed/fasted	berechnetes Löslichkeitsverhältnis fed/fasted	exp. bestimmtes Verhältnis der Bioverfügbarkeiten fed/fasted
Danazol	3	4	4 ^a
Felodipin	4	4	2 ^b
Griseofulvin	2	2	2 ^c
Itraconazol	3	4	>2 ^d
Phenytoin	1	2	<2 ^e

Tabelle 5-2: Vergleich der gallensalzbedingten Löslichkeitssteigerung mit der in-vivo bestimmten, von der Nahrungsaufnahme abhängigen Zunahme der Bioverfügbarkeit.

Literatur: ^a Sunesen (1999), ^b Scholz (2002), ^c Aoyagi (1982), ^d Barone (1993), ^e Cook (2001).

5.1.4 Das Löslichkeitsverhältnis für ionisierbare Verbindungen

Das Löslichkeitsverhältnis von Säuren und Basen verhält sich zum logD nicht linear. Bei diesen Substanzen spielt die Ionisierung des Wirkstoffes bei der Verteilung in die Mizelle eine entscheidende Rolle. Wird der logD-Wert für ionisierbare Substanzen gegen den pH-Wert aufgetragen, so ergibt sich über den gesamten pH-Bereich betrachtet ein sigmoidaler Kurvenverlauf. Die pH-abhängige Wasserlöslichkeit ergibt ebenfalls einen sigmoidalen Graphen. Für das Löslichkeitsverhältnis NaTC/Wasser ließ sich daher ein ähnlicher Zusammenhang vermuten. Dafür musste jedoch der zu messende pH-Bereich erweitert werden, da im intestinalen pH-Bereich zwischen pH 5 und pH 7 nicht die Grenzwerte der sigmoidalen Kurve erreicht werden konnten. Bei den Löslichkeitsbestimmungen in Anwesenheit von Taurochololat muss allerdings bei sehr kleinen pH-Werten auf die Ionisierung des Gallensalzes geachtet werden. Wie im Methoden-Teil erwähnt, wurde das Natriumtaurochololat ausgewählt, da es mit einem pK_a-Wert von ca. 1.8 im intestinalen pH-Bereich ionisiert vorliegt. Bei pH 2 und pH 3 hingegen liegt auch freie Taurocholsäure in der Lösung vor. Ob und wie sich die Mizelle dadurch in ihren Eigenschaften verändert, wurde nicht untersucht. Vorstellbar ist, dass durch einen erhöhten lipophilen, nicht-ionisierten Anteil des Gallensalzes eine verbesserte Löslichkeit von undissoziierter Säure auftritt.

Das Ziel der Messungen war, eine Vorhersage über die Löslichkeit von ionisierbaren Arzneistoffen unter Einfluss von Gallensalzen im GI-Trakt machen zu können. Für

die Entwicklung eines Algorithmus müssen jedoch die Endwerte der sigmoidalen Kurve bekannt sein und so wurden die möglichen Fehler bei niedrigen pH-Werten in Kauf genommen. Für in-vivo Vorhersagen sind diese Messungen nicht von Bedeutung, da eine solche Kombination von Gallensalz und pH-Wert im Körper nicht vorkommt.

5.1.4.1 Die Basen Dipyridamol, Ketoconazol und Miconazol

Substanz	End-pH	log D (berechnet)	log SR	Lez
Dipyridamol	3.5	1.15 ± 0.48	3.77 ± 0.02	o
	4.2	1.89 ± 0.48	3.82	o
	5.0	2.66 ± 0.48	4.63 ± 0.06	o
	6.0	3.48 ± 0.48	5.12 ± 0.08	o
	7.0	3.83 ± 0.48	5.38 ± 0.06	o
	7.8	3.89 ± 0.48	5.39 ± 0.04	o
	5.0	2.66 ± 0.48	4.17 ± 0.02	m
	6.0	3.48 ± 0.48	4.70 ± 0.06	m
	7.0	3.83 ± 0.48	4.94 ± 0.03	m
	Ketoconazol	5.0	2.50 ± 0.30	4.02 ± 0.07
5.5		2.97 ± 0.30	4.17 *	o
6.0		3.39 ± 0.30	4.35 ± 0.02	o
7.0		3.90 ± 0.30	4.61 ± 0.04	o
7.5		3.98 ± 0.30	4.65 *	o
7.9		4.00 ± 0.30	4.84 ± 0.07	o
5.0		2.50 ± 0.30	4.15 ± 0.06	m
6.0		3.39 ± 0.30	4.62 ± 0.03	m
7.0		3.90 ± 0.30	4.81 ± 0.03	m
Miconazol		4.2	3.18 ± 0.31	4.62 ± 0.24
	5.0	3.95 ± 0.30	5.01 ± 0.09	o
	6.0	4.76 ± 0.26	5.63 ± 0.05	o
	7.0	5.09 ± 0.20	6.04 ± 0.14	o
	7.8	5.14 ± 0.20	6.30 ± 0.15	o
	5.6	4.40 ± 0.27	5.65 ± 0.07	m
	6.0	4.76 ± 0.26	5.90 ± 0.06	m
	7.0	5.09 ± 0.20	6.31 ± 0.14	m
	7.8	5.14 ± 0.20	6.42 ± 0.12	m

Tabelle 5-3: Verteilungskoeffizient Oktanol/Wasser und das Löslichkeitsverhältnis (logSR) von Basen bei verschiedenen pH-Werten

In der Spalte 5 (Lez.) steht ein o (ohne Lez.) für reine NaTC-Mizellen und ein m (mit Lez.) für NaTC/Lez.-Mizellen.

* diese logSR-Werte wurden aus experimentellen Daten von Hörter [1999] berechnet.

Sowohl der logD-Wert der Basen, als auch der logSR-Wert zeigen eine deutliche pH-Abhängigkeit, wobei die Werte bei niedrigem pH-Wert kleiner sind als bei hohen pH-Werten. Bei niedrigen pH-Werten liegen die Substanzen hauptsächlich ionisiert vor und diese Form weist eine wesentlich bessere Wasserlöslichkeit auf. Da bei beiden

Verteilungskoeffizienten die Wasserlöslichkeit im Nenner steht, wird mit einer höheren Substanzkonzentration im wässrigen Milieu der logD-, bzw. der logSR-Wert kleiner. Bei hohen pH-Werten, wenn der Wirkstoff vor allem in seiner ungeladenen Form vorliegt, kehren sich die Verhältnisse um und die in Tabelle 5-3 aufgeführten Werte fallen entsprechend höher aus.

Für das Dipyridamol erkennt man in Abbildung 5-6 den erwarteten pH-abhängigen sigmoiden Verlauf des logSR-Profiles. Sowohl die Kurve des logD-Wertes als auch die des logSR-Wertes laufen zwischen pH 7 und pH 8 parallel zur x-Achse. Die Fehler der berechneten logD-Werte resultiert aus der Standardabweichung des experimentell ermittelten logP-Wertes. Beim logSR sind sowohl die Werte in reinen NaTC-Mizellen, als auch in NaTC/Lez.-Mizellen aufgetragen.

In der Nähe des pK_a -Wertes ($pK_a = 6.21$) beginnen die Kurven mit sinkendem pH-Wert abzufallen. Der Unterschied liegt jedoch im weiteren Verlauf der Kurven. Der logSR-Wert beginnt bei pH 4 wieder parallel zur x-Achse zu laufen, der logD-Wert jedoch erst bei pH 2. Weiterhin fällt auf, dass die Differenz zwischen den beiden parallel verlaufenden x-Achsen beim logSR-Wert deutlich geringer ist, als beim logD-Wert. Im Methodenteil wurde bei der Berechnung des logD-Wertes darauf hingewiesen, dass die Differenz zwischen den Verteilungskoeffizienten der ionisierten und der neutralen Form standardmäßig auf vier gesetzt wurde. Für Basen ist diese Differenz oft etwas geringer, der deutliche Unterschied zum logSR-Wert bleibt jedoch bestehen.

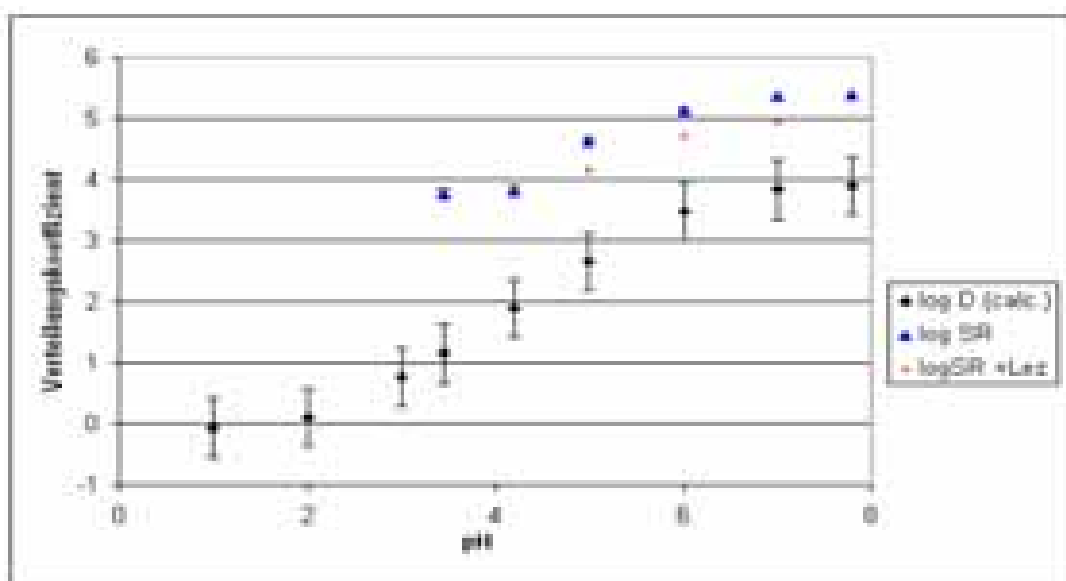


Abbildung 5-6: pH-abhängiges logD- und logSR-Profil von Dipyridamol

Für die logSR-Werte der gemischten Mizellen fällt bei Dipyridamol eine Besonderheit auf, die schon bei der Betrachtung der Löslichkeiten in Kapitel 4.3.4.3 deutlich wurde. Die Löslichkeiten für Dipyridamol sind bei hohen Gallensalzkonzentrationen in den einfachen NaTC-Mizellen höher als in den gemischten NaTC/Lez.-Mizellen. Durch die geringere Steigung wird auch der logSR-Wert niedriger.

Bei Miconazol und Ketoconazol hingegen ist dieselbe Differenz zwischen den gemischten und den einfachen Mizellen zu beobachten, wie bei den Neutralstoffen. Das Löslichkeitsverhältnis in den lezithinhaltigen Mizellen ist um 0.2 bis 0.3 log-Einheiten größer als in reinen Taurocholat-Mizellen.

Die schwachen Basen Albendazol und Itraconazol werden an dieser Stelle nicht behandelt. Im intestinalen pH-Bereich liegen diese beiden Substanzen nicht ionisiert vor und wurden daher nur bei pH 7 vermessen. Das Löslichkeitsverhältnis NaTC-Mizelle/Wasser von den beiden Azolen wurde zusammen mit den Neutralstoffen in Kapitel 5.1.3 untersucht.

5.1.4.2 Die Säuren Glibenclamid, Mefenaminsäure und Niclosamid

Für die Säuren können die selben Aussagen getroffen werden, wie für die Basen. Im nicht-ionisierten Zustand sind sich logD und logSR ähnlich. In der Nähe des pK_a-Werts (4.99 bei Glibenclamid) ist der erste Wendepunkt der sigmoidalen Kurve zu erkennen. Beim Glibenclamid beträgt die Differenz zwischen dem maximalen und dem minimalen logSR-Wert ca. 1.5 log-Einheiten und damit deutlich weniger als die Differenz von 4 log-Einheiten beim logP-Wert.

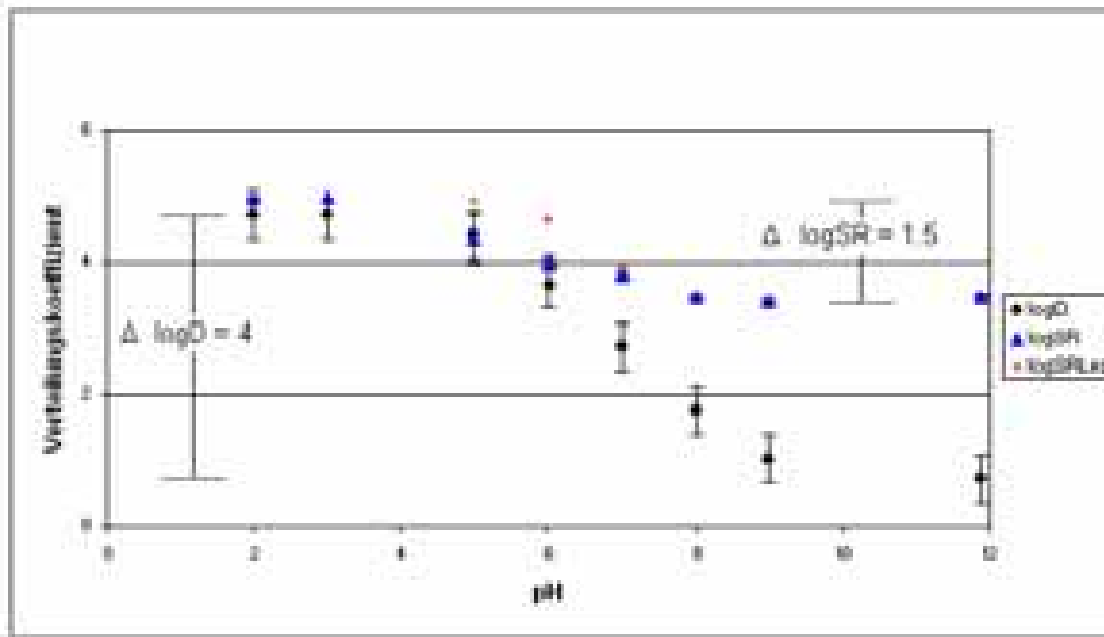


Abbildung 5-7: Vergleich der pH-Abhängigkeit von logSR und logD bei Glibenclamid

Mefenaminsäure zeigt in Abbildung 5-8 das gleiche sigmoidale Verhalten wie die beiden Substanzen Dipyridamol (Abbildung 5-6) und Glibenclamid (Abbildung 5-7) zuvor.

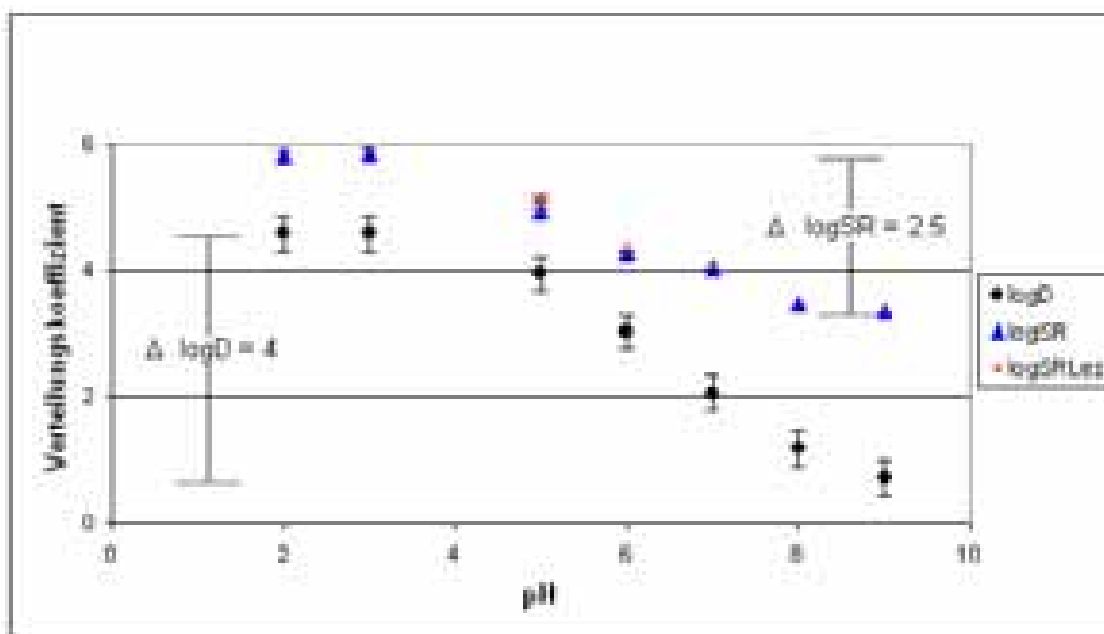


Abbildung 5-8: Vergleich der pH-Abhängigkeit von logSR und logD bei Mefenaminsäure

Bei dem Vergleich der beiden Abbildungen (5-7 und 5-8) bzw. den Werten in Tabelle 5-4 zeigt sich jedoch auch ein Unterschied. Im nicht-ionisierten Zustand, d.h. bei sauren pH-Werten, ist die Differenz zwischen logD und logSR bei Mefenaminsäure viel größer als bei Glibenclamid. Im Gegensatz dazu ist im ionisierten Zustand kaum ein Unterschied zu erkennen. Dadurch ergibt sich für Mefenaminsäure auch eine größere Differenz zwischen den logSR Grenzwerten. Sie beträgt für Mefenaminsäure 2.5, für Glibenclamid 1.5. Auf diesen Unterschied wird besonders hingewiesen, da sich die Substanzen von ihren physiko-chemischen Eigenschaften kaum unterscheiden.

Wirkstoff	logP	Molekulargewicht [g/mol]	Schmelzpunkt [°C]	pK _{a1}	Wasserlöslichkeit der freien Säure [µg/ml]
Glibenclamid	4.73	494.0	173	4.99	0.07 ± 0.01
Mefenaminsäure	4.58	241.3	230	4.46	0.06 ± 0.01

Warum verlaufen die Kurven bei ähnlichem pK_a-Wert und logP-Wert so verschieden?

- S_o-Wert: Die logP-Werte und die Schmelzpunkte lassen vermuten, dass die Löslichkeiten der Substanzen in einem ähnlichen Bereich liegen. Diese Vermutung konnte bestätigt werden. Die Wasserlöslichkeit scheint also nicht für die Unterschiede verantwortlich zu sein.
- Da der pK_a-Wert von Mefenaminsäure bei 4.46 und der von Glibenclamid bei 4.99 liegt, steigen die Löslichkeiten von Mefenaminsäure früher an als die von Glibenclamid.
- Die ungeladene Mefenaminsäure penetriert anscheinend deutlich besser in die lipophile Mizelle als das ungeladene Glibenclamid. Eine mögliche Begründung könnte die Molekülgröße sein. Gallensalzmizellen sind mit einer Aggregationszahl von < 10 sehr klein und daher ist vermutlich die geringere Molmasse von Mefenaminsäure (241.29 g/mol gegen 494.01 g/mol) dafür verantwortlich, dass mehr Mefenaminsäure in die Mizelle hinein gelangt.
- Mit steigender Basizität (> pK_a) passen sich die logSR-Werte einander an. Ein möglicher Grund könnte sein, dass sich mit zunehmender Ionisierung das Molvolumen der Mefenaminsäure dem Molvolumen von Glibenclamid angleicht. Durch ihre funktionelle Säuregruppe werden die Wirkstoffe unter-

schiedlich hydratisiert. Mefenaminsäure ist eine Karbonsäure, während Glibenclamid ein Sulfonylharnstoff ist. Das Carboxylat-Ion der Mefenaminsäure liegt im Molekül frei vor und kann gut hydratisiert werden, womit sich das Molekularvolumen vergrößert. Im Gegensatz dazu wird bei Glibenclamid die ionisierte Position im Molekül durch die anderen funktionellen Gruppen gut abgeschirmt und das Molekül wird weniger hydratisiert. Das Molekularvolumen des Ions nimmt kaum zu.

Substanz	End-pH	log D	log SR	Lez
Glibenclamid	2.0	4.73 ± 0.36	4.98 ± 0.02	o
	3.0	4.73 ± 0.36	4.99 ± 0.09	o
	5.0	4.42 ± 0.36	4.36 ± 0.38	o
	6.0	3.68 ± 0.36	4.01 ± 0.12	o
	7.0	2.72 ± 0.36	3.82 ± 0.06	o
	8.0	1.76 ± 0.36	3.47 ± 0.03	o
	9.0	1.03 ± 0.36	3.41 ± 0.02	o
	11.9	0.73 ± 0.36	3.48 ± 0.01	o
	5.0	4.42 ± 0.36	4.95 ± 0.43	m
	6.0	3.68 ± 0.36	4.66 ± 0.12	m
7.0	2.72 ± 0.36	3.95 ± 0.06	m	
Mefenaminsäure	2.0	4.58 ± 0.27	5.82 ± 0.07	o
	3.0	4.57 ± 0.27	5.84 ± 0.09	o
	5.0	3.93 ± 0.27	4.92 ± 0.06	o
	6.0	3.03 ± 0.27	4.25 ± 0.04	o
	7.0	2.05 ± 0.27	4.01 ± 0.02	o
	8.0	1.17 ± 0.27	3.47 ± 0.01	o
	9.0	0.69 ± 0.27	3.33 ± 0.01	o
	5.0	3.93 ± 0.27	5.11 ± 0.03	m
	6.0	3.03 ± 0.27	4.35 ± 0.02	m
	7.0	2.05 ± 0.27	4.12 ± 0.04	m
Niclosamid	2.0	4.67 ± 0.25	6.56 ± 0.12	o
	3.0	4.67 ± 0.25	6.6	o
	4.1	4.66 ± 0.25	6.49 ± 0.18	o
	5.0	4.60 ± 0.25	5.96 ± 0.12	o
	6.0	4.24 ± 0.25	5.33 ± 0.26	o
	7.0	3.42 ± 0.25	5.08 ± 0.04	o
	8.0	2.44 ± 0.25	5.07 ± 0.07	o
	9.0	1.51 ± 0.25	5.17	o
	4.1	4.66 ± 0.25	6.79 ± 0.18	m
	5.0	4.60 ± 0.25	6.33 ± 0.06	m
	6.0	4.24 ± 0.25	5.65 ± 0.24	m
	7.0	3.42 ± 0.25	4.93 ± 0.04	m
	7.8	2.64 ± 0.25	4.82 ± 0.10	m

Tabelle 5-4: Der Verteilungskoeffizient Oktanol/Wasser und das Löslichkeitsverhältnis (logSR) von Säuren bei verschiedenen pH-Werten.

In der Spalte 5 (Lez.) steht ein o für reine NaTC-Mizellen und ein m für NaTC/Lez.-Mizellen.

Niclosamid weist wie Glibenclamid über den gesamten pH-Bereich eine Differenz (\pm logSR) von 1.5 auf.

Die Wasserlöslichkeit von Niclosamid ($S_{pH 3} = 0.005 \mu\text{g/ml}$) ist jedoch niedriger als bei den beiden anderen Säuren. Dies führt zu deutlich höheren logSR-Werte.

Die Zugabe von Lezithin führt bei den logSR-Werten zu unterschiedlichen Ergebnissen. Bei den Säuren ist der Unterschied zwischen den logSR-Werten (NaTC vs. NaTC/Lez.) ähnlich wie bei den Neutralstoffen, bei denen das Löslichkeitsverhältnis in den lezithinhaltigen Mizellen größer ist als in den reinen Taurocholat-Mizellen. Bei Glibenclamid kann jedoch bei pH 5 und pH 6 ein Unterschied von ca. 0.6 log Einheiten festgestellt werden, während bei pH 7 der Wert wieder im üblichen Bereich (0.13 log-Einheiten) liegt. Bei Niclosamid ändert sich die Differenz zwischen den Löslichkeitsverhältnissen zwischen pH 6 und pH 7. Im sauren Bereich liegt die Differenz der Verteilungskoeffizienten bei 0.3 log Einheiten, ab pH 7 werden die Differenzen negativ. Dies würde bedeuten, dass Niclosamid ab pH 7 besser in den reinen NaTC-Mizellen löslich ist, als in den gemischten Mizellen. Aufgrund der geringen Datenlage ist es schwierig dieses Verhalten zu interpretieren.

5.1.4.3 Der Ampholyt: Levothyroxin

Levothyroxin besitzt zwei saure pK_a -Werte von 2.1 und 6.8, sowie einen basischen pK_a von 8.4. Bei pH 5 und pH 6 liegen die Carboxylgruppe sowie der basische Stickstoff vollständig ionisiert vor. Die phenolische Gruppe ist nur bei pH 5 leicht deprotoniert. Nach außen ist das Molekül durch die unterschiedlichen Ladungen neutral. Der logSR-Wert verändert sich in diesem pH-Bereich kaum, da auch die Gesamtladung nur geringfügig variiert. Ab pH 7 beginnt die Protonierung des basischen Stickstoffs abzunehmen und nach außen hin steigt die negative Ladung. Hierdurch wird vor allem die Wasserlöslichkeit beeinflusst, die doppelt so groß ist, wie bei pH 5 und pH 6. Der logSR-Wert verringert sich dadurch.

Substanz	pH	log D	log SR	Lez
Levothyroxin	5.0	3.83 ± 0.17	5.19 ± 0.21	o
	6.0	3.56 ± 0.24	5.17 ± 0.22	o
	7.0	3.25 ± 0.02	4.99 ± 0.18	o
	5.0	3.83 ± 0.17	5.38 ± 0.18	m
	6.0	3.56 ± 0.24	5.44 ± 0.20	m
	7.0	3.25 ± 0.36	5.18 ± 0.02	m

Tabelle 5-5: Der Verteilungskoeffizient Oktanol/Wasser und das Löslichkeitsverhältnis (logSR) für Levothyroxin bei verschiedenen pH-Werten

5.1.4.4 Zusammenfassung

Der vermutete sigmoidale Verlauf des Löslichkeitsverhältnisses für ionisierbare Substanzen konnte bestätigt werden. Säuren besitzen im aciden Bereich aufgrund ihrer schlechten Wasserlöslichkeit hohe logSR-Werte. Diese Werte nehmen mit steigendem pH ab. Für Basen konnte derselbe Kurvenverlauf ermittelt werden, nur spiegelverkehrt. Auffällig ist, dass zwischen den parallel zur x-Achse verlaufenden Kurvenabschnitten nur eine Differenz von 1 – 2.5 logSR-Einheiten liegt. Dies ist ein deutlicher Unterschied zum pH-Profil des Oktanol/Wasser-Koeffizienten. Für den logD wird in der Literatur eine Differenz von 3.5 bis 4.5 logD-Einheiten gefunden.

Eine Korrelation wie für die Neutralstoffen konnte zwischen den logSR-Werten von Säuren und Basen und dem logD-Wert nicht gefunden werden. Die Zahl der Datenpunkte war für die Entwicklung eines mathematischen Algorithmus zu gering. Außerdem lassen die beiden Säuren Glibenclamid und Mefenaminsäure vermuten, dass neben der Löslichkeit, dem logD- und dem pK_a-Wert noch andere Faktoren (Molekülgröße, Hydratisierung) eine Rolle spielen.

Trotzdem kann aus den Daten eine wichtige Aussage gewonnen werden. Besondere Beachtung fand die relativ geringe Differenz zwischen den logSR-Werten im ionisierten und nicht-ionisierten Zustand. Eine Abnahme des logD-Wertes von ungefähr vier log-Einheiten bedeutet, dass sich das vollständig dissoziierte Molekül um den Faktor 10 000 bevorzugter im wässrigen Milieu aufhält als das undissoziierte Molekül.

Bei den Gallensalzen ist dieser Effekt deutlich geringer. Der geladene Wirkstoff ist scheinbar in der Lage, in großem Umfang in die Mizelle zu penetrieren. An den Beispielen Glibenclamid und Mefenaminsäure kann gezeigt werden, dass das Anion der Säure ungefähr um den Faktor 100 besser in die Mizelle penetriert als in das Oktanol.

Für ionisierbaren Substanzen wurden ähnliche Verteilungen bei Phosphatidylcholin-Doppelschicht-Dispersionen beobachtet. Mit diesen Dispersionen wird versucht, die Permeabilität von biologischen Membranen zu simulieren, die hauptsächlich aus Phospholipiden bestehen. Avdeef et al. [1999] untersuchten die Verteilungskoeffizienten von acht ionisierbaren Wirkstoffen in "Large unilamellar vesicle (LUV)"-Suspensionen, die aus Diolelylphosphatidylcholin bestanden. Für die Phospholipidmembran wurde eine Differenz zwischen den Verteilungskoeffizienten der neutralen Form und der ionisierbaren Form ($\pm_{\text{memb.}}$) ermittelt. Die Differenz lag für die Säuren

eher bei 2, für die Basen bei eins.

Wirkstoff	$\div \log P_{\text{Oct}}$	$\div_{\text{memb.}}$
Ibuprofen	4.02	1.99
Diclofenac	3.83	1.81
Warfarin	3.71	2.08
Propranolol	2.70	0.84
Lidocain	2.98	1.17
Tetracain	3.29	1.12
Procain	2.95	1.62

Tabelle 5-6: Differenzen zwischen der neutralen Form und der ionisierten Form für den Verteilungskoeffizienten Oktanol/Wasser und den Verteilungskoeffizienten Phospholipidmembran/Wasser [Avdeef]

Miyazaki et al [1992] beobachteten in Dimyristoyl-Phosphatidylcholin Doppelmembranen eine Membrandifferenz von 2.2 für Säuren und 0.9 für Basen.

6 ZUSAMMENFASSUNG

6.1 Löslichkeitsbestimmung mit der miniaturisierten

Shake-Flask Methode (siehe Kapitel 3.2.2 und Kapitel 4.1)

Die miniaturisierte Shake-Flask Methode ist den neueren Methoden zur Löslichkeitsbestimmung weiterhin überlegen. Vor allem kann mit der Shake-Flask Methode eine Löslichkeitsbestimmung von jeder Substanz und in jedem Medium durchgeführt werden. Die Ergebnisse weisen die höchste Reproduzierbarkeit auf. Die Methode ist leicht zu erlernen und kann ohne große Anschaffungskosten in jedem Chemielabor eingesetzt werden. Voraussetzung ist lediglich eine meist vorhandene HPLC-Anlage. In der abschließenden Analytik zeigt sich ein weiterer, wichtiger Vorteil der Shake-Flask Methode. Neben der Konzentrationsbestimmung wird die Substanz durch die HPLC-Analytik zugleich auf ihre Reinheit und Stabilität überprüft. Hinzu kommt, dass durch die Verwendung der UniPrep-Filter das Volumen der Untersuchungslösung auf 2 ml reduziert werden konnte. Somit verringerte sich der Substanzverbrauch für eine schlecht lösliche Substanz auf weniger als 1 mg.

Auch der Durchsatz, der mit der Shake-Flask Methode erreicht werden kann, liegt in einem vernünftigen Rahmen. Selbst wenn die HPLC-Analytik erst evaluiert werden muss und Fließmittel und Säule zwischen den Messungen ausgetauscht werden müssen, können ungefähr zwanzig verschiedene Wirkstoffe pro Woche vermessen werden. Damit werden durch die Shake-Flask Methode deutlich mehr Proben vermessen als durch die potentiometrische Titration. Für einen Hochdurchsatz ist die Shake-Flask Methode jedoch nicht geeignet. Hier kann durch die vollautomatische Turbidimetrie ein höherer Durchsatz von bis zu 300 Proben pro Tag erreicht werden. Oft kann nach der turbidimetrischen Messung jedoch nur ein Löslichkeitsbereich angegeben werden. Ist die Genauigkeit, wie bei dieser Methode, nicht groß genug, dann ist eine Berechnung der Löslichkeiten aus der Struktur der Substanz ebenso aussagekräftig. Die miniaturisierte Shake-Flask Methode ist somit, was das Verhältnis der Qualität der Messergebnisse zur Quantität an Messungen betrifft, nicht zu übertreffen.

6.2 Löslichkeitssteigerung durch Gallensalze

Für Neutralstoffe konnte die von Mithani und Bakatselou aufgestellte lineare Korrelation zwischen dem Löslichkeitsverhältnis Natriumtaurocholat-Wasser und dem Verteilungskoeffizienten Oktanol/Wasser bestätigt werden. Das Ausmaß der Löslichkeitssteigerung hängt demnach vor allem von der Lipophilie des Wirkstoffes ab.

Für das Löslichkeitsverhältnis in gemischten NaTC/Lez.-Mizellen ergibt sich eine ähnliche Korrelation. Aufgrund der Messergebnisse und der ermittelten Geradengleichung kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass sich der Wirkstoff in einer NaTC/Lez.-Mizelle um den Faktor 2 besser löst, als in reinen NaTC-Mizellen. Die für die Mischmizellen erhaltene Korrelation ist besonders wertvoll, da sie das in-vivo im Dünndarm vorliegende Gallensalzverhältnis besser widerspiegelt.

Die lineare Regression ergab für die gemischten Mizellen folgende Gleichung, mit der die Löslichkeit für eine beliebige NaTC/Lez.-Konzentration berechnet werden kann:

$$S_{(\text{NaTC/Lez}_{(4:1)})} = C_{\text{NaTC/Lez}_{/4:10}} \frac{S_o}{C_{\text{H}_2\text{O}}} \cdot 10^{(0.75 (\log P - 2.27))} \cdot 2 S_o$$

mit:

S_o Löslichkeit im wässrigen Puffer,

$C_{(\text{NaTC/Lez})}$ Konzentration NaTC/Lez., bei der die Löslichkeit berechnet werden soll,

$C_{\text{H}_2\text{O}}$ 55.55 mol/l H_2O ,

$\log P$ Verteilungskoeffizient Oktanol/Wasser.

Mit dieser Formel lässt sich aus der Wasserlöslichkeit sowohl die Löslichkeit im präprandialen Zustand bei 3.75 mmol NaTC/0.94 mmol Lezithin, als auch im postprandialen Zustand bei 15 mmol NaTC/3.75 mmol Lezithin berechnen. Eine deutlich erhöhte Löslichkeit bei 15 mmol Gallensalz gegenüber der Löslichkeit bei 3.75 mmol lässt einen "food effect" aufgrund einer verbesserten Löslichkeit erwarten. In-vivo dürfte die nahrungsbedingte Löslichkeitssteigerung noch größer sein, da in die Mizelle neben den Gallensalzen und dem Lezithin noch weitere Stoffe, wie z. B. freie Fettsäuren integriert sind. Außerdem wird durch die Nahrung und die Verdauungsssekrete das Volumen im Darm deutlich erhöht, in dem sich der Wirkstoff lösen kann.

Bei den Säuren und Basen wurde das Löslichkeitsverhältnis Gallensalz/Wasser für

die pH-Werte des GI-Trakts bestimmt. Hierbei konnte keine lineare Korrelation zwischen dem logSR und dem Oktanol/Wasser-Koeffizienten aufgestellt werden. Dieses Ergebnis verwundert jedoch nicht, da sich auch der Oktanol/Wasser-Koeffizient für ionisierbare Substanzen bei verschiedenen pH-Werten nicht linear verhält. Ähnlich wie bei dem logD-Wert ergibt sich auch für den pH-abhängigen logSR-Wert ein sigmoidaler Kurvenverlauf. Es ist jedoch ein sehr bedeutsamer Unterschied zu erkennen. Das Bestreben einer ionisierten Säure oder Base in die organische Oktanol-Phase zu gelangen, ist um drei bis vier Zehnerpotenzen geringer als für die undissoziierte Substanz. In der Literatur spricht man von der "rule of diff 3-4". Für das Löslichkeitsverhältnis Gallensalzmizelle/Wasser ist diese Differenz deutlich geringer und beträgt nur 1 bis 2 Zehnerpotenzen. Da im undissoziierten Zustand der logD- und der logSR-Wert noch ungefähr gleich groß sind, kommt der Unterschied vor allem bei dem dissoziierten Molekül zum Tragen. Aus dieser Tatsache kann geschlossen werden, dass das dissoziierte Molekül ca. um den Faktor 100 besser in die Gallensalzmizelle penetriert, als in das Oktanol. Ähnliche Beobachtungen konnten für Liposom-Wasser Verteilungen und Phosphatidylcholin-Doppelschichten gemacht werden. In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich neben der "Daumenregel von 3 - 4" für die pH-abhängige Oktanol-Wasser Verteilung eine "Daumenregel von 1 - 2" für die pH-abhängige Gallensalz-Wasser Verteilung ergibt.

Aufgrund der wenigen Daten war es nicht möglich, eine nicht-lineare Regression über den sigmoidalen Kurvenverlauf durchzuführen.

Weiterhin fiel auf, dass die Gallensalze für die Löslichkeit von Säuren und Basen eine weniger bedeutende Rolle spielen als für Neutralstoffe. Die Veränderung des gastrointestinalen pH-Wertes beeinflusst die Löslichkeit weit mehr als der solubilisierende Effekt der Gallensalze bei konstantem pH-Wert. Dieser Effekt ist damit zu erklären, dass die Löslichkeit exponentiell mit dem pH-Wert ansteigt, aber nur linear zu Gallensalzkonzentration. Für die untersuchten, ionisierbaren Substanzen Dipyridamol, Ketoconazol, Glibenclamid und Mefenaminsäure wurde in der Literatur kein oder nur ein äußerst geringer nahrungsbedingter Anstieg der Bioverfügbarkeit beschrieben. Alle Substanzen können im präprandialen Zustand zumindest bei einem gastrointestinalen pH-Wert vollständig gelöst werden.

6.3 Adaption des BCS für die Entwicklung

Für den Einsatz des Biopharmaceutics-Classification-Systems während der Entwicklung eines Arzneistoffes bringt die vorliegende Arbeit zwei Vorteile.

Zum einen ermöglicht die Anwendung der miniaturisierten Shake-Flask Methode, eine Substanz frühzeitig ihrer Löslichkeit entsprechend in das "klassische" BCS-System einzuordnen. Zum anderen lassen sich die in-vivo Löslichkeiten von Arzneistoffen durch die ermittelte Korrelation zwischen der Wasserlöslichkeit, der Gallensalzkonzentration und dem logD-Wert abschätzen. Für einige Substanzen der BCS-Klasse II kann dies bedeuten, dass sie unter natürlichen gastrointestinalen Bedingungen deutlich besser löslich sind und daher für eine Entwicklungsentscheidung als unbedenklich in bezug auf die Löslichkeit (eher "Klasse I") einzuordnen sind. Bei der Zulassung solcher Arzneistoffe könnte somit in Zukunft eventuell auf zeit- und kostenaufwendige Äquivalenzstudien verzichtet werden. Ein Beispiel aus der vorliegenden Arbeit wäre das Felodipin, welches in einer Höchstdosierung von 10 mg auf dem Markt erhältlich ist. Wenn bei der Berechnung des Dosis-Löslichkeits-Verhältnisses die reine Wasserlöslichkeit von 0.86 µg/ml verwendet wird, wären 11.6 l notwendig, um die Dosis zu lösen. Bereits im nüchternen Zustand reduziert sich das Volumen auf 0.17 l. Im postprandialen Zustand würde sich die Dosis schon in 40 ml auflösen.

6.4 Relevanz für Drug-Design

Abschließend stellt sich noch die Frage, welche Aussage die vorliegende Arbeit für die Synthese neuer Wirkstoffe bereit hält. Die ermittelte Korrelation für Neutralstoffe zeigt, dass je lipophiler ein Wirkstoff ist, desto besser löst er sich in der Gallensalmizelle. Trotzdem nimmt die Löslichkeit eines Wirkstoffes mit zunehmender Lipophilie ab. Die Schwerlöslichkeit wird nur etwas abgepuffert. Die Schlussfolgerung, weiterhin sehr lipophile und große Moleküle zu synthetisieren, ist daher nicht zulässig. Die meisten der untersuchten Wirkstoffen sind trotz der teilweise enormen Löslichkeitsverbesserung durch Gallensalze nicht vollständig in der Flüssigkeit des Darms löslich. Nur bei Wirkstoffen, die in einer sehr niedrigen Dosierung eingesetzt werden, können die Gallensalze zu einer vollständigen Freisetzung beitragen. Die Einführung einer aciden oder basischen Gruppe in das Grundgerüst ist wesentlich zuverlässiger. Der Einfluss des pK_a-Werts überwiegt in der Regel die Gallensalzeffekte.

Die Resorption eines oral applizierten Wirkstoffes findet prinzipiell im Dünndarm statt. Nach der Nahrungsaufnahme verändert sich der pH-Wert nur im Duodenum und im

oberen Teil des Jejunums. Ansonsten bleibt er bei durchschnittlich pH 6.5. Dieses Milieu ist für die Auflösung von Säuren am Besten geeignet. Außerdem steht im Dünndarm mit 3 - 5 Stunden für acide Substanzen viel Zeit für die Auflösung zur Verfügung. Säuren sind in-vivo oft weniger problematisch als es nach der Bestimmung ihrer Wasserlöslichkeit erwartet wird.

Bei Basen übt die Nahrungsaufnahme einen zusätzlichen positiven Effekt aus. Der pH-Wert im Jejunum sinkt im postprandialen Zustand auf pH 5 und zusätzlich liegt eine erhöhte Gallensalzkonzentration vor. Beides führt zu einer verbesserten Löslichkeit. Durch die verlängerte Verweilzeit im Magen wird die Auflösung der Base zusätzlich erhöht. Allerdings wird durch die Nahrungsaufnahme der pH-Wert im Magen erhöht, was sich auf sehr schwache Basen negativ auswirkt.

Für den Synthesechemiker bleibt für die erste Charakterisierung einer Substanz die Bestimmung der wässrigen Löslichkeit geeigneter als die Löslichkeiten in Gallensalzmizellen, da die Ergebnisse wesentlich diskriminierender sind und der Arbeitsaufwand deutlich geringer ist. Aus der gemessenen Löslichkeit kann dann für Säuren und Basen anhand des pK_s -Wertes die pH-abhängige - und für Neutralstoffe anhand des $\log P$ -Wertes die gallensalzabhängige Löslichkeit berechnet werden. Somit kann man die in-vivo Löslichkeit sehr früh in der Entwicklung bewusst einschätzen. Es empfiehlt sich die pH-Werte und Gallensalzkonzentration des nüchternen Zustandes zu berechnen, da es wünschenswert ist, einen Arzneistoff unabhängig von der Mahlzeit verabreichen zu können.

ANHANG

NaTC [mmol]	Zeit [h]	Löslichkeit (pH 5) ± Standardabw. [µg/ml]	Löslichkeit (pH 6) ± Standardabw. [µg/ml]	Löslichkeit (pH 7) ± Standardabw. [µg/ml]
0	4	0.22 ± 0.018	0.23 ± 0.027	0.22 ± 0.021
	8	0.19 ± 0.008	0.20 ± 0.016	0.21 ± 0.002
	24	0.19 ± 0.013	0.22 ± 0.025	0.22 ± 0.032
	48	0.21 ± 0.015	0.23 ± 0.013	0.20 ± 0.012
1	4	0.52 ± 0.043	0.49 ± 0.088	0.51 ± 0.025
	8	0.50 ± 0.051	0.55 ± 0.012	0.49 ± 0.045
	24	0.54 ± 0.035	0.50 ± 0.051	0.50 ± 0.006
	48	0.47 ± 0.010	0.52 ± 0.031	0.52 ± 0.090
3.75	4	0.80 ± 0.051	0.84 ± 0.010	0.78 ± 0.023
	8	0.82 ± 0.090	0.81 ± 0.054	0.84 ± 0.083
	24	0.83 ± 0.072	0.87 ± 0.011	0.82 ± 0.016
	48	0.82 ± 0.020	0.84 ± 0.007	0.82 ± 0.062
7.5	4	1.31 ± 0.010	1.19 ± 0.038	1.31 ± 0.111
	8	1.27 ± 0.104	1.29 ± 0.011	1.27 ± 0.007
	24	1.30 ± 0.025	1.15 ± 0.037	1.35 ± 0.104
	48	1.32 ± 0.069	1.23 ± 0.071	1.33 ± 0.007
15	4	6.64 ± 0.106	6.71 ± 0.153	4.92 ± 2.406
	8	6.89 ± 0.246	6.90 ± 0.201	7.13 ± 0.211
	24	7.12 ± 0.063	7.26 ± 0.103	7.84 ± 0.042
	48	7.02 ± 0.180	7.30 ± 0.093	7.20 ± 0.125
30	4	20.70 ± 0.025	20.25 ± 0.005	21.10 ± 0.125
	8	20.74 ± 0.333	20.23 ± 0.232	21.31 ± 0.317
	24	22.02 ± 0.157	21.88 ± 0.205	22.45 ± 0.006
	48	21.95 ± 0.101	22.01 ± 0.542	21.05 ± 1.186

Tabelle 6-1: Zeit-, pH- und NaTC-abhängige Löslichkeit von Danazol (n = 3)

NaTC [mmol]	Zeit [h]	Löslichkeit (pH 5) ± Standardabw. [µg/ml]	Löslichkeit (pH 6) ± Standardabw. [µg/ml]	Löslichkeit (pH 7) ± Standardabw. [µg/ml]
0	4	55.57 ± 0.536	11.01 ± 0.462	5.02 ± 0.071
	8	49.23 ± 2.335	10.51 ± 0.099	5.09 ± 0.130
	24	52.70 ± 1.191	9.95 ± 0.857	4.82 ± 0.072
	48	43.67 ± 2.380	8.73 ± 0.670	4.76 ± 0.240
1	4	51.87 ± 0.355	10.58 ± 0.305	5.12 ± 0.211
	8	53.61 ± 0.715	9.06 ± 0.020	5.36 ± 0.166
	24	57.02 ± 0.549	10.31 ± 0.105	5.07 ± 0.315
	48	54.12 ± 0.316	10.66 ± 0.100	5.99 ± 0.110
3.75	4	54.06 ± 0.469	20.06 ± 0.214	10.49 ± 0.202
	8	58.32 ± 0.500	20.66 ± 0.321	11.05 ± 0.199
	24	60.33 ± 0.565	18.32 ± 0.201	12.57 ± 0.131
	48	57.55 ± 0.543	19.89 ± 0.316	11.50 ± 0.129
7.5	4	89.01 ± 1.024	50.22 ± 0.654	37.05 ± 0.211
	8	95.02 ± 0.880	48.65 ± 0.549	38.02 ± 0.015
	24	98.01 ± 0.579	49.51 ± 0.622	40.24 ± 0.235
	48	97.55 ± 1.057	51.02 ± 0.305	39.05 ± 0.301
15	4	267.5 ± 7.38	153.4 ± 0.37	134.6 ± 0.51
	8	289.1 ± 1.02	164.0 ± 1.91	132.0 ± 0.95
	24	313.3 ± 1.55	163.3 ± 0.80	139.2 ± 0.75
	48	290.4 ± 1.56	158.3 ± 1.02	136.9 ± 0.32
30	4	1020.6 ± 20.81	623.2 ± 5.19	518.4 ± 5.49
	8	1002.2 ± 2.02	598.0 ± 5.62	544.7 ± 3.97
	24	991.0 ± 3.82	575.3 ± 2.09	462.9 ± 12.45
	48	1005.8 ± 1.65	599.2 ± 3.01	490.6 ± 2.88

Tabelle 6-2: Zeit-, pH- und NaTC-abhängige Löslichkeit von Dipyrindamol (n = 3)

NaTC [mmol]	Zeit [h]	Löslichkeit (pH 5) ± Standardabw. [µg/ml]	Löslichkeit (pH 6) ± Standardabw. [µg/ml]	Löslichkeit (pH 7) ± Standardabw. [µg/ml]
0	4	0.57 ± 0.030	0.73 ± 0.054	0.79 ± 0.037
	8	0.72 ± 0.046	0.76 ± 0.059	0.83 ± 0.025
	24	0.62 ± 0.071	0.65 ± 0.020	0.70 ± 0.067
	48	0.76 ± 0.032	0.75 ± 0.020	0.75 ± 0.024
1	4	0.61 ± 0.057	0.59 ± 0.011	0.68 ± 0.049
	8	0.64 ± 0.032	0.62 ± 0.024	0.72 ± 0.035
	24	0.68 ± 0.011	0.71 ± 0.019	0.68 ± 0.155
	48	0.67 ± 0.032	0.72 ± 0.035	0.73 ± 0.032
3.75	4	1.22 ± 0.068	1.31 ± 0.025	1.32 ± 0.066
	8	1.02 ± 0.049	1.35 ± 0.020	1.35 ± 0.032
	24	1.32 ± 0.027	1.35 ± 0.035	1.35 ± 0.054
	48	1.35 ± 0.015	1.31 ± 0.087	1.31 ± 0.015
7.5	4	13.55 ± 0.099	12.35 ± 0.215	14.25 ± 0.249
	8	14.64 ± 0.120	13.55 ± 0.121	13.20 ± 1.235
	24	14.26 ± 0.103	13.95 ± 0.200	15.29 ± 0.099
	48	13.98 ± 0.102	13.85 ± 0.188	15.03 ± 0.101
15	4	52.73 ± 0.445	51.90 ± 0.486	50.61 ± 2.030
	8	51.57 ± 0.349	51.03 ± 0.315	54.12 ± 0.352
	24	54.29 ± 0.421	53.63 ± 0.942	54.80 ± 0.588
	48	52.16 ± 0.241	53.16 ± 0.301	46.12 ± 0.402
30	4	162.0 ± 4.90	168.6 ± 0.62	162.6 ± 5.09
	8	158.1 ± 1.28	168.6 ± 2.28	158.5 ± 1.22
	24	164.9 ± 1.38	163.2 ± 1.28	166.4 ± 4.79
	48	153.7 ± 2.35	171.4 ± 0.97	157.5 ± 3.15

Tabelle 6-3: Zeit-, pH- und NaTC-abhängige Löslichkeit von Felodipin ($n = 3$)

NaTC [mmol]	Zeit [h]	Löslichkeit (pH 5) ± Standardabw. [µg/ml]	Löslichkeit (pH 6) ± Standardabw. [µg/ml]	Löslichkeit (pH 7) ± Standardabw. [µg/ml]
0	4	0.07 ± 0.005		
	8	0.15 ± 0.020	0.52 ± 0.019	5.25 ± 0.051
	24	0.12 ± 0.013	0.69 ± 0.021	5.01 ± 0.088
	48	0.05 ± 0.006	0.40 ± 0.010	4.28 ± 0.099
1	4	0.06 ± 0.010	0.77 ± 0.103	4.00 ± 0.957
	8	0.10 ± 0.012	0.74 ± 0.015	6.02 ± 0.040
	24	0.12 ± 0.045	0.63 ± 0.008	6.56 ± 0.029
	48	0.13 ± 0.035	0.70 ± 0.025	6.41 ± 0.515
3.75	4	0.15 ± 0.008	0.62 ± 0.098	6.11 ± 0.066
	8	0.18 ± 0.005	0.76 ± 0.007	6.20 ± 0.029
	24	0.19 ± 0.015	0.73 ± 0.011	6.51 ± 0.042
	48	0.20 ± 0.001	0.78 ± 0.034	6.42 ± 0.020
7.5	4	0.33 ± 0.009	1.06 ± 0.015	6.84 ± 0.259
	8	0.23 ± 0.002	0.90 ± 0.011	7.43 ± 0.298
	24	0.24 ± 0.001	0.68 ± 0.270	6.82 ± 0.426
	48	0.32 ± 0.004	0.86 ± 0.014	6.88 ± 0.212
15	4	0.63 ± 0.007	1.61 ± 0.067	12.09 ± 0.028
	8	0.54 ± 0.009	1.65 ± 0.082	12.51 ± 0.003
	24	0.56 ± 0.009	1.68 ± 0.033	12.32 ± 0.313
	48	0.45 ± 0.022	1.54 ± 0.019	12.71 ± 0.026
30	4	1.20 ± 0.014	3.27 ± 0.123	21.95 ± 0.280
	8	1.28 ± 0.041	3.16 ± 0.035	22.52 ± 0.220
	24	1.31 ± 0.070	3.47 ± 0.029	23.19 ± 0.016
	48	1.24 ± 0.059	3.46 ± 0.025	22.30 ± 0.261

Tabelle 6-4: Zeit-, pH- und NaTC-abhängige Löslichkeit von Glibenclamid ($n = 3$)

NaTC [mmol]	Zeit [h]	Löslichkeit (pH 5) ± Standardabw. [µg/ml]	Löslichkeit (pH 6) ± Standardabw. [µg/ml]	Löslichkeit (pH 7) ± Standardabw. [µg/ml]
0	4	0.64 ± 0.016	7.13 ± 0.232	69.78 ± 1.940
	8	0.66 ± 0.018	7.21 ± 0.153	70.11 ± 0.798
	24	0.65 ± 0.046	7.18 ± 0.015	63.47 ± 3.948
	48	0.56 ± 0.121	7.14 ± 0.087	65.69 ± 0.669
1	4	0.73 ± 0.063	5.66 ± 0.144	52.82 ± 1.509
	8	0.70 ± 0.007	5.69 ± 0.104	55.51 ± 0.273
	24	0.23 ± 0.014	5.98 ± 0.212	63.23 ± 1.905
	48	0.64 ± 0.035	6.12 ± 0.315	62.40 ± 1.058
3.75	4	0.61 ± 0.078	5.98 ± 0.082	59.78 ± 0.482
	8	0.57 ± 0.038	6.61 ± 0.130	64.19 ± 0.974
	24	0.58 ± 0.099	6.46 ± 0.254	67.34 ± 0.160
	48	0.61 ± 0.030	6.70 ± 0.642	69.19 ± 0.652
7.5	4	0.54 ± 0.009	6.69 ± 0.074	66.15 ± 0.727
	8	0.64 ± 0.008	6.43 ± 0.084	54.19 ± 0.210
	24	0.35 ± 0.106	6.30 ± 0.394	70.43 ± 0.819
	48	0.53 ± 0.012	6.29 ± 0.013	65.69 ± 0.870
15	4	5.08 ± 0.173	19.44 ± 0.207	153.69 ± 1.195
	8	4.95 ± 0.254	19.15 ± 0.320	154.06 ± 0.345
	24	5.29 ± 0.030	19.16 ± 0.262	151.30 ± 0.250
	48	5.77 ± 0.005	19.98 ± 0.063	157.28 ± 0.285
30	4	21.13 ± 0.583	52.35 ± 0.332	302.55 ± 3.910
	8	22.15 ± 0.215	54.17 ± 0.416	345.16 ± 1.025
	24	23.13 ± 0.865	58.38 ± 0.699	353.09 ± 0.490
	48	22.84 ± 0.649	65.74 ± 0.193	374.05 ± 1.656

Tabelle 6-5: Zeit-, pH- und NaTC-abhängige Löslichkeit von Mefenaminsäure (n = 3)

NaTC [mmol]	Zeit [h]	Löslichkeit (pH 5) ± Standardabw. [µg/ml]	Löslichkeit (pH 6) ± Standardabw. [µg/ml]	Löslichkeit (pH 7) ± Standardabw. [µg/ml]
0	4	27.02 ± 0.118	29.57 ± 0.174	30.86 ± 0.223
	8	29.26 ± 0.475	29.45 ± 0.327	32.48 ± 0.173
	24	30.71 ± 0.172	26.67 ± 0.276	29.62 ± 0.056
	48	26.40 ± 0.382	30.50 ± 0.313	29.12 ± 0.190
1	4	29.48 ± 0.418	26.88 ± 0.756	29.63 ± 0.299
	8	26.23 ± 0.241	27.30 ± 0.453	29.65 ± 0.155
	24	28.73 ± 0.364	27.27 ± 0.523	29.65 ± 0.678
	48	26.78 ± 0.356	27.95 ± 0.345	29.88 ± 0.158
3.75	4	27.22 ± 0.215	27.02 ± 0.315	29.54 ± 0.215
	8	27.35 ± 0.357	27.02 ± 0.418	30.17 ± 0.168
	24	27.15 ± 0.198	26.85 ± 0.201	29.65 ± 0.597
	48	27.28 ± 0.046	27.65 ± 0.399	29.67 ± 0.874
7.5	4	31.26 ± 0.209	30.59 ± 0.581	31.74 ± 0.206
	8	32.37 ± 0.292	32.56 ± 0.104	32.56 ± 0.249
	24	31.08 ± 0.073	30.92 ± 0.057	33.57 ± 0.284
	48	30.47 ± 0.278	31.04 ± 0.358	33.10 ± 0.091
15	4	43.29 ± 1.426	45.17 ± 0.152	50.02 ± 0.180
	8	42.84 ± 0.469	43.16 ± 0.355	47.87 ± 0.316
	24	42.89 ± 0.164	42.69 ± 0.421	47.62 ± 0.229
	48	42.55 ± 0.068	42.28 ± 0.033	47.24 ± 0.005
30	4	60.24 ± 0.443	60.23 ± 0.768	62.81 ± 0.429
	8	60.16 ± 0.342	59.16 ± 0.578	64.87 ± 0.315
	24	61.71 ± 0.120	61.97 ± 0.231	64.97 ± 0.386
	48	64.24 ± 0.880	62.02 ± 0.586	65.10 ± 0.428

Tabelle 6-6: Zeit-, pH- und NaTC-abhängige Löslichkeit von Phenytoin (n = 3)

NaTC [mmol]	Zeit [h]	Löslichkeit (pH 5) ± Standardabw. [µg/ml]	Löslichkeit (pH 6) ± Standardabw. [µg/ml]	Löslichkeit (pH 7) ± Standardabw. [µg/ml]
0	4	0.30 ± 0.007	0.31 ± 0.011	0.44 ± 0.014
	8	0.21 ± 0.025	0.28 ± 0.102	0.54 ± 0.085
	24	0.25 ± 0.014	0.31 ± 0.011	0.62 ± 0.035
	48	0.34 ± 0.009	0.27 ± 0.006	0.41 ± 0.028
1	4	0.42 ± 0.009	0.44 ± 0.108	0.61 ± 0.015
	8	0.40 ± 0.125	0.31 ± 0.012	0.66 ± 0.089
	24	0.40 ± 0.017	0.40 ± 0.013	0.52 ± 0.044
	48	0.36 ± 0.088	0.40 ± 0.066	0.63 ± 0.030
3.75	4	0.48 ± 0.009	0.45 ± 0.095	0.72 ± 0.016
	8	0.43 ± 0.034	0.56 ± 0.012	0.71 ± 0.096
	24	0.50 ± 0.019	0.47 ± 0.013	0.86 ± 0.035
	48	0.46 ± 0.102	0.53 ± 0.085	0.85 ± 0.030
7.5	4	0.38 ± 0.071	1.15 ± 0.099	0.44 ± 0.102
	8	1.42 ± 0.088	1.88 ± 0.080	5.50 ± 0.087
	24	1.35 ± 0.066	1.43 ± 0.065	5.09 ± 0.002
	48	2.12 ± 0.025	1.35 ± 0.017	5.10 ± 0.041
15	4	4.38 ± 0.093	4.27 ± 0.523	5.38 ± 0.159
	8	6.19 ± 0.052	6.05 ± 0.087	6.46 ± 0.549
	24	5.79 ± 0.067	5.19 ± 0.568	7.97 ± 0.117
	48	6.02 ± 0.129	4.98 ± 0.235	7.16 ± 0.295
30	4	15.46 ± 0.888	14.76 ± 0.683	19.39 ± 1.626
	8	17.03 ± 1.022	16.32 ± 0.847	19.45 ± 0.584
	24	17.71 ± 2.817	16.25 ± 1.393	18.93 ± 0.071
	48	17.50 ± 0.838	18.64 ± 0.184	20.73 ± 0.120

Tabelle 6-7: Zeit-, pH- und NaTC-abhängige Löslichkeit von Levothyroxin (n = 3)

NaTC [mmol]	Zeit [h]	Löslichkeit (pH 5) ± Standardabw. [µg/ml]	Löslichkeit (pH 6) ± Standardabw. [µg/ml]	Löslichkeit (pH 7) ± Standardabw. [µg/ml]
0	4	71.01 ± 3.630	15.64 ± 0.127	6.06 ± 0.100
	8	79.97 ± 0.808	15.34 ± 0.638	6.07 ± 0.069
	24	83.56 ± 2.241	15.82 ± 0.261	5.87 ± 0.128
	48	88.89 ± 3.401	16.97 ± 0.696	6.01 ± 0.419
1	4	82.03 ± 0.549	16.49 ± 0.305	6.02 ± 0.072
	8	85.16 ± 0.347	15.88 ± 0.470	5.79 ± 0.107
	24	90.16 ± 1.062	17.05 ± 0.317	6.16 ± 0.082
	48	91.02 ± 0.891	17.02 ± 0.402	6.35 ± 0.036
3.75	4	87.05 ± 1.046	16.02 ± 0.315	7.32 ± 0.578
	8	95.03 ± 0.978	14.32 ± 1.204	8.32 ± 0.234
	24	94.14 ± 0.824	17.10 ± 0.576	8.46 ± 0.350
	48	94.05 ± 0.099	17.06 ± 0.335	8.75 ± 0.146
7.5	4	93.16 ± 0.877	17.32 ± 0.565	12.85 ± 0.232
	8	96.46 ± 1.025	19.55 ± 0.355	12.35 ± 0.348
	24	97.12 ± 2.485	21.05 ± 0.401	12.05 ± 0.302
	48	103.84 ± 0.565	20.15 ± 0.299	12.49 ± 0.480
15	4	115.06 ± 1.155	61.55 ± 1.032	33.46 ± 1.246
	8	119.58 ± 0.845	65.85 ± 0.871	37.85 ± 0.598
	24	228.98 ± 0.355	65.48 ± 2.083	38.26 ± 1.261
	48	224.02 ± 1.035	66.14 ± 0.949	38.20 ± 0.880
30	4	398.05 ± 1.024	153.22 ± 0.438	98.46 ± 1.205
	8	425.01 ± 0.898	155.36 ± 0.606	105.55 ± 0.688
	24	437.05 ± 1.760	157.29 ± 0.590	108.02 ± 2.363
	48	465.92 ± 2.035	167.67 ± 0.607	112.34 ± 2.710

Tabelle 6-8: Zeit-, pH- und NaTC-abhängige Löslichkeit von Ketoconazol (n = 3)

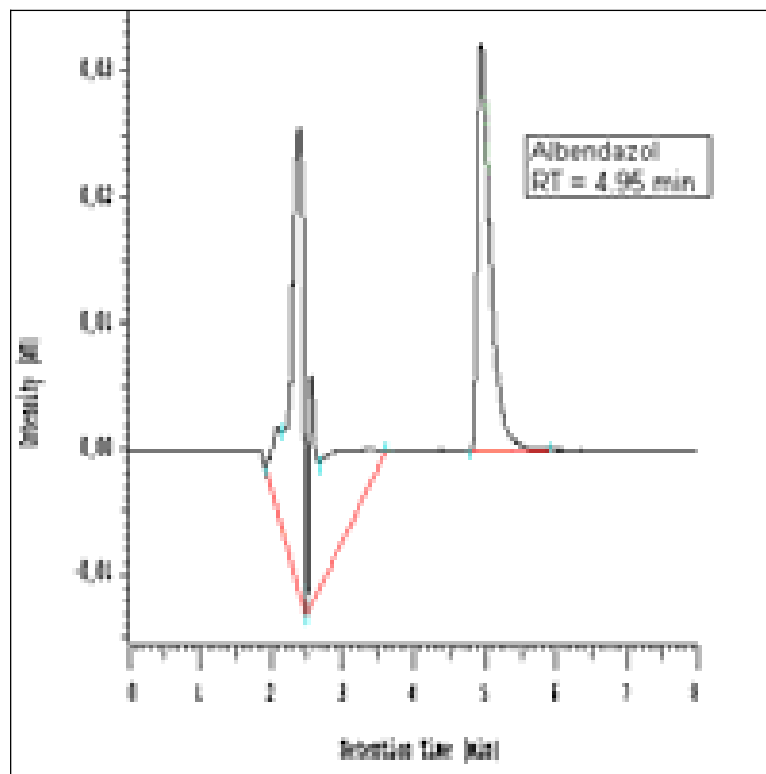


Abbildung 6-1: Typisches HPLC- Chromatogramm von Albendazol

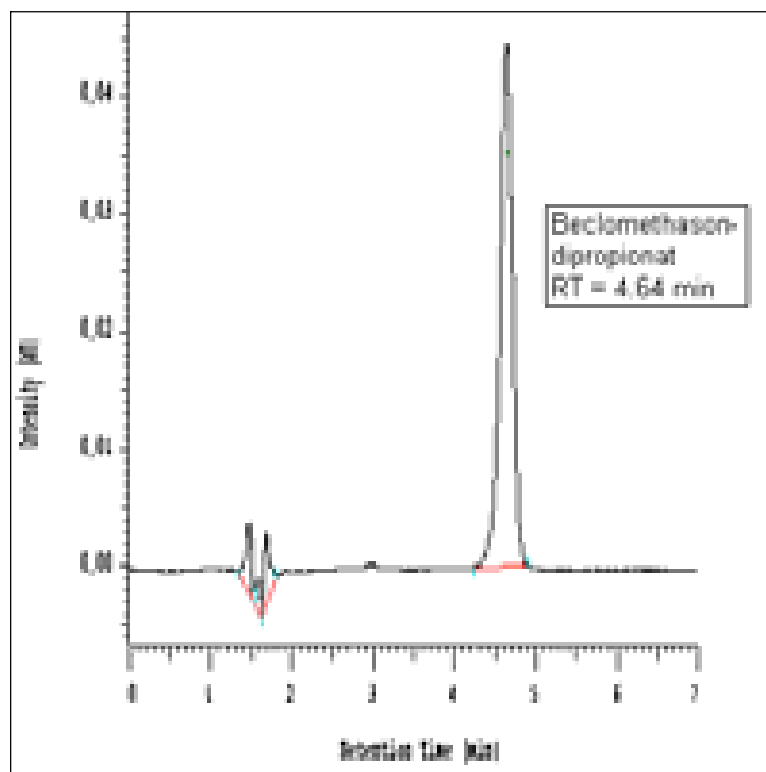


Abbildung 6-2: Typisches HPLC- Chromatogramm von Beclomethason-dipropionat

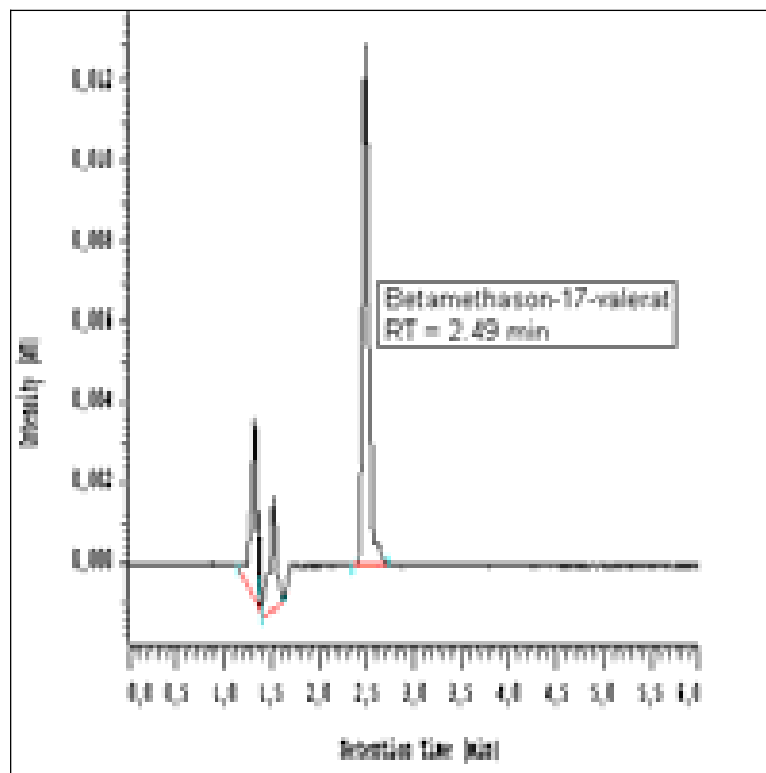


Abbildung 6-3: Typisches HPLC- Chromatogramm von Betamethason-17-valerat

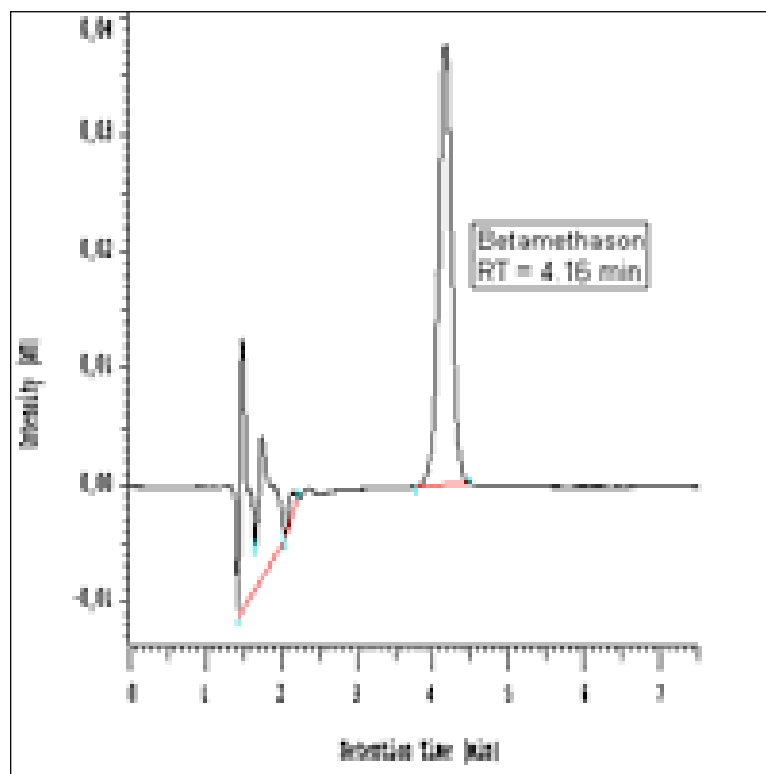


Abbildung 6-4: Typisches HPLC- Chromatogramm von Betamethason

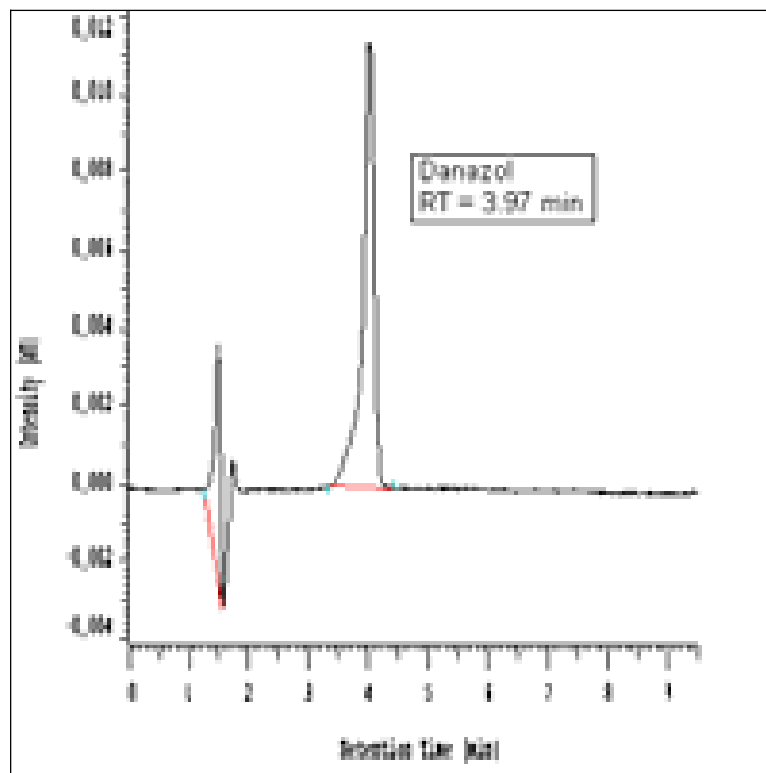


Abbildung 6-5: Typisches HPLC- Chromatogramm von Danazol

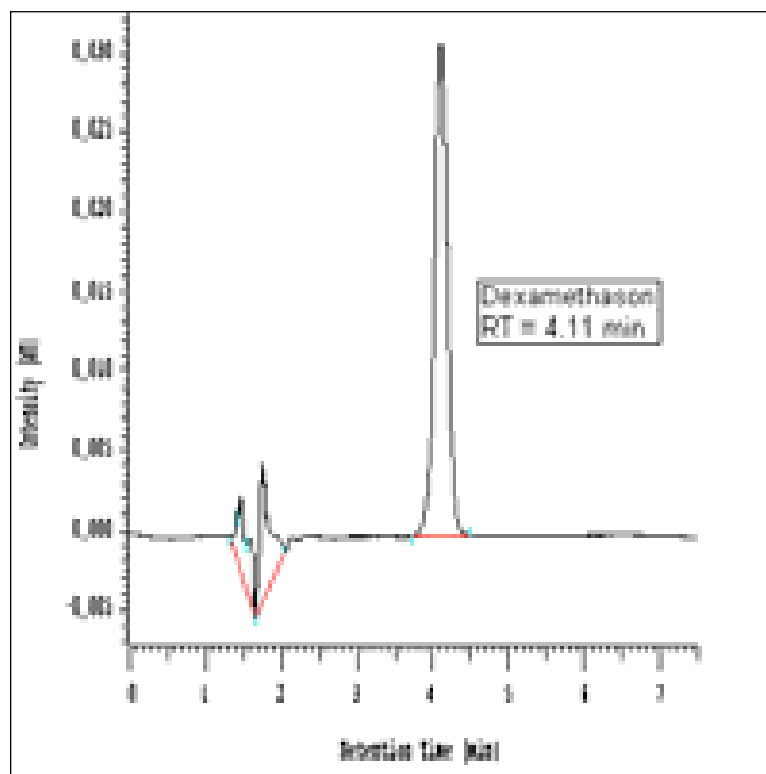


Abbildung 6-6: Typisches HPLC- Chromatogramm von Dexamethason

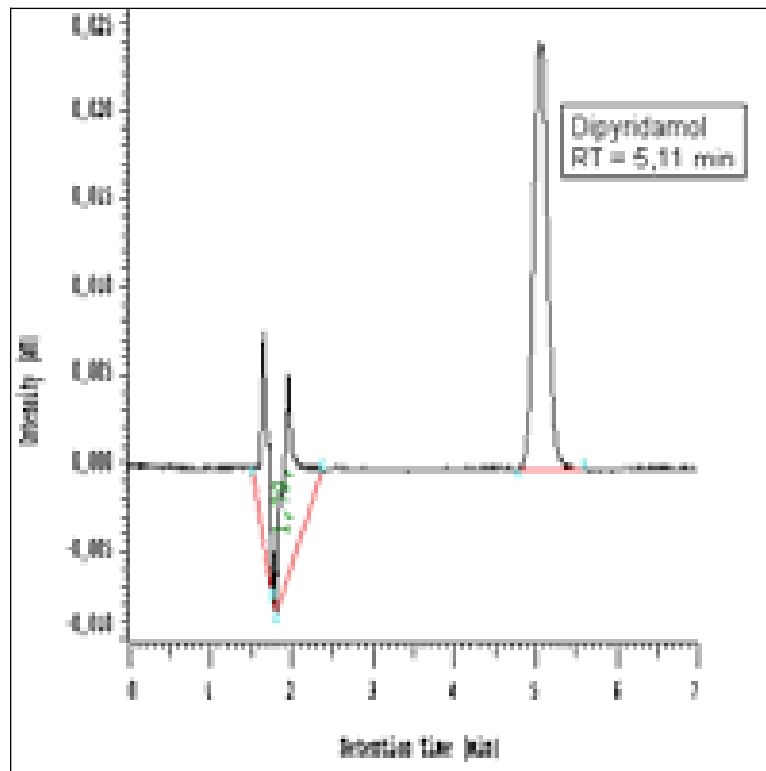


Abbildung 6-7: Typisches HPLC- Chromatogramm von Dipyridamol

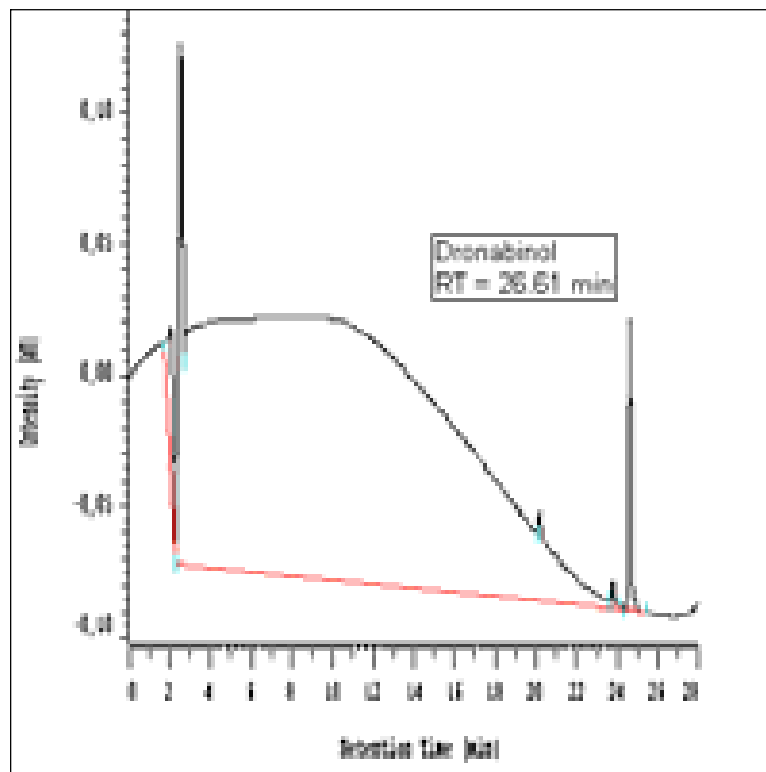


Abbildung 6-8: Typisches HPLC- Chromatogramm von Dronabinol

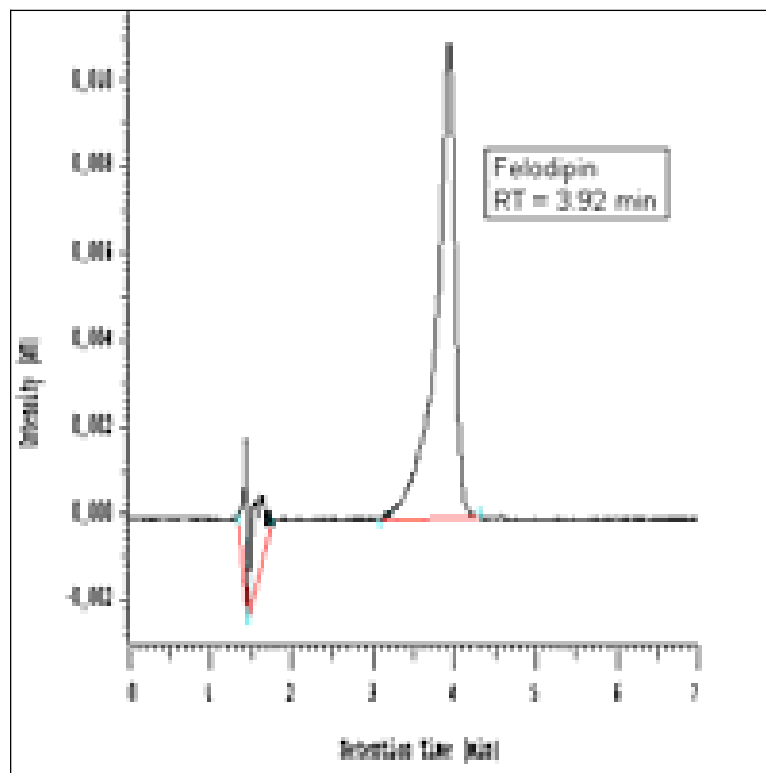


Abbildung 6-9: Typisches HPLC- Chromatogramm von Felodipin

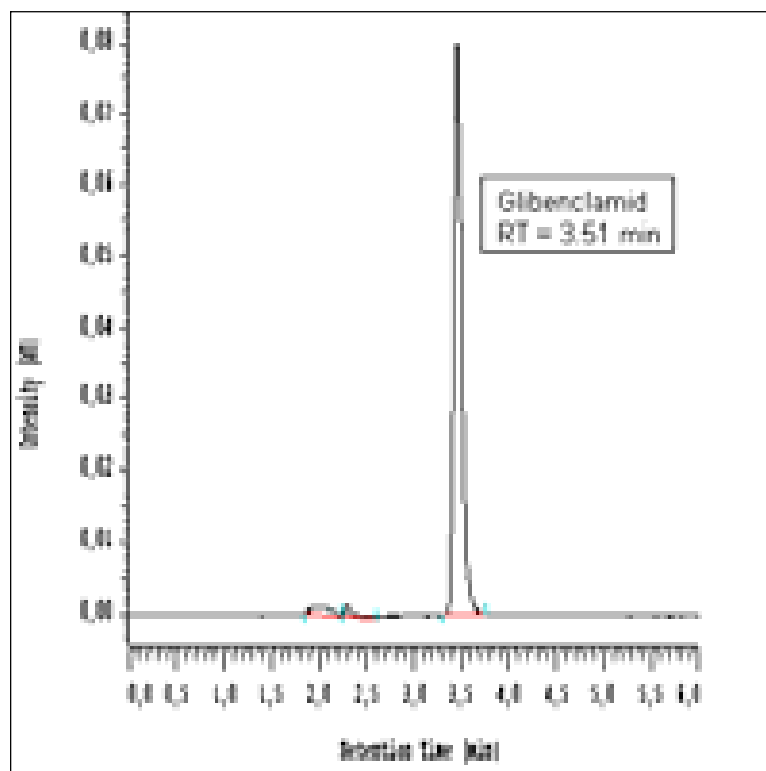


Abbildung 6-10: Typisches HPLC- Chromatogramm von Glibenclamid

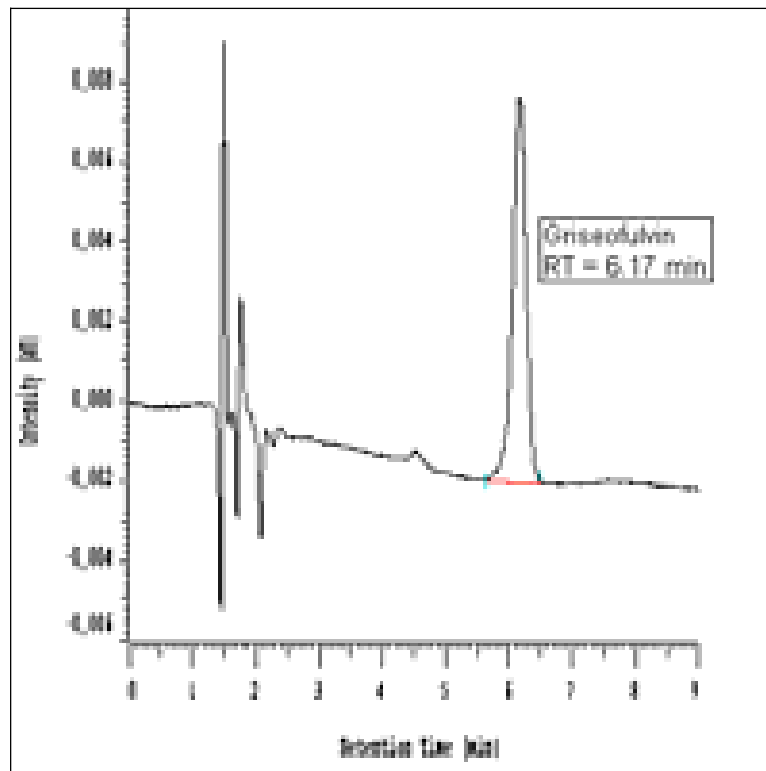


Abbildung 6-11: Typisches HPLC- Chromatogramm von Griseofulvin

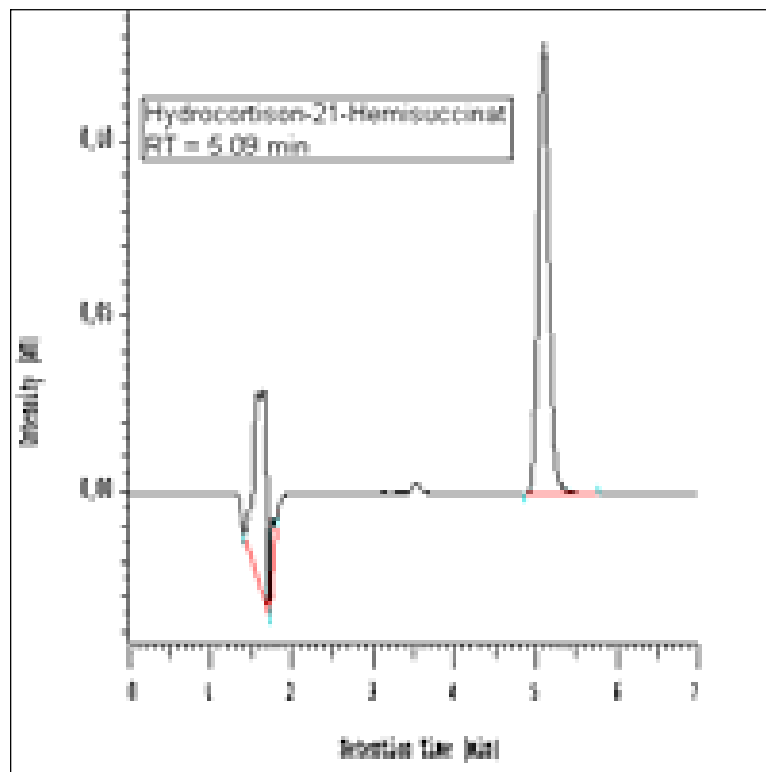


Abbildung 6-12: Typisches HPLC- Chromatogramm von Hydrocortison-21-Hemisuccinat

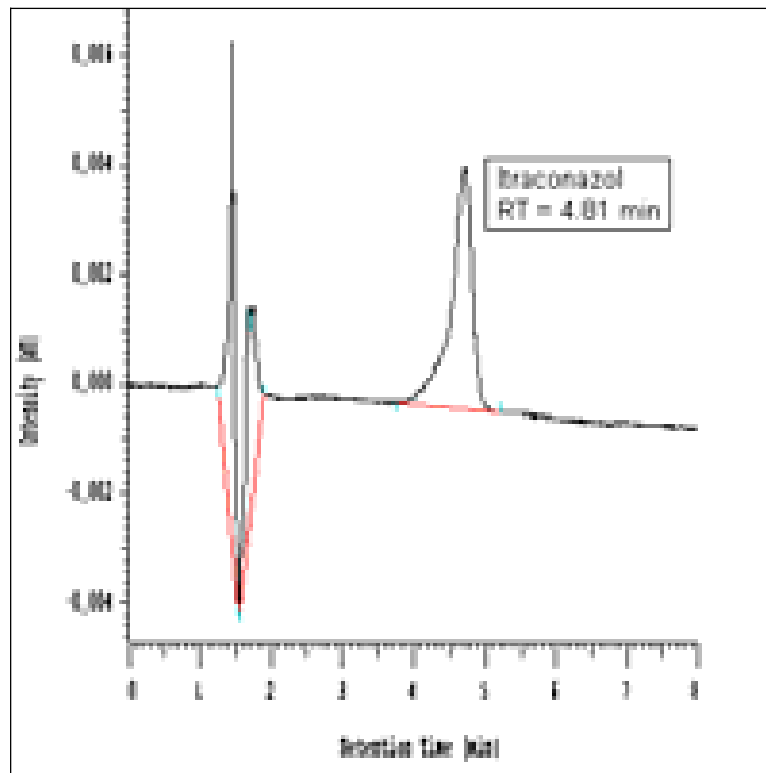


Abbildung 6-13: Typisches HPLC- Chromatogramm von Itraconazol

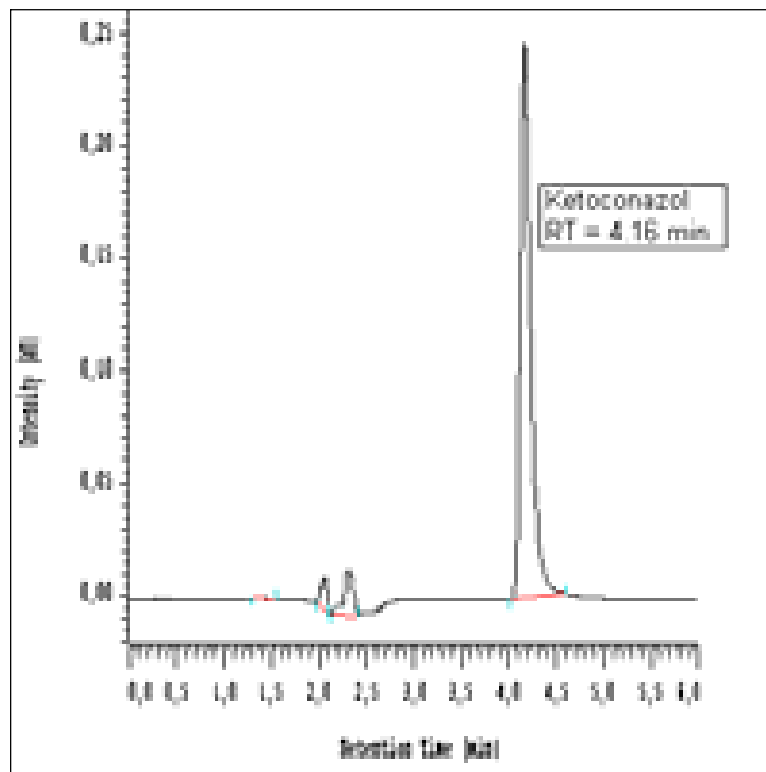


Abbildung 6-14: Typisches HPLC- Chromatogramm von Ketoconazol

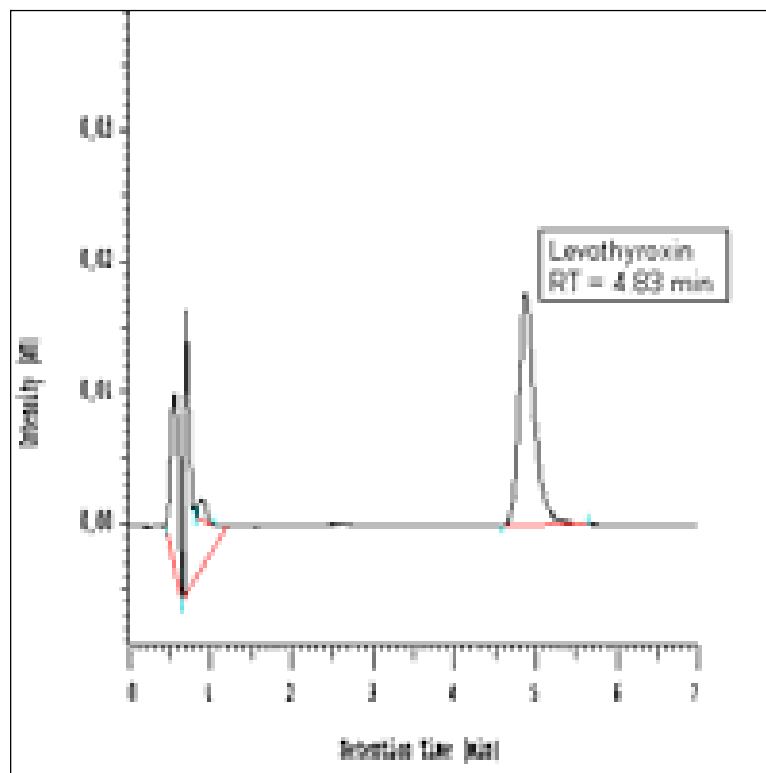


Abbildung 6-15: Typisches HPLC- Chromatogramm von Levothyroxin

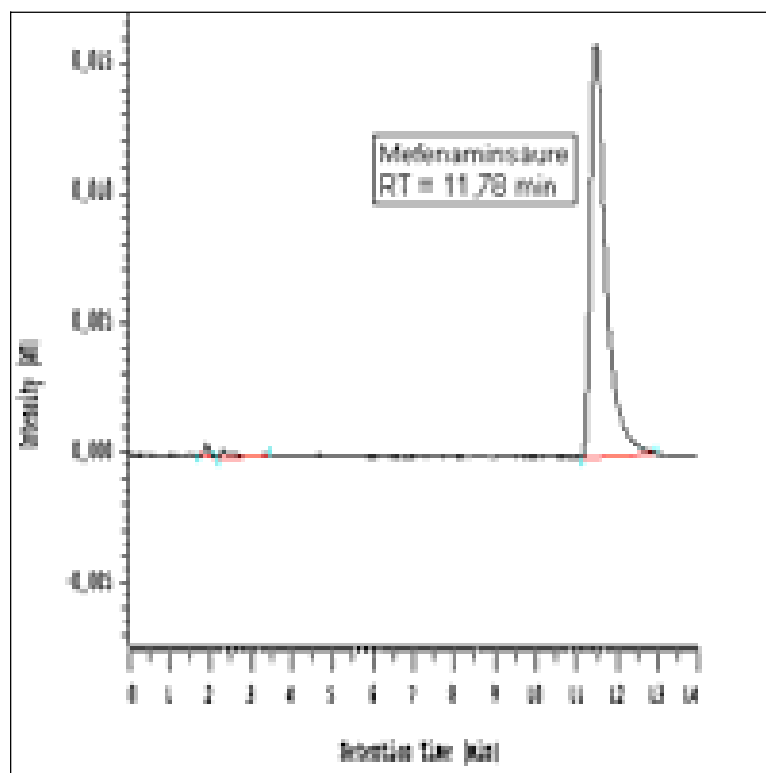


Abbildung 6-16: Typisches HPLC- Chromatogramm von Mefenaminsäure

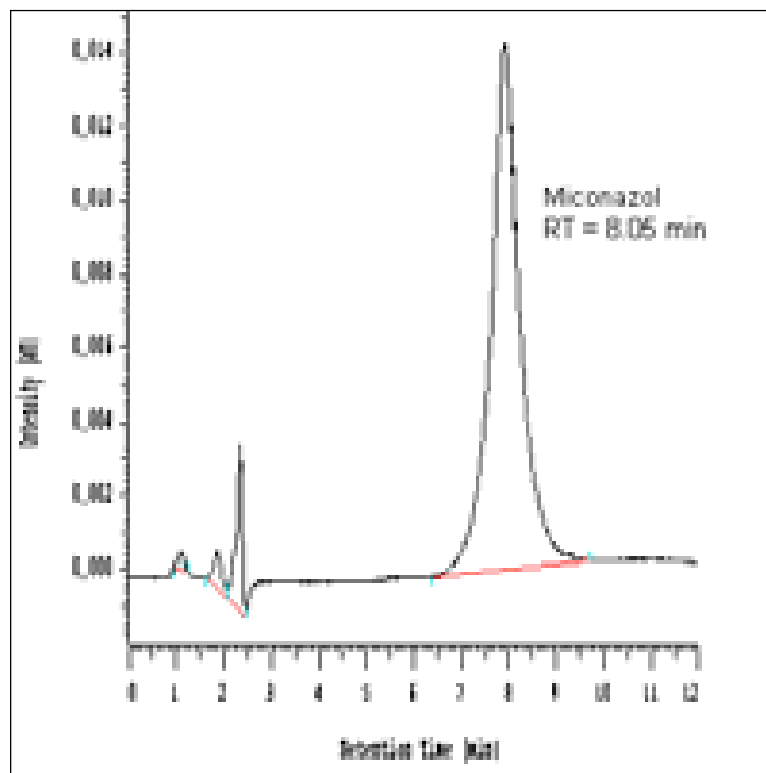


Abbildung 6-17: Typisches HPLC- Chromatogramm von Miconazol

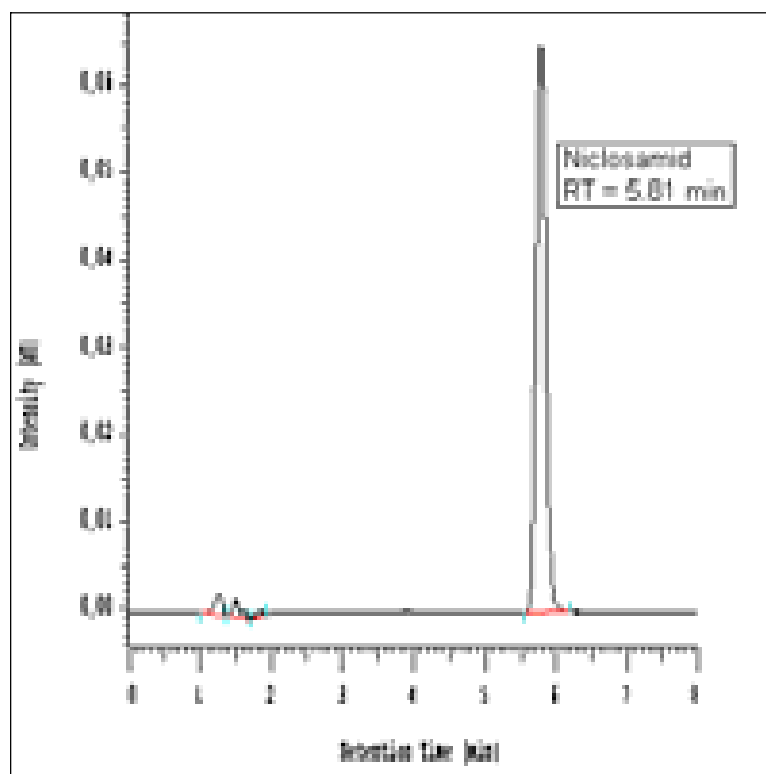


Abbildung 6-18: Typisches HPLC- Chromatogramm von Niclosamid

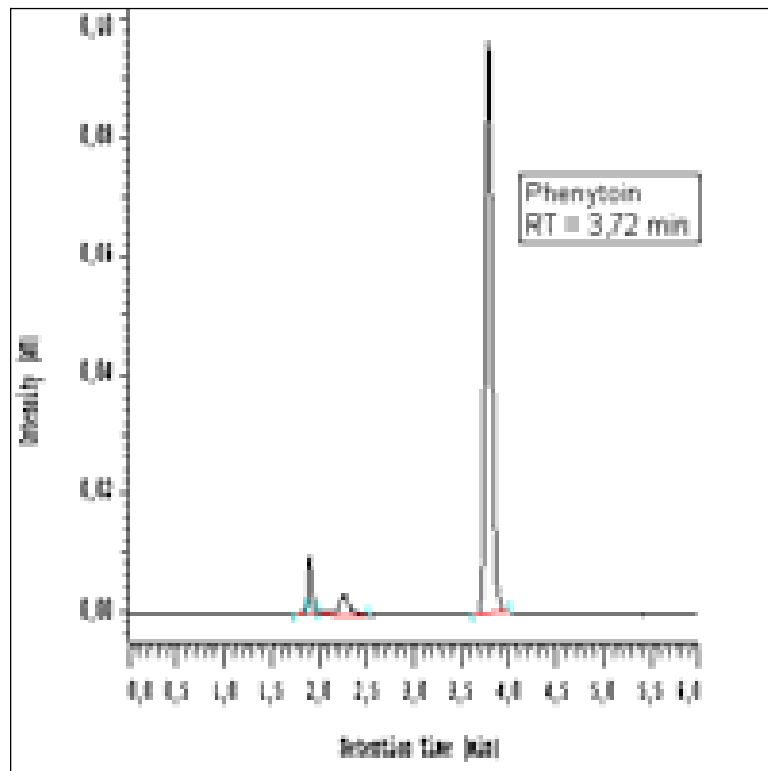


Abbildung 6-19: Typisches HPLC- Chromatogramm von Phenytoin

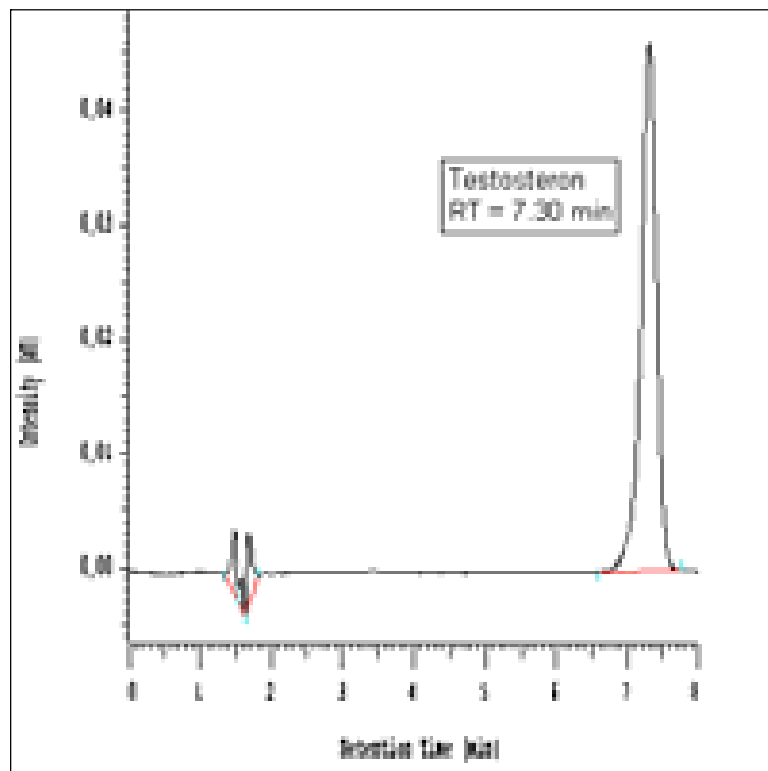


Abbildung 6-20: Typisches HPLC- Chromatogramm von Testosteron

Substanz	logP	logD 7.4	ac. pKa	bas. pKa	logP pred	Diff.	logk _{app}	pK _a - corr.	MW
4-NH ₂ -Phenol	0.04	0.03	10.30	5.50	0.05	0.01	0.11	0.01	109.13
4-CONHNH ₂ -Phenol	-0.33	-0.34	9.33	3.44	-0.07	0.26	0.14	0.00	152.15
4-CONH ₂ -Phenol	0.33	0.32	8.05	0.00	0.30	0.03	0.43	0.06	137.14
4-SO ₂ NH ₂ -Phenol	0.06	0.04	8.65	0.00	0.06	0.00	0.33	0.02	173.19
4-OH-Phenol	0.59	0.59	9.76	0.00	0.24	0.35	0.29	0.00	110.11
Phenol	1.46	1.46	9.90	0.00	1.36	0.10	1.27	0.00	94.11
4-CN-Phenol	1.60	1.49	7.95	0.00	1.38	0.22	1.36	0.07	119.12
4-F-Phenol	1.77	1.77	9.81	0.00	1.51	0.26	1.47	0.00	112.10
4-NO ₂ -Phenol	1.79	1.47	7.02	0.00	1.26	0.53	1.25	0.40	139.11
4-OPr-Phenol	2.33	2.33	10.48	0.00	2.48	0.15	2.50	0.00	152.19
4-Br-Phenol	2.59	2.59	9.25	0.00	2.20	0.39	2.32	0.00	173.01
4-CF ₃ -Phenol	2.82	2.80	8.68	0.00	2.67	0.15	2.71	0.01	162.11
4-Ph-Phenol	3.20	3.20	9.40	0.00	3.32	0.12	3.34	0.00	170.21
4-tBu-Phenol	3.31	3.31	11.50	0.00	3.40	0.09	3.35	0.00	150.22
4-Bu-Phenol	3.65	3.65	10.28	0.00	3.89	0.24	3.80	0.00	150.22
4-Pen-Phenol	4.06	4.06	10.28	0.00	4.28	0.22	4.21	0.00	164.25
4-cHex-Phenol	4.22	4.22	10.30	0.00	4.22	0.00	4.20	0.00	176.26
2-CH ₃ -Phenol	1.95	1.95	10.28	0.00	1.91	0.04	1.83	0.00	108.14
4-COPh-Phenol	3.07	3.05	8.63	0.00	2.88	0.19	3.03	0.02	198.22
4-CHO-Phenol	1.35	1.16	7.66	0.00	1.08	0.27	1.08	0.13	122.12
4-(C(CH ₃) ₂ -Ph-4-OH-Phenol	3.32	3.32	10.12	0.00	3.45	0.13	3.66	0.00	228.29
2,4-di-tBu-Phenol	5.19	5.19	11.72	0.00	5.17	0.02	5.18	0.00	206.33
2,4,6-tri-tBu-Phenol	6.06	6.06	12.19	0.00	6.03	0.03	6.17	0.00	262.44
Benethamine	3.40	1.74	0.00	9.05	3.25	0.15	3.05	1.86	211.31
2,4-Dichloro-phenoxy-acetic acid	2.81	-1.11	2.73	0.00	2.81	0.00	2.15	4.47	221.04
Alpha-Liponic acid	2.40	-0.36	4.61	0.00	2.12	0.28	1.84	2.59	206.33
Sulfameter	0.43	-0.56	6.46	0.00	0.50	0.07	0.95	0.81	280.31
Chlorcyclizine	3.45	2.63	0.00	7.78	4.01	0.56	4.29	0.68	300.83
Niflumini acid	4.43	0.46	2.26	0.00	4.13	0.30	3.49	4.94	282.22
Phenylethylamine	1.53	-1.02	0.00	9.87	1.63	0.10	1.08	2.67	121.18
Ketonazole	4.34	4.29	0.00	6.51	4.02	0.32	5.21	0.08	531.44
3-Nitro-BENZAMIDINE	0.40	-2.53	0.00	10.37	0.86	0.46	0.42	3.17	165.15
BENZAMIDINE	0.65	-3.20	0.00	11.80	1.23	0.58	0.32	4.60	120.16
3-Trifluoromethylphenylpiperazine	2.44	1.19	0.00	8.63	2.78	0.34	2.76	1.45	230.23
Terfenadine	5.70	4.49	0.00	8.58	5.46	0.24	6.07	1.40	471.69
CHOLIC ACID	3.52	1.10	4.98	0.00	3.98	0.46	4.32	2.22	408.58
GRISEOFULVIN	2.47	2.47	0.00	0.00	3.15	0.68	3.81	0.00	352.77
ASTEMIZOLE	5.10	4.10	0.00	8.35	5.12	0.02	5.76	1.18	458.58
Bisphenol	3.32	3.32	0.00	0.00	3.47	0.15	3.68	0.00	228.29
DIHYDROERGOCRISTINE	3.42	3.02	0.00	6.71	3.54	0.12	5.03	0.12	611.75
ERYTHROMYCIN	3.06	2.06	0.00	8.36	2.91	0.15	4.65	1.19	733.95
GLIBENCLAMIDE	4.39	1.99	4.99	0.00	4.05	0.34	4.68	2.21	494.01
LOPERAMIDE	5.01	3.69	0.00	8.70	4.64	0.37	5.31	1.51	477.05
MICONAZOLE	5.15	5.08	0.00	6.17	5.21	0.06	5.92	0.04	416.14
NOVOBIOCIN	3.77	0.72	4.03	0.00	3.55	0.22	4.43	3.17	612.64
RESERPINE	3.26	3.01	0.00	7.33	3.79	0.53	5.20	0.37	608.69
TOLFENAMATE	5.26	1.97	4.01	0.00	4.88	0.38	4.46	3.19	261.71

Tabelle 6-9: Kalibrierung der logP- HPLC- Bestimmungsmethode: Substanzen und ihrer physikochemischen Eigenschaften [März, unpublished data].

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1-1:	Löslichkeitsbereich von chemischen Verbindungen.....	1
Abbildung 1-2:	Entstehung der Kohäsionsenergie	5
Abbildung 1-3:	Potentiometrische Titrationskurve von Mefenaminsäure, gemessen mit dem pSol-Gerät bei 37°C.....	13
Abbildung 1-4:	Bjerrum-Plot von Mefenaminsäure, gemessen mit dem pSol-Gerät bei 37°C ...	15
Abbildung 1-5:	Physiologie des GI-Traktes	18
Abbildung 1-6:	Resorptionsmechanismen eines Arzneistoffes durch die Darmwand	24
Abbildung 1-7:	Strukturformel von Cholsäure	25
Abbildung 1-8:	Räumliche Struktur von Cholsäure	26
Abbildung 1-9:	Schematische Abbildung einer Mischmizelle	28
Abbildung 1-10:	Lipid-Mizelle: Struktur einer gemischten Mizelle	28
Abbildung 1-11:	„Schicksal“ des Arzneistoffes im Dünndarm.....	31
Abbildung 3-1:	Struktur der Gallensäuren Taurocholsäure und Glykocholsäure.	46
Abbildung 3-2:	Allgemeine Struktur von Lezithin	47
Abbildung 3-3:	Vectaspin-Filter der Firma Whatman.....	50
Abbildung 3-4:	Bohdan-Synthese-Automat.....	51
Abbildung 3-5:	Filterplate™-96 Microplate von Robbins Scientific.....	52
Abbildung 3-6:	Whatman UniPrep- und MiniPrep-Filter.....	53
Abbildung 3-7:	Presse für die UniPrep-Filter	54
Abbildung 3-8:	pSol-Instrument der Firma Sirius Analytical Instruments	60
Abbildung 3-9:	Korrelation zwischen den gemessenen logP-Werten aus der Literatur und den mit Hilfe der HPLC bestimmten und berechneten logP-Werten	66
Abbildung 4-1:	Löslichkeits-pH-Profil von Glibenclamid, bestimmt mit der Shake-Flask Methode und dem pSol-Gerät	81
Abbildung 4-2:	Korrelation zwischen den gemessenen Löslichkeiten und den mit dem WSKOWWIN v.1.40 berechneten Löslichkeiten.....	87

Abbildung 4-3:	Korrelation von gemessenen Schmelzpunkten mit den von Syracuse MpBpVp 1.31 berechneten Schmelzpunkten	88
Abbildung 4-4:	Korrelation zwischen den gemessenen Löslichkeiten und den mit dem WSKOWWIN Programm, bzw. nach der Yalkowsky-Gleichung berechneten Löslichkeiten	88
Abbildung 4-5:	Löslichkeit von Danazol unter dem Einfluss von Gallenkomponenten.....	90
Abbildung 4-6:	Löslichkeit von Phenytoin unter dem Einfluss von Gallen-komponenten.....	94
Abbildung 4-7:	Löslichkeit von Felodipin unter dem Einfluss von Gallen-komponenten	96
Abbildung 4-8:	Löslichkeit von Dexamethason unter dem Einfluss von Gallenkomponenten....	98
Abbildung 4-9:	Löslichkeit von Betamethason unter dem Einfluss von Gallenkomponenten.....	99
Abbildung 4-10:	Löslichkeit von Griseofulvin unter dem Einfluss von Gallenkomponenten.....	101
Abbildung 4-11:	Löslichkeitsbestimmung von Dronabinol durch Extrapolation auf 0 % ACN	104
Abbildung 4-12:	Löslichkeit von Dronabinol unter dem Einfluss von Gallenkomponenten	105
Abbildung 4-13:	pH-abhängige Löslichkeit von Mefenaminsäure unter dem Einfluss von Gallenkomponenten.....	110
Abbildung 4-14:	pH-abh. Löslichkeit von Ketoconazol unter Einfluss von Gallenkomponenten	117
Abbildung 4-15:	pH-abh. Löslichkeit von Miconazol unter Einfluss von Gallenkomponenten....	118
Abbildung 4-16:	Löslichkeit von Dipyridamol bei pH 5, 6 und 7 unter Einfluss von Gallenkomponenten.....	121
Abbildung 4-17:	Löslichkeit von Albendazol unter dem Einfluss von Gallenkomponenten	123
Abbildung 4-18:	Löslichkeit von Itraconazol unter dem Einfluss von Gallenkomponenten	124
Abbildung 5-1:	Löslichkeit von Danazol unter dem Einfluss von Gallenkomponenten.....	130
Abbildung 5-2:	Korrelation zwischen dem Verteilungskoeff. Oktanol/Wasser für ionisierte Moleküle (logD) und dem Löslichkeitsverhältnis Wirkstoff/NaTC (logSR)	132
Abbildung 5-3:	Korrelation zwischen logD- und logSR-Wert	133
Abbildung 5-4:	Korrelation zwischen logD- und logSR-Werten für Neutralstoffe	135
Abbildung 5-5:	Korrelation zwischen gemessenen und berechneten Löslichkeiten bei unterschiedlichen NaTC-Lez.-Konz.	138
Abbildung 5-6:	pH-abhängiges logD- und logSR-Profil von Dipyridamol	142

Abbildung 5-7:	Vergleich der pH-Abhängigkeit von logSR und logD bei Glibenclamid.....	144
Abbildung 5-8:	Vergleich der pH-Abhängigkeit von logSR und logD bei Mefenaminsäure.....	144
Abbildung 6-1:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Albendazol.....	160
Abbildung 6-2:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Beclomethason-dipropionat.....	160
Abbildung 6-3:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Betamethason-17-valerat.....	161
Abbildung 6-4:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Betamethason.....	161
Abbildung 6-5:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Danazol.....	162
Abbildung 6-6:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Dexamethason.....	162
Abbildung 6-7:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Dipyridamol.....	163
Abbildung 6-8:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Dronabinol.....	163
Abbildung 6-9:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Felodipin.....	164
Abbildung 6-10:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Glibenclamid.....	164
Abbildung 6-11:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Griseofulvin.....	165
Abbildung 6-12:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Hydrocortison-21-Hemisuccinat.....	165
Abbildung 6-13:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Itraconazol.....	166
Abbildung 6-14:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Ketoconazol.....	166
Abbildung 6-15:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Levothyroxin.....	167
Abbildung 6-16:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Mefenaminsäure.....	167
Abbildung 6-17:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Miconazol.....	168
Abbildung 6-18:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Niclosamid.....	168
Abbildung 6-19:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Phenytoin.....	169
Abbildung 6-20:	Typisches HPLC- Chromatogramm von Testosteron.....	169

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1-1:	Tabellarischer Vergleich der Löslichkeitsbestimmungs-Methoden.....	17
Tabelle 1-2:	Kritische Mizellkonzentration und Aggregationszahl einiger Gallensalze.....	27
Tabelle 3-1:	Physikalisch-chemische Eigenschaften der Untersuchungssubstanzen.....	37
Tabelle 3-2:	Verwendete Chargen der Wirkstoffe.....	38
Tabelle 3-3:	Indikationen der Untersuchungssubstanzen und ihre höchste Dosierung	43
Tabelle 3-4:	Laboraausstattung	44
Tabelle 3-5:	Labormaterialien	45
Tabelle 3-6:	Zusammensetzung von Fettsäuren (mol %) in humanen, biliären Phospho- lipiden, in Ei-Lezithin und in fett-freiem Soja-Lezithin	47
Tabelle 3-8:	Vorversuch, zur Überprüfung der Eignung der Whatman UniPrep, bzw. MiniPrep.	55
Tabelle 3-7:	Für die Messungen des logP-Wertes verwendete Geräte.....	63
Tabelle 4-1:	Bestimmung der Löslichkeit von Dipyridamol bei 37°C mit unterschiedlichen Methoden	70
Tabelle 4-2:	Löslichkeitsbestimmung von Dipyridamol mit dem pSol-Gerät unter Verwend- ung eines Kosolvenz (Methanol).....	71
Tabelle 4-3:	Bestimmung der Löslichkeit von Glibenclamid bei 37°C mit unterschiedlichen Methoden	72
Tabelle 4-4:	Löslichkeitsbestimmung von Glibenclamid mit dem pSol-Gerät unter Verwend- ung des Kosolvenz Acetonitril.....	72
Tabelle 4-5:	Löslichkeitsbestimmung von Glibenclamid mit dem pSol-Gerät unter Verwend- ung des Kosolvenz Methanol.....	73
Tabelle 4-6:	Bestimmung der Löslichkeit von Mefenaminsäure bei 37°C mit den unterschiedlichen Methoden	74
Tabelle 4-7:	Löslichkeitsbestimmung von Mefenaminsäure mit dem pSol-Gerät unter Verwendung des Kosolvenz Acetonitril.....	74
Tabelle 4-8:	Bestimmung der Löslichkeit von Phenytoin bei 37°C mit den unterschiedlichen Methoden	75
Tabelle 4-9:	Löslichkeitsbestimmung von Phenytoin mit dem pSol unter Verwendung des Kosolvenz Methanol.....	75

Tabelle 4-10:	Bestimmung der Löslichkeit von Levothyroxin bei 37°C mit den unterschiedlichen Methoden	76
Tabelle 4-11:	Löslichkeitsbestimmung von Levothyroxin mit dem pSol unter Verwendung des Kosolvenz Methanol	76
Tabelle 4-12:	Benötigte Messzeit in Stunden für die unterschiedlichen Substanzen und verschiedenen Bestimmungsmethoden.....	78
Tabelle 4-13:	Löslichkeitsbestimmung von Phenytoin bei unterschiedlichen Gallensalzkonzentrationen.....	83
Tabelle 4-14:	Vergleich der bei pH 7 gemessenen Löslichkeiten mit den berechneten Löslichkeiten	86
Tabelle 4-15:	Löslichkeiten von Danazol bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC, bzw. NaTC/ Lez (4:1).....	90
Tabelle 4-16:	pH-abhängige Löslichkeit von Danazol bei 37°C in Abhängigkeit von der NaTC-Konzentration	91
Tabelle 4-17:	Vergleich der gemessenen Löslichkeiten von Danazol mit Literaturdaten	92
Tabelle 4-18:	pH-abhängige Löslichkeit von Phenytoin bei 37°C in Abhängigkeit von der NaTC-Konzentration	93
Tabelle 4-19:	Löslichkeiten von Phenytoin bei pH 7 in Abh. von NaTC, bzw. NaTC/Lez (4:1).....	94
Tabelle 4-20:	Löslichkeiten von Felodipin bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC, bzw. NaTC/ Lez (4:1).....	95
Tabelle 4-21:	pH-abhängige Löslichkeit von Felodipin bei 37°C in Abhängigkeit von der NaTC-Konzentration	96
Tabelle 4-22:	Löslichkeiten von Beclometasondipropionat bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC und NaTC/ Lez (4:1)	97
Tabelle 4-23:	Löslichkeiten von Dexamethason bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC und NaTC/ Lez (4:1).....	98
Tabelle 4-24:	Löslichkeiten von Betamethason bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC und NaTC/Lez (4:1).....	99
Tabelle 4-25:	Löslichkeiten von Griseofulvin bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC und NaTC/Lez (4:1).....	100
Tabelle 4-26:	Vergleich der gemessenen Löslichkeiten von Griseofulvin mit Literaturdaten	101
Tabelle 4-27:	Löslichkeiten von Testosteronpropionat bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC und NaTC/Lez (4:1).....	102

Tabelle 4-28:	Löslichkeitsbestimmung von Dronabinol durch Messungen in unterschiedlichen ACN-Konzentrationen und Extrapolation auf 0 Volumenprozent ACN.....	103
Tabelle 4-29:	Löslichkeiten von Dronabinol in Abhängigkeit von NaTC und NaTC/Lez (4:1) ...	104
Tabelle 4-30:	Löslichkeit von Glibenclamid bei 37°C in Abhängigkeit von NaTC.....	107
Tabelle 4-31:	Löslichkeit von Mefenaminsäure bei 37°C in Abhängigkeit von NaTC.....	108
Tabelle 4-32:	Löslichkeit von Niclosamid bei 37°C in Abhängigkeit von NaTC.....	111
Tabelle 4-33:	Löslichkeiten von Hydrocortison bei unterschiedlichen Gallensalzkonz.....	112
Tabelle 4-34:	Löslichkeiten von Hydrocortison-Hemisuccinat bei pH 7 in unterschiedlichen Gallensalzkonzentrationen.....	112
Tabelle 4-35:	Löslichkeiten von Levothyroxin bei unterschiedlichen Gallensalzkonz.	114
Tabelle 4-36:	Löslichkeit von Ketoconazol in Phosphatpuffer bei unterschiedlichen pH-Werten.....	115
Tabelle 4-37:	Löslichkeit von Ketoconazol bei verschiedenen Gallensalzkonzentrationen und pH-Werten.....	116
Tabelle 4-38:	Literaturwerte von Hörter	117
Tabelle 4-39:	Löslichkeiten von Miconazol unter Einfluss von Gallenkomponenten	119
Tabelle 4-40:	pH-abhängige Löslichkeit von Dipyridamol unter dem Einfluss von Gallenkomponenten	120
Tabelle 4-41:	Löslichkeiten von Albendazol bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC, bzw. NaTC/Lez (4:1).....	122
Tabelle 4-42:	Löslichkeit von Itraconazol bei pH 7 in Abhängigkeit von NaTC und NaTC/Lez (4:1).....	123
Tabelle 4-43:	Löslichkeit von Amiodaron bei pH 5, 6 und 7 in unterschiedlichen Gallensalzkonzentrationen	125
Tabelle 4-44:	pH-Wert Messung von Amiodaronhydrochlorid bei unterschiedlichen Einwaagemengen.....	126
Tabelle 4-45:	Löslichkeiten von Ketotifenfumarat und Trifluoperazindihydrochlorid	127
Tabelle 4-46:	Dosis-Löslichkeitsverhältnis für die oral verfügbaren Wirkstoffe	128
Tabelle 4-47:	Dosis-Löslichkeitsverhältnis für oral verfügbare Azole bei sauren pH-Werten.....	129

Tabelle 5-1:	Das Löslichkeitsverhältnis (logSR) für neutrale Substanzen und der Verteilungskoeffizient Oktanol /Wasser	134
Tabelle 5-2:	Vergleich der gallensalzbedingten Löslichkeitssteigerung mit der in-vivo bestimmten, von der Nahrungsaufnahme abhängigen Zunahme der Bioverfügbarkeit.	139
Tabelle 5-3:	Verteilungskoeffizient Oktanol/Wasser und das Löslichkeitsverhältnis (logSR) von Basen bei verschiedenen pH-Werten	141
Tabelle 5-4:	Der Verteilungskoeffizient Oktanol/Wasser und das Löslichkeitsverhältnis (logSR) von Säuren bei verschiedenen pH-Werten.....	147
Tabelle 5-5:	Der Verteilungskoeffizient Oktanol/Wasser und das Löslichkeits-verhältnis (logSR) für Levothyroxin bei verschiedenen pH-Werten	148
Tabelle 5-6:	Differenzen zwischen der neutralen Form und der ionisierten Form für den Verteilungskoeffizienten Oktanol/Wasser und den Verteilungskoeffizienten Phospholipidmembran/Wasser	150
Tabelle 6-1:	Zeit-, pH- und NaTC-abhängige Löslichkeit von Danazol (n = 3)	156
Tabelle 6-2:	Zeit-, pH- und NaTC-abhängige Löslichkeit von Dipyridamol (n = 3)	156
Tabelle 6-3:	Zeit-, pH- und NaTC-abhängige Löslichkeit von Felodipin (n = 3).....	157
Tabelle 6-4:	Zeit-, pH- und NaTC-abhängige Löslichkeit von Glibenclamid (n = 3)	157
Tabelle 6-5:	Zeit-, pH- und NaTC-abhängige Löslichkeit von Mefenaminsäure (n = 3)	158
Tabelle 6-6:	Zeit-, pH- und NaTC-abhängige Löslichkeit von Phenytoin (n = 3)	158
Tabelle 6-7:	Zeit-, pH- und NaTC-abhängige Löslichkeit von Levothyroxin (n = 3).....	159
Tabelle 6-8:	Zeit-, pH- und NaTC-abhängige Löslichkeit von Ketoconazol (n = 3)	159
Tabelle 6-9:	Kalibrierung der logP- HPLC- Bestimmungsmethode: Substanzen und ihrer physikochemischen Eigenschaften	170

LITERATURVERZEICHNIS

- Abraham, M.H., Le, J.** (1999). The correlation and prediction of the solubility of compounds in water using an amended solvation energy relationship. *J. Pharm. Sci.*, 88, 868-880.
- Angelico, M., Corradini, S.G., Masella, R., Alvaro, D., Cantafora, A.** (1992). Molecular composition of biliary phosphatidylcholines, as related to cholesterol saturation, transport and nucleation in human gallbladder. *J. Hepatol.*, 15, 59-66.
- Aoyagi, N., Ogata, H., Kaniwa, N., Ejima, A.** (1982). Effect of food on the bioavailability of griseofulvin from microsize and PEG ultramicrosize (GRIS-PEG) plain tablets. *J. Pharmacobiodyn.*, 5, 120-4.
- Avdeef, A.** (1996). Assessment of Distribution - pH Profiles. In: *Methods and Principles in Medicinal Chemistry Drug Research*, ed. Pliska, V., Testa, B., van de Waterbeemd, H. Wiley-VCH: Weinheim, 4, 109-139.
- Avdeef, A.** (1998). pH-metric Solubility. 1. Solubility-pH profiles from Bjerrum plots. Gibbs buffer and pK_a in the solid state. *Pharm.Pharmacol.Comm.*, 4, 165-78.
- Avdeef, A.** (2001). Physicochemical profiling (solubility, permeability and charge state). *Curr. Top. Med. Chem.*, 1, 277-351.
- Avdeef, A., Berger, C.M., Brownell, C.** (2000). pH-metric solubility. 2: correlation between the acid-base titration and the saturation shake-flask solubility-pH methods. *Pharm. Res.*, 17, 85-9.
- Avdeef, A., Box, K.J., Comer, J.E.A., Hibbert, C., Tam, K.Y.** (1998). pH-Metric logP 10. Determination of Liposomal Membrane-Water Partition Coefficients of Ionizable Drugs. *Pharm. Res.*, 15, 209-215.
- Avdeef, A., Testa, B.** (2002). Physicochemical profiling in drug research: a brief survey of the state-of-the-art of experimental techniques. *Cell-Mol-Life-Sci.*, 59, 1681-9.

- Bakatselou, V.** (1990). Dissolution of Steroidal compounds at physiological Bile Salt concentrations. In Doctoral Thesis. Ann Arbor: University of Michigan.
- Bakatselou, V., Oppenheim, R.C., Dressman, J.B.** (1991). Solubilization and wetting effects of bile salts on the dissolution of steroids. *Pharm. Res.*, 8, 1461-9.
- Barone, J.A., Koh, J.G., Bierman, R.H., Colaizzi, J.L., Swanson, K.A., Gaffar, M.C., Moskovitz, B.L., Mechlinski, W., Van de Velde, V.** (1993). Food interaction and steady-state pharmacokinetics of itraconazole capsules in healthy male volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 37, 778-84.
- Bates, T.R., Gibaldi, M., Kanig, J.L.** (1966). Solubilizing properties of bile salt solutions. II. Effect of inorganic electrolyte, lipids, and a mixed bile salt system on solubilization of glutethimide, griseofulvin, and hexestrol. *J. Pharm. Sci.*, 55, 901-6.
- Benvenga, S., Bartolone, L., Squadrito, S., Lo-Giudice, F., Trimarchi, F.** (1995). Delayed intestinal absorption of levothyroxine. *Thyroid*, 5, 249–53.
- Borgström, B., Barrowman, J.A., Lindström, M.** (1985). Role of bile acids in intestinal lipid digestion and absorption. In: *New Comprehensive Biochemistry - Sterols and Bile Acids* Bd.12 ed. Danielsson, H., Sjövall, J. Elsevier: Amsterdam, 14, 405-425.
- Brass, C., Galgiani, J.N., Blaschke, T.F., Defelice, R., O'Reilly, R.A., Stevens, D.A.** (1982). Disposition of ketoconazole, an oral antifungal, in humans. *Antimicrob Agents Chemother*, 21, 151-8.
- Carmona-Ibanez, G., del-Val-Bermejo-Sanz, M., Rius-Alarco, F., Martin-Villodre, A.** (1999). Experimental studies on the influence of surfactants on intestinal absorption of drugs. Cefadroxil as model drug and sodium taurocholate as natural model surfactant: studies in rat colon and in rat duodenum. *Arznei-mittelforschung*, 49, 44-50.
- Coello, A., Meijide, F., Nunez, E.R., Tato, J.V.** (1996). Aggregation behavior of bile salts in aqueous solution. *J. Pharm. Sci.*, 85, 9-15.

- Cook, J., Randinitis, E., Wilder, B.J.** (2001). Effect of food on the bioavailability of 100-mg dilantin Capsules. *Neurology.*, 57, 698-700.
- Curatolo, W.** (1998). Physical chemical properties of oral drug candidates in the discovery and exploratory development settings. *Pharmaceutical Science and Technology Today*, 1, 387-393.
- Daneshmend, T.K., Warnock, D.W., Ene, M.D., Johnson, E.M., Potten, M.R., Richardson, M.D., Williamson, P.J.** (1984). Influence of food on the pharmacokinetics of ketoconazole. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 25, 1-3.
- Dressman, J.B.** (2000). Dissolution testing of Immediate-Release products and its application to forecasting in vivo performance. In: *Oral drug absorption prediction and assessment.* ed. Dressman, J.B., Lennernäs, H. Dekker: New York-Basel, 10, 155-181.
- Dressman, J.B., Amidon, G.L., Reppas, C., Shah, V.P.** (1998). Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. *Pharm. Res.*, 15, 11-22.
- Eastwood, G.L.** (1975). Effect of pH on bile salt injury to mouse gastric mucosa. A light- and electron-microscopic study. *Gastroenterology*, 68, 1456-65.
- Emori, H., Yokohama, S., Nishihata, T.** (1995). Small intestinal absorption of bropirimine in rats and effect of bile salt on the absorption. *J. Pharm. Pharmacol.*, 47, 487-92.
- Faller, B., Wohnsland, F.** (2001). Physicochemical Parameters as Tools in Drug Discovery and Lead Optimization. In: *Testa, B., van de Waterbeemd, H., Folkers, G., Guy, R. (Eds.). Pharmacokinetic Optimization in Drug Research*, Wiley - VCH: Weinheim, 257-274.
- FDA** (1997). Guidance for industry: Drug Metabolism/Drug Interaction Studies in the Drug Development Process: Studies in vitro.
<http://www.fda.gov/cder/guidance/clin3.pdf>.

- FDA** (2000). Guidance for industry-waiver of In Vivo bioavailability and bioequivalence studies for Immediate Release solid oral dosage based on a biopharmaceutics classification system /<http://www.fda.gov/cder/guidance/3618fnl.pdf>
- Feola, D., Rapp, R.P.** (1997). Effect of food intake on the bioavailability of itraconazole. *Clin. Infect. Dis.*, 25, 344-5.
- Fritzscht, B., Neubert, R.H., Dongowski, G., Heinevetter, L.** (2000). Interactions between food components and drugs. Part 8: Effect of pectins and bile acid preparations forming stable mixed micelles on transport of quinine in vitro. *Pharmazie.*, 55, 59-61.
- Galia, E., Horton, J., Dressman, J.B.** (1999). Albendazole generics - A Comparative In Vitro Study. *Pharm. Res.*, 16, 1872-1876.
- Galia, E., Nicolaidis, E., Horter, D., Lobenberg, R., Reppas, C., Dressman, J.B.** (1998). Evaluation of various dissolution media for predicting in vivo performance of class I and II drugs. *Pharm. Res.*, 15, 698-705.
- Gascoigne, E.W., Barton, G.J., Michaels, M., Meuldermans, W., Heykants, J.** (1981). The kinetics of ketoconazole in animals and man. *Clin. Res. Rev.*, 1, 177-187.
- Hamaguchi, T., Shinkuma, D., Yamanaka, Y., Mizuno, N.** (1986). Bioavailability of mefenamic acid: influence of food and water intake. *J. Pharm. Sci.*, 75, 891-3.
- Hamaguchi, T., Shinkuma, D., Yamanaka, Y., Mizuno, N.** (1987). Effects of food on absorption of mefenamic acid from two commercial capsules differing in bioavailability under the fasting state. *J. Pharmacobiodyn.*, 10, 21-5.
- Hansch, C., Leo, A., Hoekman, D.** (1995). Exploring QSAR. American Chemical Society: Washington, DC.
- Hansch, C., Quinlan, J.E., Lawrence, G.L.** (1968). Linear free energy relationships between partition coefficients and the aqueous solubility of organic liquids. *J. org. Chem.*, 33, 347-350.

- Hansch, C., Sammes, P.G., Taylor, J.B.** (1990). *Comprehensive Medicinal Chemistry: Ligand Interactions at the Benzodiazepine Receptor*. Eds., C.A. Ramsden Pergamon Press: New York, 1990, Vol. 1-6.
- Hatsushika, S., Tazuma, S., Kajiyama, G.** (1993). Nucleation time and fatty acid composition of lecithin in human gallbladder bile. *Scand. J. Gastroenterol.*, 28, 131-136.
- Hay, D.W., Cahalane, M.J., Timofeyeva, N., Carey, M.C.** (1993). Molecular species of lecithins in human gallbladder bile. *J. Lipid Res.*, 34, 759-768.
- Hayes, K.C., Livingston, A., Trautwein, E.A.** (1992). Dietary impact on biliary lipids and gallstones. *Annu. Rev. Nutr.*, 12, 299-326.
- Hitzel, L., Watt, A.P., Locker, K.L.** (2000). An increased throughput method for the determination of partition coefficients. *Pharm. Res.*, 17, 1389-1395.
- Hörter, D.** (1999). Löslichkeit, Freisetzungsverhalten und galenische Präformulierung schwer wasserlöslicher Antimykotika unter Berücksichtigung der gastrointestinalen Physiologie. In Doctoral Thesis. University of Frankfurt.
- Humberstone, A.J., Porter, C.J., Charman, W.N.** (1996). A physicochemical basis for the effect of food on the absolute oral bioavailability of halofantrine. *J. Pharm. Sci.*, 85, 525-9.
- Huuskonen, J., Salo, M., Taskinen, J.** (1998). Aqueous solubility prediction of drugs based on molecular topology and neural network modeling. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 38, 450-456.
- Ingendoh, A.** (1988). Änderung von Lösungseigenschaften durch Molekülvariationen und Salzbildung. [Changes in the properties of solutions through molecular variations and salt formation] . *Pharm-Unserer-Zeit.*, 17, 23-9.
- Johnson, K.C., Swindell, A.C.** (1996). Guidance In The Setting Of Drug Particle Size Specifications To Minimize Variability In Absorption. *Pharm. Res.*, 13, 1794-1797.

- Kandil, A., El-Sharkawy, M.R., Elzawahry, A., Mousa, M., Geneidi, A.S.** (1991). Study of Safety and Toxicity of Niclosamide as a Topical Anti-Schistosomal Agent. *J. Drug. Res.*, 20, 295-302.
- Kennedy, T.** (1997). Managing the drug discovery/development interface. *Drug-Discovery-Today.*, 2, 436-444.
- Kostewicz, E.S., Brauns, U., Becker, R., Dressman, J.B.** (2002). Forecasting the oral absorption behaviour of poor soluble weak bases using solubility and dissolution studies in biorelevant media. *Pharm. Res.*, 3, 345-349.
- Lennernas, H.** (1998). Human intestinal permeability. *J. Pharm. Sci.*, 87, 403-10.
- Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J.** (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug. Del. Rev.*, 23, 3-25.
- Lipka, E., Amidon, G.L.** (1999). Setting bioequivalence requirements for drug development based on preclinical data: optimizing oral drug delivery systems. *J. Controlled Release*, 62, 41-9.
- Löbenberg, R., Amidon, G.L.** (2000). Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 50, 3-12.
- Luner, P.E., Babu, S.R., Radebaugh, G.W.** (1994). The effects of bile salts and lipids on the physicochemical behavior of gemfibrozil. *Pharm. Res.*, 11, 1755-60.
- Maerz, J.** (2002). mündl Kommunikation.
- Maerz, J.** (2002). unpublished data.
- Mannisto, P.T., Mantyla, R., Nykanen, S., Lamminsivu, U., Ottoila, P.** (1982). Impairing effect of food on ketoconazole absorption. *Antimicrob Agents Chemother*, 21, 730-3.

- Marathe, P.H., Arnold, M.E., Meeker, J., Greene, D.S., Barbhaiya, R.H.** (2000). Pharmacokinetics and bioavailability of a metformin/glyburide tablet administered alone and with food. *J. Clin. Pharmacol.*, 40, 1494-502.
- Meylan, W.M., Howard, P.H.** (2000). Estimating log P with atom/fragments and water solubility with log P. *Perspectives in drug discovery and design*, 19, 67-84.
- Minami, H., McGallum, R. W.** (1984). The physiology and pathophysiology of gastric emptying in humans. *Gastroenterology*, 85, 1592-1610.
- Mithani, S.D., Bakatselou, V., TenHoor, C.N., Dressman, J.B.** (1996). Estimation of the increase in solubility of drugs as a function of bile salt concentration. *Pharm. Res.*, 13, 163-7.
- Miyazaki, J., Hideg, K., Marsh, D.** (1992). Interfacial ionization and partitioning of membrane-bound local anesthetics. *Biochim-Biophys-Acta.*, 1103, 62-68.
- Nair, P., Kritchevsky, D.** (1971). *The Bile Acids; Chemistry, Physiology and Metabolism*. Plenum Press: NewYork - London, Vol.1 (Chemistry), 176.
- Naylor, L.J., Bakatselou, V., Dressman, J.B.** (1993). Comparison of the mechanism of dissolution of hydrocortisone in simple and mixed micelle systems. *Pharm. Res.*, 10, 865-70.
- Naylor, L.J., Bakatselou, V., Rodriguez-Hornedo, N., Weiner, N.D.** (1995). Dissolution of Steroids in Bile Salt Solutions is Modified by the presence of Lecithin. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 41, 346-353.
- O'Maille, E.R., Richards, T.G.** (1977). Possible explanations for the differences in secretory characteristics between conjugated and free bile acids. *J. Physiol.*, 265, 855-66.
- Pedersen, B.L., Mullertz, A., Brondsted, H., Kristensen, H.G.** (2000). A comparison of the solubility of danazol in human and simulated gastrointestinal fluids. *Pharm. Res.*, 17, 891-4 .

Peeters, T.L., Vantrappen, G., Janssens, J. (1980). Bile Acid output and the inter-digestive migrating motor complex in normals and in cholecystectomy patients. *Gastroenterology*, 79, 678-681.

pION homepage: www.pion-inc.com.

Pliska, V., Testa, B., van de Waterbeemd, H. (1995). Methods and principles in Medicinal Chemistry. VCH Weinheim, Band 4, 116-117.

Poelma, F.G., Breas, R., Tukker, J.J. (1990). Intestinal absorption of drugs. III. The influence of taurocholate on the disappearance kinetics of hydrophilic and lipophilic drugs from the small intestine of the rat. *Pharm. Res.*, 7, 392-7.

Reppas, C. (2002). mündl Kommunikation.

Rote Liste (2003). Editio Cantor Verlag: Aulendorf

Schafer-Korting, M. (1993). Pharmacokinetic optimisation of oral antifungal therapy. *Clin. Pharmacokinet.*, 25, 329-41.

Scherrer, R.A., Crooks, S.L. (1989). Titrations in water-saturated octanol: a guide to partition coefficients of ion pairs and receptor-site interactions. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 291, 59-62.

Schersten, T. (1973). Bile acids as a determining factor for synthesis and excretion of human bile lecithin. *Helv. med. acta.*, 37, 161-168.

Scholz, A., Abrahamsson, B., Diebold, S.M., Kostewicz, E., Polentarutti, B.I., Ungell, A.L., Dressman, J.B. (2002). Influence of hydrodynamics and particle size on the absorption of felodipine in labradors. *Pharm. Res.*, 19, 42-6.

Smith, P., Wall, D.A., Gochoco, C., Wilson, G. (1992). Oral Absorption of Peptides and Proteins. *Adv. Drug. Del. Rev.*, 8, 253-90.

Sugaya, Y., Yoshiba, T., Kajima, T., Ishihama, Y. (2002). Development of solubility screening methods in drug discovery. *Yakugaku-Zasshi.*, 122, 237-46.

- Sunesen, V.H., Vedelsdal, R., Kristensen, H.G., Christrup, L., Müllertz, A.** (2003) Effect of liquid volume and food intake on danazol bioavailability. Poster-presentation, <http://www.dfh.dk/forskningensdag/p15.doc>.
- Tangerman, A., van Schaik, A., van der Hoek, E.W.** (1986). Analysis of conjugated and unconjugated bile acids in serum and jejunal fluid of normal subjects. *Clin. Chim.Acta*, 159, 123-132.
- TenHoor, C.N., Bakatselou, V., Dressman, J.B.** (1991). Solubility of mefenamic acid under simulated fed- and fasted-state conditions. *Pharm. Res.*, 8, 1203-5.
- Thews, R.F., Schmidt, G.** (1985) *Physiologie des Menschen*. Springer Verlag: Berlin, 22. Aufl..
- Tulpule, A., Krishnaswamy, K.** (1982). Effect of food on bioavailability of chloroquine. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 23, 271-3.
- Ungemach, F. R.** (1999). Antiparasitika. In: *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*. ed. Lüscher, W., Ungemach, F.R., Kroker, R. Parey: Berlin, 4, 485.
- USPXXI** (1985). *The United States Pharmacopeia USPXXI and National Formulary XVI*. Rockville, MD, USA: United States Pharmacopeia Convention, Inc..
- Van-Peer, A., Woestenborghs, R., Heykants, J., Gasparini, R., Gauwenbergh, G.** (1989). The effects of food and dose on the oral systemic availability of itraconazole in healthy subjects. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 36, 423-6.
- Welling, P.G.** (1989). Effects of Food on Drug Absorption. *Pharmacol.Ther.*, 43, 425-41.
- Weitschies, W.** (2001), *Arzneiformen: Eine Reise durch den Verdauungstrakt* *Pharm. Ztg.*, 146, 10-16.
- Yalkowsky, S.H.** (1999). Solubility and partial miscibility. In: *Solubility and solubilization in aqueous media*. Ed. Yalkowsky, S.H. ACS: Washington, D.C., 49-80.

CURRICULUM VITAE

PERSÖNLICHE ANGABEN:

Geburtsdatum: 21.12.1971
Geburtsort: Köln
Adresse: Riehenstrasse 5, 4127 Birsfelden, Schweiz
Email: Alexander.Glomme@gmx.de

AUSBILDUNG:

Seit Jun 2003: F. Hoffmann-La Roche, Pharmaceutical and Analytical R&D
Laborleiter in der Entwicklung fester Arzneiformen

Feb. 2000 – Mai 2003 Merck KGaA/MedChem/Bio- and Chemoinformatics,
Doktorarbeit als externer Mitarbeiter von Frau Prof. Dr. Dressman
(Institut für Pharmazeutische Technologie, Universität Frankfurt/Main)
Thema: Biorelevante Löslichkeit schwerlöslicher Arzneistoffe

Mai 1999 – Nov. 1999: Apotheke im Erftstadt-Center
Praktikum in einer Offizin-Apotheke

Nov. 1998 – Apr. 1999: Merck KGaA, Darmstadt
Industriepraktikum im Rahmen des praktischen Jahres

Apr. 1995 – Sept. 1998: Pharmazeutisches Institut/Universität Bonn
Pharmaziestudium

Sept. 1994 – Feb. 1995: Chemisches Institut/Universität Bonn
Weiterführende Kurse in der org. und anorg. Strukturaufklärung
(NMR, MS, IR, UV-Vis)

Okt. 1991 – Apr. 1994: Chemisches Institut/Universität Köln
Chemiestudium mit Vordiplom

STUDIENBEGLEITENDE AKTIVITÄTEN:

Sommer 1993 und 1995: Werkstudent der EC-Erdölchemie GmbH
2000 - 2003: Vertretungsdienste in Apotheken

SCHULAUSBILDUNG:

1982 – 1991: Dreikönigsgymnasium Köln

1978 – 1982: Grundschule

VERÖFFENTLICHUNGEN:

€ Glomme A., März J., Dressman J.B.,

Comparison of a miniaturized shake-flask solubility method with automated potentiometric acid/base titration and calculated solubilities,

J. Pharm. Sci., accepted on June 03, 2004

POSTER:

€ Glomme A., März J., Dressman J.B.,

Comparison of Shake-Flask with pSOL Solubility Measurement,

3rd European graduate student meeting, February 23-25, 2001, Frankfurt am Main

€ Glomme A., März J., Dressman J.B.,

Predicting the intestinal solubility of poorly soluble drugs,

logP2004, February 29- March 04, 2004, Zürich