

Institut für Pharmazie der Universität Regensburg, Germany

## Untersuchungen zur Stabilität von Ätherischödrogen am Beispiel von Salbeiblättern und Fenchel Früchten

B. KIEFL und G. FRANZ

Für die Ätherischödrogen Salbeiblätter und Fenchel Früchte wurden die haltbarkeitsrelevanten Faktoren Temperatur, Schnittgröße und Verpackung variiert und deren Einfluß auf die Stabilität des Drogenmaterials bestimmt. Die Lagerung führte zu Veränderungen des Ätherischölgehaltes und auch der Zusammensetzung des verbleibenden ätherischen Öles. Dabei konnten vor allem flüchtigkeitsbedingte Gehaltsabnahmen festgestellt werden. Darüber hinaus konnten in Einzelfällen Veränderungen nachgewiesen werden, die auf chemische Instabilität von besonders temperatur- und oxidationsempfindlichen Verbindungen zurückzuführen waren.

### Investigation of the stability of sage leaves and fennel fruits

For the essential oil containing herbal drugs sage leaves and bitter fennel fruits, stability parameters during storage such as temperature, particle size, and packing materials were studied in view of the quantity and the quality of the respective essential oils. Furthermore, the influence of defined stress conditions was controlled. It was obvious that depending upon the external parameters the specific volatility of the compounds was an important basis of the herbal drug alterations. In some cases it could be shown that chemical variations occurred in defined labile constituents due to temperature and influence of oxidation. The impact of the results on the stability and utilization in pharmaceutical practice is discussed.

### 1. Einleitung

Die Beurteilung der Qualität von Phytopharmaka und damit im engeren Sinne von Drogen gestaltet sich häufig schwieriger als bei synthetisch-chemischen Arzneimitteln. Die pflanzliche Droge oder eine Zubereitung daraus wird als der wirksame Bestandteil betrachtet [1]. Diese Festlegung wird der Problematik der Variabilität des pflanzlichen Rohmaterials nicht gerecht. Zur Charakterisierung von Drogen mit bekannten Wirkstoffen wird deshalb die Prüfung von Identität und Gehalt der wirksamkeitsbestimmenden Inhaltsstoffe verlangt. Zusätzlich soll die phytochemische Charakterisierung durch semiquantitative Fingerprintanalysen der Begleitstoffe ergänzt werden [2]. Wenn andererseits in der Mehrzahl der Fälle die Wirkung eines Phytopharmakons nicht eindeutig auf einen oder mehrere Inhaltsstoffe zurückzuführen ist, werden zur Standardisierung Leitsubstanzen ausgewählt, die die Droge phytochemisch gut kennzeichnen und deren Gehaltsbestimmung Aussagen über die Drogen- bzw. Extraktqualität ermöglicht. Zusätzlich helfen auch hier chromatographische Fingerprintanalysen, um einen größeren Teil des Inhaltsstoffspektrums zu erfassen.

Nach § 22 des Arzneimittelgesetzes (AMG 76) sind dem Antrag auf Zulassung Unterlagen beizufügen über „die Art der Haltbarmachung, die Dauer der Haltbarkeit, die Art der Aufbewahrung und die Ergebnisse von Haltbarkeitsversuchen“. Stellt das Wirkprinzip eine oder mehrere Gruppen von Substanzen einer Stoffklasse dar (z. B. ätherische Öle, Flavonoide), so ist der Nachweis zu führen, daß der Gehalt dieser Stoffklasse nicht unter 90 Prozent des deklarierten Gehalts bzw. der Mindestanforderung der betreffenden Arzneibuchmonographie fällt. Durch chromatographische Methoden ist die weitgehende Konstanz der Zusammensetzung der Stoffgruppe zu belegen. Bei unbekanntem Wirkprinzip ist die Stabilität der Leitsubstanz und der weiteren Zusammensetzung durch chromatographische Fingerprints von Extrakten verschiedener Polarität darzustellen [3]. Über die Erfassung von echten Wirkstoffen bzw. über das Konstrukt der Leitsubstanzen und jeweils ergänzenden chromatographischen Fingerprintanalysen kann

die Qualität von Drogen bzw. deren Zubereitungen standardisiert werden. Die Qualität des Arzneimittels muß über die gesamte Laufzeit gewährleistet sein, womit den Punkten Stabilität und Haltbarkeit besondere Bedeutung zukommt. Ätherischödrogen besitzen zur Behandlung von Bagatell-erkrankungen im Rahmen der Selbstmedikation in der Apotheke eine große Bedeutung. Die Monographien der Arzneibücher fordern in der Regel einen Mindestgehalt an ätherischem Öl, der zum Zeitpunkt der Abgabe an den Patienten bzw. Verbraucher gewährleistet sein muß. Die Drogen werden vom Großhandel zumeist mit Lieferantenzertifikat bezogen, das über den Gehalt von ätherischem Öl informiert, von dem ausgehend die Haltbarkeit zu definieren ist.

Angaben zur Stabilität von Ätherischödrogen sind in den Monographien der gültigen Arzneibücher (Ph. Eur. 1997, DAB 1997, etc.) nicht zu finden. Die Texte beschränken sich auf den Hinweis „Vor Licht geschützt“ zu lagern. Die Standardzulassungen fordern demgegenüber eine definierte Haltbarkeit in einem vorgeschriebenen Packmittel, für die in vielen Fällen eine ausreichende experimentelle Basis fehlt.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurden für ausgewählte Ätherischödrogen die Parameter Schnittgröße, Lagerbehältnis und Lagertemperatur variiert. Als wesentliche Parameter der Beurteilung der Stabilität wurden der Ätherischölgehalt und die qualitative und quantitative Veränderung der Zusammensetzung des ätherischen Öles im Laufe der Lagerung untersucht. Im folgenden werden verschiedene Aspekte der Stabilität am Beispiel von ausgewähltem Drogenmaterial diskutiert.

### 2. Untersuchungen, Ergebnisse und Diskussion

#### 2.1. Veränderungen des Ätherischölgehaltes

##### 2.1.1. Einfluß der Lagertemperatur auf die Stabilität des Ätherischölgehaltes am Beispiel Salbeiblätter

Zur Untersuchung der Stabilität von Salbeiblättern liegen einige frühere Arbeiten vor, die z. T. sehr unterschiedliche Resultate erzielten [4–8].

Voigt fand eine besondere Stabilität des Ätherischölgehaltes von Salbeiblättern im Vergleich zu anderen Blatt-drogen [4]. Demnach ist bei Temperaturen unter 25 °C erst nach einer Verletzung der exogenen Sekretbehälter mit flüchtigkeitsbedingten Verlusten an ätherischem Öl zu rechnen. Die Lagerung ganzer unverpackter Salbeiblätter unter Streßbedingungen sollte deshalb innerhalb eines kürzeren Zeitraumes die „Dichtigkeit“ der ätherisches Öl enthaltenden Sekretbehälter untersuchen. Zunächst wurden ganze Salbeiblätter bei 80 °C im Trockenschrank über wenige Tage gelagert und die Veränderungen bezüglich des Gehaltes an ätherischem Öl und dessen Zusammensetzung bestimmt. Hierbei sank der Ätherischölgehalt innerhalb von 24 h um ca. 43%. Der Ätherischölverlust setzte sich verlangsamt fort und betrug nach vier Tagen ca. 73% und nach 11 Tagen ca. 81%.

Hierauf aufbauend wurde die Stabilität des Ätherischölgehaltes unter ansonsten identischen Bedingungen bei einer Lagertemperatur von 50 °C untersucht. Abb. 1 zeigt den Verlauf der Gehaltsabnahme unter diesen Bedingungen. Der Ätherischölgehalt nahm dabei innerhalb eines Jahres um mehr als 50% ab.

Die Ergebnisse von Streßtests können über die Kenntnis der Reaktionsordnung und Anwendung der Arrhenius-Beziehung genutzt werden, um Prognosen für die Langzeitstabilität zu gewinnen [9]. Die Möglichkeit der Extrapolation der Reaktionsgeschwindigkeitskonstante über einen untersuchten Temperaturbereich hinaus ist an verschiedene Voraussetzung gebunden. Dies betrifft insbesondere physikalische Veränderungen [10] wie die Verdampfung und Sublimation von Wirkstoffen.

Die Zeitabhängigkeit des Ätherischölgehaltes bei den Streßtemperaturen 50 °C und 80 °C ließ sich in guter Näherung nach einem Zeitgesetz 1. Ordnung beschreiben.

Reaktion 1. Ordnung:  $C(t) = C_0 e^{-kt}$

[C(t): Konzentration des untersuchten Stoffes zum Zeitpunkt]

$$t(0,9 C_0) = \ln 1,11 k^{-1}$$

[Zeitpunkt t: 10% des untersuchten Stoffes bei Kinetik 1. Ordnung abgebaut]

Arrhenius-Beziehung:  $k(T) = A e^{-\left(\frac{E}{RT}\right)}$

Aus den empirisch ermittelten Zeitgesetzen für die Temperaturen 50 °C und 80 °C wurden die beiden Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten  $k$  ermittelt und durch Anwendung des Arrhenius-Plots graphisch die Konstante  $k$  für eine Temperatur von 25 °C ermittelt. Setzt man diese Konstante in die Beziehung für die Ermittlung der Zeit ein, nach der noch 90% des Wirkstoffgehaltes bei einer Reaktion 1. Ordnung erhalten sind, errechnet sich für ganze Salbeiblätter ein Wert von ca. 34 Jahren! Die Untersuchung der Langzeitstabilität sollte die Richtigkeit der Prognose einer Stabilität des Ätherischölgehaltes über viele Jahre überprüfen.

### 2.1.2. Abhängigkeit der Stabilität des Ätherischölgehaltes verschiedener Drogen von Schnittgröße und Verpackungsmaterial

Das Drogenmaterial wurde in drei praxisrelevanten Verpackungen Blechdose, Aromaschutzbeutel und Papierbeutel nach Standardzulassung eingelagert. Die Proben für die Einzeluntersuchungen wurden aus einem Behältnis entnommen, dessen Inhalt vor der Entnahme homogenisiert wurde.

#### 2.1.2.1. Salbeiblätter

Der Ätherischölgehalt *ganzer Salbeiblätter* blieb in drei verschiedenen Verpackungen über eine Lagerzeit von zwei Jahren konstant. Die beobachteten Veränderungen lagen im Bereich der Variationskoeffizienten (3,0% bzw. 4,1%) für die Gehaltsbestimmung. Ein Unterschied zwischen den einzelnen Packmitteln war nicht zu erkennen. Diese Ergebnisse bestätigen die außergewöhnliche Stabilität des Ätherischölgehaltes ganzer Salbeiblätter, wie sie die Ergebnisse der Streßtests und die darauf aufbauende Prognose für die Langzeitstabilität vermuten ließen.

Die Veränderung des Ätherischölgehaltes von *geschnittenen Salbeiblättern* in den drei verschiedenen Packmitteln ist in Abb. 2 wiedergegeben. Es handelt sich um die Ergebnisse von Anbruchttests mit 300 bis 500 g Droge je Behältnis.

Jeder Punkt der Liniendiagramme entspricht einer Öffnung des jeweiligen Behältnisses. Während einer Lagerdauer von ca. 2 Jahren sank der Ätherischölgehalt der geschnit-

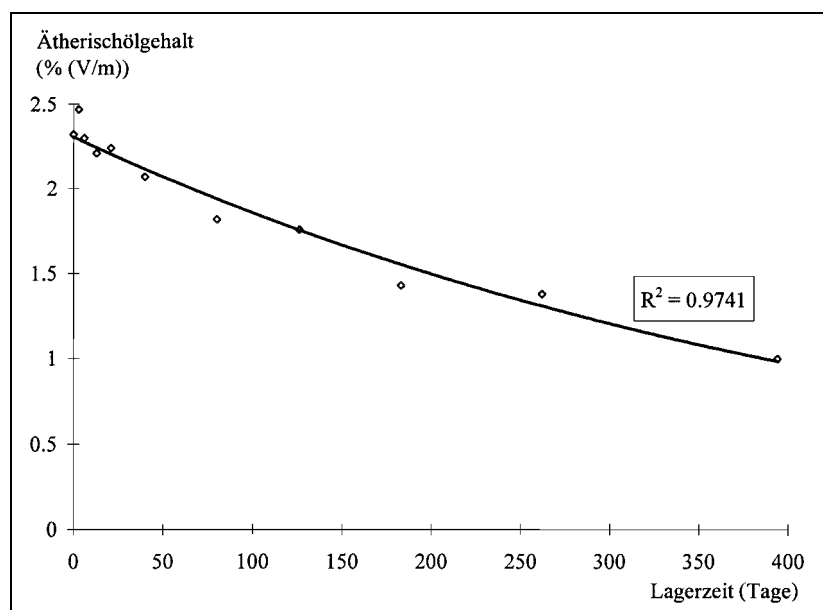


Abb 1: Veränderung des Ätherischölgehaltes von ganzen Salbeiblättern (Lagerung bei 50 °C ohne Verpackung)

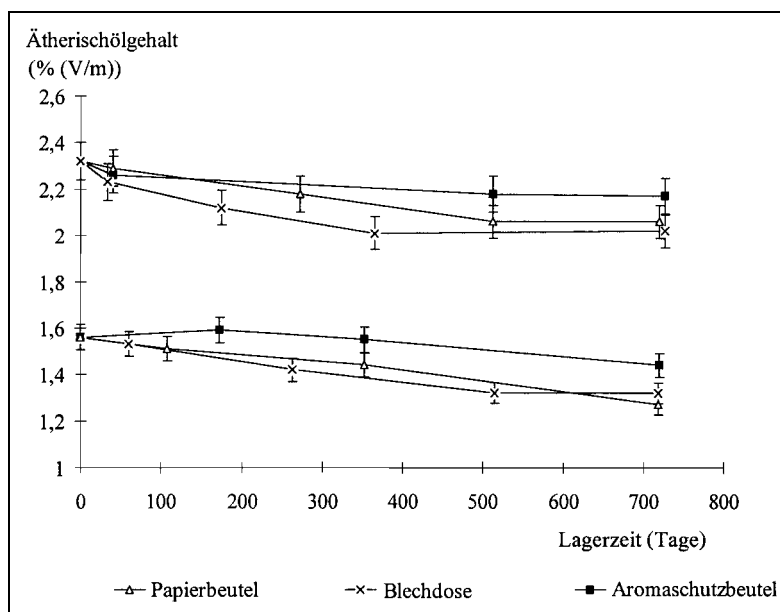


Abb. 2: Stabilität des Ätherischölgehaltes von zwei Chargen geschnittener Salbeiblätter bei einer Lagerung über zwei Jahre in verschiedenen Lagerbehältnissen

tenen Salbeiblätter um maximal 20% des Ausgangswertes. Dabei war ein Vorteil der Verpackung des Drogenmaterials in Aromaschutzbeuteln im Vergleich zu den Papierbeuteln bzw. Blechdosen zu erkennen, obwohl auch erstere nur unvollständig verschlossen waren.

Abb. 3 zeigt den Verlauf des Ätherischölgehaltes von pulverisierter Salbeiblättern in drei verschiedenen Verpackungen. Jeder Meßpunkt entspricht einem Anbruch des jeweiligen Behältnisses. Zur Überprüfung der Wiederholbarkeit und der Ermittlung der Abhängigkeit der Stabilität von der Häufigkeit der Öffnung des Packmittels, wurden die Untersuchungen mit den Papierbeuteln und Aromaschutzbeuteln zweifach ausgeführt.

Die Beutel enthielten je 250 g, die Weißblechdosen 500 g Drogenmaterial. Der Vorteil einer Aromaschutzverpackung wurde deutlich. Die Verluste an ätherischem Öl in den Papierbeuteln nach Standardzulassung entsprachen in etwa denen der Weißblechdosen. Hierbei muß berücksichtigt werden, daß die Blechdosen entsprechend ihrer Größe die doppelte Menge Drogenmaterial enthielten.

Für pulverisierte Salbeiblätter in apothekenüblicher Verpackung wurden jährliche Verlustraten an ätherischem Öl

bestimmt, die im ersten Jahr 30 bis 50% und im zweiten Jahr 10 bis 20% des Ausgangsgehaltes betragen.

Ein Vorteil der Aromaschutzverpackung gegenüber Blechdose und Papierbeutel wurde deutlich, obwohl auch hier das Behältnis nur unvollständig durch „Kniffen“ verschlossen wurde. Dies kann zum einen über eine stärkere Durchlässigkeit des Packmaterials Papier erklärt werden. Weißblech ist aber sicher nicht durchlässig für ätherisches Öl. Der Nachteil von Blechdosen liegt in dem nicht ausgefüllten Raum über dem Drogenmaterial, der der Füllmenge nicht angepaßt werden kann. Das Verbundmaterial der Aromaschutzverpackungen wies im Vergleich zu Papier eine größere Steifigkeit auf, die einen dichteren Verschluß durch Falten ermöglichte.

In der Praxis werden Salbeiblätter vor allem in geschnittener Form gehandelt. Die Abnahme des Gehaltes an ätherischem Öl unter Einsatz praxisüblicher Mengen Drogenmaterial unter Anbruchbedingungen ist abhängig von der Wahl des Packmittels und sollte als prozentualer Verlust pro Jahr angegeben werden. Hierbei sollte der Erntezeitpunkt berücksichtigt werden, denn die Abnahme des Ätherischölgehaltes verlief nach dem Schneiden am

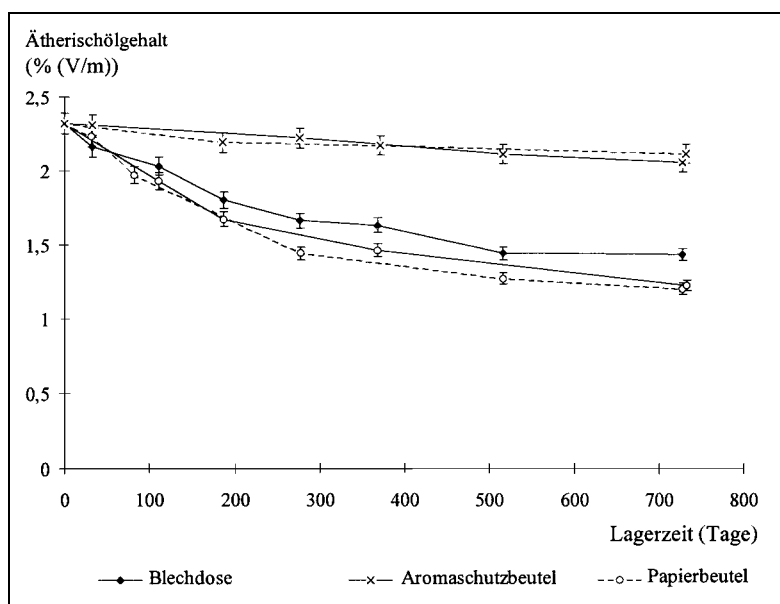


Abb. 3: Stabilität des Ätherischölgehaltes von pulverisierten Salbeiblättern (Ch. B. 4101195) in drei verschiedenen Lagerbehältnissen

schnellsten. Dies wird zum einen durch eine Verletzung eines Anteils der Sekretbehälter verursacht. Zum anderen sinkt mit zunehmender Lagerdauer der Anteil leichter flüchtiger Komponenten und somit auch die Menge an ätherischem Öl, die pro Zeiteinheit verloren geht.

Für geschnittene Salbeiblätter wurde ein jährlicher Verlust an ätherischen Öl von 10 bis 20% in den verschiedenen apothekenüblichen Packmitteln festgestellt. Eigene Untersuchungen zur Qualität von geschnittenen Salbeiblättern in Apotheken ergaben, daß drei von 9 Proben knapp den geforderten Ätherischölgehalt unterschritten. Nach Informationen des Landesuntersuchungsamtes für das Gesundheitswesen Südbayern wiesen alle 1996 geprüften Muster von Salbeiblättern (Stichprobenzahl 22) aus Apotheken den geforderten Gehalt auf [11]. Diese Zahlen lassen vermuten, daß die Lagerung von geschnittenen Salbeiblättern in der Praxis wenig problematisch ist.

#### 2.1.2.2. Bittere Fenchel Früchte

Die Standardzulassungen geben für Fenchel Früchte in der vorgesehenen Verpackung (Papierbeutel) eine Haltbarkeit von einem Jahr an. Das AB-DDR 87 nennt für ganze Fenchel Früchte eine Verwendbarkeitsdauer, die gegenüber dem AB-DDR 85 von 18 Monaten auf drei Jahre angehoben wurde [12].

Die bisher dokumentierte Stabilitätsprüfung dieser Droge läßt eine eingehende Untersuchung der lagerungsbedingten Veränderung des ätherischen Öles vermissen [6, 13–16].

Die in den Standardzulassungen genannte Haltbarkeit von einem Jahr erscheint auf Grund der literaturbekannten Daten für eine durchschnittliche Qualität von ganzen Fenchel Früchten sehr knapp bemessen.

Ein wesentlicher Punkt, der eine einheitliche Bewertung der Haltbarkeit von Fenchel Früchten erschwert, ist die große Variabilität der Stabilität verschiedener Fenchel-Chargen [15].

Für die Lagerung verschiedener *Fenchel-Ganzdrogenchargen* wurden die folgenden Ergebnisse erzielt:

- Der Ätherischölgehalt einer Charge, deren Ernte zu Beginn der Untersuchungen ca. 5 Jahre zurück lag, nahm im Mittel der drei apothekenüblichen Behältnisse über zwei Jahre um ca. 23% ab. Diese Fenchel Früchte besaßen den höchsten Ätherischölgehalt von drei untersuchten Chargen (72 ml/kg am Anfang der Stabilitätsuntersuchungen).
- Der Ätherischölgehalt einer Charge mit einem Ausgangsgehalt von 53 ml/kg und einem zwei Jahre zurückliegenden Erntezeitpunkt, sank innerhalb 2 Jahren in den drei Lagerbehältnissen im Mittel um ca. 5,6% (relativ).
- Der Ätherischölgehalt einer Charge, die ca. ein Jahr vor Beginn der Stabilitätsuntersuchungen geerntet wurde, stieg in dem untersuchten Behältnis (Papierbeutel) während eines Jahres um ca. 10% (relativ).
- Zwischen den drei verwendeten Behältnissen konnte kein Unterschied bezüglich der Lagerstabilität für ganze Fenchel Früchte festgestellt werden.
- Der Ätherischölgehalt von ganzen Fenchel Früchten, die dicht verschlossen in Schliffglasflaschen bei  $-10^{\circ}\text{C}$  bzw.  $26^{\circ}\text{C}$  über 14 Monate aufbewahrt wurden unterschied sich nicht signifikant von dem der Erstuntersuchung.

Für ganze Fenchel Früchte muß bei einer Lagertemperatur von  $25^{\circ}\text{C}$  von einem Verlust von ca. 15% des ätherischen Öles pro Jahr ausgegangen werden. Fehr [15] konnte keinen Zusammenhang zwischen dem Ätherischölverlust und der Lagerdauer von ganzen Fenchel Früchten feststellen.

Wir konnten diese Ergebnisse für vier untersuchte Chargen bestätigen. Es muß in der Praxis von einer großen Variabilität des Drogenmaterials ausgegangen werden, in deren Rahmen auch eine Zunahme des Ätherischölgehaltes beobachtet werden kann [16]. Dies könnte auf eine bessere Freisetzung während der Gehaltsbestimmung zurückzuführen sein.

Unsere Untersuchungen legen die Schlußfolgerung nahe, daß ein Zusammenhang zwischen dem Alter einer Fenchel-Droge und der zu erwartenden Stabilität besteht. Möglicherweise zerfallen die Strukturen der Sekretbehälter mit zunehmender Lagerdauer der Droge. Der Faktor Lagertemperatur besitzt für ganze Fenchel Früchte eine größere Bedeutung im Hinblick auf die Lagerstabilität als das verwendete Packmaterial [17].

Aus zwei Chargen von ganzen Fenchel Früchten wurde mit einer Schneidmühle ein *fein geschnittenes Produkt* hergestellt und in drei Behältnissen auf die Lagerstabilität untersucht. Dabei wurden im Anbruchtest exemplarisch für eine Charge die Ergebnisse in Abb. 4 erzielt.

Für die untersuchten Chargen war ein Vorteil der Aromaschutzverpackung gegenüber den beiden anderen apothekenüblichen Verpackungen zu erkennen, der sich jedoch für zwei untersuchte Muster deutlich unterschied.

Die Verluste in den Behältnissen Papierbeutel und Blechdose waren für zwei Chargen prozentual sehr ähnlich. Nach einem Jahr nahm der Ätherischölgehalt um 30 bis 35% ab, nach zwei Jahren lag er um 40 bis 50% niedriger als zu Beginn der Untersuchungen. Ein qualitativer Unterschied zwischen diesen beiden Anbruchverhältnissen war nicht zu erkennen.

Wichtig erscheint es darauf hinzuweisen, daß der Ätherischölgehalt einer Charge von geschnittenen Fenchel Früchten in allen drei Behältnissen auch nach zwei Jahren Lagerung unter ungünstigen Bedingungen über dem nach Ph. Eur. 1997 geforderten Mindestgehalt lag.

Der Anbruchtest von geschnittenen Fenchel Früchten in einer für den durchschnittlichen Apothekenbetrieb angemessenen Menge in den drei praxisrelevanten Behältnissen zeigte, daß eine Lagerung bzw. ein Vorrätighalten möglich und sinnvoll sein kann, wenn die Qualität des abgefüllten Produktes gewährleistet ist. In der Praxis der industriellen Abfüllung von geschnittenen Drogen mit ätherischem Öl besteht das Problem von nicht tolerierbaren Ätherischölverlusten während des Schneidens, so daß nur Chargen mit einem hohen Ätherischölgehalt auch nach dem Zerkleinern noch eine monographiekonforme Qualität besitzen. Im 2. AB-DDR ist die Vorschrift enthalten, daß Fenchel Früchte in pulverisierter Form über maximal 24 Stunden gelagert werden dürfen. Diese restriktive Forderung ist nach den Ergebnissen unserer Untersuchungen nur für sehr kleine Drogenmengen von wenigen Gramm berechtigt.

#### 2.1.3. Industriell verpackte Teebeutel

##### 2.1.3.1. Salbeiblätter

Ergänzend zu dem apothekenüblich verpackten Drogenmaterial wurden verschiedene Chargen von industriell in Teebeuteln abgepackten Salbeiblättern in die Stabilitätsuntersuchungen einbezogen. Die Behaarung der Blätter führt zu Problemen bei der Verarbeitung der Droge. Die Blattfragmente der geschnittenen Droge neigen dazu aneinander zu haften, was die maschinelle Abfüllung geschnittener Droge erschwert [18]. Das Drogenmaterial wird deshalb für eine Abfüllung in Teebeutel granuliert. Dies wiederum kann zu einer massiven Zerstörung der Exkretbehälter und

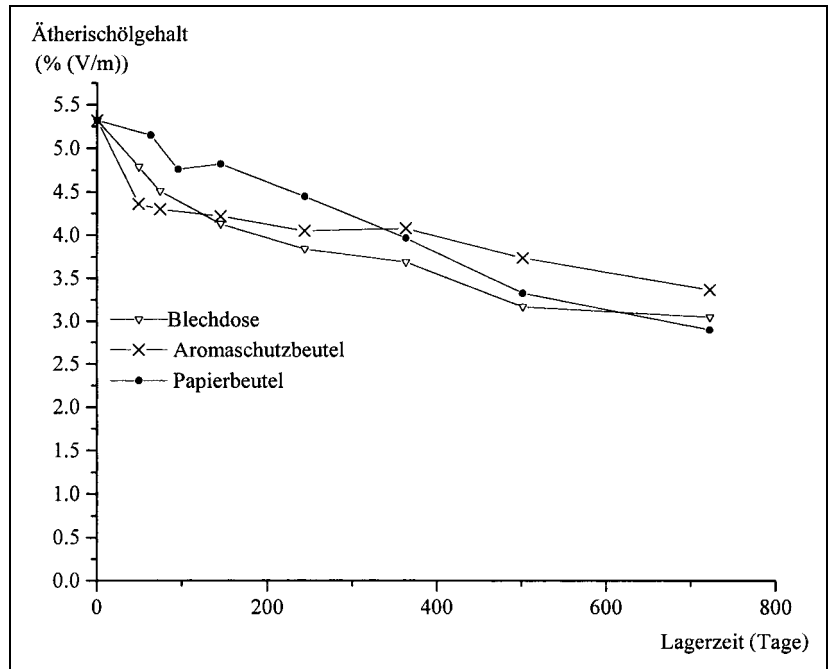


Abb. 4: Stabilität des Ätherischölgehaltes von geschnittenen Fenchelfrüchten (Ch. B. 4101503) in drei verschiedenen apothekenüblichen Behältnissen

damit einer Beeinflussung der Stabilität des Gehaltes an ätherischem Öl führen. Die Teebeutel waren zum einen in Papierbriefchen und zum Vergleich in Siegelrandbeuteln aus PVDC verpackt.

Abb. 5 zeigt den Vergleich der beiden für die Teebeutel eingesetzten Packmittel für verschiedene Chargen von granuliertem Salbeiblätterfeinschnitt.

Die geringen Einzeldrogenmengen (pro Teebeutel ca. 1 g) unterlagen hier im Vergleich zum pulverisierten und apothekenüblich gelagerten Drogenmaterial wesentlich rascheren Veränderungen. Die Muster derselben Drogencharge in den beiden Packmitteln unterschieden sich schon zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung sowohl qualitativ als auch quantitativ. Schon der kurze Zeitraum von wenigen Tagen bis Wochen für die Prozesse „Schneiden“, „Zwischenlagerung und Transport zum Verpacker“ und „Verpackung“ bis zur Erstuntersuchung führte zu merklichen Veränderungen. Der Gehalt des in Papierbriefchen verpackten Musters lag so schon zum Zeitpunkt 0 um 30 bis 40% niedriger als der Vergleichswert der in PVDC versiegelten Droge.

Der Gehalt an ätherischem Öl nahm bei Charge 6930012 während der ersten drei Monate Lagerzeit um 78% (Papierbriefchen) bzw. 41% (PVDC-Siegelrandbeutel) ab.

Der Ätherischölgehalt des Drogenmaterials sank unter den Bedingungen der Langzeituntersuchungen in beiden Verpackungen für die Teebeutel innerhalb weniger Wochen bis Monate unter die Mindestanforderung des DAB 1997 für Salbeiblätter. Er erreichte nach annähernd exponentiellem Abfall ein niedriges Niveau, das über einen langen Zeitraum konstant blieb.

Diese Untersuchungen zur Stabilität von granuliertem Salbeiblätter-Feinschnitt in Teebeuteln lieferten unter den Bedingungen der Langzeituntersuchung theoretische Laufzeiten von wenigen Wochen bis Monaten auch für Drogenmaterial im PVDC-Siegelrandbeutel. Frühere Untersuchungen ermittelten bei niedrigerer Lagertemperatur (ca. 20 °C) besonders für die aromaschutzverpackten Teebeutel wesentlich längere Haltbarkeitsfristen [6]. Dies belegt die Bedeutung der Temperatur für die Stabilität des Ätherischölgehaltes. Als Beleg für die Richtigkeit der guten Haltbarkeit von aromaschutzver-

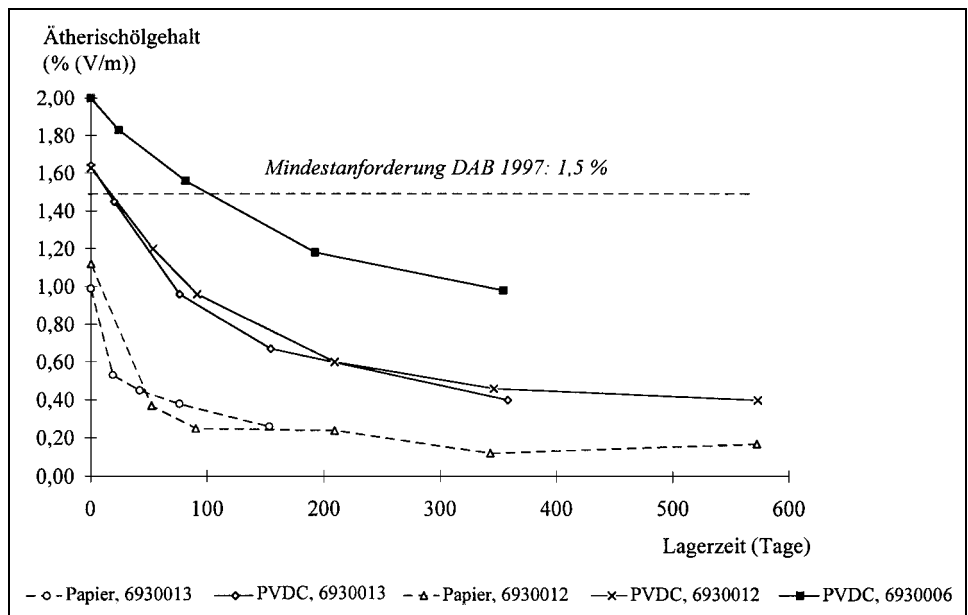


Abb. 5: Stabilität des Ätherischölgehaltes verschiedener Chargen von industriell in Teebeuteln abgepacktem Granulat von Salbeiblätter-Feinschnitt

packten Salbei-Teebeuteln sei angeführt, daß nach eigenen Untersuchungen kein entsprechendes Muster aus Apotheken den geforderten Mindestgehalt unterschritt (Stichprobenzahl 6).

### 2.1.3.2. Bittere Fenchelfrüchte

Verschiedene Chargen von industriell in Teebeuteln (Papierbriefchen bzw. PVDC-Verbundmaterial) abgepacktem Fenchel-Feinschnitt wurden die Stabilitätsuntersuchungen einbezogen. Zusätzlich wurde der Einfluß einer PE-Folie um die Faltschachtel der in Papierbriefchen verpackten Teebeutel untersucht (Abb. 6).

Die angeführten Punkte zur Qualität und Stabilität von Salbeiblättern in fein geschnittener und granulierter Form in Teebeutel gelten in übertragener Form auch für bittere Fenchelfrüchte. Der Ätherischölgehalt einer definierten Charge lag für das in Papier verpackte Material gegenüber dem in PVDC-Verbundmaterial schon zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung wesentlich niedriger. Die aromageschützte Versiegelung des Drogenmaterials steigerte die Stabilität des Ätherischölgehaltes gegenüber einer Verpackung der Teebeutel in Papierbriefchen deutlich. Unter den gewählten Bedingungen sank der Ätherischölgehalt des in PVDC-Verbundmaterial verpackten Fenchel-Feinschnittes innerhalb eines Jahres um 25 bis 43%. Dem stand die massive Abnahme des Gehaltes der papierumhüllten Teebeutel innerhalb weniger Wochen gegenüber. Eine PE-Folie um die Faltschachtel konnte dieses rasche Absinken merklich verzögern.

Diese Ergebnisse belegen, daß nur für aromageschützt verpackte Droge mit einem deutlich über dem geforderten Mindestwert liegenden Ätherischölgehalt eine akzeptable Haltbarkeit zu erwarten ist. Frühere Untersuchungen zur Stabilität von Fenchel-Feinschnitt in Teebeuteln bei einer durchschnittlichen Lagertemperatur von ca. 20 °C dokumentieren einen Ätherischölverlust für aromageschützt verpacktes Material von 40 bis 50% während einer Lagerzeit von drei Jahren [6]. Bei konstant 25 °C wurde der gleiche Ätherischölverlust bereits nach 18 Monaten erreicht. Eigene Untersuchungen von entsprechenden Mustern aus öffentlichen Apotheken zeigten, daß die Qualität von Fenchel-Feinschnitt in Teebeuteln in der Praxis über eine längere Lagerzeit gewährleistet werden kann. Von 5

Proben wiesen alle den nach Ph. Eur. 1997 geforderten Mindestgehalt an ätherischem Öl auf.

### 2.2. Veränderung der Zusammensetzung von ätherischem Öl während der Drogenlagerung

Die Zusammensetzung des ätherischen Öles zu den verschiedenen Lagerzeitpunkten wurde nach der Methode der Normierung und über die Zugabe eines internen Standards quantifiziert. Abb. 7 und Abb. 8 zeigen die absolute Quantifizierung der Hauptbestandteile und der mengenmäßig weniger bedeutenden Bestandteile des ätherischen Salbeiöles. Für die einzelnen Hauptkomponenten ist in Abb. 7 jeweils eine exponentielle Trendlinie mit dem zugehörigen Bestimmtheitsmaß eingefügt. Unter den beiden Thujon-Isomeren war  $\alpha$ -Thujon besonders temperaturfreundlich und wies die höchste Abbauraten aller Hauptbestandteile auf. Der absolute Gehalt von  $\beta$ -Thujon erwies sich im Vergleich dazu als stabiler. Die Abnahme der weiteren Hauptkomponenten Cineol und Campher verlief weitgehend parallel und betrug etwa 25% über die gesamte Lagerzeit von 394 Tagen.

Unter den mengenmäßig weniger bedeutenden Komponenten (Abb. 8) erwiesen sich besonders  $\alpha$ -Humulen und  $\beta$ -Caryophyllen als instabil. Bereits während einer Lagerzeit von ca. 2 Monaten sank ihr Gehalt auf ca. 30% des Ausgangswertes. Der Gehalt von Limonen nahm flüchtigkeitsbedingt im selben Maße ab. Der Gehalt von Borneol sank weniger stark (ca. 50% des Ausgangsgehaltes nach einem Jahr), der von Bornylacetat nahm während der gesamten Lagerzeit um ca. 25% ab.

#### 2.2.1. Ganze Salbeiblätter

Die Absolutgehalte von  $\beta$ -Caryophyllen und  $\alpha$ -Humulen sanken innerhalb der Lagerzeit auf ca. 50% des Ausgangswertes. Ansonsten waren über den gesamten Zeitraum der Lagerung keine beachtenswerten Veränderungen der gaschromatographisch bestimmbar Zusammensetzung des ätherischen Öles festzustellen.

#### 2.2.2. Geschnittene und pulverisierte Salbeiblätter

Die im Vergleich zur Ganzdroge größeren Verluste an ätherischem Öl führten zu deutlichen Veränderungen der pro-

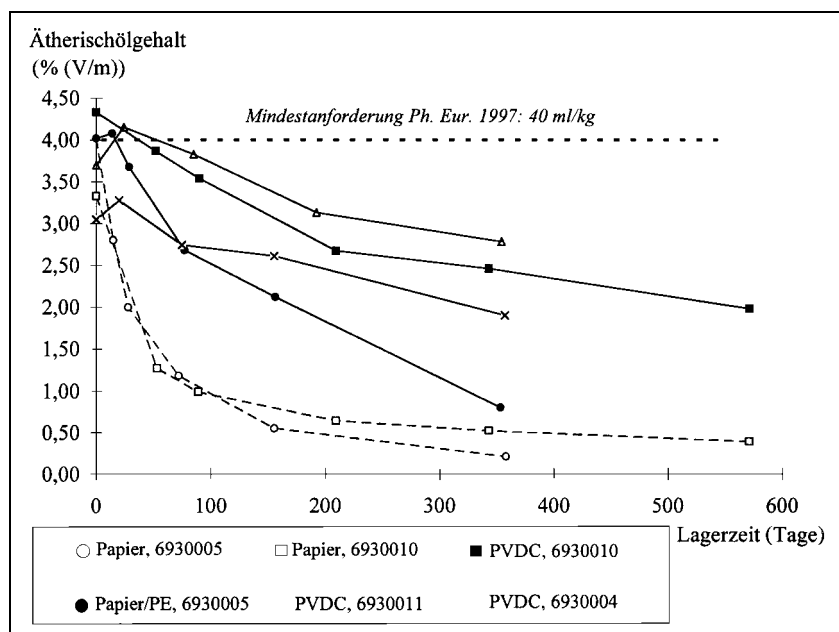


Abb. 6: Stabilität des Ätherischölgehaltes von verschiedenen Chargen Fenchel-Feinschnitt in unterschiedlichen Teebeutel-Verpackungen

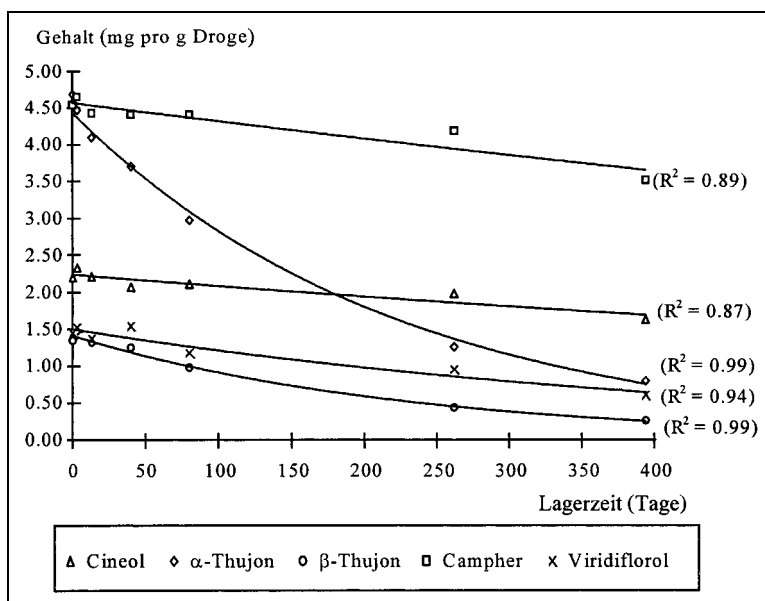


Abb. 7: Veränderung der Hauptbestandteile des ätherischen Öles von Salbeiblättern unter Streßbedingungen (50 °C über 400 Tage)

zentualen Zusammensetzung des ätherischen Öles. Abb. 9 zeigt die Zeitabhängigkeit des Absolutgehaltes der Hauptkomponenten des ätherischen Öles, das aus pulverisierten Papierbeutel- gelagerten Salbeiblättern gewonnen wurde. Die zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung bedeutendste Komponente  $\alpha$ -Thujon wurde im Vergleich zu den weiteren Hauptkomponenten stärker abgebaut (ca. 70%). Der Gehalt des isomeren  $\beta$ -Thujon sank im Vergleich dazu um ca. 54%. Viridiflorol, dessen Gehalt annähernd konstant blieb, wurde mit zunehmender Lagerzeit zu einem dominierenden Bestandteil des ätherischen Salbeiöles.

Die Quantifizierung der ätherischen Öle der in Teebeuteln verpackten Muster zeigte, daß die Sesquiterpenkohlenwasserstoffe  $\beta$ -Caryophyllen und  $\alpha$ -Humulen z. T. zu Caryophyllenoxid und Humulenepoxid II abgebaut wurden (Abb. 10).

Fehr [7] kommt bei der Auswertung der gaschromatographischen Analysen verschiedener Chargen von Salbeiblättern über die Methode der Normierung ebenso zu dem Ergebnis der stärkeren Instabilität von  $\alpha$ -Thujon,  $\alpha$ -Humulen und  $\beta$ -Caryophyllen. Er beobachtete zudem eine Zunahme von  $\beta$ -Thujon, die er über eine teilweise Isomerisierung zwischen den beiden Thujon-Isomeren erklärt.

Dieser Anstieg ist nur relativ. Der Gehalt von  $\beta$ -Thujon nimmt weniger stark ab als der von  $\alpha$ -Thujon, was über eine größere chemische Stabilität oder über die teilweise Neubildung durch Isomerisierung aus  $\alpha$ -Thujon erklärt werden könnte.

Die Zusammensetzung des ätherischen Öles von Salbei- blättern in Teebeuteln glich zum Zeitpunkt der Erstunter- suchung dem einer geschnitten gelagerten Droge. Der Nachweis leichter flüchtiger Spurenkomponenten kann somit wichtige Hinweise über die Qualität der Drogenher- stellung und das Alter einer Pulver- oder Schnittdroge lie- fern.

### 2.2.3. Geschnittene Fenchelfrüchte

Die Lagerung von geschnittenen Fenchelfrüchten führte zu deutlichen Veränderungen der Zusammensetzung des äthe- rischen Öles. Dabei veränderte sich das für bittere Fen- chelfrüchte nach Ph. Eur. 1997 geforderte Verhältnis der Komponenten. Die zwei Hauptkomponenten *t*-Anethol und Fenchon bildeten am Beginn der Untersuchungen zu- sammen fast 90% des ätherischen Öles. Der Rest setzte sich aus Spurenkomponenten zusammen. Mit zunehmender La-

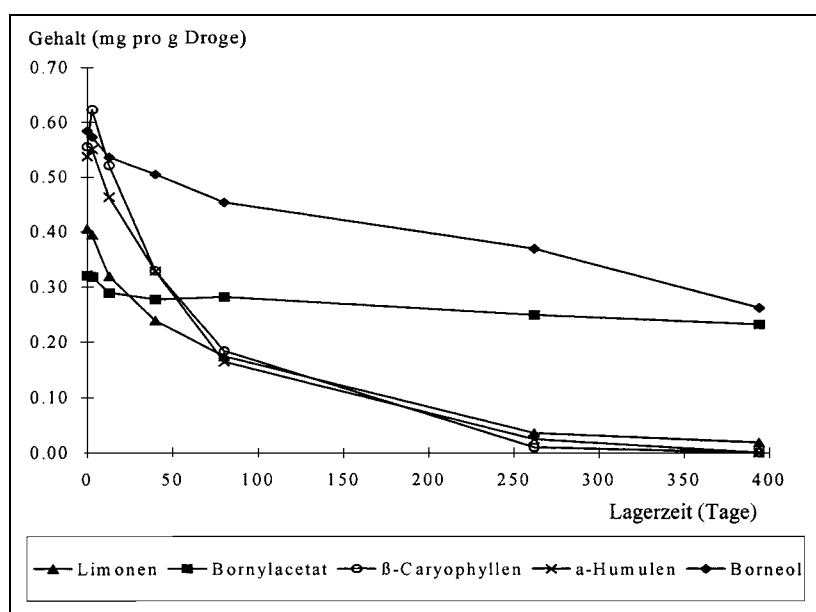


Abb. 8: Stabilität einiger Nebenkomponenten des ätherischen Salbeiöles unter Streßbedingungen (ganze Salbeiblätter, 50 °C, unverpackt)

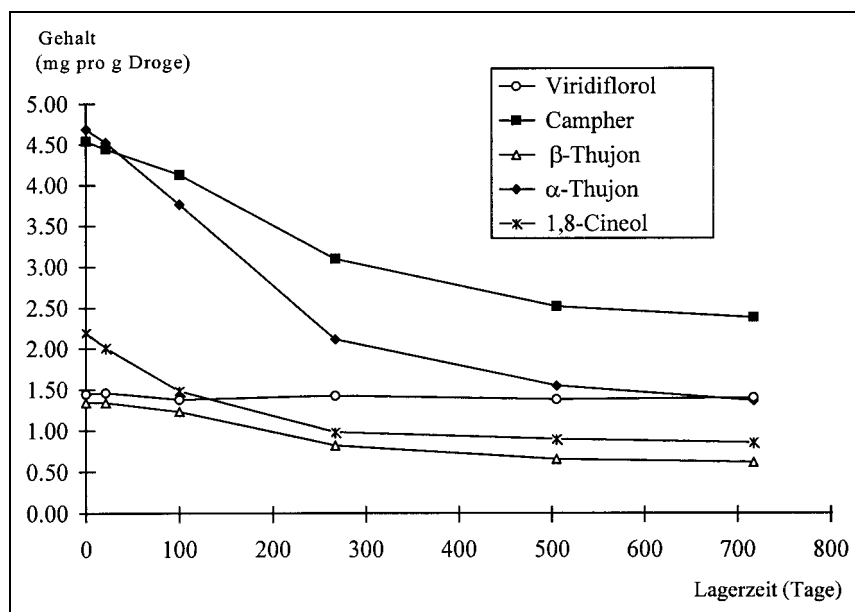


Abb. 9: Veränderung des Gehaltes der Hauptkomponenten von pulverisierten Salbeiblättern in Abhängigkeit von der Lagerzeit (Papierbeutel)

gerdauer kam es zu einer verschieden stark ausgeprägten Verarmung des ätherischen Öles an leichter flüchtigen Nebenkomponenten (Abb. 11).  $\alpha$ -Pinen und Limonen gingen im Gegensatz zu Estragol auf Grund höherer Flüchtigkeit innerhalb weniger Monate fast vollständig verloren. Der Gehalt an Anisaldehyd blieb über die gesamte Lagerdauer fast unverändert.

Das Verhältnis der drei Hauptkomponenten Estragol, Fenchon und t-Anethol verschiebt sich mit zunehmender Lagerdauer zu einer wachsenden Dominanz des am wenigsten flüchtigen t-Anethol. Aus Abb. 12 kann die Abhängigkeit der prozentualen Veränderungen dieser drei Bestandteile von der Lagerzeit entnommen werden. Für die einzelnen Datenreihen ist eine lineare Regression und der zugehörige Korrelationskoeffizient wiedergegeben. Eine zweijährige Lagerung führte zu einem Verlust von fast 90% Fenchon, fast 50% Estragol und nur ca. 25% t-Anethol.

Die Zusammensetzung des ätherischen Öles von ganzen Fenchelrüchten blieb über mehrere Jahre konstant. Dies läßt den Schluß zu, daß nicht mit Veränderungen der Zu-

sammensetzung des ätherischen Öles gerechnet werden muß, die über die chemische Reaktivität einzelner Stoffe verursacht werden. Die oben dargestellten Verschiebungen in der prozentualen Komposition sind somit vor allem auf eine unterschiedliche Flüchtigkeit der Bestandteile zurückzuführen. Abb. 13 zeigt die Korrelation zwischen der prozentualen Veränderung des Absolutgehaltes und der Siedepunkte der wesentlichen Komponenten des ätherischen Öles bei einer Lagerung von geschnittenen Fenchelrüchten über 18 Monate (Blechdose, Quantifizierung von Hexan-Extrakten). Der Zusammenhang zwischen Siedepunkt und dem Verlust in Folge unterschiedlicher Flüchtigkeit ist in guter Näherung gegeben. Dabei muß berücksichtigt werden, daß der Dampfdruck für die einzelnen Komponenten des ätherischen Öles nicht in gleicher Weise von der Temperatur abhängt. Der Siedepunkt kann nur als grober Anhaltspunkt dienen, wie am Beispiel des Camphens in Abb. 13 verdeutlicht. Für nicht verletzte Sekretbehälter müßte zudem eine unterschiedliche Permeabilität der Zellwände und Cuticularmembranen berücksichtigt werden. Dieser Effekt wird schließlich von Unterschieden in

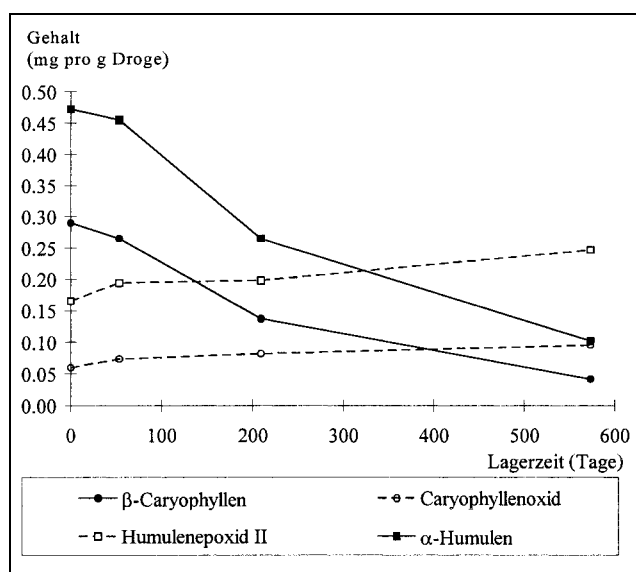


Abb. 10: Bildung von Abbauprodukten des  $\beta$ -Caryophyllens und  $\alpha$ -Humulens während der Lagerung von Salbeiblätterfeinschnitt (Tebeutel, Aromaschutz)

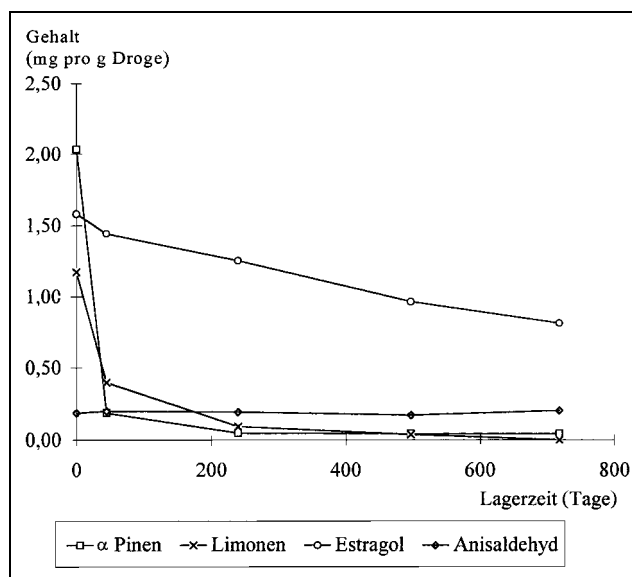


Abb. 11: Kinetik der absoluten Veränderungen von vier bedeutenden Nebenkomponenten des ätherischen Öles während der Lagerung von geschnittenen Fenchelrüchten (Blechdose, Ch. B. 4101503)



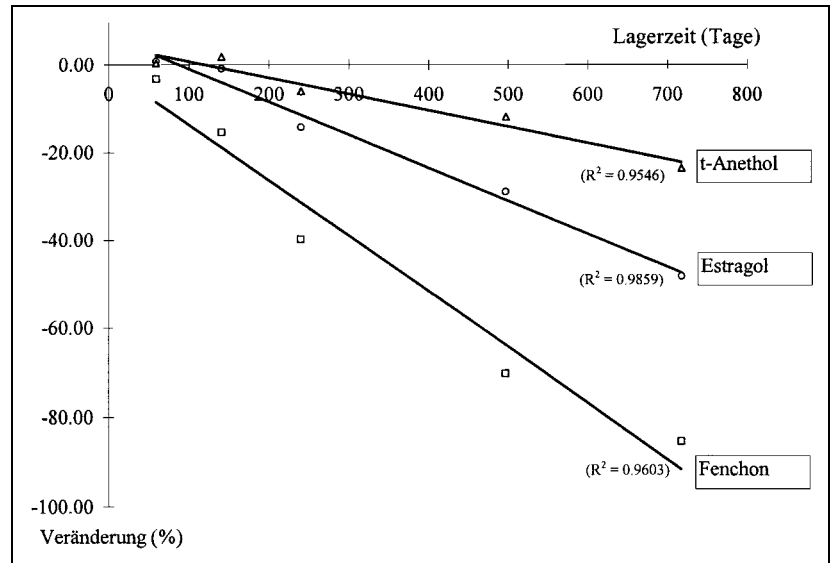


Abb. 12: Prozentuale Veränderung der drei wesentlichen Bestandteile des ätherischen Öles von geschnittenen Fenchelfrüchten in Abhängigkeit von der Lagerdauer (Papierbeutel)

der Durchlässigkeit des Packmaterials für die verschiedenen Ätherischöl-Bestandteile überlagert. Die Lagerung von geschnittenen Fenchelfrüchten in Teebeuteln ergab innerhalb wesentlich kürzerer Zeit qualitative Veränderungen des ätherischen Öles. Schon zu Beginn der Stabilitätsuntersuchungen erfüllte weder der Inhalt der Teebeutel in Papierbriefchen noch der PVDC-Siegelrand-

beutel die Anforderungen an die drogenspezifische Zusammensetzung des ätherischen Öles. Die prozentuale Zusammensetzung entsprach bereits zum Zeitpunkt 0 der Stabilitätsuntersuchungen dem ätherischen Öl einer gelagerten Schnittdroge. Abb. 14 stellt die Zusammensetzung der ätherischen Öle verschiedener Chargen am Beginn der Untersuchungen gegenüber.

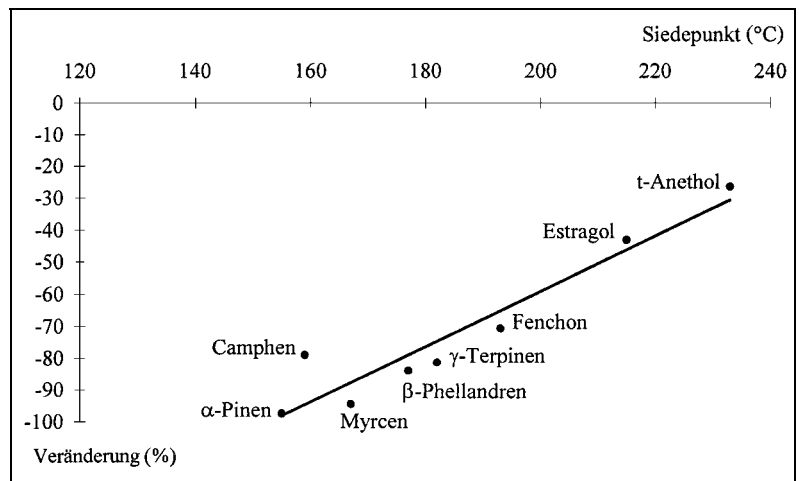


Abb. 13: Prozentuale Veränderung des Absolutgehaltes einiger Hauptkomponenten des extrahierten ätherischen Fenchelöles in Abhängigkeit vom Siedepunkt nach einer Blechdosenslagerung von geschnittener Droge über 540 Tage

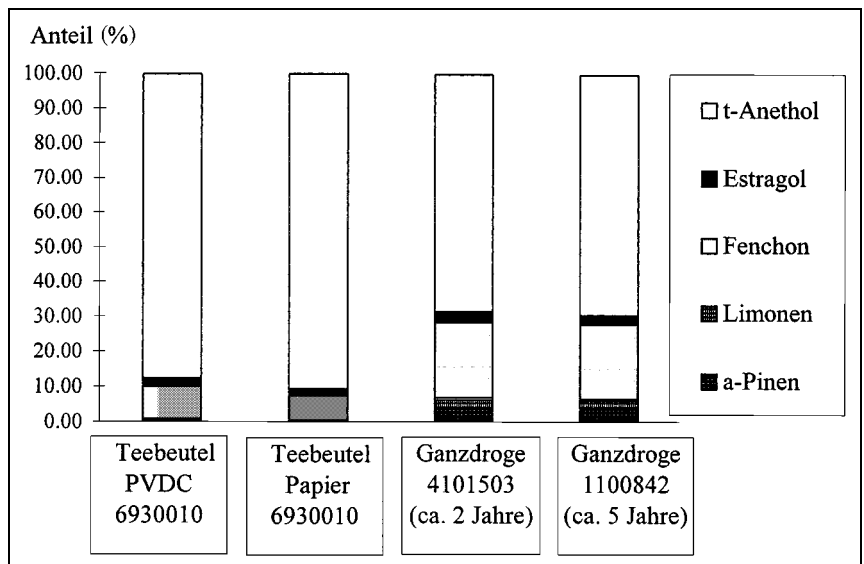


Abb. 14: Relative Zusammensetzung des ätherischen Öles aus Fenchel-Teebeuteln einer Charge (Ch. B.6930010) im Vergleich zu monographiekonformer (PhEur 1997) Ganzdroge unterschiedlichen Alters (Ch. B. 4101503 bzw. 1100842)

Die Zusammensetzung des ätherischen Öles, insbesondere die Anwesenheit leichter flüchtiger Spurenkomponenten, läßt Rückschlüsse auf die Qualität einer Fenchel-Schnittdroge und auf ihr Alter zu bzw. darauf, in welchem Umfang diese Bestandteile während des Zerkleinerns verloren gegangen sind.

### 3. Experimenteller Teil

#### 3.1. Verpackungsmaterial

Weißblechdosen verschiedener Größe, weiß lackiert, Fa. Wepa, Amberg; Geklebte Blockbodenbeutel aus einseitig glattem, gebleichtem Natronkraftpapier 50 g/m<sup>2</sup>, gesättigte mit gebleichtem Pergamyn 40 g/m<sup>2</sup>, div. Größen, Fa. Wepa, Amberg; Aromaschutzbeutel aus gebleichtem Kraftpapier 70 g/m<sup>2</sup>, kaschiert gegen Aluminiumfolie 9–10 µm, leimkaschiert gegen Polyethylen 50 µm, div. Größen, Fa. Schröder & Wagner, Rinteln. Die eingesetzten Beutel wurden apothekenüblich durch mehrfaches „Kniffen“ verschlossen.

Verpackungsmaterialien für die industriell hergestellten Teebeutel: Teefilterbeutel in Papierbriefchen, verpackt in einer Faltschachtel; Teefilterbeutel in Papierbriefchen, verpackt in einer Faltschachtel, umhüllt mit einer Polyethylenfolie ca. 25 µm; Teefilterbeutel, verpackt in Siegelrandbeutel aus einseitig gestrichenem Kraftpapier 60 g/m<sup>2</sup> verbunden mit PVDC 40 g/m<sup>2</sup>, Fa. PKL Verpackungssysteme, Linnich, verpackt in einer Faltschachtel.

#### 3.2. Lagerbedingungen

Die Untersuchungen der Langzeitstabilität wurden gemäß den Toleranzen der ICH-Guideline von 25 ± 2 °C für die Klimazone II durchgeführt [19]. Die relative Luftfeuchtigkeit wurde entsprechend den Möglichkeiten und Kapazitäten der zur Verfügung stehenden Lagerräume auf 60 ± 10% bzw. 25 ± 10% eingestellt. Die ICH-Guideline gibt für die Klimazone II eine relative Luftfeuchtigkeit von 60 ± 5% vor.

#### 3.3. Hexan-Extrakte

Das Drogenmaterial (1 g bis 5 g – entsprechend dem Ätherischölgehalt und der Ätherischölszusammensetzung) wurde ohne Vorzerkleinerung mit 40 ml n-Hexan versetzt und unter Eiskühlung einer Wirbelextraktion bei ca. 20000 U/min unterzogen (Ultra-Turrax T 25, IKA-Werke, Staufen). Die Extraktionsdauer richtete sich dabei nach der Lokalisation des ätherischen Öles im Pflanzenmaterial. Für Blattdrogen und Früchte war eine Extraktionszeit von 10 min ausreichend. Bei Wurzel drogen wurde 20 min extrahiert. Nach Beendigung der Extraktion wurde der interne Standard (Fenchon bzw. Menthol) gelöst in n-Hexan zugegeben.

#### 3.4. Bestimmung des Ätherischölgehaltes

Als Grundlage der Bestimmung des Ätherischölgehaltes wurde die jeweilige Methode der zugehörigen Drogenmonographie basierend auf V.4.5.8 der Ph. Eur. 1997 gewählt.

#### 3.5. Methode der GC

Gaschromatograph: Varian Modell 3700, Varian, Darmstadt, oder Packard Modell 437A, Packard – Becker, Delft, Niederlande, mit Autosampler Packard LD 607. Säulen: a) Supelcowax 10, 60 m, ID 0,25 mm, Schichtdicke der stationären Phase 0,25 µm, Supelco, Deisenhofen. b) SPB 5, 30 m, ID 0,25 mm, Schichtdicke der stationären Phase 0,25 µm, Supelco, Deisenhofen. Temperaturprogramm: 75 °C, 4 min – 4 °C/min bis 200 °C – 200 °C, 30 min. Injektortemperatur: 250 °C. Detektortemperatur: 250 °C. Detektion: FID. Trägergas: a) Stickstoff ca. 1,21 bar (ca. 0,6 ml/min), b) Stickstoff ca. 0,52 bar (ca. 0,6 ml/min). Split: variabel, 1:15 bis 1:150 (je nach Konzentration der untersuchten Proben). Probenlösung: 1 µl der entsprechend der SplitEinstellung verdünnten Ätherischöl/Xylol-Mischungen in n-Hexan; 1 µl der Hexan-Extrakte aus Drogen bei Split 1:15; 1 µl der Mikrodestillate der wäßrigen Drogenauszüge bei Split 1:15. Auswerte-Software: Borwin 1.20, Wicom, Birstadt.

##### 3.5.1. GC-MS-Untersuchungen

Gaschromatograph: Shimadzu GC 14A, Shimadzu, Duisburg. Säule 1: Optima 5,50 m, ID 0,25 mm, Schichtdicke der stationären Phase 0,46 µm, Macherey & Nagel, Düren. Temperaturprogramm: 60 °C, 0 min – 3 °C/min bis 270 °C, 270 °C – 30 min, Trägergas: Helium, ca. 1,1 ml/min,

Säule 2: Supelcowax 10,60 m, ID 0,25 mm, Schichtdicke der stationären Phase 0,25 µm, Supelco, Deisenhofen. Temperaturprogramm: 75 °C, 4 min – 3 °C/min bis 250 °C, 250 °C, 30 min. Trägergas: Helium, ca. 0,8 ml/min. Injektortemperatur: 250 °C. Split: ca. 1:30. Probenlösung: 1:10-Verdünnungen der ätherischen Öle aus den Gehaltsbestimmungen in n-Hexan. Detektion: Massenselektiver Detektor Shimadzu MS-QP 1000 EX, Shimadzu, Duisburg. Anregungsenergie: 70 ev. Temperatur Ionenquelle: 250 °C. Temperatur Interface: 250 °C. Scan: m/z 40–300 in 1,5 s. Auswerte-Software: Class 5000, Shimadzu, Duisburg.

#### 3.6. Bestimmung der absoluten Ätherischölszusammensetzung

Die Verwendung der Hilfsphase Xylol bei der Gehaltsbestimmung nach der Methode V.4.5.8 der Ph. Eur. 1997 setzt voraus, daß sich das ätherische Öl und Xylol ohne Volumenkontraktion mischen. Zur Quantifizierung wurde ein Aliquot von 100 µl der Mischung entnommen. Dann wurden 0,500 ml einer Lösung des internen Standards in n-Hexan zugegeben und im Verhältnis 1:10 mit n-Hexan verdünnt. Diese Lösung wurde gaschromatographisch bei einem Split von 1:20 analysiert.

Die in einem Gramm Droge enthaltene Masse  $m_x$  eines bestimmten Ätherischöl-Bestandteiles berechnet sich wie folgt

$$m_x = \frac{A_x \cdot m_{IS} \cdot RF}{A_{IS} \cdot M}$$

$m_x$ : Masse der Komponente x in einem Gramm Droge

$m_{IS}$ : Masse Interner Standard

M: Masse Droge (entsprechend dem eingesetzten Ätherischöl-Aliquot)

$A_x$ : Fläche Komponente x

$A_{IS}$ : Fläche Interner Standard

RF: Relativer FID-Response-Faktor der Komponenten x bezogen auf den Internen Standard.

#### Literatur

- 1 Kommission der Europäischen Gemeinschaften: Qualität von pflanzlichen Arzneimitteln. Die Regelung der Arzneimittel in der Europäischen Gemeinschaft, Bd. III, S. 31–37, 1989
- 2 Bauer, R.; Czygan, F. C.; Franz, G.; Ihrig, M.; Nahrstedt, A.; Sprecher, E.: Dtsch. Apoth. Ztg. **133**, 4105 (1993)
- 3 Hefendehl, F. W.: in: Grimm, W. (Hrsg.): Stability Testing of Drug Products, S. 104, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1987)
- 4 Voigt, R.: Pharmazie **17**, 91 (1962)
- 5 Svoboda, K.: Unveröffentlichte Ergebnisse, Plant Science Department, Auchincruive, Schottland
- 6 Reif, K.: Unveröffentlichte Ergebnisse, Phytolab GmbH, Vestenbergsgreuth
- 7 Fehr, D.: Pharm. Ztg. **127**, 111 (1982)
- 8 Kreuzig, L.: Pharm. Ztg. **127**, 893 (1982)
- 9 Perlia, X.: Pharm. Acta Helv. **42**, 265 (1967)
- 10 Stricker, H. (Hrsg.): Physikalische Pharmazie, S. 491, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1987
- 11 Burghart, J.: Persönliche Mitteilung, Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen Südbayern, Reihenuntersuchung zur Qualität von Drogen in Apotheken 1996
- 12 Volkmann, B.; Gabrio, T.: Zentralbl. Pharm. Pharmakother. Laboratoriumsdiagn. **128**, 149 (1989)
- 13 Brand, N.: Unveröffentlichte Ergebnisse innerhalb einer BPI-Arbeitsgruppe, Chemische Fabrik Dr. Hetterich 1990
- 14 Schilcher, H.: Neuforn Echo **6**, 18 (1968)
- 15 Fehr, D.: Pharm. Ztg. **125**, 1300 (1980)
- 16 Toth, L.: Planta Med. **4**, 371 (1967)
- 17 Koller, W. D.: Z. Lebensm. Unters. Forsch. **160**, 143 (1976)
- 18 Hanke, G.: Dtsch. Apoth. Ztg. **128**, 2095 (1998)
- 19 Grimm, W.: Arbeitsunterlagen zur Regelweiterbildungsveranstaltung der Landesapothekenkammer Baden-Württemberg, Tübingen, 15.–16. Juli 1997: Stabilität und Stabilisierung von Wirkstoffen sowie Qualitätskontrolle

Eingegangen am 18. September 1998

Angenommen am 15. Oktober 1998

Prof. Dr. Gerhard Franz

Institut für Pharmazie

Universitätsstr. 31

D-93040 Regensburg

Gerhard.Franz@chemie.uni-regensburg.de