

Lösungsverhalten von Digoxin in Gegenwart pflanzlicher Begleitstoffe aus *Digitalis-lanata*-Trockenextrakten

Teil 1: Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit

M. EDER¹ und W. MEHNERT

Pflanzliche Extrakte stellen Vielkomponentensysteme dar. Ein Einfluss von Begleitstoffen auf biopharmazeutische Eigenschaften der Inhaltsstoffe wie Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit ist zu erwarten. Das Ausmaß der Beeinflussung von Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit ist an Digoxin als ein Modellarzneistoff mit geringer Wasserlöslichkeit untersucht worden. Die Untersuchungen sind mit unterschiedlichen Extraktfraktionen durchgeführt worden, die während der Herstellung von Digoxin aus *Digitalis-lanata*-Blättern erhalten werden. Diese Fraktionen unterscheiden sich in der Zusammensetzung der Extraktivstoffe. Die Löslichkeit von Digoxin aus den Extraktfraktionen ist gegenüber dem Reinstoff bis um den Faktor 42 erhöht, wobei erhebliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Extraktfraktionen festzustellen sind. Die Löslichkeit ist abhängig von der Extrakteinwaage, wobei allerdings ein Grenzwert der gelösten Digoxinmengen erreicht wird, der auch bei einer Erhöhung der Extrakteinwaage nicht überschritten wird. Selbst nach Entfernen der gelösten Extraktbestandteile ist die Löslichkeit von Digoxin aus den verbleibenden Rückständen größer als die des Reinstoffes. Die Lösungsgeschwindigkeit von Digoxin aus dem Vorgereinigten Extrakt (VE) und der Glykosidfraktion G1 wird wesentlich erhöht, während in der Glykosidfraktion G4 Digoxin bereits in einem so hohen Reinheitsgrad vorliegt, dass die Lösungseigenschaften von der geringen Menge an pflanzlichen Begleitstoffen in diesem Trockenextrakt nicht mehr beeinflusst werden. Aus der Extraktfraktion G1 sind nach 10 Minuten bereits 50,4% gelöst, während vom Reinstoff lediglich 21,7% in Lösung gegangen sind. Die Extraktfraktionen zeigen ein unterschiedliches Benetzungsverhalten, so dass die erhöhte Lösungsgeschwindigkeit auch auf die im Vergleich zum Reinstoff verbesserte Benetzung der Extraktfraktionen zurückgeführt werden kann. In physikalischen Mischungen von kristallinem Digoxin und den Extraktivstoffen der nahezu digoxinfreien Fraktion G2 und G3 änderten sich dessen Lösungseigenschaften nicht. Es konnte festgestellt werden, dass bei vergleichbarem Digoxin-Gehalt die Löslichkeit von Digoxin in unterschiedlichen Chargen der Extraktfraktionen deutlich verschieden ist.

Solubility and dissolution rate of digoxin from *Digitalis lanata* dry extracts

The influence on solubility and dissolution rate was investigated for digoxin as a model drug with a very low solubility in water. The investigations were carried out with different fractions of extracts from leaves of *Digitalis lanata*. These fractions differ in the composition of concomitant compounds. The solubility of digoxin from the extract fractions is increased up to 42 times, with considerable differences between the fractions. The solubility depends on the weight of the extract fraction; a limit of solubility exists. Even after separation of the solved extract components the solubility of digoxin in the residues is larger than that of the pure digoxin. The dissolution rate of digoxin of "Vorgereinigter Gesamtglykosidextrakt (VE)" and the glycosid fraction G 1 is influenced significantly, whereas digoxin in the glycosid fraction G 4 has such a degree of purity that the solubility properties are not influenced by the small amount of concomitant compounds. After 10 min already 50.4% of the digoxin in the extract fraction G 1 are dissolved, while only 21.7% of the pure digoxin are dissolved in that interval. The extract fractions exhibit different wettability properties, so that the increased dissolution rate could be attributed to improved wettability of the extract fractions. Physical mixtures of crystalline digoxin and compounds of the extracts of the almost digoxin free fraction G 2 did not exert an influence on the dissolution behavior. Different batches of the extract fractions showed different solubility in spite of comparable digoxin content.

1. Einleitung

Bei der Herstellung eines Extraktes wird unter den jeweiligen Extraktionsbedingungen eine Vielzahl von Extraktivstoffen aus der Droge gewonnen. Die Extraktivstoffe können in Hauptwirkstoffe und Begleitstoffe unterteilt werden [1–3]. Verändern Begleitstoffe lediglich die biopharmazeutischen Eigenschaften des Wirkstoffes, so übernehmen sie im Grunde genommen die Aufgabe von Hilfsstoffen. Sie können insbesondere die Freisetzung des Wirkstoffes aus dem Extrakt und die nachfolgende Resorption verändern. Damit wird nicht die Art der Wirkung beeinflusst, wohl aber können der Eintritt, die Intensität oder die Dauer der Wirkung verändert werden [4]. Begleitstoffe sind folglich nicht immer überflüssige Ballaststoffe. Für sie wurde deshalb auch die Bezeichnung „Koeffektoren“ geprägt [5–7].

Beispiele für die Verbesserung der Lösungseigenschaften durch Begleitstoffe sind mehrfach beschrieben worden. So konnten Csapor und Spaich eine wesentlich höhere Löslichkeit schwerlöslicher Wirkstoffe in pflanzlichen Trockenextrakten feststellen als in isolierter Form [8–10]. In einem Kaltwasserauszug von Kava-Kava-Wurzelstock werden Konzentrationen an Pyronen erreicht, die um den Faktor 5 über den Sättigungskonzentrationen der Reinstoffe liegen [11]. Die Löslichkeit von Kavain und Methysticin in Wasser ist um das 14fache gesteigert, wenn ein Trockenextrakt verwendet wird. Die Löslichkeit von Yanguonin in Wasser ist sogar um den Faktor 40 erhöht [8]. Durch die Anwesenheit löslichkeitsfördernder Extraktbestandteile wird die Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit von *trans*-Isoasarosin aus einem Trockenextrakt von *Asarum-europaeum*-Wurzelstock erhöht [12, 13]. Niesel stellte fest,

dass sowohl die Löslichkeit von Glucofrangulin A und B, Frangulin A und B und Frangula-Emodin in Wasser als auch die Löslichkeit von Rutin im Verbund mit den übrigen Pflanzeninhaltsstoffen höher ist als in reiner Form [14]. Frömmling et al. fanden, dass die Löslichkeit und Auflösungsgeschwindigkeit von Khellin aus einem *Ammi-visnaga*-Trockenextrakt gegenüber dem Reinstoff deutlich erhöht sind [15]. Die Löslichkeit von Convallaria-Glykosiden kann durch Begleitstoffe um den Faktor 100 erhöht werden [16]. Die Lösungseigenschaften von Gitoxin werden ebenfalls durch pflanzliche Begleitstoffe verbessert [17]. Insbesondere für zahlreiche Saponine sind lösungsvermittelnde Eigenschaften beschrieben worden [18–24]. Häufig ist jedoch das Ausmaß der durch pflanzliche Begleitstoffe veränderten biopharmazeutischen Eigenschaften nicht bekannt.

Die Zielsetzung der Untersuchungen war deshalb festzustellen, in welchem Ausmaß Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit von Digoxin im Verbund mit den natürlichen Begleitstoffen verändert werden. Über eine veränderte Resorption von Digitalisglykosiden aus Digitalis-Zubereitungen ist mehrfach berichtet worden [25, 26]. Umfassende Studien zur Beeinflussung des Lösungsverhaltens von Digoxin durch pflanzliche Begleitstoffe sind jedoch bisher nicht bekannt. Bei der industriellen Gewinnung des Digoxins fallen während des Anreicherungsprozesses als Zwischenprodukte Trockenextrakte an, die Digoxin in unterschiedlichem Ausmaß mit pflanzlichen Begleitstoffen verunreinigt enthalten. Daher sind Untersuchungen der biopharmazeutischen Eigenschaften des Digoxins im Verbund mit pflanzlichen Begleitstoffen aus verschiedenen zusammengesetzten Trockenextrakten möglich. Zusätzlich zeichnet sich Digoxin durch eine geringe Löslichkeit in Wasser aus, so daß Veränderungen der Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit von besonderer Bedeutung sind.

2. Untersuchungen, Ergebnisse und Diskussion

Die bei der Herstellung von Digoxin anfallenden Extraktfraktionen stellen Reinigungsstufen des Digoxins dar. Als unreinste und damit begleitstoffreichste Fraktion wurde der Vorgereinigte Gesamtglykosidextrakt (VE) eingesetzt. Bei der weiteren Aufarbeitung bzw. Reinigung von VE werden über die Glykosidfraktion 1 (G1) zur Glykosidfraktion 4 (G4) Trockenextrakte mit steigendem Digoxingehalt gewonnen. Daneben fallen als nahezu digoxinfreie Trockenextrakte die lipophile Fraktion G2 und die hydrophile Fraktion G3 an. Durch dieses Herstellungsverfahren des Digoxins sind Trockenextrakte zugänglich, die für die zu untersuchende Problemstellung interessant sind, da pflanzliche Begleitstoffe in unterschiedlicher Zusammensetzung enthalten sind. Die stoffliche Zusammensetzung der Begleitstoffe ist jedoch weitgehend unbekannt und auch nicht Gegenstand der durchgeführten Untersuchungen.

2.1.1. Löslichkeit

Die Löslichkeit von Digoxin aus den Trockenextrakten VE und G1 wird gegenüber der Löslichkeit des Reinstoffs in unterschiedlichem Maß erhöht. Während die Löslichkeit des Digoxins lediglich 1,8 mg/100 ml beträgt, werden in Gegenwart der pflanzlichen Begleitstoffe aus VE 11,0 mg Digoxin/100 ml und aus G1 20,1 mg Digoxin/100 ml gelöst. In dem Trockenextrakt G4, der begleitstoffärmsten Fraktion, ist dagegen die Löslichkeit von Digoxin mit 2,2 mg/100 ml gegenüber der Löslichkeit des Reinstoffs nur gering erhöht.

Die Einwaagen, die zur Bestimmung der Löslichkeit von Digoxin aus den Trockenextrakten VE und G1 eingesetzt wurden, enthielten jeweils 10 mg Digoxin in 25 ml Auflösungsmedium. Bei den gefundenen Löslichkeitswerten (11,0 bzw. 20,1 mg/100 ml) ist der verbleibende Bodensatz hinsichtlich des Digoxins ausreichend hoch, um eine gesättigte Lösung zu erhalten. Allerdings können einzelne Begleitstoffe in den Trockenextrakten nur in sehr geringer Menge enthalten sein. Es ist auch denkbar, dass einzelne Begleitstoffe eine so große Löslichkeit im Auflösungsmedium besitzen, dass sie aus der vorgelegten Extraktmenge vollständig in Lösung gehen. Die gelöste Digoxinmenge müsste mit höheren Extraktmengen ansteigen, wenn diese Begleitstoffe lösungsvermittelnde Eigenschaften besitzen. Deshalb wurde der Einfluss unterschiedlich großer Extrakteinwaagen auf die Löslichkeit von Digoxin aus VE und G1 untersucht. Hierbei ist zu beobachten, dass mit steigender Extrakteinwaage die Löslichkeit von Digoxin aus beiden Trockenextrakten deutlich erhöht wird, wobei die Effekte bei G1 stärker ausgeprägt sind als bei VE (Abb. 1). Auffällig ist, dass aus beiden Trockenextrakten bis zu einer Extrakteinwaage von 456 mg bei VE (24,05 mg Digoxin/100 ml gelöst) bzw. 348 mg bei G1 (52,4 mg Digoxin/100 ml gelöst) die Menge an gelöstem Digoxin steil und nahezu linear ansteigt, während bei einer weiteren Erhöhung der Extrakteinwaage die gelösten Digoxinmengen in einem geringeren Ausmaß zunehmen. Bei dieser Extrakteinwaage scheint für einzelne Begleitstoffe, die zu der Erhöhung der Löslichkeit des Digoxins beitragen, die Sättigungskonzentration erreicht zu sein. Bei einer weiteren Erhöhung der Extrakteinwaagen nimmt deshalb die Konzentration dieser Begleitstoffe in Lösung nicht weiter zu. Daher steigt die Menge an gelöstem Digoxin in deutlich geringerem Ausmaß. In Gegenwart der pflanzlichen Begleitstoffe nimmt die Löslichkeit von Digoxin aus G1 mit steigender Extrakteinwaage bis zu einem Wert von 74,9 mg/100 ml zu, bei VE beträgt die maximal gelöste Digoxinmenge 49,2 mg/100 ml bei einer Extrakteinwaage von 1824 mg. Bei VE ist offensichtlich die Sättigungskonzentration von Digoxin erreicht, bei G1 hingegen noch nicht.

Die erhöhte Löslichkeit des Digoxins aus VE und G1 könnte durch sehr gut lösliche oder aber auch durch im Auflösungsmedium nur begrenzt lösliche pflanzliche Begleitstoffe verursacht werden. Um diese Annahmen zu untersuchen, wurden die gelösten Bestandteile durch Filtration entfernt und aus den dabei erhaltenen Rückständen der Ausgangsextrakte die Löslichkeit von Digoxin erneut bestimmt. Die dabei entstehenden Lösungen werden als 1. Stufe bezeichnet. Anschließend wurden die Rückstände

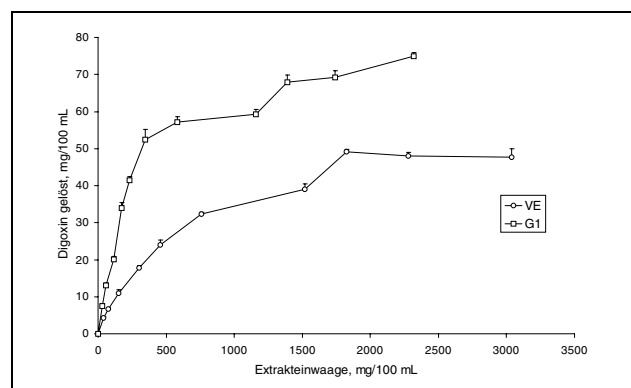


Abb. 1: Löslichkeit von Digoxin aus VE und G1 in Phosphatpuffer-Lösung pH 5,5 DAB 10 bei 37 °C in Abhängigkeit von der Extrakteinwaage

der 1. Stufe wie die Rückstände der Ausgangsextrakte behandelt. Aus diesen an löslichen Begleitstoffen verarmten Extraktückständen wurde die Löslichkeit des Digoxins bestimmt, wobei insgesamt vier Stufen untersucht wurden. Hierbei muss allerdings vorausgesetzt werden, dass die Extraktückstände in allen Stufen Digoxin noch im Überschuss enthalten, damit eine gegenüber dem Ausgangsextrakt verminderte Löslichkeit nicht auf eine zu geringe Digoxinvorlage zurückzuführen ist. Die Rückstände der 4. Stufe enthalten jedoch noch 360,5 mg bzw. 262,8 mg Digoxin/100 ml, dies entspricht bei VE einem Anteil von 60,1% und bei G1 einem Anteil von 43,8% des ursprünglichen Digoxingehaltes in den Ausgangsextrakten.

Die Löslichkeiten aus den Rückständen sind sowohl bei VE als auch bei G1 erwartungsgemäß geringer als aus den Ausgangsextrakten (Abb. 2). In der 1. Stufe werden aber noch Digoxinmengen gelöst, die einem Übersättigungsquotienten von 12,5 (VE) bzw. 22,3 (G1) entsprechen, bezogen auf die Sättigungskonzentration des kristallinen Reinstoffes. Nach Entfernen der gelösten Extraktbestandteile kann beobachtet werden, dass in der 2. Stufe noch nahezu 50% Digoxin in Lösung gehen, bezogen auf die gelösten Digoxinmengen in der 1. Stufe. Selbst nach viermaligem Entfernen der gelösten Extraktbestandteile ist die Löslichkeit von Digoxin mit 7,2 bzw. 9,5 mg/100 ml noch deutlich höher als die Löslichkeit des kristallinen Reinstoffes.

Bei den Ausgangsextrakten gehen aus VE mit 703,9 mg/100 ml 42% und aus G1 mit 512,6 mg/100 ml 45% der in den Ausgangsextrakten insgesamt enthaltenen Begleitstoffe in Lösung. Aus den Rückständen der Ausgangsextrakte (1. Stufe) werden Begleitstoffmengen von 258,9 mg bzw. 229,7 mg/100 ml gelöst. Die Bestimmung der Begleitstoffmengen erfolgte gravimetrisch unter Berücksichtigung des Digoxingehaltes und der gelösten Digoxinmengen. Es wurden Ansätze mit einer Extrakteinwaage von 2280 mg VE (598,4 mg Digoxin) bzw. 1740 mg G1 (601,9 mg Digoxin) für diese Untersuchungen eingesetzt.

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass während der ersten Extraktion eine erhebliche Menge an Begleitstoffen noch nicht gelöst wird, die offenbar eine begrenzte Löslichkeit in Phosphatpuffer-Lösung aufweisen. In den Extraktlösungen der 4. Stufe sind nur Begleitstoffmengen von 11,1 mg bzw. 11,8 mg/100 ml enthalten.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die hohen Löslichkeitswerte des Digoxins aus den Trockenextrakten VE und G1 wesentlich auf pflanzliche Begleitstoffe mit einer im wässrigen Auflösungsmedium nur begrenzten Löslichkeit zu-

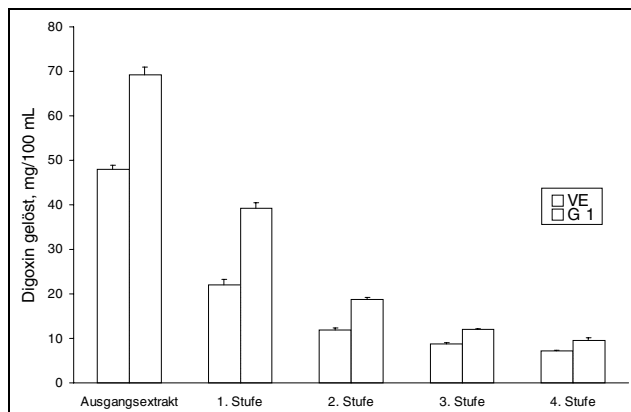


Abb. 2: Löslichkeit von Digoxin aus VE und G1 nach Entfernen der gelösten Extraktbestandteile in Phosphatpuffer-Lösung pH 5,5 DAB 10 bei 37 °C

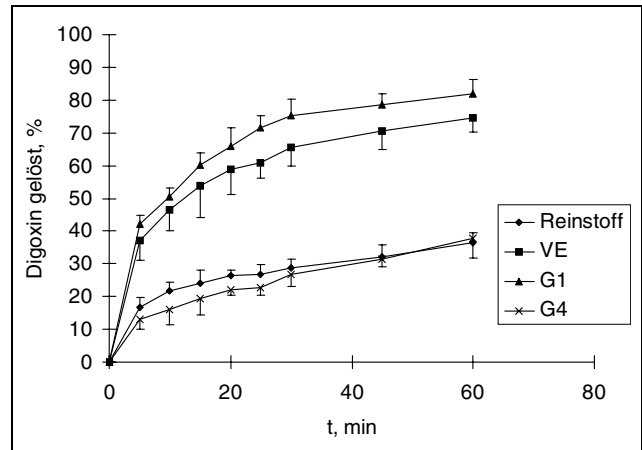


Abb. 3: Lösungsgeschwindigkeit von Digoxin als Reinstoff und aus den Trockenextrakten VE, G1 und G4 in Phosphatpuffer-Lösung pH 5,5 DAB 10 bei 37 °C, Paddle-Methode, 120 UpM, sink-Bedingungen, Korngröße $\leq 0,100$ mm, n = 6

rückgeführt werden können. Der Einfluss dieser Begleitstoffe muss als groß eingeschätzt werden. So sind für die hohe Digoxinlöslichkeit aus den Extraktückständen der 1. Stufe allein diese begrenzt löslichen Begleitstoffe verantwortlich, da bei der 1. Stufe bereits die sehr gut löslichen Begleitstoffe abgetrennt sind.

Die Löslichkeit des Digoxins ist in den an pflanzlichen Begleitstoffen verarmten G1-Trockenextrakten größer als in den entsprechenden VE-Extrakten. Begleitstoffe mit ähnlicher Hydrophilie und Lipophilie wie Digoxin, die in G1 angereichert sind, sind offensichtlich für die Veränderung der Lösungseigenschaften von besonders großer Bedeutung.

2.1.2. Lösungsgeschwindigkeit

Die Lösungsgeschwindigkeit von Digoxin ist äußerst gering (Abb. 3). In 60 min gehen unter den angegebenen Bedingungen (vgl. 3.4.2.) lediglich 36% der eingesetzten Menge in Lösung. Aus den Trockenextrakten VE und G1 dagegen sind nach 10 min bereits 46,5% bzw. 50,4% Digoxin aufgelöst. Allerdings verlaufen nach 25 min die Freisetzungskurven des Digoxins aus den Trockenextrakten parallel zur Auflösungskurve des Reinstoffes. Dies weist darauf hin, dass die Begleitstoffe aus VE und G1 die Lösungsgeschwindigkeit des Digoxins im Wesentlichen nur anfänglich beeinflussen, auf den späteren Verlauf des Auflösungsprozesses jedoch keinen Einfluss mehr nehmen. Nach 60 min liegen aus VE 74,7% und bei G1 82,1% Digoxin gelöst vor. Die Lösungsgeschwindigkeit von Digoxin aus dem Trockenextrakt G4, der begleitstoffärmsten Fraktion, stimmt dagegen mit der des Reinstoffes überein.

Insgesamt kann festgestellt werden, dass Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit von Digoxin aus VE und G1 in Gegenwart der pflanzlichen Begleitstoffe dieser Trockenextrakte deutlich verbessert werden, während in G4 das Digoxin bereits in einem so hohen Reinheitsgrad vorliegt, dass die Lösungseigenschaften von Digoxin von der geringen Menge an pflanzlichen Begleitstoffen in diesem Trockenextrakt nicht mehr beeinflusst werden.

2.1.3. Benetzungsverhalten

Das verbesserte Lösungsverhalten von Digoxin in Gegenwart der Begleitstoffe könnte durch eine verbesserte Be-

netzung verursacht werden. Der Benetzungswinkel von Digoxin gegenüber Phosphatpuffer-Lösung pH 5,5 beträgt $43,5^\circ$ ($s = \pm 1,9$). Eine im Vergleich zum Reinstoff etwas verbesserte Benetzbarkeit weist der Trockenextrakt VE mit einem Benetzungswinkel von $35,5^\circ$ ($s = \pm 2,4$) auf, während G1 mit $11,9^\circ$ ($s = \pm 0,7$) sehr gut benetzbar ist.

Die Benetzbarkeit eines Arzneistoffpulvers ist insbesondere für die Lösungsgeschwindigkeit von erheblicher Bedeutung. So kann eine schlechte Benetzung neben einer geringen Löslichkeit des Arzneistoffes zum geschwindigkeitsbestimmenden Schritt des gesamten Auflösungs Vorganges werden. Dies ist auf die Bildung von Pulveraggregaten, die sich wie größere Pulverpartikel mit entsprechend kleinerer Oberfläche verhalten, zurückzuführen.

Der Trockenextrakt VE ist nur geringfügig besser benetzbar als der Reinstoff. In dem komplexen Stoffgemisch der Trockenextrakte werden sowohl Begleitstoffe enthalten sein, die eine gute Benetzbarkeit aufweisen, als auch solche mit einer schlechteren Benetzbarkeit, so dass insgesamt nur eine geringfügige Verbesserung der Benetzungseigenschaften im Vergleich zum Reinstoff zu beobachten ist. In G1, der eine sehr gute Benetzbarkeit aufweist, dagegen dominieren offensichtlich die gut benetzbaren Begleitstoffe.

Die bessere Benetzung der Trockenextrakte führt nach Kontakt mit dem Auflösungsmedium zu einer deutlich sichtbar geringeren Agglomeration von Digoxinpartikeln. Dadurch ist eine im Vergleich zum Reinstoff höhere initiale Lösungsgeschwindigkeit zu beobachten.

2.2. Lösungseigenschaften von Digoxin in physikalischen Mischungen mit den Trockenextrakten G2 und G3

Es sollte untersucht werden, ob bereits durch Mischen von Digoxin mit Begleitstoffen die Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit erhöht werden kann. Hierzu müssen digoxinfreie Extraktfraktionen eingesetzt werden. G2 und G3 sind nahezu digoxinfreie Trockenextrakte, die während der Digoxin-Gewinnung aus *Folia Digitalis lanatae* anfallen. G2 enthält im Vergleich zu G1 lipophile Begleitstoffe, in G 3 sind dagegen die hydrophilen Begleitstoffe aus G 1 aufkonzentriert.

Aus einer physikalischen Mischung von Digoxin mit 1% G2 wird nur geringfügig mehr Digoxin gelöst als ohne Begleitstoffzusatz. Auch bei einem Zusatz von 5% G2 steigt die Löslichkeit lediglich auf 2,3 mg/100 ml im Vergleich zum Reinstoff mit 1,8 mg/100 ml an. Noch höhere Zusätze von 20% und 50% dieses Trockenextraktes führen zu mit dem Reinstoff vergleichbaren Löslichkeitswerten.

Bei den physikalischen Mischungen von Digoxin mit G3 ergeben geringe Begleitstoffkonzentrationen ebenfalls lediglich geringfügig erhöhte Löslichkeitswerte für Digoxin. So beträgt die Löslichkeit von Digoxin 2,0 mg/100 ml bei einem Begleitstoffzusatz von 1%, ein 5%iger Zusatz führt zu einer gelösten Digoxinmenge von 2,7 mg/100 ml.

Bei höheren Zusätzen von G3 nimmt die gelöste Digoxinmenge ab. Ein 20%iger Zusatz an G3 erniedrigt die Löslichkeit auf 1,4 mg Digoxin/100 ml. In Anwesenheit von 50% Begleitstoffen dieses Trockenextraktes beträgt die gelöste Digoxinmenge lediglich 0,9 mg/100 ml. Die Lösungsgeschwindigkeit von Digoxin aus den physikalischen Mischungen mit G2 (Abb. 4) und G3 ist gegenüber der Lösungsgeschwindigkeit des Reinstoffs nur geringfügig verändert. Die beobachteten Unterschiede sind nicht signifikant.

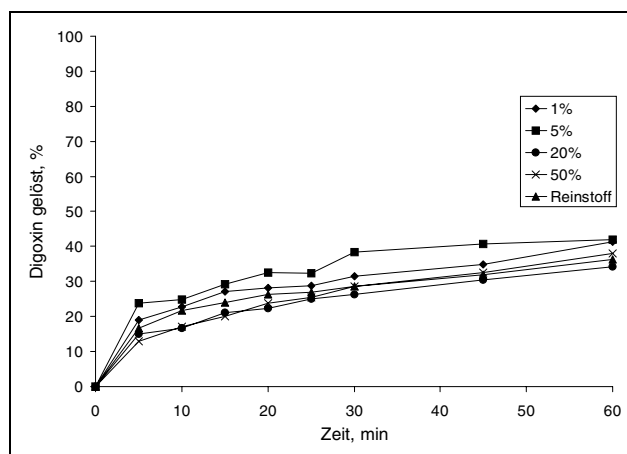


Abb. 4: Lösungsgeschwindigkeit von Digoxin aus physikalischen Mischungen mit G2 in Phosphatpuffer-Lösung pH 5,5 DAB 10 bei 37°C . Werte für Standardabweichung zwischen 0,2 und 6,7 (auf Darstellung wird aus Gründen der Übersichtlichkeit verzichtet)

Eine Erhöhung der Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit von Digoxin in Gegenwart der Begleitstoffe von G2 und G3 kann im Gegensatz zu den Ergebnissen, die mit den Trockenextrakten VE und G1 erhalten werden, nicht beobachtet werden. Es besteht somit ein Unterschied in der Löslichkeit von Digoxin aus einer Extraktfraktion im Verbund mit den natürlichen Begleitstoffen und der Löslichkeit aus einer physikalischen Mischung, in der Digoxin als Reinstoff neben den digoxinfreien Extraktfraktionen G2 und G3 vorliegt. Zusätzlich ist zu berücksichtigen, dass die Zusammensetzung der Begleitstoffe in den Trockenextrakten VE, G1, G2 und G3 unterschiedlich sein wird.

Die ermittelten Benetzungswinkel der physikalischen Mischungen aus Digoxin und den Trockenextrakten G2 und G3 sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Der Trockenextrakt G2 weist nur eine geringfügig schlechtere Benetzung ($\Theta = 48,2^\circ$) als der Reinstoff auf. Die Benetzungseigenschaften des Digoxins werden auch nicht in Gegenwart höherer Anteile von G2 verbessert. Die Benetzbarkeit des Trockenextraktes G3 ist mit einem Benetzungswinkel von $32,8^\circ$ sehr gut. Ein 1%iger oder 5%iger G3-Zusatz verändert die Benetzungseigenschaften von Digoxin nicht wesentlich. Die Benetzungswinkel der physikalischen Mischungen mit 20% und 50% G3-Zusatz weisen ähnliche Werte wie der Trockenextrakt auf, die allerdings um fast 10° geringer sind als der Benetzungswinkel des Reinstoffs.

Tabelle 1: Benetzungswinkel von Digoxin als Reinstoff, von G2 und G3 und von physikalischen Mischungen aus Digoxin und G2 oder G3 gegen Phosphatpuffer-Lösung pH 5,5 DAB 10 bei Raumtemperatur

Benetzungswinkel Θ (°)				
Digoxin	G2		G3	
43,5 ±1,9	48,2 ± 1,1		32,8 ± 3,7	
Benetzungswinkel ($\Theta/^\circ$) von Digoxin unter Zusatz von G2 oder G3, %				
Extrakt- fraktion	1	5	20	50
G2	44,8 ± 2,2	41,3 ± 2,1	39,0 ± 1,2	40,6 ± 1,1
G3	44,4 ± 2,8	40,5 ± 3,0	34,3 ± 2,1	34,5 ± 2,0

$\bar{x} \pm s$, $n = 24$

Tabelle 2: Löslichkeit von Digoxin aus verschiedenen VE-Chargen in Phosphatpuffer-Lösung pH 5,5 DAB 10 bei 37 °C

VE-Charge	64 I	64 II	65	66	67	68
Löslichkeit (mg Digoxin/100 ml)	10,98 ± 0,86	26,69 ± 0,69	27,65 ± 0,68	29,46 ± 1,66	31,06 ± 0,19	29,90 ± 1,46

 $\bar{x} \pm s$, n = 6**Tabelle 3: Löslichkeit von Digoxin aus verschiedenen G1-Chargen in Phosphatpuffer-Lösung pH 5,5 DAB 10 bei 37 °C**

G1-Charge	63	64	65	66	67	68
Löslichkeit (mg Digoxin/100 ml)	20,13 ± 0,71	11,39 ± 0,35	11,84 ± 0,32	31,48 ± 0,31	22,28 ± 0,73	26,47 ± 0,83

 $\bar{x} \pm s$, n = 6

2.3. Lösungseigenschaften von Digoxin aus verschiedenen Chargen der Trockenextrakte VE und G1

Die Trockenextrakte VE und G1 sind komplex zusammengesetzte Stoffgemische, die durch mehrere Extraktionsschritte aus den Blättern von *Digitalis lanata* gewonnen werden. Die Zusammensetzung der dabei erhaltenen Extraktivstoffe wird von Extraktcharge zu Extraktcharge schon wegen natürlich bedingter Schwankungen der Inhaltsstoffe im pflanzlichen Ausgangsmaterial nicht völlig übereinstimmen. Ein schwankender Gehalt an löslichkeitsfördernden Begleitstoffen könnte jedoch zu unterschiedlichen Löslichkeitswerten des Digoxins führen. Deshalb wurde die Löslichkeit von Digoxin in jeweils fünf weiteren Chargen von VE und G1 untersucht, um zu überprüfen, ob die erhöhten Löslichkeitswerte für Digoxin aus VE und G1 auch in anderen Chargen dieser Trockenextrakte beobachtet werden können.

Der Digoxingehalt der untersuchten Trockenextraktchargen ist erwartungsgemäß vergleichbar. Er liegt bei den VE-Chargen zwischen 23,8% und 26,7% und bei den G1-Chargen zwischen 34,4% und 39,3%. Die Löslichkeiten von Digoxin aus den VE-Chargen „64 II“ bis „68“ stimmen nahezu überein, sind aber gegenüber der Löslichkeit von Digoxin aus der zuvor untersuchten VE-Charge „64 I“ wesentlich erhöht (Tabelle 2).

Bei den G1-Chargen streuen die Löslichkeitswerte des Digoxins sehr stark (Tabelle 3). Aus den Chargen „68“ und „66“ gehen 26 mg bzw. über 30 mg Digoxin/100 ml in Lösung, während aus den Chargen „64“ und „65“ nur 11,4 bzw. 11,8 mg Digoxin/100 ml gelöst werden. Aus der Charge „67“ werden Digoxinmengen gelöst, die mit denen aus der bereits untersuchten Charge „63“ vergleichbar sind.

Es konnte gezeigt werden, dass die erhöhte Löslichkeit des Digoxins aus den Trockenextrakten maßgeblich auf Begleitstoffe mit einer begrenzten Löslichkeit im Auflösungsmedium zurückgeführt werden kann. Ein geringerer Gehalt an Begleitstoffen, welche die Löslichkeit des Digoxins beeinflussen, müsste sich deshalb bei einer Erhöhung der Extrakteinwaage weniger auswirken. Da die Löslichkeiten von Digoxin aus allen nachträglich untersuchten VE-Chargen bei der Extrakteinwaage von 152 mg/100 ml vergleichbar sind, wird für die Löslichkeitsuntersuchungen bei höheren Extrakteinwaagen nur eine Charge zusätzlich herangezogen.

Abb. 5 verdeutlicht, dass bei der nachträglich untersuchten VE-Charge (VE-Charge 2) schon bei einer Extrakteinwaage von 456 mg/100 ml ein Löslichkeitswert von 46 mg/100 ml für Digoxin erreicht wird, der bei einer weiteren Erhöhung der Extrakteinwaage nicht mehr gesteigert

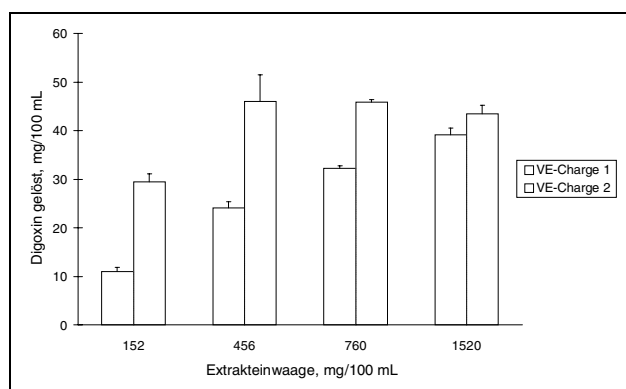


Abb. 5: Löslichkeit von Digoxin aus zwei Extraktchargen von VE in Abhängigkeit von der Extrakteinwaage in Phosphatpuffer-Lösung pH 5,5 DAB 10 bei 37 °C

werden kann. Bei einer Extrakteinwaage von 1520 mg werden aus beiden Chargen mit 39,1 mg/100 ml (VE-Charge 1) und 43,4 mg/100 ml (VE-Charge 2) vergleichbare Digoxinmengen gelöst.

Von den G1-Chargen wurde eine G1-Charge ausgewählt, aus der Digoxin bei der Extrakteinwaage von 116 mg/100 ml in geringerem Ausmaß in Lösung geht als bei der zuvor untersuchten Charge, und eine Charge mit einer höheren Digoxinlöslichkeit. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Mit steigender Extrakteinwaage kann aus Charge „63“ ein im Vergleich zur zuvor untersuchten Charge „63“ vergleichbarer prozentualer Anstieg der gelösten Digoxinmenge festgestellt werden (Tabelle 4). Obwohl bei Charge „66“ bei einer Extrakteinwaage von 116 mg/100 ml von allen G1-Chargen die höchste Löslichkeit für Digoxin gemessen wird, kann bei höheren Extrakteinwaagen nur ein geringer Anstieg der gelösten Digoxinmenge beobachtet werden. Bei Extrakteinwaagen von 580 und 1160 mg/100 ml liegen die Löslichkeiten von

Tabelle 4: Löslichkeit von Digoxin aus verschiedenen Extraktchargen von G1 in Abhängigkeit von der Extrakteinwaage in Phosphatpuffer-Lösung pH 5,5 DAB 10 bei 37 °C

Extrakteinwaage (mg/100 ml)	Löslichkeit (mg Digoxin/100 ml)		
	G1-Charge 63	G1-Charge 65	G1-Charge 66
116	20,13 ± 0,71	11,84 ± 0,32	31,48 ± 0,31
348	52,42 ± 2,82	27,88 ± 0,84	38,76 ± 1,23
580	57,12 ± 1,53	37,79 ± 1,16	39,12 ± 0,70
1160	59,30 ± 1,33	47,11 ± 1,28	50,78 ± 0,63

 $\bar{x} \pm s$, n = 6

Digoxin aus Charge „65“ und „66“ im gleichen Größenordnungsbereich, sind aber geringer als bei der zuvor untersuchten G1-Charge „63“.

Die Ergebnisse zeigen, dass durch eine Erhöhung der Extrakteinwaagen vergleichbare gelöste Digoxinmengen aus den unterschiedlichen Extraktchargen erhalten werden, da dadurch der unterschiedliche Gehalt an Begleitstoffen ausgeglichen wird.

3. Experimenteller Teil

3.1. Substanzen

Digoxin Reinsubstanz (Fa. Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Ch.-Nr.: 44483400), Di-Natriumhydrogenphosphat-2-hydrat p. a. (Fa. Merck, Darmstadt), Kaliumdihydrogenphosphat krist. reinst (Fa. Merck, Darmstadt), Methanol p. A. (Fa. Merck, Darmstadt), Methanol ChromAR HPLC (Fa. Promochem, Wesel), Natriumhydroxid (Fa. Merck, Darmstadt), Pikrinsäure (Fa. Merck, Darmstadt).

Die Trockenextrakte und herzwirksamen Glykoside wurden von der Fa. Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, zur Verfügung gestellt.

3.2. Analytik

Die quantitative Bestimmung des Digoxins erfolgte mit HPLC mit UV-Detektion bei $\lambda = 220$ nm. Das HPLC-System (Fa. Kontron, Neufahrn) bestand aus: HPLC Pumpe 420, HPLC Autosampler 360, HPLC Detektor 430, Data System 450 Version 3.9. Versuchsbedingungen: Stationäre Phase: Hypersil SAS, $250 \times 4,5$ mm, $5 \mu\text{m}$ (Fa. Knauer, Berlin), mobile Phase: Methanol/Wasser 55/45 (V/V), Flußrate: 1 ml min^{-1} , Probenschleife: $20 \mu\text{l}$ und $100 \mu\text{l}$.

Die Proben wurden durch einen Membranfilter (Porengröße: $0,2 \mu\text{m}$) filtriert. $1,0 \text{ ml}$ der entnommenen Proben wurde mit $1,0 \text{ ml}$ Methanol p.A. oder mit $1,0 \text{ ml}$ Phosphatpuffer-Lösung und $2,0 \text{ ml}$ Methanol p.A. aufgefüllt. Jede Probe wurde dreimal eingespritzt. Die Kalibration erfolgte über die Methode des Externen Standards.

Zur Bestimmung des Gesamtglykosidgehaltes wurden $10,0 \text{ mg}$ Trockenextrakt auf einer Analysenwaage (M5, Fa. Mettler, Gießen) eingewogen und in 50 ml Methanol gelöst. Die Ansätze wurden mit 50 ml destilliertem Wasser verdünnt. Aus diesen Ansätzen wurden 10 ml Lösung entnommen und mit 6 ml einer frisch bereiteten alkalischen Natriumpikrat-Lösung versetzt. Diese Ansätze wurden 30 min unter Lichtausschluss gelagert und gegen eine gleichzeitig hergestellte Vergleichslösung aus einer Mischung von 5 ml Methanol, 5 ml destilliertem Wasser und 6 ml alkalischer Natriumpikrat-Lösung bei $\lambda = 495 \text{ nm}$ (Spektralphotometer M Q 3, Fa. Zeiss, Oberkochen) gemessen. Zur Herstellung der Natriumpikrat-Lösung wurde die Pikrinsäure über Nacht im Exsikkator über Blaugel getrocknet. Die Kalibration erfolgte mit Digoxin als externem Standard.

3.3. Herstellungsverfahren für physikalische Mischungen

Die entsprechende Menge der Trockenextrakte wurde in einer Fantaschale vorgelegt. Digoxin wurde anteilweise mit dem Kartenblatt innerhalb von 5 min zugemischt. Bei physikalischen Mischungen, bei denen die Begleitstoffe im Überschuss enthalten waren, wurde Digoxin vorgelegt und die Begleitstoffe zugemischt. Alle Ansätze wurden anschließend 10 min im Turbula Mischer (Typ T 2 C, Fa. Bachofen, Basel, Schweiz) bewegt.

3.4. Untersuchungsverfahren

Bei allen Untersuchungen wurden Digoxin und die Trockenextrakte in einer Teilchengröße $\leq 0,100 \text{ mm}$ eingesetzt.

3.4.1. Bestimmung der Löslichkeit

10 mg Digoxin, 38 mg VE bzw. 29 mg G1 (entsprechend 10 mg Digoxin) wurden in 50 ml Jodzahlkolben mit 25 ml Phosphatpuffer-Lösung pH 5,5 DAB 10 versetzt. Bei Löslichkeitsbestimmungen mit höheren VE- und G1-Einwaagen wurden die Extrakteinwaagen so gewählt, dass jeweils die Digoxingehalte übereinstimmen. Bei den physikalischen Mischungen wurden die Einwaagen so vorgenommen, dass jeweils 10 mg Digoxin enthalten waren.

Die Ansätze wurden 96 Stunden im Schüttelwasserbad (Fa. Köttermann, Uetze) bei einer Schüttelintensität von $140 \text{ Bewegungen/min}$ geschüttelt. Nach 24-stündigem Stehen bei 37°C wurde durch einen Membranfilter (Porengröße: $0,2 \mu\text{m}$) filtriert. Aus den 37°C warmen Lösungen wurde jeweils $1,0 \text{ ml}$ entnommen und nach Abkühlen auf Raumtemperatur mit Methanol p.A. auf $2,0 \text{ ml}$ aufgefüllt.

3.4.2. Bestimmung der Lösungsgeschwindigkeit

Die Bestimmung der Lösungsgeschwindigkeit erfolgte mit der Blattrührer-Methode DAB 10 mit einem Auflösungstester Pharmatest Typ PTW S III (Fa. Pharma Test Apparatebau, Hainburg). Die Rührgeschwindigkeit betrug 120 UpM . Als Auflösungsmedium wurden $500,0 \text{ ml}$ Phosphatpuffer-Lösung pH 5,5 DAB 10 von 37°C verwendet. Nachdem das Auflösungsmedium temperiert war, wurde 1 min im Ultraschallbad bei voller Leistung entgast. Die Einwaage betrug $1,55 \text{ mg}$ Digoxin bzw. wurde eine Menge an Trockenextrakt oder physikalischer Mischung eingesetzt, die $1,55 \text{ mg}$ Digoxin enthielt. Das entnommene Probevolumen wurde mit temperierter Phosphatpuffer-Lösung pH 5,5 DAB 10 ergänzt.

3.4.3. Bestimmung des Benetzungswinkels

Die Bestimmung des Benetzungswinkels erfolgte mit dem Kontaktwinkelmeßgerät G 1 (Fa. Krüss, Hamburg). Die Presslinge wurden mit einer KBr-Presse hergestellt. Der Pressdruck von $12 \cdot 10^8 \text{ Pa}$ wurde ohne Verzögerung aufgebaut und 1 min belassen. Die Einwaage pro Pressling betrug 300 mg . Vor der Messung wurden die Presslinge 24 h im Exsikkator über Blaugel gelagert. Die Messungen erfolgten auf der Unterseite der Presslinge. Mit einer Mikroliterspritze wurde Phosphatpuffer-Lösung pH 5,5 DAB 10 als netzende Flüssigkeit in einer Tropfengröße von ca. $5 \mu\text{L}$ auf die Oberfläche des Presslings aufgebracht. Der Tropfen wurde anschließend ohne Verzögerung vermessen. Für jede Messreihe wurden drei Presslinge hergestellt. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus jeweils 24 Messungen (8 pro Pressling).

3.5. Statistische Berechnungen

Die Signifikanzprüfung erfolgte mit dem Zweistichproben-t-Test, bei Varianzinhomogenität mit dem Welch-Test. Als Signifikanzniveau wurde $\alpha \leq 0,05$ gewählt.

Danksagung: Der Firma Boehringer Mannheim wird für die großzügige Bereitstellung von Digoxin und den Trockenextrakten gedankt.

¹ Auszug aus der Dissertation von M. Eder, Freie Universität Berlin 1994

Literatur

- Eichler, O.; Vollmer, H.: Fortschr. Ther. **15**, 253 (1939)
- Kartnig, T.: Sci. Pharm. **34**, 80 (1966)
- Büchi, J.: Arch. Pharm. **285**, 40 (1952)
- Eder, M.; Mehnert, W.: Pharmazie **53**, 285 (1998)
- Mayer, R. A.: Heilkunst **71**, 82 (1958)
- Schilcher, H.: Arzneimittelstandardisierung **6**, 649 (1965)
- Menßen, H. G.: Therapiewoche **18**, 1432 (1968)
- Csupor, L.; Spaich, W.: Pharm. Ind. **33**, 15 (1971)
- Csupor, L.; Spaich, W.: Pharm. Ind. **33**, 900 (1971)
- Csupor, L.: Planta Med. **22**, 363 (1972)
- Hänsel, R.; Lazar, J.: Dtsch. Apoth. Ztg. **125**, 2056 (1985)
- Gracza, L.; Spaich, W.: Planta Med. **33**, 160 (1978)
- Gracza, L.: DOS Nr. 2 437 148 (1976), C.A. **85**, 10406 (1976)
- Niesel, S.: Dissertation, Freie Universität Berlin, Berlin 1992
- Frömming, K.-H.; Eisenbach, N.; Mehnert, W.: Pharm. Ind. **51**, 439 (1989)
- Orzechowski, G.: Med. Welt **11**, 1712 (1960)
- Zöllner, G.; Franck, B.: Pharmazie **5**, 584 (1950)
- Brieskorn, C. H.: Pharm. Ums. Zeit **16**, 161 (1987)
- Watanabe, K.; Fujino, H.; Morita, T.; Kasai, R.; Tanaka, O.: Planta Med. **54**, 405 (1988)
- Kimata, H.; Sumida, N.; Matsufuji, N.; Morita, T.; Ito, K.; Yata, N.; Tanaka, O.: Chem. Pharm. Bull. **33**, 2849 (1985)
- Sasaki, Y.; Mizutani, K.; Kasai, R.; Tanaka, O.: Chem. Pharm. Bull. **36**, 3491 (1988)
- Zhou, X.-h.; Kasai, R.; Yoshikawa, M.; Kitagawa, I.; Tanaka, O.: Chem. Pharm. Bull. **39**, 1250 (1991)
- Nakayama, K.; Fujino, H.; Kasai, R.; Mitoma, Y.; Yata, N.; Tanaka, O.: Chem. Pharm. Bull. **34**, 3279 (1986)
- Hahn, D.-R.; Oinaka, T.; Kasai, R.; Tanaka, O.: Chem. Pharm. Bull. **37**, 2234 (1989)
- Achelis, J. D.; Kroneberg, G.: Arzneim.-Forsch. **6**, 182 (1956)
- v. Nyary, A.: Arch. f. exp. Path. u. Pharmacol. **165**, 423 (1932)

Eingegangen am 3. Dezember 1999
Angenommen am 6. August 2000

Dr. Wolfgang Mehnert
Freie Universität Berlin
Institut für Pharmazie
Pharmazeutische Technologie
Kelchstr. 31
D-12169 Berlin