

Aus der medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und
Gastroenterologie, einschließlich Stoffwechselerkrankungen
der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Biopharmazeutische Aspekte einer Amoxicillin -/ Clavulansäure
- Tablette mit modifizierter Wirkstofffreisetzung

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Christian Friedrich

aus Greifswald

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. Dipl.-Psych. H. Mönnikes
2. Prof. Dr. J. Breitzkreutz
3. Prof. Dr. T. Schweder

Datum der Promotion: 27. März 2009

1.	Einleitung	8
2.	Aufgabenstellung	12
3.	Material und Methoden	13
3.1.	In-vitro-Untersuchungen	13
3.1.1.	Untersuchungen zur Löslichkeit von Amoxicillin	13
3.1.2.	Beschreibung der Tabletten und quantitative Bestimmung des Amoxicillins in den Tablettenschichten	13
3.1.3.	In-vitro-Dissolutionsuntersuchungen von Augmentin XR	14
3.1.3.1.	Bestimmung der Amoxicillinkonzentrationen in vitro mittels UV-Lichtleitertechnik	15
3.1.4.	Magnetische Messungen	17
3.1.4.1.	Physikalische Grundlagen	17
3.1.4.2.	Präparation der Tabletten	23
3.1.4.3.	Aufmagnetisierung	25
3.1.4.4.	Messung des magnetisches Momentes	26
3.1.4.5.	Datenanalyse	28
3.2.	MMM Studie	30
3.2.1.	Durchführung der klinischen Studie	30
3.2.1.1.	Probandencharakteristik	31
3.2.1.2.	Screeninguntersuchungen	31
3.2.1.3.	Ethische und gesetzliche Bestimmungen	33
3.2.1.4.	Datenschutz und Qualitätskontrolle	34
3.2.2.	Magnetische Lokalisationen	35
3.2.2.1.	Physikalische Grundlagen	35
3.2.2.2.	Messapparatur	36
3.2.2.3.	Datensampling	37
3.2.2.4.	Datenanalyse	38
3.2.3.	Arzneistoffanalytik	39
3.2.3.1.	Bestimmung der Amoxicillin- und Clavulansäurekonzentrationen im Plasma	39
3.2.4.	Biometrische Methoden	41
3.2.4.1.	Pharmakokinetik	41
3.2.4.2.	Invasionen	41
3.2.4.3.	Statistische Methoden	43
4.	Ergebnisse	44
4.1.	Untersuchung zur Löslichkeit von Amoxicillin	44
4.2.	Quantitative Amoxicillinbestimmung in den Schichten	44
4.3.	In-vitro-Verhalten der magnetisch markierten Tabletten	44
4.5.	MMM Studie	48
4.5.1.	Compliance und Verträglichkeit	48
4.5.2.	Lokalisierung anhand der magnetischen Daten	49
4.5.3.	Applikation der markierten Tablette nüchtern	52
4.5.4.	Applikation der markierten Tablette zum Frühstück	56
4.5.5.	Applikation der markierten Tablette nach dem Frühstück	60
4.5.6.	Pharmakokinetik der Clavulansäure	63
4.5.7.	Zerfallszeiten und Magenentleerungen	64
4.5.8.	Invasionen nach Nelson Wagner	66
4.5.9.	Pharmakokinetische Parameter	67
5.	Diskussion	71
5.1.	In-vitro-Untersuchungen	71

5.2.	Probandenstudie	76
5.2.1.	Nüchterne Applikation	76
5.2.2.	Applikation zum Frühstück	83
5.2.3.	Applikation nach dem Frühstück	86
6.	Zusammenfassung	89
7.	Literatur	91
8.	Danksagung	96
9.	Anhang	97
9.1.	UV-Kalibration Amoxicillin	97
9.2.	Ergebnisse und Kalibration zur Bestimmung der Löslichkeit des Amoxicillin- Trihydrates	97
9.3.	USP - Phopshatpuffer pH 6,8	98
9.4.	Boluskurven	98
9.5.	Nebenwirkungen	99
9.6.	Nahrungsregime	99
9.7.	Magnetische Lokalisationsdaten der In-Vivo Studie	100
9.8.	Skripte	102
9.8.1.	Simulation von Konzentrations-Zeit-Profilen	102
9.8.2.	Skript zur Erstellung der graphischen Lokalisationen	104
9.8.3.	Auswertung der magnetischen Messungen	113
	Erklärung	116

Abkürzungsverzeichnis:

ALAT	Alanin-Amino-Transferase
AMG	Deutsches Arzneimittelgesetz
ASAT	Aspartat-Amino-Transferase
$AUC_{0-\infty}$	Fläche unter der Arzneistoff-Konzentrations-Zeit-Kurve über das Zeitintervall von Null extrapoliert bis unendlich
$AUC_{0-t_{last}}$	Fläche unter der Arzneistoff-Konzentrations-Zeit-Kurve im Zeitintervall von null bis zur letzten messbaren Konzentration
$AUC_{t_{last}-\infty}$	Extrapolierte Fläche unter der Arzneistoff-Konzentrations-Zeit-Kurve über das im Zeitintervall der letzten messbaren Konzentration bis unendlich
CK	Creatinkinase
C_{last}	Letzte messbare Arzneistoffkonzentration im Plasma
C_{max}	Maximale Arzneistoffkonzentration im Plasma
C_p	Arzneistoffkonzentration im Plasma
D	Dosis
f	Bioverfügbarkeit
FDA	Food and Drug Administration
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GLP	Good Laboratory Practice
GCP	Good Clinical Practice
HBV	Hepatitis B Virus
HCV	Hepatitis C Virus
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IBMP	Institute for Biomedical and Pharmaceutical Research
ICH	International Conference on Harmonisation
IMST	Increased Mechanical Stress Tester
INR	International Normalized Ratio
k_{12}	Geschwindigkeitskonstante der Verteilung aus dem zentralen Kompartiment ins oberflächliche periphere Kompartiment

k_{21}	Geschwindigkeitskonstante der Verteilung aus dem oberflächlichen peripheren Kompartiment ins zentrale Kompartiment
k_{13}	Geschwindigkeitskonstante der Verteilung aus dem zentralen Kompartiment ins tiefe periphere Kompartiment
k_{31}	Geschwindigkeitskonstante der Verteilung aus dem tiefen peripheren Kompartiment ins zentrale Kompartiment
k_{el}/k_{10}	Eliminationskonstante aus dem Plasma
LC-MS/MS	Liquid Chromatographie mit Duplex-Massenspektrometerkopplung
LDH	Laktatdehydrogenase
LLOQ	Lower Limit of Quantification
MCC	Mikrokristalline Zellulose
MCH	Mean Corpuscular Haemoglobin
MCHC	Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration
MCV	Mean Corpuscular Volume
MDT	Magen Darm Trakt
MeOH	Methanol
MHC	Minimale Hemm-Konzentration
MMC	Migrating Motor Complex
MMDT	Magnetic Marker Dissolution Tester
MMM	Magnetic Marker Monitoring
MRPII	Multi Drug Resistance-Related Protein II
MRT	Magnetresonanztomographie
OATP	Organic Anion Transporting Polypeptide
PEPT1	Peptid Transporter 1
P-gp	p-Glycoprotein
PTT	Partielle Thrombinzeit
RP	Reversed Phase
SQUID	Superconducting Quantum Interference Device
$t_{1/2}$	Eliminationshalbwertszeit des Arzneistoffes aus dem Plasma
Tc	Technetium
TFA	Trifluoressigsäure
t_{max}	Zeit bis zum Erreichen der Maximalkonzentration im Plasma

UpM

Umdrehungen pro Minute

USP

United State Pharmacopeia

V_d

Verteilungsvolumen des Arzneistoffes nach intravenöser
Applikation

1. Einleitung

Beim Einsatz einer Vielzahl von Arzneimitteln beobachtet man starke interindividuelle Variabilitäten der Arzneimittelwirkung. Zu den Faktoren, die solche Variabilitäten verursachen, gehören neben Alter, Geschlecht, Begleiterkrankungen, genetischer Disposition, Arzneimittelinteraktionen und Unterschieden in den Organfunktionen von Leber, Herz und Niere auch Unterschiede in den Organfunktionen des Magen-Darm-Traktes (*MDT*) sowie Einflüsse der aufgenommenen Nahrungsmittel (food effects).

Gerade die Aufklärung der Zusammenhänge zwischen dem gastrointestinalen Transport, den Einflüssen der Nahrungsmittelaufnahme und den Mechanismen der Freisetzung und Absorption von Wirkstoffen aus oralen Darreichungsformen ist von fundamentaler Bedeutung für die Interpretation stark schwankender individueller Plasmaspiegel verschiedenster Wirkstoffe und die Entwicklung optimierter neuer Darreichungsformen.

Seit dem Einsatz der Röntgenstrahlung zur Lokalisation oraler Darreichungsformen innerhalb des Magen-Darm-Traktes Mitte der 60er Jahre des letzten Jahrhunderts (Steinberg, Frey et al. 1965) wurden verschiedene Verfahren entwickelt, um intestinale Freisetzungs- und Transportvorgänge zu untersuchen. Seit den 70iger Jahren des vorherigen Jahrhunderts wurde verstärkt die 1956 erstmals beschriebene Gamma-Szintigraphie eingesetzt, um gastrointestinale Abläufe nicht invasiv zu charakterisieren und Arzneiformen im Verdauungstrakt zu lokalisieren (Doering 1956; Harvey, Mackie et al. 1970; Christensen, Davis et al. 1985). Hierbei werden die zu verfolgenden Objekte mittels radioaktiver Nuklide markiert und deren Aktivität mithilfe einer Gammakamera aufgezeichnet. Zur Markierung wird vorrangig [^{99m}Tc]Technetium aber auch [^{123}I]Iod und [^{111}In]Indium genutzt. Daneben kommen auch durch Neutronenbestrahlung aktivierbare Verbindungen wie Samariumoxid zum Einsatz. Ein Nachteil der Gamma-Szintigraphie ist die Belastung mit Röntgen- bzw. Gammastrahlung, so dass deren Einsatz sich bei Studien an Probanden in der Regel als ethisch problematisch darstellt. Weitere Methoden zur Untersuchung des gastrointestinalen Transportes oraler Darreichungsformen sind Ultraschallverfahren, die Magnetresonanztomographie (MRT) und der Einsatz endoskopischer Verfahren. Ein Vorteil von sonographischen Untersuchungen ist die Möglichkeit Bewegungen darzustellen. Nachteile sind die mit zunehmender Schalltiefe geringer werdende Auflösung und die Totalreflektion von Ultraschallwellen an Luftinseln des Magen-Darm-Traktes. Das MRT bietet die Möglichkeit der dreidimensionalen Darstellung und liefert besonders bei der Untersuchung von nicht knöchernen Geweben deutlich präzisere Bilder als Röntgen- und Ultraschalltechniken. Durch die Möglichkeit extrem schneller Aufnahmesequenzen kann

heutzutage neben dem Magen auch der Darm ohne medikamentöse Ruhigstellung zufriedenstellend dargestellt werden. Ein Nachteil des MRT ist die bei intestinalen Untersuchungen bestehende Notwendigkeit des Einsatzes von Kontrastmitteln. Endoskopische Verfahren erlauben neben der Bestimmung des Aufenthaltsortes und des Zustandes der Arzneiform zusätzlich die Gewinnung von Probenmaterial. So können zum Beispiel Informationen über den pH-Wert, das Flüssigkeitsangebot und die Konzentration bestimmter Enzyme in der Umgebung der Arzneiform gewonnen werden. Nachteilig sind hier besonders die erheblichen Unannehmlichkeiten für die Probanden und die Beeinflussung der physiologischen gastrointestinalen Abläufe durch die fiberoptische Sonde. Einen relativ neuen endoskopischen Ansatz stellt das Given[®]-Imaging-System dar. Hierbei wird eine Kapsel mit integrierter Kamera eingesetzt, die den Magen-Darm-Trakt im Rahmen der physiologischen Motilität passiert und pro Sekunde zwei Bilder aufnimmt, die im Anschluss ausgewertet werden. Die Nachteile sind hier die fehlende Steuerbarkeit der Kapsel, die fehlende Möglichkeit zur Probengewinnung und die durch die Akkulebensdauer begrenzte Aufnahmezeit.

Ein relativ neues bildgebendes Verfahren, das sogenannte Magnetic Marker Monitoring (*MMM*) beruht auf dem Einsatz magnetisch markierter Darreichungsformen und deren Lokalisation mithilfe sogenannter SQUID (*Superconducting Quantum Interference Device*) Sensoren (siehe Kapitel 3.2.2.1) (Weitschies 1991; Drung 1995; Hu, Mawatari et al. 2000; Weitschies, Hartmann et al. 2001). Mit diesen Sensoren ist es möglich, schwache magnetische Felder in speziell gegen das Erdmagnetfeld geschirmten Kammern zu messen und hieraus die Position der Darreichungsform *in vivo* zu bestimmen.

In der hier vorgestellten Studie wurde die Methode des Magnetic Marker Monitoring zur Lokalisation einer Amoxicillin und Clavulansäure enthaltenden Tablette mit veränderter Wirkstofffreisetzung verwendet. Bei Amoxicillin ((2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(*R*)-(-)-2-Amino-2-(*p*-hydroxyphenyl)acetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carbonsäure) (siehe Abbildung 1) handelt es sich um ein erstmals 1970 semisynthetisch aus 6-Aminopenicillansäure hergestelltes und charakterisiertes Antibiotikum aus der Gruppe der Aminopenicilline (Long and Nayler 1970; Sutherland and Rolinson 1970).

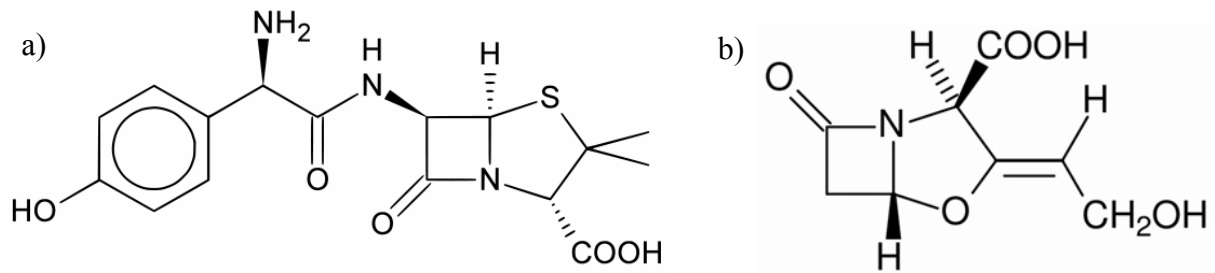


Abbildung 1: a) Strukturformel von Amoxicillin ((2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(*R*)-(-)-2-Amino-2-(*p*-hydroxyphenyl)acetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carbonsäure)
 b) Strukturformel von Clavulansäure ((*Z*)-(2*R*,5*R*)-3-(2-hydroxyethylidene)-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]-heptane-2-carbonsäure)

Aminopenicilline werden aufgrund ihres gegenüber dem Benzylpenicillin in den gramnegativen Bereich erweiterten Spektrums auch als Breitspektrumpenicilline bezeichnet. Durch die phenolische Hydroxylgruppe in Position 4 des Phenylrestes ist die Resorption des Amoxicillins mit 70 bis 80 % deutlich größer als die des Strukturanalogons Ampicillin mit etwa 40 %. Aufgrund der höheren Resorptionsquote werden nach Amoxicillingabe seltener gastrointestinale Nebenwirkungen beobachtet. Eingesetzt wird Amoxicillin bevorzugt bei Infektionen der Atem-, Harn- und Gallenwege (Mutschler 1996). Die Wirkung des Amoxicillins beruht auf einer kovalenten Hemmung der bakteriellen D-Alanin-Transpeptidase und damit des letzten Schrittes der Peptidoglykansynthese. Da Peptidoglykane wichtige Ausgangsstoffe der Synthese der bakteriellen Zellwand darstellen, kommt es zur Bakteriolyse proliferierender Erreger. Die minimale Hemmkonzentration (*MHC*) liegt je nach Erreger zwischen 8 und 2 µg/mL (gramnegative Enterobakterien bzw. Streptokokkus pneumoniae; RX-List 2005).

Da die Aminopenicilline zu den gegenüber mikrobiellen Beta-Laktamasen labilen Antibiotika gehören, werden diese häufig mit Beta-Laktamase-Inhibitoren kombiniert. Diese wirken zwar selbst nur schwach antimikrobiell, hemmen jedoch die Beta-Laktamasen vom Typ II bis V irreversibel. Dies geschieht durch Bindung an das aktive Zentrum der Beta-Laktamase und Öffnung des Beta-Laktamringes unter Acylierung des Enzyms. Daher werden diese Wirkstoffe auch als Suizidinhibitoren bezeichnet.

In Kombination mit Amoxicillin wird deshalb häufig die aus *Streptomyces clavuligerus* isolierte Clavulansäure ((*Z*)-(2*R*,5*R*)-3-(2-hydroxyethylidene)-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]-heptan-2-carbonsäure) eingesetzt (siehe Abbildung 1). Hierbei handelt es sich um ein Strukturanalogon der Penicillansäure mit Oxapenamstruktur.

Sowohl bei den handelsüblichen Amoxicillin-Monopräparaten als auch bei den Kombinationspräparaten mit Clavulansäure handelte es sich in der Vergangenheit um schnell freisetzende Zubereitungen. Dies ist sinnvoll, da es aufgrund der Irreversibilität der Wirkmechanismen vor allem wichtig ist, dass die maximalen Plasmakonzentrationen oberhalb der minimalen Hemmkonzentrationen liegen. Einen neuen Ansatz stellt das im September 2002 in den USA zugelassene Augmentin XR der Firma Glaxo Smith Kline dar. Hier ist zusätzlich zu einer Amoxicillin und Clavulansäure enthaltenden schnell freisetzenden Schicht ein Teil des Amoxicillins in einer retardierenden Schicht enthalten. Das Ziel ist es, hierdurch länger hohe Konzentrationen an Amoxicillin aufrecht zu erhalten und so auch Erreger zu erreichen, die sich während des initialen Amoxicillinpeaks in der Ruhephase befanden und daher nicht erreicht werden konnten. Mit Augmentin XR sollen so insbesondere penicillinresistente Stämme von *Streptococcus pneumoniae* bekämpft werden, bei denen Tierstudien einen direkten Zusammenhang zwischen der Länge des Zeitraumes mit Amoxicillinspiegeln oberhalb der MHC und der Effektivität des Amoxicillineinsatzes zeigten (Vogelman, Gudmundsson et al. 1988; Woodnutt and Berry 1999). In der Zulassungsstudie des Präparates Augmentin XR wurde dieses den Probanden nüchtern, zu Beginn eines kohlenhydratreichen Frühstücks und 30 Minuten nach einem fettreichen Frühstück appliziert. Dabei zeigte sich, dass bei nüchterner Applikation die im Organismus verfügbare Menge an Amoxicillin deutlich unter derjenigen der anderen beiden Regime lag, während die verfügbare Menge an Clavulansäure bei Applikation nach dem fettreichen Frühstück deutlich gegenüber den anderen Regimen vermindert war. Daher wird in der Patienteninformation von Augmentin XR empfohlen, das Medikament zu Beginn einer Mahlzeit einzunehmen. Die Mechanismen, die zu den Unterschieden in der Bioverfügbarkeit des Amoxicillins und der Clavulansäure führten, sind weitestgehend ungeklärt.

2. Aufgabenstellung

In früheren Arbeiten wurden bereits mehrfach In-vitro- und In-vivo-Untersuchungen zu Freisetungsverhalten und Verlauf des magnetischen Momentes verschiedener magnetisch markierter Arzneiformen durchgeführt (Weitschies, Hartmann et al. 2001; Weitschies, Karaus et al. 2001; Weitschies, Wedemeyer et al. 2005). Das zur Markierung verwendete Magnetit wurde hierbei bei der Herstellung mit in die Arzneiform eingearbeitet und war somit statistisch verteilt. Die Möglichkeit der nachträglichen Markierung fertiger Arzneistoffe wurde dagegen bisher nur In-Vitro untersucht (Klug 2003).

Ziel dieser Arbeit war die In-vitro- und In-vivo- Untersuchung nachträglich markierter Augmentin XR Tabletten der Firma Glaxo Smith Kline. Hierbei handelt es sich um zweischichtige Tabletten mit veränderter Wirkstofffreisetzung, die in der ersten schnell freisetzenden Schicht Amoxicillin und Clavulansäure und in der zweiten retardierenden Schicht nur Amoxicillin enthalten. In Kooperation mit der Abteilung Biopharmazie und Pharmazeutische Technologie des Instituts für Pharmazie der Ernst-Moritz-Arndt Universität Greifswald sollten die Tabletten beidseitig mit jeweils einer mit Magnetit gefüllten Bohrung magnetisch markiert und mithilfe einer bereits mehrfach bewährten Freisetzungsapparatur charakterisiert werden. Im ersten Schritt sollte insbesondere die In-vitro-Korrelation zwischen Freisetzung der Wirkstoffe und Zerfall der beiden Marker bestimmt werden.

Des Weiteren sollten in Zusammenarbeit mit der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt Berlin die magnetisch markierten Tabletten sowohl nach nüchterner Applikation als auch nach Applikation mit zwei verschiedenen Nahrungsregimen entsprechend der Zulassungsstudie der Firma Glaxo Smith Kline in 9 gesunden Probanden verfolgt und simultan Konzentrations-Zeit-Profile der beiden Wirkstoffe aufgezeichnet werden.

Hierdurch sollten die Mechanismen näher untersucht werden, die zu den Unterschieden in der Bioverfügbarkeit des Amoxicillins und der Clavulansäure unter den verschiedenen Nahrungsregimen führten (siehe Kapitel 1). Vorrangig war zu klären, ob und in welchem Umfang die Entwicklung der Plasmaspiegel durch den Transport der Arzneiform innerhalb des Magen-Darm-Traktes und damit auch durch den Ort der Wirkstofffreisetzung und -absorption bestimmt wurde und inwiefern dabei der Einnahmezeitpunkt und die Zusammensetzung der aufgenommenen Nahrung eine Rolle spielte.

3. Material und Methoden

3.1. In-vitro-Untersuchungen

3.1.1. Untersuchungen zur Löslichkeit von Amoxicillin

Zur Untersuchung der Löslichkeit des Amoxicillin-Natriumsalzes und des Amoxicillin-Trihydrates wurde ein Milliliter einer gesättigten Lösung in Phosphatpuffer pH 6,8 USP (*United State Pharmacopeia*; siehe 9.3) bereitet. Diese wurde durch Rühren bei 25 °C mit 500 Umdrehungen pro Minute (UpM) über 24 Stunden hergestellt. Die Ermittlung der dann gelösten Menge erfolgte nach Filtration durch einen Spritzenfilter (Porengröße 22 µm) und 10-facher Verdünnung mittels einer HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)-Methode.

Gerät: Shimazu Liquid Chromatograph (Interface SCL 10 A, Pumpe LC 10 AD, Injektor SIL 10 AD, Thermostat CTO 10 AS, Säule LiChroCART 125-4, Vorsäule: LiChroCART 4-4, Detektor: Dioden-Array SPD M10A)

Die Untersuchungen erfolgten mit einer Flussrate von 2,3 mL/min, einer Säulentemperatur von 30°C und dem in Tabelle 1 dargestellten Laufmittelprogramm.

Tabelle 1: HPLC-Laufmittelprogramm zur Untersuchung der Löslichkeit von Amoxicillin Trihydrat

t [min]	MeOH [%]	0.01 % TFA, pH 2,86 [%]
0.01	0	100
1.00	0	100
14.00	95	5
15.00	0	100
22.00	0	100

Die Detektion erfolgte in einem mit der HPLC gekoppelten UV-VIS-Spektrometer bei 228 nm.

3.1.2. Beschreibung der Tabletten und quantitative Bestimmung des Amoxicillins in den Tablettenschichten

Zu den Untersuchungen wurden Augmentin XR Tabletten mit 1000 mg Amoxicillin und 62,5 mg Clavulansäure der Firma Glaxo Smith Kline verwendet. Die 22 x 9 x 8 mm oblongen Tabletten mit einseitiger Bruchkerbe bestehen aus einer schnell freisetzenden Schicht für einen Teil des Amoxicillins und die Clavulansäure und einer Schicht mit veränderter Wirkstofffreisetzung für das restliche Amoxicillin. 562,5 mg des Amoxicillins sind als Trihydrat enthalten, die restlichen 437,5 mg als Amoxicillin-Natrium Salz. Die Clavulansäure ist als

Kaliumsalz eingearbeitet. An Hilfsstoffen sind mikrokristalline Cellulose, anhydrides kolloidales Silicium, Natriumcarboxymethylamidon A, Magnesiumstearat, Xanthangummi, anhydrierte Zitronensäure, Hypromellose, Titandioxid (E171) und Polyethylenglykol enthalten.

Zur Bestimmung des Amoxicillingehaltes der einzelnen Tablettenschichten wurden diese mithilfe eines Skalpells getrennt (Abbildung 2) und in 500 mL Phosphatpuffer pH 6,8 USP gelöst. Die Messung erfolgte entsprechend der Standardanalytik (Kapitel 3.1.3.1) photometrisch bei einer Wellenlänge von 273 nm. Gleichzeitig wurde die Absorption bei 450 nm bestimmt, um den Trübungsanteil der Lösung durch nicht lösliche Bestandteile der Tablette quantifizieren zu können.



Abbildung 2: Trennung der Schichten einer Tablette Augmentin XR

3.1.3. In-vitro-Dissolutionsuntersuchungen von Augmentin XR

Die Dissolutionsuntersuchungen von Augmentin XR wurden mittels des in Abbildung 3 dargestellten Magnetic Marker Dissolution Testers (*MMDT*, siehe auch 3.1.4.4) durchgeführt. Dabei wurde die zu untersuchende Tablette in ein Körbchen am Ende des T-förmigen Rührers platziert und mit einer konstanten Geschwindigkeit von 50 Umdrehungen pro Minute (Rührer: Erweka DT) bewegt.

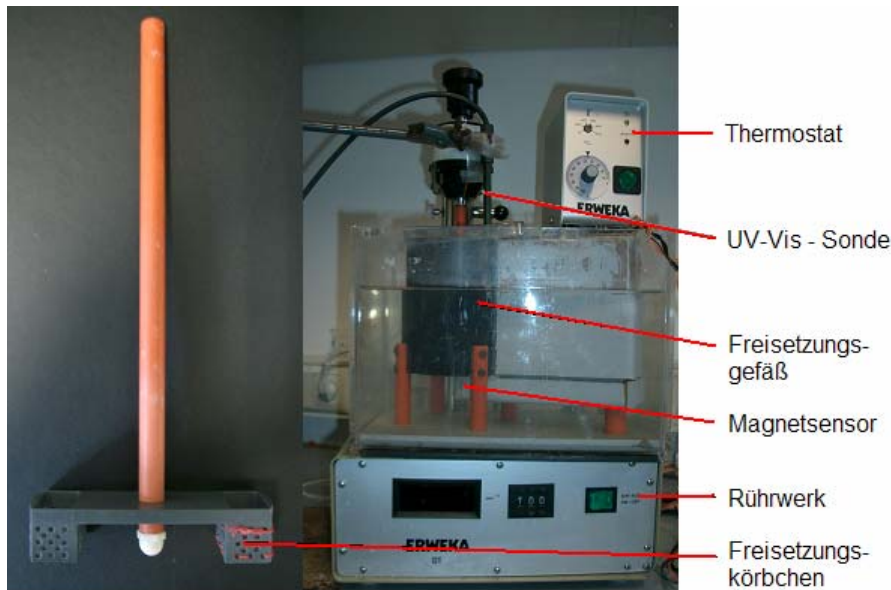


Abbildung 3: Freisetzungseinrichtung (MMDT) zur Messung der Wirkstofffreisetzung sowie des magnetischen Momentes.

Als Medium wurde Phosphatpuffer pH 6,8 USP mit einer Temperatur von 37 °C verwendet. Die gesamte Freisetzungsvorrichtung wurde mittels eines Wasserbades auf die gewünschte Temperatur von $37 \pm 0,5$ °C temperiert (Thermostat Erweka E / Ral 7035). Nach dem sichtbaren Zerfall der schnell freisetzenden Schicht innerhalb der ersten 30 Minuten wurde das Medium komplett erneuert. Die Vortemperierung des neuen Mediums erfolgte in einem gesonderten Wasserbad (Thermostat: Haake C1).

3.1.3.1. Bestimmung der Amoxicillinkonzentrationen *in vitro* mittels UV-Lichtleitertechnik

Während der gesamten Messzeit wurden die Amoxicillinkonzentrationen mit einem Spektrophotometer mit angeschlossenenem Koppler und Sonde der Firma Varian bestimmt (Varian Cary 50 Scan, Fibre Optic, Fibre Optic Coupler). Die Messungen erfolgten mittels Lichtleitertechnik, wodurch quasikontinuierliche automatisierte Messungen möglich waren (Brown and Lin 1993). Die Validität dieser Methode hinsichtlich des Einsatzes bei Dissolutionsmessungen konnte mehrfach gezeigt werden (Chen and Brown 1994; Schatz, Ulmschneider et al. 2000; Schatz, Ulmschneider et al. 2000). Es entfallen hierbei aufwendige Arbeitsschritte wie das Probenziehen, der Transport der Proben und das Aufarbeiten. Gemessen wurde bei den Wellenlängen 273 nm und 450 nm.

Die Lichtleitertechnik basiert auf dem Prinzip der Totalreflexion an Grenzflächen, das heißt, in einem Glasfieberkabel können Lichtstrahlen, welche unter einem bestimmten Grenzwinkel auf die Kontaktfläche zwischen Glasfaserkabel und umgebendem Material treffen, das Kabel nicht verlassen. Dadurch bleiben die Intensitätsverluste bei der Leitung von elektromagnetischen Strahlen aus dem Bereich des sichtbaren und ultravioletten Lichtes mittels Glasfasertechnik in einer akzeptablen Größenordnung.

Analog zu Küvetten in der konventionellen UV/Vis-Spektrophotometrie wird bei der Spektrophotometrie mittels Lichtleitertechnik eine Tauchsonde eingesetzt, die durch ein Glasfaserkabel mit dem Spektrometer verbunden ist. Dabei wird die Absorption in einer definierten Schichtdicke bestimmt. Schwierigkeiten bei dieser Methode entstehen vor allem durch die fehlende Möglichkeit, die Proben vor der Messung zu filtrieren. Da Hilfsstoffe der Tablette (siehe Kapitel 3.1.2) während der Messungen zu Trübungen führen, muss dieser Einfluss analytisch kompensiert werden. Daher wurde das Ausmaß der Trübung durch Messung der Absorption bei 450 nm bestimmt. Dabei wurde davon ausgegangen, dass die Trübungen bei allen Wellenlängen gleich große Intensitätsverluste durch Streuung / Reflexion erzeugen (Schatz 2001). Ein weiterer Nachteil der Glasfasertechnik sind die durch die Umlenkung des Messwellenstrahls bedingten Transmissionsverluste von bis zu 60 % im Vergleich zum Einsatz einer Küvette. Diese werden durch Absorptionen durch das Glasfasermaterial bei Wellenlängen unterhalb von 300 nm noch verstärkt. Durch die resultierende Verringerung des Grundsignals wirken sich die Anteile des Streulichtes und des elektronischen Rauschens stärker aus als bei der konventionellen Methode (Schatz 2001).

Für die Messung der Amoxicillinfreisetzungen wurde eine Transflexionssonde verwendet. Hierbei erfolgt die Umlenkung des Lichtstrahls in der Tauchsondenspitze in das zum Detektor führende Glasfaserkabel mithilfe eines Spiegels. Gemessen wurde mit einer Sondenspitze mit 5 mm breitem Spalt, was einer effektiven Schichtdicke von 10 mm entspricht. Die Messungen erfolgten in einminütigen Intervallen bei Wellenlängen von 273 nm und 450 nm. Einflüsse der Clavulansäure auf die Messergebnisse wurden durch photometrische Messung einer 0,007 %igen Clavulansäurelösung ausgeschlossen. Im Bereich von 270-275 nm zeigte diese Lösung keine Absorption.

3.1.4. Magnetische Messungen

Simultan zur Messung der Amoxicillinfreisetzung wurde der Verlauf des magnetischen Momentes der zuvor markierten Augmentin XR Tabletten bestimmt.

3.1.4.1. Physikalische Grundlagen

Beim Magnetismus handelt es sich um ein physikalisches Phänomen, welches sich in anziehenden oder abstoßenden Kräften zwischen Teilchen äußert und durch die Bewegung von elektrischen Ladungen oder durch den Spin der Elementarteilchen entsteht. Das induzierte magnetische Feld H eines Festkörpers stellt die Summe der einzelnen Momente sämtlicher Atome dar. Den Zusammenhang zwischen elektrischen und magnetischen Feldern und deren Erzeugung durch Ladungen und Ströme beschreiben die vier von James Clerk Maxwell 1861 bis 1864 erarbeiteten Maxwell'schen Gleichungen. Sie stellen sich in ihrer differentiellen Form wie folgt dar:

$$(1) \operatorname{div} \vec{D} = \rho \quad (2) \operatorname{div} \vec{B} = 0 \quad (3) \operatorname{rot} \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad (4) \operatorname{rot} \vec{H} = \vec{J} + \frac{\partial \vec{D}}{\partial t}$$

Hierbei beschreibt ρ die Ladungsdichte, J die Stromdichte und D die elektrische Flussdichte. Diese entspricht der elektrischen Feldstärke E nach Abzug von Beiträgen durch die Polarisation des Mediums. Im Vakuum entspricht daher die elektrische Feldstärke bis auf einen durch unterschiedliche Einheiten bedingten Faktor der elektrischen Flussdichte. Analog dazu stellt die magnetische Feldstärke H genau den Betrag der magnetischen Flussdichte B ohne Berücksichtigung von paramagnetischen und diamagnetischen Beiträgen des Mediums dar (Jäger and Pertel 1981). Im SI-System besitzen H die Einheit Ampere/Meter (A/m) und B das Tesla (T). Aus historischen Gründen wird noch häufig die Einheit Gauß für die magnetische Induktion verwendet. Hier gilt: $G=10^{-4}T$. Aus den Maxwell'schen Gleichungen folgen:

Gleichung 1: Das D -Feld ist ein Quellenfeld. Die Ladung (Ladungsdichte ρ) ist Quelle des elektrischen Feldes.

Gleichung 2: Das B -Feld ist quellenfrei. Es gibt keine magnetischen Monopole.

Gleichung 3: Jede Änderung des B -Feldes führt zu einem elektrischen Gegenfeld. Die Wirbel des elektrischen Feldes sind von der zeitlichen Änderung der magnetischen Induktion abhängig.

Gleichung 4: Die Wirbel des Magnetfeldes hängen von der elektrischen Stromdichte J und von der Verschiebungsstromdichte ab (Wikipedia.org 2001).

Die Zusammenhänge zwischen elektrischer Feldstärke und elektrischer Flussdichte sowie magnetischer Feldstärke und magnetischer Flussdichte im Vakuum kann man wie folgt beschreiben:

$$(5) D = \epsilon_0 E,$$

$$(6) B = \mu_0 H.$$

Hierbei ist ϵ_0 die Dielektrizitätskonstante des Vakuums und μ_0 die Permeabilitätskonstante des Vakuums.

In Materie gilt dementsprechend:

$$(7) D = \epsilon_0 \epsilon_r E,$$

$$(8) B = \mu_0 \mu_r H,$$

mit ϵ_r als relativer Dielektrizitätskonstante und μ_r als relativer magnetischer Permeabilität des jeweiligen Stoffes (Jäger and Pertel 1981).

Zur Beschreibung des Verhaltens von Stoffen im magnetischen Feld benutzt man den Ausdruck der magnetischen Suszeptibilität (χ_m).

$$(9) \chi_m = \frac{\partial M}{\partial H}$$

M stellt dabei die Größe der Magnetisierung dar und ist definitionsgemäß die Summe der magnetischen Momente pro Volumen. Die Magnetisierung eines Körpers ist ungleich Null, wenn dieser Körper ein magnetisches Dipolmoment besitzt. Die magnetische Suszeptibilität beschreibt dann die Änderung der Magnetisierung bei einer Änderung des magnetischen Feldes. Häufig ist diese Beziehung linear und man erhält:

$$(10) \chi_m = \frac{M}{H}$$

Hieraus folgt für die relative magnetische Permeabilität: $\mu_r = \chi_m + 1$. Anhand der Suszeptibilität werden magnetische Stoffe in zwei Gruppen unterteilt, die diamagnetischen und die paramagnetischen Stoffe. Viele Lehrbücher nehmen eine Unterteilung in drei Gruppen vor. Die dritte Gruppe bilden hier die Ferromagnetika, deren Suszeptibilitäten wie bei den Paramagnetika größer als Null sind, jedoch meist um mehrere Zehnerpotenzen über denen der Paramagnetika liegen.

Diamagnetische Stoffe besitzen eine Suszeptibilität kleiner null ($\chi_m < 0$), d.h. sie magnetisieren sich gegen die Richtung eines externen Magnetfeldes. Sie haben also das Bestreben, ein äußeres Magnetfeld aus ihrem Inneren zu verdrängen. Erklären lässt sich dies mithilfe der Lenzschen Regel. Diese besagt, dass in einem Leiter, welcher sich in einem statischen Magnetfeld bewegt, ein elektrischer Strom induziert wird. Dieser erzeugt ein konzentrisches Magnetfeld im Leiter, welches dem ursächlichen Magnetfeld entgegenwirkt. Ähnlich verhält es sich bei einzelnen Teilchen wie Atomen oder Molekülen. Modellhaft mit der Annahme von Kreisbahnen der Elektronen um ihre Atomkerne kann man sich vorstellen, dass ein statisches Magnetfeld in diesen Teilchen einen Kreisstrom induziert, dessen Magnetfeld dem äußeren entgegenwirkt. Quantenmechanisch beruhen die diamagnetischen Eigenschaften von Feststoffen auf den magnetischen Momenten der Elektronen, die durch deren Spin erzeugt werden. Somit wird klar, dass alle Materialien eine diamagnetische Komponente besitzen, im allgemeinen wird diese jedoch von den weitaus stärkeren paramagnetischen oder ferromagnetischen Eigenschaften der Stoffe überlagert, so dass sie nur bei rein diamagnetischen Stoffen zum Tragen kommt.

Paramagnetismus bezeichnet die Eigenschaft von Substanzen, sich im äußeren Magnetfeld so zu magnetisieren, dass sie dieses Feld geringfügig verstärken. Das heißt, diese Substanzen werden in ein äußeres Magnetfeld hineingezogen. Paramagnetische Materialien haben eine Suszeptibilität größer null ($\chi_m > 0$). Ursache hierfür ist die Ausrichtung der mikroskopischen magnetischen Momente dieses Stoffes, deren Existenz sich aus der Verknüpfung vom Gesamtdrehimpuls eines atomaren Zustandes mit seinem magnetischen Moment μ ergibt. Der Gesamtdrehimpuls eines Atoms setzt sich aus drei Komponenten zusammen:

- dem Elektronenspin
- dem Bahndrehimpuls der Elektronen und
- dem Kernspin der Nukleonen.

Da das zum Kernspin gehörende magnetische Moment im Vergleich zum Bahndrehimpuls und dem Elektronenspin sehr gering ist, soll dieses hier vernachlässigt werden. Der Gesamtdrehimpuls eines Atoms lässt sich theoretisch aus den Hund'schen Regeln bestimmen. Atome mit voll besetzten Außenschalen bzw. Atome mit bis auf ein Elektron halb besetzten Außenschalen haben also den Gesamtdrehimpuls null. Diese wären somit diamagnetisch. Beispiele sind hier H_2O und N_2 (beides Moleküle). Alle restlichen Stoffe zählen folglich zu den paramagnetischen Stoffen.

Diese Art des Paramagnetismus wird auch als Langevin-Paramagnetismus bezeichnet und ist temperaturabhängig. Dies wird mit dem Curieschen Gesetz beschrieben:

$$(10) \chi_{\text{Langevin}} = \frac{C}{T}$$

C – Curiekonstante

Anders verhält es sich bei Metallen. Hier besitzen die angeregten Leitungselektronen die Möglichkeit, ihren Spin im Magnetfeld auszurichten. Dieser als Pauli-Paramagnetismus bezeichnete Effekt ist temperaturunabhängig.

Beispiele für paramagnetische Stoffe sind Al, Na und O₂.

Der Ausrichtung der mikroskopischen magnetischen Momente entgegen wirken thermische Neuordnungen dieser Dipole. Der Ausrichtungsgrad ist somit von der Stärke des angelegten Magnetfeldes abhängig (Abbildung 4).

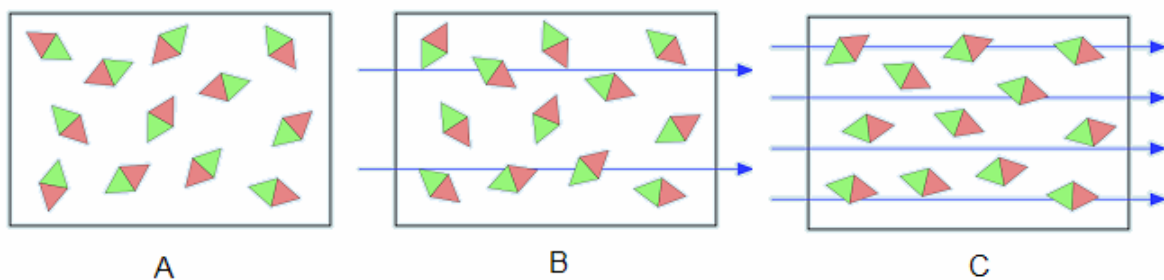


Abbildung 4: Ausrichtung der Teilchen eines paramagnetischen Stoffes:

A) ohne Magnetfeld; B) im schwachen Magnetfeld; C) im starken Magnetfeld

Dieser Zusammenhang wird durch Umstellung von Gleichung 10 deutlich (Gleichung 11):

$$(11) M = \chi H, \chi > 0$$

Somit wird deutlich, dass paramagnetische Stoffe mit hoher Suszeptibilität sich leichter magnetisieren lassen als solche mit kleiner Suszeptibilität.

Bisher wurden nur Stoffe betrachtet, deren magnetische Momente ungekoppelt waren. Es existieren jedoch auch Stoffe, bei denen die magnetischen Momente gekoppelt sind. Legt man bei diesen Stoffen ein äußeres Feld an, können sich die einzelnen Momente nicht unabhängig voneinander ausrichten. Sie besitzen eine aus energetischen Gründen bevorzugte magnetische Ordnung. Diese bleibt auch nach dem Abschalten des Magnetfeldes eine gewisse Zeit erhalten. Anhand der Ausrichtung der einzelnen Momente zueinander unterteilt man nun ferromagnetische, antiferromagnetische und ferrimagnetische Materialien. Bei den

ferromagnetischen Materialien stehen die magnetischen Momente parallel zueinander (z.B. Eisen, Nickel und Cobalt). Bei antiparalleler Ausrichtung spricht man von antiferromagnetischen Stoffen (z.B.: FeO, NiO und CoO). Überschreitet das äußere Feld einen Grenzwert, klappen die magnetischen Momente um und der Stoff zeigt dann ferromagnetische Eigenschaften. Ferrimagnete sind eine Mischform aus Ferromagneten und Antiferromagneten. Die Spins der Atome sind zwar auch hier antiparallel ausgerichtet, jedoch kompensieren sie sich nicht über den gesamten Kristall hinweg. Ferrimagnete sind in ihren Eigenschaften den Ferromagneten sehr ähnlich. Zu den Ferrimagneten gehören das von uns verwendete Magnetit (Fe_3O_4) und das Hämatit (Fe_2O_3). Bei einer Temperaturerhöhung wird die Ausrichtung der magnetischen Ordnung gestört und oberhalb einer bestimmten Temperatur vollständig zerstört. Der Stoff verliert seine ferro- bzw ferrimagnetischen Eigenschaften und verhält sich nun paramagnetisch. Bei Ferromagneten bezeichnet man diese Temperatur als Curie-Temperatur (T_c). Die Bereiche paralleler Spinanordnungen bezeichnet man als Weiß'sche Bezirke, ihre Grenzen als Blochwände (Abbildung 5). Weiß'sche Bezirke erstrecken sich über Gebiete von etwa 10^{-7}m Durchmesser und aufgrund ihrer statistischen Verteilung zeigen unbeeinflusste ferromagnetische Stoffe nach außen keine Magnetisierung (Grimsehl 1988).

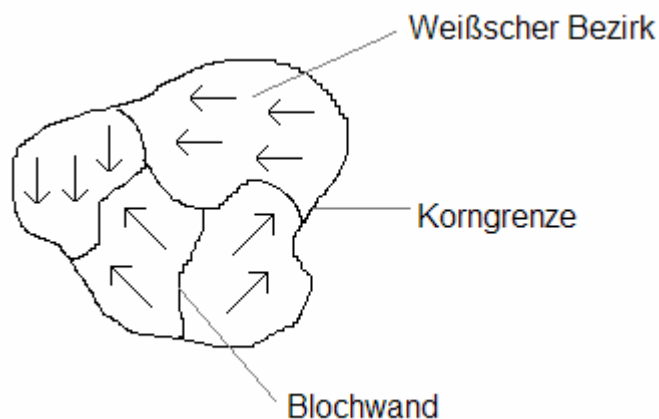


Abbildung 5: Mikroskopischer Aufbau eines unbeeinflussten Ferromagneten

Im äußeren Magnetfeld wachsen Bezirke, deren Richtung des magnetischen Momentes mit dem des Magnetfeldes übereinstimmt, während benachbarte Bereiche kleiner werden. Dies bezeichnet man als Wandverschiebung. Demgegenüber steht der Barkhausen-Effekt, der nur bei starken Magnetfeldern auftritt und den man mit dem Umklappen ganzer Bezirke in Richtung des äußeren Magnetfeldes erklärt. Vorzugsweise handelt es sich hierbei um Bezirke mit Momenten, die im stumpfen Winkel zu den Magnetfeldlinien des äußeren Feldes stehen (Grimsehl 1988).

Die Suszeptibilität ist bei ferromagnetischen Stoffen also keine Konstante mehr, sondern eine Funktion von H und hängt von der magnetischen Vorbehandlung ab. Misst man für einen ferromagnetischen Werkstoff die Flussdichte B in Abhängigkeit vom Feld H , so ergibt sich qualitativ das in Abbildung 6 gezeigte und als ferromagnetische Hystereseschleife bezeichnete Verhalten.

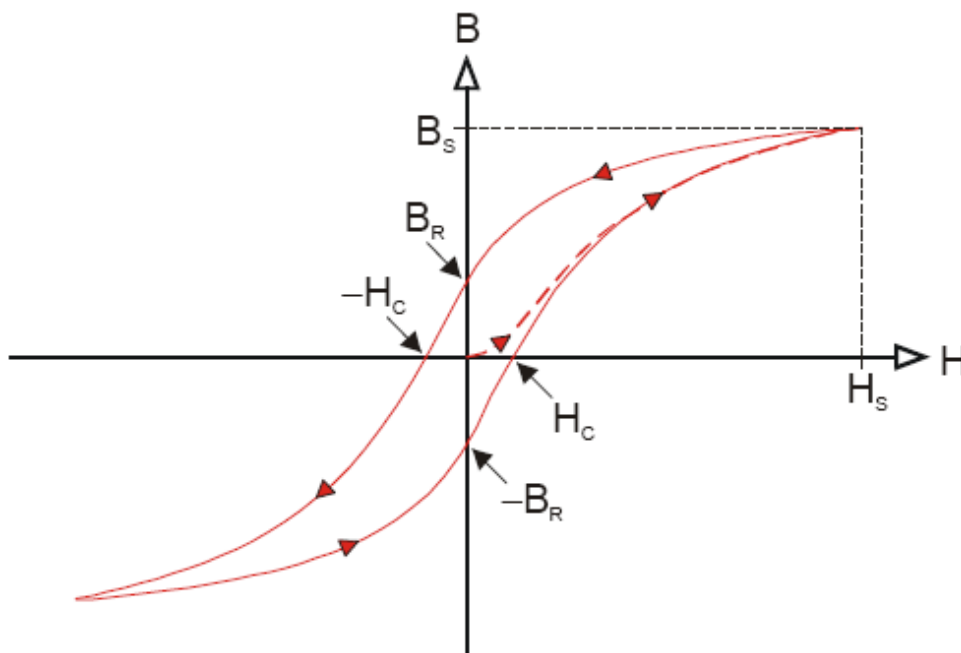


Abbildung 6: Magnetisierungskurve (Hystereseschleife) ferromagnetischer Stoffe, H_s – magnetisches Sättigungsfeld, B_s – Sättigungsflussdichte, B_R - Remanenzpunkt

Eine vorher entmagnetisierte Probe wird längs der Neukurve (gestrichelt) bis zu einer maximalen Flussdichte, der Sättigungsflussdichte B_s , magnetisiert. Nach Abschalten des Feldes H geht die Flussdichte jedoch nur auf eine Restflussdichte B_R , der sogenannten Remanenz zurück. Erst nach Umpolen des Feldes erreicht die Flussdichte im ferromagnetischen Material, bei der sogenannten Koerzitivkraft H_C wieder den Wert Null. Erhöht man die Feldstärke bis zum negativen Wert des magnetischen Sättigungsfeldes H_s und polt wieder um, so wird die Hysteresekurve in Pfeilrichtung durchfahren.

3.1.4.2. Präparation der Tabletten

Materialien:	Magnetit	Caelo,Hilden Germany
	Magnesiumstearat	Caelo,Hilden Germany
	Mikrokristalline Cellulose	Caelo,Hilden Germany
	Magnetitverreibung	1 Teil Magnetit 9 Teile Mikrokristalline Cellulose
Geräte:	Bohrmaschine Proxxon TBM 220, Niersbach, Germany	

Zuerst erfolgte die Massebestimmung der zu markierenden Tablette. Mittels einer Kalibrationstablette mit vorgegebener Bohrung auf der schnell-freisetzenden Seite wurde die Halterung auf dem Bohrtisch und die Höhenarretierung des Bohrers justiert. Als nächstes wurde dann die Kalibrationstablette durch die unmarkierte Tablette ersetzt und die Bohrung bis zur eingestellten Tiefe gesetzt. Nach dem Abschlagen des ausgebohrten Materials und erneutem Wiegen wurde der gesamte Vorgang auf der retardiert-freisetzenden Seite mit der entsprechenden Kalibrationstablette wiederholt.

Unter Aussparung beider Bohrungen erfolgte dann ein Umwickeln mit Parafilm, um eine Verschmutzung der restlichen Oberfläche zu verhindern. Dann wurde die zuvor angefertigte 10%ige Magnetitverreibung unter wiederholtem Anpressen und mehrfacher Kontrolle mittels Wiegen zuerst in die Bohrung der schnell-freisetzenden Schicht und dann in die Bohrung der verzögert-freisetzenden Schicht eingebracht. Die in die Bohrungen eingebrachten Mengen der Magnetitverreibung lagen zwischen 4,5 und 7,5 mg je Bohrung. Dann wurde die verschmutzte Parafilmumwicklung entfernt und die Tablette unter Aussparung der Bohrung in der verzögert-freisetzenden Schicht erneut mit Parafilm umwickelt. Mit Magnesiumstearat erfolgte nun der Verschluss dieser Bohrung, um ein vorzeitiges Erweichen der Markierung der Retardschicht zu vermeiden. Nach dem erneuten Abwickeln schloss sich jetzt die Aufmagnetisierung an (Abbildung 7).

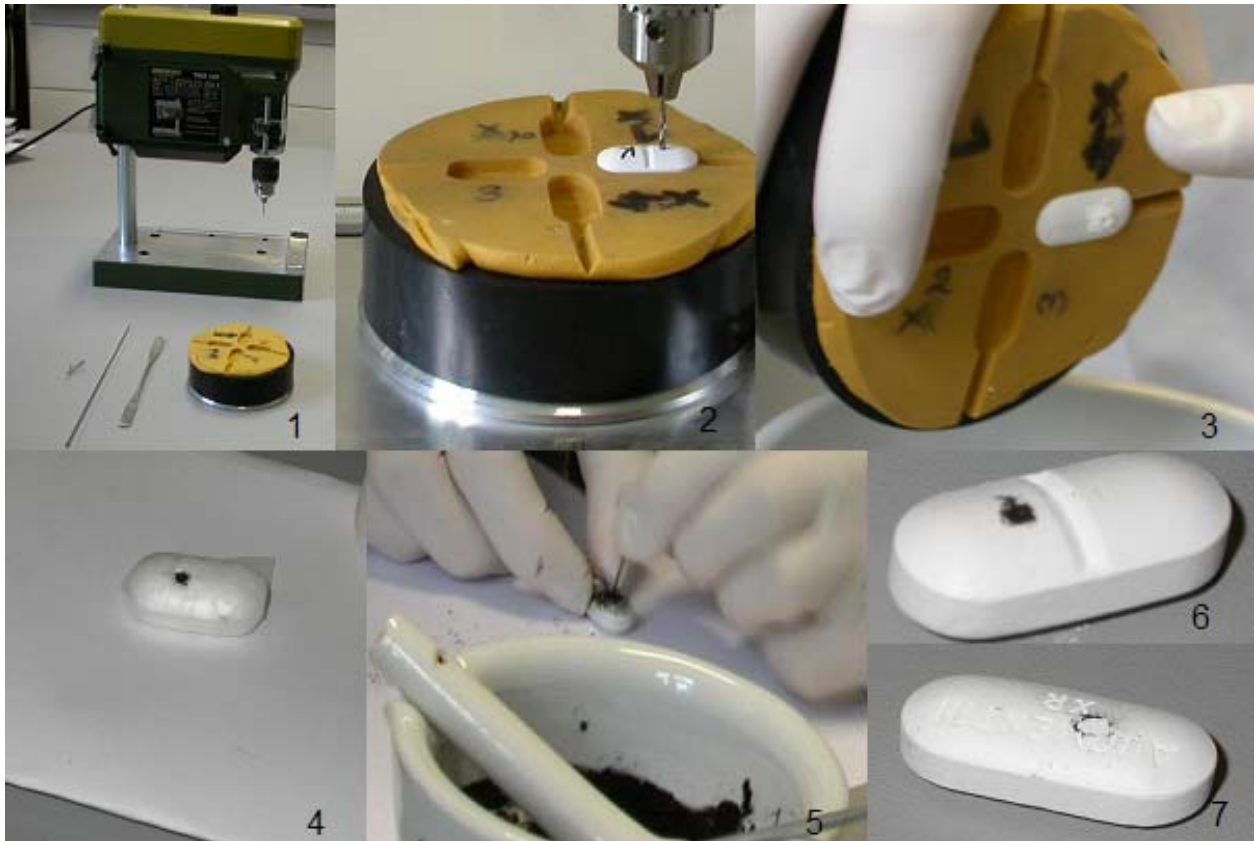


Abbildung 7: Arbeitsschritte zur Markierung von Augmentin XR. 1) Geräte, 2) Einbringen der Bohrung, 3) Abschlagen des ausgebohrten Materials 4) mit Parafilm umwickelte Tablette (in die Bohrung der schnell-freisetzenden Schicht ist bereits Magnetitverreibung eingebracht) 5) Füllung der Bohrung der Retardschicht mit Magnetitverreibung, 6) markierte Immediate-Release-Schicht, 7) markierte Retardschicht mit Magnesiumstearat verschlossen.

3.1.4.3. Aufmagnetisierung

Die Aufmagnetisierung erfolgte mit einem Elektromagneten (Bruker B-EC1), der mit Stromstärken zwischen 0,0005 Ampere und 30 Ampere arbeitet (Abbildung 8).

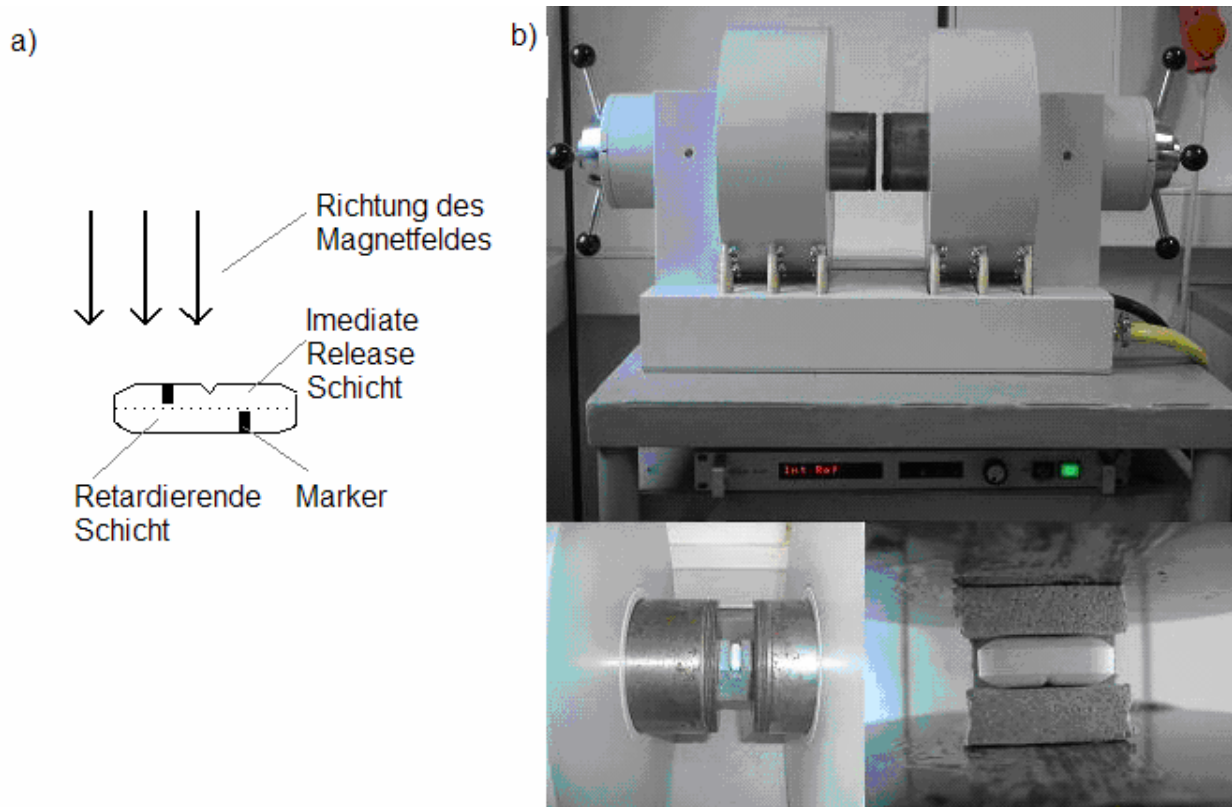


Abbildung 8: a) Schematischer Querschnitt durch Augmentin XR mit Markierung und Ausrichtung bei der Magnetisierung mittels Elektromagneten
b) Magnetisierung der Tabletten im Elektromagneten Bruker B-EC1

Hiermit werden bei einem Abstand der Oberflächen von 2,3 cm und einer Stromstärke von 30 A Feldstärken von 1,29 – 1,43 Tesla zwischen den Polschuhen erreicht. Zur Messung der maximalen Feldstärken wurde das Teslameter FM 210 der Projekt Elektronik GmbH, Berlin, verwendet. Die Positionierung der Tabletten erfolgte mit der Achse des Bohrloches in Feldrichtung (Abbildung 8) mithilfe einer dafür angefertigten Styropor-Halterung. Die Aufmagnetisierung erfolgte bei der maximalen Feldstärke und damit deutlich über der Sättigungsfeldstärke von Magnetit von 0,0471 Tesla (Landolt and Börnstein 1970).

3.1.4.4. Messung des magnetisches Momentes

Die Bestimmung des magnetischen Momentes erfolgte mit einem magnetoresistiven Magnetometer (HMR 2300, Honeywell Inc.,USA) und einem zur Datenverarbeitung angeschlossenen Personalcomputer (HP Omnibook 2100). Die Samplingrate der Messungen betrug 20 Hz. Das Magnetometer befand sich in einer wasserdicht verschlossenen Kammer im Boden des von der Feinmechanischen Werkstatt hergestellten MMDT-Freisetzungsgefäßes (Abbildung 9) in möglichst geringem Abstand zum Messobjekt.

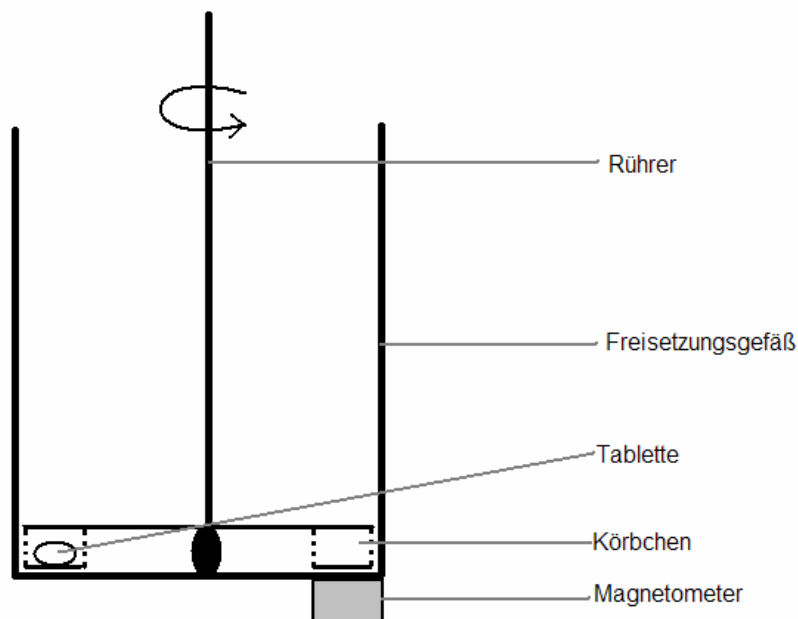


Abbildung 9: Schematische Darstellung der Freisetzungseinrichtung (MMDT) mit Magnetometer

Das komplette Freisetzungsgefäß bestand aus nicht magnetischen Materialien. Eingesetzt wurden Polyvinylchlorid, Holz und Polysiloxane als Dichtungsmasse. Das Magnetometer enthielt drei magnetoresistive Sensoren in orthogonaler Ausrichtung zur Detektion der Stärke der drei axialen Komponenten B_x , B_y und B_z der magnetischen Flussdichte B (Weitschies, Hartmann et al. 2001). Aus diesen Komponenten ergeben sich rechnerisch Richtung und Betrag des magnetischen Feldes.

Dieses Messprinzip basiert auf dem Effekt, dass sich der elektrische Widerstand einer stromdurchflossenen anisotropen ferromagnetischen Schicht durch das Anlegen eines äußeren Magnetfeldes ändert. Minimale Widerstandswerte ergeben sich bei einem im Winkel von 90° zur

Stromrichtung verlaufenden magnetischen Feld, maximale bei parallel verlaufendem Feld. Ohne Einwirkung eines Feldes entspricht der Widerstand etwa dem Mittelwert dieser Fälle. Beim HMR 2300 besteht die ferromagnetische Schicht aus einer Nickel-Eisen-Legierung (20 % Nickel, 80 % Eisen), genannt Permalloy. Dieser Legierung wird eine kristallographisch bedingte magnetische Vorzugsrichtung parallel zur Stromrichtung gegeben. Die Stärke des im Sensor wirkenden Magnetfeldes, und somit auch die Widerstandsänderung, wird durch die Stärke des äußeren Magnetfeldes und dessen Winkel zur Vorzugsrichtung bestimmt. Die Kennlinie zwischen Widerstandsänderung und Magnetfeld ist jedoch stark nicht linear. Dies kompensiert man mit der sogenannten Barberpol-Anordnung (Abbildung 10), wobei im Winkel von 45° stehende Permalloystreifen im Wechsel mit Metallstreifen verwendet werden. Hier wählt der Strom den kürzesten Weg, das heißt im Winkel von 45° gegen die Vorzugsrichtung. Dadurch erhält das Material einen mittleren Widerstand. Nahe diesem mittleren Widerstandswert im Bereich von $\pm 30^\circ$ ist die Kennlinie zwischen Magnetfeld und Widerstandsänderung annähernd linear. Bei zunehmendem Magnetfeld erhöht sich der Widerstand und bei negativem Magnetfeld nimmt dieser ab und es wird möglich, die Richtung des magnetischen Feldes zu bestimmen. Zur Kompensation des Temperaturkoeffizienten werden 4 Streifen als Wheatstone-Brücke geschaltet.

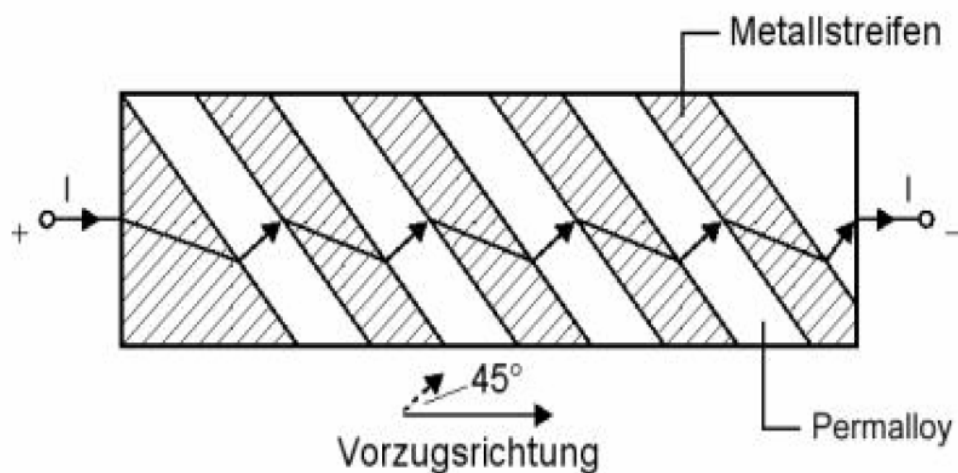


Abbildung 10: Aufbau des Magnetometermessstreifens in Barberpol-Anordnung

3.1.4.5. Datenanalyse

Der eingesetzte Sensor lieferte mit einer Frequenz von 20 Hz Daten für die Beträge der 3 orthogonalen Vektoren des Magnetfeldes. Die mit bis zu 100 MB relativ großen Datensätze wurden als ASCII-File gespeichert und mit dem Programm Axum 5.0 C for Windows (MathSoft, Inc) verarbeitet. Aus den 3 axialen Vektoren wurde die durchschnittliche maximale Feldstärke beim Durchlauf der Tablette pro Minute berechnet (Skript im Anhang 9.8.23). Dazu wurde im ersten Schritt der Betrag der magnetischen Induktion B aus den Einzelkomponenten mit folgender Formel berechnet: $B = \sqrt{B_x^2 + B_y^2 + B_z^2}$

Die hohe Messfrequenz von 20 Hz führt dazu, dass zumindest ein Messpunkt pro Tablettenumlauf sehr nah am wirklichen Maximum liegt und gewährleistet somit, dass nicht etwa ungünstige Zeitfenster zu einem zu niedrigen Messwert führen. Andererseits führt die hohe Messfrequenz dazu, dass die Masse der Punkte das Hintergrundrauschen beschreibt. In Zeitintervallen von einer Minute wurden nun die Vektoren des lokalen Maximalausschlages und des Medians bestimmt. Durch Berechnung der Differenzen der Einzelvektoren konnten dann die Einzelkomponenten und somit der Betrag des Tablettenfeldes bestimmt werden. Dadurch wurde das in diesem Zeitintervall herrschende Hintergrundrauschen eliminiert. Die nach dem vollständigen Tablettenzerfall aufgenommenen Werte spiegeln den Betrag der Schwankungen des Erdmagnetfeldes und anderer permanenter Felder wider. Dieser Nullwert wurde von jedem Intervallwert der magnetischen Flussdichte abgezogen und so die reine magnetische Induktion der Marker der Augmentin XR Tabletten erhalten.

3.1.5. Untersuchungen unter erhöhtem mechanischen Stress

Zur besseren Untermauerung der von uns favorisierten Diskussion wurden die Tabletten in einem zweiten Setting unter erhöhtem mechanischen Stress untersucht. Dazu rotierten die Tabletten in bzw. mit einem Metallkorb des Increased Mechanical Stress Testers (IMST) (Abbildung 11) entsprechend dem Regime in Tabelle 2 in 1000 mL Phosphatpuffer pH 6.8 USP. Der Metallkorb wurde so befestigt, dass ein Kontakt zum Freisetzungsmittel jeweils nur während der halben Rotation bestand.

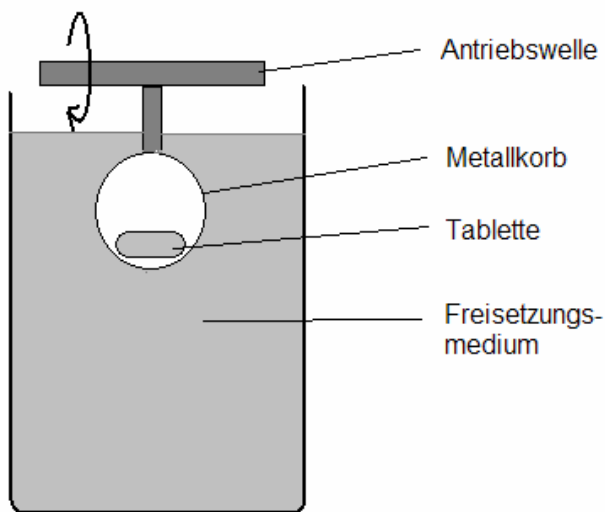


Abbildung 11: Freisetzungsapparatur (IMST) zur Untersuchung von Arzneiformen unter erhöhter mechanischer Belastung

Tabelle 2: Ablauf eines Zyklus zur Untersuchung von Augmentin XR unter erhöhtem mechanischen Stress

Zeit (min)	UpM	Beschreibung
2	100	Rotation
2	0	Ruhephase im Medium
2	100	Rotation
2	0	Ruhephase im Medium
2	100	Rotation
2	0	Ruhephase im Medium
6	0	Entnahme und Bestimmung des magnetischen Momentes

Die freigesetzte Wirkstoffmenge wurde minütlich unter Verwendung einer Durchflussküvette analog den Messungen bei Verwendung der Lichtleitersonde ermittelt. In den Messpausen erfolgte die Entnahme der Tabletten und die Messung des magnetischen Momentes mittels eines magnetoresistiven Magnetometers (HMR 2300, Honeywell Inc., USA).

3.2. MMM Studie

3.2.1. Durchführung der klinischen Studie

Die klinische Studie erfolgte offen an 9 freiwilligen gesunden Probanden mit einem dreiarmligen Studiendesign. Die Probanden erhielten in jedem Studienarm jeweils eine magnetisch markierte Tablette Augmentin XR. Die Einnahme der Studienmedikation erfolgte dabei mit 240 mL kohlenstoffdioxidfreiem Wasser und folgenden Nahrungsregimen:

- Applikation im nüchternen Zustand nach einer Fastenzeit von mindestens 8 Stunden
- Applikation mit dem ersten Bissen eines Frühstücks in Anlehnung an die Zulassung von Glaxo Smith Kline (Anhang 9.6)
- Applikation 30 Minuten nach dem Beginn eines hochkalorischen, fettreichen Frühstücks (Anhang 9.6)

Im Studienarm nach nüchterner Applikation erhielten die Probanden 5 Stunden, in den anderen beiden Studienarmen 6 Stunden nach Applikation der Studienmedikation ein standardisiertes Mittagessen entsprechend Anhang 9.6. Zusätzlich erhielten alle Probanden stündlich 150 mL kohlenstoffdioxidfreies Wasser.

Venöses Blut wurde während dieser Studientage vor und 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10 und 12 Stunden nach Applikation des magnetisch markierten Augmentin XR aus einer am Unterarm befindlichen Venen-Verweilkanüle entnommen. Etwa 5,5 mL Blut wurde pro Blutentnahmezeitpunkt entnommen und anschließend 10 min bei 3600 Umin⁻¹ und 4 °C zentrifugiert. Das Plasma wurde in zwei Plastikröhrchen aliquotiert und bis zur analytischen Aufarbeitung bei -20 °C gelagert.

Die Probanden wurden an allen Studientagen hinsichtlich ihres Befindens befragt und hinsichtlich ihrer Vitalparameter (Herzfrequenz, Blutdruck) kontrolliert. Am Vorabend und an den Studientagen war der Alkoholgenuß streng untersagt. Ebenso war es den Probanden nicht gestattet, im Zeitraum von 24 Stunden vor den pharmakokinetischen Untersuchungen Grapefruitsaft bzw. koffeinhaltige Getränke und Lebensmittel zu sich zu nehmen. An den Studientagen bestand für die Probanden Rauchverbot.

3.2.1.1. Probandencharakteristik

In die Studie wurden 9 gesunde Probanden (Kaukasier, 4 Frauen, 5 Männer, Alter 26 bis 41 Jahre, Gewicht 60 bis 90 kg, Broca Index 0,87 bis 1,03) einbezogen. Es handelte sich dabei um Personen aus dem Probandenstamm der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie, einschließlich Stoffwechselerkrankungen, der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin. 4 Probanden waren Raucher von weniger als 10 Zigaretten pro Tag. Alle Probanden waren klinisch gesund, wiesen eine negative Infektionsserologie auf und nahmen keine Drogen ein. Während der Studie war den Probanden die Einnahme von Medikamenten, mit Ausnahme hormoneller Kontrazeptiva bei weiblichen Probanden, untersagt. Die Probanden wurden vor Beginn der Studie ausführlich über den genauen Versuchsablauf, die Zielstellung, das Prozedere der Untersuchungen sowie über Art, Umfang, Risiken, Wirkungen und mögliche Nebenwirkungen der zu applizierenden Medikamente in mündlicher und schriftlicher Form aufgeklärt. Die Probanden bestätigten ihre freiwillige Teilnahme an der Studie mit ihrer Unterschrift. Sie hatten jederzeit das Recht, ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteil für ihre Person von der Studie zurückzutreten.

3.2.1.2. Screeninguntersuchungen

Die Probanden wurden innerhalb von 2 Wochen vor Beginn der Studie hinsichtlich ihres Gesundheitszustandes umfassend klinisch untersucht. Die Untersuchung erfolgte morgens im nüchternen Zustand und umfasste zum einen eine körperliche Untersuchung mit Erhebung der Anamnese, des klinischen Status sowie die Messung von Blutdruck und Herzfrequenz und zum anderen eine laborchemische Untersuchung.

Allgemeine klinische Chemie:

Elektrolyte (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^-), Kreatinin, Harnstoff, Albumin, Amylase, Glukose, alkalische Phosphatase, GGT (*Gamma-Glutamyl-Transferase*), ASAT (*Aspartat-Amino-Transferase*), ALAT (*Alanin-Amino-Transferase*), LDH (*Laktatdehydrogenase*), CK (*Creatinkinase*), Bilirubin gesamt, Harnsäure

Hämatologie / Hämatoserologie:

Erythrozyten-, Thrombozyten-, Leukozytenzahl (einschließlich Leukozyten differenziert), Hämoglobin, Hämatokrit, MCV (*Mean Corpuscular Volume*), MCHC (*Mean Corpuscular*

Haemoglobin Concentration), MCH (*Mean Corpuscular Haemoglobin*), Thromboplastinzeit (Quick-Wert), partielle Thrombinzeit (*PTT*), INR (*International Normalized Ratio*)

Urinanalyse:

pH-Wert, Leukozyten, Urobilinogen, Bilirubin, Ketonkörper, Nitrit, Protein, Glukose, Erythrozyten

Infektserologie:

HBV (*Hepatitis B Virus*)-, HCV (*Hepatitis C Virus*)- und HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) -Screening

Die klinischen Parameter und die Infektserologie mittels Elisa-Technik wurden am Institut für Klinische Chemie bzw. am Institut für Mikrobiologie der Charite Berlin entsprechend den Regeln der Laboratoriumsdiagnostik erhoben.

Einschlusskriterien

- Alter: 18 – 45 Jahre
- Ethnische Herkunft: kaukasisch
- Körpergewicht: $\pm 20\%$ vom Normalgewicht nach Broca
- Probanden, die anhand der körperlichen und laborchemischen Voruntersuchungen als gesund beurteilt werden konnten
- Vorliegen einer schriftlichen Einverständniserklärung

Ausschlusskriterien

- Hypotension ($\leq 80/50$ mm Hg)
- Hypertension ($\geq 160/95$ mm Hg)
- Tachykardie
- Gastrointestinale Erkrankungen in der Anamnese (außer Appendektomie)
- Apoplektischer Insult innerhalb der letzten 6 Monate
- Aorten- oder Mitralstenose
- Hypertrophe obstruktive Kardiomyopathie

- Angina pectoris
- Myokardinfarkt (innerhalb der letzten 8 Wochen)
- AV-Überleitungsstörungen
- Niereninsuffizienz
- Leberfunktionsstörungen
- Kongestiver Herzfehler
- Alkoholkonsum > 15 g/Tag (Männer) oder > 10 g/Tag (Frauen)
- spezielle einseitige Diätgewohnheiten, z.B. Vegetarier, unterkalorische Ernährung
- akute Erkrankung innerhalb der letzten 14 Tage
- schwangere oder stillende Frauen oder Frauen ohne Kontrazeption
- Kardiale Schrittmacher und / oder ferromagnetische Implantate
- Piercings
- Einnahme eines nicht genehmigten Präparates innerhalb der letzten 4 Wochen vor Studienbeginn
- Klinisch relevante anormale Ergebnisse der anamnestischen, physischen oder laborchemischen Untersuchungen
- Geplante Hospitalisierung während der Studie
- Personen, die an Planung und Durchführung der Studie beteiligt waren
- Mangelndes Interesse an der Studie und fehlende Bereitschaft zur Kooperation mit dem Studienpersonal
- Drogen-, HCV-, HIV-, HBV-Screening positiv bzw. nicht durchgeführt

3.2.1.3. Ethische und gesetzliche Bestimmungen

Die vorliegende Studie erfüllte die an die Planung und Durchführung einer Studie gestellten Anforderungen der Deklaration von Helsinki (Somerset West 1996) sowie die Bestimmungen der §§ 40 und 41 des deutschen Arzneimittelgesetzes (AMG), die „Grundsätze für die ordnungsgemäße Durchführung der klinischen Prüfung von Arzneimitteln“, die „ICH (*International Conference on Harmonisation*)-Guideline for good clinical practice (GCP)“ und die Bestimmungen der Berufsordnung für deutsche Ärztinnen und Ärzte. Das Vorhaben wurde von der Ethikkommission des Landesamtes für Gesundheit und Soziales des Landes Berlin zustimmend bewertet (Antragsnr.: EA2/185/05).

Die Studie wurde vom Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (EudraCT-Nr.: 2005-003467-23, Vorlage-Nr.: 4030929) genehmigt und der Landesbehörde in Berlin (Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit Berlin) entsprechend dem § 67 des Arzneimittelgesetzes angezeigt.

Probandenversicherung

Für die Probanden wurde eine Probanden-Haftpflichtversicherung gemäß dem AMG § 40 Abs. 3 Satz 2 mit einer Versicherungssumme von 1 Mio. € abgeschlossen (Gerling-Konzern. Anmelde­nummer: 1600200520, Versicherungsschein Nr. 70-5644584-4). Dadurch waren die Probanden gegen mögliche im Zusammenhang mit der Studie auftretende Gesundheitsschäden versichert. Die Probanden waren darüber informiert, mögliche Schädigungen dem Prüfarzt anzuzeigen und nicht ohne dessen Einverständnis eine andere medizinische Behandlung in Anspruch zu nehmen.

3.2.1.4. Datenschutz und Qualitätskontrolle

Jedem Probanden wurde ein Studiencode (Probandennummer, Initialen, Alter) zugeordnet. Auf den Prüfdokumenten wurden ausschließlich die Studiencodes verwendet. Sämtliche probandenbezogenen Daten wurden vom Studienpersonal vertraulich behandelt. Alle beteiligten Mitarbeiter unterlagen der Schweigepflicht. Die Probanden wurden sowohl mündlich als auch schriftlich über die Verwendung der verschlüsselten Daten zu Publikationszwecken informiert und erklärten sich in schriftlicher Form einverstanden. Die korrekte Dokumentation aller erhobenen Daten unterlag während der Studie einer internen Qualitätskontrolle.

3.2.2. Magnetische Lokalisationen

3.2.2.1. Physikalische Grundlagen

Zur Bestimmung der magnetischen Feldstärke werden neben magnetoresistiven Sensoren (siehe 3.1.4.4) auch sogenannte SQUID-Sensoren (*Superconducting QUantum Interference Device*) verwendet. Diese basieren auf einer supraleitenden Schleife, die an einer (rf-SQUID) bzw. zwei (dc-SQUID) Stellen durch einen Nichtleiter (Josephson Kontakt) unterbrochen ist. In Supraleitern fällt der elektrische Widerstand unterhalb einer bestimmten kritischen Temperatur, der Sprungtemperatur, um etliche Zehnerpotenzen auf annähernd Null. Bei diesen Temperaturen bilden sich Cooper-Paare, das sind Elektronenpaare mit antiparalleler Anordnung ihres Elektronenspins und demzufolge mit dem Gesamtimpuls Null. Somit gehören Cooper-Paare zu den Bosonen (Spin 0), während man Elektronen zu Fermionen (Spin 1/2) zählt. Während für Fermionen das Pauli-Prinzip gilt, können Bosonen alle das gleiche Energieniveau besetzen und mit einer „kohärenten“ Gesamtwellenfunktion beschrieben werden (Hey and Walters 1998). Diese Wellenfunktion kann von lokalen „Hindernissen“ nicht mehr beeinflusst werden und äußert sich in einem widerstandslosen Ladungstransport (Wikipedia.org 2001). Die Bildung von Cooper Paaren geht mit einem Energiegewinn ΔE einher. Deshalb bricht der supraleitende Zustand durch Wärmezufuhr, große Stromdichten oder starke Magnetfelder zusammen. Supraleiter verdrängen magnetische Feldlinien komplett aus ihrem Inneren, da sofort ein Kreisstrom induziert wird, dessen Magnetfeld das ursächliche im Supraleiter komplett kompensiert. Die Unterbrechungen des supraleitenden Ringes im SQUID sind so schmal, dass Cooper-Paare durch den Nichtleiter tunneln können. Als Tunneln, einer Konsequenz aus D’Broglies Wellenhypothese und Schrödingers Wellengleichung, bezeichnet man die Fähigkeit von Quantenobjekten, Barrieren potentieller Energie zu überwinden (Hey and Walters 1998). Legt man nun einen Strom an den Ring an, so fließt durch den Bosonentransport bis zu einer kritischen Stromstärke ein widerstandsloser Strom. Erst oberhalb dieser Grenze wird ein Widerstand und somit auch eine Spannung messbar, da nun auch Elektronen durch den Josephsonkontakt tunneln. Beim dc-SQUID wird nun ein Gleichstrom an die beiden Ringhälften angelegt, der größer als der kritische Strom ist. Dadurch fällt am Josephsonkontakt eine messbare Spannung ab. Aus quantenmechanischen Gründen kann durch einen supraleitenden Ring nur ein ganzzahliges Vielfaches des elementaren magnetischen Flussquantums fließen. Ändert sich das äußere Magnetfeld, dann fließt im Ring ein Kreisstrom, der genau groß genug ist, um den magnetischen Fluss im Ring auf das nächst höhere oder niedrigere Vielfache des

elementaren Flussquantums zu bringen. Dadurch fällt am Josephsonkontakt des SQUIDs ein zusätzlicher Spannungsanteil ab. Folglich ist die entstehende Fluss-Spannungs-Kennlinie nicht linear sondern periodisch. Um absolute Werte magnetischer Feldstärken zu messen, wird dem SQUID-Sensor eine Induktionsspule nachgeschaltet, die die jeweilige Flussänderung im Sensor kompensiert und ihn somit auf einem festen Arbeitspunkt betreibt (Wikipedia.org 2001). Aus dem Strom der Induktionsspule kann nun direkt der magnetische Fluss durch den Ring berechnet werden.

3.2.2.2. Messapparatur

Zur Lokalisation der markierten Tabletten wurde ein 83 SQUID – Gradiometersystem der physikalisch technischen Bundesanstalt am Benjamin-Franklin-Krankenhaus der Charité Berlin genutzt (Drung 1995). Die SQUID – Sensoren befanden sich hierbei in einem mit flüssigem Helium gefüllten Dewar, der mittels einer beweglichen Halterung an der Decke befestigt war. Je 11 SQUIDs waren in 7 Modulen zusammengefasst. Daneben existierten noch 6 einzelne SQUIDs. Die SQUIDs waren in mehreren Ebenen angeordnet (Abbildung 12).

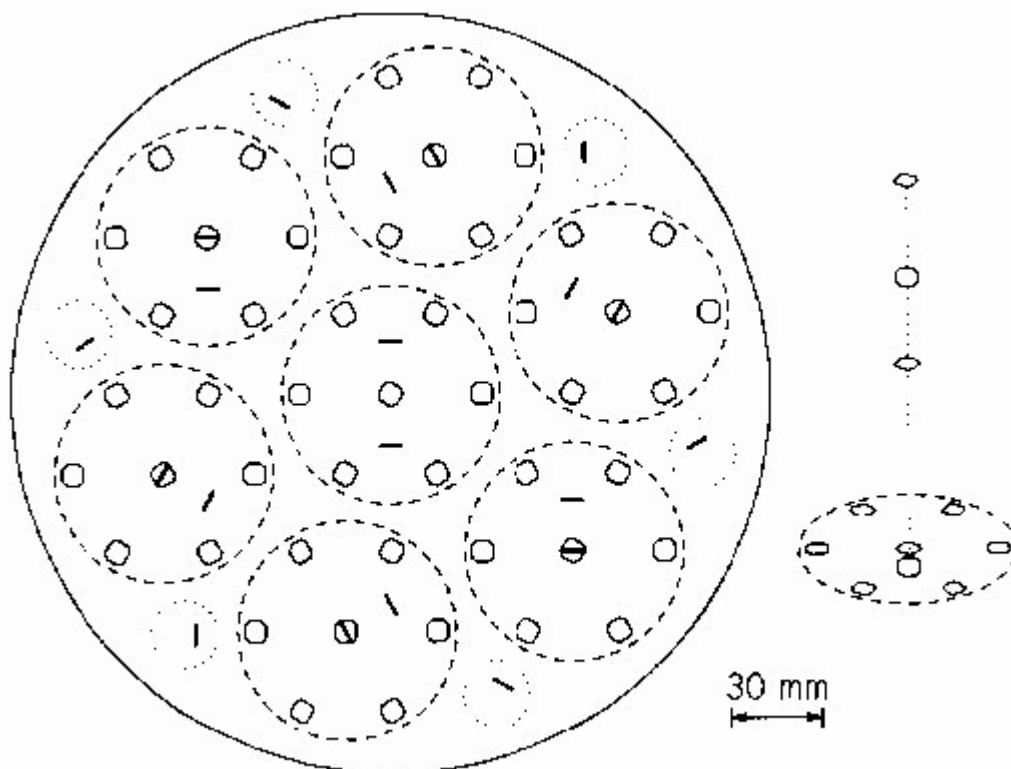


Abbildung 12: Schematische Anordnung der SQUIDs im Dewar

Der Großteil der Sensoren befand sich in der 1. Ebene mit einem Abstand von 25 mm vom Boden des Dewars. Von diesen 56 Sensoren waren 49 vertikal orientiert (für die Messung von B_z) und 7 horizontal (zur Messung von B_x und B_y) angeordnet. Die restlichen Sensoren befanden sich ebenfalls horizontal und vertikal orientiert in größerem Abstand zum Boden des Gerätes (Weitschies, Karaus et al. 2001). Die gesamte Messapparatur befand sich in einer magnetisch abgeschirmten Kammer des Benjamin-Franklin-Krankenhauses. Zur Abschirmung wurden hier ca. 30 cm dicke Wände einer speziellen Legierung, des sogenannten Nu-Metalls (auch Permalloy, siehe 3.1.4.4) verwendet. Diese besteht zu ca. 80 % aus Nickel und 20 % aus Eisen und besitzt eine hohe magnetische Permeabilität. Dadurch gelingt es, das magnetische Erdfeld zum großen Teil um den Raum herumzuleiten.

3.2.2.3. Datensampling

Am Morgen des jeweiligen Studientages erfolgte die Einnahme einer Tablette Augmentin XR unter einem der 3 verschiedenen Nahrungsregime (siehe 3.2.1). Die Lokalisation der Tablette wurde in liegender Position unter dem Detektor durchgeführt. Zur exakten Bestimmung der Tablettenposition wurde ein Koordinatensystem mit dem Jugulum als Bezugspunkt eingeführt. Der Koordinatenursprung befand sich dabei auf der Matte unter dem Patienten, so dass das Jugulum auf der z-Achse in ventraler Richtung lokalisiert war. Die x-Achse wies auf die linke Seite des Probanden und die y-Achse zeigte nach kaudal (Abbildung 13).

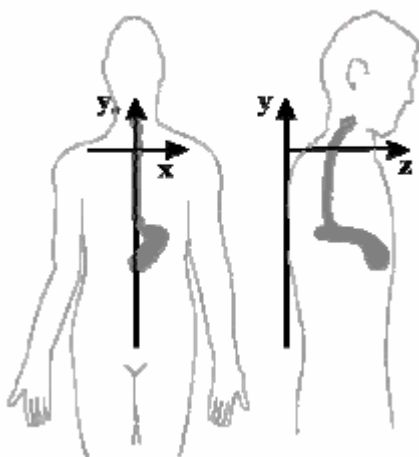


Abbildung 13: Koordinatensystem zur Lokalisation der Tablette in vivo

Die Messungen wurden in Zeitabständen von ca. 30 Minuten für jeweils 5-10 Minuten durchgeführt. Dabei war der Sensor ca. 1-5 cm vom Abdomen des jeweiligen Probanden

entfernt. Aufgenommen wurden die Daten mit einer Messfrequenz von 250 Hz und einer Bandbreite von 0 bis 100 Hz. Zwischen den Messungen war es den Probanden gestattet, sich innerhalb der Messräume zu bewegen. Die Messungen wurden abgebrochen, sobald das magnetische Signal unter die Detektionsgrenze gefallen war, was etwa 5-10 Prozent der ursprünglichen Signalstärke entsprach (Weitschies, Wedemeyer et al. 2005). Das System wurde im Gradiometermodus betrieben. Hierbei werden mehrere Sensoren gekoppelt, wodurch man nur Felder in unmittelbarer Umgebung des Sensors wahrnimmt und entfernte Störsignale unterdrücken kann.

3.2.2.4. Datenanalyse

Die Rohdaten wurden digital gefiltert und auf eine Messfrequenz von 50 Hz reduziert (Weitschies, Cardini et al. 1999; Weitschies, Karaus et al. 2001). Die Lokalisation erfolgte mit Hilfe des Levenberg-Marquardt-Näherungsverfahrens (Press, Teukolsky et al. 1995), eines nichtlinearen Optimierungsalgorithmus.

Die weitere Auswertung erfolgte mit dem Programm „Axum 5.0 C for Windows“ (MathSoft, Inc). Die Lokalisierung der Tabletten erfolgte visuell mithilfe von x-y- und x-z-Lokalisationsdiagrammen. Hierbei wurden die Positionen unter Annahme einer normalen Anatomie und bestimmten typischen Bewegungsmustern, wie der Bewegung im duodenalen 'C', bestimmt (Weitschies, Wedemeyer et al. 2005). Die zur Erstellung der Graphiken verwendeten Axum-Skripte finden sich im Anhang 9.8.2.

3.2.3. Arzneistoffanalytik

3.2.3.1. Bestimmung der Amoxicillin- und Clavulansäurekonzentrationen im Plasma

Die bioanalytischen Messungen wurden im GLP (*Good Laboratory Practice*)-Labor des IBMP, Institute for Biomedical and Pharmaceutical Research, Paul-Ehrlich-Straße 19 in Nürnberg-Heroldsberg durchgeführt. Die Validierung der Methoden zur Bestimmung der Clavulansäure- und Amoxicillinkonzentrationen erfolgte entsprechend der Richtlinien der US Food and Drug Administration (FDA) zur Validierung von bioanalytischen Methoden und IBMP internen Richtlinien.

Die Spezifität, Linearität, untere Bestimmungsgrenze (LLOQ), Tag-zu-Tag- und tagesinterne Präzision, absolute Wiederfindungsrate und Stabilität wurden für beide Analyten bestimmt.

Amoxicillin:

Nach dem Auftauen und Schütteln der bei -70°C gelagerten Plasmaproben wurden 0,1 mL der Probe mit 50 μL des internen Standards vermischt und durch Zugabe von Acetonitril deprotoniert. Nach dem sorgfältigen Mischen wurden die so vorbereiteten Proben bei $+4^{\circ}\text{C}$ und 2,733 G für 10 Minuten zentrifugiert. Im Anschluss erfolgte die Auftrennung von 50 μL der Probe mittels RP (*Reversed Phase*) - Chromatographie in einem LC-MS/MS System (*Liquid Chromatographie mit Duplex-Massenspektrometerkopplung*) unter Verwendung eines isokratischen Laufmittelsystems (Ammoniumacetatpuffer, Acetonitril). Die durchschnittliche Retentionszeit für Amoxicillin unter diesen Bedingungen betrug etwa 0.8 Minuten. Die Auswertung der Chromatogramme erfolgte mit dem Programm MacQuan (Version 1.6, PE Sciex, Thornhill, Ontario, Kanada, 1991 - 1998).

Die Qualitätsstandards und Proben zur Kalibrierung wurden unter Verwendung von substanzfreiem Plasma hergestellt. Als untere Bestimmungsgrenze wurde 0,0200 $\mu\text{g/mL}$ ermittelt. Der Assay zeigte über den gesamten Messbereich eine akzeptable Linearität mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,9995. Die Tag-zu-Tag- Präzision betrug $\leq 6,5\%$, der relative Fehler $\pm 5,6\%$.

Die Tag-zu-Tag-Präzision der mit Amoxicillin gespikten Proben lag zwischen 3,6 und 9,2 %, der relative Fehler befand sich im Bereich von $-4,3$ bis $+6,7\%$. Die tagesinterne Präzision und der

relative Fehler des Amoxicillinassays befanden sich im Bereich zwischen 2,1 und 9,1 % bzw. -6,1 und 5,0 %.

Die Standardkurve im humanen Plasma zeigte einen linearen Verlauf in Konzentrationsbereichen von 0,0197 bis 10,3 µg/mL und die untere Bestimmungsgrenze für Amoxicillin betrug 0,0197 µg/mL. Die Tag-zu-Tag-Präzision der gespikten Kontrollproben betrug 4,4 bis 6,5 % bei Wiederfindungsraten von 97,0 % (19,6 µg/mL; die Proben wurde 1 : 5 mit humanem substanzfreiem Plasma vor der Probenzubereitung verdünnt), 97,6 % (8,03 µg/mL), 99,3 % (2,50 µg/mL), 96,9 % (0,507 µg/mL) bzw. 96,4 % (0,0558 µg/mL).

Clavulansäure:

Nach dem Auftauen und Schütteln der bei -70°C gelagerten Plasmaproben wurden 0,1 mL der Probe mit 0,1mL des internen Standards vermischt und durch Zugabe von Acetonitril deprotoniert. Nach dem sorgfältigen Mischen wurden die so vorbereiteten Proben bei + 4°C und 2,733 G für 10 Minuten zentrifugiert. Im Anschluss erfolgte die Auftrennung von 25 µL der Probe mittels RP-Chromatographie in einem LC-MS/MS System unter Verwendung eines isokratischen Laufmittelsystems (Ammoniumacetatpuffer, Acetonitril). Die durchschnittliche Retentionszeit für Clavulansäure unter diesen Bedingungen betrug etwa 2 Minuten. Die Auswertung der Chromatogramme erfolgte mit dem Programm MacQuan (Version 1.6, PE Sciex, Thornhill, Ontario, Kanada, 1991 - 1998).

Die Qualitätsstandards und Proben zur Kalibrierung wurden unter Verwendung von substanzfreiem Plasma hergestellt. Als untere Bestimmungsgrenze wurde 0,0500 µg/mL ermittelt. Der Assay zeigte über den gesamten Messbereich eine akzeptable Linearität mit einem Korrelationskoeffizienten von mindestens 0,9997. Die Tag-zu-Tag-Präzision betrug ≤4,6%, der relative Fehler ±6,5 %.

Die Tag-zu-Tag-Präzision der mit Clavulansäure gespikten Proben lag zwischen 2,7 und 5,4 %, der relative Fehler befand sich im Bereich von -1,3 and 6,2 %. Die tagesinterne Präzision und der relative Fehler des Clavulansäureassays befanden sich im Bereich zwischen 0,7 bis 2,6 % bzw. -0,5 und 6,8 %.

Die Standardkurve im humanen Plasma zeigte einen linearen Verlauf in Konzentrationsbereichen von 0,0519 bis 8,28 µg/mL und die untere Bestimmungsgrenze für Clavulansäure betrug 0,0519 µg/mL. Die Tag-zu-Tag-Präzision der gespikten Qualitätskontrollproben betrug 3,5 bis 6,1 % bei Wiederfindungsraten von 99,4 % (7,79 µg/mL), 99,0 % (2,42 µg/mL), 96,1 % (0,491 µg/mL) bzw. 98,1 % (0,0541 µg/mL).

3.2.4. Biometrische Methoden

3.2.4.1. Pharmakokinetik

Die maximalen Plasmakonzentrationen und der Zeitpunkt der maximalen Plasmakonzentrationen wurden direkt aus den Plasmakonzentrations-Zeit-Kurven entnommen. Die Berechnung der Flächen unter den Plasmakonzentrations-Zeit-Kurven bis zur letzten gemessenen Plasmakonzentration erfolgte unter Verwendung der Trapezregel. Die Eliminationshalbwertszeiten ($t_{1/2}$) wurden durch logarithmische Annäherung der terminalen Datenpunkte abgeschätzt. Die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve nach der letzten gemessenen Konzentration wurde unter Verwendung der Gleichung: $AUC_{0-t_{last}} = C_{last}/k_{el}$ berechnet (C_{last} - letzte messbare Arzneistoffkonzentration im Plasma; k_{el} - Eliminationskonstante aus dem Plasma).

3.2.4.2. Invasionen

Die Berechnung der Invasionen erfolgte zum einen mit der Methode nach Wagner und Nelson und zum anderen durch mathematische Dekonvolution. Bei der Methode nach Wagner- Nelson werden die Invasionen unter der Annahme eines Ein-Kompartimentmodells durch Abschälung mithilfe der terminalen Halbwertszeit nach folgender Formel errechnet:

$$A_{abs}(t)/V_d = C_p(t) + k_e \int_0^t C_p dt$$

Hierbei stellt $A_{abs}(t)$ die bis zum Zeitpunkt t absorbierte Wirkstoffmenge, k_e die Eliminationskonstante, $C_p(t)$ die Konzentration im Plasma zum Zeitpunkt t und V_d das Verteilungsvolumen dar.

Für den Zeitpunkt $t=\infty$ gilt $C_p(\infty)=0$ und damit: $A_{abs}(\infty) = k_e * V_d * AUC(0-\infty)$.

Daraus folgt, die Fraktion der absorbierten Arzneistoffmasse $A_a = D * f$ (D – applizierte Dosis; f – Bioverfügbarkeit) des Zeitraumes t beträgt:

$$\frac{A_{abs}(t)}{A_{abs}(\infty)} = \frac{C_p(t) + k_e * AUC(0-t)}{k_e * AUC(0-\infty)} \quad (\text{Pfeifer, Pflugel et al. 1995})$$

Da mehrfach gezeigt werden konnte, dass die Plasmaverläufe des Amoxicillins sich besser durch ein 2- bzw. 3-Kompartimentenmodell beschreiben lassen (Arancibia, Guttman et al. 1980; Dalhoff, Koeppe et al. 1981; Paintaud, Alvan et al. 1992), wurden die Invasionen ebenfalls mittels numerischer Dekonvolution bestimmt. Bei der Dekonvolution geht man davon aus, dass

die Impulsantwort $h(t)$, d.h. die Pharmakokinetik einer i.v. Bolusinjektion ein lineares System vollständig charakterisiert. Ist nun die Inputfunktion $x(t)$ und die dazugehörige Impulsantwort bekannt, so folgt für die Outputfunktion $y(t)$:

$$y(t) = \int_0^t h(t-t')x(t')dt', \text{ bzw. } y(t) = h(t) \otimes x(t) \text{ (Weiss 1990).}$$

Dies bezeichnet man als Faltung (Konvolution) der Funktionen $h(t)$ und $x(t)$. Die Dekonvolution (Entfaltung) der Invasionsfunktion erfolgte unter Verwendung der diskreten Fouriertransformation. Die Fouriertransformierte ist die Abbildung einer Funktion der Zeitdomäne in der Frequenzdomäne. Die Fourieranalyse verwendet dabei als Basisfunktionen der Frequenzdomäne die trigonometrischen Funktionen Sinus und Kosinus. Die Transformationen erfolgten mit dem Programm Mathcad 7 (Mathsoft, Inc.). Hierbei wurde der Algorithmus der schnellen Fouriertransformation nach Cooley und Tuckey verwendet (Cooley and Tuckey 1966). Dieser verlangt als Anzahl der diskreten Datenpunkte einen Wert von 2^n ($n \in \mathbb{N}$). Der Faltungssatz besagt nun: $y(t) = h(t) \otimes x(t) \leftrightarrow Y(\omega) = H(\omega) * X(\omega)$, wobei $H(\omega)$, $Y(\omega)$ und $X(\omega)$ die Fouriertransformierten von $h(t)$, $y(t)$ und $x(t)$ darstellen. Das heißt, aus dem Faltungsintegral wird ein Produkt von Fouriertransformierten. Somit erhält man: $\frac{Y(\omega)}{H(\omega)} = X(\omega)$.

Die Invasionsfunktion erhält man nun durch Rücktransformation von $X(\omega)$ in die Zeitdomäne.

Die Berechnung der dazu notwendigen i.v.-Daten erfolgte unter der Annahme eines Dreikompartimentenmodells. Dazu wurden neben dem Gewicht der Probanden folgende Parameter / Mikrokonstanten verwendet: f (*Bioverfügbarkeit*) = 0.8; Gesamtdosis = 1g; V_d (*Verteilungsvolumen*) = 0,075 L/kg; k_{10} = 0,0478333; k_{12} = 0,0108333; k_{21} = 0,0108333; k_{13} = 0,1131667; k_{31} = 0,096 (Dalhoff, Koeppel et al. 1981) (k_{10}/k_{el} - *Eliminationskonstante aus dem Plasma*; k_{12} - *Verteilungskonstante aus dem Plasma ins oberflächliche periphere Kompartiment*; k_{21} - *Verteilungskonstante aus dem oberflächlichen peripheren Kompartiment ins Plasma*; k_{13} - *Verteilungskonstante aus dem Plasma ins tiefe periphere Kompartiment*; k_{31} - *Verteilungskonstante aus dem tiefen peripheren Kompartiment ins Plasma*).

Es wurden so i.v.-Kinetiken über einen Zeitraum von 4096 min erstellt. Im nächsten Schritt erfolgte die Anpassung der Eliminationsphase der oralen Kinetiken. Hierzu wurden zusätzliche Datenpunkte nach dem letzten von Null verschiedenen Plasmaspiegel entsprechend der terminalen Elimination der i.v.-Kinetik eingefügt. Dann wurde die Anzahl der Datenpunkte mithilfe einer kubischen Splinefunktion ebenfalls auf 4096 interpoliert. Die Kontrolle der Daten erfolgte mittels Berechnung der Pharmakokinetik aus Invasionsfunktion und eingesetzten Mikrokonstanten.

3.2.4.3. Statistische Methoden

Die Berechnung der Standardabweichungen, arithmetischen Mittelwerte und Mediane der pharmakokinetischen Parameter erfolgte mit den Programmen „Microsoft Excel XP“ (Microsoft, Inc.) und „Axum 5.0 C for Windows“ (MathSoft, Inc).

4. Ergebnisse

4.1. Untersuchung zur Löslichkeit von Amoxicillin

Die Löslichkeit des Amoxicillin-Natriumsalzes und des Amoxicillin-Trihydrates wurden mittels einer HPLC-Methode bestimmt. Bei der Untersuchung des Natriumsalzes konnte bis zu einer Konzentration von 1g Substanz pro 1 mL Phosphatpuffer pH 6.8 USP kein Sättigungsphänomen beobachtet werden. Vielmehr entstand mit zunehmender Konzentration eine hochviskose Masse, die ein Filtrieren und eine Einspritzung in die HPLC-Apparatur unmöglich machte. Bei der Analyse der Löslichkeit des Trihydrates wurde eine Sättigungskonzentration von 3,2 g/L bestimmt. Die dabei verwendete Kalibration und die erhaltenen Ergebnisse finden sich in der Anlage unter 9.2.

4.2. Quantitative Amoxicillinbestimmung in den Schichten

Zur Analyse der Mengen des Amoxicillins wurden bei 3 Tabletten die Schichten mittels Skalpell getrennt, diese in 1000 mL Phosphatpuffer pH 6,8 USP gelöst und spektrophotometrisch bestimmt. In der schnell freisetzenden Schicht wurde eine mittlere Absorption von 0,378 und in der Retardschicht eine Absorption von 0,286 bestimmt. Dies entspricht bei einer Steigung der Kalibrationsgeraden (siehe Kapitel 9.1) von 0,6445 L/g einem Mengenanteil von 586 mg in der schnell freisetzenden Schicht und 443 mg in der Retardschicht, jeweils berechnet auf die freie Base.

4.3. In-vitro-Verhalten der magnetisch markierten Tabletten

Die In-vitro-Untersuchungen wurden in einer nicht magnetischen Apparatur durchgeführt. Hierbei wurden 10 magnetisch markierte und 3 nicht markierte Tabletten in Phosphatpuffer pH 6,8 USP bei 37 °C mit 50 UpM bewegt. Nach dem Zerfall der schnell freisetzenden Schicht wurde das Medium komplett ausgetauscht. Die Bestimmung dieses Zeitpunktes erfolgte visuell. Sowohl das magnetische Moment als auch die spektrophotometrisch gemessene Wirkstoffkonzentration im Medium zeigten einen dreiphasigen Verlauf. Als Beispiel sind die zugehörigen magnetischen Rohdaten einer Messung in Abbildung 14 dargestellt. Die mittels Axum 5.0 C (Mathsoft, Inc.) ausgewerteten Daten einer einzelnen Messung sind in Abbildung 15 dargestellt.

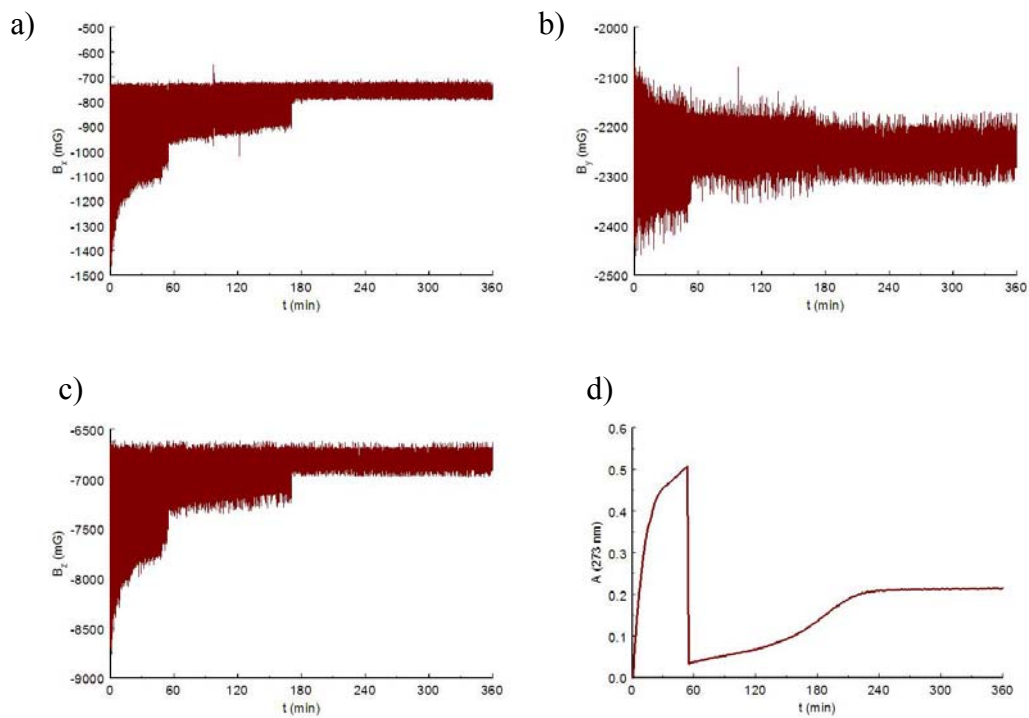


Abbildung 14: Dissolutionsuntersuchung einer Tablette Augmentin XR. Komponenten des magnetischen Momentes in x- (a) y- (b) und z-Richtung (c) und spektrophotometrische Rohdaten der Amoxicillinfreisetzung bei 273 nm (d)

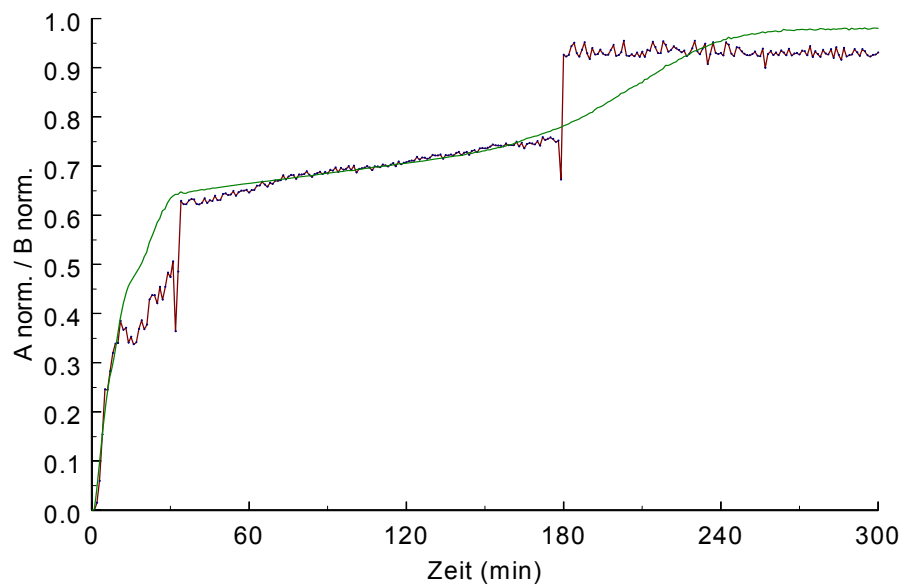


Abbildung 15: Entwicklung der Werte einer Tablette Augmentin XR. Dargestellt ist das auf das Ausgangsmoment normierte Magnetische Moment (—) und die auf den Maximalwert normierte Absorption (—).

Man erkennt einen schnellen Anstieg der Wirkstoffkonzentration innerhalb der ersten 30 Minuten und parallel einen schnellen Abfall des magnetischen Momentes. Nach visueller Kontrolle der Vollständigkeit des Zerfalls der schnell freisetzenden Schicht erfolgte der Medienwechsel. Im folgenden Zeitraum bis 165 Minuten nimmt der freigesetzte Wirkstoffanteil nur langsam zu, das magnetische Moment nimmt langsam ab. Danach kommt es zum rapiden Abfall des magnetischen Restmomentes und einem erneuten schnelleren Anstieg der Wirkstofffreisetzung.

Die gleichen Charakteristika zeigen sich in der Darstellung des arithmetischen Mittels der Freisetzungen (Abbildung 16) sowie des arithmetischen Mittels der magnetischen Momente (Abbildung 17) von 12 Tabletten Augmentin XR. In beiden Abbildungen sind zusätzlich die Standardabweichungen dargestellt.

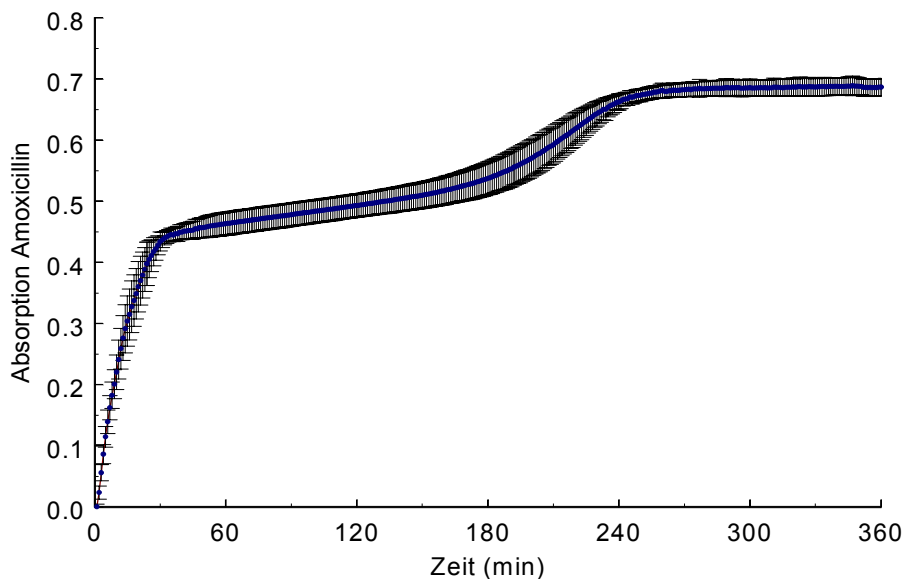


Abbildung 16: Freisetzung von Augmentin XR in Phosphatpuffer USP pH 6.8 bei 50 UpM, n=12, Mittelwert \pm Standardabweichung

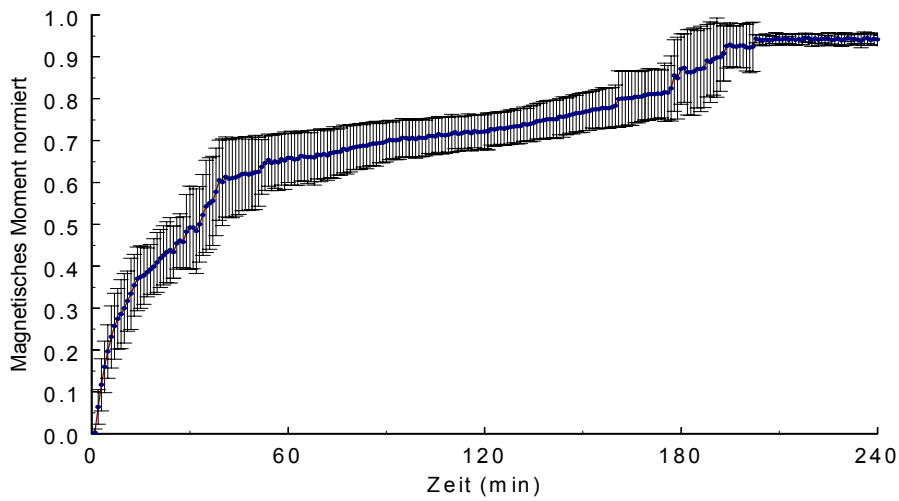


Abbildung 17: Entwicklung des auf den Ausgangswert normierten magnetischen Momentes von Augmentin XR in Phosphatpuffer-USP pH 6.8 bei 50 UpM, n=12, Mittelwert \pm Standardabweichung

Die Ergebnisse der Untersuchung der nicht magnetisch markierten Tabletten sind in Abbildung 18 dargestellt. Diese zeigten dabei den gleichen charakteristischen dreiteiligen Verlauf, der auch bei den mit Magnetit markierten Tabletten beobachtet wurde.

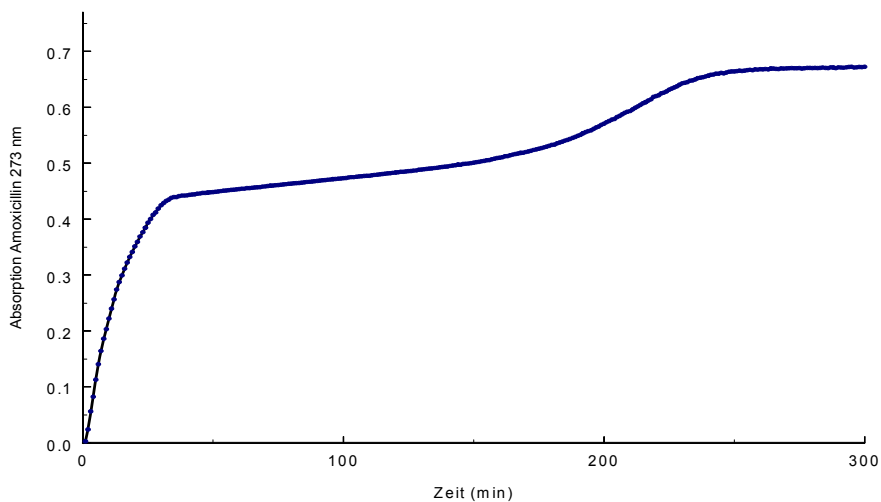


Abbildung 18: Photometrisch bei 273 nm bestimmte Freisetzung aus nicht magnetisch markiertem Augmentin XR bei 50 UpM in Phosphatpuffer USP pH 6,8.

4.4. Mechanische Belastung in vitro

Unter der stärkeren mechanischen Belastung im IMST wurden die in Abbildung 19 dargestellten Freisetzungskinetiken ermittelt. Die Freisetzung zeigte hier einen zweiphasigen Verlauf. Nach dem schnellen Anstieg der Amoxicillinkonzentration im Medium innerhalb der ersten 20 Minuten folgte eine Phase langsamerer Freisetzung bis zum Erreichen der Sättigung bei etwa 200 Minuten. Der Zerfall des zweiten magnetischen Markers erfolgte im Mittel, nachdem 75 % des Wirkstoffes der Retardschicht freigesetzt waren.

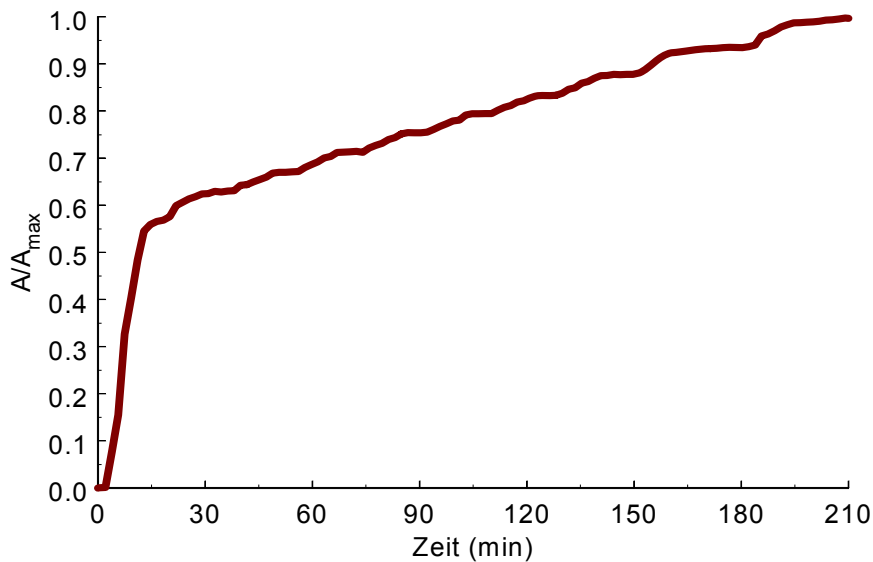


Abbildung 19: Entwicklung der Freisetzung des Amoxicillins aus Augmentin XR unter erhöhter mechanischer Belastung in Phosphatpuffer pH 6.8 USP bei 50 UpM, n=3, (—)

4.5. MMM Studie

4.5.1. Compliance und Verträglichkeit

Alle Probanden verhielten sich entsprechend den Direktiven des Prüfplans und folgten den Anweisungen des Prüfpersonals. Sämtliche Testpersonen wurden anhand der klinischen Untersuchungsergebnisse und der Laborwerte zu Beginn und Ende der Studie als gesund eingestuft. Einzelne Abweichungen der Laborwerte wurden als nicht indikativ eingeordnet. Die Prüfmedikation und die Blutentnahmen wurden von allen Probanden gut vertragen.

Die häufigsten Nebenwirkungen umfassten Müdigkeit, Kopfschmerzen und Diarrhöe. Sie entsprachen damit dem erwarteten Nebenwirkungsprofil. (Liste der Nebenwirkungen im Anhang 9.5)

4.5.2. Lokalisierung anhand der magnetischen Daten

Die Lokalisierung der Tabletten erfolgte ausgehend von den mittels des SQUID-Systems gemessenen Daten des kartesischen Koordinatensystems. (siehe Kapitel 3.2.2.3; Abbildung 13)

Als Beispiel sind die Lokalisationen der Tablette von Proband 7 bei Einnahme 30 Minuten nach einem fettreichen Frühstück entsprechend Studienarm 3 in Abbildung 20 und nach Applikation mit dem ersten Bissen eines kohlenhydratreichen Frühstücks entsprechend Studienarm 2 in Abbildung 21 dargestellt.

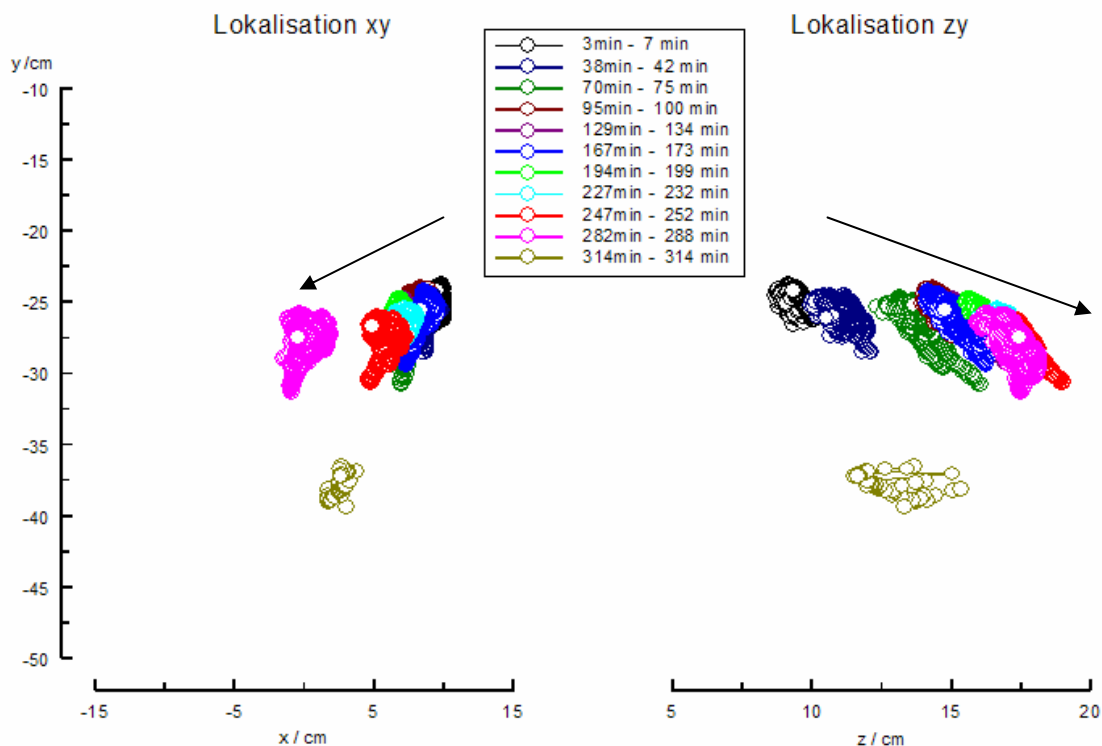


Abbildung 20: Lokalisation einer Tablette Augmentin XR mittels Magnetic Marker Monitoring in der x-y Ebene (links) und der z-y Ebene (rechts) des kartesischen Koordinatensystems. Die Einnahme erfolgte 30 Minuten nach einem fettreichen Frühstück. Die tendenzielle Bewegungsrichtung der Tablette wurde mit Pfeilen markiert.

Der Marker war anfangs 8 cm links der Medianebene des Probanden in einer Höhe von ca. 25 cm lokalisiert und wanderte im Laufe der Messungen kontinuierlich in der x-y Ebene zur rechten Seite des Probanden und nach kaudal. Gleichzeitig bewegte sich der Marker, der zu Beginn weit dorsal (8 cm von der Unterlage entfernt) lag, etwa 12 cm nach ventral. Dies entspricht unter der Voraussetzung einer normalen Anatomie (Abbildung 13) einer Ausgangsposition im Fundus und Bewegung in Richtung des Antrums. Daher wurden die Messungen 1 bis 3 dem Fundus, die Messungen 4 bis 9 dem Corpus, und die Messung 10 dem Antrum zugeordnet. Nach der 11. Ortsbestimmung, bei der sich der Marker im Dünndarm befand, wurden die Messungen beendet, da durch den Zerfall des Markers weitere Lokalisationen unmöglich wurden. Für den Zeitpunkt der Magenentleerung zwischen den Messungen 10 und 11 wurde das Mittel aus der Endzeit der vorherigen und dem Beginn der nächsten SQUID Messung verwendet.

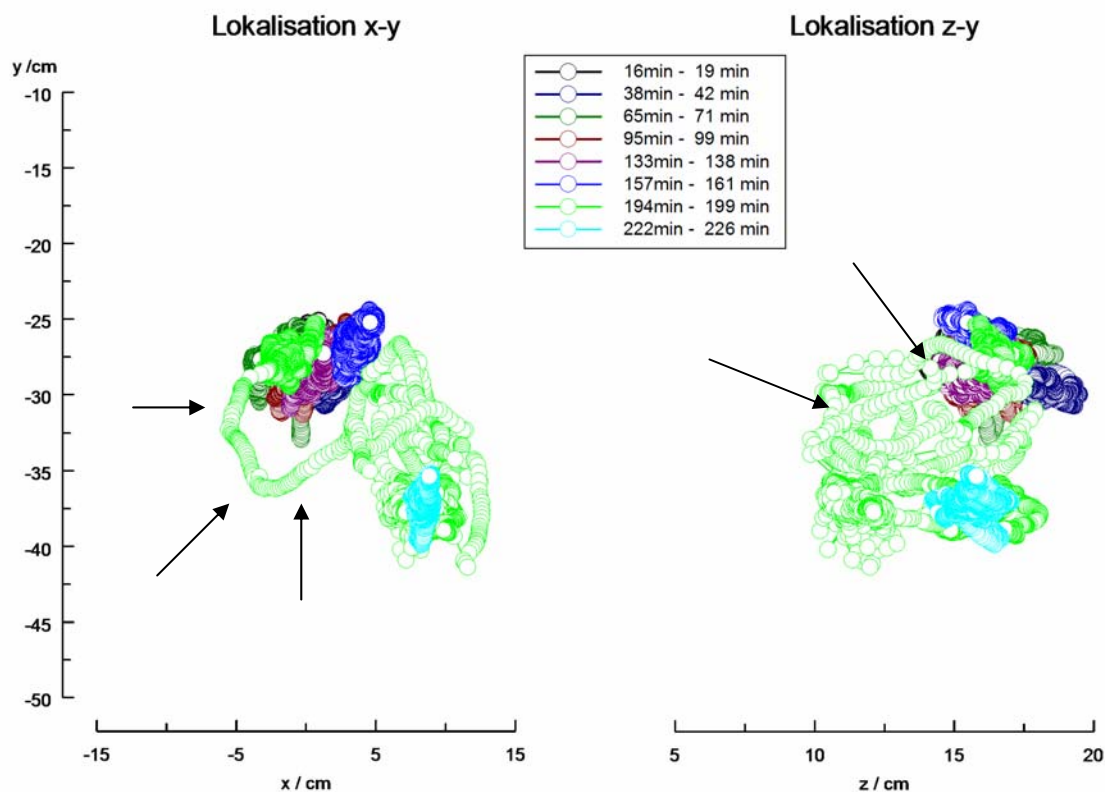


Abbildung 21: Lokalisation einer Tablette Augmentin XR mittels Magnetic Marker Monitoring in der x-y Ebene (links) und der z-y Ebene (rechts) des kartesischen Koordinatensystems. Die Einnahme erfolgte mit dem ersten Bissen eines Frühstücks. Die Bewegung im duodenalen 'C' wurde mit Pfeilen markiert.

Nach Einnahme der Medikation mit dem ersten Bissen eines kohlenhydratreichen Frühstücks war der Marker bei Proband 7 in den ersten 6 Messungen etwa in der Medianlinie bei circa 27 cm in der x-Achse lokalisiert. Dies entspricht einer antralen Lage. In der 7. Messung sieht man nach anfänglicher Lage im Antrum eine Magenentleerung mit der typischen bogenförmigen Wanderung durch das duodenale 'C'. Aufgrund der größtenteils retroperitonealen Lage des Duodenums erklärt sich dessen geringe Lagevariabilität. Daher lassen sich Marker dem Duodenum deutlich leichter zuordnen als den sehr variablen intraperitoneal gelegenen Darmabschnitten Ileum und Jejunum. Die 8. Messung wurde dem Dünndarm zugeordnet. Sämtliche Lokalisationsdaten finden sich im Anhang (Kapitel 9.7).

Aus der Größe der magnetischen Momente der einzelnen Messungen wurden durch Regression die Zerfallszeitpunkte der beiden Marker bestimmt. Zur Veranschaulichung ist dies anhand der Messungen von Proband 7 nach nüchternen Einnahme der Studienmedikation in Abbildung 22 dargestellt. In diesem Beispiel wurden für die Regression des 1. Abschnitts die magnetischen Momente der Messungen 1 bis 3, für die Regression des zweiten Abschnitts die magnetischen Momente der Messungen 3 bis 8 und für die Regression des dritten Abschnitts die magnetischen Momente der Messungen 8 und 9 verwendet.

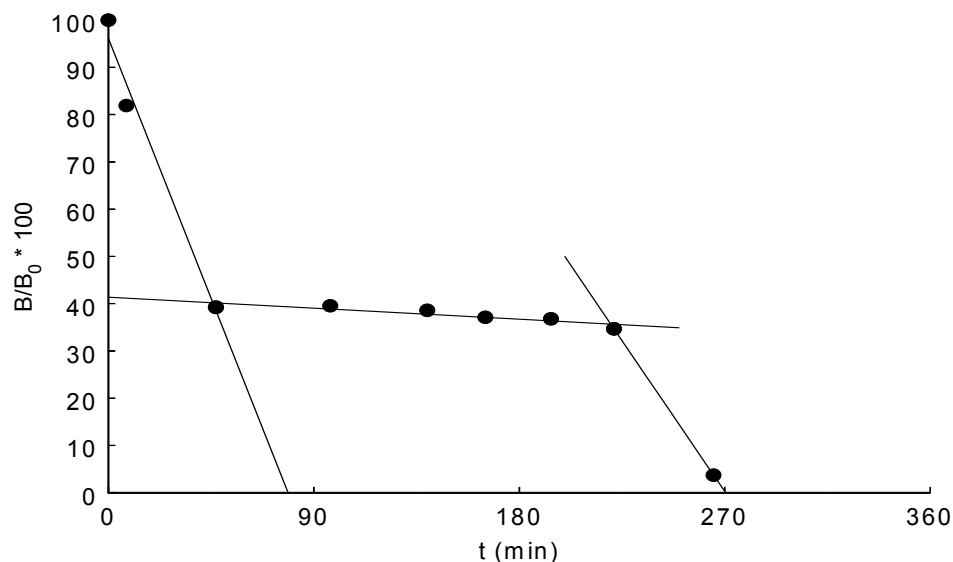
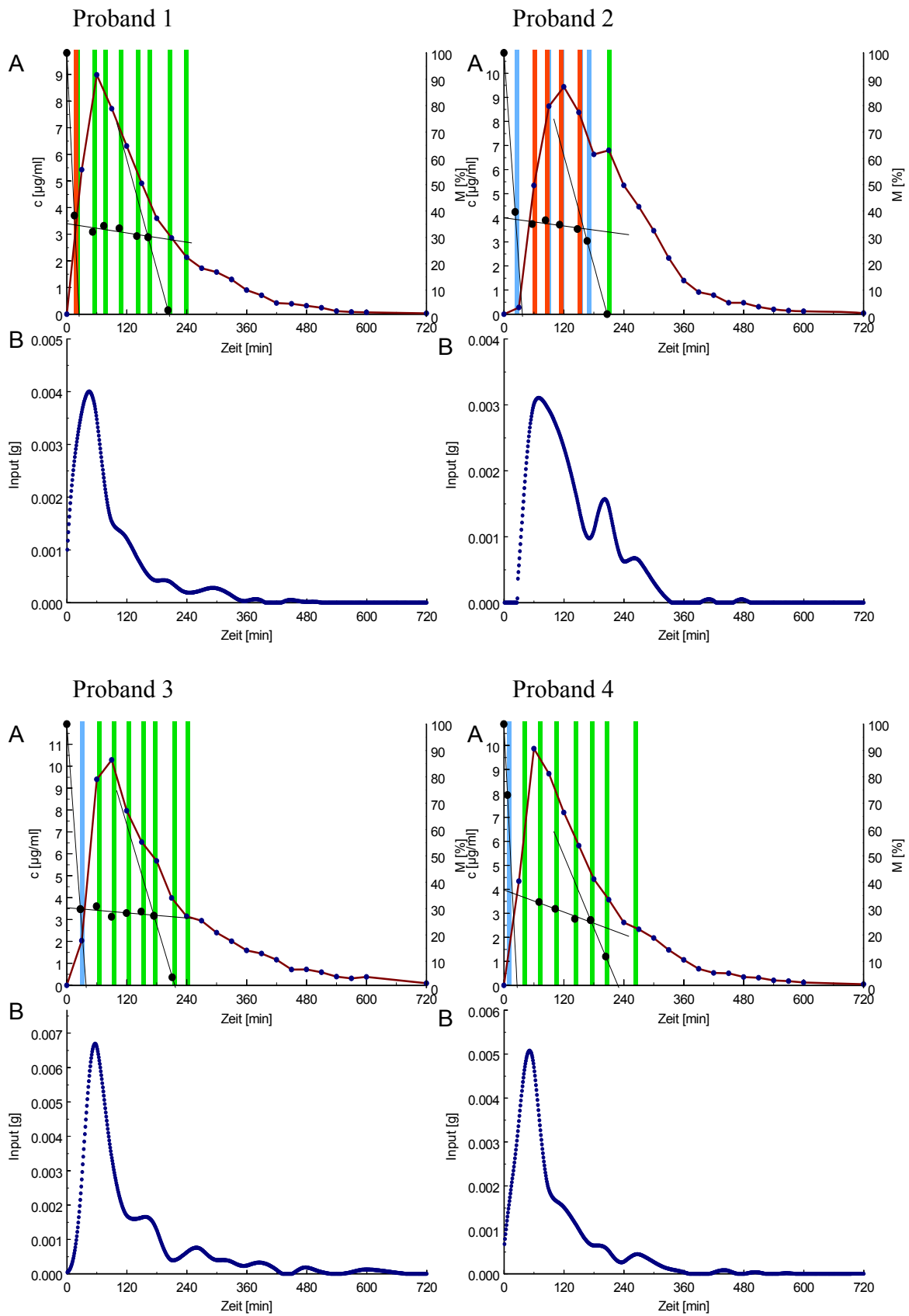
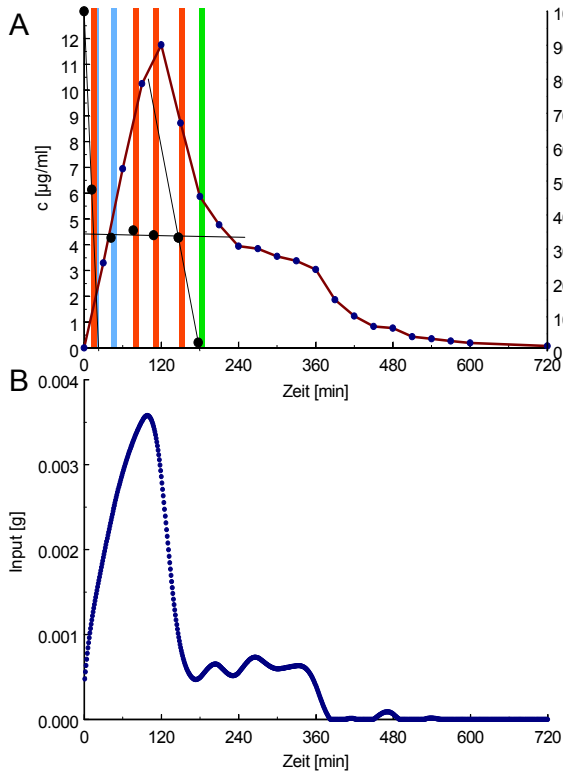


Abbildung 22: Auf den Anfangswert normierte magnetische Momente der Marker einer Tablette Augmentin XR nach nüchternen Einnahme bei Proband 7 und Regressionen der 3 Phasen der Abnahme des magnetischen Momentes.

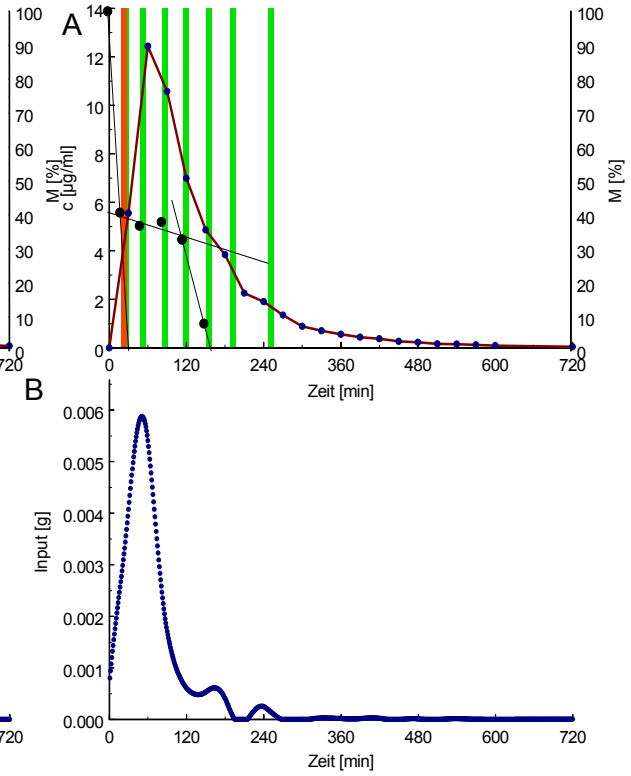
4.5.3. Applikation der markierten Tablette nüchtern



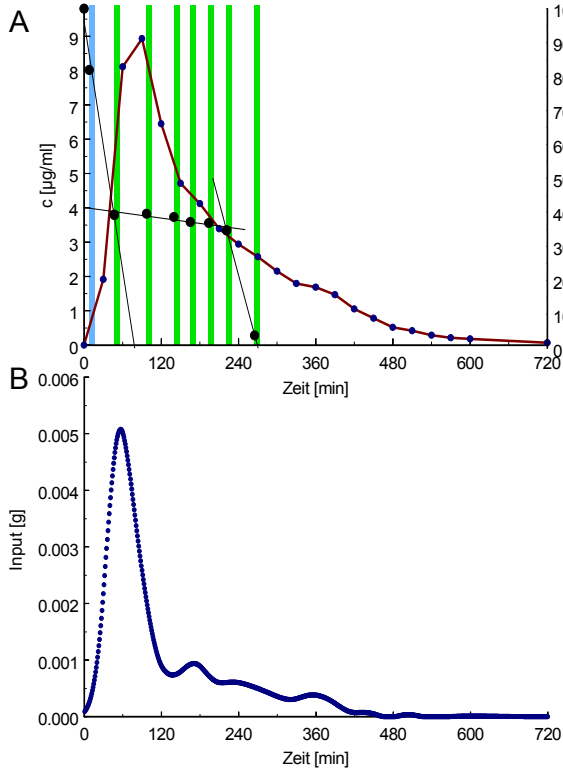
Proband 5



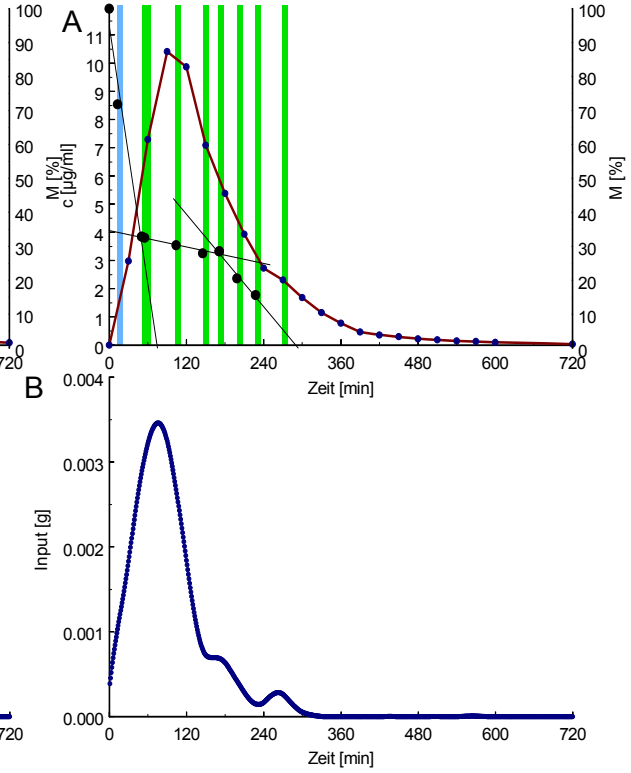
Proband 6



Proband 7



Proband 8



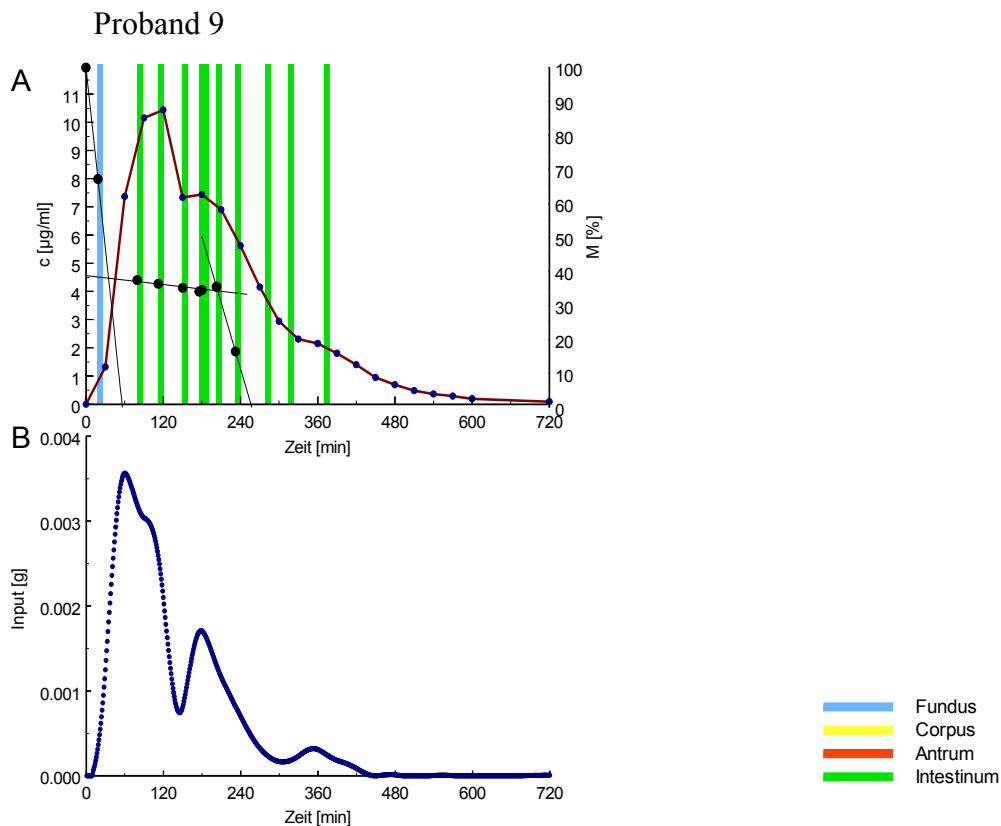
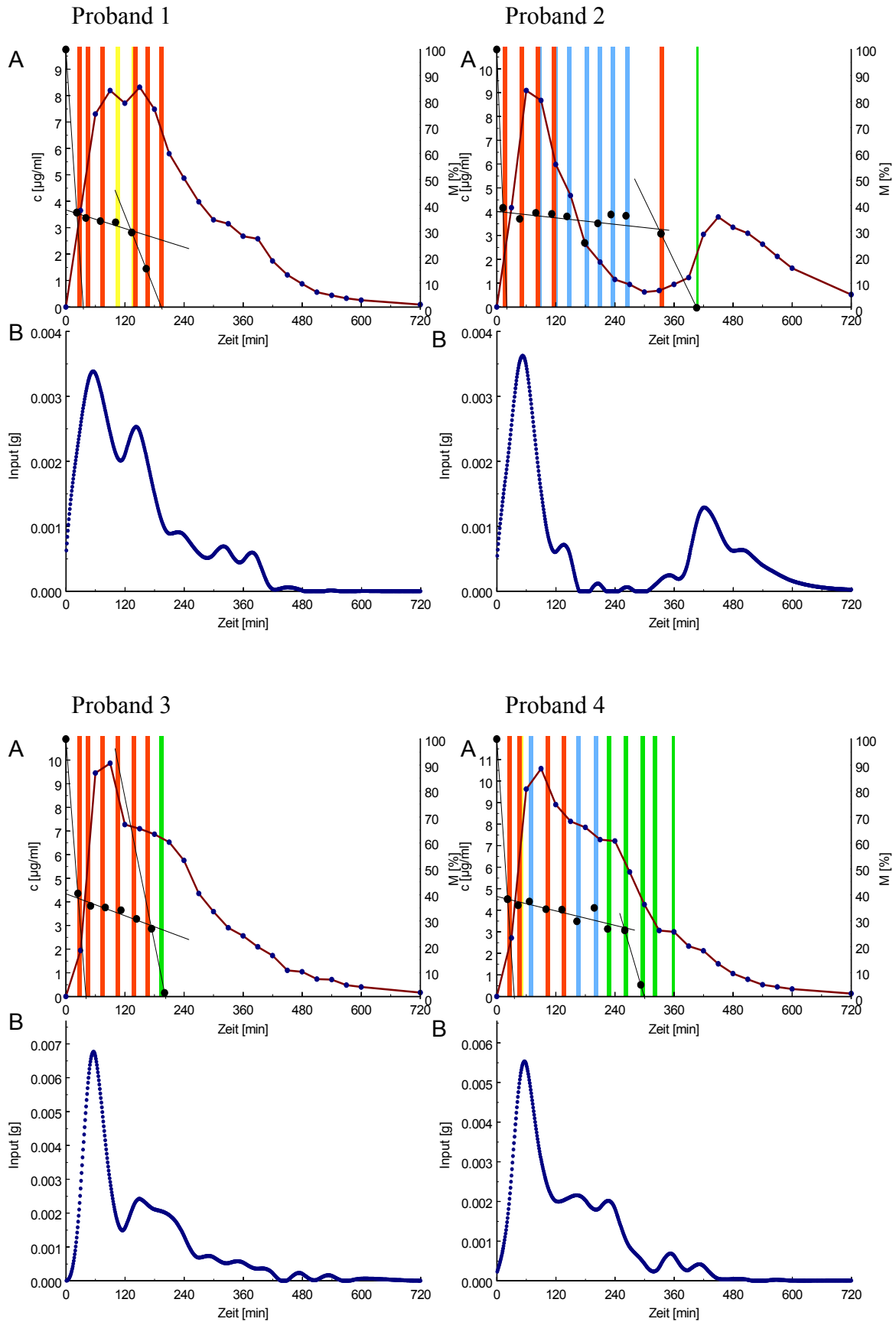


Abbildung 23: In den Graphen A: Darstellung der Amoxicillin-Plasmakonzentrationen (—●—), der auf den Anfangswert normierten magnetischen Momente (—●—) und der gastrointestinalen Lokalisationen (— Fundus; — Corpus; — Antrum; — Intestinum) nach nüchterner Einnahme der Tablette. Die Breiten der Lokalisationsbalken entsprechen der jeweiligen SQUID-Messdauer. In den Graphen B: Darstellung der zugehörigen durch Dekonvolution berechneten Amoxicillininvasionen (n=9).

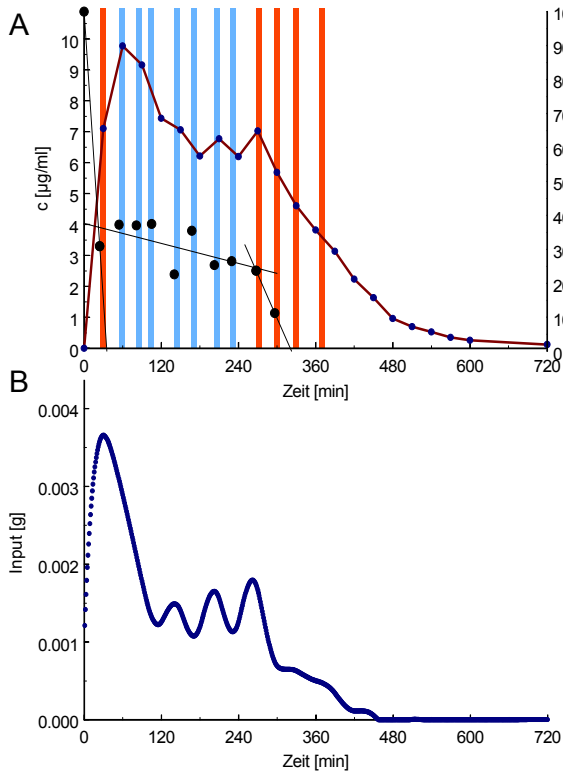
Die In-vivo-Untersuchungen erfolgten dreiarmlig an 9 gesunden Probanden. Nach nüchterner Einnahme der Studienmedikation kam es innerhalb der ersten 20 Minuten bei allen Probanden zu einem schnellen Anstieg der Amoxicillin-Plasmakonzentrationen. Die Konzentrationsmaxima wurden zwischen 70 und 140 Minuten erreicht. Zu einem zweiten Maximum, wie vor allem im Studienarm 3 beobachtet (siehe 4.5.5), kam es nach nüchterner Applikation nicht. Bei den Probanden 2, 5 und 9 zeigte der Maximalpeak jedoch Schultern im abfallenden Kurvenbereich. Bei diesen Probanden trat auch in den Invasionskurven ein zweiter Peak auf. Bei den restlichen Studienteilnehmern zeigten die Invasionen nur ein Maximum. Der Verlauf des magnetischen Momentes war vergleichbar mit dem der anderen beiden Studienarme. In den ersten 50 Minuten fiel es bei allen Probanden stark ab und stabilisierte sich dann bei etwa 40 bis 50 % des Ausgangswertes. Zum endgültigen Zerfall und damit zum Ende der Lokalisationsmessungen kam es nach nüchterner Applikation zwischen 120 und 220 Minuten. Eine Magenentleerung und somit auch die anschließende Duodenalpassage konnte bei den Probanden 1 und 6 bereits

während der ersten Messung beobachtet werden. Bei den Probanden 3, 4, 7 und 8 kam es zwischen der ersten und zweiten Messung zu einer Magenentleerung. Längere Magenaufenthaltszeiten zeigten sich nur bei den Studienteilnehmern 2 und 5, bei denen die markierte Tablette erst nach circa 180 bzw. 160 Minuten aus dem Magen entleert wurde. Der endgültige Zerfall des Markers wurde bei allen Probanden im Dünndarm beobachtet.

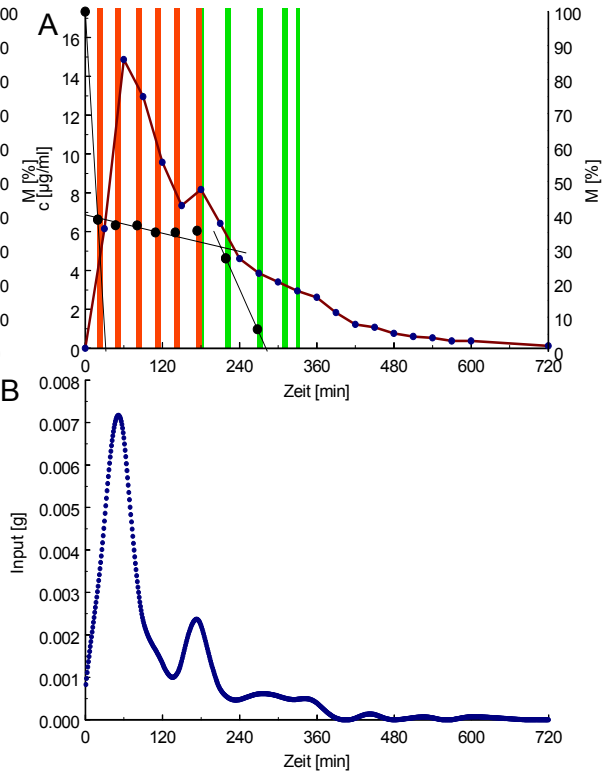
4.5.4. Applikation der markierten Tablette zum Frühstück



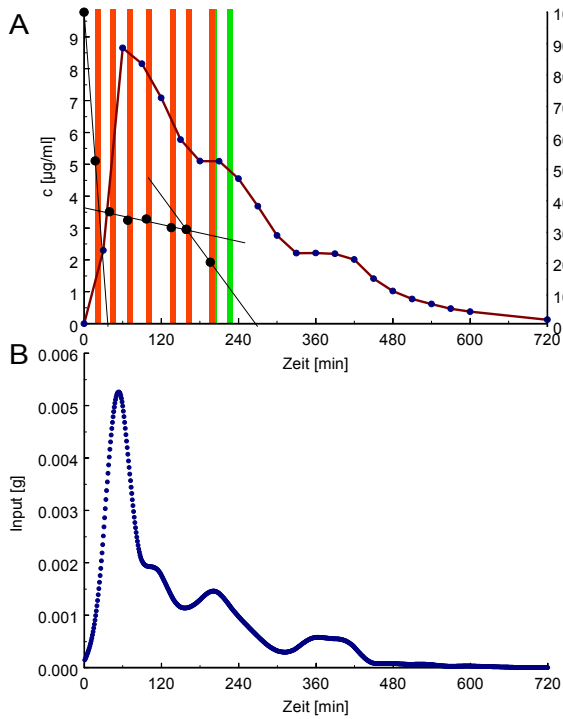
Proband 5



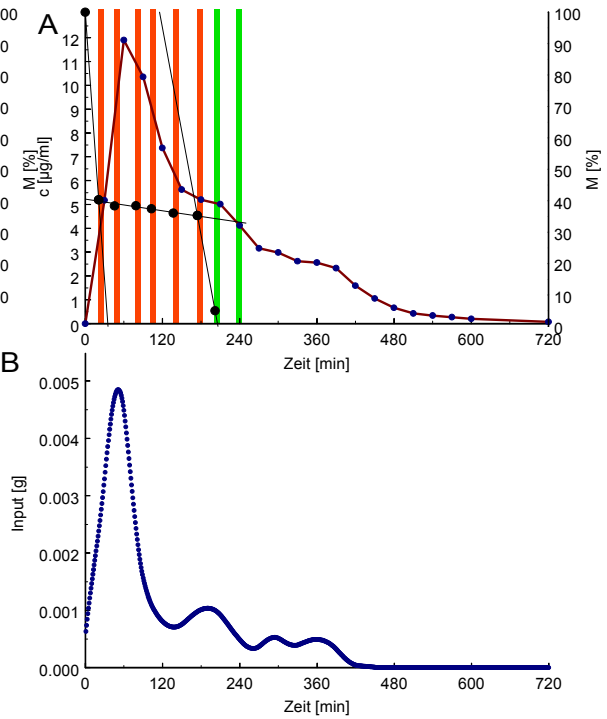
Proband 6



Proband 7



Proband 8



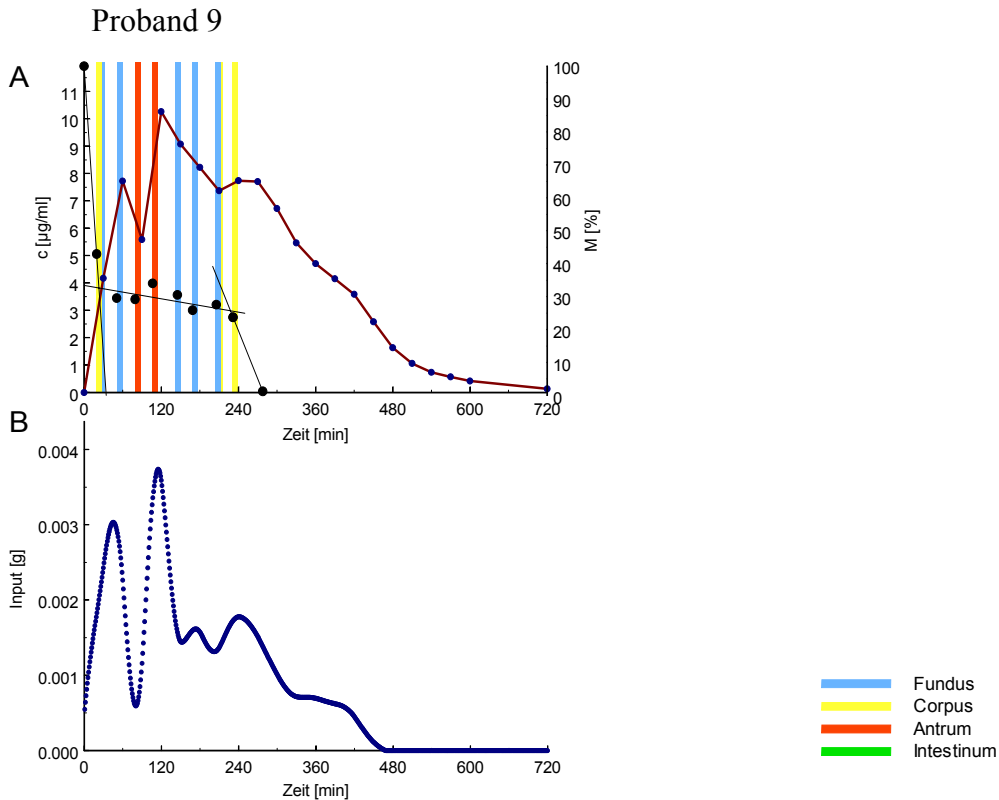
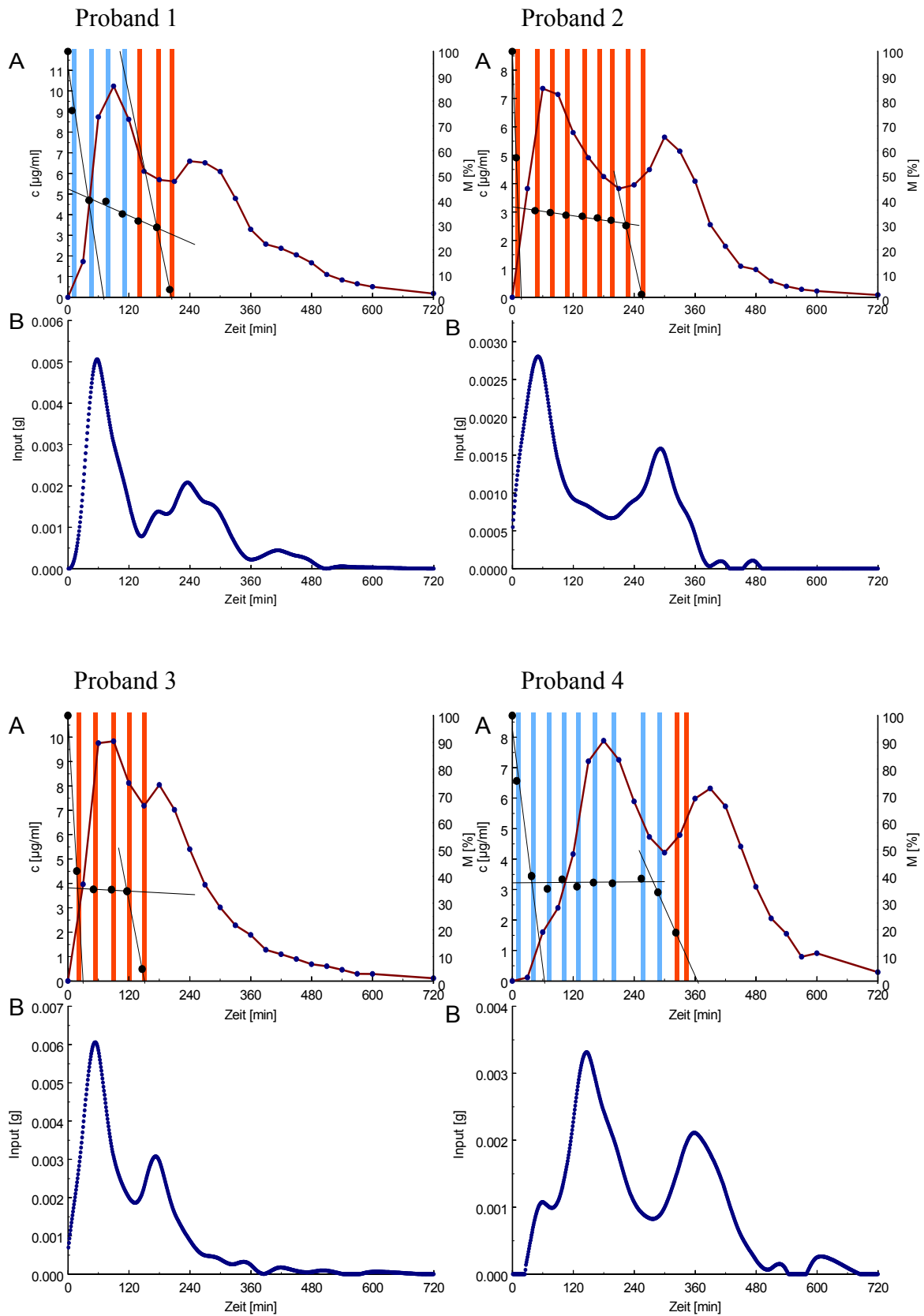


Abbildung 24: In den Graphen A: Darstellung der Amoxicillin-Plasmakonzentrationen (—●—), der auf den Anfangswert normierten magnetischen Momente (—●—) und der gastrointestinalen Lokalisationen (— Fundus; — Corpus; — Antrum; — Intestinum) nach Einnahme der Tablette zum Frühstück. Die Breiten der Lokalisationsbalken entsprechen der jeweiligen SQUID-Messdauer. In den Graphen B: Darstellung der zugehörigen durch Dekonvolution berechneten Amoxicillininvasionen ($n=9$).

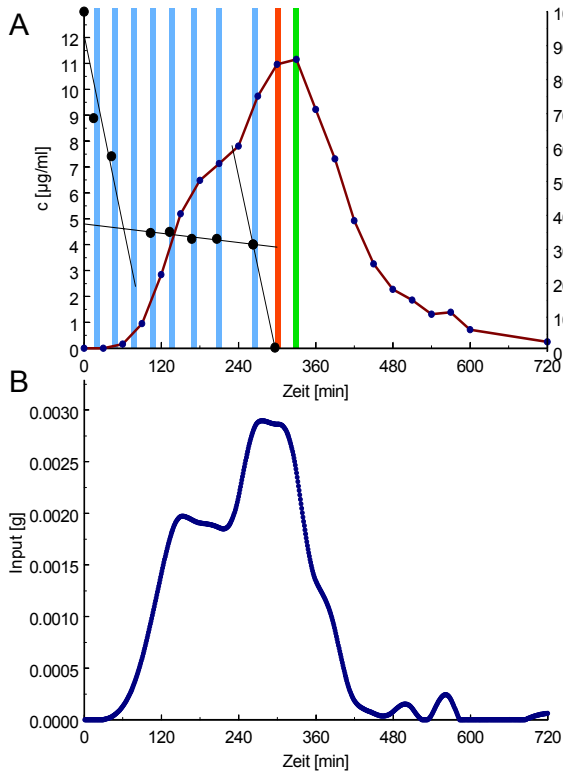
Im zweiten Arm erhielten die Teilnehmer der Studie die markierte Augmentin XR Tablette zusammen mit dem ersten Bissen eines kohlenhydratreichen Frühstücks (siehe Kapitel 9.6). Wie im ersten Studienarm stieg auch hier die Konzentration an Amoxicillin im Plasma rasch an. Maximalwerte der Amoxicillinkonzentration wurden mit Ausnahme der Probanden 1 und 9 nach 60 bis 90 Minuten erreicht, die der Probanden 1 und 9 nach 150 bzw. 120 Minuten. Ähnlich wie im dritten Studienarm trat bei fast allen Studienteilnehmern ein zweites Maximum oder eine Schulter im abfallenden Teil des Hauptpeaks nach 180 bis 300 Minuten auf. Nur bei Proband 2 erschien dieser zweite Konzentrationspeak nach 450 Minuten und somit deutlich später. Die in den Plasmaspiegelkurven aufgetretenen Nebenpeaks bzw. Schultern spiegeln sich wiederum sehr deutlich in den Invasionen wieder, in denen sich Doppel- bzw. Mehrfachpeaks zeigten. Auch im zweiten Studienarm fiel das magnetische Moment in den ersten 40 Minuten bei allen Probanden stark ab, um sich dann bei 40 bis 50 % des Anfangswertes zu stabilisieren.

Der endgültige Zerfall der Marker erfolgte zwischen 180 und 270 Minuten, bei Proband 2 nach 360 Minuten. Bei allen Probanden befand sich der Marker während der ersten Messung in Antrum oder Corpus. Magenentleerungen wurden bei den Probanden 2, 3, 6 und 7 vor bzw. während der letzten Messung beobachtet. Bei den Probanden 6 und 7 erfolgte die Passage des Magenausgangs bei der letzten Messung, so dass auch hier Duodenalpassagen aufgezeichnet werden konnten. Bei den Studienteilnehmern 1, 4, 5, 8 und 9 zerfiel die Tablette im Magen.

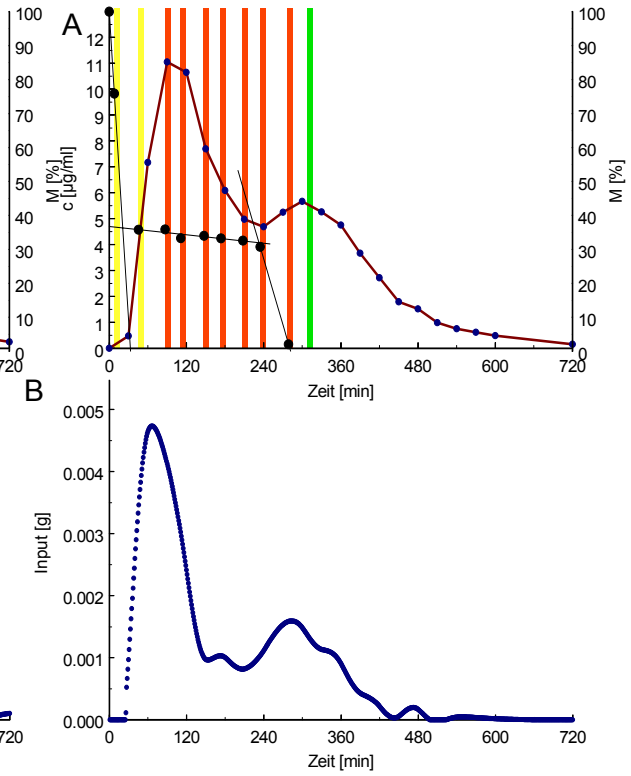
4.5.5. Applikation der markierten Tablette nach dem Frühstück



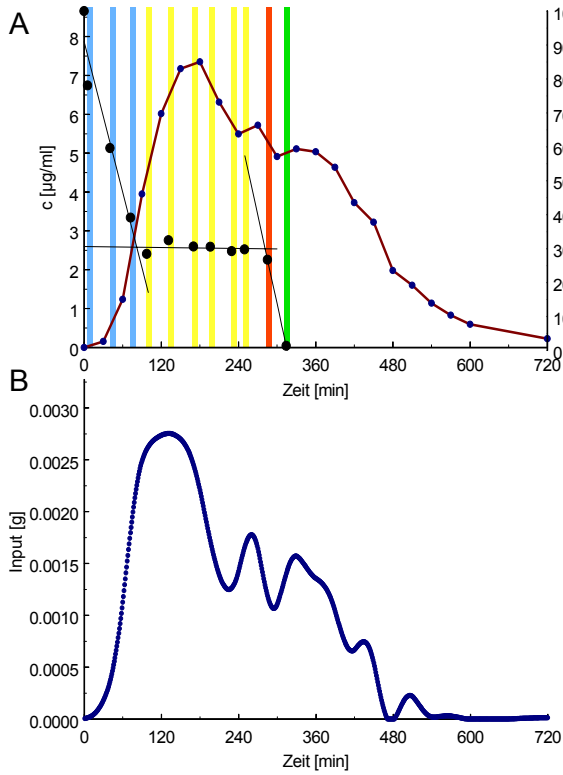
Proband 5



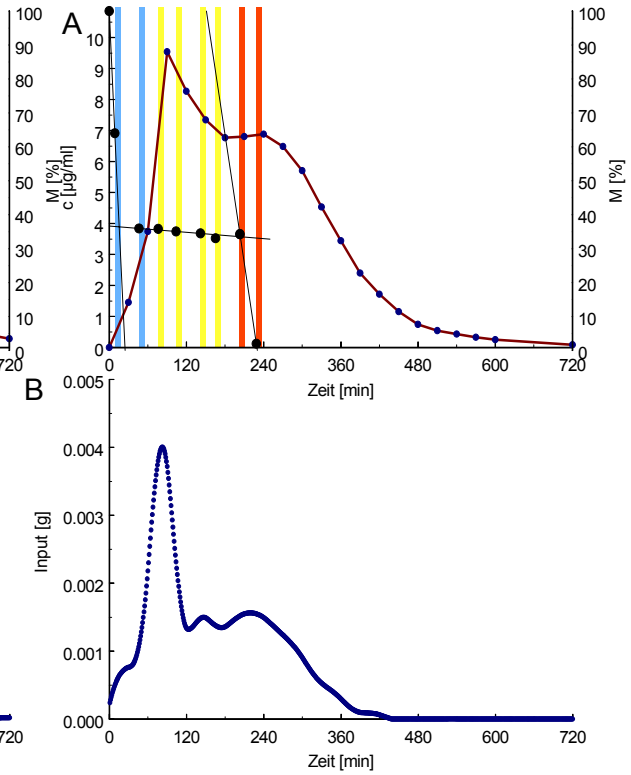
Proband 6



Proband 7



Proband 8



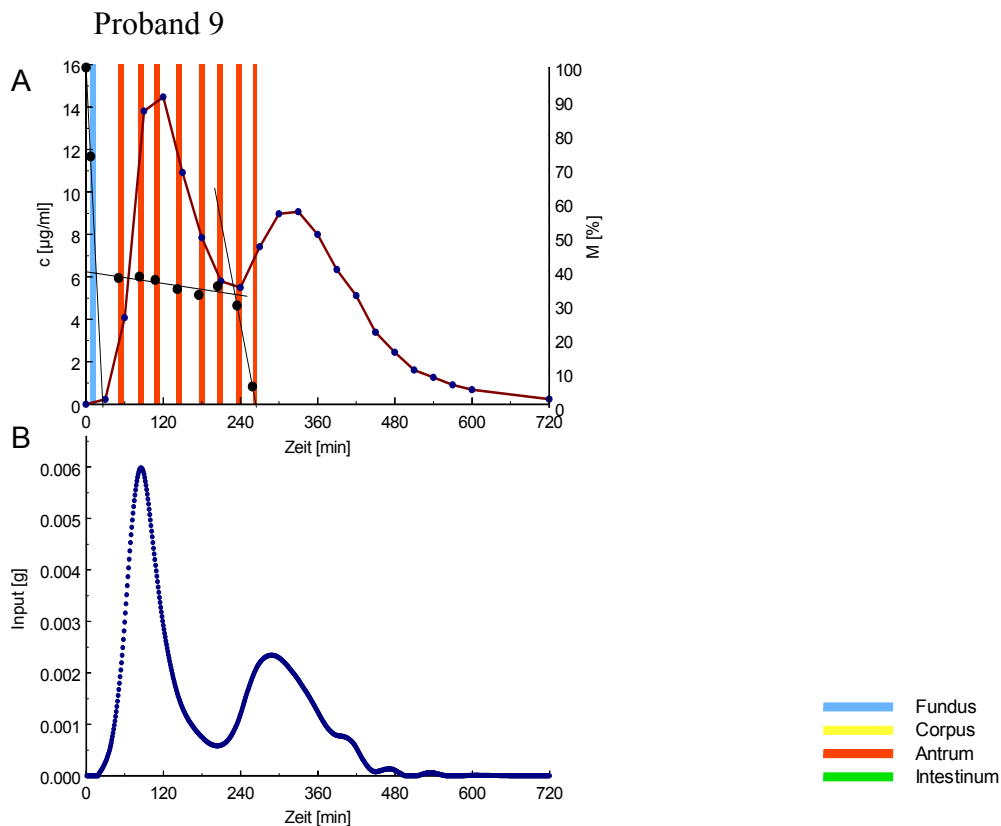


Abbildung 25: In den Graphen A: Darstellung der Amoxicillin-Plasmakonzentrationen (—●—), der auf den Anfangswert normierten magnetischen Momente (—●—) und der gastrointestinalen Lokalisationen (— Fundus; — Corpus; — Antrum; — Intestinum) bei Einnahme der Tablette nach dem Frühstück. Die Breiten der Lokalisationsbalken entsprechen der jeweiligen SQUID-Messdauer. In den Graphen B: Darstellung der zugehörigen durch Dekonvolution berechneten Amoxicillininvasionen ($n=9$).

Im dritten Arm erfolgte die Einnahme der Studienmedikation nach einem fettreichen Frühstück (siehe 9.6). Bei 8 von 9 Probanden kam es zu einem schnellen Anstieg des Amoxicillins im Plasma nach einer Zeitspanne von etwa 10 bis 40 Minuten. Die maximalen Plasmaspiegel wurden mit Ausnahme von Proband 5 von allen Probanden nach 90 bis 180 Minuten erreicht. Nach einer variablen Zeitspanne von 90 bis 210 Minuten kam es bei diesen Studienteilnehmern zu einem zweiten Maximum der Plasmaspiegelkurve. Bei Proband 5 erfolgte der Anstieg der Amoxicillinkonzentration im Plasma deutlich langsamer und verzögert nach circa 70 Minuten, mit einer Schulter in der Konzentrationskurve bei etwa 250 Minuten. Das Maximum stellte sich hier erst nach 330 Minuten ein. Ähnliche Tendenzen zeigten sich auch in den durch Dekonvolution berechneten Invasionskurven, die sämtlich ein Doppel- bzw. Mehrfachpeakphänomen aufwiesen. Mit Ausnahme von Proband 5, bei dem C_{\max} (*maximale Arzneistoffkonzentration im Plasma*) im zweiten Peak erreicht wurde, lag C_{\max} stets im ersten

Peak. Bei den Probanden 7 und 8 zeigten sich nachfolgend auf den Maximalpeak mehrere kleinere Anstiege des Invasions-Zeit-Profiles. Innerhalb der ersten 80 Minuten fiel das magnetische Moment bei allen Probanden stark ab und stabilisierte sich dann bei etwa 40 bis 50 % des Ausgangswertes. Zum endgültigen Zerfall und damit zum Ende der Lokalisationsmessungen kam es nach 150 bis 360 Minuten. Bei den Probanden 1, 2, 3, 4, 8 und 9 befand sich die markierte Tablette bis zum Zerfall im Magen. Bei den Studienteilnehmern 5, 6 und 7 wurde die Tablette jeweils während der letzten Messung in oberen Bereichen des Dünndarms lokalisiert.

4.5.6. Pharmakokinetik der Clavulansäure

Die als Studienmedikation verwendeten Tabletten Augmentin XR enthielten neben 1000 mg als Base berechnetem Amoxicillin in Form des Natriumsalzes und des Trihydrates auch 62,5 mg als Base berechnete Clavulansäure in Form ihres Kaliumsalzes. Die Clavulansäure befand sich jedoch im Gegensatz zum Amoxicillin nur in der schnell freisetzenden Schicht. Bei Clavulansäure handelt es sich um ein licht- und säureempfindliches Antibiotikum, das häufig in Kombination mit Amoxicillin zur irreversiblen Hemmung der Beta-Laktamasen eingesetzt wird. Die aus den Plasmaproben ermittelten Konzentrations-Zeit-Profile der 3 Studienarme sind in Abbildung 26 dargestellt.

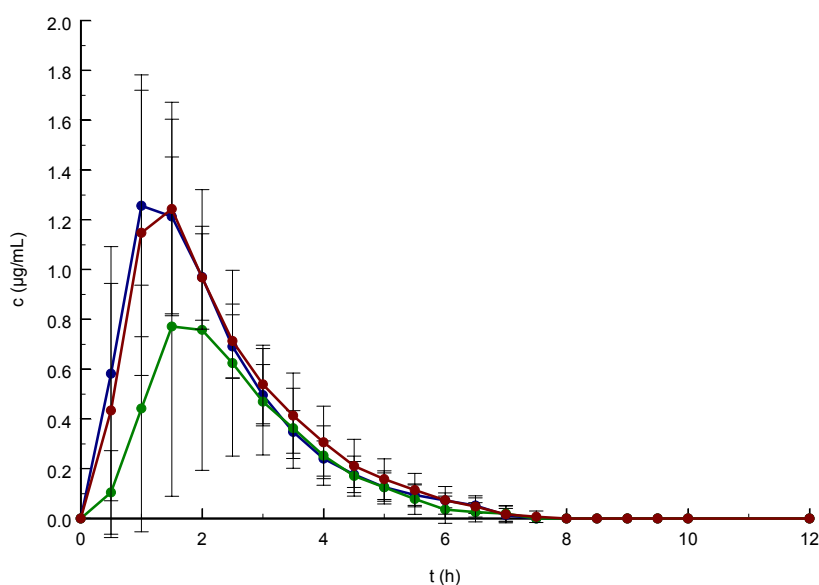


Abbildung 26: Clavulansäureplasmakonzentrationen (\pm Standardabweichung) nach oraler Applikation einer Tablette Augmentin XR mit 62,5 mg Clavulansäure. Einnahme nach einem fettreichen Frühstück (●); Einnahme nüchtern (●) und Applikation zu Beginn eines kohlenhydratreichen Frühstücks (●), (n=9)

Die Clavulansäureplasmakonzentrationen stiegen in allen 3 Studienteilen schnell. Die Maximalwerte nach nüchternen Einnahme und nach Applikation zu Beginn des Frühstücks waren vergleichbar, während die Maximalkonzentrationen nach dem fettreichen Frühstück deutlich unter denen der anderen beiden Regime lagen. Bei allen 3 Studienarmen kam es zu starken interindividuellen Schwankungen der Konzentrations-Zeit-Profile der Clavulansäure. Die Daten der Einzelmessungen sind in Abbildung 27 dargestellt.

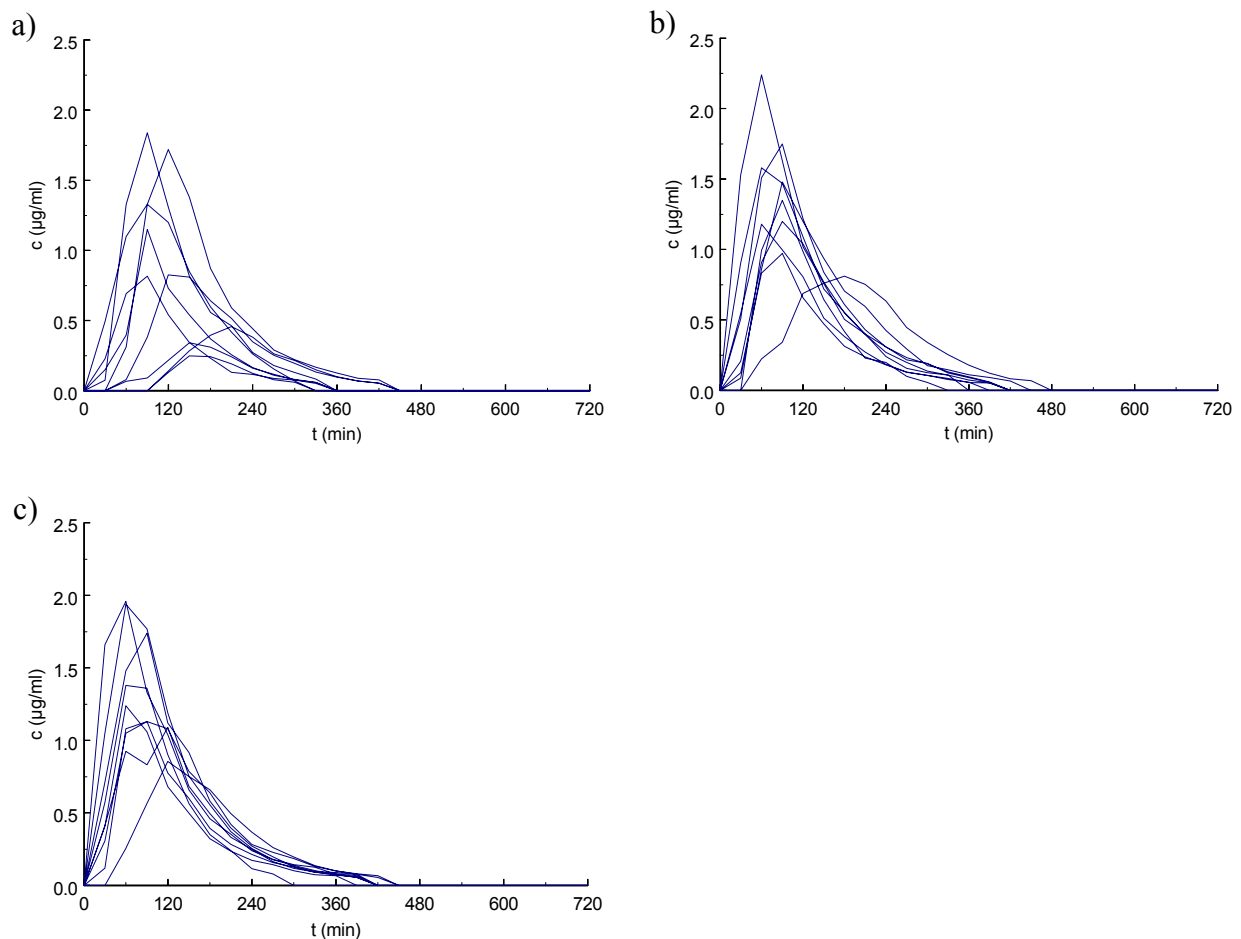


Abbildung 27: Konzentrations-Zeit-Profile der Clavulansäure nach Einnahme einer mit Magnetit markierten Tablette Augmentin XR a) nach dem Frühstück b) nüchtern c) mit dem ersten Bissen des Frühstücks, n=9

4.5.7. Zerfallszeiten und Magenentleerungen

Die Zerfallszeitpunkte der Tablettenschichten wurden durch Regression aus den magnetischen Momenten der SQUID-Messungen bestimmt (Kapitel 4.5.2). Am schnellsten erfolgte der Zerfall der Immediate-Release-Schicht nach Tabletteneinnahme vor dem Frühstück. Deutlich größere

Unterschiede traten bei der langsam freisetzenden Schicht auf. Nach nüchterner Applikation erfolgte hier der Zerfall zwischen 114 und 220 Minuten mit einem Mittel von 169 Minuten. Nach Einnahme der Tablette zum Frühstück erfolgte der endgültige Zerfall zwischen 132 und 329 Minuten, mit einem Mittel von 214 Minuten und nach Applikation der Studienmedikation nach dem Frühstück erfolgte der Zerfall der zweiten Schicht zwischen 116 und 384 Minuten, mit einem Mittel von 236 Minuten. Der Unterschied zwischen dem zweiten Zerfall im Nüchtern-Arm und dem zweiten Zerfall bei Einnahme nach dem Frühstück erwies sich dabei als statistisch signifikant. Die entsprechenden Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt.

Die Zeitpunkte der Magenentleerung wurden anhand der in der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt aufgenommenen SQUID-Messungen bestimmt. Bei Magenentleerungen zwischen zwei Messungen wurde das arithmetische Mittel der Endzeit der vorhergehenden Messung und der Anfangszeit der nachfolgenden Messung als Entleerungszeitpunkt festgelegt.

Tabelle 3: Zerfallszeiten in Minuten der magnetischen Marker der Immediate-Release-Schicht (Schicht 1) und der Retardschicht (Schicht 2) von Augmentin nach Applikation bei 9 gesunden Probanden. a) Applikation nach einem fettreichen Frühstück; b) Applikation nüchtern; c) Applikation mit dem ersten Bissen eines kohlenhydratreichen Frühstücks; * $p < 0.05$ (Start des ersten Zerfalls im Vergleich zur Applikation nach dem Frühstück)

Zerfall (min)	a) Applikation nach dem Frühstück:		b) Applikation nüchtern:		c) Applikation mit dem ersten Bissen:	
	Schicht 1:	Schicht 2:	Schicht 1:	Schicht 2:	Schicht 1:	Schicht 2:
Proband 1:	39,9	175,3	16	162,1	22,4	132,4
Proband 2:	11,4	223,2	23,5	159,9	13	329,2
Proband 3:	19,4	116,4	27,1	174,3	25,2	172,8
Proband 4:	38,7	277,5	16,9	175,5	22,1	258,5
Proband 5:	63,4	384,7	14,9	146,2	22,4	265,5
Proband 6:	21,1	232,7	19,6	114,2	19,5	210,9
Proband 7:	82	281,4	45,8	220,1	23,4	159,6
Proband 8:	15,5	203,8	49,2	171,8	21,2	174,5
Proband 9:	15,8	231,4	35	204,7	23,2	227,6
Mittelwert:	34 ± 23	236 ± 70	27 ± 12*	169 ± 29	21 ± 3*	214 ± 58
Median:	21,1	231,4	23,5	171,8	22,4	210,9

Nach nüchterner Applikation konnte bei allen Probanden eine Magenentleerung vor dem Zerfall des ersten Markers beobachtet werden. Im Mittel erfolgte dies nach 62 Minuten. Nach Einnahme des Markers zu Beginn des Frühstücks konnte bei 6 von 9 Individuen eine Entleerung der Tablette aus dem Magen nach durchschnittlich 221 Minuten erfasst werden. Im dritten Arm, bei dem die Studienmedikation nach dem Frühstück eingenommen wurde, erfolgte eine Magenentleerung nur bei 3 Probanden nach durchschnittlich 300 Minuten (Tabelle 4).

Tabelle 4: Magenentleerungszeiten bei Applikation einer magnetisch markierten Tablette Augmentin XR. a) Applikation nach einem fettreichen Frühstück; b) Applikation nüchtern; c) Applikation mit dem ersten Bissen eines kohlenhydratreichen Frühstücks; * - Zerfall vollständig im Magen; n=7 (ohne p1, p5, p9); ** n=6 (ohne p1, p5, p9); *** n=3 (ohne p1, p2, p3, p4, p8, p9)

Magenentleerung (min)	a) Applikation nach dem Frühstück:	b) Applikation nüchtern:	c) Applikation mit dem ersten Bissen:
Proband 1:	*	14	*
Proband 2:	*	185	370
Proband 3:	*	45	190
Proband 4:	*	25	210
Proband 5:	311	160	*
Proband 6:	290	17	174
Proband 7:	300	30	195
Proband 8:	*	35	190
Proband 9:	*	50	*
Mittelwert:	300 ± 9***	62 ± 60	221 ± 67**
Median:	300	35	193

4.5.8. Invasionen nach Nelson Wagner

Zur Abschätzung der pro Zeiteinheit resorbierten Amoxicillinmenge wurde neben der Entfaltung auch die Methode nach Nelson-Wagner angewandt. Hierbei bestimmt man aus der terminalen Konzentrations-Zeit-Kurve des Wirkstoffs die Eliminationskonstante k_{el} . Mit deren Hilfe „schält“ man dann unter der Voraussetzung eines Ein-Kompartimentmodells die gesamte Plasmaspiegelkurve ab und erhält so die kumulierte Invasionsfunktion über der Zeit. Die Ergebnisse dieser Methode sind in Abbildung 28 dargestellt.

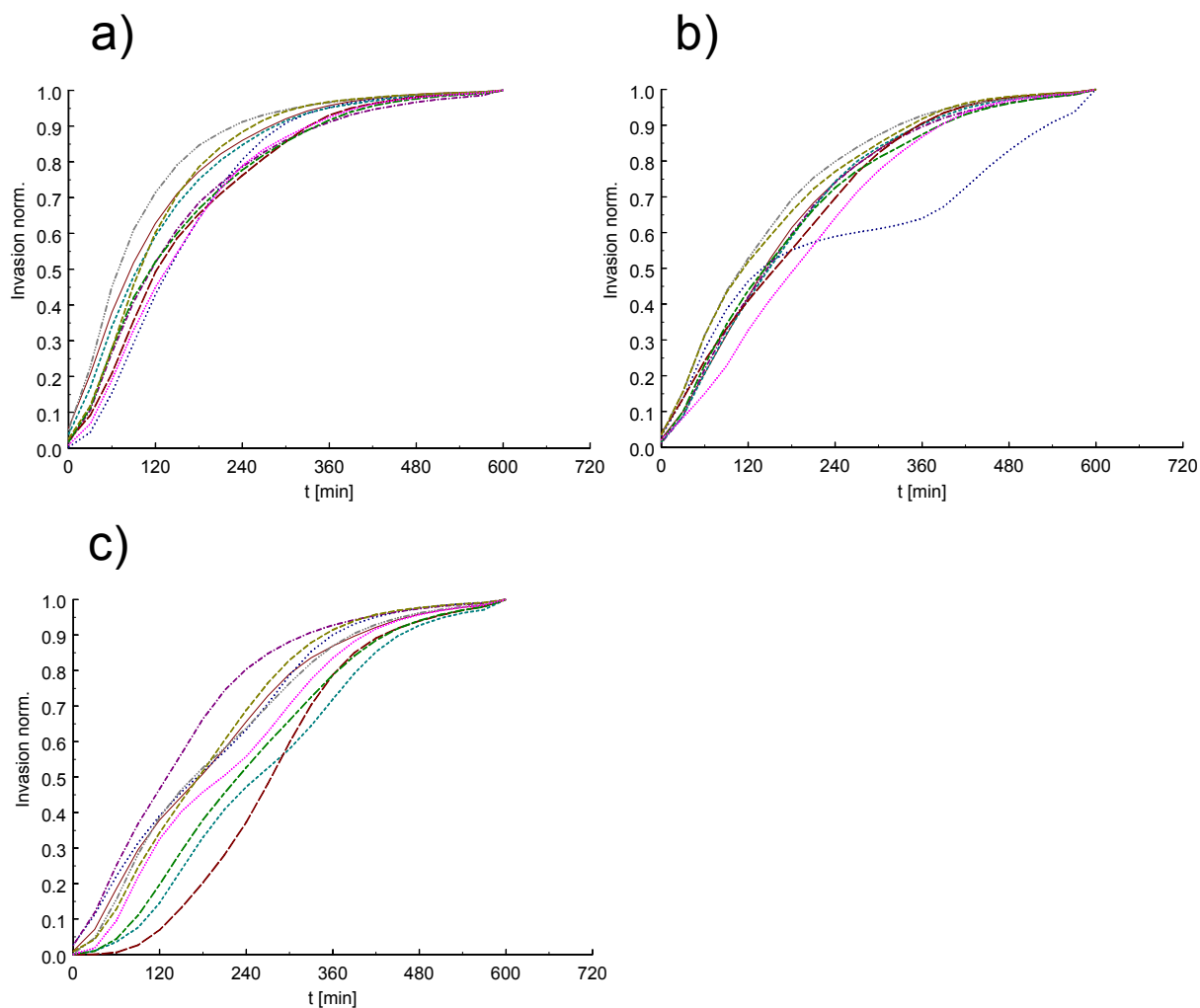


Abbildung 28: Auf den letzten Wert normierte kumulierte Invasionen nach Nelson-Wagner.
 a) nüchtern; b) Applikation mit dem ersten Bissen eines kohlenhydratreichen
 Frühstücks; c) Applikation nach einem fettreichen Frühstück

Man sieht auch hier, dass nach nüchterner Applikation der Studienmedikation die Invasions-Zeit-Kurve deutlich schneller ihren Maximalwert erreicht als in den anderen beiden Regimen. Außerdem fällt auf, dass besonders nach dem fettreichen Frühstück und zum Teil auch nach Einnahme vor dem kohlenhydratreichen Frühstück die Invasion einen dreiphasigen Verlauf zeigt.

4.5.9. Pharmakokinetische Parameter

Anhand der durch das GLP-Labor des IBMP - Institute for Biomedical and Pharmaceutical Research, Paul-Ehrlich-Straße 19 in Nürnberg-Heroldsberg gemessenen Plasmakonzentrationen wurden mittels der in Kapitel 3.2.4.1 dargestellten Methoden die pharmakokinetischen Parameter des Amoxicillins (Tabelle 5) und der Clavulansäure (Tabelle 6) errechnet.

Tabelle 5: Pharmakokinetische Parameter des Amoxicillins bei Applikation einer Tablette Augmentin XR ($AUC_{0-t_{last}}$, $AUC_{t_{last}-\infty}$, $AUC_{0-\infty}$, $T_{1/2}$, C_{max} , T_{max} , k_{el})

a) Applikation zum Frühstück, b) Applikation nüchtern, c) Applikation nach dem Frühstück, n=9; * p<0.05 (im Vergleich zum Nüchtern-Arm)

a) Applikation mit dem ersten Bissen							
Proband	k_{el} (1/hr)	$AUC_{0-t_{last}}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	$AUC_{t_{last}-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	$T_{1/2}$ (min)	C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	T_{max} (min)
1	0,505	2250	10,9	2261	82,4	8,32	150
2	0,566	1973	57,6	2030	73,5	9,09	60
3	0,438	2326	20,5	2344	95,0	9,87	90
4	0,463	2652	17,8	2670	89,8	10,6	90
5	0,414	2741	14,6	2753	101	9,77	60
6	0,477	2718	15,5	2733	87,3	14,9	60
7	0,538	2019	13,7	2033	77,4	8,65	60
8	0,497	2204	9,55	2214	83,7	11,9	60
9	0,581	3012	13,7	3026	71,6	10,3	120
Mittelwert \pm s	0,497 \pm 0,0565	2433 \pm 360	19,3 \pm 14,7	2452 \pm 354 *	84,6 \pm 9,66	10,4 \pm 2	83,3 \pm 32,8
Median	0,497	2324	14,6	2344	83,7	9,87	60
b) Applikation nüchtern							
Proband	k_{el} (1/hr)	$AUC_{0-t_{last}}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	$AUC_{t_{last}-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	$T_{1/2}$ (min)	C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	T_{max} (min)
1	0,359	1500	5,74	1506	116	8,98	60
2	0,538	1986	4,45	1991	77,2	9,44	120
3	0,556	1936	11,6	1947	74,8	10,3	90
4	0,520	1700	5,30	1706	80,0	9,87	60
5	0,490	2273	9,14	2283	84,8	11,8	120
6	0,355	1620	8,21	1628	117	12,4	60
7	0,458	1624	9,17	1634	90,9	8,93	90
8	0,497	1733	4,53	1737	83,6	10,4	90
9	0,460	2244	11,2	2255	90,6	10,4	120
Mittelwert \pm s	0,470 \pm 0,0721	1846 \pm 279	7,59 \pm 2,62	1854 \pm 280	90,6 \pm 15,7	10,3 \pm 1,19	90 \pm 26,0
Median	0,491	1733	8,21	1737	87,11	10,3	90
c) Applikation nach dem Frühstück							
Proband	k_{el} (1/hr)	$AUC_{0-t_{last}}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	$AUC_{t_{last}-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	$T_{1/2}$ (min)	C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	T_{max} (min)
1	0,517	2608	20,9	2629	80,4	10,2	90
2	0,486	2064	10,2	2074	85,5	7,35	60
3	0,394	2303	18,2	2322	106	9,83	90
4	0,453	2492	39,9	2532	91,9	7,89	180
5	0,640	2890	22,6	2913	65,0	11,2	330
6	0,563	2619	16,4	2635	73,9	11,1	90
7	0,516	2328	25,8	2353	80,7	7,35	180
8	0,522	2374	10,2	2385	79,7	9,54	90
9	0,528	3583	27,5	3611	78,8	14,5	120
Mittelwert \pm s	0,513 \pm 0,0683	2585 \pm 442	21,3 \pm 9,27	2606 \pm 446 *	82,4 \pm 11,4	9,88 \pm 2,27	137 \pm 83,7
Median	0,517	2492	20,9	2532	80,4	9,83	90

Die maximalen Amoxicillin-Plasmaspiegel wurden nach nüchterner Applikation sowie nach Einnahme der Tablette zu Beginn des Frühstücks deutlich schneller erreicht (83 bzw. 90 Minuten) als bei Einnahme der Studienmedikation nach dem Frühstück, wo sich Werte für t_{\max} (*Zeit bis zum Erreichen der Maximalkonzentration im Plasma*) von im Mittel 137 Minuten fanden. In allen drei Studienarmen wurden annähernd gleiche Maximalkonzentrationen erreicht. Auch die terminalen Halbwertszeiten und Eliminationskonstanten waren wie erwartet etwa gleich groß. Deutliche Unterschiede zeigten sich hinsichtlich der $AUC_{0-\infty}$ (*Fläche unter der Arzneistoff-Konzentrations-Zeit-Kurve über das Zeitintervall von Null extrapoliert bis unendlich*). Im Nüchtern-Regime lag diese mit $1854 \mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$ signifikant ($p < 0,05$) unter denen der anderen Regime ($2452 \mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$ bzw. $2606 \mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$).

Auch die Maximalkonzentrationen der Clavulansäure wurden bei nüchterner Einnahme bzw. Applikation vor dem Essen signifikant schneller erreicht (90 bzw. 83 Minuten) als bei Gabe der Studienmedikation nach dem fettreichen Frühstück (123 Minuten). Die erreichten Maximalkonzentrationen und Flächen unter der Kurve waren nach nüchterner Einnahme und nach Einnahme zu Beginn des Frühstücks deutlich größer als bei Applikation von Augmentin XR[®] nach dem Frühstück. Der Unterschied zwischen Nüchtern-Arm und Applikation nach dem Frühstück erwies sich hierbei als statistisch signifikant, während der Unterschied zwischen dem Nüchtern-Arm und der Applikation zu Beginn des Frühstücks zwar eine deutliche Tendenz aufwies, aber das Signifikanzkriterium von $p < 0,05$ knapp verfehlte. Die Halbwertszeiten und Eliminationskonstanten waren in allen Studienarmen vergleichbar (Tabelle 6). Hinsichtlich der Fläche unter der Kurve ist in Tabelle 6 nur die $AUC_{0-\infty}$ dargestellt, da die Konzentrationen bei allen Probanden bis zum Abfall der Werte unter die Nachweisgrenze verfolgt werden konnten und somit die $AUC_{0-\infty}$ der $AUC_{0-t_{\text{last}}}$ entspricht.

Tabelle 6: Pharmakokinetische Parameter der Clavulansäure ($AUC_{0-\infty}$, $T_{1/2}$, C_{max} , T_{max} , k_{el}) bei Applikation einer Tablette Augmentin XR:

a) Applikation zum Frühstück; b) Applikation nüchtern, c) Applikation nach dem Frühstück; * $p < 0.05$ (im Vergleich zum Nüchtern-Arm) ; ** $p < 0.05$ (im Vergleich zum Nüchtern-Arm und zur Applikation vor dem Frühstück)

a) Applikation mit dem ersten Bissen						b) Applikation nüchtern				
Proband	k_{el} (1/hr)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	$t_{1/2}$ (min)	C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	T_{max} (min)	k_{el} (1/hr)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	$t_{1/2}$ (min)	C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	T_{max} (min)
1	0,224	233	186	1,74	90	0,355	260	117	2,24	60
2	1,11	166	37,5	1,38	60	1,25	164	33,2	1,35	90
3	0,296	153	140	1,13	90	0,468	126	88,9	0,974	90
4	0,340	149	104	1,24	60	0,769	231	54,1	1,58	60
5	0,822	248	50,6	1,96	60	0,575	157	72,3	1,18	60
6	0,583	193	71,3	1,13	90	0,725	177	57,4	1,20	90
7	0,401	147	103	0,856	120	0,572	174	72,7	0,812	180
8	0,621	253	66,9	1,94	60	0,777	235	53,6	1,75	90
9	0,453	165	91,7	1,09	120	0,496	214	83,8	1,48	90
Mittelwert \pm s	0,545 $\pm 0,278$	190 $\pm 43,7$	94,7 $\pm 46,3$	1,39 $\pm 0,40$	83,3 $\pm 25,0$	0,665 $\pm 0,262$	193 $\pm 43,9$	70,3 $\pm 24,5$	1,40 $\pm 0,431$	90 $\pm 36,7$
Median	0,453	166	91,7	1,24	90,0	0,575	177	72,3	1,35	90,00
c) Applikation nach dem Frühstück										
Proband	k_{el} (1/hr)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	$t_{1/2}$ (min)	C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	T_{max} (min)					
1	0,767	210,6	54,2	1,84	90					
2	1,32	194	31,4	1,33	90					
3	0,507	98,9	82,1	0,818	90					
4	0,689	50,8	60,3	0,343	150					
5	0,720	37,3	57,8	0,249	150					
6	0,575	133	72,3	0,827	120					
7	0,612	81,1	68,0	0,458	210					
8	0,614	119	67,8	1,15	90					
9	0,489	232	85,0	1,72	120					
Mittelwert \pm s	0,700 $\pm 0,252$	128 $\pm 70,0$ *	64,3 $\pm 16,1$	0,970 $\pm 0,580$	123 $\pm 40,9$ **					
Median	0,614	119	67,8	0,827	120,00					

5. Diskussion

5.1. In-vitro-Untersuchungen

Ziel der In-vitro-Untersuchungen von Augmentin XR war die Charakterisierung der Freisetzungskinetik der zweischichtigen Tablette und die Prüfung auf eine mögliche Korrelation zwischen dem Zerfall der Matrix und der Wirkstofffreisetzung aus den Tablettenschichten. In der Formulierung enthaltene Wirkstoffe sind 1000 mg als Base berechnetes Amoxicillin und 62,5 mg als Base berechnete Clavulansäure in einer schnell freisetzenden Schicht und einer Schicht mit veränderter Wirkstofffreisetzung. Das Ziel ist hierbei die schnelle Freisetzung der gesamten Clavulansäure und eines Teils des Amoxicillins aus der nicht retardierenden Seite, um möglichst schnell Plasmaspiegel im therapeutischen Bereich zu gewährleisten. Durch eine kontinuierliche Freisetzung aus der Retardseite soll in der Folgezeit ein gleichbleibend hoher Plasmaspiegel an Amoxicillin garantiert werden.

Auf eine Retardierung der Clavulansäure kann aufgrund der Irreversibilität der Hemmung der bakteriellen Beta-Laktamasen verzichtet werden. Von den in der Wirkform enthaltenen 1000 mg Amoxicillin liegen 562,5 mg als Trihydrat vor, der Rest in Form des Natriumsalzes.

In einem vorausgehenden Schritt wurde die Löslichkeit des Amoxicillin-Trihydrates in USP-Phosphatpuffer pH 6,8 von uns zu 3,2 g/l bestimmt. Die sehr gute Löslichkeit (>1g/mL) des Amoxicillin-Natriumsalzes über einen weiten pH-Bereich ist allgemein bekannt. Da die Dissolutionsuntersuchungen in 900 mL Puffer erfolgten und die maximalen Konzentrationen des Trihydrates in der Lösung somit 0,62 mg/mL und des Natriumsalzes 0,48 mg/mL betragen, konnte eine Beeinflussung der Freisetzung durch Annäherung an die Sättigungskonzentration im Dissolutionsmedium ausgeschlossen werden. Weiterhin konnte anhand der quantitativen Untersuchung der Wirkstoffverteilung in den Schichten (s. Kapitel 3.1.2) gezeigt werden, dass die Verteilung des Amoxicillins in den Schichten nicht gleichmäßig ist. In der schnell freisetzenden Schicht von Augmentin XR[®] befinden sich nach unseren Untersuchungen circa 59 % der Gesamtmenge des Amoxicillins.

Zur Lokalisierung in vivo und zur Bestimmung des Zerfallszeitpunktes wurde eine Magnetit / MCC (*Mikrokristalline Zellulose*) - Verreibung in je ein Bohrloch in jeder Tablettenschicht eingebracht und mittels eines Elektromagneten aufmagnetisiert. Sowohl die Freisetzung des Wirkstoffes als auch der Zerfall des dabei entstandenen magnetithaltigen Zylinders zeigten in den In-vitro-Untersuchungen einen dreiteiligen Verlauf (siehe Abbildung 29 / Kapitel 4.3). Mittels Regressionsgeraden der einzelnen Abschnitte wurden die mittleren theoretischen

Zerfallszeitpunkte bei angenommenem linearem Zerfall von Marker und Tablettenschichten festgelegt (Abbildung 29). Im ersten Abschnitt bis etwa 30 Minuten kam es zu einem schnellen Anstieg der Amoxicillinkonzentration im Medium und gleichzeitig zum Abfall des magnetischen Momentes um etwa 60 %.

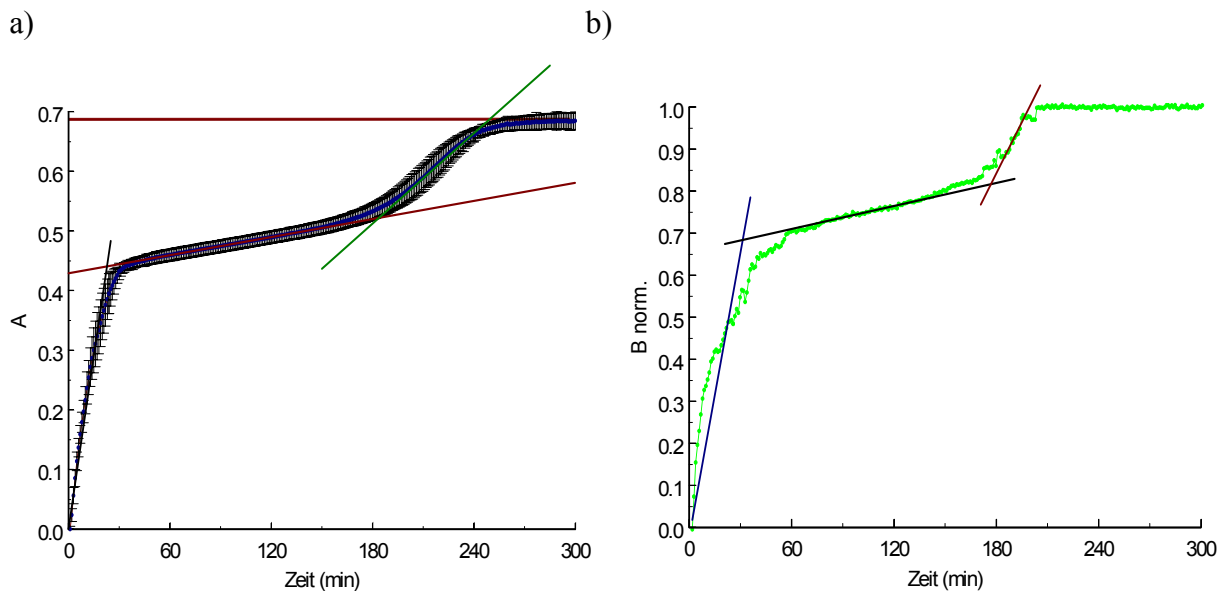


Abbildung 29: a) Spektrophotometrisch bestimmter Freisetzungsverlauf des Amoxicillins aus Augmentin XR-Tabletten und die maximal freigesetzte Menge nach dem vollständigen Tablettenzerfall
 b) Verlauf des magnetischen Momentes beidseitig markierter Augmentin XR Tabletten
 Regressionen zu den 3 Freisetzungsabschnitten, Phosphatpuffer pH 6.8 USP, 50 UpM, n=10.

Dies entspricht dem auch visuell beobachteten Zerfall der schnell freisetzenden Schicht. Der mittlere Zerfallszeitpunkt wurde auf 23 Minuten festgelegt. Die Freisetzungsgeschwindigkeit betrug hier 19,3 mg pro Minute. Im Anschluss an den Medienwechsel nach circa 30 Minuten erfolgte die weitere Freisetzung in Abschnitt 2 und 3 ausschließlich aus der Retardschicht von Augmentin XR. Abschnitt 2 weist dabei einen relativ linearen Verlauf auf. Unter der Annahme einer vergleichbaren Freisetzung aus dieser Schicht bereits im ersten Freisetzungsabschnitt wurde der reine Anteil der schnell freisetzenden Schicht aus dem Schnittpunkt der Regressionsgeraden des zweiten Abschnittes mit der Ordinate bestimmt. Daraus folgt, dass die schnell zerfallende Schicht selbst mit einer Absorption von 0,429 zur Maximalabsorption von 0,690 beiträgt und somit einen Anteil von 62 % der Gesamtamoxicillinmenge ausmacht. Dies deckt sich in sehr gutem Maß mit den Ergebnissen der quantitativen Analyse der in den einzelnen Schichten befindlichen Amoxicillinmengen (siehe 4.2). Dass in der Freisetzungsuntersuchung der schnell freisetzenden Schicht ein erhöhter Amoxicillinanteil

bestimmt wurde, kann möglicherweise darauf zurückgeführt werden, dass die Retardseite in der Anfangsphase eine nicht lineare und beschleunigte Freisetzung zeigt, verursacht z.B. durch einen „initial burst“, deren Mehrbeitrag bei unserer Betrachtung dann der schnell freisetzenden Schicht zugerechnet wurde. Die weitere Freisetzung von Amoxicillin im folgenden Abschnitt bis 170 Minuten erfolgte sehr langsam. Als mittlere Freisetzungsgeschwindigkeit wurden 0,51 mg pro Minute bestimmt. Im Bereich zwischen 170 und 200 Minuten ist eine erneute Änderung des Konzentrations-Zeit-Profiles zu beobachten. Die Geschwindigkeit der Wirkstofffreisetzung stieg auf 2,52 mg/min. Maximalkonzentrationen wurden nach 300 Minuten einhergehend mit der visuell bestätigten kompletten Tablettenauflösung erreicht. Der Beginn des 3. Abschnittes wurde mit 183 Minuten errechnet. Visuell konnte hier ein Zerfall der kompletten Tablette in einzelne Bruchstücke beobachtet werden.

Im Verlauf des über den gesamten Messzeitraum bestimmten magnetischen Momentes findet sich ebenfalls ein dreiphasiger Verlauf. Nach dem schnellen Abfall um 50 bis 60 % im ersten Abschnitt der Freisetzung bis zur 30. Minute erfolgte im zweiten Abschnitt nur noch eine langsame Abnahme der Magnetfeldstärke um etwa 15 %. Parallel zur zweiten schnellen Freisetzung ab der 176sten Minute fiel das Restmoment schnell auf Null. Aufgrund dieser deutlichen Zusammenhänge zwischen den schnellen Abnahmen der magnetischen Momente und der parallel einsetzenden schnellen Freisetzungsphasen ist davon auszugehen, dass man auch in vivo anhand der Stärke des magnetischen Momentes Rückschlüsse auf den Zerfallsgrad der Arzneiform ziehen kann.

Durch Untersuchungen an drei nicht markierten Tabletten wurden Einflüsse der Bohrungen auf das Freisetzungsverhalten ausgeschlossen (siehe Kapitel 4.4). Die Tabletten zeigten hier das gleiche dreiphasige Verhalten wie die magnetisch markierten Tabletten. Auch die mittels der Schnittpunkte der Regressionsgeraden ermittelten Zerfallszeitpunkte stimmten weitgehend überein. (siehe Tabelle 7)

Tabelle 7: Zerfallszeitpunkte der Tablettenschichten und phasenweise Freisetzungsgeschwindigkeiten von magnetisch markierten und nicht markierten Augmentin XR-Tabletten in USP Phosphatpuffer pH 6,8 bei 50 UpM.

	Ende des Zerfalls Schicht 1	Beginn des Zerfalls Schicht 2	v (mg/min) (Phase 1)	v (mg/min) (Phase 2)	v (mg/min) (Phase 3)
Augmentin XR ohne Marker (n=3)	22	177	20	0,5	2,4
Augmentin XR mit Marker (n=10)	23	183	19,3	0,51	2,52

Die Arzneiform stellt daher unter den Bedingungen im MMDT weniger eine Retardform mit initial schnell freigesetztem Anteil sondern eher eine pulsatile Arzneiform dar, die die enthaltene Amoxicillinmenge in zwei vergleichsweise schnellen Etappen freisetzt. Die Freisetzung in der dazwischen liegenden langsamen Phase ist wahrscheinlich nicht geeignet, um das in der ersten Freisetzungsphase erzeugte Wirkstoffniveau aufrechtzuerhalten. Im Gegensatz dazu sieht man bei verstärkter mechanischer Belastung das bei retardierenden Arzneiformen erwünschte Verhalten (Abbildung 19). Hier verlief die Freisetzung aus der Retardschicht annähernd linear und der Zerfall des zweiten Markers erfolgte erst, nachdem bereits 75 % des Wirkstoffes der retardierenden Schicht, also 90 % der Gesamtmenge freigesetzt waren.

Um Voraussagen hinsichtlich der Entwicklungen der Amoxicillin-Plasmaspiegel machen zu können, wurden ausgehend von den gemittelten Freisetzungdaten des MMDT Plasmakonzentrations-Zeit-Profile mithilfe des Programms „Axum 5.0“ unter Verwendung eines Dreikompartimentmodells simuliert (siehe Kapitel 9.8.1). Das Problem der In-vivo- / In-vitro-Korrelation bei retardiert freisetzenden Amoxicillinformulierungen wurde bereits mehrfach untersucht (Arancibia, Gonzalez et al. 1987). Die Daten zur Beschreibung der Amoxicillinkinetik weisen in der Literatur eine große Spannweite auf. Neben der Beschreibung der Kinetik durch Zwei- bzw. Dreikompartimentmodelle (Dalhoff, Koeppe et al. 1981) werden auch dosisabhängige Phänomene vermutet (Paintaud, Alvan et al. 1992). In dieser Studie wurde ein Dreikompartimentmodell vorausgesetzt, in dem die folgenden Mikrokonstanten verwendet wurden: $k_a = 0,72$ 1/h; $k_{10} = 2,87$ 1/h; $k_{21} = 0,65$ 1/h; $k_{12} = 0,65$ 1/h; $k_{31} = 5,76$ 1/h; $k_{13} = 6,79$. Das Verteilungsvolumen wurde mit 0,075 l/kg, die Bioverfügbarkeit mit einem Faktor von 0,8 und die Resorptionsverzögerung mit 20 Minuten angesetzt. Die gleichzeitige Gabe der Clavulansäure wurde vernachlässigt, da dies, wie bereits von Witkowski, Lode et al. 1982 gezeigt, keinen Einfluss auf die Pharmakokinetik von Amoxicillin zu haben scheint.

Die simulierte Plasmaspiegelkurve für einen 72 kg schweren Patienten und die Plasmaspiegelkurve eines 72 kg schweren Probanden bei Einnahme der Studienmedikation nach dem Frühstück sind in Abbildung 30 dargestellt. Für die Einnahme der Studienmedikation nach dem Frühstück werden so gute In-vivo- / In-vitro-Korrelationen erzielt. Nicht bzw. nur sehr unzureichend lassen sich so jedoch die gemessenen Plasmaspiegel der anderen beiden Studienarme nachvollziehen.

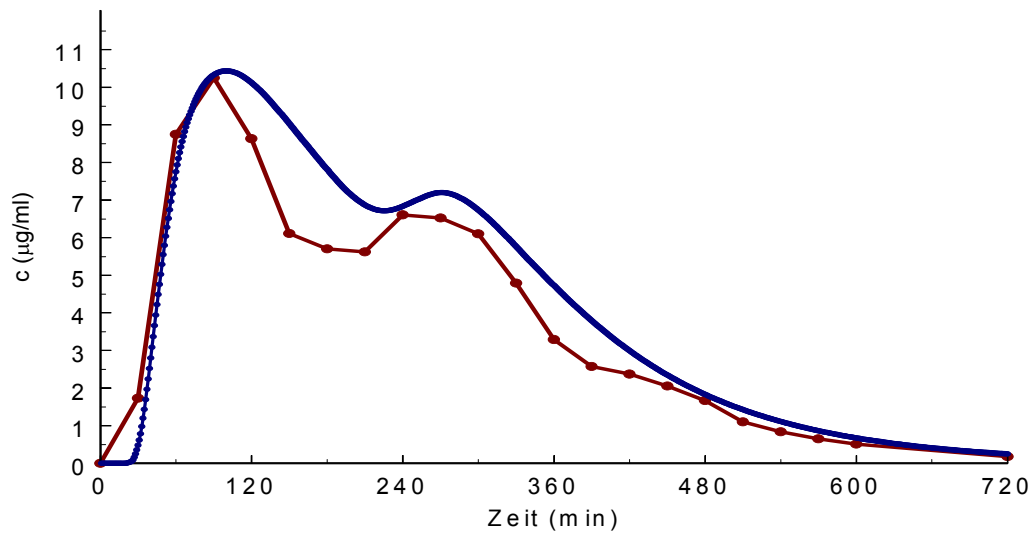


Abbildung 30: Anhand der In-vitro-Freisetzungsdaten mithilfe eines Dreikompartimentmodells simulierte Plasmaspiegelkurve für einen 72 kg schweren gesunden Erwachsenen (●) und das in vivo bestimmte Amoxicillin-Konzentrations-Zeit-Profil des Probanden 1 (Körpergewicht 72 kg) bei Einnahme der Tablette 30 min nach Beginn des Frühstücks(●).

5.2. Probandenstudie

5.2.1. Nüchterne Applikation

Nach nüchterner Applikation wurde die Tablette bei allen Probanden aus dem Magen entleert. Dies geschah im Mittel nach 62 Minuten mit einer minimalen Magenverweilzeit von 14 Minuten bei Proband 1 und einer maximalen Verweilzeit von 185 Minuten beim Studienteilnehmer 2. Der Magen zeigt im nüchternen Zustand einen Zyklus motorischer Aktivität, den Migrating Motor Complex (*MMC*) (Sarna 1985). Dieser besteht aus je nach Literatur 3 bis 4 relativ regelmäßig hintereinander ablaufenden Phasen. Die erste wird charakterisiert durch etwa 45 bis 60 Minuten dauernde relative motorische Ruhe, die zweite durch intermittierende unregelmäßige Kontraktionen zunehmender Frequenz von etwa 30 Minuten. Eine dritte kurze circa 5 Minuten andauernde Phase ist gekennzeichnet durch starke regelmäßige mit Frequenzen bis 3 pro Minute ablaufende Kontraktionen, während derer größere unverdauliche Teile des Mageninhaltes durch den Pylorus entleert werden. Die ebenfalls kurze Zeitdauer des Übergangs zwischen Phase 3 und Phase 1 wird von einigen Autoren als eigenständige vierte Phase abgegrenzt. Der gesamte Zyklus hat somit typischerweise eine Dauer von ca. 90 Minuten. Da nüchtern nur flüssige und feste Arzneiformen unter circa 10 mm Durchmesser unabhängig von der späten Phase 2 und Phase 3 aus dem Antrum entleert werden (Sugito, Ogata et al. 1990), wird klar, dass die Augmentin XR-Tabletten mit einer Größe von 22 x 8 x 10 mm mit hoher Wahrscheinlichkeit nur während der Phase 3 ins Duodenum entleert werden können. Somit wären je nach Phase zum Zeitpunkt der nüchternen Einnahme von Augmentin XR Entleerungszeiten bis zu 90 Minuten zu erwarten.

Mit Ausnahme der Probanden 2 und 5 lagen auch alle Entleerungszeiten innerhalb dieser Zeitspanne. Da es sich beim Entleerungsprozess jedoch um einen statistischen Prozess handelt, sind auch Entleerungszeiten der doppelten bzw. mehrfachen Zeitspanne des MMC denkbar. Dies könnte der Grund für die sehr späte Entleerung bei den Probanden 2 und 5 sein, bei denen die Tablette nach mehrfachem Wechsel zwischen Antrum und Fundus erst nach 185 bzw. 160 Minuten aus dem Magen entleert wurde. Die lange Magenverweilzeit der markierten Arzneiform bei Proband 5 erklärt sich möglicherweise aber auch aus einer Variabilität der Lage des Magens, da die Wanderung der Tablette im Magen hier nicht das typische Muster mit einer Bewegung von kranial und dorsal nach kaudal und ventral zeigte. Dies sollte in einer Nachuntersuchung genauer untersucht werden. Die vorrangig durch den MMC bedingte große interindividuelle Variabilität spiegelt sich besonders in den hohen Standardabweichungen der

Magenentleerungszeiten, Zerfallszeiten der zweiten Tablettenschicht und den stärker durch die Auflösung der zweiten Tablettenschicht bzw. Magenentleerung beeinflussten pharmakokinetischen Parameter (AUC, T_{max}) wieder.

Der Zerfall der ersten Tablettenschicht war nach nüchterner Applikation im Mittel nach 27 Minuten abgeschlossen, vergleichbar zur Einnahme der Arzneiform mit dem ersten Bissen des Frühstücks (siehe Tabelle 3). Dies ist mit Sicherheit auf den schnellen Transport der Arzneiform in antrale Magenbereiche und die dadurch auftretenden ähnlichen Belastungen der Tablette in diesen beiden Studienarmen zurückzuführen. Der Zerfall der zweiten Schicht begann nach durchschnittlich 169 Minuten und damit deutlich schneller als nach Einnahme der Studienmedikation vor oder nach dem Frühstück (Tabelle 3).

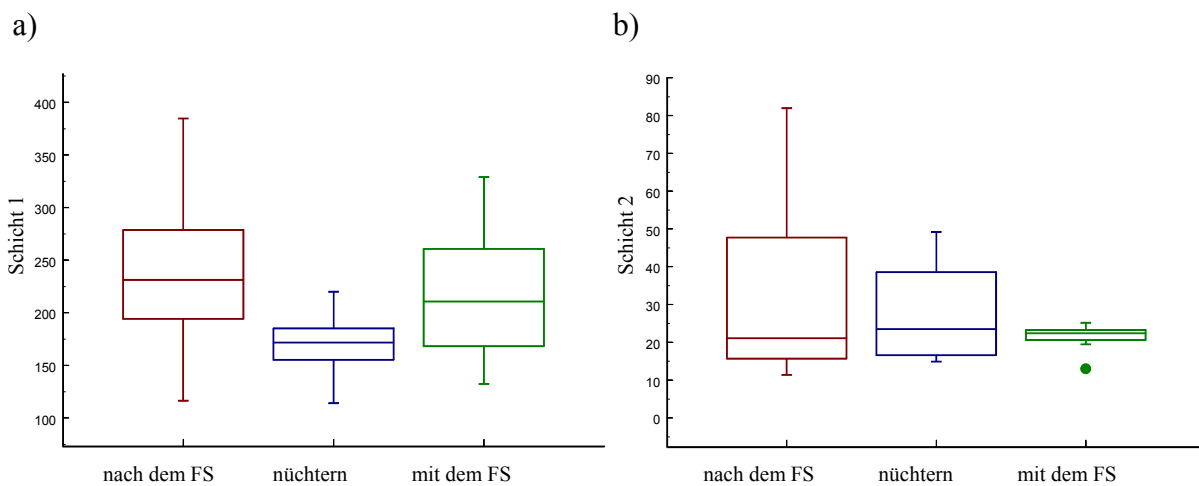


Abbildung 31: Zerfallszeiten der magnetitmarkierten Tablettenschichten von Augmentin XR nach Einnahme im Anschluss an ein standardisiertes Frühstück, nüchtern und zu Beginn eines standardisierten Frühstücks. a) Schicht 1, b) Schicht 2

Gründe hierfür könnten die relativ kurzen Magenaufenthaltszeiten der Tabletten, der mechanische Stress während der Phase 3 des MMC, der erhöhte Druck während der Pyloruspassage (Fisher and Cohen 1973), der frühe Kontakt mit Darmflüssigkeit, der höhere pH-Wert im Intestinum und die Bewegung im Darm gewesen sein. Auch die interindividuelle Variabilität war kleiner als nach Einnahme der Medikation nach dem Frühstück. Ursache dafür war sicherlich der fehlende Einfluss der Mahlzeit, der bei Applikation nach dem Frühstück in Abhängigkeit von der Tablettenlage stark variierende Einflüsse auf den Zerfall der zweiten Schicht hatte. Die trotzdem auftretenden Unterschiede hinsichtlich des Zerfallszeitpunktes könnten sich aus der unterschiedlichen Benetzung der Arzneiform ergeben haben, da der Darm entgegen früherer Vorstellungen nicht kontinuierlich mit Flüssigkeit gefüllt ist, sondern es sich vielmehr um diskontinuierlich verteilte Flüssigkeitsinseln handelt (Schiller, Frohlich et al. 2005).

Die aufgrund der Untersuchungen *in vitro* zu erwartende mit dem ersten Schichtzerfall korrespondierende Wirkstoffanflutung zeigte sich nahezu sofort. Eine Verzögerung fällt bei Proband 2 auf, bei dem, trotz schnellen Zerfalls der ersten Schicht, die Amoxicillinkonzentration im Blut erst nach 30 Minuten anstieg. Hier ist ein retardierender Effekt des Magenfundus zu vermuten, da die Tablette während der kompletten ersten Messung im Fundus lokalisiert war und der Magen für die meisten Arzneistoffe, wie auch für Amoxicillin, nicht als Resorptionsort fungiert (Jobin, Cortot et al. 1985; Vidon, Palma et al. 1986; Vidon, Pfeiffer et al. 1989; Digenis, Sandefer et al. 2000). Erst nach dem Transport der Tablette und gelöster Bestandteile ins Antrum zwischen der ersten und zweiten Lokalisation kam es zur Entleerung bereits gelösten Antibiotikums ins Duodenum und somit zur Resorption.

Ähnlich wie bei der Einnahme des Augmentin XR nach dem Frühstück war bei 6 Probanden bei nüchterner Applikation eine initiale Lage der Tablette im Fundus zu erkennen, was sich gut mit der Speicherfunktion des Fundus für neu aufgenommene Nahrung erklären lässt (Read and Houghton 1989; Urbain, Siegel et al. 1989). Der weitere Transport in tiefere Magenabschnitte bzw. den Dünndarm erfolgte bei diesen Probanden vor der zweiten Messung. Der für die Einnahme nach dem Frühstück typische Doppelpeak in den Plasmaspiegelverläufen tritt nach nüchterner Einnahme nicht auf. Vielmehr fehlen die Anstiege der Amoxicillinkonzentration nach dem Zerfall der zweiten Schicht fast vollständig; nur bei den Probanden 2, 5 und 9 zeigt der Maximalpeak eine Schulter nahe des Zeitpunktes des zweiten Zerfalls. Gut veranschaulicht wird dies bei der Betrachtung der Invasionskurven. Man sieht, dass vom Amoxicillin der zweiten Schicht nahezu nichts resorbiert wird. Eine Zunahme der Resorption vergleichbar mit den Daten bei Applikation nach dem Frühstück zeigen nur die Probanden 5, dieser über einen auffällig langen Zeitraum, und 9. Einen geringeren Anstieg der resorbierten Menge pro Zeiteinheit ist auch bei Proband 2 zu erkennen.

Die fehlende Resorption des Amoxicillins aus der Retardschicht der Tablette erklärt sich, bei den restlichen Probanden, am besten mit einem Resorptionsfenster für den Wirkstoff im oberen Dünndarm. Durch die schnelle Magenentleerung würden sich die Tabletten zum Zeitpunkt des beschleunigten Zerfalls der zweiten Tablettenschicht bereits in tieferen Dünndarmabschnitten befinden. Da dort anscheinend keine Resorption stattfindet, muss es Prozesse geben, die in diesen Abschnitten eine Resorption verhindern. Dies könnte zum einen eine geringere Resorption sein, zum anderen könnten Effluxtransporter wie z.B. P-gp (*p-Glycoprotein*) oder MRPII (*Multi Drug Resistance-Related Protein II*) eine Aufnahme verhindern.

Eine Nichtlinearität der Amoxicillinabsorption wurde erstmals 1977 von Spyker, Rugloski et al. beschrieben. Erklärt wurde die nichtlineare Absorption durch die schlechte Löslichkeit des

Wirkstoffes (Welling, Huang et al. 1977; Torres-Molina, Peris-Ribera et al. 1992), aktive, sättigbare Transportprozesse (Tsuji, Nakashima et al. 1981; Sjøvall, Alvan et al. 1985; Arancibia, Icarte et al. 1988), die Existenz eines Absorptionsfensters (Barr, Zola et al. 1994) oder ein Flip–Flop Phänomen (Paintaud, Alvan et al. 1992). Für die Aufnahme von Amoxicillin im Darm sind Di-/ Tripeptidtransporter, hier besonders der Transporter PEPT 1, und nach neueren Erkenntnissen wahrscheinlich auch OATP's (*Organic Anion Transporting Polypeptide's*) verantwortlich (Saitoh, Gerard et al. 1996; Bretschneider, Brandsch et al. 1999; Jariyawat, Sekine et al. 1999; Takeda, Babu et al. 2002). Bei PEPT 1 handelt es sich um einen energieabhängigen Protonen- / Peptid-Cotransporter, dessen Substrate kleine Peptide und peptidähnliche Wirkstoffe sind. Beispiele sind einige Beta-Laktamantibiotika, Bestatin und die Prodrugs von Aciclovir und Ganciclovir. Der Transporter wird in den apikalen Membranen der Absorptionszellen der Mikrovilli des Dün- und Dickdarms und in den Tubuluszellen des Nierenepithels exprimiert (Paulsen and Skurray 1994; Steiner, Naider et al. 1995; Ogihara, Suzuki et al. 1999). OATP-Transporter stellen eine weitere große Gruppe der Transporter dar, die in verschiedenen Organen exprimiert werden und deren Substrate ein weites Spektrum von endogenen Substanzen bis zu Xenobiotika umfassen. Dazu zählen z.B. Gallensäuren, Thyroidhormone, Steroide, Herzglykoside und Antibiotika (Mikkaichi, Suzuki et al. 2004). Bei der intestinalen Resorption von anionischen Substanzen scheint besonders der apikal lokalisierte OATP-B-Transporter eine wichtige Rolle zu spielen (Kobayashi, Nozawa et al. 2003; Nozawa, Imai et al. 2004).

Da unsere Daten eine stark eingeschränkte Absorption des Amoxicillins nur nach Tablettenzerfall in den unteren Darmabschnitten, nicht jedoch nach dem Tablettenzerfall im Magen zeigen, kann für die Unterschiede in der Absorption kein Löslichkeitsproblem verantwortlich gewesen sein. Vielmehr scheint es ein Transportfenster zu geben. Ein Grund hierfür könnte die abnehmende Dichte an Transportern in tieferen Dünndarmabschnitten und im Dickdarm sein, wie sie für PEPT1 (*Peptid Transporter 1*) bereits am Menschen (Terada, Shimada et al. 2005) und am Kaninchen (Tomita, Takano et al. 1995) gezeigt werden konnte. Hierdurch würde die Absorptionsrate für Amoxicillin in den tieferen Dünndarmabschnitten stark abnehmen und nicht resorbiertes Amoxicillin vermehrt im Colon auftauchen. Dies hätte eine Störung der mikrobiellen Flora des Dickdarms, mit einer erhöhten Rate an gastrointestinalen Nebenwirkungen wie z.B. Diarrhöe oder Flatulenz zur Folge, wie sie während der durchgeführten Studie von 2 Probanden nach nüchterner Einnahme des Augmentin XR beschrieben wurden. Beim Probanden 6 kam es zum kurzzeitigen Auftreten von Diarrhöe,

Übelkeit und Fieber, der Proband 9 berichtete über Darmkrämpfe (Nebenwirkungen siehe Anhang 9.5).

Die abweichenden Daten bei den Probanden 2 und 5 erklären sich aus der langen Verweilzeit der Tabletten im Magen. Hierdurch erfolgte der Zerfall der Retardschicht der Tablette im Magen bzw. in den oberen Abschnitten des Dünndarmes und somit konnten große Teile des Wirkstoffes der zweiten Schicht resorbiert werden. Da der Zerfall der zweiten Schicht bei Proband 5 im Magen stattfand, ist auch hier eine Art Retention durch den nüchternen Magen zu vermuten. Der Grund dafür könnte die geringe Löslichkeit des Amoxicillin-Trihydrates bei pH-Werten zwischen 2,5 und 7 sein (8,4 g/l, Tsuji, Nakashima et al. 1978). Weil im nüchternen Magen bei stündlicher Flüssigkeitsaufnahme von 120 mL nur etwa 20 bis 30 mL Flüssigkeit zu finden sind (Maltby, Sutherland et al. 1986; McGrady and Macdonald 1988; Agarwal, Chari et al. 1989; Lam, So et al. 1993; Phillips, Hutchinson et al. 1993), würden sich maximal 200 mg des Trihydrates lösen. In der Retardschicht sind jedoch circa 400 mg enthalten und es ist denkbar, dass sich nach dem Zerfall dieser Schicht bei aufrechter Körperhaltung ein Großteil der Substanz in den tiefsten Magenanteilen ablagert. Aus dem tiefer als der Magenausgang gelegenen Antrum würden diese Anteile nur langsam entsprechend der Neuproduktionsrate an intragastraler Flüssigkeit ins Duodenum entleert werden. Aufgrund der stündlichen Einnahme von 150 mL Wasser (Kapitel 3.2.1) und der Phase 3 des MMC sollten hier Entleerungsschübe auftreten, wie sie sich auch gut in den Invasions-Zeit-Profilen der Probanden 2 und 5 widerspiegeln.

Auffällig ist zudem die relativ ausgeprägte Resorption des zweiten Amoxicillinanteils (Retardschicht) beim Probanden 9 trotz früher Magenentleerung. Da jedoch die Position der markierten Arzneiform im Dünndarm nicht genau bestimmt werden kann, ist zu vermuten, dass aufgrund eines individuellen langsamen Transportes durch den Dünndarm der Zerfall der verzögert freisetzenden Schicht noch in den oberen Abschnitten des Intestinums erfolgte und dadurch die starke Resorption dieses Anteils bedingt wurde. Weitere Möglichkeiten sind eine individuell erhöhte Konzentration an PEPT1 in der Darmschleimhaut bzw. eine genetische Variabilität des Transporters, die mit einer erhöhten Aktivität einhergeht wie es z.B. für PEPT 2 und Transporter der ABC Familie beschrieben ist (Kurata, Ieiri et al. 2002; Pinsonneault, Nielsen et al. 2004).

Die verringerte Aufnahme des Amoxicillins der Retardschicht spiegelt sich auch in der $AUC_{0-\infty}$ wieder, die nach nüchterner Applikation im Mittel 29 Prozent bzw. 24 Prozent und damit signifikant (nichtverbundener parametrischer Wilcoxon Test, $p < 0.05$) kleiner ist als bei Applikation nach dem Frühstück bzw. Applikation vor dem Frühstück (Abbildung 32). Die höchsten Werte der $AUC_{0-\infty}$ nach nüchterner Applikation erreichen wie erwartet die Probanden

2 und 5 mit den längsten Magenverweilzeiten und der Proband 9 (Tabelle 5). Dementsprechend ist auch die durch Dekonvulsion ermittelte Bioverfügbarkeit mit durchschnittlich 47 %, entsprechend 470 Milligramm Amoxicillin, gegenüber den anderen beiden Armen mit 61% (Applikation vor dem Frühstück) und 67 % (Applikation nach dem Frühstück) signifikant reduziert.

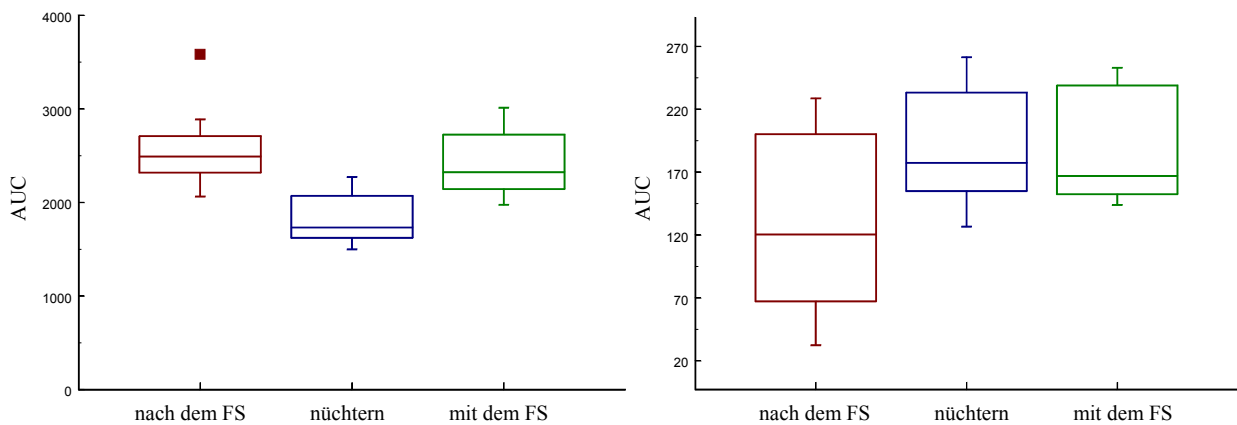


Abbildung 32: Boxplots der $AUC_{0-\infty}$ links für Amoxicillin und rechts für Clavulansäure nach Einnahme der Studienmedikation mit dem Frühstück (●), nach dem Frühstück (●) und nüchtern (●)

Bei nüchterner Applikation erreichten die Plasmaspiegel der Clavulansäure Maximalwerte nach ca. 60 Minuten (Abbildung 26). Da die Tablette bzw. die gelösten Bestandteile der ersten Schicht schnell aus dem Magen entleert wurden, war die säureempfindliche Clavulansäure eine geringere Zeitspanne dem niedrigen pH-Wert des Magensaftes ausgesetzt. Deshalb ist die durchschnittliche $AUC_{0-\infty}$ bei nüchterner Applikation ca. 50 % und signifikant höher als bei Applikation nach dem Frühstück. Zur weiteren Diskussion sei auf die entsprechenden Kapitel verwiesen. Schon bei alleiniger Betrachtung der Daten bei nüchterner Applikation kann der diskutierte Einfluss der Verweildauer im Magenmilieu anhand der Abnahme der auf das Körpergewicht normierten $AUC_{0-\infty}$ mit der Zunahme der Magenentleerungszeit visuell gut verdeutlicht werden (Abbildung 33).

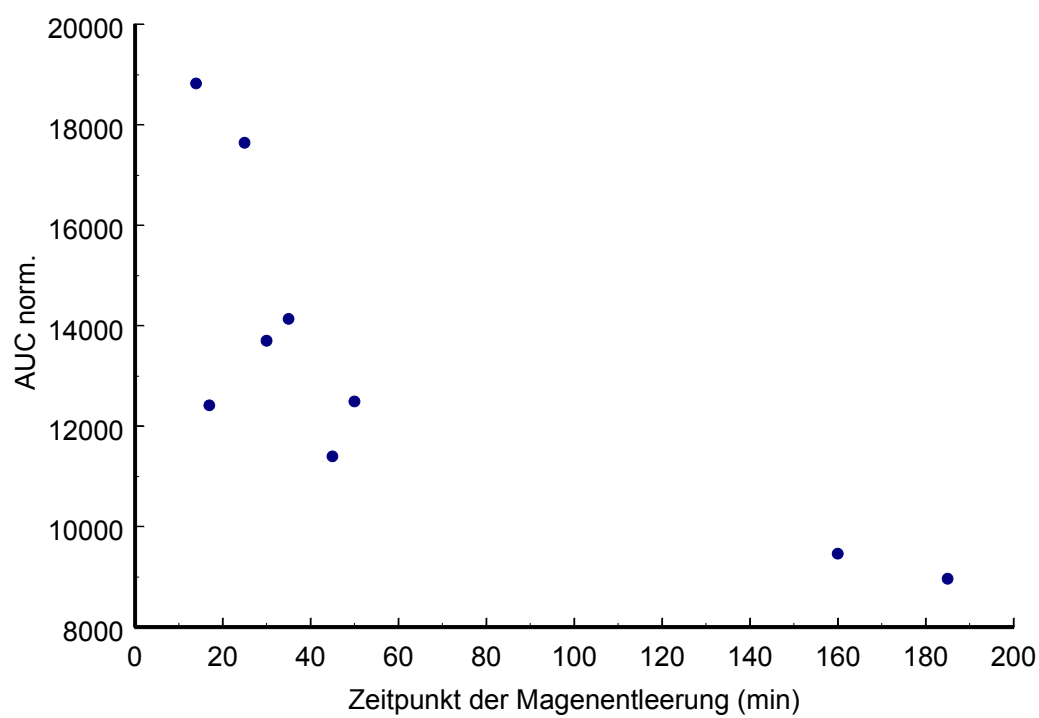


Abbildung 33: Korrelation des Zeitpunktes der Magenentleerung mit der auf das Körpergewicht des Probanden normierten Fläche unter der Plasmaspiegelkurve (AUC_{norm}).

5.2.2. Applikation zum Frühstück

Bei Applikation der Studienmedikation mit dem ersten Bissen des Frühstücks konnte bei 6 der 9 Probanden eine Entleerung der Tablette aus dem Magen beobachtet werden. Dabei entleerten 5 der Probanden zwischen 190 und 210 Minuten und ein Proband nach 370 Minuten. Initial wurde der Marker bei 8 der 9 Probanden im Antrum lokalisiert. Hier ist zu vermuten, dass durch die Einnahme des Frühstücks nach Applikation des Augmentin XR die anfangs im Fundus lokalisierte Tablette während der anschließenden Nahrungsaufnahme aus dem Fundus ins Antrum gedrängt wurde. Beim 9. Probanden befand sich die Studienmedikation initial im Corpus. Auch dies deckt sich mit der Vorstellung eines Transportes, verursacht durch das später eingenommene Frühstück aus dem Fundus in weiter distal gelegene Magenanteile. Die mit 221 Minuten vs. 300 Minuten schnellere Magenentleerung nach Einnahme zu Beginn des Frühstücks im Gegensatz zur Einnahme nach dem Frühstück erklärt sich zum einen sicherlich aus der distalen und damit magenausgangsnahen Lage der Arzneiform, zum anderen aus den kürzeren Magenverweilzeiten der kohlenhydratreichen Nahrung gegenüber der fettreichen Nahrung. Diese kürzere Verweilzeit beruht auf dem kleineren Volumen und dem geringeren Energiegehalt der kohlenhydratreichen Nahrung, welche daher schnell und in vergleichsweise großen Portionen aus dem Magen abgegeben wurde (Moore, Christian et al. 1981).

Die erste Tablettenschicht zerfiel bei Einnahme zum Frühstück signifikant ($p < 0,05$) schneller als bei Einnahme nach dem Frühstück und geringfügig schneller im Vergleich zur nüchternen Einnahme. Eine mögliche Erklärung ist ebenfalls durch den schnellen initialen Transport ins distale Antrum gegeben. Da die Einnahme der Medikation in stehender Position und die Einnahme des Frühstücks im Sitzen erfolgten, muss sich die intragastrale Flüssigkeit aufgrund der Schwerkraft zum großen Teil im Antrum befunden haben. Dadurch war bei nüchterner Einnahme und Applikation nach dem Frühstück eine konstante und gute Befeuchtung und somit schnelle Auflösung der ersten Tablettenschicht möglich. Der Beginn des Zerfalls der zweiten Tablettenschicht lag im Mittel bei 214 Minuten und damit etwa im Bereich des Zerfalls bei Einnahme der Medikation nach dem Frühstück und später als im nüchternen Regime (Tabelle 3). Maximale Plasmaspiegel wurden nach durchschnittlich 83 Minuten erreicht. Auch dies liegt im Bereich der Werte nach nüchterner Applikation (90 Minuten).

Bei Betrachtung der Konzentrations-Zeit-Profile für Amoxicillin erkennt man bei 8 Probanden eine oder mehrere Schultern in der abfallenden Flanke des Primärpeaks. In den Invasionen wird deutlich, dass das Anfluten des zweiten Wirkstoffanteils auf mehrere Schübe verteilt war. Die Ursache sollte hier ein Retentionseffekt des Magens sein, der das aufgrund der erhöhten

gastralen Motilität nach kohlenhydratreichen Mahlzeiten gut im Magen verteilte Amoxicillin der zweiten Schicht im Rahmen der normalen Motilität ins Duodenum entleerte. Weitere ursächliche Einflüsse können durch die Partikelgröße der Nahrung, deren Quellungsstatus und den intragastralen pH-Wert gegeben sein. Besonders bei der Betrachtung der Invasions-Zeit-Profile wird die schubweise Entleerung in den Darm und damit auch das schubweise Erscheinen des Wirkstoffes im Plasma deutlich.

Während bei Probanden 1, 7, 8 und 9 der zweite Anstieg der Amoxicillinkonzentration im Blut gleichzeitig oder kurz nach dem Zerfall der zweiten Schicht auftrat, kamen bei den Probanden 3, 4, 5 und 6 Anteile der zweiten Schicht schon deutlich vor dem Zerfall des Markers zur Resorption. Hier scheint die Erosion der Tablette aufgrund der stärkeren motorischen Aktivität als Folge des kohlenhydratreichen Frühstücks und / oder des Viskositätsunterschiedes der Nahrung ähnlich zu den In-vitro-Untersuchungen der Tablette im IMST zu verlaufen, in denen es zu einer Erosion der prominenten äußeren Tablettenanteile unter Schonung des zentral gelegenen Markers kam. Das würde bedeuten, dass Augmentin XR bei Einnahme zu Beginn eines kohlenhydratreichen Frühstücks nicht pulsatil freisetzt, sondern die angestrebte gleichmäßige Freisetzung aus einer (erosionskontrollierten) Retardschicht zeigt.

Ein anderes Bild zeigt sich beim Probanden 2. Der Zerfall der zweiten Schicht der Tablette begann beim Probanden 2 erst nach 330 min, der zweite Peak erschien etwa 30 min nach dem zweiten Zerfall und gleichzeitig mit der Magenentleerung. Dies wird durch den Transport der Arzneiform nach circa 120 min in den Fundus und den dortigen Aufenthalt innerhalb der nächsten 200 min verständlich, da hier die Arzneiform weniger mechanisch beansprucht wurde und eventuell nur unzureichend benetzt war. Erst der Transport der Tablette in die distalen Magenbereiche führte dann offensichtlich zu einer für den Zerfall der Tablette (330 Minuten) ausreichenden Belastung und der Freisetzung des Wirkstoffes. Die gleichzeitig mit der Entleerung des Markers einsetzende Wirkstoffanflutung weist zudem auf eine Retention des gelösten Arzneistoffes im Magen bis zur Magenentleerung hin.

Die Rolle des Magens als Retentionsorgan für gelöste Arzneistoffe und die dort fehlende Resorption zeigt sich sehr deutlich in der Plasmaspiegelkurve des Probanden 9. Nach schnellem Zerfall der ersten Tablettenschicht und initialer Lage im Corpus wurde die Tablette während der ersten Messung in den Fundus transportiert. Die Wirkstoffkonzentration im Plasma nahm anfangs wie bei den anderen Probanden schnell zu. Etwas zeitversetzt zum Lagewechsel vom Corpus in den hauptsächlich als Speicherorgan fungierenden Fundus fielen die Invasion und die Wirkstoffkonzentration im Plasma dann stark ab und stiegen nach dem erneuten Transport ins distale, dem Magenausgang nahen Antrum wieder an.

Die mittlere Fläche unter den Amoxicillin-Konzentrations-Zeit-Kurven beträgt bei Applikation mit dem ersten Bissen eines kohlenhydratreichen Frühstücks 2452 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$ und ist damit geringfügig und nicht signifikant (Wilcoxon Test, $p=0.11$) kleiner als bei Applikation nach dem Frühstück (2606 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$) (Tabelle 5). Sie ist jedoch aufgrund des bereits beschriebenen Resorptionsfensters (siehe „Nüchterne Applikation“) signifikant (Wilcoxon Test, $p<0.05$) größer als nach nüchterner Applikation (1854 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$). Passend dazu ist die durch Dekonvolution ermittelte Bioverfügbarkeit mit durchschnittlich 61 %, entsprechend 610 Milligramm Amoxicillin, gegenüber dem Nüchtern-Arm (47%) signifikant erhöht und befindet sich im Bereich der Applikation nach dem Frühstück (67%).

Die $\text{AUC}_{0-\infty}$ der Clavulansäure beträgt bei Einnahme des Augmentin XR zum Frühstück im Mittel 190 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$. Dies liegt etwa im Bereich der $\text{AUC}_{0-\infty}$ nach nüchterner Applikation (193 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$) und signifikant über der $\text{AUC}_{0-\infty}$ bei Applikation nach dem Frühstück (127 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$, Wilcoxon Test, $p<0,05$). Aufgrund des schnellen Transportes der Arzneiform ins Antrum und der dortigen Auflösung der ersten Tablettenschicht wurden die Bestandteile der ersten Schicht vermutlich ebenso schnell wie nach nüchterner Einnahme aus dem Magen entleert. Dadurch war die Clavulansäure dem Einfluss der Magensäure nur kurzzeitig ausgesetzt und Abbauvorgänge durch den Kontakt zur Magensäure kamen nicht oder nur geringfügig zum Tragen (Tabelle 6).

5.2.3. Applikation nach dem Frühstück

Bei Applikation des Augmentin XR nach dem Frühstück wurden die Tabletten bei 6 von 9 Probanden nicht aus dem Magen entleert. Bei den anderen Probanden erfolgte die Magenentleerung erst nach circa 300 Minuten. Dies deckt sich mit der Vorstellung, dass nach dem Essen applizierte monolithische Arzneiformen im Magen meist auf dem Nahrungsbrei zu liegen kommen und dadurch häufig erst sehr spät bzw. nicht entleert werden. Durch diese Lage werden Tabletten eventuell nur unzureichend benetzt und unterliegen geringeren mechanischen Beanspruchungen, da der Fundus hauptsächlich als Speicherorgan dient (Read and Houghton 1989; Ludtke, Lammel et al. 1991; Stacher and Bergmann 1992; Wilding, Coupe et al. 2001).

So kann die bei langen Fundusaufenthaltszeiten deutlich verzögerte Auflösung der ersten Tablettenschicht erklärt werden (Tabelle 3). Bei Proband 7 war der Zerfall der ersten Schicht erst nach 82 Minuten abgeschlossen. Dies wird verständlich durch Betrachtung der Lokalisationen der Arzneiform dieses Studienteilnehmers. Da sich die Tablette während der ersten 80 Minuten im Magenfundus befindet, war sie zum einen weniger mechanischem Stress durch motorische Aktivitäten des Magens ausgesetzt, zum anderen ist eine unzureichende Benetzung durch gastrale Flüssigkeit denkbar. Ähnliche, wenn auch weniger stark ausgeprägte Phänomene zeigten auch die Probanden 1, 4 und 5 mit initialer Funduslage. Bei Studienteilnehmern mit initialer Funduslage über mehr als 30 Minuten betrug die mittlere Zerfallsdauer der ersten Schicht 48 Minuten gegenüber 17 Minuten nach initialer Antrum- / Corpuslage bzw. Passage aus dem Fundus zwischen der ersten und zweiten Lokalisation. Folglich wurde auch \bar{t}_{\max} des Amoxicillins bei Applikation nach dem Frühstück signifikant langsamer erreicht als in den anderen beiden Nahrungsregimen (Wilcoxon Test, $p < 0.05$). Im Mittel zerfiel die erste Schicht nach 34 Minuten und somit signifikant langsamer ($p < 0.05$) als nach nüchternen bzw. präprandialer Applikation.

Der Zerfall der zweiten Schicht erfolgte im Mittel nach 236 Minuten. Die einzelnen Zerfallszeitpunkte variierten dabei zwischen 116 und 385 Minuten (Tabelle 3). Mögliche Ursachen dieser starken Variabilität könnten Unterschiede in der mechanischen Beanspruchung bedingt durch die Tablettenlage im Magen und / oder die Bewegung innerhalb des Magens sowie durch den Pylorus sein. So sieht man, dass bei den Probanden 1, 4, 7 und 8 der Zerfall jeweils nach einer Lageänderung innerhalb des Magens begann (4.5.5). Bei den Probanden 2, 3, 6 und 9 begann der Zerfall nach längerer Verweilzeit im motorisch stärker aktiven Antrum, bei Proband 3 mit initialer Lage im Antrum nach bereits 116 Minuten.

Bei Betrachtung der Invasions-Zeit-Profile für Amoxicillin erkennt man bei 8 Probanden, dass der Wirkstoff hier hauptsächlich in zwei Schüben resorbiert wurde, was in den Plasmaspiegeln zu einem Doppelpeak bzw. einer Schulter nach dem Primärpeak führt. Eine Ausnahme bildet wiederum der Proband 5, dessen Plasmakonzentrations-Zeit-Kurve nicht das typische Doppelpeakphänomen zeigt und dessen Magenlage wie bereits erwähnt weiterer Klärung bedarf (siehe 5.2.1).

Das fettreiche Frühstück bedingt eine insgesamt geringere Magenmotilität und damit eine geringere Durchmischung des freigesetzten Wirkstoffes mit dem Mageninhalt als nach einem kohlenhydratreichen Frühstück (Faas, Steingoetter et al. 2002) und andererseits eine Freisetzung ähnlich des in vitro bestimmten Dissolutionsverhaltens im MMDT (Abbildung 16). Die Anteile der zweiten Schicht konnten somit nahezu als Bolus in den Darm entleert werden. Die biphasischen Verläufe der Plasmaspiegelkurven bei Einnahme nach dem Frühstück erklären sich mit Sicherheit aus einer Kombination beider Vorgänge. Bis auf Proband 5 zeigen alle Testpersonen diesen typischen Verlauf, wobei jedoch die Zeitspannen bis zum Zerfall der Schichten stark variierten.

Die durchschnittliche $AUC_{0-\infty}$ des Amoxicillins beträgt bei Einnahme der Studienmedikation im Anschluss an ein fettreiches Frühstück $2606 \mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{mL}$ und ist damit vergleichbar mit der $AUC_{0-\infty}$ bei Einnahme zum Frühstück, jedoch signifikant höher als nach nüchterner Einnahme (Wilcoxon Test, $p < 0.05$) (Abbildung 32). Dazu passend ist die durch Dekonvolution ermittelte Bioverfügbarkeit mit durchschnittlich 67 %, entsprechend 670 Milligramm Amoxicillin, gegenüber dem Nüchtern-Arm (47%) signifikant erhöht und befindet sich im Bereich der Applikation vor dem Frühstück (61%). Dies widerspricht früheren Publikationen, die von einem Abfall der Amoxicillin-AUC bei postprandialer Applikation berichteten (Welling, Huang et al. 1977). Somit scheinen Abbauprozesse des Amoxicillins durch längere Verweilzeiten im Magenmilieu entgegen früherer Analysen (Erah, Goddard et al. 1995; Erah, Goddard et al. 1997) nur eine untergeordnete Rolle zu spielen. Ein wichtiger Faktor könnte jedoch die zur Einnahme verabreichte Flüssigkeitsmenge sein, da die Löslichkeit des Amoxicillin-Trihydrates bei zu kleinen Flüssigkeitsmengen zu einer verzögerten Auflösung und somit auch zu einer verzögerten und eventuell verminderten Resorption führen würde (Welling, Huang et al. 1977).

Im Gegensatz zum Amoxicillin scheint die Bioverfügbarkeit der Clavulansäure durch längere intragastrale Verweilzeiten deutlich abzusinken. Durch postprandiale Applikation werden die Wirkstoffe der schnell zerfallenden Schicht länger im Magen verweilen.

Da Clavulansäure licht- und säureempfindlich ist (Mayer and Deckwer 1996), kam es hierdurch zu einem signifikanten Abfall der $AUC_{0-\infty}$ gegenüber der Applikation auf nüchternen Magen (Wilcoxon Test, $p < 0.05$) (Abbildung 32). Konsistent dazu sind die maximalen Plasmakonzentrationen bei Einnahme des Augmentin XR nach dem Frühstück gegenüber den anderen beiden Armen signifikant reduziert ($p < 0,05$).

6. Zusammenfassung

Interindividuelle Unterschiede der Pharmakokinetik vieler Wirkstoffe sind durch Unterschiede hinsichtlich des Alters, der Körpergröße, der Pharmakogenetik, von Begleiterkrankungen und nicht zuletzt des Transportes im Magen-Darm-Trakt und der Ernährung bedingt. Die Häufigkeit gastraler Einflüsse steigt dabei mit der Permeabilität des Wirkstoffes (Kaus, Gillespie et al. 1999). Gastrointestinal bedingte Unterschiede in den Konzentrations-Zeit-Profilen von Wirkstoffen lassen sich häufig nur durch die gastrointestinale Lokalisation der Arzneiform und deren Zerfallsgrad aufklären. Durch die Möglichkeit der Lokalisation von Arzneiformen unter Verzicht auf den Einsatz radioaktiver Marker mithilfe des Magnetic Marker Monitorings (MMM) ist die Aufklärung solcher Phänomene an gesunden Probanden ohne die großen ethischen Bedenken, die mit dem Einsatz radioaktiver Substanzen verbunden sind, möglich. Die gegenüber szintigrafischen Verfahren sehr viel höhere zeitliche und räumliche Auflösung des MMM erlaubt zudem sehr präzise Aussagen über den Zerfallsstatus der Tablette / Markierung und die Lokalisation der Tabletten auch innerhalb des Magens. In dieser Studie konnte erstmals gezeigt werden, dass auch die Lokalisation nachträglich markierter Arzneiformen möglich ist und eine Gewinnung von Informationen über die Einflüsse von Art und Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme ermöglicht.

Die Kombination aus schneller Magenentleerung bei nüchterner Einnahme und das Resorptionsfenster für Amoxicillin im oberen Dünndarm führen zu einer unvollständigen Resorption des Amoxicillins und einer erhöhten Frequenz an gastrointestinalen Nebenwirkungen. Da dieses Resorptionsfenster wahrscheinlich auf einer geringeren Konzentration an PEPT1 und OATP's in distalen Darmabschnitten beruht, ist die nüchterne Einnahme von verzögert freisetzenden Amoxicillinzubereitungen und allgemein von Retardarzneiformen, deren Wirkstoffe über diese Transporter resorbiert werden, mit Vorsicht zu betrachten.

Bei Applikation des Augmentin XR nach dem Frühstück sinkt die Bioverfügbarkeit der Clavulansäure durch den verstärkten Abbau im Magenmilieu, wodurch bei der Anwendung am Patienten eventuell Plasmaspiegel auftreten können, die eine ausreichende Hemmung der bakteriellen Beta-Laktamasen nicht gewährleisten. Das Amoxicillin der Retardschicht wird aufgrund der unzureichenden Magendurchmischung nach fettreichen Mahlzeiten und der pulsatilen Wirkstofffreisetzung aus der Tablette quasi als Bolus resorbiert. Da nach Einnahme des Augmentin XR mit dem ersten Bissen eines kohlenhydratreichen Frühstücks sowohl für die Clavulansäure als auch für Amoxicillin eine gute Bioverfügbarkeit erreicht wird und die

Wirkstoffanflutung des Retardanteiles von Augmentin XR aufgrund der Magensteuerung und der gleichmäßigen Erosion der Tablette am ehesten ein gleichmäßiges und lang anhaltendes Amoxicillinplateau erzeugt, ist diese Einnahme zu empfehlen.

Zur endgültigen Abklärung der in vitro mithilfe des IMST belegten verstärkten Erosion der Tablette nach kohlenhydratreichen Mahlzeiten könnte in weiterführenden Versuchen der Marker homogen in die gesamte Tablette eingearbeitet werden, wie es bereits in vorherigen Studien zur Lokalisation anderer Substanzen erfolgreich durchgeführt wurde (Weitschies, Wedemeyer et al. 2005). Sollte eine Korrelation des Abfalls des magnetischen Momentes mit der Freisetzung aus der Tablette möglich sein, würde dies einen Rückschluss auf die Erosionsprozesse der Tablette ermöglichen. Hierdurch könnten gleichzeitig allgemeine Erkenntnisse über Nahrungseinflüsse auf In-vivo-Erosionsprozesse von modifiziert freisetzenden Arzneiformen gewonnen werden. Diese könnten zur Erklärung von unerwarteten Ergebnissen bis hin zum sogenannten "Dose Dumping" herangezogen werden und würden des Weiteren neue Möglichkeiten der Freisetzungsteuerung eröffnen.

7. Literatur

- Agarwal, A., P. Chari, et al. (1989). "Fluid deprivation before operation. The effect of a small drink." *Anaesthesia* 44(8): 632-4.
- Arancibia, A., G. Gonzalez, et al. (1987). "Pharmacokinetics and bioavailability of a controlled release amoxicillin formulation." *International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy and Toxicology* 25(2): 97-100.
- Arancibia, A., J. Guttmann, et al. (1980). "Absorption and disposition kinetics of amoxicillin in normal human subjects." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 17(2): 199-202.
- Arancibia, A., A. Icarte, et al. (1988). "Dose-dependent bioavailability of amoxycillin." *International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy and Toxicology* 26(6): 300-3.
- Barr, W. H., E. M. Zola, et al. (1994). "Differential absorption of amoxicillin from the human small and large intestine." *Clinical Pharmacology & Therapeutics (St. Louis, MO, United States)* 56(3): 279-85.
- Bretschneider, B., M. Brandsch, et al. (1999). "Intestinal transport of b-lactam antibiotics: analysis of the affinity at the H⁺/peptide symporter (PEPT1), the uptake into Caco-2 cell monolayers and the transepithelial flux." *Pharmaceutical Research* 16(1): 55-61.
- Brown, C. W. and J. Lin (1993). "Interfacing a fiber-optic probe to a diode array UV-visible spectrophotometer for drug dissolution tests." *Applied Spectroscopy* 47(5): 615-18.
- Chen, C. S. and C. W. Brown (1994). "A drug dissolution monitor employing multiple fiber optic probes and a UV/visible diode array spectrophotometer." *Pharmaceutical Research* 11(7): 979-83.
- Christensen, F. N., S. S. Davis, et al. (1985). "The use of gamma scintigraphy to follow the gastrointestinal transit of pharmaceutical formulations." *J Pharm Pharmacol* 37(2): 91-5.
- Cooley, J. W. and J. W. Tuckey (1966). "An algorithm for the machine calculation of complex fourier series." *Mathematics of Computation* Vol.19((No.90)): 297-301.
- Dalhoff, A., P. Koeppel, et al. (1981). "Studies on the pharmacokinetics of amoxicillin after intravenous, intramuscular and oral administration." *Arzneimittel-Forschung* 31(7): 1148-57.
- Digenis, G. A., E. P. Sandefer, et al. (2000). "Bioequivalence study of stressed and nonstressed hard gelatin capsules using amoxicillin as a drug marker and gamma scintigraphy to confirm time and GI location of in vivo capsule rupture." *Pharmaceutical Research* 17(5): 572-582.
- Doering, P. (1956). "Method of localization of gamma-ray-emitting radioisotopes in humans by scintigraphy, with special reference to radioiodine (I131)." *Dtsch Arch Klin Med* 203(4): 384-99.
- Drung, D. (1995). "The PTB 83-SQUID system for biomagnetic applications in a clinic." *IEEE transactions on applied superconductivity* 5(2): 2112-2117.
- Erah, P. O., A. F. Goddard, et al. (1995). "Effect of pH on the stability of amoxycillin in buffered aqueous solutions and in gastric juice." *Pharmaceutical Sciences* 1(12): 597-600.
- Erah, P. O., A. F. Goddard, et al. (1997). "The stability of amoxycillin, clarithromycin and metronidazole in gastric juice: relevance to the treatment of *Helicobacter pylori* infection." *J Antimicrob Chemother* 39(1): 5-12.
- Faas, H., A. Steingoetter, et al. (2002). "Effects of meal consistency and ingested fluid volume on the intragastric distribution of a drug model in humans -- a magnetic resonance imaging study." *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 16(2): 217-224.
- Fisher, R. S. and S. Cohen (1973). "Physiological characteristics of the human pyloric sphincter." *Gastroenterology* 64(1): 67-75.
- Grimsehl (1988). *Lehrbuch der Physik, Band 2: Elektrizitätslehre.*

- Harvey, R. F., D. B. Mackie, et al. (1970). "Measurement of gastric emptying time with a gamma camera." *Lancet* 1(7636): 16-8.
- Hey, A. J. G. and P. Walters (1998). "Quantenuniversum : Die Welt der Wellen und Teilchen" / Tony Hey und Patrick Walters, Spektrum, Akad. Verl.
- Hu, Z., S. Mawatari, et al. (2000). "Application of a biomagnetic measurement system (BMS) to the evaluation of gastrointestinal transit of intestinal pressure-controlled colon delivery capsules (PCDCs) in human subjects." *Pharmaceutical Research* 17(2): 160-167.
- Jäger, X. and X. Pertel (1981). *Magnetische Eigenschaften von Festkörpern*.
- Jariyawat, S., T. Sekine, et al. (1999). "The interaction and transport of b-lactam antibiotics with the cloned rat renal organic anion transporter 1." *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 290(2): 672-677.
- Jobin, G., A. Cortot, et al. (1985). "Investigation of drug absorption from the gastrointestinal tract of man. I. Metoprolol in the stomach, duodenum and jejunum." *Br J Clin Pharmacol* 19 Suppl 2: 97S-105S.
- Kaus, L. C., W. R. Gillespie, et al. (1999). "The effect of in vivo dissolution, gastric emptying rate, and intestinal transit time on the peak concentration and area-under-the curve of drugs with different gastrointestinal permeabilities." *Pharmaceutical Research* 16(2): 272-280.
- Klug, T. (2003). Diplomarbeit: "Zerfalls- und Freisetzungsuntersuchungen an Oralen Osmotischen Systemen und magnetisierten Arzneiformen", Abteilung für Biopharmazie und Pharmazeutische Technologie; Institutes für Pharmazie der Ernst-Moritz-Arndt Universität Greifswald.
- Kobayashi, D., T. Nozawa, et al. (2003). "Involvement of human organic anion transporting polypeptide OATP-B (SLC21A9) in pH-dependent transport across intestinal apical membrane." *J Pharmacol Exp Ther* 306(2): 703-8.
- Kurata, Y., I. Ieiri, et al. (2002). "Role of human MDR1 gene polymorphism in bioavailability and interaction of digoxin, a substrate of P-glycoprotein." *Clin Pharmacol Ther* 72(2): 209-19.
- Lam, K. K., H. Y. So, et al. (1993). "Gastric pH and volume after oral fluids in the postpartum patient." *Canadian journal of anaesthesia* 40(3): 218-21.
- Landolt, H. and R. Börnstein (1970). "Magnetic and Other Properties of Oxides and Related Compounds", Springer.
- Long, A. A. W. and J. H. C. Nayler (1970). "6-[-a-Amino-p-hydroxyphenylacetamido]penicillanic acid." *Ger. Offen. De, (Beecham Group Ltd.)*. 39 pp.
- Ludtke, F. E., E. Lammel, et al. (1991). "Myogenic basis of motility in the pyloric region of human and canine stomachs." *Digestive diseases (Basel, Switzerland)* 9(6): 414-31.
- Maltby, J. R., A. D. Sutherland, et al. (1986). "Preoperative oral fluids: is a five-hour fast justified prior to elective surgery?" *Anesth Analg* 65(11): 1112-6.
- Mayer, A. F. and W. D. Deckwer (1996). "Simultaneous production and decomposition of clavulanic acid during *Streptomyces clavuligerus* cultivations." *Appl Microbiol Biotechnol* 45(1-2): 41-6.
- McGrady, E. M. and A. G. Macdonald (1988). "Effect of the preoperative administration of water on gastric volume and pH." *Br J Anaesth* 60(7): 803-5.
- Mikkaichi, T., T. Suzuki, et al. (2004). "The organic anion transporter (OATP) family." *Drug Metab Pharmacokinet* 19(3): 171-9.

- Moore, J. G., P. E. Christian, et al. (1981). "Gastric emptying of varying meal weight and composition in man. Evaluation by dual liquid- and solid-phase isotopic method." *Digestive diseases and sciences* 26(1): 16-22.
- Mutschler, E. (1996). *Arzneimittelwirkungen : Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*, Wiss. Verl.-Ges.
- Nozawa, T., K. Imai, et al. (2004). "Functional characterization of pH-sensitive organic anion transporting polypeptide OATP-B in human." *J Pharmacol Exp Ther* 308(2): 438-45.
- Ogihara, H., T. Suzuki, et al. (1999). "Peptide transporter in the rat small intestine: ultrastructural localization and the effect of starvation and administration of amino acids." *Histochemical Journal* 31(3): 169-174.
- Paintaud, G., G. Alvan, et al. (1992). "Nonlinearity of amoxicillin absorption kinetics in human." *European Journal of Clinical Pharmacology* 43(3): 283-8.
- Paulsen, I. T. and R. A. Skurray (1994). "The POT family of transport proteins." *Trends in biochemical sciences* 19(10): 404.
- Pfeifer, S., P. Pfliegel, et al. (1995). *Biopharmazie : Pharmakokinetik - Bioverfügbarkeit - Biotransformation*, Ullstein Mosby.
- Phillips, S., S. Hutchinson, et al. (1993). "Preoperative drinking does not affect gastric contents." *British journal of anaesthesia* 70(1): 6-9.
- Pinsonneault, J., C. U. Nielsen, et al. (2004). "Genetic variants of the human H⁺/dipeptide transporter PEPT2: Analysis of haplotype functions." *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 311(3): 1088-1096.
- Press, W. H., S. A. Teukolsky, et al. (1995). "Numerical Recipes in C." Cambridge University Press: 681-688.
- Read, N. W. and L. A. Houghton (1989). "Physiology of gastric emptying and pathophysiology of gastroparesis." *Gastroenterology clinics of North America* 18(2): 359-73.
- RX-List, T. I. D. I. (2005). "Augmentin XR." www.rxlist.com.
- Saitoh, H., C. Gerard, et al. (1996). "The secretory intestinal transport of some beta-lactam antibiotics and anionic compounds: a mechanism contributing to poor oral absorption." *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 278(1): 205-11.
- Sarna, S. K. (1985). "Cyclic motor activity; migrating motor complex." *Gastroenterology* 89(4): 894-913.
- Schatz, C. (2001). "Lichtleiter-Technologie in der Wirkstofffreisetzungsprüfung." *Pharm Ind* 63: 619-623.
- Schatz, C., M. Ulmschneider, et al. (2000). "Manual in situ fiber optic dissolution analysis in quality control." *Dissolution Technologies* 7(2): 6-8, 10-12.
- Schatz, C., M. Ulmschneider, et al. (2000). "Testing fibre optic immersion probes for UV/vis spectroscopy." *Spectroscopy Europe* 12(6): 12, 14, 16, 18.
- Schiller, C., C. P. Frohlich, et al. (2005). "Intestinal fluid volumes and transit of dosage forms as assessed by magnetic resonance imaging." *Alimentary pharmacology & therapeutics* 22(10): 971-9.
- Sjovall, J., G. Alvan, et al. (1985). "Dose-dependent absorption of amoxycillin and bacampicillin." *Clinical pharmacology and therapeutics* 38(3): 241-50.
- Spyker, D. A., R. J. Rugloski, et al. (1977). "Pharmacokinetics of amoxicillin: dose dependence after intravenous, oral, and intramuscular administration." *Antimicrobial agents and chemotherapy* 11(1): 132-41.
- Stacher, G. and H. Bergmann (1992). "Scintigraphic quantitation of gastrointestinal motor activity and transport: oesophagus and stomach." *Eur J Nucl Med* 19(9): 815-23.
- Steinberg, W. H., G. H. Frey, et al. (1965). "Method for determining in vivo tablet disintegration." *J Pharm Sci* 54(5): 747-52.

- Steiner, H. Y., F. Naider, et al. (1995). "The PTR family: a new group of peptide transporters." *Molecular microbiology* 16(5): 825-34.
- Sugito, K., H. Ogata, et al. (1990). "Gastrointestinal transit of non-disintegrating solid formulations in humans." *International Journal of Pharmaceutics* 60(2): 89-97.
- Sutherland, R. and G. N. Rolinson (1970). "Amino-p-hydroxybenzylpenicillin (BRL 2333), a new semisynthetic penicillin: in vitro evaluation." *Antimicrobial Agents Chemother (Bethesda)* 10: 411-5.
- Takeda, M., E. Babu, et al. (2002). "Interaction of human organic anion transporters with various cephalosporin antibiotics." *European Journal of Pharmacology* 438(3): 137-142.
- Terada, T., Y. Shimada, et al. (2005). "Expression profiles of various transporters for oligopeptides, amino acids and organic ions along the human digestive tract." *Biochemical Pharmacology* 70(12): 1756-1763.
- Tomita, Y., M. Takano, et al. (1995). "Transport of oral cephalosporins by the H⁺/dipeptide cotransporter and distribution of the transport activity in isolated rabbit intestinal epithelial cells." *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 272(1): 63-9.
- Torres-Molina, F., J. E. Peris-Ribera, et al. (1992). "Nonlinearities in amoxycillin pharmacokinetics II. Absorption studies in the rat." *Biopharmaceutics & Drug Disposition* 13(1): 39-53.
- Tsuji, A., E. Nakashima, et al. (1981). "Intestinal absorption mechanism of amphoteric beta-lactam antibiotics I: Comparative absorption and evidence for saturable transport of amino-beta-lactam antibiotics by in situ rat small intestine." *Journal of pharmaceutical sciences* 70(7): 768-72.
- Urbain, J. L., J. A. Siegel, et al. (1989). "The two-component stomach: effects of meal particle size on fundal and antral emptying." *Eur J Nucl Med* 15(5): 254-9.
- Vidon, N., R. Palma, et al. (1986). "Gastric and intestinal absorption of oxprenolol in humans." *J Clin Pharmacol* 26(8): 611-5.
- Vidon, N., A. Pfeiffer, et al. (1989). "Evaluation of the gastric absorption and emptying of drugs under various pH conditions using a simple intubation method: application to diclofenac." *Br J Clin Pharmacol* 28(1): 121-4.
- Vogelman, B., S. Gudmundsson, et al. (1988). "Correlation of antimicrobial pharmacokinetic parameters in therapeutic efficacy in an animal model." *Journal of Infectious Diseases* 158(4): 831-47.
- Weitschies, W., R. Stehr, L. Trahms (1991). "Magnetically marked pharmaceutical dosage forms to monitor gastrointestinal transit by biomagnetic measurements." *Pharmaceutical and pharmacological letters: PPL* 1: 45-48.
- Weiss, M. (1990). *Theoretische Pharmakokinetik : Modellierung, Datenanalyse, Dosierungsoptimierung*, Verl. Gesundheit.
- Weitschies, W., D. Cardini, et al. (1999). "Magnetic marker monitoring of esophageal, gastric, and duodenal transit of non-disintegrating capsules." *Pharmazie* 54(6): 426-430.
- Weitschies, W., V. Hartmann, et al. (2001). "Determination of the disintegration behavior of magnetically marked tablets." *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 52(2): 221-226.
- Weitschies, W., M. Karaus, et al. (2001). "Magnetic marker monitoring of disintegrating capsules." *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 13(4): 411-416.
- Weitschies, W., R.-S. Wedemeyer, et al. (2005). "Impact of the intragastric location of extended release tablets on food interactions." *Journal of Controlled Release* 108(2-3): 375-385.
- Welling, P. G., H. Huang, et al. (1977). "Bioavailability of ampicillin and amoxicillin in fasted and nonfasted subjects." *Journal of Pharmaceutical Sciences* 66(4): 549-52.
- Wikipedia.org (2001). "Wikipedia - Freie Enzyklopädie Stand 2001."

- Wilding, I. R., A. J. Coupe, et al. (2001). "The role of gamma-scintigraphy in oral drug delivery." *Adv Drug Deliv Rev* 46(1-3): 103-24.
- Witkowski, G., H. Lode, et al. (1982). "Pharmacokinetic studies of amoxicillin, potassium clavulanate and their combination." *European journal of clinical microbiology* 1(4): 233-7.
- Woodnutt, G. and V. Berry (1999). "Two pharmacodynamic models for assessing the efficacy of amoxicillin-clavulanate against experimental respiratory tract infections caused by strains of *Streptococcus pneumoniae*." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43(1): 29-34.

8. Danksagung

Zuallererst möchte ich Herrn Professor Hubert Mönnikes für die Überlassung des interessanten Themas und die Unterstützung und Förderung meiner Arbeit danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Werner Weitschies für die vertrauensvolle Zusammenarbeit sowie die fortwährend konstruktive Mitwirkung und Hilfestellung beim Verfassen dieser Arbeit.

Erwähnt werden soll auch die nachhaltige Unterstützung durch Herrn Dr. Ralph Steven Wedemeyer, der durch zahlreiche Diskussionen, Korrekturlesungen und stets qualifizierte Anmerkungen maßgeblich zum Gelingen der Dissertation beigetragen hat.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. Olaf Kosch für die Unterstützung bei der Auswertung der magnetischen Daten, Herrn Dr. Marco Schmidtman für die Hilfe bei der Auswertung des klinischen Studienteiles und bei allen Mitarbeitern der Biopharmazie und pharmazeutischen Technologie der Ernst Moritz Arndt Universität Greifswald, von denen jeder seinen Anteil an der guten Atmosphäre und Zusammenarbeit hatte.

Ein aufrichtiges Dankeschön möchte ich meiner Lebensgefährtin Anne Regorius sagen, die immer für mich da war und auch in den schwierigen Zeiten zu mir gehalten hat.

Ein besonderes Dankeschön gilt meiner Mutter, die mich trotz persönlicher Schicksalsschläge stets tatkräftig unterstützte und mir die Möglichkeit schuf, diesen Weg einzuschlagen.

Ich widme diese Arbeit meinen Eltern Waltraud und Friedmut Friedrich.

9. Anhang

9.1. UV-Kalibration Amoxicillin

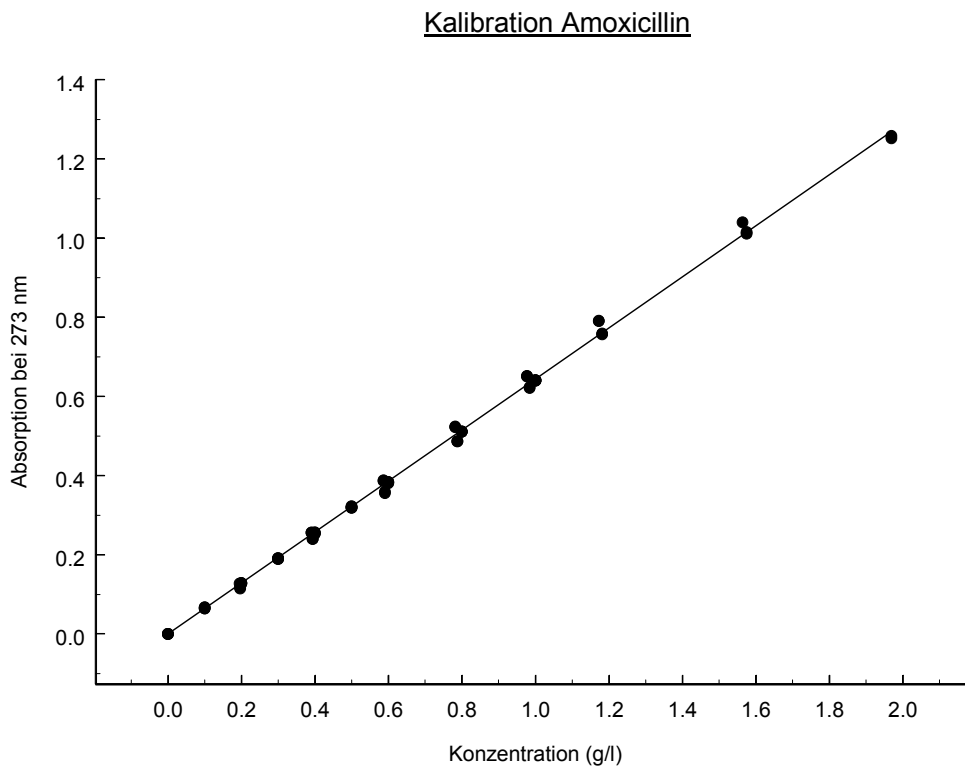
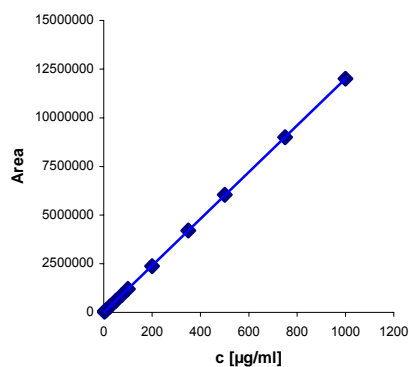


Abbildung 34: Kalibration Amoxicillin: Konzentration in g/L gegen die Absorption bei 273 nm. Geradengleichung: $y = 0,6445 \cdot x$; Bestimmtheitsmaß $R^2 = 0,9984$

9.2. Ergebnisse und Kalibration zur Bestimmung der Löslichkeit des Amoxicillin-Trihydrates



RT (min)	Area	Height	Vedünnung	c(µg/mL)
4,82	3900387	321917	10	3247
5,04	3855638	286538	10	3210
4,94	3844115	291032	10	3200
4,92	3835591	286797	10	3193
4,92	3823160	283487	10	3183
4,94	3819610	275543	10	3180

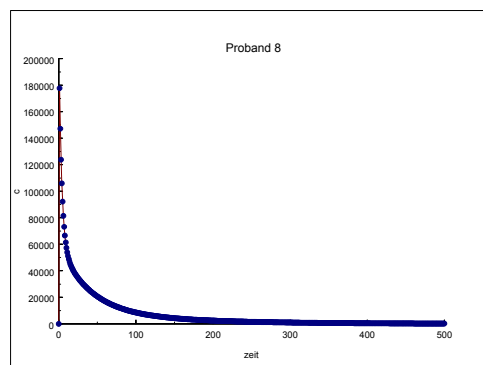
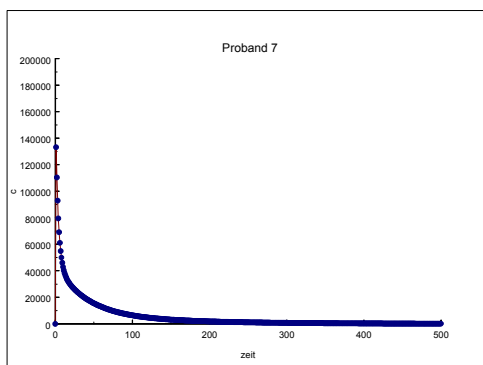
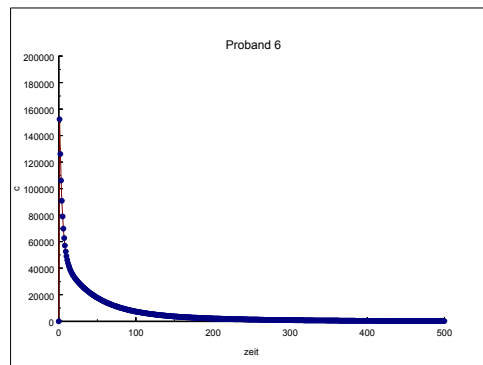
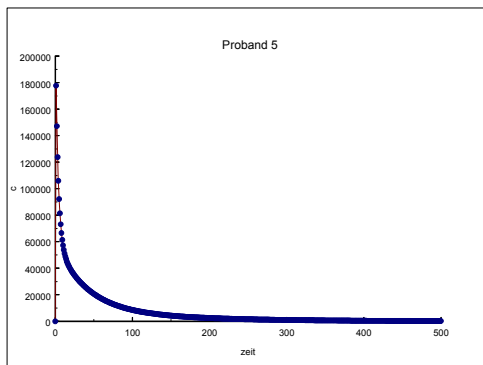
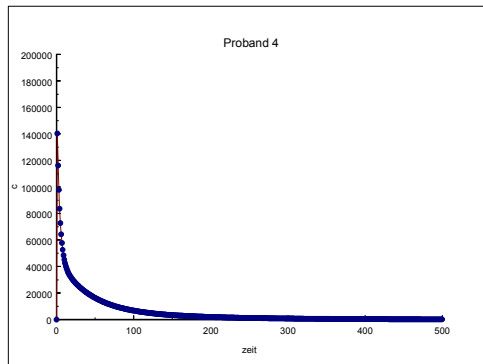
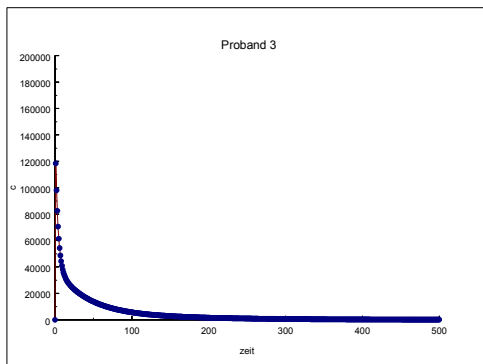
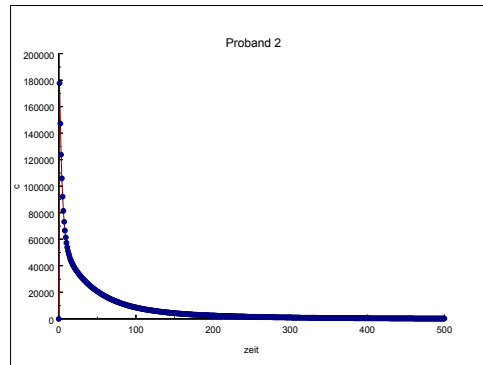
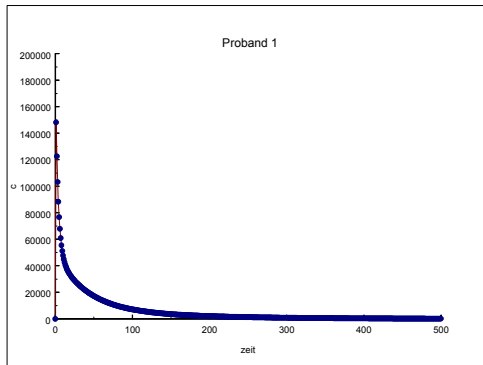
Abbildung 35: Kalibration und Ergebnisse zur Bestimmung der Löslichkeit von Amoxicillin*3H₂O: $y = 12012x$, $R^2 = 0,9999$

9.3. USP - Phosphatpuffer pH 6,8

Chemikalien:

- Kaliumhydrogenphosphat
- Natriumhydroxid

9.4. Boluskurven



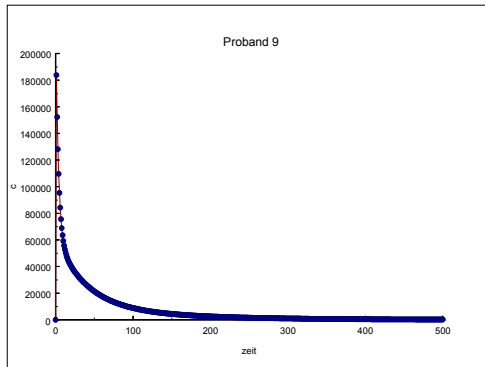


Abbildung 36: Simulierte Boluskurven für 9 Probanden unter Verwendung eines 3-Kompartimentenmodells

9.5. Nebenwirkungen

Subject-No 2: 8.11.05, 13:10 - 17:00; *Übelkeit, Kopfschmerzen*, nicht schwerwiegend, nicht anhaltend, Zusammenhang mit der Studienmedikation *wahrscheinlich*

Subject-No 3: 1.11.05, 11:38 -12:00; *hypotone Kreislaufstörung*, nicht schwerwiegend, nicht anhaltend, Zusammenhang mit der Studienmedikation *möglich*

Subject-No 4: 2.11.05 12:30 - 3.11.05; *Kopfschmerzen*, nicht schwerwiegend, nicht anhaltend, Zusammenhang mit der Studienmedikation *möglich*

Subject-No 6: 2.11.05 23:00 - 3.11.05, 17:00, *Übelkeit, Diarrhoe, Fieber*, nicht schwerwiegend, nicht anhaltend, Zusammenhang mit der Studienmedikation *wahrscheinlich*

Subject-No 9: 3.11.05 - 4.11.05, *Darmkrämpfe*, nicht schwerwiegend, nicht anhaltend, Zusammenhang mit der Studienmedikation *wahrscheinlich*

9.6. Nahrungsregime

Hochkalorisches fettreiches Frühstück:

2 Eier in Butter gebraten (Spiegel- oder Rührei)

2 Scheiben Schinken

2 Scheiben Toast mit 10 g Butter

120 mL Bratkartoffeln

240 mL Vollmilch (3.5 % Fett)

Gabe der Medikation mit 240 mL Wasser 30 Minuten nach Start des Frühstücks.

Frühstück in Anlehnung an die Zulassung von GlaxoSmithKline:

2 Scheiben Toast

40 g Käse

150 mL Orangensaft

150 mL fettarme Milch (1.5 % Fett)

20 g Cornflakes

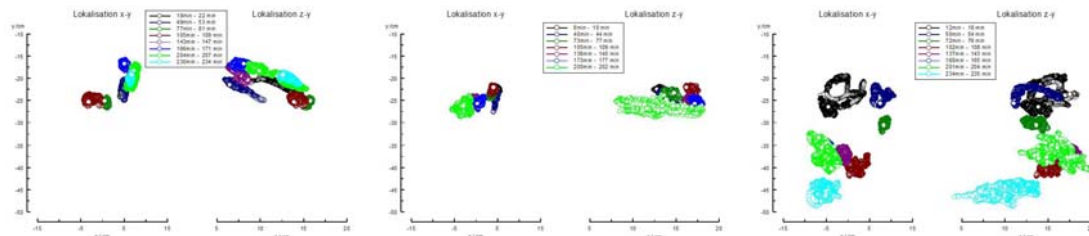
Gabe der Medikation mit 150 mL Wasser nach dem ersten Bissen des Frühstücks.

Standardisiertes Mittagessen:

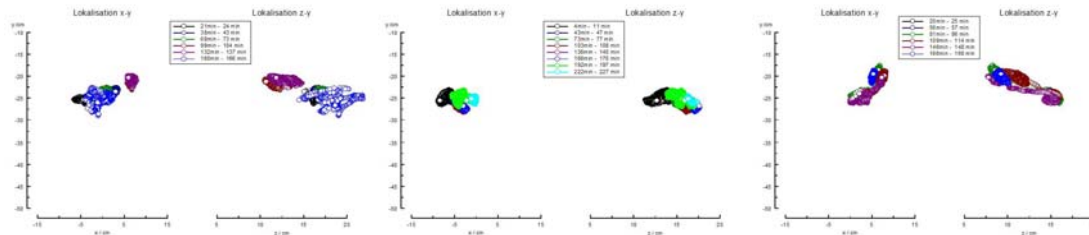
Hühnerfrikassee

240 mL Wasser

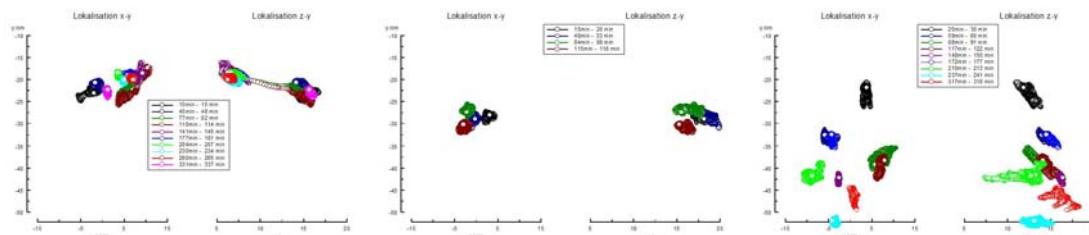
9.7. Magnetische Lokalisationsdaten der In-Vivo Studie



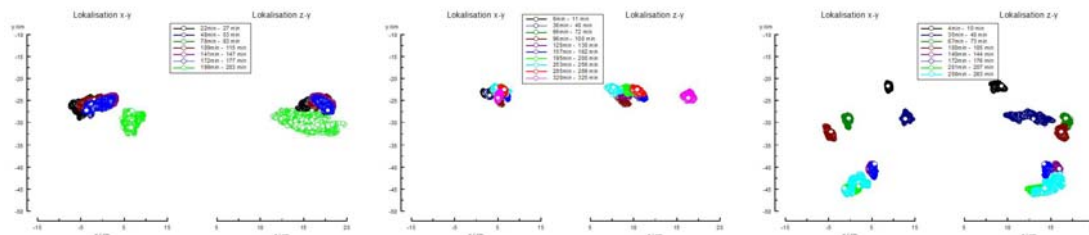
Proband 1



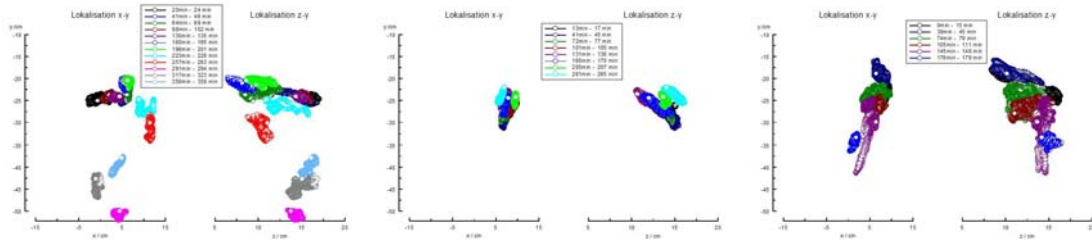
Proband 2



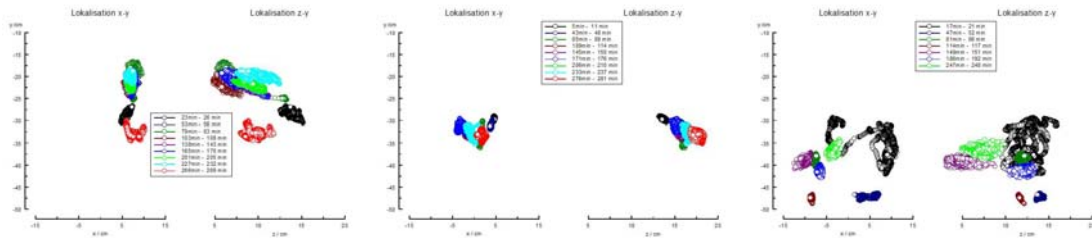
Proband 3



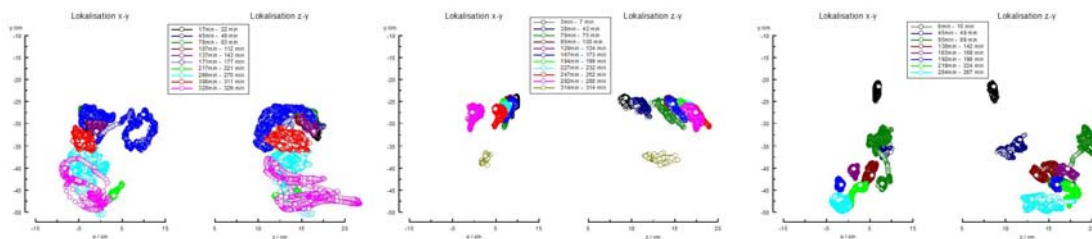
Proband 4



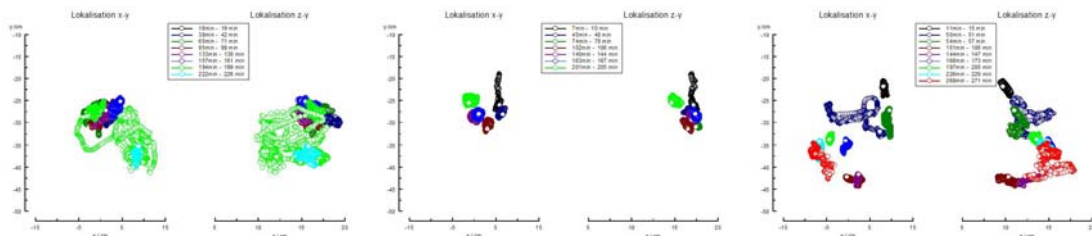
Proband 5



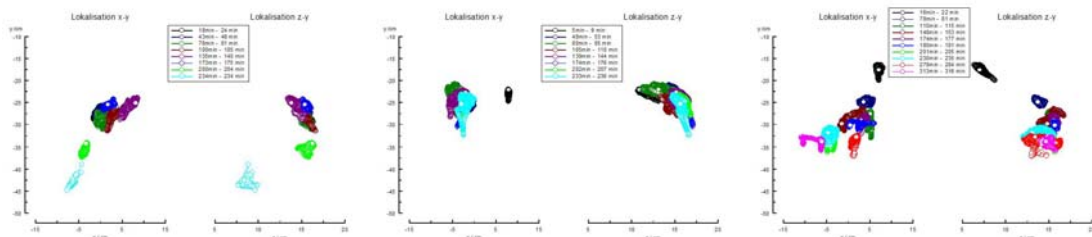
Proband 6



Proband 7



Proband 8



Proband 9

Abbildung 37: Graphen der magnetischen Lokalisationen mittels SQUID. Von links nach rechts dargestellt sind folgende Messungen: Applikation nach einem fettreichen Frühstück, nüchterne Einnahme und Applikation mit dem ersten Bissen eines kohlenhydratreichen Frühstücks.

9.8. Skripte

9.8.1. Simulation von Konzentrations-Zeit-Profilen

```
*****
// Simulationsprogramm
*****
// Schrittweite deltat änderbar (Standard=1).
// Dreikompartimentmodell.
// kontinuierliche Gabe einer Dosis
// aus Inputfile über die ganze Zeit
// Eingabeparameter im gekennzeichneten
// Bereich.
// WICHTIG: Eintragen des Ausgabefiles in
// den Zeilen OpenDS und CurrentDS
// (Zeilen sind gekennzeichnet).

// **Declarations*****

float deltat;
float VC;
float k12, k21;
float k13, k31;
float k10;
float ZK, ZKneu, deltaZK;
float PK2, PK2neu, deltaPK2;
float PK3, PK3neu, deltaPK3;
float Q12, Q21, Q10;
float Q13, Q31;
long i, j, m, n_ges, n_infus;

/**Definition of output filename**

OpenDS Datasheet = ds1.axd;
CurrentDS Datasheet = ds1.axd;

/**Setting of input parameters**

VC=0.075*70;

k10= 0.0478333;
k12= 0.0108333;
k21= 0.0108333;
k13=0.1131667;
k31=0.096;

deltat=1;
t_ges= 4096;
/** End of input parameters**

/** Calculation of integer time values**

n_ges= round( t_ges / deltat );

/**Settings*****
floatcol D_input;
floatcol zeit, c;
floatcol Dosis;
```

```

ZK=0;
PK2=0;
PK3=0;

for ( i = 1; i <= n_ges; i++) Dosis[i]=D_input[i];

/** Solving of kinetic equaions*****

for ( i=1; i <= n_ges; i++)
{
    zeit[i]=i * deltat; // Minuten
    ZK=ZK + Dosis[i];
    Q12=k12*ZK;
    Q21=k21*PK2;
    Q13=k13*ZK;
    Q31=k31*PK3;
    Q10=k10*ZK;

    deltaZK=(Q21+Q31
              -Q12-Q13-Q10)
              *deltat;
    deltaPK2=(Q12-Q21)*deltat;
    deltaPK3=(Q13-Q31)*deltat;

    ZKneu=ZK+deltaZK;
    PK2neu=PK2+deltaPK2;
    PK3neu=PK3+deltaPK3;

    c[i]= ZK / VC * 1000; // µg/l

    ZK=ZKneu;
    PK2=PK2neu;
    PK3=PK3neu;
}

/**Calculation of AUC*****

floatcol AUC_part, delta_c;
float AUC;

for (i = 1; i < n_ges; i++)
{
    delta_c[i] = (c[i+1] + c[i]) / 2;
    AUC_part[i] = deltat * delta_c[i];
}
AUC = sum(AUC_part);

/** Output on file*****

stringcol Parameter;
floatcol variablen;

Parameter[1] = "Dosis (ges.) (mg)";
variablen[1] = Sum(Dosis);
Parameter[3] = "VD (L)";
variablen[3] = VC;

```

```

Parameter[4] = "k12 (1/min)";
variablen[4] = k12;
Parameter[5] = "k21 (1/min)";
variablen[5] = k21;
Parameter[6] = "k13 (1/min)";
variablen[6] = k13;
Parameter[7] = "k31 (1/min)";
variablen[7] = k31;
Parameter[8] = "k10 (1/min)";
variablen[8] = k10;
Parameter[9] = "AUC";
variablen[9] = AUC;

```

```

/**End of programm*****

```

9.8.2. Skript zur Erstellung der graphischen Lokalisationen

```

// Umsetzung von AXD Tabelle in Momenten-Darstellung AXG *- C *-
STRING anzahldb = " ";
LONG i;
for (i=1; i<=255; i++)
    anzahldb += " ";
LONG buttonPressed = CallInterfaceFunction ("GetString", -1, -1,
der Datenblätter/Messungen:", anzahldb);
if (buttonPressed == 2) goto end;

STRING konstantname = " ";
LONG i;
for (i=1; i<=16; i++)
    konstantname += " ";
LONG buttonPressed = CallInterfaceFunction ("GetString", -1, -1,
konst. Teil Dateiname:", konstantname);
if (buttonPressed == 2) goto end;

//öffnen der datenblätter//
//*****
//*****
string dsmean = konstantname + "mean_moments";
string regression = konstantname + "regression";
string sadsmean = dsmean + ".axd";
string magnetabs = konstantname + "mabs";
string samaabs = magnetabs + ".axg";
create graphsheet name = *magnetabs;
save graphsheet filename = *samaabs;
remove graphsheet name = *magnetabs;
open graphsheet filename = *samaabs
Hide = No
    Show = Normal
    Top = Auto
    Left = Auto
    Width = 927
    Height = 787;
create graph2d Name = \\*magnetabs\graph1;

string magnetrel = konstantname + "mper";
string samarel = magnetrel + ".axg";
create graphsheet name = *magnetrel;
save graphsheet filename = *samarel;

```



```

remove graphsheet name = *magnetrel;
open graphsheet filename = *samarel
Hide = No
    Show = Normal
    Top = Auto
    Left = Auto
    Width = 927
    Height = 787;
create graph2d Name = \\*magnetrel\graph1;

create datasheet name = *dsmean;

long vers = 1;
FLOAT schleife;
schleife = stof(anzahldb);

schleifelauf=1;
anfang;
string farbe;
if (1 == schleifelauf) farbe = "black";
if (2 == schleifelauf) farbe = "blue";
if (3 == schleifelauf) farbe = "green";
if (4 == schleifelauf) farbe = "red";
if (5 == schleifelauf) farbe = "magenta";
if (6 == schleifelauf) farbe = "lt blue";
if (7 == schleifelauf) farbe = "lt green";
if (8 == schleifelauf) farbe = "lt cyan";
if (9 == schleifelauf) farbe = "lt red";
if (10 == schleifelauf) farbe = "lt magenta";
if (11 == schleifelauf) farbe = "yellow";
if (12 == schleifelauf) farbe = "user4";
if (13 == schleifelauf) farbe = "user6";
if (14 == schleifelauf) farbe = "user10";
if (15 == schleifelauf) farbe = "white";
if (16 == schleifelauf) farbe = "dark gray";
if (17 == schleifelauf) farbe = "user12";
if (18 == schleifelauf) farbe = "user13";
if (19 == schleifelauf) farbe = "user14";
if (20 == schleifelauf) farbe = "user16";
print farbe;
string lauf = ftos(schleifelauf, 0);
string dsName = konstantname + lauf + "";
string sada = dsName + ".axd";
string sagra = dsName + ".axg";
open datasheet filename = *sada;
currentds datasheet = *sada;
floatcol mean_t;
mean_t[1] = mean(t_min);
floatcol m;
floatcol mean_m;
mean_m[1] = mean(m);
floatcol m_percent;
floatcol mean_m_rel;
mean_m_rel[1] = mean(m_percent);
floatcol x;
floatcol mean_x;
mean_x[1] = mean(x);
floatcol y;
floatcol mean_y;
mean_y[1] = mean(y);

```

```
floatcol z;
floatcol mean_z;
mean_z[1] = mean(z);
```

Copyblock

```
from DataSheet = *dsname,
columns = {22}, rows = {1},
to DataSheet = *dsmean,
startcolumn = 1, startrow = *vers;
```

Copyblock

```
from DataSheet = *dsname,
columns = {23}, rows = {1},
to DataSheet = *dsmean,
startcolumn = 2, startrow = *vers;
```

Copyblock

```
from DataSheet = *dsname,
columns = {24}, rows = {1},
to DataSheet = *dsmean,
startcolumn = 3, startrow = *vers;
```

Copyblock

```
from DataSheet = *dsname,
columns = {25}, rows = {1},
to DataSheet = *dsmean,
startcolumn = 4, startrow = *vers;
```

Copyblock

```
from DataSheet = *dsname,
columns = {26}, rows = {1},
to DataSheet = *dsmean,
startcolumn = 5, startrow = *vers;
```

Copyblock

```
from DataSheet = *dsname,
columns = {27}, rows = {1},
to DataSheet = *dsmean,
startcolumn = 6, startrow = *vers;
```

```
vers = vers + 1;
```

```
create lineplot name = \\*magnetabs\graph1\plot1, datasheet = *dsname, xcolumn = t_min, ycolumn = m, hide = no;
modify lineplot name = \\*magnetabs\graph1\plot1, newname = *dsname, SymbolStyle = "Circle, Empty",
SymbolHeight = 0.01, linecolor = *farbe, symbolcolor = *farbe;
```

```
create lineplot name = \\*magnetrel\graph1\plot1, datasheet = *dsname, xcolumn = t_min, ycolumn = m_percent,
hide = no;
```

```
modify lineplot name = \\*magnetrel\graph1\plot1, newname = *dsname, SymbolStyle = "Circle, Empty",
SymbolHeight = 0.01, linecolor = *farbe, symbolcolor = *farbe;
```

```
schleifelauf = schleifelauf + 1;
```

```
if (schleifelauf > schleife) {goto end;}
```

```
else {goto anfang;}
```

```
end;
```

Modify XAxisTitle

```
Name = \\*magnetabs\graph1\Axis2dX1\1
Title = "t / min"
UseDate = No
UseTime = No
FillColor = "Transparent"
PatternColor = "Transparent"
BorderStyle = "None"
xPosition = "7.6"
yPosition = "0.48";
```

```

Modify YAxisTitle
  Name = \\*magnetabs\graph1\Axis2dY1\1
  Title = "M / $\mu$ Am2"
  UseDate = No
  UseTime = No
  FillColor = "Transparent"
  PatternColor = "Transparent"
  BorderStyle = "None"
  Angle = 0
  xPosition = "0.1"
  yPosition = "5.8";

```

```

Modify Axis2dY
  Name = \\*magnetabs\graph1\Axis2dY1
  MajorTickLength = 0.05
  MinorTickLength = 0.03
  AxisMin = "0";

```

```

Modify Axis2dx
  Name = \\*magnetabs\graph1\Axis2dx1
  MajorTickLength = 0.05
  MinorTickLength = 0.03;

```

```

Create MainTitle
  Name = \\*magnetabs\graph1\1
  UseDate = No
  UseTime = No
  Title = *magnetabs
  xPosition = "Auto"
  yPosition = "Auto"
  Angle = 0
  Hide = No
  UseAxesUnits = No
  RelativeAxisX = 1
  RelativeAxisY = 1
  PanelToDraw = "All"
  Font = "Arial"
  FontSize = 18
  FontColor = "Black"
  Bold = No
  Italics = No
  Underline = No
  FillColor = "Transparent"
  FillPattern = "Empty"
  PatternColor = "Yellow"
  BorderStyle = "None"
  BorderColor = "Black"
  BorderWeight = "1"
  VerticalMargin = 0.1
  HorizontalMargin = 0.1;

```

```

Modify XAxisTitle
  Name = \\*magnetrel\graph1\Axis2dX1\1
  Title = "t / min"
  UseDate = No
  UseTime = No
  FillColor = "Transparent"
  PatternColor = "Transparent"
  BorderStyle = "None"

```

```
xPosition = "7.6"  
yPosition = "0.48";
```

Modify YAxisTitle

```
Name = \\*magnetrel\graph1\Axis2dY1\  
Title = "M / %"  
UseDate = No  
UseTime = No  
FillColor = "Transparent"  
PatternColor = "Transparent"  
BorderStyle = "None"  
Angle = 0  
xPosition = "0.25"  
yPosition = "5.8";
```

Modify Axis2dY

```
Name = \\*magnetrel\graph1\Axis2dY1  
AxisMin = "0"  
AxisMax = "120"  
MajorTickLength = 0.05  
MinorTickLength = 0.03;
```

Modify Axis2dx

```
Name = \\*magnetrel\graph1\Axis2dx1  
MajorTickLength = 0.05  
MinorTickLength = 0.03;
```

Create MainTitle

```
Name = \\*magnetrel\graph1\  
UseDate = No  
UseTime = No  
Title = *magnetrel  
xPosition = "Auto"  
yPosition = "Auto"  
Angle = 0  
Hide = No  
UseAxesUnits = No  
RelativeAxisX = 1  
RelativeAxisY = 1  
PanelToDraw = "All"  
Font = "Arial"  
FontSize = 18  
FontColor = "Black"  
Bold = No  
Italics = No  
Underline = No  
FillColor = "Transparent"  
FillPattern = "Empty"  
PatternColor = "Yellow"  
BorderStyle = "None"  
BorderColor = "Black"  
BorderWeight = "1"  
VerticalMargin = 0.1  
HorizontalMargin = 0.1;
```

```
ViewGraph Graph = *magnetrel;
```

```

STRING reg1start = " ";
LONG i;
for (i=1; i<=255; i++)
    reg1start += " ";
LONG buttonPressed = CallInterfaceFunction ("GetString", -1, -1,
der Messungen für 1.Regression - Start:", reg1start);
if (buttonPressed == 2) goto end2;
ftreg1start = stof(reg1start);
long ftreg1start;

STRING reg1end = " ";
LONG i;
for (i=1; i<=255; i++)
    reg1end += " ";
LONG buttonPressed = CallInterfaceFunction ("GetString", -1, -1,
der Messungen für 1.Regression - Ende:", reg1end);
if (buttonPressed == 2) goto end2;
ftreg1end = stof(reg1end);
long ftreg1end;

STRING reg2start = " ";
LONG i;
for (i=1; i<=255; i++)
    reg2start += " ";
LONG buttonPressed = CallInterfaceFunction ("GetString", -1, -1,
der Messungen für 2.Regression - Start:", reg2start);
if (buttonPressed == 2) goto end2;
ftreg2start = stof(reg2start);
long ftreg2start;

STRING reg2end = " ";
LONG i;
for (i=1; i<=255; i++)
    reg2end += " ";
LONG buttonPressed = CallInterfaceFunction ("GetString", -1, -1,
der Messungen für 2.Regression - Ende:", reg2end);
if (buttonPressed == 2) goto end2;
ftreg2end = stof(reg2end);
long ftreg2end;

end2:

currentds datasheet = *dsmean;

floatcol mean_t_reg1;
floatcol mean_m_reg1;
floatcol mean_mperc_reg1;
floatcol mean_t_reg2;
floatcol mean_m_reg2;
floatcol mean_mperc_reg2;

Copyblock
    from DataSheet = *dsmean,
    columns = {1,5,6}, rows = {*ftreg1start..*ftreg1end},
    to DataSheet = *dsmean,
    startcolumn = 7, startrow = 1;

Copyblock
    from DataSheet = *dsmean,
    columns = {1,5,6}, rows = {*ftreg2start..*ftreg2end},

```

```
to DataSheet = *dsmean,  
startcolumn = 10, startrow = 1;
```

```
create graphsheet name = *regression;  
create graph2d Name = \\*regression\graph1;
```

Modify Axis2dY

```
Name = \\*regression\graph1\Axis2dY1  
AxisMin = "0"  
AxisMax = "120";
```

```
create lineplot name = \\*regression\graph1\plot1, datasheet = *dsmean, xcolumn = {7}, ycolumn = {9}, hide = no,  
SymbolHeight = 0.15, LineStyle = "None", SymbolColor = "Black", SymbolStyle = "Circle, Solid";
```

```
create lineplot name = \\*regression\graph1\plot2, datasheet = *dsmean, xcolumn = {10}, ycolumn = {12}, hide =  
no, SymbolHeight = 0.15, LineStyle = "None", SymbolColor = "Black", SymbolStyle = "Circle, Solid";
```

Create LinearCFPlot

```
Name = \\*regression\graph1\4  
PlotNumber = 1  
DataSheet = *dsmean  
xColumn = {mean_t_reg1}  
yColumn = {mean_mperc_reg1}  
RelativeAxisX = 1  
RelativeAxisY = 1  
RelativePlane = 1  
Hide = No  
Crop = Yes  
LineStyle = "Solid"  
LineColor = "black"  
LineWeight = "1"  
BreakForMissings = No  
BreakAtSymbols = Yes  
SymbolStyle = "None"  
SymbolColor = "Dark Gray"  
SymbolHeight = 0.15  
SymbolLineWeight = "1/2"  
SymbolFreq = 1  
Rows = {ALL}  
CurveType = "Linear"  
OmitConstant = No  
PolyRegOrder = 1  
ResultInSheet = No  
NumPredValues = "100"  
PredMinimum = "-10"  
PredMaximum = "300"  
PredIncrement = "Auto";
```

Create LinearCFPlot

```
Name = \\*regression\graph1\5  
PlotNumber = 1  
DataSheet = *dsmean  
xColumn = {mean_t_reg2}  
yColumn = {mean_mperc_reg2}  
RelativeAxisX = 1
```

```
RelativeAxisY = 1
RelativePlane = 1
Hide = No
Crop = Yes
LineStyle = "solid"
LineColor = "black"
LineWeight = "1"
BreakForMissings = No
BreakAtSymbols = Yes
SymbolStyle = "none"
SymbolColor = "Lt Red"
SymbolHeight = 0.15
SymbolLineWeight = "1/2"
SymbolFreq = 1
Rows = {ALL}
CurveType = "Linear"
OmitConstant = No
PolyRegOrder = 1
ResultInSheet = No
NumPredValues = "100"
PredMinimum = "0"
PredMaximum = "500"
PredIncrement = "Auto";
```

Modify YAxisTitle

```
Name = \\*regression\graph1\Axis2dY1\1
Title = "M percent"
UseDate = No
UseTime = No
FillColor = "Transparent"
PatternColor = "Transparent"
BorderStyle = "None";
```

Modify XAxisTitle

```
Name = \\*regression\graph1\Axis2dX1\1
Title = "t /min"
UseDate = No
UseTime = No
FillColor = "Transparent"
PatternColor = "Transparent"
BorderStyle = "None";
```

```
create datasheet name = reg1;
```

Modify LinearCFPlot

```
Name = \\*regression\graph1\4
ResultInSheet = Yes
ResultSheet = reg1.axd;
```

Modify LinearCFPlot

```
Name = \\*regression\graph1\5
ResultInSheet = Yes
ResultSheet = reg1.axd;
```

Modify Axis2dX

```
Name = \\*regression\graph1\Axis2dX1
```

```

AxisMin = "0"
AxisMax = "720";

Modify Axis2dX
Name = \\*regression\graph1\Axis2dX1
MajorTickWeight = "2";

Modify Axis2dX
Name = \\*regression\graph1\Axis2dX1
MinorTickWeight = "1";

Modify Axis2dX
Name = \\*regression\graph1\Axis2dX1
MajorTickLength = 0.08
MinorTickLength = 0.06;

Modify Axis2dY
Name = \\*regression\graph1\Axis2dY1
MajorTickLength = 0.08
MajorTickWeight = "2"
MinorTickLength = 0.06
MinorTickWeight = "1";

Modify Axis2DLabelY
Name = \\*regression\graph1\Axis2dY1\1
FontSize = 22;

Modify Axis2DLabelX
Name = \\*regression\graph1\Axis2dX1\1
FontSize = 22;

Modify YAxisTitle
Name = \\*regression\graph1\Axis2dY1\1
FontSize = 22;

Modify XAxisTitle
Name = \\*regression\graph1\Axis2dX1\1
FontSize = 22;

Modify XAxisTitle
Name = \\*regression\graph1\Axis2dX1\1
Title = "t (min)";

Modify YAxisTitle
Name = \\*regression\graph1\Axis2dY1\1
Title = "M (%)";

Modify Graph2D
Name = \\*regression\graph1
GraphBorderStyle = "None";

Modify LinearCFPlot
Name = \\*regression\graph1\4
LineWeight = "2";

Modify LinePlot
Name = \\*regression\graph1\plot1
SymbolHeight = 0.18;

Modify LinearCFPlot

```



```
Name = \\*regression\graph1\5
LineWeight = "2";
```

```
Modify LinePlot
  Name = \\*regression\graph1\plot2
  SymbolHeight = 0.18;
```

```
Open Script
  FileName = zerfallszeitenberechnung.AXS
  Hide = No
  Show = Normal
  Top = Auto
  Left = Auto
  Width = 927
  Height = 787
```

9.8.3. Auswertung der magnetischen Messungen

```
*****
// Programm zur Auswertung der Relaxationsmessungen
// am Freisetzungsgert.
// S.N., Version 28.01.04.
// Vektorielle Formulierung.
// Wichtigste Ausgabegrößen sind zeit, B_peak.
// Betragdiff entspricht dem alten (fehlerhaften) B_peak2
*****

*****
//*** Input Data from File *****
// Es wird das letzte angeklickte axd-File geoffnet
// Folgende Daten werden ausgelesen
floatcol t, x, y, z,u;

//*** Output Data in File *****
// Folgende Daten werden geschrieben
floatcol B; // Betrag aus x,y,z
floatcol zeit, B_peak; // Zeit in min
// Mittelwert des Erdmagnetfeldes über 1 min
floatcol x_basis, y_basis, z_basis, B_basis;
// Signal=Feld-Werte bei Passage am Magneten
floatcol x_signal, y_signal, z_signal, B_signal;
// Peak=Vektordifferenz aus Signal - Erdfeld
floatcol x_peak, y_peak, z_peak;
// Betragsdifferenz aus |Signal|-|Erdfeld|
floatcol Betragdiff;

//*** Important Parameters *****
long upm; //Umdrehungsfrequenz der Apparatur

//*** Internal Parameters *****
floatcol tgan;
floatcol Intervall, B_Intervall, Index;
floatcol x_Intervall, y_Intervall, z_Intervall;
floatcol B_unten, B_oben;
floatcol x_sig, y_sig, z_sig;
float t_max, Peak_unten, Peak_oben;
long Nges, nt_max, le, upm;
long i, j, l;

//*** End of Declarations*****
```

```

//*****

/** Settings *****
upm = 50;

/** Definitions *****
N_ges = length(t);
t_max = max(t);
nt_max = round(t_max + 0.5);
t_ganz = round(t + 0.5);
B = sqrt(x*x + y*y + z*z);

/** Begin of Main Loop *****

for (i = 1; i < nt_max; i++)
{
  Intervall = find(t_ganz == i);
  B_Intervall = B[Intervall];
  x_Intervall = x[Intervall];
  y_Intervall = y[Intervall];
  z_Intervall = z[Intervall];
  Index=B[Intervall];

  le = length(B_Intervall);
  for (j=1; j < le + 1; j++) Index[j] = j;
  sort2fvec(B_Intervall, Index);
  x_Intervall=x_Intervall[Index];
  y_Intervall=y_Intervall[Index];
  z_Intervall=z_Intervall[Index];

  for (l = 1; l < upm - 1; l++)
    B_unten[l] = B_Intervall[l];
  for (l = le - upm + 3; l < le + 1; l++)
    B_oben[l] = B_Intervall[l];

  Peak_unten = abs(mean(B_unten) - median(B_Intervall));
  Peak_oben = abs(mean(B_oben) - median(B_Intervall));

  if (Peak_oben > Peak_unten)
  {
    Betragdiff[i]=Peak_oben;
    for (l = le - upm + 3; l < le + 1; l++)
    {
      x_sig[l-le+upm-2] = x_Intervall[l];
      y_sig[l-le+upm-2] = y_Intervall[l];
      z_sig[l-le+upm-2] = z_Intervall[l];
    }
  }
  else
  {
    Betragdiff[i]=Peak_unten;
    for (l = 1; l < upm - 1; l++)
    {
      x_sig[l] = x_Intervall[l];
      y_sig[l] = y_Intervall[l];
      z_sig[l] = z_Intervall[l];
    }
  }

  x_basis[i] = median(x_Intervall);

```

```

y_basis[i] = median(y_Intervall);
z_basis[i] = median(z_Intervall);
B_basis[i] = Sqrt( x_basis[i] * x_basis[i] +
                  y_basis[i] * y_basis[i] +
                  z_basis[i] * z_basis[i] );

x_signal[i] = mean(x_sig);
y_signal[i] = mean(y_sig);
z_signal[i] = mean(z_sig);
B_signal[i] = Sqrt( x_signal[i] * x_signal[i] +
                  y_signal[i] * y_signal[i] +
                  z_signal[i] * z_signal[i] );

x_peak[i] = x_signal[i] - x_basis[i];
y_peak[i] = y_signal[i] - y_basis[i];
z_peak[i] = z_signal[i] - z_basis[i];
B_peak[i] = Sqrt( x_peak[i] * x_peak[i] +
                  y_peak[i] * y_peak[i] +
                  z_peak[i] * z_peak[i] );

zeit[i]=i;

}
/** End of Main Loop ****

DeleteCol {tgan..z_sig};

bn = B_peak/max(B_peak);

/** End of Programm ****

```

Erklärung

Ich, Christian Friedrich, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Biopharmazeutische Aspekte einer Amoxicillin -/ Clavulansäure - Tablette mit modifizierter Wirkstofffreisetzung“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

14. Februar 2009