

O/W-Emulsionen für die intravenöse Applikation von Arzneistoffen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des akademischen Grades des
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Ilona Buttle

aus Hannover

Dezember 2004

1. Gutachter: Univ. Prof. Dr. R. H. Müller

2. Gutachter: Univ. Prof. Dr. O. Kayser

Tag der mündlichen Prüfung: 01. März. 2005

meiner Mutter

Das Fehlen einer besonderen Kennzeichnung oder eines entsprechenden Hinweises auf ein Warenzeichen, ein Gebrauchsmuster oder einen Patentschutz lässt nicht den Schluss zu, dass über die in dieser Arbeit angegebenen Dinge frei verfügt werden kann.

Inhaltsverzeichnis

I. THEORETISCHER TEIL	1
1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
1.1 Parenterale Fettemulsionen	2
1.2 Aufbereitung schwerlöslicher Arzneistoffe für i.v. Zwecke	5
1.2.1 Nanosuspensionen	5
1.2.2 Emulsionen	6
1.3 Ziel der Dissertation	8
2 MATERIALIEN	9
2.1 Modellarzneistoff Amphotericin B und seine Aufbereitung für den parenteralen Applikationsweg	9
2.1.1 Amphotericin B	9
2.1.2 Fungizone [®]	14
2.1.3 Lipid-Komplex (ABL _C)	15
2.1.4 Amphotericin B als kolloidale Dispersion (ABCD)	16
2.1.5 Liposomales Amphotericin B (AmBisome [®])	17
2.1.6 Mögliche Ursachen für einen erhöhten therapeutischen Index der lipidhaltigen Zubereitungen	19
2.1.7 Kosten-Nutzenanalyse	20
2.1.8 Zumischung von Amphotericin B zu parenteralen Fettemulsionen	22
2.2 Modellarzneistoff Xenon und Ansätze für eine parenterale Applikation	25
2.2.1 Xenon - ein Edelgas als Anästhetikum	25
2.3 Modellarzneistoff Omeprazol	30
2.3.1 Eigenschaften und Überlegungen zur systemischen Aufbereitung	30
2.4 Tenside	33
2.4.1 Lecithin	34
2.4.2 Tween [®] 80	35
2.5 Parenterale Fettemulsionen	36
2.6 Sonstige Rohstoffe	36
3 METHODEN	40
3.1 Herstellung der Emulsionen und Nanosuspensionen	40
3.1.1 Hochdruckhomogenisation	40
3.1.2 Nanosuspensionen	42
3.1.3 Lösungsverbesserung durch Hochdruckhomogenisation	44
3.1.4 O/W Emulsionen	48
3.1.4.1 De-Novo-Herstellung	48
3.1.4.2 Einarbeiten von Nanosuspensionen in handelsübliche parenterale Fettemulsionen	49
3.1.4.3 Herstellung der Xenon-beladenen Emulsionen oder Flüssigkeiten	50
3.2 Charakterisierung von Partikelgröße und -ladung	51
3.2.1 Laserdiffraktometrie (LD)	51
3.2.1.1 Einfluß der Fraunhofer- und der Mie-Theorie auf die Partikelgrößenverteilung von Nanosuspensionen	53

3.2.1.2	Charakterisierung der Emulsionen	57
3.2.2	Photonkorrelationsspektroskopie (PCS)	62
3.2.3	Zetapotential und Laser-Doppler-Anemometrie	64
3.3	Lichtmikroskopie	69
3.4	Gehaltsbestimmung.....	72
3.4.1	Amphotericin B	72
3.4.1.1	HPLC-Analytik	72
3.4.1.2	UV-VIS-Spektroskopie	74
3.4.2	Bestimmung der Xenon-Konzentration	75
3.4.2.1	Probenaufbereitung	76
3.4.2.2	Gaschromatographische-Massenselektive Bestimmung.....	76
3.4.3	HPLC-Trennsystem Omeprazol.....	77
3.5	Zwei-dimensionale Polyacrylamid Gelelektrophorese (2-D PAGE)	78
3.5.1	Probenaufbereitung.....	79
3.5.2	1. Dimension: Isoelektrische Fokussierung (IEF).....	80
3.5.3	2. Dimension: SDS-PAGE.....	80
3.5.4	Silberfärbung	81
3.5.5	Auswertung.....	82
3.6	Durchführung der In-vivo-Versuche mit inhalativem intravenösem Xenon	82
3.6.1	Versuchstiere	82
3.6.2	Narkose.....	82
3.6.3	Präparation der Tiere	83
3.6.4	Versuchsablauf	84

II. EINARBEITUNG VON ARZNEISTOFFEN IN PARENTERALE FETTEMULSIONEN UND CHARAKTERISIERUNG DER SYSTEME..... 85

4	EINARBEITEN VON AMPHOTERICIN B IN PARENTERALE O/W-EMULSIONEN	85
4.1	Rezepturscreening zur Herstellung Amphotericin B-haltiger Fettemulsionen.....	86
4.1.1	Ausgangssituation.....	86
4.1.2	Charakterisierung der Ausgangssubstanzen.....	87
4.1.3	Einfluss des Lecithingehalts	89
4.1.4	Zyklusoptimierung	100
4.1.4.1	Funktion der Zyklenzahl	100
4.1.4.2	De-Novo-Herstellung.....	107
4.1.5	Glycerol-modifizierte Nanosuspensionen.....	109
4.1.5.1	Entwicklung einer Glycerol-modifizierten Nanosuspension.....	109
4.1.5.2	Bestimmungen von Viskosität, Dichte und Dielektrizitätskonstante.....	114
4.1.5.3	Bestimmung des Zetapotentials im Originalmedium	115
4.1.5.3	Einarbeitung in die Emulsion	117
4.1.6	Emulsionen auf der Basis von Sojalecithin.....	118
4.1.7	Einarbeitung von hydrierten Lecithinen	123
4.1.7.1	Nanosuspension mit DMPC	124
4.1.7.2	Emulsionen mit hydrierten Lecithinen	126
4.1.8	Zusammenfassende Diskussion des Rezepturscreenings	131
4.2	Zetapotential-pH-Profile beladener und unbeladener Emulsionen.....	134

4.3	Amphotericin B, inkorporiert in handelsübliche parenterale Emulsionen.....	138
4.4	In-vitro- und In-vivo-Untersuchungen.....	146
4.4.1	Vergleich der Wirksamkeit von Amphotericin B in einer sterilen und unsterilen Emulsion	146
4.4.2	In-vitro-Untersuchungen der biologischen Wirksamkeit	146
4.4.3	In-vivo-Untersuchungen der biologischen Wirksamkeit	150
4.4.4	In-vivo-Untersuchungen der Akuttoxizität	153
4.4.5	Zusammenfassende Diskussion	154
4.5	Physikalische und chemische Stabilität bei Lagerung	155
4.5.1	Physikalische Stabilität der Nanosuspensionen	156
4.5.2	Chemische Stabilität der Nanosuspensionen	158
4.5.3	Physikalische Stabilität verschiedener Emulsionsrezepturen.....	159
4.5.4	Chemische Stabilität der Rezepturen	164
4.5.5	Physikalische Stabilität der Standardrezeptur	164
4.5.6	Chemische Stabilität der Standardrezeptur	169
4.5.7	Zusammenfassende Diskussion	170
4.6	Löslichkeitsuntersuchungen von Amphotericin B.....	171
4.6.1	Löslichkeit in Wasser und Ölen.....	171
4.6.2	Sättigungslöslichkeit der Nanosuspension	173
4.7	Temperaturempfindlichkeit	174
4.7.1	Substanzverlust durch die Herstellungsmethode.....	174
4.7.2	Autoklavierstabilität von Pulver, Nanosuspension und Emulsion	174
4.7.3	Temperaturabhängige chemische Stabilität Amphotericin B-beladener Emulsionen	176
4.7.4	Zusammenfassende Diskussion	177
4.8	Quantifizierung des ungelösten Amphotericin B-Anteils in den Emulsionen mittels	
	Zentrifugation.....	177
4.8.1	Fungizone [®] in Lipofundin [®] MCT 10%.....	177
4.8.2	Untersuchung von Emulsionen, hergestellt mittels Hochdruckhomogenisation	180
4.8.2.1	Trennung der beladenen Emulsionen mittels Zentrifugation.....	180
4.8.2.2	Validierung des Systems	181
4.8.3	Beladene Emulsionen	181
4.8.4	Zusammenfassende Diskussion	183
4.9	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	184
5	FETTEMULSIONEN ALS TRÄGER FÜR DAS NARKOSEGAS XENON	188
5.1	Ausgangssituation	188
5.1.1	Vergleichsformulierungen	188
5.1.2	Druckabhängige Löslichkeit von Xenon und Ausgasungsverhalten der Referenzemulsionen	190
5.2	Rezepturscreening: Entwicklung einer Formulierung für In-vivo-.....	193
	Studien.....	193
5.2.1	Löslichkeitsuntersuchungen von Xenon	194
5.2.1.1	Löslichkeit in parenteralen Fettemulsionen.....	194
5.2.1.2	Löslichkeit in Ölen: Umweg über Emulsionsherstellung	202
5.2.1.3	Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln	208
5.2.1.4	Löslichkeit in ethanolhaltigen Emulsionen	209
5.2.1.5	Löslichkeit in Emulgatoren	212

5.2.1.6	Löslichkeit in Emulsionen mit variablem Fett und Lecithingehalt.....	214
5.2.2	Auswirkung der Zyklenzahl auf Emulsionen mit Tween® 80 und Eilecithin.....	216
5.2.3	Zusammenfassende Diskussion	219
5.3	Vergleich der Proteinadsorptionsmuster auf Fettemulsionen mit und ohne weiteren Zusatz von Emulgatoren (2-D PAGE)	222
5.4	In-vivo-Studien mit Xenon-gesättigten Fettemulsionen - Optimierung der Zusammensetzung und der Partikelgröße	226
5.4.1	Inhalative Applikation von Xenon im Vergleich zur parenteralen Verabreichung von xenonhaltigen Fettemulsionen	226
5.4.1.1	Xenon inhalativ	226
5.4.1.2	Xenon i.v. in Abbolipid® 10%	229
5.4.1.3	Beurteilung der beiden Verfahren mittels weiterer Parameter.....	231
5.4.1.4	Zusammenfassung.....	232
5.4.2	Rezepturoptimierung	233
5.4.2.1	Applikation der Formulierung F4 (Abbolipid® 10%, + 2% Eilecithin, 130 nm).....	233
5.4.2.2	Applikation der Formulierung 4Tw (Abbolipid® 10% + 4% Tween® 80, 90 nm).....	235
5.4.2.3	Einfluss der Partikelgrößen am Beispiel von Var1 und Var3 (10 und 15%ige Fettemulsion unter Zusatz von 5% Eilecithin).....	237
5.4.2.3.1	90-110 nm.....	237
5.4.2.3.2	Resümee und weitere Vorgehensweise	240
5.4.2.3.3	130 nm.....	240
5.4.2.3.4	Var1: 270 nm	243
5.4.3	Zusammenfassende Diskussion	244
5.5	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	246
6	EINARBEITUNG VON OMEPRAZOL IN PARENTERALE FETTEMULSIONEN	248
6.1	Löslichkeiten und chemische Stabilität in Ölen.....	248
6.2	Rezepturen	249
6.3	Herstellung.....	250
6.4	Physikalische Stabilität	251
6.5	Mikroskopische Analyse	256
6.6	Bestimmung des Wirkstoffgehalts	257
6.7	Zusammenfassung.....	259
7	ZUSAMMENFASSUNG DER ARBEIT	260
8	SUMMARY	264
9	LITERATURVERZEICHNIS	268
10	ANHANG.....	287
10.1	Verwendete Abkürzungen.....	287
10.2	Liefernachweis weiterer Geräte und Materialien.....	288
11	PUBLIKATIONEN UND KONGRESSBEITRÄGE	289
12	DANKSAGUNG.....	291
13	LEBENS LAUF.....	292