

6 Halbfeste Lipiddispersionen

Hochkonzentrierte Nanopartikeldispersionen wurden zuerst von Lippacher beschrieben [16, 19]. Unter Verwendung von Cetylpalmitat (SLN) und binären Cetylpalmitat / Hexyllaurat-Mischungen (NLC) war es ihm möglich, halbfeste, langzeitstabile Formulierungen mit einem Lipidgehalt >30 % herzustellen. In diesen Formulierungen blieb der individuelle Charakter der Partikel erhalten, eine Redispersierung in Wasser war leicht möglich. Es gelang ihm darüber hinaus, die Reduzierung der Spinsonde TEMPO durch Einarbeitung in die Ölphase von 30 %igen NLC gegenüber einer vergleichbaren Nanoemulsion oder SLN-Formulierung zu verlangsamen. Von einer Lokalisation der Ölphase einschließlich darin gelöster Sonde im Partikelinneren konnte folglich ausgegangen werden.

Eine starke Steigerung der Okklusivität von SLN-Dispersionen konnte Wissing durch Erhöhung des Lipidanteils auf >30 % erzielen [55, 174]. Die Untersuchungen wurden hier ebenfalls mit Cetylpalmitat durchgeführt.

Auf Basis des Wachses Cetylpalmitat konnten in der Vergangenheit bereits mehrfach besonders stabile Formulierungen erhalten werden, da dieses im Verlauf der Lagerung keinerlei Polymorphie erfährt. Diesem Vorteil steht jedoch eine geringe Beladungskapazität mit Fremdmolekülen gegenüber. Sie beruht auf dem homogenen Aufbau dieses Fettes mit wenig Fehlstellen im Kristallgitter.

Im Rahmen dieser Arbeit sollten folgende Fragestellungen beantwortet werden:

- 1.) Können auch unter Verwendung komplex zusammengesetzter Glycerid-Gemische wie Imwitor oder Compritol hochkonzentrierte, halbfeste SLN- oder NLC-Systeme erzeugt werden?
- 2.) Zeigen diese Systeme eine im Vergleich zur flüssigen Dispersion höhere Stabilität in Bezug auf Partikelgröße und Kristallstatus?
- 3.) Kann durch Steigerung der Lipidkonzentration ein Auskristallisieren des Wirkstoffs Cyclosporin A in den resultierenden halbfesten Systemen verhindert werden?
- 4.) Führt die Einarbeitung einer flüssigen Lipidphase auch bei halbfesten NLC-Systemen zu einer Erhöhung der Beladungskapazität?
- 5.) Welches Trocknungsverhalten und Freisetzungsprofil zeigen die untersuchten Systeme?

6.1 Halbfeste SLN-Dispersionen: Formulierungen mit einem Gehalt $\geq 30\%$ Imwitor oder Compritol

Die meisten Untersuchungen wurden unter Verwendung von Imwitor 900 als festes Lipid durchgeführt. Mit seiner besonders heterogenen Zusammensetzung aus Mono-, Di- und Triglyceriden und Fettsäuren unterschiedlicher Kettenlänge, seiner starken Polymorphie und hohen Beladbarkeit zeigte es die gewünschten Eigenschaften. Um den direkten Vergleich mit den unter Kapitel 6.2 beschriebenen NLC zu ermöglichen, wurde jedoch auch eine 40 %ige Compritol-Charge hergestellt.

6.1.1 Charakterisierung reiner Lipiddispersionen

In einem ersten Screening mit Imwitor 900 wurden die in Tabelle 6-1 genannten Rezepturen untersucht. Alle Formulierungen wurden mittels Heißhomogenisation an einem Micron LAB 40 in einer Chargengröße von 40 mL hergestellt. Neben den eingesetzten Tensiden wurden die Herstellungstemperatur, die Zyklenzahl und der Lipidgehalt variiert.

Tabelle 6-1: Zusammensetzung der hergestellten, arzneistofffreien Imwitor-SLN mit einem Lipidgehalt von $\geq 35\%$. Wenn nicht anders angegeben galten Standard-Herstellungsbedingungen: 500 bar, 3 Zyklen, 85 °C; die Lipidkonzentration lag bei 40 % und wurde nur bei den Zuckeresterchargen (Sucr.) variiert

	Tween 1	Tween 2	Tween 3	Tween 4
Imwitor 900	16,0 g	16,0 g	16,0 g	16,0 g
Tween 80	2,0 g	2,0 g	2,0 g	2,0 g
SDS	-	0,1	0,2 g	0,4 g
Aqua Milli Q	ad 40 g	ad 40 g	ad 40 g	ad 40 g

	Sucr. 1 40 %	Sucr. 2 35 %	Sucr. 3 °95 °C	Sucr. 4 °5 Zyk./95 °C	Sucr. 5 700 bar/95 °C
Imwitor 900	16,0 g	14,0 g	16,0 g	16,0 g	16,0 g
Sacharosestearat S1670	2,0 g	2,0 g	2,0 g	2,0 g	2,0 g
SDS	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g
Aqua Milli Q	ad 40 g	ad 40 g	ad 40 g	ad 40 g	ad 40 g

6.1.1.1 Makroskopische und mikroskopische Beobachtungen, Partikelgröße

Bei Sacharosestearat S1670 handelt es sich um einen auch von Lippacher als Tensid eingesetzten Zuckerester mit guter Hautverträglichkeit. Als nachteilig erwies sich jedoch die hohe Viskosität dessen wässriger, 5 %iger Lösung. Wurde diese zu schnell erwärmt, kam es zur Gelierung des Systems. Die ebenfalls erhöhte Viskosität der nach Dispergierung des geschmolzenen Lipids erhaltenen Präemulsion erschwerte deren quantitative Überführung in den Probenbehälter des Homogenisators. Aus diesem Grund wurden zum Vergleich einige Formulierungen unter Verwendung von Tween 80 hergestellt. Alle hergestellten Imwitor-Formulierungen wiesen ein sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch homogenes Erscheinungsbild auf.

Die Produktion von 40 %igen Partikeldispersionen mit dem erst bei $>70\text{ °C}$ schmelzenden Compritol erwies sich dagegen besonders bei Stabilisierung mit Sacharosestearat als schwierig. Die hochviskose Emulsion erstarrte zu einem großen Prozentsatz an den nicht beheizbaren Teilen des Homogenisators. Hier konnten mit Tego Care 450 5 % die besten Ergebnisse erzielt werden.

Alle Formulierungen bildeten nach Abkühlung auf Raumtemperatur halbfeste Systeme unterschiedlicher Festigkeit aus.

Als problematisch bei der Größenbestimmung der Partikel erwies sich die schlechte Redispergierbarkeit vor allem der Zuckerester-stabilisierten Chargen. Während die mikroskopischen Untersuchungen homogene Verteilungen im Nanometer- und kleineren Mikrometerbereich erwarten ließen, erhielt man durch LD Messungen der dispergierten Proben in Wasser jedoch deutlich schlechtere Werte (Abbildung 6-1).

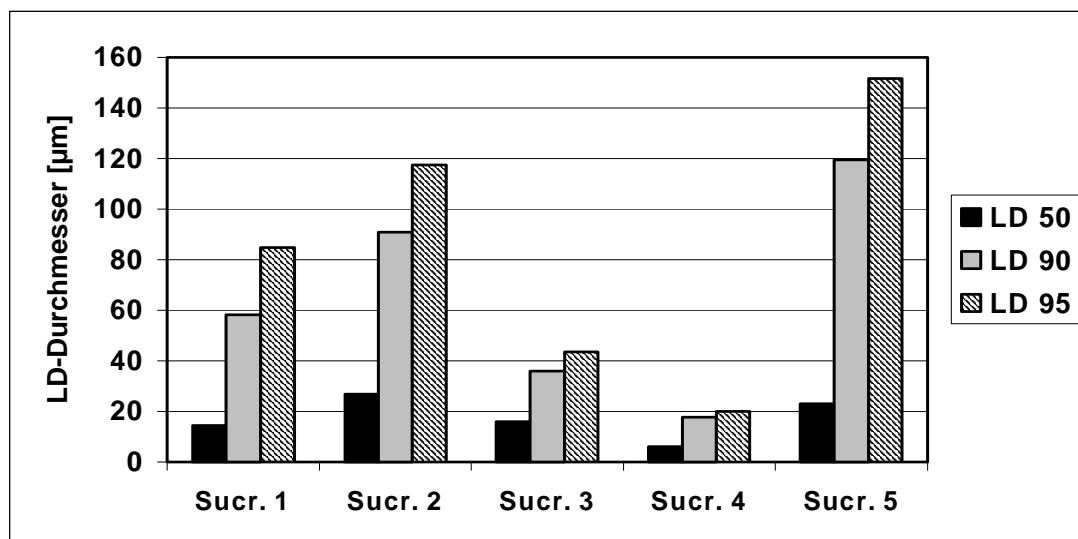


Abbildung 6-1: Partikelgrößen (LD) der hergestellten Sacharoseester-stabilisierten Formulierungen nach Vordispergierung in Wasser (Tag 1 nach Herstellung)

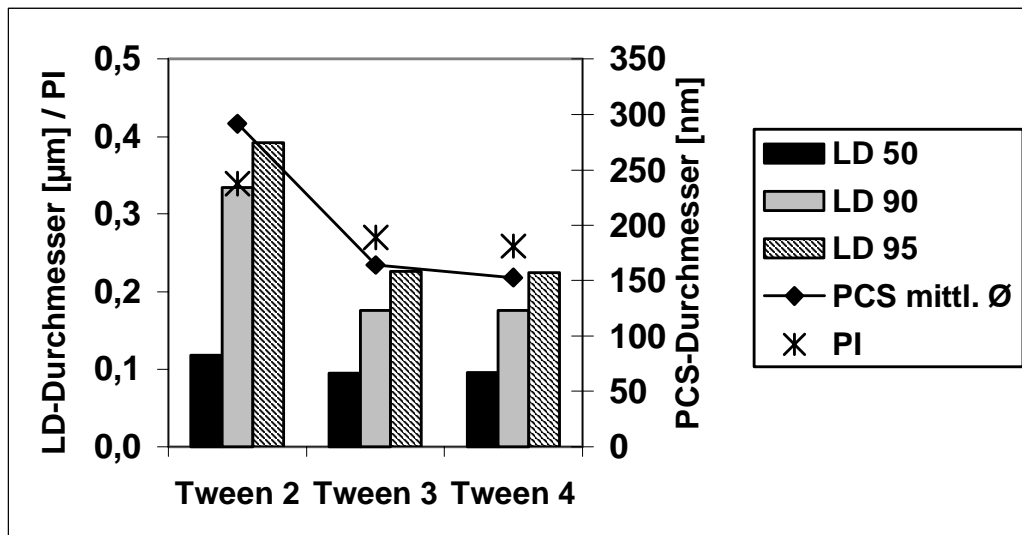


Abbildung 6-2: Ergebnisse der Partikelgrößenanalytik (LD und PCS) von drei 40 %igen Imwitor-Formulierungen stabilisiert mit Tween 80 und einem ansteigendem zusätzlichen Gehalt von SDS (Tag 1 nach Herstellung)

Auch die Charge Tween1 ohne Zusatz des ionogenen Stabilisators SDS konnte nur unvollständig redispergiert werden. Zusätzlich wies sie im mikroskopischen Bild die größten Partikel von bis zu 10 μm auf. Die Chargen Tween 2 - 4 zeigten dagegen nach kurzer Redispergierung in Wasser LD-Partikelgrößen, die ausschließlich im unteren Nanometerbereich angesiedelt waren. Auch eine Vermessung mittels PCS war anschließend problemlos möglich (Abbildung 6-2). Während die Erhöhung des SDS-Gehaltes von 0,25 % auf 0,5 % zu einer fast 50 %igen Reduktion des PCS-Durchmessers führte, ergab die weitere Verdopplung der Konzentration keinen zusätzlichen Vorteil.

Um die tatsächliche Größe der mit Sacharosestearat stabilisierten Partikel zu ermitteln, wurde zunächst untersucht, ob ein Zusatz von SDS zum Dispersionsmedium Wasser die Redispergierung fördert. Dazu wurde die Probe Sucr.1 in einem Becherglas mit 15 mL 0,5 %iger SDS Lösung versetzt und mittels Magnetrührer dispergiert. LD-Messungen dieser Probe ergaben, daß in Abhängigkeit von der Dispergierzeit und der Dispergierintensität der im Nanometerbereich lokalisierte Peak an Größe zunahm. Nach ca. einer Stunde entsprachen die gemessenen Werte den Ergebnissen der mikroskopischen Größeneinschätzung.

Auch wenn mittels Lichtmikroskopie selbst bei maximaler Vergrößerung (1000fach) eine Größenbestimmung im unteren Nanometerbereich nicht möglich ist, können Partikel $>1 \mu\text{m}$ mit dieser Methode einfach und schnell erfaßt werden.

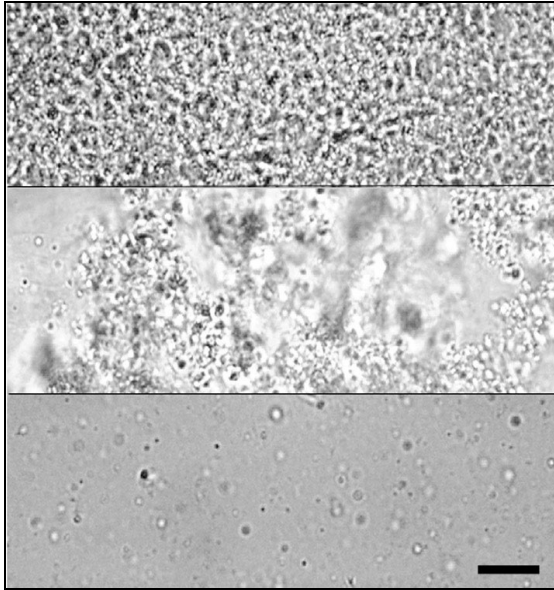


Abbildung 6-3:
Mikroskopische Abbildungen der Probe Sucr.1 nach Herstellung (oben), nach Redispergierung in Wasser (Mitte) und nach einstündiger Redispergierung in 0,5 %iger SDS-Lösung (unten), (Balken = 10µm)

Es kann demzufolge ausgeschlossen werden, daß vor der beschriebenen Redispergierung der Probe Partikel im größeren Mikrometerbereich vorhanden waren, die allein durch den Energieeintrag während des Rührprozesses zerkleinert wurden. Die mikroskopischen Abbildungen des Redispergierungsprozesses der Probe Sucr.1 in Abbildung 6-3 belegen, daß es sich bei den mit bis >80 µm bestimmten Partikelgrößen in Wasser um aggregierte Partikelgruppen handelte (Mitte), deren Partikel nach Dispergierung in SDS-Lösung individuell vorlagen und erfaßt werden konnten. Die mittels PCS und LD nach derartiger Probenaufbereitung erhaltenen Werte in Abbildung 6-4 können somit als real angesehen werden.

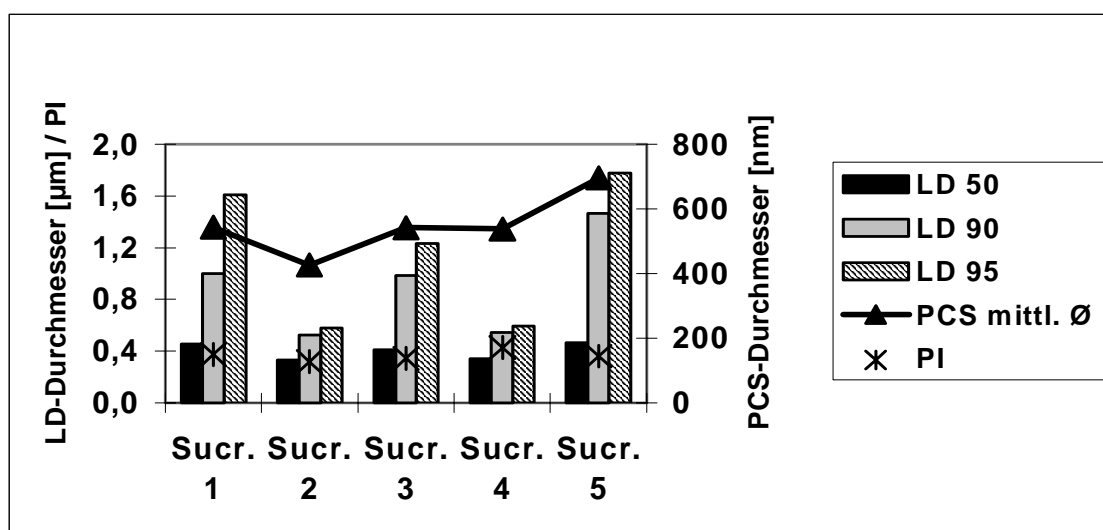


Abbildung 6-4: Ergebnisse der Partikelgrößenanalytik (LD und PCS) der hochkonzentrierten Imwitor-Formulierungen stabilisiert mit Sacharosestearat und SDS nach Redispergierung in 0,5 %iger SDS-Lösung über eine Stunde (Tag 1 nach Herstellung)

Eine Vergleich der auf diese Weise erhaltenen Größendaten der fünf hergestellten Sacharoseester-Chargen in Abbildung 6-4 führte zu folgenden Ergebnissen:

- Die Partikelgrößen aller Formulierungen lagen hauptsächlich im Nanometerbereich ($LD_{95} < 2 \mu\text{m}$).
- Reduktion des Lipidgehalts von 40 % auf 35 % führte zu einer deutlichen Absenkung des Partikeldurchmessers (Sucr.1 und 2).
- Erhöhung der Produktionstemperatur führte zu einer geringfügigen (Sucr.3) und Erhöhung der Zyklenzahl (Sucr.4) zu einer starken Absenkung der Partikelgröße. Der Verlust war nach 5 Zyklen jedoch erheblich größer.
- Erhöhung des Produktionsdrucks auf 700 bar führte zu einem schlechteren Ergebnis (Sucr.5).

Ein großer Nachteil aller Chargen war ihre mangelhafte Reproduzierbarkeit. Da der eingesetzte Homogenisator nur unvollständig beheizbar war, konnte während der Herstellung auch bei Verwendung von Imwitor 900 eine Abscheidung des Lipids an den kälteren Teilen des Auffangbehälters nicht vollständig vermieden werden. Ein erneutes Aufheizen mehr oder weniger großer Anteile vorzeitig kristallisierter Probe wirkte sich sowohl auf die Größe als auch auf die Kristallstruktur der Partikel aus (s. Kapitel 6.1.3.2). Besonders stark waren die Differenzen daher bei einer Herstellungstemperatur von nur 85 °C.

Die mit Tween 80 / SDS erhaltenen Formulierungen zeigten neben ihrem besseren Redispersierungsvermögen sämtlich einen im Vergleich wesentlich kleineren Partikeldurchmesser.

Die hergestellte 40 %ige Compritol-Charge (stabilisiert mit Tego Care 450 5 %) ließ sich selbst durch zweistündiges Rühren in 0,5 %iger SDS-Lösung nicht vollständig redispersieren. Der im Nanometerbereich lokalisierte Peak nahm jedoch konstant an Größe zu. Durch mikroskopische Analyse konnten nur vereinzelt Partikel bis zu einer Größe von 10 μm detektiert werden. Die Formulierung war nach Abkühlen von festerer Konsistenz als die vergleichbaren Imwitor-Rezepturen.

6.1.1.2 Thermoanalyse und Untersuchung der Kristallstruktur

Die gewonnenen Erkenntnisse hinsichtlich Produzierbarkeit und Partikelgröße ließen die Verwendung der Tensidkombination Tween 80 / SDS vorteilhaft erscheinen. Bereits nach wenigen Tagen zeigten die auf diese Weise stabilisierten Formulierungen jedoch mikroskopisch sichtbare Aggregate, die bei den Zuckerester-Chargen zunächst nicht auftraten. Aufschluß darüber sollte eine Untersuchung der Kristallstruktur liefern.

Tabelle 6-2: Thermoanalytische Parameter der Aufheizkurven hochkonzentrierter Imwitor-Chargen an Tag 1 nach Herstellung

	Onset [°C]	Peakmax. [°C]	Peakweite [°C]	Enthalpie [J/g]	Kristallinität [%]
Imwitor 2. Aufheizen	53,9	59,1		121,0	100
Tween 1 (kein SDS)	57,6	(60,3) 61,3	4,2	52,1	107,6
Tween 2 (0,25 % SDS)	56,0	59,6	3,2	37,4	77,3
Sucr. 1	58,5	60,3	1,8	43,0	88,8
Sucr. 2 (35 %)	57,9	59,9	2,2	37,6	88,8
Sucr. 3 (95 °C, 3 Zykl.)	58,5	59,8	1,5	46,4	95,0
Sucr. 4 (95 °C, 5 Zykl.)	58,6	60,1	1,9	47,7	98,6

Die in Tabelle 6-2 wiedergegebenen thermoanalytischen Daten sowie die in Abbildung 6-5 dargestellten Röntgendiffraktogramme belegen eindrucksvoll den großen Einfluß des Co-Tensids SDS auf die Kristallinität der Partikel. Besonders in Verbindung mit Tween 80 führte es zu einer starken Abnahme der Gesamtkristallinität. Die Schmelzenthalpie fiel bei einem 0,25 %igen Zusatz von 52,1 J/g auf 37,4 J/g, das Peakmaximum sank um ca. 1,5 °C. Im Röntgendiffraktogramm waren im Weitwinkelbereich kaum noch Reflexe erkennbar (Abbildung 6-5, unten).

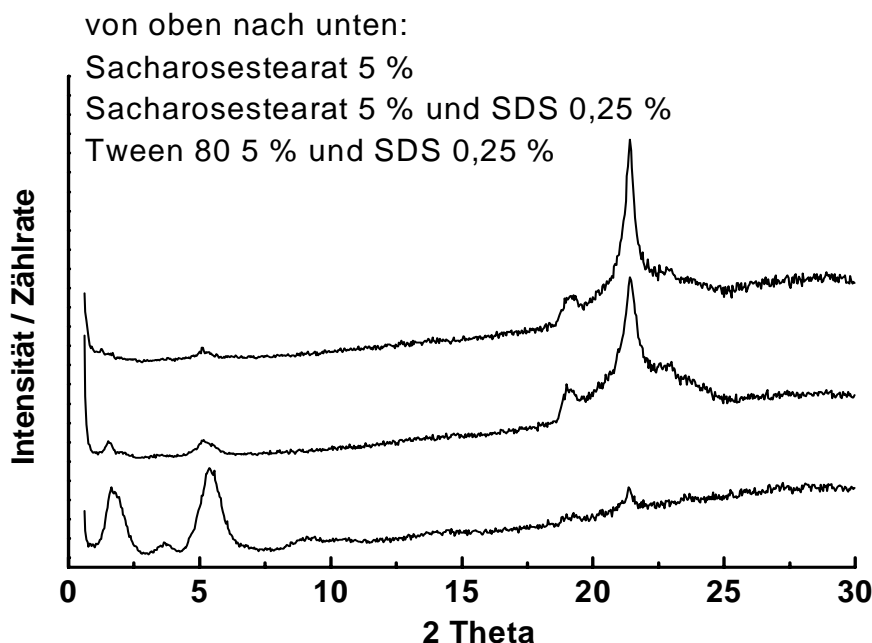


Abbildung 6-5: RöntgenstreuKurven von drei 40 %igen Imwitor-SLN-Formulierungen stabilisiert mit unterschiedlichen Tensiden / Tensidkombinationen

Die Abnahme der Seitenkettenkristallinität ging jedoch mit einer Zunahme der Reflexe im SAXS-Bereich einher. Dieses Verhalten gleicht dem der 20 %igen, Tagat / Natriumcholat stabilisierten Systeme nach Wasserentzug oder Tempern bei 40 °C (vgl. Abbildung 4-10 und Abbildung 4-17). Auch hier scheint es sich folglich um größere, ausgeprägt lamellare Strukturen mit hoher Beweglichkeit der Fettsäureseitenketten zu handeln. Ein direkter Kontakt der Partikel durch Aggregation, Gelbildung oder - wie in diesem Fall – Erhöhung des Lipidanteils ist für deren Ausbildung notwendig.

Bei Verwendung des Saccharoseesters kam es dagegen bei Zusatz von SDS zu keiner ausgeprägten Abnahme der Kristallinität. Produktion bei 95 °C ergab einen Kristallinitätsindex von >90 % bezogen auf das reine Lipid. Die Reflexe im Weitwinkelbereich waren deutlich erkennbar, im Nahwinkelbereich konnten sie dagegen kaum detektiert werden (Abbildung 6-5, oben und Mitte). Als vorherrschende Modifikation konnte die hexagonale α -Modifikation ausgemacht werden, geringe Anteile der β_i -Modifikation waren ebenfalls erkennbar.

Aufgrund des besseren Signal-Rausch-Verhältnisses der Probe kann hier darüber hinaus die Aussage getroffen werden, daß ein Teil der Lipide in amorphem Zustand vorlag. Die Peaks im Weitwinkelbereich gehen nicht von der Grundlinie sondern von der Basis eines amorphen HALO aus. Auch die Streumuster der geringer konzentrierten Imwitor-Chargen deuteten bereits auf einen gewissen amorphen Anteil hin, die Reflexintensität war hier jedoch zu schwach, um genauere Aussagen zu treffen.

Unter Berücksichtigung der Kristallinität erwies sich folglich die Kombination Zuckerester / SDS als besser geeignet, da einerseits Partikel hoher Kristallinität gebildet werden sollten und andererseits die Möglichkeit einer eindeutigen Zuordnung des kristallinen Status angestrebt wurde. Dazu müssen die Fettsäureseitenketten einen definierten Ordnungsgrad aufweisen. Die schnelle Aggregation der Tween 80 stabilisierten Chargen mit Auftreten doppelbrechender Strukturen unter polarisiertem Licht verdeutlicht darüber hinaus den instabilen Zustand der gebildeten Systeme.

Die Compritol / Tego Care-Formulierung zeigte die für Compritol charakteristische β' -Modifikation. Die Schmelzkurve der Formulierung war der zweiten Aufheizkurve des Bulkmaterials fast identisch. Das Peakmaximum konnte mit 72,1 °C, der Onset mit 69,9 °C ermittelt werden (gegenüber 72,4 °C und 69,6 °C). Die Schmelzenthalpie betrug 51,6 J / g, bezogen auf die Bulkware entsprach dieser Wert einer Kristallinität von 98,5 %.

6.1.2 Langzeitstabilität arzneistofffreier Systeme

Da der Verlust bei Produktion mit 5 Zyklen besonders ausgeprägt war, wurde im Folgenden trotz leichten Defiziten bezüglich der Partikelgröße mit 3 Zyklen und 95 °C Produktionstemperatur gearbeitet (Charge Sucr.3). Die Formulierung wurde direkt nach der Herstellung in drei 10 g Metalltuben abgefüllt und bei Raumtemperatur (RT), 4 °C und 40 °C gelagert. Nach 18 Monaten wurde der Kristallstatus erneut untersucht, die Resultate finden sich in Abbildung 6-6 und Tabelle 6-3.

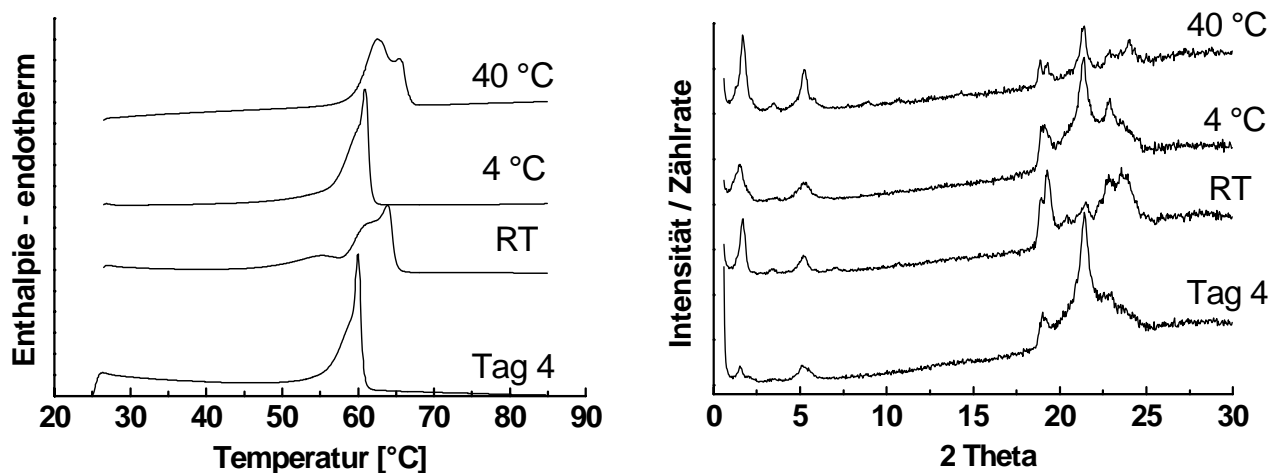


Abbildung 6-6: DSC-Schmelzkurven (links) und Röntgenstreumuster (rechts) der über 18 Monate bei verschiedenen Temperaturen gelagerten 40 %igen Imwitor-Charge Sucr.3 im Vergleich zu den an Tag 4 nach Herstellung erhaltenen Kurven

Tabelle 6-3: Thermoanalytische Parameter der DSC-Schmelzkurven einer über 18 Monate bei verschiedenen Temperaturen gelagerten 40 %igen Imwitor-Charge (Sucr.3) im Vergleich zu den an Tag 1 nach Herstellung erhaltenen Werten sowie zu den Werten der Bulkware

	Onset [°C]	Peakmax. [°C]	Peakweite [°C]	Enthalpie [J/g]
Imwitor 1. Aufheizen	57,2	61,1	4,0	161,0
Imwitor 2. Aufheizen	53,9	59,1	5,3	121,0
Tag 1	58,5	59,8	1,5	46,4
18 Monate 4 °C	58,9	60,6	2,5	56,5
18 Monate RT	59,3	(55,2) 63,7	4,8	58,8
18 Monate 40 °C	59,2	62,2 (65,2)	5,3	51,2

Es wird deutlich, daß auch in den hochkonzentrierten, halbfesten Systemen polymorphe Transformationen nicht vollständig zu verhindern sind. Während jedoch die Umwandlung in den 20 %igen Imwitor-Formulierungen auch bei gekühlter Lagerung nach einem Jahr deutlich ausgeprägt war, ist sie im 40 %igen System nach 18 Monaten erst zu einem geringen Teil erfolgt. Im Unterschied zu der bei Raumtemperatur gelagerten Probe mit eindeutiger β -Modifikation ist der α -Reflex im Verhältnis zu den an Intensität gewinnenden β -Reflexen noch am stärksten ausgebildet.

Die geringe Verschiebung der Parameter Onset und Peakmaximum der DSC-Schmelzkurve belegen die Ergebnisse der Röntgendiffraktometrie. Sowohl die bei Raumtemperatur als auch die bei 40 °C gelagerte Probe zeigten eine Aufspaltung des Schmelzpeaks. Das höhere Maximum lag dabei deutlich über dem der Bulkware. Diese liegt hauptsächlich in β_1 -Modifikation vor. Während langfristiger Lagerung der Probe kam es folglich auch in den hochkonzentrierten Chargen zu einer Aufspaltung des komplexen Lipidgemisches in einen hochkristallinen β -Anteil und einen Bereich geringeren Ordnungsgrades. Eine Struktur analog Abbildung 4-21 ist anzunehmen.

Lagerung der Compritol-Charge bei RT und 40° führte zu einer starken Verfestigung der Proben, die Streichfähigkeit ging dabei verloren. Diese Verfestigung ging einher mit einer deutlichen Erhöhung des Ordnungsgrades im Kristallgitter (Abbildung 6-7).

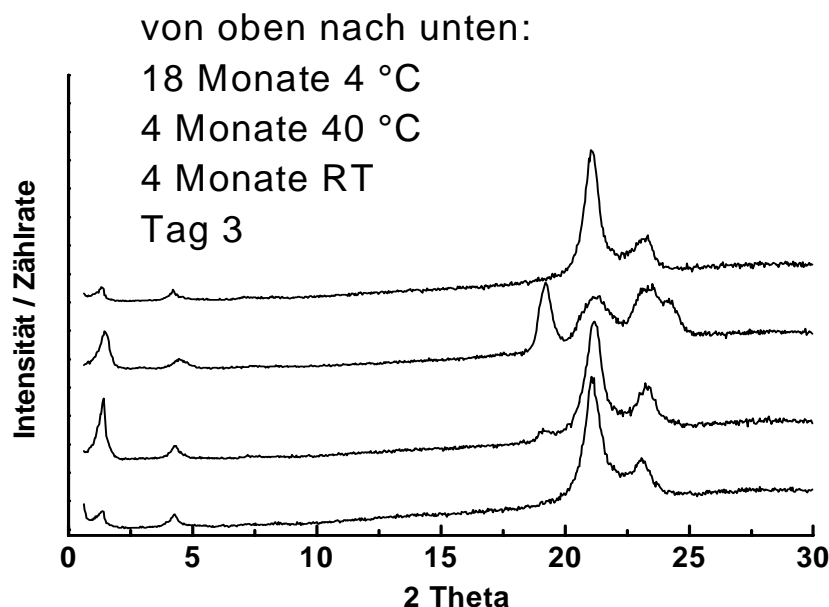


Abbildung 6-7: Röntgenstreuungsmuster der über 4 bzw. 18 Monate bei verschiedenen Temperaturen gelagerten 40 %igen Compritol-Charge im Vergleich zu der an Tag 3 nach Herstellung erhaltenen Kurve

Bereits nach 4 Monaten Tempern bei 40 °C lagen die Glycerolbehenate hauptsächlich in der triklinen β_r -Modifikation vor, die Langperiode nahm dabei von 65 Å auf 61,4 Å ab. Während dieser Prozeß bei Raumtemperatur erst nach 18 Monaten eingetreten war, veränderte sich die Kristallstruktur bei gekühlter Lagerung auch über diesen Zeitraum nicht. Dies belegt wiederum die größere Lagerstabilität des homogeneren Lipids Compritol gegenüber Imwitor.

6.1.3 Charakterisierung nach Arzneistoffinkorporation

Die Beladung der beschriebenen, halbfesten Dispersionen mit dem Arzneistoff Cyclosporin A wurde mit 10 % bezogen auf die Lipidfraktion durchgeführt. Das entsprach einer Gesamtkonzentration in der Formulierung von 4 %.

6.1.3.1 Makroskopische und mikroskopische Beobachtungen, Partikelgröße

Im ersten Schritt wurden auch für die beladenen Imwitor-Formulierungen die unterschiedlichen Tenside und Tensidkombinationen hinsichtlich ihres Einflusses auf Größe und Kristallstruktur der Partikel geprüft. Die Ergebnisse entsprachen weitestgehend denjenigen der arzneistofffreien Proben. Während die Chargen bei alleiniger Stabilisierung mit 5 % Tween 80 oder Sacharosestearat aufgrund der hohen Viskosität nur schwer zu verarbeiten waren und inhomogene Partikelgrößenverteilungen resultierten, konnten die Ergebnisse durch einen Zusatz von 0,25 % SDS erheblich verbessert werden. Die Redispersierbarkeit der Tween / SDS-Charge war in Wasser sehr gut, bei Stabilisierung auf Basis des Zuckeresters mußte erneut eine Vordispersierung in 0,5 %iger SDS-Lösung durchgeführt werden, um eine Bestimmung der Partikelgröße zu ermöglichen. Abbildung 6-8 zeigt die LD-Partikelgrößenverteilungen der Zuckerester / SDS-Probe nach Vordispersierung in Wasser oder SDS-Lösung direkt nach der Herstellung. Das mikroskopische Bild der Probe bestätigte in etwa das Ergebnis der SDS-Verteilung. Es waren jedoch im Gegensatz zum Ergebnis der LD-Messung nur vereinzelt Partikel im unteren Mikrometerbereich zu erkennen. Eventuell handelt es sich bei einem Teil der ca. 2 µm großen Partikel der bimodalen Verteilungskurve noch immer um kleinere Aggregate. Cyclosporin-Kristalle konnten mikroskopisch nicht detektiert werden.

Die Reproduzierbarkeit der Herstellung war auch bei den wirkstoffhaltigen Proben aus bereits genannten Gründen mangelhaft. Während der LD 50 Durchmesser von Charge 2 nach Vordispersierung mit 0,27 µm bestimmt wurde, betrug er bei Charge 1 1,2 µm. Auch der Kristallstatus der Chargen wies deutliche Unterschiede auf (s. Kapitel 6.1.3.2).

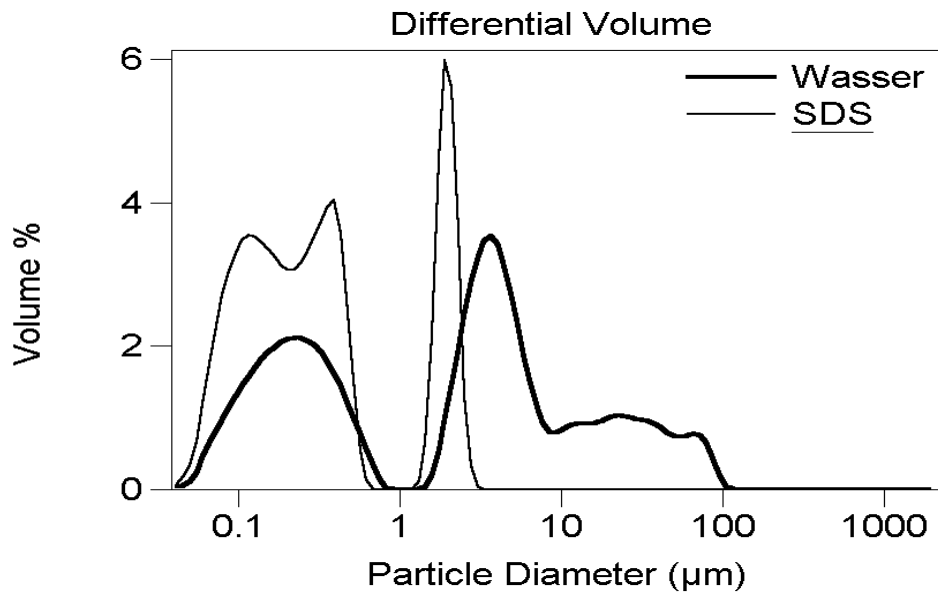


Abbildung 6-8: LD-Partikelgrößenverteilung einer 40 %igen Cyclosporin-Imwitor-Formulierung stabilisiert mit Sacharoseester 5 % und SDS 0,25 % nach Vordispersierung in Wasser (dicke Linie) oder 0,5 %iger SDS-Lösung (dünne Linie) direkt nach Herstellung

Die Stabilisierung wirkstoffhaltiger Compritol-Chargen erfolgte analog den Placebo-Formulierungen mit Tego Care 450 (5 %). Eine vollständige Redispersierung konnte auch hier nicht erreicht werden, das mikroskopische Bild ergab jedoch eine homogene Verteilung im Nanometer- und unteren Mikrometerbereich. Cyclosporin-Kristalle konnten nicht detektiert werden. Aufgrund der hohen Festigkeit der 40 %igen Probe wurde zusätzlich mit einer 30 %igen Formulierung gearbeitet. Die Arzneistoffbeladung betrug jeweils 10 % bezogen auf den Lipidanteil.

6.1.3.2 Thermoanalyse und Untersuchung der Kristallstruktur

Der Einfluß der gewählten Partikelstabilisation auf den Kristallstatus der Imwitor-Formulierungen ist in den Röntgenstreu Kurven deutlich zu erkennen (Abbildung 6-9). Tween 80 führte - wie auch bei den wirkstofffreien Proben - zur Ausbildung einer β_1 -Modifikation, bei Zusatz von SDS nahm die Seitenkettenkristallinität stark ab, die Schmelzenthalpie sank entsprechend um ein Drittel von 47 J/g auf 31 J/g. Die bereits diskutierte mangelnde Reproduzierbarkeit der Sacharoseester / SDS-Charge zeigte sich auch in der ausgebildeten Kristallstruktur. Die festere und inhomogenere Charge 1 wies bereits einen Übergang zur β_1 -Modifikation auf, Charge 2 lag dagegen hauptsächlich als α -Polymorph vor.

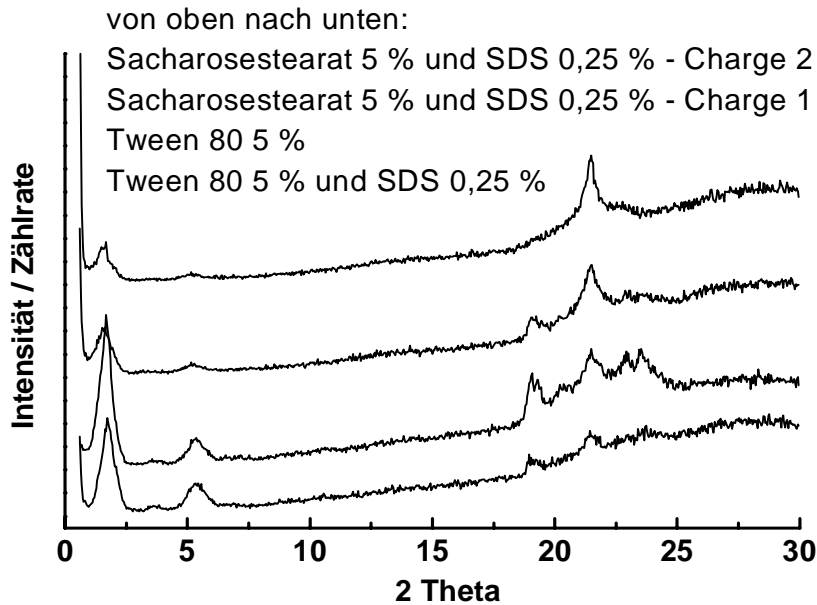


Abbildung 6-9: Röntgendiffraktogramme unterschiedlich stabilisierter Cyclosporin A-haltiger Imwitor-SLN mit einem Lipidanteil von 40 % an Tag 1 nach Herstellung. Charge 1 und 2 sind identisch zusammengesetzt

Alle mit Compritol hergestellten Proben lagen nach der Herstellung in deutlicher β' -Modifikation vergleichbar der Bulkware vor. Die Einarbeitung des Arzneistoffs hatte darüber hinaus nur einen geringen Einfluß auf die thermoanalytischen Parameter der Schmelzkurven (Tabelle 6-4). Der Schmelzpeak der beladenen Formulierungen weist jedoch ein weiteres, breites Maximum bei ca. 69 °C auf. Dies könnte auf die Ausbildung cyclosporinreicher Partikelareale mit niedrigerem Schmelzpunkt neben wirkstofffreien Lipidbereichen höherer Kristallordnung hindeuten. Die Gesamtkristallinität der Compritol-Partikel lag im Vergleich zu den auf Imwitor basierenden wesentlich höher.

Tabelle 6-4: Vergleich der DSC-Kennzahlen des Schmelzverhaltens von hochkonzentrierten Compritol-SLN stabilisiert mit 5 % Tego Care mit oder ohne Cyclosporin A-Beladung. Die Kristallinität wurde auf die 2. Aufheizkurve des Bulkmaterials bezogen.

	Onset [°C]	Peakmax. [°C]	Peakweite [°C]	Enthalpie [J/g]	Kristallinität [%]
40 % - Placebo	69,9	72,1	4,3	51,6	98,5
40 % - Cyclosporin	69,2	(69,1) 72,3	6,7	42,5	89,5
30 % - Cyclosporin	68,9	(68,9) 71,2	5,4	33,2	93,8

6.1.4 Langzeitstabilität – Partikelgröße

Der in Abbildung 6-10 dargestellte Partikelgrößenvergleich zwischen Tag 1 und den für 4 Wochen bei Raumtemperatur gelagerten Zuckerester-Chargen belegt eindeutig, daß durch Erhöhung der Lipidkonzentration und die damit verbundene Immobilisierung der Partikel für die gewählte Formulierung kein Stabilitätsvorteil gegenüber der flüssigen Dispersion gewonnen werden konnte. Auch im Mikroskop waren große, doppelbrechende Aggregate erkennbar (Abbildung 6-11).

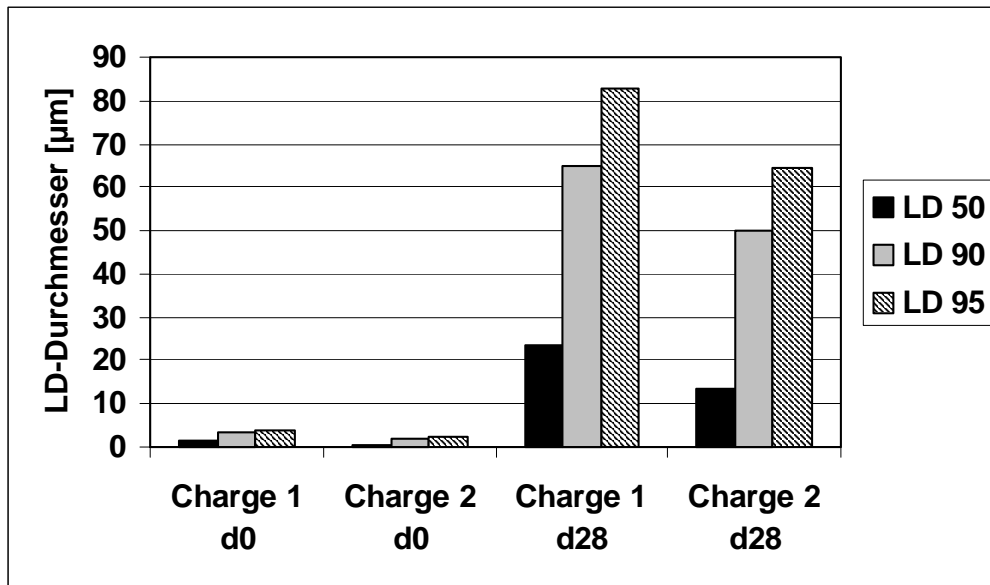


Abbildung 6-10: Vergleich der LD-Partikelgrößen LD 50, LD 90 und LD 95 einer 40 %igen Cyclosporin-Imwitor-Formulierung (2 Chargen) stabilisiert mit Sacharosestearat 5 % und SDS 0,25 % nach Vordispersierung in 0,5 %iger SDS-Lösung an Tag 1 und nach 4 Wochen Lagerung bei Raumtemperatur

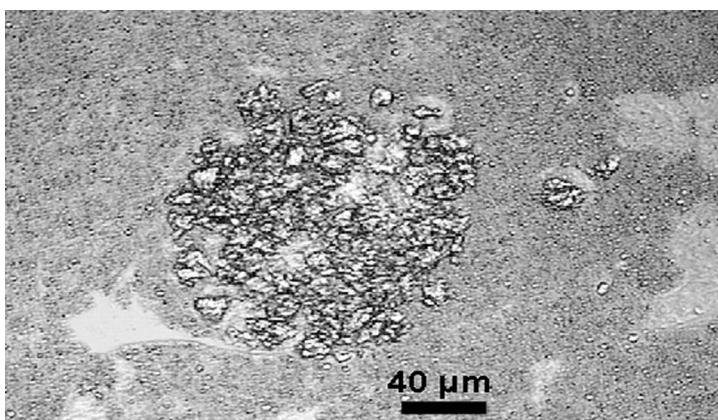


Abbildung 6-11: 40 %ige Cyclosporin-Imwitor-Formulierung stabilisiert mit Sacharosestearat 5 % und SDS 0,25 % nach 28 Tagen Lagerung bei Raumtemperatur (Vergrößerung 160fach)

Das Auftreten von Aggregaten stellt jedoch nicht notwendigerweise die Eignung der Systeme für die topische Applikation in Frage, wenn keine direkte Kopplung mit dem Auskristallisieren von Arzneistoff zu verzeichnen ist. Die Streichfähigkeit blieb in allen Imwitor-Formulierungen erhalten, die Aggregate waren bei Applikation nicht spürbar. Die Stabilität der Compritol-Chargen war analog der flüssigen Formulierungen auch bei den halbfesten Systemen gegenüber Imwitor erhöht. Nach vier Wochen konnten keine Aggregate detektiert werden.

In welchem Ausmaß die geringe Größenstabilität mit Veränderungen von Kristallstruktur und Arzneistoffkristallisation korrelierten, wird im folgenden Kapitel diskutiert.

6.1.5 Einfluß der Lagertemperatur auf Kristallstruktur und Arzneistoffausschluß

Auch in Bezug auf den Kristallstatus der Partikel konnte durch Erhöhung der Lipidkonzentration keine wesentliche Verbesserung der Stabilität erzielt werden. Das Verhalten der Formulierungen ähnelte dem der arzneistofffreien Dispersionen. Polymorphe Transformationen in Richtung einer höheren Ordnung wurden durch eine steigende Lagertemperatur beschleunigt.

Tempern der Imwitor-Formulierungen bei 40 °C führte wiederum zum Auftreten flüssigkristalliner Teilstrukturen, die mikroskopisch besonders den aggregierten Partikelbereichen zugeordnet werden konnten. Im Unterschied zu den flüssigen SLN-Formulierungen wurde diese Erscheinung zusätzlich bei Raumtemperatur-Lagerung beobachtet (Abbildung 6-12). Da Doppelbrechung erst ab einer gewissen Strukturgröße beobachtet werden kann, ist das verstärkte Auftreten in den hochkonzentrierten Proben erklärlich. Ein hoher Anteil an Monoglyceriden war darüber hinaus notwendig, da in Compritol-Formulierungen keine flüssigkristallinen Bereiche detektiert werden konnten.

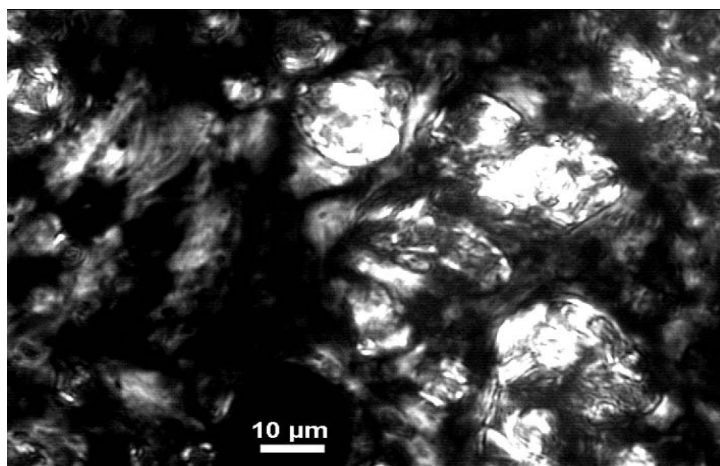


Abbildung 6-12:
40 %ige Cyclosporin-Imwitor-Formulierung stabilisiert mit Sacharosestearat 5 % und SDS 0,25 % nach 6 Monaten Lagerung bei Raumtemperatur betrachtet unter polarisiertem Licht (Vergrößerung 1000fach)

Das Auftreten von Arzneistoffkristallen war erneut stark an die Lagertemperatur gekoppelt. Wurden die Imwitor-Formulierungen bei 4 °C aufbewahrt, konnte bei der gewählten Beladung von 10 % eine Kristallisation über 1 Jahr verhindert werden. Dies ging einher mit der geringsten polymorphen Umwandlungsrate des Lipids. Eine höhere Lagertemperatur führte dagegen nach maximal 3 Monaten zum Ausstoß des Arzneistoffs.

Während Tempern bei 40 °C innerhalb der Imwitor-Proben zu einer Abnahme der Gesamtkristallinität führte, konnte bei Verwendung von Compritol erneut das Gegenteil beobachtet werden. Sowohl bei 40 % als auch bei 30 % Lipidgehalt verfestigten sich die Proben und zeigten bereits nach 4 Monaten eine deutliche Zunahme der Kristallinität und eine polymorphe Umwandlung zur triklinen β_1 -Modifikation verbunden mit einer durch Röntgen detektierbaren Arzneistoffkristallisation (Abbildung 6-13, Pfeil Mitte). Nach diesem Zeitraum hatte die Aggregatbildung bereits ein so starkes Ausmaß angenommen, daß Arzneistoffkristalle bei mikroskopischer Betrachtung von diesen fast vollständig verdeckt wurden.

Das Auftreten von Kristallen war jedoch nicht mit Veränderungen der Kristallstruktur verknüpft, da diese selbst bei gekühlter Lagerung bereits nach 8 Monaten detektiert werden konnten. Die für Compritol sehr hohe Arzneistoffbeladung von 10 % konnte folglich auch in einer Modifikation mit geringerem Ordnungszustand nicht stabilisiert werden.

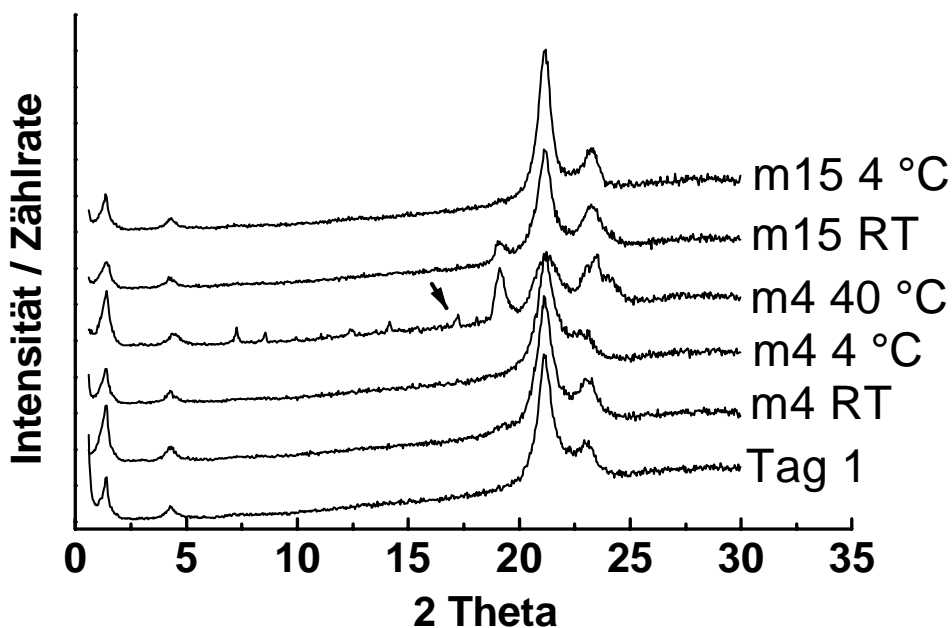


Abbildung 6-13: Röntgenstreuungsmuster der bei verschiedenen Temperaturen gelagerten Cyclosporin A-haltigen Compritol-SLN (40 % Lipidanteil) nach 4 Monaten (m4) und 15 Monaten (m15). Der Pfeil markiert einen Arzneistoffreflex.

6.1.6 Trocknungsverhalten

Die Untersuchung der Langzeitstabilität hochkonzentrierter SLN-Dispersionen führte zu ähnlichen Ergebnissen wie die der flüssigen Formulierungen mit geringerem Lipidgehalt. Es konnte lediglich eine geringfügige Verlangsamung der Umwandlungs- und Aggregationsprozesse beobachtet werden. Das Trocknungsverhalten der Proben wurde von der Erhöhung des Lipidgehalts dagegen stark beeinflusst. Besonders auffallend war die Beobachtung, daß 40 %ige Compritol-Partikel bei Trocknung im offenen System ein vollständig anderes Verhalten zeigten als während der Lagerung in geschlossenen Tuben bei entsprechender Temperatur. Es ist erkennbar, daß bereits nach einer Stunde der Ordnungsgrad der Fettsäureketten abnimmt und sich langsam eine α -Modifikation ausbildet (Abbildung 6-14, rechts). Der Trennung des kleineren β' -Reflexes und des größeren α -Reflexes wird langsam in Richtung α -Reflex aufgehoben. Die kontinuierliche Abnahme des Peakmaximums der Schmelzkurven belegt diesen Umwandlungsprozeß (Tabelle 6-5). Eine α -Modifikation konnte bislang in keinem anderen Compritol-System nachgewiesen werden.

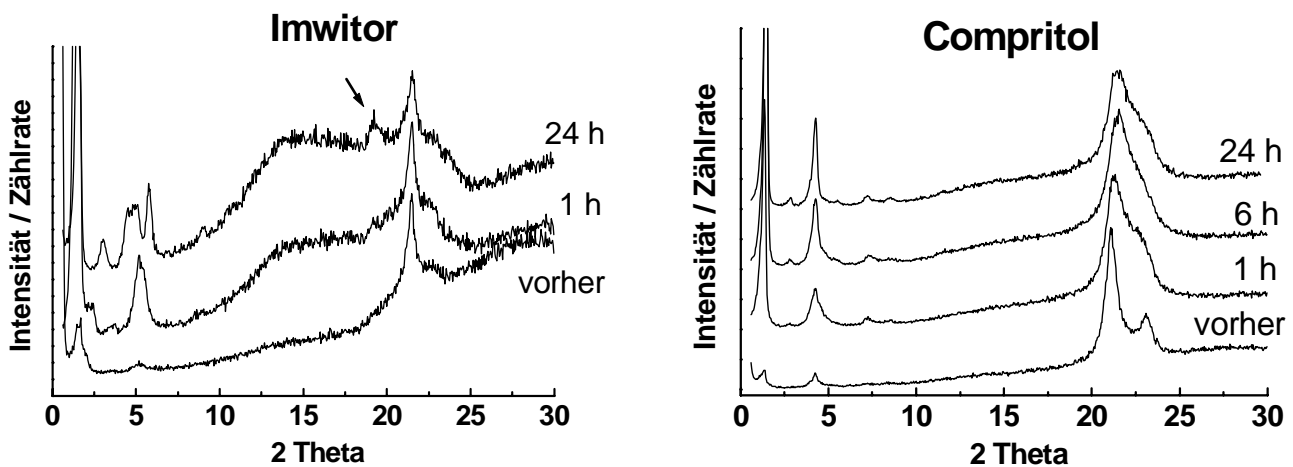


Abbildung 6-14: Röntgenstreumuster des Trocknungsprozesses 40 %iger SLN-Formulierungen auf Basis von Imwitor (links) oder Compritol (rechts)

Tabelle 6-5: DSC-Schmelzkurvenparameter des Trocknungsprozesses von 40 %igen Compritol-SLN

	Onset [°C]	Peakmax. [°C]	Peakweite [°C]
Vor Trocknen	69,9	72,1	4,3
Nach 1 Stunde	66,9	71,6	3,6
Nach 6 Stunden	69,4	70,7	1,2
Nach 24 Stunden	68,5	70,4	1,7

Im Nahwinkelbereich der Streukurven kam es zu einer Zunahme der Reflexintensitäten jedoch zu keiner Veränderung der Langperiode. Das beobachtete Verhalten läßt den Schluß zu, daß eine beschleunigte polymorphe Transformation in Richtung hoher Kristallordnung nicht primär durch Temperaturerhöhung sondern insbesondere durch eintretende Wasserverdunstung ausgelöst wird. Bei hoher Lipidkonzentration ist diese Verdunstung durch Ausbildung eines kohärenten Lipidfilms an der Grenzfläche Dispersion / Luft stark beeinträchtigt, die Beweglichkeit der Fettsäureketten bleibt erhalten oder vergrößert sich aufgrund der gestiegenen Umgebungstemperatur, die energiereichste Modifikation bildet sich aus. Dieses Trocknungsverhalten wurde bei allen halbfesten Compritol-Formulierungen beobachtet.

Die hochkonzentrierte Imwitor-Formulierung zeigte dagegen während des Trocknungsprozesses eine beginnende Umwandlung in die β_i -Modifikation (Abbildung 6-14, Pfeil links). Durch den hohen Anteil an amphiphilen Mono- und Diglyceriden und deren höhere Beweglichkeit scheint der Einfluß des Lipidgehaltes auf die Trocknung weniger bedeutend zu sein. Die Analyse der SAXS-Reflexe nach 24 Stunden ergab mindestens zwei Reihen von Streuvektoren mit $s = 0,177$, $0,344$ und $0,561$ sowie mit $s = 0,512$ und $1,031$. Die korrespondierenden Netzebenenabstände lagen bei 57 beziehungsweise 59 Å. Eine Ausbildung von Lipidbereichen unterschiedlicher Kristallinität und / oder Zusammensetzung des Fettsäuremusters liegt folglich nahe. Das Freisetzungsverhalten der Formulierungen wird in Kapitel 6.3 für alle Systeme vergleichend diskutiert.

6.2 Halbfeste NLC-Dispersionen: Formulierungen aus flüssigen und festen Lipiden mit einem Gesamtgehalt von $\geq 30\%$ Lipid

Durch alleinige Erhöhung der Lipidkonzentration konnte die Stabilität der SLN-Nanopartikeldispersionen bezüglich einer Wirkstoffinkorporation nur geringfügig verbessert werden. Es stellte sich nun die Frage, ob durch Addition einer flüssigen Lipidkomponente eine langfristige Arzneistoffinkorporation analog der 15 %igen NLC-Formulierung erreicht werden kann. Da Octyldodecanol ein im Vergleich zu Imwitor 900 verringertes Lösungsvermögen für Cyclosporin aufweist, ist eine Erhöhung der Beladungskapazität durch dessen Einarbeitung unwahrscheinlich. Hochkonzentrierte NLC-Formulierungen auf Imwitor-Basis wurden deshalb zusätzlich unter Verwendung der ungesättigten Fettsäuren Linol- und Ölsäure hergestellt.

Der Ölanteil wurde mit 25 % bezogen auf das Gesamtlipid festgelegt, so daß sich die allgemeine Zusammensetzung der Formulierungen wie folgt darstellte:

Imwitor 900 30 %, flüssiges Lipid 10 %, Sacharosestearat 5 %, SDS 0,25 %, MilliQ Wasser ad 100 %.

Durch den Ölanteil nahm die Viskosität der Systeme während der Herstellung ab, so daß die Verarbeitung bei 95 °C leichter erfolgen konnte. Ein Erstarren der Lipidfraktion im Auffangbehälter des Homogenisators konnte dennoch nicht vollständig vermieden werden. Durch Verwendung eines vollständig beheizbaren Homogenisators (z. B. Micron LAB 60) im Rahmen der Großproduktion sollte sich dieses Problem jedoch vermeiden lassen.

6.2.1 Charakterisierung arzneistofffreier Systeme

Da bei Verwendung von Compritol die Einarbeitung von Cyclosporin A nur geringste Veränderungen des Systems herbeiführte, wird hier auf die Darstellung der arzneistofffreien Formulierungen verzichtet und direkt auf Kapitel 6.2.3 verwiesen. Statt dessen wird an dieser Stelle verstärkt auf die vergleichende Charakterisierung der 40 %igen Imwitor-NLC mit unterschiedlicher Ölkomponente (Octyldodecanol, Linolsäure, Ölsäure) eingegangen.

6.2.1.1 Makroskopische und mikroskopische Beobachtungen, Partikelgröße

Eine Redispergierung der ölhaltigen Chargen war ebenfalls nur in 0,5 %iger SDS-Lösung möglich. Die Kombination von Imwitor mit den drei verwendeten Ölkomponenten Octyldodecanol, Linolsäure und Ölsäure gelang problemlos. Das mikroskopische Bild ergab eine hauptsächlich im Nanometerbereich angesiedelte Partikelgröße. Nur sehr vereinzelt konnten Partikel im einstelligen Mikrometerbereich detektiert werden.

Die LD-Partikelgrößen der drei Formulierungen in Abbildung 6-15 belegen diese optische Bestimmung. Nach Einarbeitung von Octyldodecanol und Ölsäure war eine geringfügige Absenkung der Durchmesser gegenüber denen der ölfreien SLN-Charge zu beobachten.

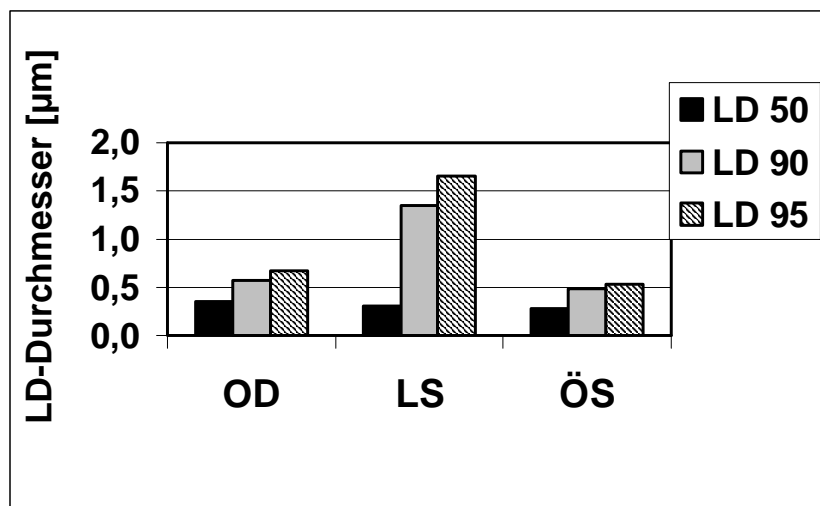


Abbildung 6-15: Vergleich der LD-Partikelgrößen von 40 %igen Imwitor-NLC-Formulierungen mit unterschiedlicher Ölkomponente an Tag 1 (OD = Octyldodecanol, LS = Linolsäure 60 %, ÖS = Ölsäure, jeweils 25 % bezogen auf Lipidanteil)

6.2.1.2 Thermoanalyse und Untersuchung der Kristallstruktur

Bezogen auf die Kristallmodifikation war ein starker Einfluß der Ölkomponente zu verzeichnen. Keine der vermessenen Proben wies eine reine α -Modifikation auf. Der Anteil der β_1 / β_2 -Modifikation nahm in der Reihenfolge Ölsäure < Octyldodecanol < Linolsäure zu (Abbildung 6-16). Eine Erhöhung der kristallinen Ordnung des festen Lipids durch Hinzufügen einer flüssigen Lipidkomponente wurde bereits mit der besseren Beweglichkeit der Moleküle begründet. Die Beseitigung von Fehlstellen durch Umlagerungen im Kristall kann leichter erfolgen.

Die Schmelzkurven der Proben wiesen erwartungsgemäß eine im Vergleich zu den SLN starke Verschiebung zu niedrigeren Temperaturen sowie eine Verbreiterung der Schmelzpeaks auf (Tabelle 6-6). Das Peakmaximum und die Schmelzenthalpie der Linolsäure-Formulierung mit dem höchsten Ordnungsgrad zeigten in Übereinstimmung mit den röntgendiffraktometrischen Daten die größten Werte.

Tabelle 6-6: Vergleich der DSC-Kennzahlen der Schmelzkurven 40 %iger NLC-Formulierungen mit unterschiedlicher Ölkomponente an Tag 1

	Onset [°C]	Peakmax. [°C]	Peakweite [°C]	Enthalpie [J/g]
Ohne Öl	58,5	59,8	1,5	46,4
Linolsäure	45,5	55,8	9,2	39,9
Octyldodecanol	49,4	54,5	5,3	38,5
Ölsäure	40,5	52,0	9,9	33,0

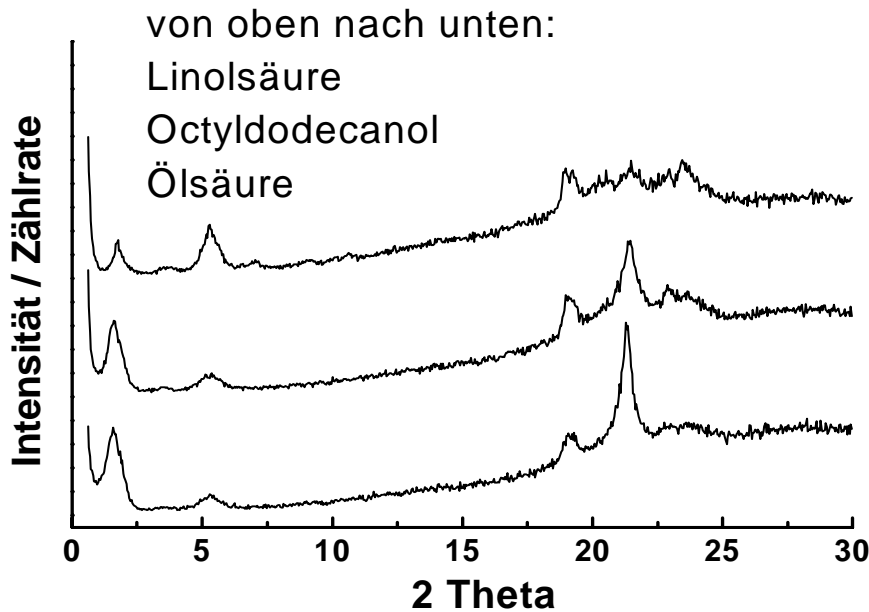


Abbildung 6-16: Vergleich der Röntgenstreumuster von 40 %igen NLC-Formulierungen mit unterschiedlicher Ölkomponente an Tag 1 (jeweils 25 % Öl bezogen auf Lipidanteil)

6.2.2 Langzeitstabilität arzneistofffreier Systeme

Alle untersuchten Proben zeigten innerhalb der ersten Wochen Aggregationserscheinungen und eine damit verbundene Zunahme der LD-Partikeldurchmesser. In Abbildung 6-17 ist dies anhand der Octyldodecanol bzw. Linolsäure enthaltenen Imwitor-NLC verdeutlicht.

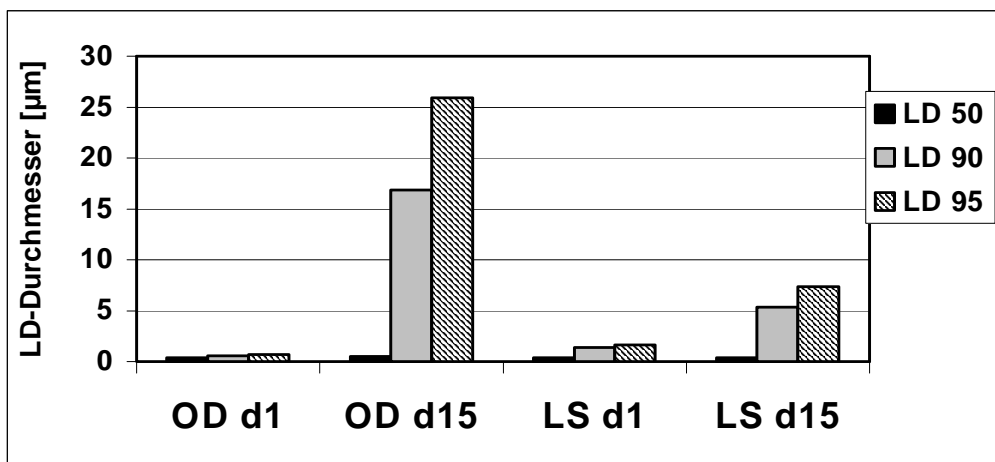


Abbildung 6-17: Vergleich der LD-Partikelgrößen LD 50, LD 90 und LD 95 von 40 %igen Imwitor-NLC-Formulierungen an Tag 1 und nach 2 Wochen Lagerung bei Raumtemperatur (OD = Octyldodecanol, LS = Linolsäure)

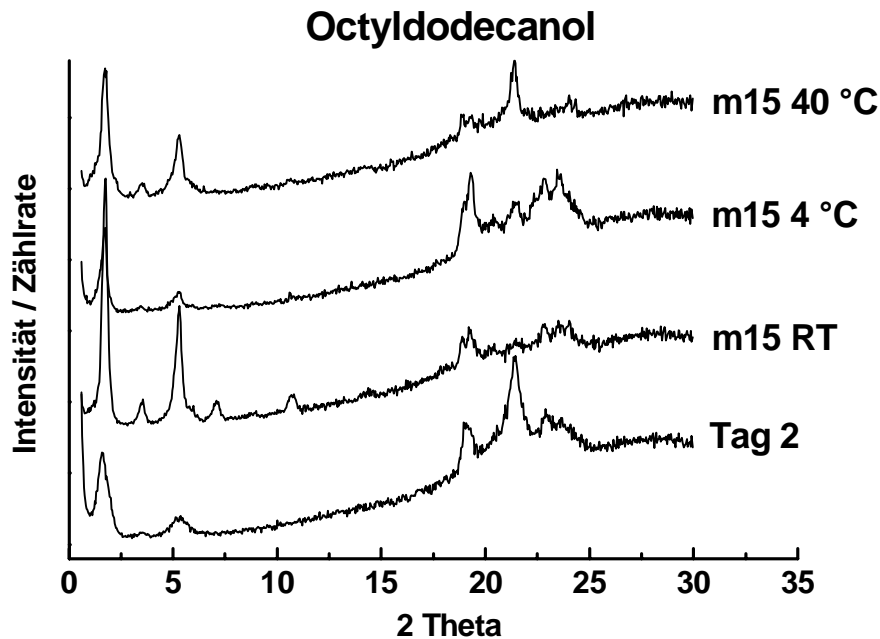


Abbildung 6-18: Vergleich der Röntgenstreumuster der bei verschiedenen Temperaturen gelagerten 40 %igen Octyldodecanol / Imwitor-NLC nach 15 Monaten (m15) mit dem an Tag 2 aufgenommenen Spektrum

Die kristallographische Entwicklung der Formulierungen erwies sich als sehr komplex. Polymorphe Transformationen wurden durch die Ölkomponente bei allen drei Lagertemperaturen beschleunigt. Ein Einfluß der Ölbeschaffenheit war nicht zu erkennen. In Abbildung 6-18 sind exemplarisch die nach 15 Monaten Lagerungszeit erhaltenen Röntgendiffraktogramme der Octyldodecanol-Charge zusammengefaßt. Sowohl die Reflexe des Nah- als auch des Weitwinkelbereichs unterscheiden sich in Qualität und Intensität stark voneinander.

Während bei Raumtemperatur und 40 °C der lamellare Charakter der Proben an Bedeutung gewinnt und das Ausmaß der Seitenkettenkristallinität abnimmt, weist das Spektrum der gekühlten Probe auf eine Zunahme der Kristallinität und des Ordnungsgrades der Fettsäureketten hin. Das Ausmaß der lamellaren Strukturen hat sich dagegen hier nicht verändert.

Während der kristalline Lipidanteil bei Raumtemperatur und 4 °C eindeutig in die hochgeordnete β -Modifikation übergetreten ist, liegen die Glyceride bei erhöhter Temperatur auch nach 15 Monaten noch in geringerem Ordnungszustand vor. Die Schmelzenthalpie hat hier darüber hinaus stark abgenommen. Tabelle 6-7 enthält die thermoanalytischen Parameter der Proben. Die für die Schmelzenthalpie ermittelten Werte deuten auf eine besonders starke Zunahme der Kristallinität bei Raumtemperatur hin.

Nach Betrachtung der WAXS-Reflexe erschien dies eher bei gekühlter Lagerung der Fall zu sein. Erklärbar wird dieser scheinbare Widerspruch durch die unterschiedliche Größe der entstandenen lamellaren Strukturen. Sowohl das Peakmaximum als auch die Schmelzenthalpie sind eng mit der Größe der zu schmelzenden Strukturen verbunden. Bei niedrigen Temperaturen ist die Beweglichkeit der Moleküle herabgesetzt, eine Fusion der individuellen Partikel zu größeren Lipidarealen mit starken lamellaren Reflexen erfolgt daher in wesentlich geringerem Ausmaß.

Die mikroskopische Analyse ergab dementsprechend weniger Aggregate in den gekühlten Proben. Der Ordnungsgrad der Fettsäuren im individuellen Einzelpartikel ist dagegen größer als nach Lagerung bei erhöhten Temperaturen.

Daß die Proben mit zunehmender Lagertemperatur stärkere Aggregations- und Entmischungstendenzen aufweisen, wird darüber hinaus durch die größere Heterogenität des Schmelzverhaltens (Auftreten von Schultern und zusätzlichen Maxima, Zunahme der Peakweite) verdeutlicht. Vereinzelt konnten mikroskopisch sogar Öltröpfchen detektiert werden.

Tabelle 6-7: Vergleich der DSC-Kennzahlen der bei verschiedenen Temperaturen gelagerten 40 %igen Imwitor-NLC nach 15 Monaten (m15) und an Tag 1 nach Herstellung (Werte in Klammern = Peakschulter)

		Onset [°C]	Peakmaximum [°C]	Peakweite [°C]	Enthalpie [J/g]
Octyldodecanol	Tag 1	49,4	54,5	5,3	38,5
	m15 RT	49,7	(58,8) 63,9	11,9	53,1
	m15 4 °C	43,0	53,2	11,0	41,8
	m15 40 °C	54,0	61,0	6,2	33,2
Linolsäure	Tag 1	45,5	55,8	9,2	39,9
	m15 RT	48,0	58,2	11,8	52,9
	m15 4 °C	45,7	56,1	13,5	46,3
	m15 40 °C	32,3 49,3	37,3 57,4 (59,9)	4,7 8,5	2,7 30,5
Ölsäure	Tag 1	40,5	52,0	9,9	33,0
	m15 RT	38,6	56,5	12,6	54,3
	m15 4 °C	45,6	55,4	8,3	38,3
	m15 40 °C	31,2 49,6	36,3 57,7	5,6 6,4	2,7 28,2

Bei gekühlter Lagerung war dies dagegen nicht der Fall. Die Homogenität der Schmelzkurven blieb erhalten, eine Separierung der Ölphase war nicht zu beobachten. Da jedoch nicht damit zu rechnen ist, daß nach Ausbildung der hochgeordneten β -Modifikation die Ölfraction im festen Lipid inkorporiert vorliegt, wird auch hier von einer Lokalisation im Randbereich der Partikel ausgegangen.

Die Daten belegen erneut, daß eine Einschätzung des Kristallstatus von Lipidpartikeln nur durch Kombination mehrerer Analyseverfahren ermöglicht wird. Insbesondere Größenveränderungen und Entmischungserscheinungen müssen bei der Interpretation von DSC- und Röntgendaten berücksichtigt werden.

6.2.3 Charakterisierung nach Cyclosporin A Inkorporation

Die Beladung der beschriebenen, halbfesten Imwitor-NLC mit dem Arzneistoff Cyclosporin A wurde mit 10 % bezogen auf die Lipidfraktion durchgeführt. Das entsprach einer Gesamtkonzentration in der Formulierung von 4 %. Der Ölgehalt in den Systemen wurde dabei konstant gehalten, die Menge des festen Lipids entsprechend reduziert. Die Formulierungen waren folglich von der generellen Zusammensetzung:

Cyclosporin 4 %, Imwitor 900 26 %, flüssiges Lipid 10 %, Sacharosestearat 5 %, SDS 0,25 % und MilliQ Wasser ad 100 %.

Unter Verwendung von Compritol wurden sowohl 30 als auch 40 %ige NLC-Systeme hergestellt. Deren Zusammensetzung kann Tabelle 6-8 entnommen werden. Mit zunehmendem Ölgehalt und abnehmender Viskosität nahm die Produzierbarkeit der Proben zu. Die Chargen mit höherem Ölgehalt stellten nach Abkühlung gut streichbare, halbfeste Systeme dar.

Tabelle 6-8: Zusammensetzung der cyclosporinhaltigen NLC auf Compritolbasis (die Werte in Klammern entsprechen dem Gehalt bezogen auf die Partikelmasse)

	Com30a	Com30b	Com40a	Com40b
Cyclosporin	3 %	3 %	4 %	4 %
Compritol	22 %	18 %	31 %	26 %
Octyldodecanol	5 % (17 %)	9 % (30 %)	5 % (12,5 %)	10 % (25 %)
Tego care 450	5 %	5 %	5 %	5 %
Milli Q Wasser	ad 100 %	ad 100 %	ad 100 %	ad 100 %

6.2.3.1 Makroskopische und mikroskopische Beobachtungen, Partikelgröße

Die mikroskopische Größeneinschätzung ergab für alle Chargen eine Partikelgröße im Nanometer- und kleineren Mikrometerbereich. Eine Redispergierung war bei Verwendung von Imwitor wiederum nur in 0,5 %iger SDS-Lösung möglich, die Ergebnisse der LD-Analytik finden sich in Abbildung 6-19. Im Vergleich zu den arzneistofffreien Chargen ist eine leichte Größenzunahme zu verzeichnen. Mit Compritol konnten die Chargen generell nur unvollständig redispergiert werden.

Direkt nach der Herstellung waren in keiner der beschriebenen Formulierungen Cyclosporin A-Kristalle detektierbar.

6.2.3.2 Thermoanalyse und Untersuchung der Kristallstruktur

Durch Einarbeitung von Cyclosporin A in die Formulierungen kam es - insbesondere bei Verwendung von Octyldodecanol als flüssiger Lipidkomponente - nur zu geringfügigen Veränderungen im Schmelzverhalten (Tabelle 6-9). Die Ausbildung einer leichten Schulter im Schmelzpeak der Fettsäure-Chargen deutet jedoch auf eine größere Heterogenität innerhalb der Partikel hin. Die Kristallinität der Lipidfraktion wurde im Vergleich zu den entsprechenden Placebo-Chargen lediglich bei Einsatz von Linolsäure abgeschwächt.

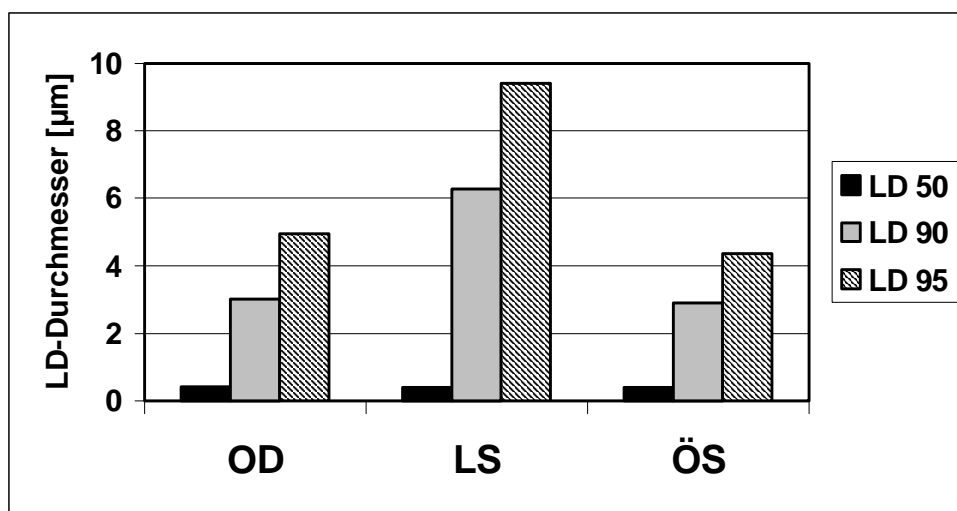


Abbildung 6-19: Vergleich der LD-Partikelgrößen von 40 %igen arzneistoffhaltigen Imwitor-NLC mit unterschiedlicher Ölkomponente an Tag 1 (OD = Octyldodecanol, LS = Linolsäure 60 %, ÖS = Ölsäure, jeweils 25 % bezogen auf Lipidanteil)

Tabelle 6-9: Vergleich der DSC-Kennzahlen von 40 %igen Imwitor-NLC mit oder ohne Cyclosporin A und unterschiedlicher Ölkomponente an Tag 1

		Onset [°C]	Peakmaximum [°C]	Peakweite [°C]	Enthalpie [J/g]
Octyldodecanol	Placebo	49,4	54,5	5,3	38,5
	mit Cyclosp.	52,1	54,8	3,3	33,8 (101 %)
Linolsäure	Placebo	45,5	55,8	9,2	39,9
	mit Cyclosp.	51,0	53,0 (54,8)	4,5	30,2 (84 %)
Ölsäure	Placebo	40,5	52,0	9,9	33,0
	mit Cyclosp.	49,8	53,0 (55,0)	2,9	28,8 (97 %)

Als Ursache können Veränderungen des polymorphen Status herangezogen werden. Während ohne Arzneistoffbeladung hauptsächlich eine β -Modifikation vorlag, wurde in der wirkstoffhaltigen Linolsäure / Imwitor-Formulierung verstärkt eine β' / β_2 -Modifikation ausgebildet. Diese fand sich röntgendiffraktometrisch auch innerhalb der Ölsäure- und Octyldodecanol-Partikel.

Weder die Einarbeitung einer Ölfraktion noch die Beladung mit Wirkstoff hatte Einfluß auf den Kristallstatus der hochkonzentrierten Compritolpartikel. Es kam generell zur Ausbildung einer β' -Modifikation. Wie erwartet sanken mit zunehmender Ölbeladung das Peakmaximum der Schmelzkurve, deren Onset und die Schmelzenthalpie (Tabelle 6-10). Der Kristallinitätsgrad der Formulierungen lag im Vergleich zur dargestellten ölfreien Charge tendenziell über 100 %. Die Kristallisation des festen Lipids wurde folglich weniger behindert, wenn der Arzneistoff in einer Ölkomponente gelöst vorlag.

Tabelle 6-10: Vergleich der DSC-Kennzahlen von Octyldodecanol / Compritol-NLC mit einer Arzneistoffbeladung von 10 % bezogen auf die Lipidfraktion. Zur Berechnung der Kristallinität wurde der Wert der SLN (ohne Öl) gleich 100 % gesetzt und die Enthalpiewerte der NLC (nach Standardisierung auf die gleiche Compritolmenge) darauf bezogen

	Onset [°C]	Peakmaximum [°C]	Enthalpie [J/g]	Kristallinität [%]
Ohne Öl (SLN)	59,2	(69,1) 72,3	44,3	100
Com30a (NLC)	58,1	67,2	29,9	110
Com30b (NLC)	57,9	64,6	24,1	109
Com40a (NLC)	58,0	(65,6) 68,2	38,5	101
Com40b (NLC)	57,8	65,8	33,2	104

6.2.4 Langzeitstabilität, polymorphe Umwandlungen und Arzneistoffausstoß

Arzneistoffbeladene Imwitor-NLC zeigten in Bezug auf Größe, Aggregation und polymorphes Verhalten während der Langzeitlagerung ein den Placebo-Formulierungen analoges Verhalten (s. Kapitel 6.2.2). Lediglich die Octyldodecanol-Charge wies nach Einarbeitung von Cyclosporin A analog der niedrigkonzentrierten NLC-Formulierung eine geringere Umwandlungsrate zur geordneteren β -Modifikation auf. Der Vergleich beladener SLN und NLC nach 15 Monaten gekühlter Lagerung ergab eine Intensitätsteigerung der Weitwinkelreflexe durch das Öl, obwohl der Imwitor-Anteil der ölhaltigen Charge um fast 30 % reduziert war (Abbildung 6-20). Die Ausbildung kristallin geordneter Fettsäureketten wurde folglich auch hier behindert, wenn Arzneistoffmoleküle direkt im festen Lipid gelöst werden mußten und keine Ölfraction zur Aufnahme des Wirkstoffs zur Verfügung stand.

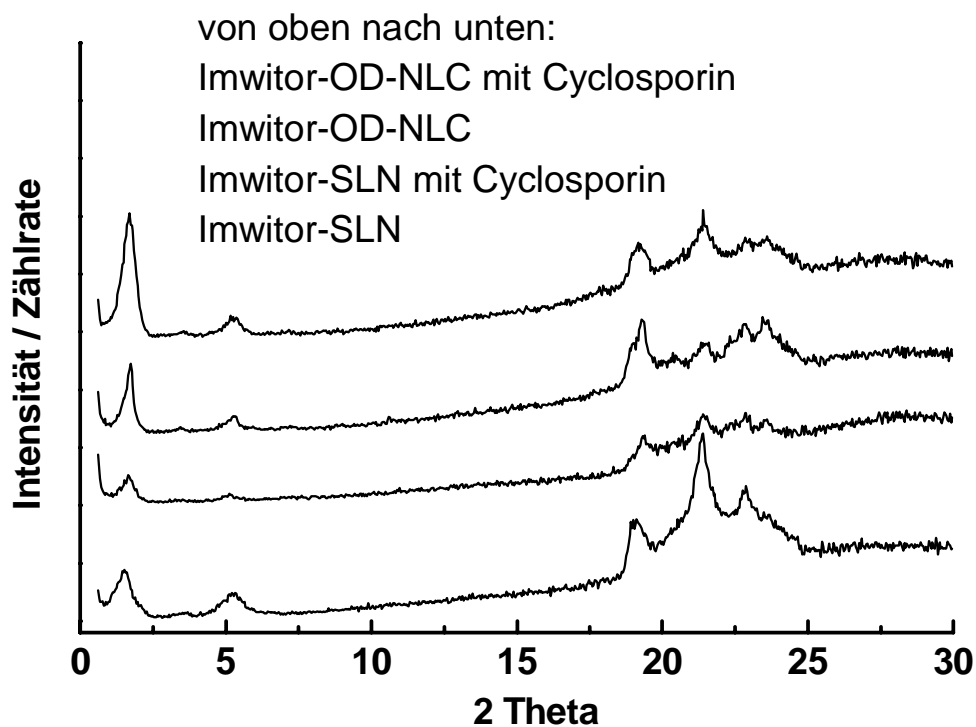


Abbildung 6-20: Vergleich der Röntgenstremuster 40 %iger Nanopartikeldispersionen auf Imwitorbasis mit oder ohne Öl- / Arzneistoffbeladung nach 15 Monaten Lagerung bei 4 °C

Das Auftreten von Cyclosporin A-Kristallen wurde neben der Lagertemperatur auch durch die Löslichkeit in der verwendeten Ölkomponente beeinflusst. Wie bereits diskutiert ist die Beladungskapazität von Octyldodecanol mit Arzneistoff geringer als die von Imwitor, die ungesättigten Fettsäuren Linolsäure und Ölsäure können dagegen deutlich mehr Cyclosporin A lösen. Dementsprechend erfolgte bei Raumtemperatur die Kristallisation in der Reihenfolge Octyldodecanol / Imwitor-NLC (2 Wochen), Imwitor-SLN (ca. 3 Monate) und Fettsäure / Imwitor-NLC (> 6 Monate). Da die polymorphe Transformation bei Verwendung von Octyldodecanol dagegen am langsamsten erfolgte, war eine Verknüpfung von Modifikationsumwandlung und Arzneistoffkristallisation nicht vorhanden. Dies bestätigt erneut den bereits mehrfach postulierten Aufbau der Partikel mit Lokalisation der Fremdmoleküle Arzneistoff / Öl in den Randbereichen und der Ausbildung einer kristallinen Lipidmatrix im Inneren. Durch Lagerung bei 4 °C konnte die 10 %ige Arzneistoffbeladung in allen Formulierungen jedoch stabilisiert werden.

Lagerung der mit Öl und Arzneistoff beladenen Compritol-NLC bei erhöhten Temperaturen führte zu einer Verfestigung der Systeme mit Ausbildung einer β_1 -Modifikation innerhalb von 4 Wochen.

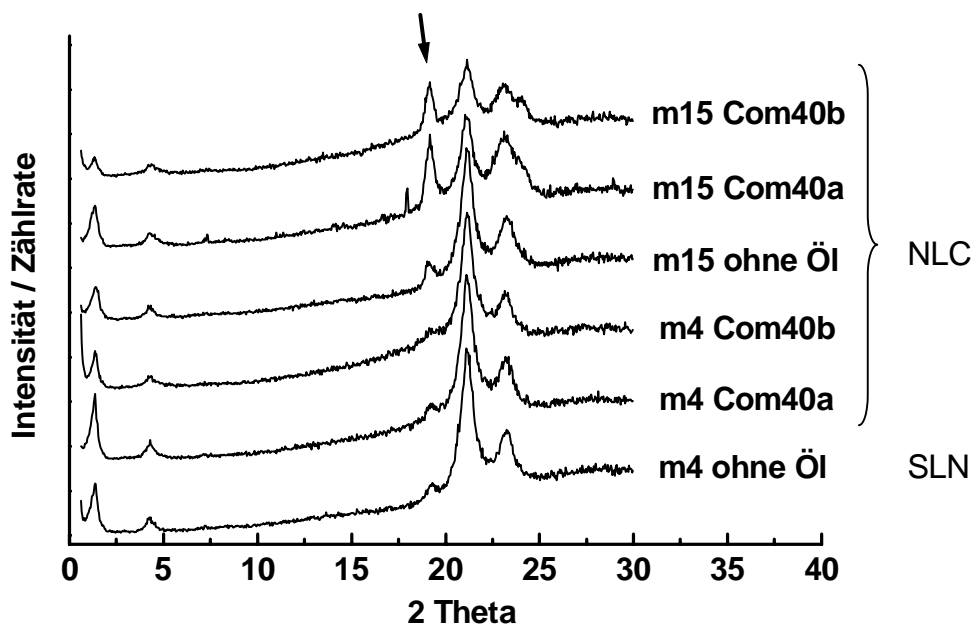


Abbildung 6-21: Vergleich der Röntgenstreuemuster 40 %iger Cyclosporin A-beladener Compritol-SLN und NLC nach 4 und 15 Monaten bei Raumtemperatur. Der Pfeil markiert den für die β_1 -Modifikation charakteristischen Reflex bei $d = 0,46$

Compritrol-NLC zeigten ebenfalls eine im Vergleich zu Compritrol-SLN beschleunigte polymorphe Transformation bei Raumtemperatur. Dies entsprach auch dem Verhalten der 15 %igen Dispersionen aus Kapitel 4. Die Ausbildung des für die β_i -Modifikation typischen Reflexes bei einem Netzebenenabstand von $d = 0,46$ ist in Abbildung 6-21 deutlich zu verfolgen und durch einen Pfeil markiert. Durch gekühlte Lagerung konnte jedoch in allen Formulierungen der β' -Polymorph konserviert werden.

Darüber hinaus wurden hier nur sehr vereinzelt Partikelaggregate detektiert. Auch bei Raumtemperatur war die Aggregationsneigung gegenüber Imwitor-haltigen Proben stark herabgesetzt. Im Bereich der long spacings kam es dementsprechend zu keiner Zunahme der lamellaren Reflexe, doppelbrechende Strukturen mit flüssigkristallinem Charakter traten nicht auf.

Eine weitere Verbesserung der Langzeitstabilität von flüssigen Compritrol-NLC durch Erhöhung des Lipidanteils und Erzeugung halbfester Systeme konnte jedoch nicht erreicht werden.

Die Langzeitstabilität der untersuchten heterogen zusammengesetzten Systeme war folglich - wie auch in den flüssigen Systemen - mit deren Anteil an Mono-/und Diglyceriden verknüpft.

Diese amphiphilen Lipidkomponenten sind zwar für die Erhöhung der Beladungskapazität mit diversen Fremdmolekülen verantwortlich, führen aber tendenziell eher zu einer Aggregation der Partikel. Die sich vor allem bei erhöhten Lagertemperaturen anschließende Ausbildung lamellar angeordneter Strukturen von teils flüssigkristallinem Charakter ist unter polarisiertem Licht und mittels Röntgendiffraktometrie leicht zu verfolgen.

Da sowohl der beschriebene Prozeß als auch polymorphe Transformationen der kristallinen Lipidfraktion nur durch Kühlung verzögert werden konnten, ist eine Absenkung der Lagertemperatur bei Verwendung heterogen zusammengesetzter Lipide zur Erzielung langzeitstabiler Formulierungen von großer Bedeutung.

Zur Erhöhung der Beladungskapazität von Lipidpartikeln mit Arzneistoff ist aus Stabilitätsgründen eher die Beimischung einer flüssigen Lipidkomponente zu einem homogenen Glyceridgemisch wie Compritrol zu empfehlen, als die Wahl eines heterogenen Lipidgemisches wie Imwitor mit hohem Mono- bzw. Diglyceridgehalt.

Es ist dabei jedoch zu beachten, daß bei hoher Beladung in jedem Fall langfristig mit einer hauptsächlichlichen Lokalisation der Fremdmoleküle in den Randbereichen der Partikel zu rechnen ist.

6.2.5 Einfluß der Ölbeladung von Compritol-NLC auf die Arzneistoffverdrängung

Eine langfristige Inkorporierung von 10 % Cyclosporin A in der reinen Compritolmatrix von SLN konnte selbst durch Probenkühlung nicht erreicht werden. Mit steigender Ölbeladung und damit verbundener höherer Beladungskapazität des Lipidanteils konnte ein Arzneistoffausstoß dagegen verhindert werden.

Verdeutlicht wird diese verbesserte Beladungskapazität und Arzneistoffstabilisierung durch Vergleich der Röntgenstreuemuster der bei 40 °C gelagerten 40 %igen Formulierungen nach 4 Wochen Abbildung 6-22. Während die ölfreie SLN-Charge bereits deutliche und zahlreiche Arzneistoffreflexe aufweist, ist bei einer Ölbeladung von 12,5 % nur ein einzelner Peak erkennbar. Bei weiterer Erhöhung des Ölanteils treten keine Reflexe auf. Wurden die Formulierungen bei 4 °C gelagert, reichte eine Ölbeladung von 12,5 % zur langfristigen Stabilisierung über mindestens ein Jahr aus, bei Raumtemperatur konnten hier jedoch nach ca. 6 Monaten ebenfalls Kristalle detektiert werden. Eine Erhöhung des Ölgehaltes auf 25 % verhinderte dagegen die Kristallisation von Cyclosporin selbst bei Raumtemperatur für mehr als ein Jahr. Unter Annahme, daß in dieser Formulierung sämtlicher Arzneistoff in der Octyldodecanolfraktion gelöst vorliegt, berechnet sich die Beladung des Öls mit 28 %. Dieser Wert liegt deutlich über der ermittelten Sättigung. Eine zusätzliche Lokalisation in Teilbereichen des festen Lipids ist folglich anzunehmen.

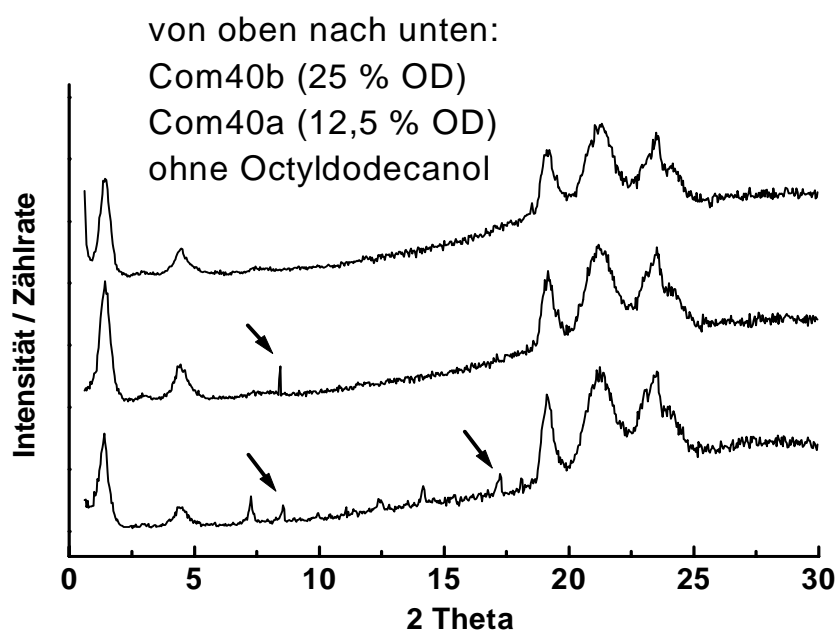


Abbildung 6-22: Vergleich der Röntgenstreuemuster 40 %iger Cyclosporin A-haltiger SLN (ohne Octyldodecanol) bzw. NLC (12,5 % oder 25 % Octyldodecanol) nach 4 Wochen Lagerung bei 40 °C, die Pfeile deuten auf Arzneistoffreflexe

6.2.6 Trocknungsverhalten

Hochkonzentrierte NLC-Formulierungen auf Compritolbasis zeigten ein den SLN analoges Trocknungsverhalten (Abbildung 6-23). Innerhalb weniger Stunden nahm die Kristallinität der Seitenketten im System ab, es entwickelte sich eine α -Modifikation. Arzneistoffsignale konnten dagegen in keiner Formulierung detektiert werden. In Abhängigkeit von Gesamtlipid- und Ölgehalt der Formulierungen ergaben sich jedoch leichte Unterschiede. Je geringer der Lipidanteil und je höher der Ölgehalt desto größer war die Wahrscheinlichkeit einer späteren Zunahme der Kristallinität. Das Streumuster der Formulierung Com30b (30 % Ölgehalt bezogen auf das Gesamtlipid (30 %)) wies daher nach 24 Stunden Trocknung leichte Reflexe der β_i -Modifikation auf (s. Pfeile, oben rechts).

Bestätigt wurden die Unterschiede auch durch die Ergebnisse der Thermoanalyse. Während die übrigen Formulierungen eine dauerhafte Absenkung des Peakmaximums in der DSC-Schmelzkurve aufwiesen, kam es bei Charge Com30b zunächst zu einer leichten Absenkung, nach 6 Stunden jedoch wieder zu einer Anhebung auf das ursprüngliche Niveau (vorher 64,6 °C, nach 24 h 65,1 °C).

Eine weitere Absenkung des Lipidgehalts auf 15 % in den ausgiebig charakterisierten, flüssigen NLC-Dispersionen aus Kapitel 4.2.5 führte in weiterer Übereinstimmung mit oben genannter Tendenz zu einer schnellen Zunahme der Kristallinität während des Trocknungsprozesses. Eine geringe Viskosität der Formulierung sowie eine ungehinderte Wasserevaporation scheinen demzufolge auch hier den Kristallisationsprozeß zu fördern.

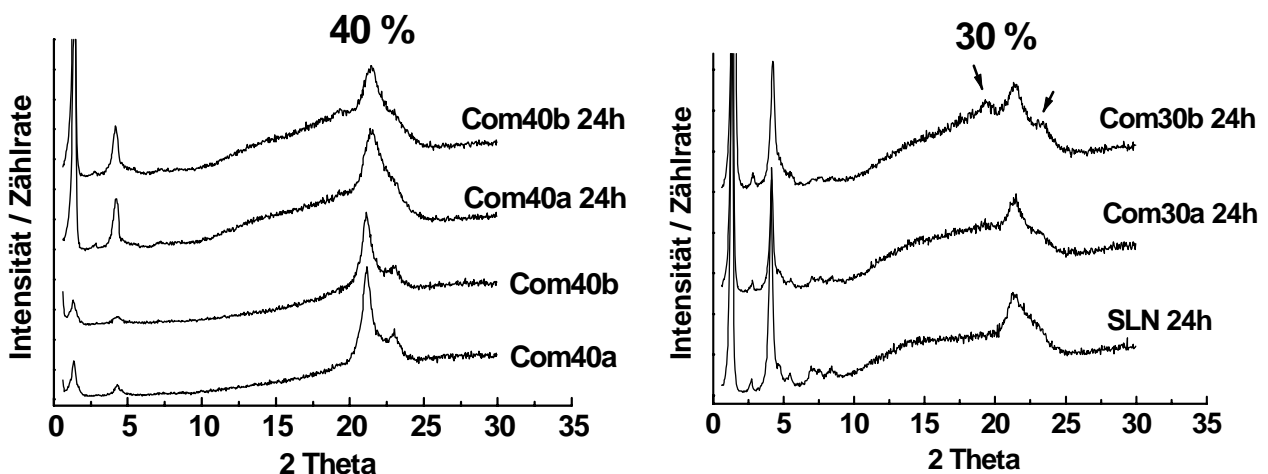


Abbildung 6-23: Röntgenstreuungsmuster des Trocknungsprozesses 40 %iger (links) und 30 %iger (rechts) SLN- und NLC-Formulierungen auf Basis von Compritol mit unterschiedlichem Ölgehalt. Als Vergleich dienen die NLC-Formulierungen Com40a und b vor Trocknung (links unten)

6.3 Arzneistofffreisetzung

Die ausgiebige Untersuchung der Arzneistofffreisetzung aus flüssigen SLN- und NLC-Dispersionen in Franz-Diffusionszellen hat im Rahmen dieser Arbeit zu dem Ergebnis geführt, daß in beiden Fällen der Arzneistoff primär in den Randbereichen der Partikel lokalisiert ist. Ein Einfluß der Kristallmodifikation und des Trocknungsverhaltens der Proben auf die Freisetzung war, wenn überhaupt vorhanden, nur als zweitrangig einzustufen. Der Sättigungsgrad der Lipide - insbesondere der Ölfraktion von NLC - mit Arzneistoff war dagegen für das Freisetzungsprofil von entscheidender Bedeutung.

Auch nach Erhöhung der Lipidkonzentration ist aufgrund der dargestellten Datenlage von einem analogen Aufbau der Partikel auszugehen. Daher ist mit grundsätzlichen Veränderungen der Freisetzungsprofile nicht zu rechnen. Durch den erhöhten Lipidgehalt wird die Diffusion des Arzneistoffes jedoch verstärkt behindert. Eine Zunahme der Retardierung gegenüber vergleichbaren Nanoemulsionen ist demnach zu erwarten. Untersucht wurden ausschließlich die NLC-Formulierungen mit Octyldodecanol als flüssiger Lipidkomponente. Da die 40 %igen Compritol-Formulierungen von sehr fester Konsistenz waren, wurden die Freisetzungsexperimente hier mit 30 % Lipidgehalt durchgeführt. Eine 30 %ige, flüssige Octyldodecanol-Nanoemulsion mit entsprechendem Cyclosporin Gehalt wurde darüber hinaus als Vergleich herangezogen. Die Arzneistoffgehalte der freigesetzten Formulierungen sind in Tabelle 6-11 zusammengefaßt. Die schlechte Wiederfindungsrate der auf Compritol basierenden SLN- und NLC-Formulierungen beruht wiederum auf der mangelhaften Beheizbarkeit des verwendeten Homogenisators und dadurch bedingter Erstarrung geringer Mengen des Lipid-Arzneistoffgemisches an kühleren Komponenten.

Tabelle 6-11: Charakterisierung der Zusammensetzung und des Gehalts der zur Freisetzung herangezogenen Arzneistoffchargen (OD = Octyldodecanol, CsA = Cyclosporin A)

Formulierung	Gesamt-Lipidgehalt in %	OD-Gehalt in % der Lipidphase	theoretischer CsA-Gehalt in %	ermittelter CsA-Gehalt in % des theoret. Wertes
Nanoemulsion	30	100	3	98,1 ± 1,1
Compritol-SLN	30	0	3	88,9 ± 1,1
Com30a-NLC 17 %	30	17	3	90,5 ± 2,7
Com30b-NLC 30 %	30	30	3	89,0 ± 1,4
Imwitor-SLN	40	0	4	96,6 ± 2,8
Imwitor-NLC	40	25	4	97,2 ± 1,1

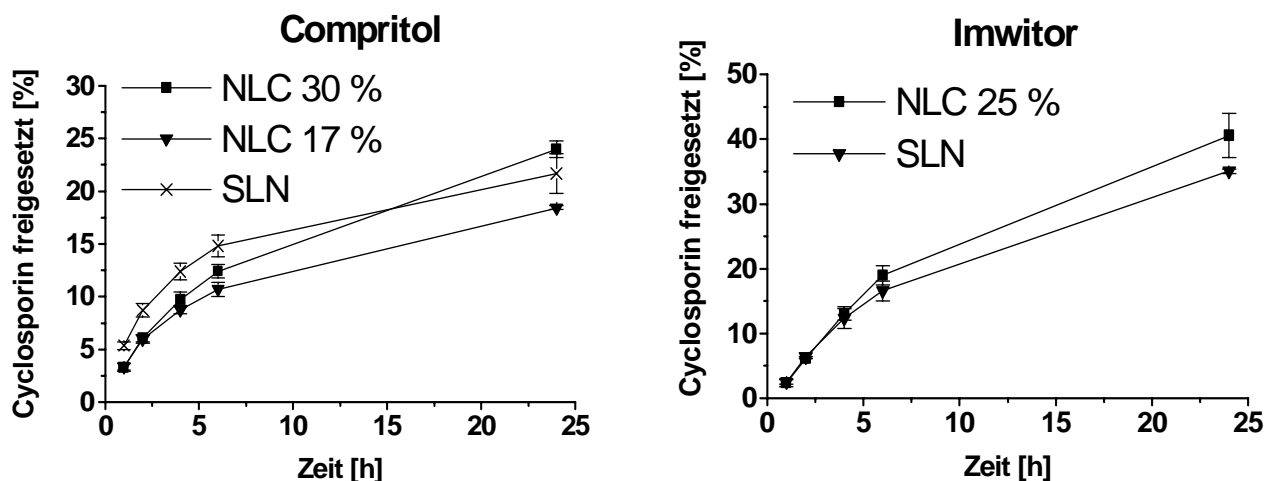


Abbildung 6-24: Cyclosporin A-Freisetzung aus hochkonzentrierten, halbfesten SLN- und NLC-Formulierungen auf Basis von Compritol (links) und Imwitor (rechts) mit einer jeweiligen Arzneistoffbeladung von 10 % bezogen auf die Lipidphase (%-Werte = Ölgehalt der NLC berechnet auf Lipidanteil)

In Abbildung 6-24 sind zunächst die Freisetzungen aus den entsprechenden partikulären Systemen im Vergleich der kumulativ freigesetzten Arzneistoffmengen aufgetragen. Sowohl bei Verwendung von Imwitor als auch von Compritol veränderte sich durch Ölzugabe das Freisetzungsprofil nicht wesentlich. Der Arzneistoffflux nahm nach einem anfänglichen Burst wie auch bei den flüssigen Dispersionen kontinuierlich ab. Während jedoch das ölfreie Compritol-System in den ersten Stunden deutlich mehr Arzneistoff freisetzte als die ölhaltigen, waren zwischen Imwitor-SLN und NLC keine quantitativen Unterschiede auszumachen. Dies erklärt sich hauptsächlich durch die geringe Differenz in den Beladungskapazitäten von Imwitor und Octyldodecanol. Erst im Verlauf der Freisetzung entstanden leichte Differenzen aufgrund der stärkeren Diffusionseinschränkungen bei höherem Gehalt an festem Lipid, d. h. die SLN mit ausschließlich festem Imwitor als Lipidfraktion setzten langsamer frei (Abbildung 6-24).

Die thermodynamische Aktivität des Arzneistoffs ist dagegen in reinen Compritolpartikeln aufgrund der geringeren Beladungskapazität des festen Lipids im Vergleich zu den ölhaltigen Formulierungen erhöht. Der in Abbildung 6-25 für die 30 %igen Formulierungen aufgetragene Arzneistoffflux zu Beginn und am Ende des Experimentes macht die dadurch forcierte Freisetzung des Arzneistoffes aus SLN in den ersten Stunden deutlich. Einem Wert von $175,5 \pm 17,4 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ nach 2 Stunden steht ein Flux von $84,3 \pm 15,4 \mu\text{g} / \text{cm}^2$ aus der Nanoemulsion gegenüber. Diese war bei einer 10 %igen Arzneistoffbeladung noch nicht annähernd gesättigt und im Gegensatz zu den partikulären Systemen von flüssiger Konsistenz.

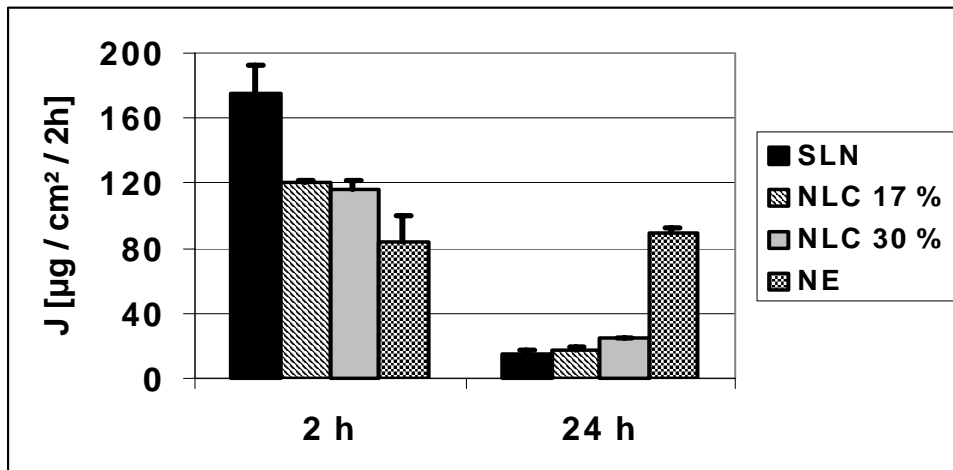


Abbildung 6-25: Cyclosporin-Flux (J) aus 30 %igen Compritol-Dispersionen mit unterschiedlicher Zusammensetzung der Lipidphase nach jeweils 2 und 24 Stunden im Vergleich (NE = Nanoemulsion mit Octyldodecanol 100 %, SLN = 100 % Compritol)

Die thermodynamische Aktivität des Arzneistoffes in den untersuchten NLC-Formulierungen, nahm einen mittleren Wert ein und war relativ unabhängig vom Grad der Ölbeladung. Im Vergleich der freigesetzten Arzneistoffmengen von flüssigen und halbfesten Compritol-Formulierungen zeigten die hochkonzentrierten Chargen erwartungsgemäß einen im Verhältnis wesentlich geringeren Arzneistoffflux. Ein direkter Vergleich der absoluten Werte ist jedoch nicht möglich, da die Gesamtbeladung der flüssigen Formulierungen aufgrund des niedrigeren Lipidgehaltes mit lediglich 1 % Cyclosporin A erfolgen konnte. Bei dieser Arzneistoffkonzentration wurden jedoch bereits Werte von 123 $\mu\text{g} / \text{cm}^2$ für SLN und 87 $\mu\text{g} / \text{cm}^2$ für NLC ermittelt.

Betrachtet man zusätzlich die Freisetzung aus den ähnlich konzentrierten, topischen SLN- und NLC-Cremes aus Kapitel 5 (3,4 % Cyclosporin) lagen die für die hochkonzentrierten Systeme nach zwei Stunden erhaltenen Flux-Werte ungefähr im Bereich der Nanoemulsions- und SLN-Cremes. Der besonders hohen Freisetzungsrates aus der gesättigten NLC-Cremeformulierung ($J = 318 \mu\text{g} / \text{cm}^2$) waren die hochkonzentrierten Proben dagegen ebenfalls deutlich unterlegen.

Während der Flux aus den 30 %igen Compritol-SLN und der NLC-Probe mit geringerer Ölbeladung in analoger Weise zurückging, war die Abnahme bei 30 % Ölanteil weniger stark ausgeprägt (Abbildung 6-25). Eine mögliche Begründung ist wiederum die geringere Behinderung der Arzneistoffdiffusion. Darüber hinaus liegt ein größerer Prozentsatz des Arzneistoffs in der Ölfraction gelöst vor. Es ist jedoch nicht auszuschließen, daß die ausschließlich bei dieser Charge auftretende polymorphe Umwandlung mit Zunahme des Kristallinitätsgrades während der Freisetzung für das beobachtete Verhalten mitverantwortlich ist.

Die 30 %ige Nanoemulsion hielt über den gesamten Freisetzungszeitraum einen annähernd konstanten Flux von Cyclosporin A durch die Membran aufrecht. Der zu Versuchsende freigesetzte Arzneistoffanteil lag daher mit 70 % deutlich höher als die aus den halbfesten Formulierungen ins Akzeptormedium übergetretene Menge (<25 %). Die Nanoemulsion behielt ihren flüssigen Aggregatzustand über den gesamten Zeitraum bei, während die partikulären Formulierungen wiederum feste Filme ausbildeten. Eine Behinderung der Diffusion trat demnach bei der Nanoemulsion nicht auf.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß sich die hochkonzentrierten Nanopartikeldispersionen in ihrem Freisetzungsverhalten nicht wesentlich von den entsprechenden flüssigen Dispersionen unterscheiden. Ein initialer Burst war auf den jeweiligen Sättigungsgrad der einzelnen Lipidfraktionen zurückzuführen. Im Verlauf der Freisetzung wurde die Diffusion aus den Partikeln durch Aggregation und Filmbildung zunehmend behindert, so daß bereits nach vier Stunden die Nanoemulsion eine höhere Freisetzungsrate aufwies als die partikulären Formulierungen. Zur Erzielung einer längerfristig gesteigerten Wirkstofffreisetzung sollte der Lipidgehalt der festen Nanopartikeldispersionen somit nicht wesentlich höher gewählt werden als 20 % bezogen auf die Gesamtformulierung.

6.4 Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse

Durch Auswahl geeigneter Tenside / Tensidgemische und Anpassung der Herstellungsbedingungen war es möglich, hochkonzentrierte SLN- oder NLC-Systeme auf Basis heterogen zusammengesetzter Lipide mit ausgeprägter Beladungskapazität für Fremdstoffe zu entwickeln. Eine hohe Viskosität der Formulierungen während der Herstellung, sowie die eingeschränkte Beheizbarkeit des diskontinuierlichen Homogenisators führten jedoch zu einer ungenügenden Reproduzierbarkeit der Proben. Das Problem der mangelnden Redispergierbarkeit der halbfesten Systeme und den damit verbundenen Einschränkungen bezüglich einer exakten Partikelgrößenanalytik konnte für Imwitor 900 durch Vordispergierung in 0,5 %iger SDS-Lösung behoben werden. Eine Inkorporierung von 10 % Cyclosporin A bezogen auf die Lipidmasse war problemlos möglich. An Tag 1 nach Herstellung konnten in keiner der hergestellten Proben Arzneistoffkristalle detektiert werden. Aggregationserscheinungen und Partikelwachstum während langfristiger Lagerung wurden durch Erhöhung des Lipidgehaltes und die daraus resultierende Fixierung der Partikel in einem kohärenten Netzwerk analog Lippacher nicht vermieden. Die Formulierungen zeigten statt dessen eine den flüssigen Dispersionen vergleichbare Langzeitstabilität.

Bei gekühlter Lagerung war es jedoch trotz leichter Aggregatbildung möglich, einen Ausstoß von Arzneistoff aus 40 %igen Imwitor-SLN dauerhaft (>1 Jahr) zu verhindern. Die Beladungskapazität von Compritol lag dagegen deutlich niedriger, so daß eine langfristige Stabilisierung in der entsprechenden SLN-Formulierung nicht gegeben war. Eine Erhöhung der Beladungskapazität der Compritol-Formulierungen war auch bei den halbfesten Systemen durch Einarbeitung einer Ölkomponente mit besseren Lösungseigenschaften für den verwendeten Wirkstoff möglich. Hochkonzentrierte Octyldodecanol / Compritol-NLC mit einem Ölgehalt $\geq 25\%$ waren darüber hinaus gut streichfähig und zeigten bei Kühlung über mindestens ein Jahr weder Arzneistoffkristallisation noch Aggregation der Partikel. Hinsichtlich ihrer Langzeitstabilität ist dementsprechend im direkten Vergleich von Imwitor-SLN und Compritol-NLC den NLC der Vorzug zu geben.

Es war außerdem möglich, durch Verwendung von flüssigen Lipiden mit unterschiedlichem Lösungsvermögen für Cyclosporin A (Octyldodecanol, ungesättigte Fettsäuren) eine direkte Korrelation der Arzneistoff-Löslichkeit mit der Beladungskapazität der resultierenden Imwitor-NLC herzustellen. Die größere chemische Ähnlichkeit der Fettsäuren mit den Imwitor-Glyceriden führte jedoch nicht zu einer verbesserten Ölinkorporierung im Vergleich zu den Octyldodecanol enthaltenden Partikeln.

Während hoch- und niedrigkonzentrierte Formulierungen hinsichtlich ihrer Lagerstabilität große Ähnlichkeiten aufwiesen, war das Trocknungsverhalten insbesondere der Compritol-Proben stark von deren Lipidgehalt abhängig. Mit zunehmender Lipidkonzentration nahm die Kristallinität der Glyceride während des Trocknungsprozesses ab. Dies wurde mit der eingeschränkten Evaporation des Dispersionsmediums Wasser erklärt. Zu Beginn der Trocknung in dünner Schicht gehen im offenen System die Wassermoleküle der Grenzfläche in den gasförmigen Zustand über. Die Lipidpartikel dieser Schicht bilden anschließend eine Verdunstungsbarriere für tiefergelegene Wassermoleküle. Da zusätzlich die Beweglichkeit der Glyceride bei höheren Temperaturen zunimmt, bilden sich die energiereichen Lipidmodifikationen aus. Mit zunehmender Ölbeladung zeigten die Formulierungen dagegen wieder verstärkte Kristallisationstendenzen. Die Viskosität der Systeme wurde durch den Ölzusatz geringer, die Bildung eines Oberflächenfilms wurde behindert und die Wasserevaporation entsprechend weniger eingeschränkt.

Bezüglich der Arzneistofffreisetzung zeigten die hochkonzentrierten Systeme analog den flüssigen Dispersionen zunächst einen initialen Burst gefolgt von einer Abnahme des Flux. Die Höhe des Burst konnte mit der vorliegenden Arzneistoffsättigung der Lipide erklärt werden, die starke Reduktion des Flux mit einer zunehmenden Diffusionsbehinderung durch die festen Partikel und deren Filmbildung.