

2 Materialien und Methoden

2.1 Herstellung von Nanodispersionen

2.1.1 Grundlagen der Hochdruckhomogenisation

Die Hochdruckhomogenisation ist ein Verfahren zur Herstellung von fein verteilten Dispersionen, das um die Jahrhundertwende entwickelt wurde. Heute wird es sowohl in der Lebensmittel- als auch in der pharmazeutischen Industrie im Großmaßstab eingesetzt. Es dient beispielsweise der Verhinderung des Aufrahmens der Fettphase in der Milch [67] oder der Herstellung von stabilen Fettemulsionen zur parenteralen Ernährung [68].

Bei der Hochdruckhomogenisation wird eine vordispergierte Rohdispersion unter hohem Druck durch einen engen Spalt gepreßt und anschließend schlagartig wieder entspannt. Aufgrund der dabei auftretenden starken Turbulenzen wird die disperse Phase durch Scher- und Prallwirkungen zerkleinert. Ein weiterer, noch wichtigerer Zerkleinerungsmechanismus ist die Kavitation. Darunter versteht man die Bildung und nachfolgende schlagartige Kondensation von Dampfblasen in strömenden Flüssigkeiten, hervorgerufen durch Geschwindigkeitsänderungen.

Nach dem Prinzip von Bernoulli ist in einem durchströmten System die Summe aus statischem und dynamischem Druck konstant. Preßt man nun eine Flüssigkeit durch einen engen Spalt, so steigt aufgrund des abnehmenden Strömungsquerschnittes die Fließgeschwindigkeit und somit der dynamische Druck stark an. Gleichzeitig sinkt dadurch der statische Druck ab. Unterschreitet er dabei den Dampfdruck der strömenden Flüssigkeit, beginnt diese zu siedeln und Gasblasen entstehen. Nach Passieren des Homogenisationsspaltens erweitert sich der Strömungsquerschnitt erheblich, was zu einer schlagartigen Veränderung der Druckverhältnisse führt. Der dynamische Druck sinkt ab und der statische Druck steigt wieder an. Es kommt zur Implosion der entstandenen Gasblasen, bei der energiereiche Stoßwellen entstehen, die zur Zerkleinerung der dispersen Phase führen.

Es müssen meist mehrere Homogenisationszyklen nacheinander durchlaufen werden, da die entstandene Oberfläche der dispersen Phase so groß ist, daß die bereits in der Grenzfläche befindlichen Tensidmoleküle nicht in der Lage sind, durch Umverteilung in die neue Oberfläche diese ausreichend zu stabilisieren (Marangoni-Effekt) [68]. Es ist viel mehr notwendig, daß neue Tensidmoleküle aus dem Dispersionsmedium in die Grenzfläche einwandern. Da dieser Vorgang aufgrund der limitierten

Wanderungsgeschwindigkeit der Moleküle zu lange dauert, kommt es zu einer teilweisen Aggregation der Partikel, die mit dem nächsten Zyklus wieder aufgebrochen werden kann.

Die für die jeweilige Dispersion kleinste zu erreichende Partikelgröße ist jedoch abhängig von der in der Dispergierzone eingesetzten Leistungsdichte. Unter Leistungsdichte versteht man die pro Zeit- und Volumeneinheit in der Dispergierzone dissipierte Energie. Bei einem Kolben-Spalt-Homogenisator liegt die Leistungsdichte bei 10^{12} bis 10^{13} W/m³.

Die im Rahmen dieser Arbeit eingesetzten Laborhomogenisatoren sind ein kontinuierlich und ein diskontinuierlich arbeitender Micron LAB 40. Beide Maschinen können mit Homogenisierdrücken zwischen 100 und 1500 bar gefahren werden. Das homogenisierbare Volumen des diskontinuierlichen Homogenisators beträgt 20 ml bis 40 ml, der kontinuierliche Micron LAB 40 kann Ansätze von 100 ml bis 500 ml verarbeiten. Bei beiden ist lediglich der Homogenisationsblock beheizbar.

Für die Produktion von SPN wurde zusätzlich ein modifizierter Micron LAB 60 verwendet. Dieser Homogenisator hat eine Ansatzgröße von 1 l bis 10 l, ein Pumpvolumen von 60 l/h und kann mit Homogenisierdrücken zwischen 100 und 700 bar gefahren werden. Damit das Produkt während der Produktion konstanten Temperaturbedingungen unterliegt sind Homogenisationsblock, Auffangbehälter und Rohrleitungssysteme getrennt voneinander beheizbar. Das erleichtert die Produktion von SPN erheblich. Eine weitere Besonderheit ist der zweistufige Homogenisationsprozeß, bei dem zwei Homogenisationsventile direkt hintereinander geschaltet sind. Die erste Stufe dient der eigentlichen Dispergierung und erzeugt Drücke bis 700 bar. Die zweite Stufe verfügt nur noch über ca. 10 % des Druckes und verhindert dadurch die Agglomeratbildung der homogenisierten Dispersion.

2.1.2 Herstellung von Nanosuspensionen mittels Hochdruckhomogenisation

Bei der Herstellung von Nanosuspensionen mittels Hochdruckhomogenisation läßt sich die Qualität des Produktes durch viele Parameter beeinflussen [25, 67].

Die Eigenschaften des eingesetzten Arzneistoffes sind für die Partikelgrößenverteilung der resultierende Nanosuspension besonders wichtig. Die Kristallhärte ist ein Maß dafür, wie gut sich eine kristalline Substanz zerkleinern läßt. Je höher der Härtegrad ist, desto mehr Energie muß aufgewendet werden um die Kristallstruktur aufzubrechen und die Partikel zu zerkleinern. Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Partikelgröße des Ausgangsmaterials. Je kleiner die Partikel zu Beginn der Homogenisation sind, desto weniger Zyklen werden bei der Herstellung benötigt. Um injizierbare Suspensionen herzustellen sollte daher nach Möglichkeit luftstrahlgemahlene Sub-

stanz eingesetzt werden, da es andernfalls auch nach der Hochdruckhomogenisation noch zu einem unerwünschten Restgehalt an Mikropartikeln $>5 \mu\text{m}$ kommen kann. Eine in dieser Hinsicht schwankende Qualität des eingesetzten Arzneistoffes, besonders, wenn dieser zusätzlich über eine große Kristallhärte verfügt, beeinflusst die Reproduzierbarkeit der Homogenisation in erheblichem Maße [20].

Weitere Ansatzpunkte zur Beeinflussung des Homogenisationsergebnisses bietet die zur Herstellung der Nanosuspension verwendete Formulierung. Zeng et al. konnten zeigen, daß bei Naßmahlverfahren die Zerkleinerungseffektivität mit zunehmender Feststoffkonzentration bis zu einem gewissen Grad ansteigt, bei zu hoher Konzentration jedoch wieder abfällt, so daß die eingesetzte Arzneistoffkonzentration von großer Wichtigkeit ist [69]. Für die physikalische Stabilität des Systems spielt die Grenzflächenspannung eine entscheidende Rolle. Aufgrund der, durch die starke Zerkleinerung entstandenen, enormen Oberfläche ist die Grenzflächenenergie des Systems sehr hoch. Um diese Energie zu reduzieren, neigt das System zu einer Verkleinerung der Oberfläche durch Aggregation der Partikel. Durch den Zusatz geeigneter Tenside in optimaler Konzentration läßt sich die Grenzflächenspannung drastisch absenken und somit die Aggregationsneigung minimieren. Darüber hinaus lassen sich Sedimentation und Aggregation auch durch die Viskosität der kontinuierlichen Phase und die Dichtedifferenz zwischen innerer und äußerer Phase beeinflussen.

Schließlich bleiben noch die Prozeßparameter zu nennen. Mit Hilfe von Homogenisationsdruck, Anzahl der Zyklen und der Produktionstemperatur kann ebenfalls Einfluß auf die Partikelgröße der resultierende Nanosuspension genommen werden. Der eingesetzte Druck bestimmt die Energiemenge, die während der Homogenisation in das System eingebracht wird. Diese kann im Übermaß bei weicheren Systemen wie beispielsweise SLN zu einer Verschlechterung des Ergebnisses führen, wird aber im Allgemeinen bei Nanosuspensionen sehr hoch gewählt, um die harten Kristallstrukturen aufbrechen zu können. Dies geht bei einigen Substanzen schneller bei anderen langsamer, so daß die Zahl der Homogenisationszyklen ebenfalls variiert werden muß. Nach einer gewissen Zahl von Zyklen erreicht man die Grenzdispersität, d.h. die geringste durchschnittliche Teilchengröße, die mit einer gegebenen Rezeptur erreicht werden kann, so daß weitergehende Homogenisation keinen zusätzlichen Effekt bringt.

Die Herstellung einer Nanosuspension folgt immer dem gleichen Schema. Zuerst wird der Arzneistoff mit der entsprechenden Tensidlösung angerieben. Dabei sollte auf eine gründliche Benetzung der Feststoffpartikel und eine weitestgehende Zerkleinerung von Aggregaten geachtet werden. Nur so kann eine effektive Homogenisation mit der erwarteten Partikelgrößenverteilung erreicht werden. Anschließend wird diese Mischung mit Hilfe eines Ultra-Turrax bei 9500 rpm für eine Minute dispergiert. Dieser Prämix wird dann bei 150 bar und bei 500 bar jeweils 2 Zyklen homogenisiert, um eventuell noch vorhandene Aggregate zu zerstören und sehr große Parti-

kel aufzubrechen, welche bei hohen Drücken zu einer Verstopfung des Ventils führen könnten. Schließlich erfolgt die Haupthomogenisation meist bei 1500 bar über mindestens 10 bis maximal 20 Zyklen.

2.1.3 Herstellung von Solid Polymer Particles (SPN) mittels Hochdruckhomogenisation

Die Herstellung von Solid Polymer Nanoparticles (SPN) erfolgt analog der im vorangegangenen Kapitel beschriebenen Herstellung von Nanosuspensionen. Es wird ebenfalls ein Prämix hergestellt, der mit Hilfe des Ultra-Turrax dispergiert und anschließend bei 150 bar und 500 bar vorhomogenisiert wird, bevor die eigentliche Homogenisation bei höheren Drücken beginnt.

Die Eigenschaften der eingesetzten Ausgangsstoffe sind jedoch, wie bereits in Kapitel 1.3.2 beschrieben, vollkommen andere. Polymere sind Makromoleküle, welche aus einer großen Anzahl von Monomeren bestehen. Die Struktur dieser Monomere, die Art der Vernetzung und der Grad ihrer Quervernetzung bestimmen u. a. die Eigenschaften des Polymers. Aufgrund ihrer Struktur liegen Polymere selten in vollständig kristalliner Form vor. Meist befinden sie sich in ganz oder teilweise amorphem Zustand. Das bedeutet, daß sie keinen definierten Schmelzpunkt sondern einen Erweichungsbereich (Glasübergangstemperatur (T_g)) besitzen.

Es wurde bisher davon ausgegangen, daß eine erfolgreiche Zerkleinerung der Polymere nur in flüssigem oder erweichtem Zustand – sprich oberhalb der Glasübergangstemperatur – erfolgen kann [59, 60].

Wie man erkennt, spielt demzufolge die Prozeßtemperatur anders als bei der Produktion von Nanosuspensionen bei der Herstellung von SPN eine entscheidende Rolle. Bei einem Großteil der SPN-Dispersionen wurde dieses Konzept zur Herstellung ebenfalls verfolgt. Analog der Herstellung von Solid Lipid Nanoparticles (SLN) [70] erfolgte die Homogenisation der Polymere im flüssigen bzw. erweichten Zustand, d. h. nach Aufheizen des Hochdruckhomogenisators in den Bereich der T_g .

Bezüglich der Fragestellung, ob manche Polymere sich nicht eventuell besser zerteilen lassen, so lange sie weit unterhalb ihrer Glasübergangstemperatur d. h. hart und spröde vorliegen, wurde im Rahmen dieser Arbeit jedoch auch bei niedrigen Temperaturen unter Kühlung des Homogenisators gearbeitet. Ein Vorteil dieser Methode wäre, daß Polymere, die, wie zum Beispiel Ethylcellulose, eine hohe T_g aufweisen, trotzdem als wässrige Polymerdispersionen hergestellt werden könnten, obwohl bei wässrigen Polymerdispersionen aufgrund des Dispersionsmittels Wasser die Temperatur auf 100°C begrenzt ist und ein übermäßiger Zusatz von Weichmachern die retardierenden Eigenschaften der Polymere stark einschränken kann.

Bei der Herstellung wäßriger Schellack-Dispersionen wurde analog Specht das Rohmaterial vor der Homogenisation durch Zugabe von NaOH in eine wasserlösliche Form überführt und anschließend aus der wäßrigen Lösung durch HCl-Zugabe ausgefällt. Weitere Details sind Kapitel 6 zu entnehmen.

2.1.4 Produktkontamination durch Schwermetallabrieb während der Herstellung

Wie bei den verschiedenen Herstellungsverfahren für Nanosuspensionen (Kapitel 1.2.5) schon erwähnt wurde, kann die Kontamination des Produktes durch Materialabrieb der Produktionsmaschinen während der Herstellung ein Problem darstellen. Besonders bei den Naßmahlverfahren kommt es durch das ständige Reiben der Mahlperlen aneinander in Abhängigkeit von der Mahldauer, die bis zu einer Woche betragen kann, zu einem Materialabrieb der Perlen. Bei dieser Herstellungsvariante werden Mahlkörper aus Glas, Zirkoniumoxid oder auch Polystyrenen verwendet. Dies sind Substanzen, welche peroral appliziert in geringen Mengen für den Organismus toxikologisch wenig bedenklich sind, allerdings bei parenteraler Anwendung, aufgrund der fehlenden biologischen Abbaubarkeit, ein Problem darstellen.

Anders verhält es sich bei der Hochdruckhomogenisation. Bei diesem Verfahren wird die Dispersion mit hohem Druck kurzzeitig durch einen engen Homogenisationsspalt von nur wenigen Mikrometern Breite gepreßt. Die verwendeten Geräte bestehen größtenteils aus Stahl, so daß bei einem Abrieb der produktberührenden Teile Partikel von Schwermetallen in das Produkt gelangen könnten. In der pharmazeutischen Industrie ist das Verfahren der Hochdruckhomogenisation jedoch eine schon seit Jahren etablierte Methode zur Herstellung von Fettemulsionen zur parenteralen Ernährung. Die große Zahl zugelassener Präparate auf dem Markt zeigt, daß die Produktkontamination mit Schwermetallen während der Emulsionsherstellung kein Problem darstellt.

Das läßt sich jedoch nicht bedenkenlos auf die Herstellung von Nanosuspensionen übertragen, da beispielsweise verglichen mit der Emulsionsherstellung, viel höhere Drücke benötigt werden (bis zu 1500 bar). Darüber hinaus enthalten die Suspensionen harte, kristalline Substanzpartikel im Gegensatz zu den flüssigen Öltropfen der Emulsionen. Dadurch sind die während der Herstellung auftretenden Reibungskräfte zwischen den Partikeln und dem Metall im Homogenisationsspalt viel stärker ausgeprägt. Aufgrund dieser Tatsachen erscheint es möglich, daß durch die Arzneistoffkristalle Metallionen oder -partikel aus dem Homogenisationsventil herausgeschlagen werden könnten, welche dann zu einer Kontamination des Produktes mit Schwermetallen führen würde.

Die Überwachung von Schwermetallverunreinigungen in der pharmazeutischen Industrie hat in der vergangenen Zeit immer mehr zugenommen und, obwohl es für die

meisten Schwermetalle keine genau definierten Richtlinien für den Gehalt in Parenteralia gibt, wäre es wünschenswert, im Rahmen der Qualitätssicherung bei Arzneimitteln die Kontaminationsrate in akzeptablen Grenzen zu halten.

Um zu untersuchen ob und in welchem Ausmaß Schwermetalle während der Produktion von Nanosuspensionen mit einem Micron LAB 40 Hochdruckhomogenisator in das Produkt gelangen können, wurden verschiedene Proben hergestellt.

Als erstes wurde Milli Q-Wasser 50 Zyklen bei 1500 bar homogenisiert, um festzustellen, ob es aufgrund der hohen Drücke auch ohne suspendierte Partikel schon zu Metallabrieb kommt.

Bei der zweiten Probe handelt es sich um einen 40 ml Ansatz einer 5 %igen Nanosuspension des Arzneistoffs RMKK98 in einer 1 %igen Lösung von Poloxamer 188. Diese wurde mit Hilfe eines Ultra-Turrax 60 Sekunden bei 9500 rpm vorhomogenisiert. Anschließend wurde sie jeweils 2 Zyklen mit 150 bzw. 500 bar homogenisiert, um eine schonendere Zerkleinerung großer Partikel zu erreichen. Als letztes wurde die Suspension 10 Zyklen mit 1500 bar homogenisiert.

Um an das Homogenisationsventil höheren Anforderungen zu stellen, wurde als dritte Probe ein 40 ml Ansatz einer 5 %igen Nanosuspension mit Bariumsulfat hergestellt. Bariumsulfat besitzt eine relativ hohe Kristallhärte. Dadurch wird das Material des Homogenisators besonders stark beansprucht und die Wahrscheinlichkeit für Materialabrieb erhöht. Die Herstellung erfolgte analog zu Probe 2 nur wurden um die Belastung für das Material zu erhöhen, nicht 10 sondern 20 Homogenisationszyklen bei 1500 bar gefahren.

Als vierte Probe wurde ein 450 ml Ansatz einer 10 %igen Suspension mit Azodicarbonamid hergestellt. ADA ist ebenfalls ein kristalliner Stoff mit einer großen Kristallhärte, so daß auch hier größte Belastungen für das Ventil entstehen, die, aufgrund der Ansatzgröße von 450 ml, über eine lange Zeit anhalten. Die Herstellung erfolgte analog zu Probe 3 also ebenfalls mit 20 Zyklen bei 1500 bar allerdings wurde hier bedingt durch die Chargengröße ein Micron LAB 40 im kontinuierlichen Modus verwendet.

Tabelle 2-1: Zusammensetzung des Stahls der Homogenisatoren

Standard No.	C < %	Si < %	Mn < %	Fe %	Cr %	Mo %	Ni %	Cu %
1.4401	0,07	1,00	2,00	62,5 – 68,0	16,5 – 18,5	2,0 – 2,5	10,5 – 13,5	-
1.4542	0,07	1,00	1,00	70,0 - 77,0	15,0 – 17,0	-	3,0 – 5,0	3,0 – 5,0

Die produktberührenden Teile der Homogenisatoren bestehen aus rostfreiem Stahl (Standard-Nr. 1.4401 und 1.4542, die genaue Zusammensetzung ist in Tabelle 2-1 dargestellt). Um Metallabrieb in den Nanosuspensionen nachzuweisen, wurde Eisen als Referenzmetall ausgewählt, weil es das Metall mit dem größten Anteil in den verwendeten Stahlsorten ist und daher am besten geeignet ist analytisch erfaßt zu werden.

Die Eisenkonzentrationsbestimmung wurde mittels Flammen-Atomabsorptionsspektroskopie durchgeführt. Das verwendete Gerät war ein PU 9100X Atomabsorptionsspektrometer (Philips GmbH, Deutschland) mit einer 15 mA Fe-Hohlkathodenlampe (Philips GmbH, Deutschland) betrieben mit 12 mA. Die Absorption wurde bei einer Wellenlänge von 248,3 nm gemessen mit einem Detektionsspalt von 0,2 nm Breite. Das Brenngas war eine Mischung aus Luft und Acetylen im Verhältnis 1:1.

Als Referenz diente eine Eisenstandardlösung, die mit Hilfe einer Eisen-Standardlösung Titrisol® 1,000g \pm 0,002g Fe in 15 %iger Salzsäure (Merck KgaA, Deutschland) hergestellt wurde. Mit dieser Lösung wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt, die Eisenionen in den Konzentrationen von 0,1 $\mu\text{g/ml}$ bis 100 $\mu\text{g/ml}$ enthielt. Durch Analyse der einzelnen Verdünnungsschritte sollte die untere Nachweisgrenze der Methode und der lineare Konzentrationsbereich ermittelt werden. Es zeigte sich, daß sich der lineare Meßbereich zwischen 1 $\mu\text{g/ml}$ und 30 $\mu\text{g/ml}$ befand, wie man an der Kalibrationsgeraden in Abbildung 2-1 sehen kann.

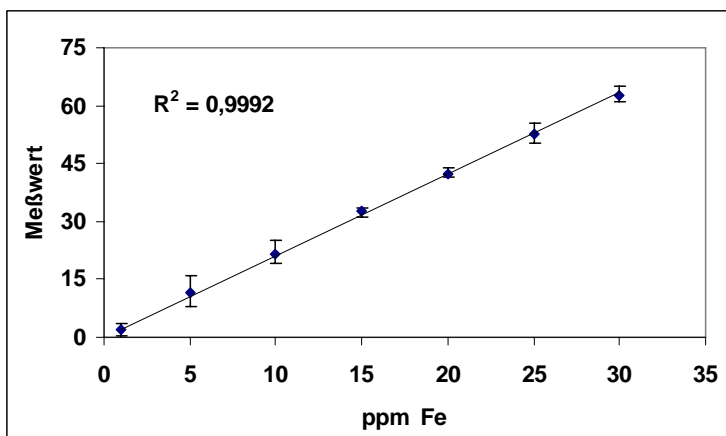


Abbildung 2-1: Kalibrationsgerade zur Eisenbestimmung mittels AAS, erstellt mit Hilfe einer standardisierten Eisenlösung.

Da die Proben während der Messung durch eine feine Düse in die Flamme gesprüht wurden, war es zwingend notwendig, daß sie keine Partikel enthielten, die zu einer

2 Materialien und Methoden

Verstopfung der Düse hätten führen können. Es handelte sich jedoch bei fast allen Proben um Nanosuspensionen, so daß diese zuvor aufbereitet werden mußten. Des weiteren kann Eisen mittels AAS nur in ionischer Form nachgewiesen werden. Daher mußten die möglicherweise vorhandenen Metallpartikel vorher in Ionen überführt werden.

Zu diesem Zweck wurden alle Proben der gleichen Prozedur unterworfen. Sie wurden mit 60 ml Königswasser (rauchende Salzsäure, 37 % und rauchende Salpetersäure, 100 % im Verhältnis 3+1 v/v) versetzt und vorsichtig zur Trockne eingedampft. Die Rückstände wurden anschließend noch zweimal mal in jeweils 30 ml Königswasser aufgelöst und wieder zur Trockne eingedampft. Abschließend wurden die Rückstände in 7 %iger Salzsäure gelöst und der Atomabsorptionsspektroskopie zugeführt. Anschließend wurden alle Proben so weit verdünnt, daß ihre Absorptionen im linearen Bereich lagen und jeweils 4 aufeinanderfolgende Messungen durchgeführt.

Probe 1	reines Milli Q Wasser (nicht homogenisiert)
Probe 2	reines Milli Q Wasser 50 Zyklen bei 1500 bar homogenisiert
Probe 3	5 %ige RMKK98 Nanosuspension 10 Zyklen bei 1500 bar homogenisiert
Probe 4	5 %ige Bariumsulfat Nanosuspension 20 Zyklen bei 1500 bar homogenisiert
Probe 5	10 %ige ADA Nanosuspension 20 Zyklen bei 1500 bar homogenisiert
Probe 6	Salzsäure 7 %
Probe 7	25 ppm Eisen Standardlösung

Die unter Berücksichtigung der notwendigen Verdünnung ermittelten Konzentrationen an Eisenionen sind in Abbildung 2-2 ersichtlich.

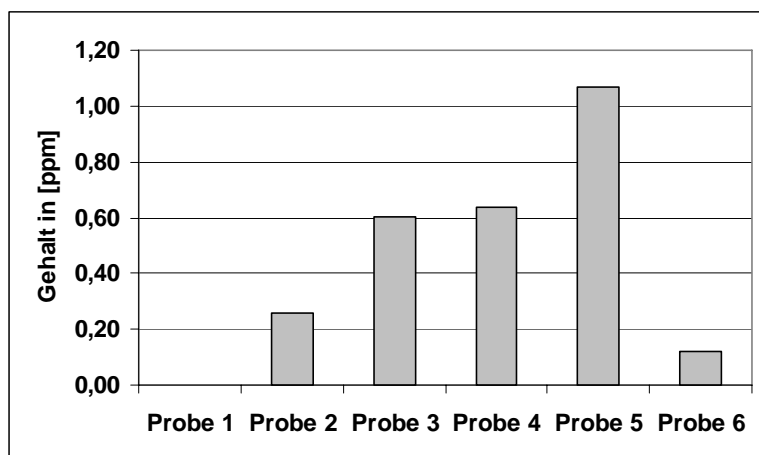


Abbildung 2-2: Konzentration an Eisenionen in den verschiedenen Proben in ppm.

In Probe 1, dem reinen, unbehandelten Milli-Q Wasser ließen sich bei diesem Versuch wie zu erwarten keine Eisenionen nachweisen. Wird das Wasser dagegen über 50 Zyklen bei 1500 bar homogenisiert (Probe 2), läßt sich eine sehr geringe Belastung von 0,26 ppm nachweisen. Daran kann man erkennen, daß der Abrieb sogar unter extremen Produktionsbedingungen (maximaler Druck über 50 Produktionszyklen) nur sehr gering ist. Bei den Proben 3 und 4 handelt es sich um Nanosuspensionen, die unter Standardbedingungen hergestellt wurden. Wie man hier sehen kann, ist der Abrieb während der Produktion durch die in der Flüssigkeit suspendierten Partikel deutlich stärker als bei Probe 2, allerdings ist die Kontamination der Proben mit 0,62 und 0,66 ppm immer noch sehr gering. Der 450 ml Ansatz von Azodicarbonamid, der für Probe 5 verwendet wurde, stellte aufgrund der Härte der Substanz und der sehr großen Produktionsdauer die härtesten Anforderungen an das Material. Daher sieht man hier auch mit 1,07 ppm die höchste Schwermetallkontamination von allen. Bei der verwendeten Salzsäure ließen sich immerhin auch 0,12 ppm Eisen nachweisen. Da diese Säure zum Auffüllen aller Proben verwendet wurde, müßte dieses Resultat als Blindwert von allen anderen Werten abgezogen werden. Probe 7, die Eisenstandardlösung als Referenz, ist in Abbildung 2-2 aus Gründen der Darstellbarkeit weggelassen worden. Von den eingesetzten 25,0 ppm wurden 24,18 ppm wiedergefunden. Dieses Ergebnis zeigt, daß die Behandlung der Proben während der Aufarbeitung zu keinem nennenswerten Eisenverlust geführt hat.

2.1.4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse zur Produktkontamination durch Schwermetallabrieb

Wie schon vorher erwähnt, gibt es noch keine allgemein definierten Grenzwerte für Schwermetalle in Parenteralia, weder im deutschen Arzneibuch noch in anderen Pharmacopoen. Für einige intravenös injizierbare Lösungen basieren die Richtlinien auf den Grenzwerten des Bulkmaterials der Ausgangsstoffe, die eigene Monographien im Arzneibuch haben. Die hier erhaltenen Daten belegen, daß trotz der extremen Produktionsbedingungen (kristalline Partikel, hoher Druck, viele Zyklen) der Metallabrieb während der Produktion sehr gering ist, in der Regel unter 1 ppm. Verglichen mit der Monographie für Wasser für Injektionszwecke, in der Grenzwert für Schwermetalle auf 0,1 ppm festgesetzt wird, ist die Konzentration in den Nanosuspensionen recht hoch. Allerdings ist das Volumen der Nanosuspensionen, das für eine Injektion benötigt wird viel geringer als beispielsweise bei parenteraler Ernährung. Von Nanosuspensionen braucht man nur wenigen Milliliter im Gegensatz zu einem Liter Fettemulsion. Würde man die Nanosuspension auf das gleiche Volumen verdünnen, so wäre die Schwermetallkontamination weit unterhalb der Grenzwerte.

2.2 Charakterisierung von Nanodispersionen

2.2.1 Laserdiffraktometrie

Die Laserdiffraktometrie (LD) ist ein Partikelgrößenmeßverfahren, das auf dem Prinzip der Lichtbeugung an dispergierten Teilchen beruht. Als Lichtquelle dient z.B. ein Helium-Neon-Laser, der mit Hilfe eines optischen Systems aufgeweitet wird. Werden nun dispergierte Teilchen in den Strahl eingebracht, so kommt es zur Beugung des Laserlichtes, wobei jedes Teilchen ein für seine Form und Größe charakteristisches, radialsymmetrisches Fraunhofer-Beugungsspektrum erzeugt. Mittels einer Fourier-Linse werden diese Spektren unabhängig von der Partikelposition im Meßvolumen immer zentriert auf einem Detektor in der Brennebene der Linse abgebildet. Der zur Detektion verwendete Multielementdetektor besteht aus Ringsegmenten, mit deren Hilfe die Intensität der verschiedenen Beugungsspektren erfaßt werden kann. Aufgrund ihrer stark gekrümmten Oberfläche beugen kleine Teilchen das Licht stärker und führen somit zu größeren Beugungswinkeln als große Teilchen. Das bedeutet, daß die Intensität der Beugungsspektren von kleinen Teilchen auf den äußeren Ringsegmenten größer ist, die von großen auf den inneren.

Da jede Partikelgröße ein charakteristisches Beugungsspektrum erzeugt, kommt es bei der Messung von polydispersen Dispersionen zu Überlagerung vieler Spektren. Daher kann die Berechnung der Partikelgrößenverteilungen aus den Intensitätsverteilungen auf den Ringsegmenten nur mittels mathematischer Modelle erfolgen. Die Fraunhofer-Theorie geht dabei von kugelförmigen Partikeln aus, deren Durchmesser deutlich größer ist als die Wellenlänge des verwendeten Lichtes ($d > 4\lambda$). Bei Verwendung eines He-Ne-Lasers mit einer Wellenlänge von $\lambda = 633 \text{ nm}$ ist daher eine Messung im Bereich unterhalb von $2,5 \mu\text{m}$ mit Fehlern behaftet. Ein anderes Modell ist die Theorie nach Mie, die auch im Submikronbereich korrekte Werte liefert. Allerdings ist hier zur Berechnung die Kenntnis des Absorptionsvermögens der dispergierten Partikel sowie die Brechungsindices von Partikeln und Dispersionsmedium erforderlich.

2.2.2 Photonenkorrelationsspektroskopie

Die Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) ist ein bewährtes Verfahren zur Partikelgrößenbestimmung kolloidaler Systeme. Sie gehört zu den dynamischen Laserstreuungsverfahren und hat einen Meßbereich von ca. 5 nm bis $5 \mu\text{m}$. Das Meßprinzip beruht auf der Detektion von Intensitätsschwankungen des durch die Partikel gestreuten Lichtes. Diese werden meist senkrecht zur Einstrahlrichtung, d.h. in einem Winkel von 90° erfaßt. Bei speziellen Fragestellungen können Mehrwinkel-

analysen Aufschluß geben, da unterschiedliche Partikelgrößen je nach Meßwinkel zu verschiedenen Streulichtintensitäten führen. So läßt sich die Auflösung beispielsweise beim Vorhandensein zweier Populationen noch verbessern.

Da die Partikel im Meßvolumen aufgrund ihrer ungerichteten Bewegung (Diffusion) infolge der Brownschen Molekularbewegung des Dispersionsmittels ständig ihre Lage zueinander verändern, kommt es zu zeitabhängigen Schwankungen der Intensität des gestreuten Lichtes. Diese sind abhängig von der Partikelgröße, da kleinere Partikel eine höhere Diffusionsgeschwindigkeit besitzen als größere und somit zu stärkeren Schwankungen der Streulichtintensität führen. Der Zusammenhang zwischen Partikelgröße und Diffusionskonstante wird in der Stokes-Einstein-Gleichung beschrieben.

$$r = \frac{k \cdot T}{6\pi\eta D}$$

r	mittlerer Teilchenradius	η	dynamische Viskosität
k	Boltzmannkonstante	D	Diffusionskonstante
T	absolute Temperatur		

Zur Bestimmung der Diffusionskonstante wird aus den zeitlichen Schwankungen der Streulichtintensität mit Hilfe eines Korrelators eine Korrelationsfunktion berechnet, an die eine theoretische Korrelationsfunktion vom Typ $g(\tau)$ angepaßt wird.

$$g(\tau) = e^{-2DK^2\tau}$$

D	Diffusionskonstante	τ	Verzögerungszeit
K	Betrag des Streulichtvektors		

Da Verzögerungszeit und Streulichtvektor durch die Meßbedingungen vorgegeben sind, läßt sich die Diffusionskonstante ermitteln. Unter der Annahme, daß es sich um kugelförmige Teilchen handelt kann nun mit Hilfe der Stokes-Einstein-Gleichung der mittlere Teilchenradius berechnet werden.

Die Grenze des Meßbereiches der PCS bei ca. 5 μm läßt sich dadurch erklären, daß die Bewegung größerer Teilchen nicht mehr allein diffusionskontrolliert erfolgt, da sich die Teilchen oberhalb dieses Größenbereiches aufgrund der einsetzenden Sedimentation zunehmend auch in vertikaler Richtung bewegen. Die resultierende Geschwindigkeit der Partikel ist demnach die Summe aus Diffusion und Sedimentation, d. h. es wird nicht mehr allein die Diffusionsgeschwindigkeit gemessen, welche jedoch zur Berechnung von r erforderlich ist. Wenn die Dichtedifferenz zwischen Parti-

keln und Dispersionsmedium sehr groß ist, kann dieser Effekt schon bei kleineren Partikeln auftreten.

Als Ergebnis erhält man bei der PCS neben dem mittleren Partikeldurchmesser der Hauptpopulation den Polydispersitätsindex (PI), der ein Maß für die Breite der Verteilung darstellt. Er wird mathematisch aus der Abweichung der berechneten Korrelationsfunktion von der tatsächlich gemessenen ermittelt. Der PI kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen, wobei 0 der theoretische Wert für eine monodisperse Probe wäre. In der Praxis bezeichnet man Dispersionen mit einem $PI < 0,1$ als monodispers, Werte zwischen 0,1 und 0,3 deuten auf eine enge Verteilung hin und ein $PI > 0,5$ läßt auf eine so breite Verteilung schließen, daß die Messung praktisch nicht auswertbar ist. Eine ausführlichere Beschreibung der Theorie der PCS findet sich in der Literatur [71].

2.2.3 Zetapotential

Aufgrund der Größe der Oberfläche ihrer dispersen Phase haben Nanodispersionen eine ausgeprägte Neigung zur Aggregation. Elektrostatische Wechselwirkungen zwischen gleichnamig geladenen Partikeln sind daher ein entscheidendes Kriterium für ihre physikalische Stabilität. Dabei kann die Ladung der Partikel beispielsweise durch Dissoziation funktioneller Gruppen an der Partikeloberfläche aber auch durch Adsorption von Ionen aus dem Dispersionsmedium erzeugt werden.

Besitzt ein Partikel Ladungen auf seiner Oberfläche, so werden diese im Dispersionsmedium durch eine „Wolke“ aus Gegenionen kompensiert, der so genannten diffusen Schicht. In dieser fällt das Potential nach außen exponentiell ab. Geraten die Partikel in Bewegung, beispielsweise durch Schütteln oder auch Brownsche Molekularbewegung, wird, aufgrund der entstehenden Reibung, ein Teil der diffusen Schicht abgeschert. Das an der Scherebene entstehende Potential heißt Zetapotential.

Das Zetapotential kann durch viele Faktoren beeinflusst werden. Eine große Rolle spielt beispielsweise der pH-Wert, da durch Dissoziationsvorgänge die Oberflächenladung der Partikel verändert werden kann. Aber auch Konzentration und Wertigkeit der Gegenionen im Dispersionsmedium sind entscheidende Parameter, denn eine höhere Ladungskonzentration im Dispersionsmedium komprimiert die diffuse Schicht und senkt das Zetapotential.

Ein niedriges Zetapotential führt häufig zu einer Aggregation der dispersen Phase, weil sich die Partikel einander sehr stark nähern können, bevor das zur Abstoßung notwendige Potential wirksam wird. Wenn sie sich dann schon so nahe gekommen sind, daß Van-der-Waals-Anziehungskräfte wirksam werden, überwiegen diese und es kommt unweigerlich zur Agglomeration. Dazu muß man wissen, daß Van-der-Waals-Kräfte sehr stark sind, aber nur auf extrem kurzer Distanz wirken.

Um eine ausreichende Stabilität von Nanodispersionen zu erreichen sind Zetapotentiale von 30 mV erforderlich. Dabei ist es für die Stabilisierung ohne Bedeutung welches Vorzeichen das Potential trägt. Unterhalb von 30 mV ist die Aggregationsgefahr recht groß. Handelsübliche Fettemulsionen besitzen Werte zwischen 30 und 60 mV. Ausführliche Erläuterungen zu diesem Thema finden sich in der Literatur [72].

2.2.3.1 Laser-Doppler-Anemometrie

Zur Bestimmung des Zetapotentials einer Dispersion nutzt man ebenfalls ein optisches Laser-Streulichtverfahren, die Laser-Doppler-Anemometrie (LDA).

Bei dieser Methode wird von außen an die Probe ein elektrisches Feld angelegt, wodurch die geladenen Partikel in Bewegung versetzt werden und zur entgegengesetzt geladenen Elektrode wandern (Prinzip der Elektrophorese). Die Wanderungsgeschwindigkeit ist dabei von der Ladung der Teilchen und der angelegten Feldstärke abhängig. Durch die bei der Bewegung der Teilchen entstehende Reibung, wird ein Teil der diffusen Schicht abgeschert. Um vergleichbare, aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten, muß die äußere Feldstärke so hoch gewählt werden, daß eine maximale Abscherung erfolgt.

Ein Helium-Neon-Laser wird mit Hilfe eines Strahlenteilers in zwei Strahlen aufgeteilt und diese in der Meßzelle zum Schnitt gebracht, so daß ein Interferenzfeld entsteht. Das von den sich bewegenden Partikeln in Vorwärtsrichtung gestreute Licht wird von einem Photomultiplier detektiert. Im Unterschied zu stationären Partikeln kommt es bei der Streuung an sich bewegenden Partikeln zu einer Frequenzverschiebung des Streulichtes. In Bewegungsrichtung weist das Streulicht eine kleinere Frequenz auf als das eingestrahlte Licht entgegen der Bewegungsrichtung eine größere. Das läßt sich dadurch erklären, daß der Partikel bei seiner Bewegung die gestreuten Lichtwellen gewissermaßen vor sich her schiebt, was zu einer Verkleinerung der Wellenlänge und somit zu einer Erhöhung der Frequenz führt. Umgekehrt zieht der Partikel die Wellen hinter sich ein wenig in die Länge, was eine Abnahme der Frequenz zur Folge hat. Dieses Phänomen wird als Doppler-Effekt bezeichnet.

Da die Frequenzverschiebung proportional zur Bewegungsgeschwindigkeit des Teilchens ist, kann die Bewegungsgeschwindigkeit nach folgender Gleichung berechnet werden:

$$v = \frac{\lambda}{2 \sin(\Theta/2)} \cdot f_d$$

v Partikelgeschwindigkeit

$\Theta/2$ Streulichtdetektionswinkel

λ Wellenlänge

f_d Dopplerfrequenz

Setzt man die ermittelte Partikelgeschwindigkeit ins Verhältnis zur angelegten Feldstärke, so erhält man die elektro-phoretische Mobilität. Diese gibt die Geschwindigkeit des Teilchen und somit seine Ladung unabhängig von der experimentell angelegten Feldstärke an. Nach Helmholtz-Smoluchowski läßt sich daraus das Zetapotential berechnen.

$$ZP = EM \cdot \frac{4\pi\eta}{\varepsilon}$$

η	Viskosität des Dispersionsmittels	ZP	Zetapotential
ε	Dielektrizitätskonstante des Dispersionsmittels	EM	elektrophoretische Mobilität

Wie bei der PCS wird auch bei dieser Methode aus den zeitlichen Schwankungen der Streulichtintensität mittels eines Korrelators eine Korrelationsfunktion berechnet. Diese wird durch eine Fourier-Transformation in das Frequenzspektrum des gestreuten Laserlichts umgewandelt.

Aus diesen Informationen läßt sich allerdings das Vorzeichen der Partikelladung nicht ermitteln. Um das zu erreichen, wird die Frequenz des einen Laserstrahls um 250 Hz verschoben, so daß im Kreuzungsfeld der Strahlen ein wanderndes Interferenzfeld erzeugt wird. Die Geschwindigkeit des Feldes muß nun zur Partikelgeschwindigkeit hinzuaddiert bzw. von ihr abgezogen werden, je nachdem, ob sich das Teilchen mit dem Feld oder gegen das Feld bewegt. Auf diese Weise läßt sich das Vorzeichen der Ladung ermitteln.

2.2.4 Elektronenspinresonanzspektroskopie (ESR)

Die ESR ist in der Grundlagen- und Materialforschung eine gängige Untersuchungsmethode. Mit ihrer Hilfe lassen sich Informationen über paramagnetische Zentren, z. B. in Molekülen oder Halbleitern, gewinnen. Das Prinzip der ESR macht sich zunutze, daß ungepaarte Elektronen ein magnetisches Moment, den Spin, besitzen, der in einem äußeren Magnetfeld nach den Gesetzen der Quantenmechanik zwei diskrete, energetisch voneinander getrennte Zustände annehmen kann. Dies läßt sich klassisch mit der parallelen und antiparallelen Anordnung eines Stabmagneten in einem äußeren Magnetfeld vergleichen (z. B. Kompaß, Nord- und Südeinstellung) [73]. Die Größe der energetischen Aufspaltung hängt dabei linear von der Stärke des äußeren homogenen Magnetfeldes der Induktion B_0 ab (Zeeman-Effekt).

Zwischen den Energieniveaus können durch Einstrahlung eines elektromagnetischen Wechselfeldes Übergänge angeregt und vermessen werden. Im Bild des Stabmagneten bedeutet ein ESR Übergang die Drehung des Stabmagneten um 180° , was

auch als Spinflip bezeichnet wird. Es gilt hier jedoch die Resonanzbedingung, die besagt, daß die Mikrowellenenergie der Energiedifferenz zwischen beiden Spin-zuständen entsprechen muß, damit es zu einem Übergang kommen kann. Die Intensität der Übergänge ist dabei ein Maß für die Anzahl der paramagnetischen Zentren in der Probe. Aus der Linienform und -lage kann man auf die mikroskopische Struktur des paramagnetischen Zentrums schließen.

Da für eine ESR-Messung das Vorhandensein ungepaarter Elektronen zwingend erforderlich ist, können nur paramagnetische Stoffe (d. h. mit einem permanenten magnetischen Dipolmoment) oder freie Radikale detektiert werden. Um sogenannte ESR-stumme Proben für Messungen zu erschließen, werden in diese jedoch häufig Radikale z. B. Nitroxylradikale als sogenannte Spinsonden eingearbeitet [74, 75].

Die Anwendungsmöglichkeiten der ESR sind vielfältig. Untersucht wurden u. a. bereits Proteine mit paramagnetischen Metallionen (z. B. Fe^{2+}) im aktiven Zentrum, die Mikroumgebung der Sonden in diversen Arzneistoffträgersystemen [76], der Einfluß von verschiedenen Stoffklassen auf das Stratum corneum [77] und der Sauerstoffpartialdruck in biologischen Systemen über nicht-invasive diagnostische Messungen (ESR-Oximetrie).

Dieses Verfahren kam auch hier bei Messung in den entwickelten Kohle-Nanosuspensionen zum Einsatz (siehe Kapitel 2.4.5.3). Die ESR-Messungen wurden mit einem 1,1 GHz Spektrometer MT1 (Magnettech GmbH, Berlin) durchgeführt.

2.3 Herstellung von Polymercompounds

2.3.1 Sprühtrocknung

Die Sprühtrocknung ist ein Verfahren zur Überführung von flüssigen Produkten, beispielsweise Lösungen oder Suspensionen in ein pulverförmiges Endprodukt. Heute wird es sowohl in der pharmazeutischen als auch in der Lebensmittelindustrie im Großmaßstab eingesetzt. Es dient beispielsweise der Herstellung von Milchpulver oder löslichem Instantkaffee.

Bei der Sprühtrocknung wird eine flüssige Zubereitung im oberen Teil des Sprühturmes in feine Tröpfchen versprüht. Durch diesen Vorgang vergrößert sich die Oberfläche des zu trocknenden Gutes stark. Gleichzeitig strömt heiße Trocknungsluft entweder im Gleichstromverfahren (von oben nach unten) oder im Gegenstromverfahren (von unten nach oben) durch den Turm. Bei rascher Abführung des Lösungsmitteldampfes läßt sich auf diese Weise die Trocknungszeit des Gutes stark verkürzen.

Die zu Pulverkügelchen getrockneten Tröpfchen folgen dem Gasstrom und werden anschließend in einer Absetzkammer abgeschieden.

Als Produkt erhält man in den meisten Fällen Hohlkugeln aus Trockenschäumen mit einem Durchmesser zwischen 20 µm und 200 µm, welche sich im entsprechenden Dispersionsmittel sehr leicht wieder redispersieren lassen.

Große Vorteile dieses Verfahrens sind der geringe Zeitaufwand und die verhältnismäßig geringen Kosten verglichen beispielsweise mit der Lyophilisation. Jedoch sollte gerade im Vergleich zu diesem Verfahren die thermische Belastung der Substanzen nachteilig erwähnt werden, welche die Verarbeitung von thermolabilen Substanzen erschwert.

2.3.2 Herstellung von Polymercompounds mittels Sprühtrocknung

Bei der Herstellung von arzneistofffreien und auch arzneistoffhaltigen Polymercompounds läßt sich die Qualität der erhaltenen Produkte durch einige Prozeßparameter beeinflussen. Da es sich bei dem hier verwendeten Gerät um einen relativ kleinen Sprühtrockner für den Labormaßstab handelte, waren die Möglichkeiten zur Einflußnahme beschränkt.

Im Rahmen dieser Arbeit erfolgte die Sprühtrocknung mit einem Büchi 190 Mini Spray Dryer (Büchi Laboratoriums-Technik, Eisingen Deutschland). Bei diesem Gerät wurde die zu trocknende Dispersion im Gleichstromverfahren in der Trocknungsluft versprüht. Dazu wurde eine Zweistoffdüse mit einem Durchmesser von 0,7 mm verwendet. Die Menge Dispersion, welche pro Zeit versprüht wurde, ließ sich über die Leistung der vorgelagerten Pumpe regeln. Während mehrerer Vorversuche wurde festgestellt, daß eine Pumpleistung zwischen 30 % und 40 % zu den besten Ergebnissen führte, das entsprach in etwa einem Flüssigkeitsvolumen von 5 ml/min. Durch diese relativ geringe Fördermenge wurde das Verfahren zwar etwas zeitaufwendiger, bei höherer Pumpleistung kam es jedoch zu einem unerwünschten Verkleben der Partikel, da die Trocknungskapazität der eingeblasenen Heißluft überschritten wurde und demzufolge die Restfeuchte im Produkt zu hoch war.

Ein weiterer variabler Parameter dieses Gerätes ist die Einstellung des Aspirators. Dieser zieht die Trocknungsluft nach der Abscheidungskammer aus der Apparatur ab und erzeugt so einen leichten Unterdruck, welcher den Trocknungsprozeß zusätzlich unterstützt. Hier hatte sich eine Einstellung von 50 % als optimal herausgestellt. Bei zu hoher Leistung wurde ein großer Teil des Feinanteils des Pulvers zusammen mit der Abluft abgesogen, so daß die Ausbeute deutlich unterhalb der zu erwartenden Menge lag. Bei Einstellungen unterhalb von 50 % war die Luftverwirbelung im Trock-

nungszylinder nicht optimal, so daß noch feuchtes Produkt an den Glaswänden anhaftete.

Als letzter variabler Parameter ließ sich noch die Einlaßtemperatur der Trocknungsluft beeinflussen. Da alle verwendeten Dispersionen hauptsächlich Wasser als Dispersionsmedium enthielten, mußte die Trocknungstemperatur relativ hoch gewählt werden, damit das Gut in dem relativ kleinen Sprühturm ausreichend getrocknet werden konnte. Um den Arzneistoff nicht einer zu hohen thermischen Belastung auszusetzen, wurde eine Trocknungstemperatur von 95°C gewählt. Eine Regulierung der Auslaßtemperatur war bei diesem Gerät nicht möglich. Sie ergab sich aus der Kombination der gewählten Einstellungen und lag in diesem Fall bei 48°C.

2.4 Materialien

2.4.1 Tenside

Ohne die Verwendung weiterer Hilfsstoffe ist eine Nanodispersion nicht lange stabil, da, aufgrund der extremen Oberflächenvergrößerung der Feststoffpartikel während der Homogenisation, das Bestreben sehr hoch ist, die Oberfläche durch Aggregation wieder zu verkleinern. Aus diesem Grund ist die Auswahl eines stabilisierenden Tensids sowohl für die Partikelgrößenverteilung direkt nach der Produktion als auch für die anschließende Lagerung als wäßrige Dispersion von entscheidender Bedeutung. Die Verwendung von Tensidmischungen kann durch Kombination verschiedener Stabilisierungsmechanismen oder durch molekulare synergistische Effekte die Stabilität noch weiter erhöhen.

Tenside sind amphiphile Moleküle, d.h. sie besitzen sowohl hydrophobe als auch hydrophile Molekülteile. Aufgrund ihres Aufbaus reichern sich Tenside bevorzugt in Grenzflächen zwischen zwei nicht mischbaren Phasen an und erniedrigen dadurch deren Grenzflächenspannung. Das führt dazu, daß die Grenzflächenenergie ebenfalls abnimmt und somit die Stabilität des Systems steigt.

Im Falle von Suspensionen adsorbieren die Tensidmoleküle auf der Oberfläche der Partikel. Dort senken sie die Grenzflächenspannung fest/flüssig und verbessern so die Benetzung der Feststoffpartikel. Das erklärt, warum sowohl die Löslichkeit als auch die Lösungsgeschwindigkeit von schwerlöslichen Substanzen bei Zugabe von Tensiden bereits vor dem Erreichen der CMC ansteigen [78].

Darüber hinaus kann man bei Tensiden zwei weitere grundsätzliche Stabilisierungsmechanismen unterscheiden.

Sterische Stabilisierung

Bei ungeladenen langkettigen Polymeren spielt die Herabsetzung der Grenzflächenenergie oft nur eine untergeordnete Rolle, ihre stabilisierende Wirkung beruht hauptsächlich auf sterischen Effekten, verursacht durch die Größe der Moleküle. Auch hier lassen sich wieder zwei Mechanismen unterscheiden.

- *Entropiestabilisierung*: Man geht davon aus, daß die hydrophoben Teile der langen Polymerketten unter Nutzung von Van-der-Waals-Kräften an die Partikeloberfläche adsorbieren wohingegen die hydrophilen Teile als lose Enden oder Schleifen weit in das Dispersionsmedium hineinragen. Dadurch wird der Partikel von einer Hülle aus freibeweglichen Polymerketten umgeben. Nähern sich nun zwei Partikel einander soweit an, daß es zu einer Überlappung dieser Polymerhüllen kommt, so wird die Beweglichkeit der Ketten in dem Überlappungsbereich stark eingeschränkt. Es kommt zu einer Erhöhung der Ordnung des Systems und somit zu einem Entropieverlust. Dies ist thermodynamisch ungünstig, da immer der höchste Grad der Unordnung angestrebt wird, daher weichen die Partikel wieder auseinander.
- *Enthalpiestabilisierung*: Betrachtet man wieder die Überlappungszone der Polymerhüllen zweier einander stark angenäherter Partikel, so stellt man eine lokal begrenzte, starke Erhöhung der Polymerkonzentration fest. Das führt zu einem Anstieg des osmotischen Druckes, worauf hin Dispersionsmedium von außen in den Bereich hineindiffundiert, um die Konzentrationsverhältnisse wieder auszugleichen. Dadurch werden die Partikel auseinandergedrückt.

Elektrostatische Stabilisierung

Bei der Verwendung von ionischen Tensiden kommt es aufgrund der Adsorption geladener Moleküle an die Partikeloberfläche zu einer Modifizierung des Zetapotentials. Sie wirken gewissermaßen als Peptisatoren. Unter Peptisatoren im engeren Sinne versteht man definitionsgemäß geladene Substanzen ohne Grenzflächenaktivität (Salze) mit einer hohen Affinität zu Oberflächen.

Das Zetapotential der Partikel kann durch den Einsatz gleichgeladener Tenside weiter erhöht werden. Andererseits können Partikel mit einem niedrigen Zetapotential bei Verwendung entgegengesetzt geladener Tenside umgeladen werden, d.h. daß sich das Vorzeichen des Potentials umkehrt und daß sich aufgrund des niedrigen Ausgangspotentials und der großen Menge an adsorbierten, entgegengesetzten Ladungen der Betrag des Potentials ebenfalls erhöht. Da der Betrag des Potentials das

entscheidende Kriterium ist und nicht sein Vorzeichen kommt es in beiden Fällen zu einer Zunahme der Stabilität der Dispersion.

Da der größte Stabilisierungseffekt bei Erreichen der maximalen Besatzdichte der Oberflächen eintritt, ist bei ionischen Tensiden die eingesetzte Konzentration besonders wichtig. Bleibt man unterhalb der optimalen Konzentration, so ist der Effekt geringer, da die Oberflächen nicht voll besetzt werden können. Überschreitet man aber die maximale Besatzdichte, so liegt ein Überschuß an Ladungen vor, der sich im Dispersionsmedium verteilt und so zu einer Kompression der diffusen Schicht um die Partikel und zu einer Abnahme des Zetapotentials führt.

Bei Kombination von Tensiden, deren stabilisierender Wirkung unterschiedliche Mechanismen zugrunde liegen, wie beispielsweise einem ionischen Tensid und einem Poloxamer, konnten synergistische Effekte nachgewiesen werden.

2.4.1.1 Poloxamere

Poloxamere sind Block-Copolymere und werden durch Polykondensation von Ethylenoxid und Propylenoxid hergestellt. Das dabei entstehende Produkt ist nie eine reine, definierte Substanz sondern immer ein Polymergemisch, das u. a. über das mittlere Molekulargewicht charakterisiert wird. Der amphiphile Charakter dieser Moleküle kommt dadurch zustande, daß die Polyoxyethylenblöcke eher lipophiler sind, wohingegen die Polyoxyethylenblöcke mehr hydrophile Eigenschaften besitzen. Die stabilisierende Wirkung der Poloxamere beruht auf den bereits weiter oben beschriebenen Mechanismen der sterischen Stabilisierung.

Poloxamere sind nahezu geruch- und geschmacklos. Sie sind unter den Bezeichnungen Pluronic[®], Synperonic[®] und Lutrol[®] im Handel. Einer ihrer großen Vorteile ist, daß ihr stabilisierender Effekt gegenüber bestimmten Faktoren des Dispersionsmediums, wie beispielsweise pH-Wert oder Elektrolytkonzentration, weitgehend unabhängig ist. Deswegen, und nicht zuletzt aufgrund ihrer äußerst geringen Toxizität, finden Poloxamere in der Pharmazie breite Anwendung.

Poloxamer 188

Poloxamer 188 ist unter dem Namen Pluronic[®] F68 im Handel. Sein Molekulargewicht liegt im Bereich von 6800 bis 9000 g/mol. Das Molekül ist aus 75 EO-Einheiten und 30 PO-Einheiten zusammengesetzt und der Anteil des hydrophilen Polyoxyethylens am Copolymerisat beträgt ca. 80 % m/m. Der HLB-Wert von Poloxamer 188 wird mit 29 angegeben. Poloxamer 188 ist wohl das am besten untersuchte ABA-Blockcopolymer. Es hat eine außergewöhnlich niedrige Toxizität, welche in mehreren Tierstudien belegt werden konnte (BASF Firmenschrift). Aufgrund dieser Eigenschaft wird es von der amerikanischen Gesundheitsbehörde FDA regulatorisch als sicher

eingestuft, so daß bei Beantragung für eine Produkt-Neuzulassung diesbezüglich keine weiteren Daten durch den Antragsteller eingereicht werden müssen. Poloxamer 188 findet unter anderem bei der Herstellung parenteraler Fettemulsionen oder Arzneistoffzubereitungen zur intravenösen Applikation vielfältige Verwendung [79]. In der Literatur finden sich auch viele Beispiele für den Einsatz von Poloxamer in Verbindung mit Nanopartikeln. So kann z. B. die Plasmakonzentration von Arzneistoffen nach i.v. Gabe der entsprechend mit Poloxamer gecoateten Arzneistoffpartikel gesteigert, deren Verteilung gesteuert und deren Resorption aus dem GI-Trakt nach oraler Gabe erhöht werden [80, 81].

2.4.1.2 Polysorbat 80

Chemisch handelt es sich bei Polysorbat 80 um Polyoxyethylen-(20)-sorbitanmonooleat. Das ist ein Gemisch aus Partialestern des Sorbitols und seiner Anhydride mit Ölsäure, die mit ca. 20 Mol Ethylenoxid pro Mol Sorbitan copolymerisiert sind. Das unter dem Handelsnamen Tween 80 bekannte Tensid ist ein nichtionischer, sterischer Stabilisator des O/W-Typs mit einem HLB-Wert von 15. Polysorbat 80 findet breite pharmazeutische Verwendung bei der Stabilisierung von Emulsionen und Suspensionen und ist auch für den parenteralen Einsatz zugelassen. Darüber hinaus besitzt es ebenfalls den REG-Status der FDA.

2.4.1.3 Polyvinylalkohol

Polyvinylalkohol (PVA) ist ein wasserlösliches Polymer, das durch Verseifung von Polyvinylacetat hergestellt wird. Dabei reicht die mittlere Molmasse von 30.000 bis 200.000 in Abhängigkeit vom Verwendungszweck. Das Haupteinsatzgebiet von PVA liegt im Bereich der Ophthalmika als Viskositätserhöher oder künstliche Tränenflüssigkeit. Im Rahmen dieser Arbeit wurde Polyvinylalkohol mit einer mittleren Molmasse von 30.000-70.000 verwendet.

2.4.1.4 Polyvinylpyrrolidon

Polyvinylpyrrolidon (PVP) wird durch radikalische Polymerisation von Vinylpyrrolidon hergestellt und ist in Molmassen von 10.000 – 350.000 erhältlich. Es zeichnet sich durch eine gute physikalische Stabilität aus und besitzt, besonders für niedermolekulare Sorten, eine sehr niedrige akute und auch chronische Toxizität. Seine Haupteinsatzgebiete sind zur Lösungsvermittlung, als Viskositätserhöher oder Kristallisationsverzögerer zur Stabilisierung von Suspensionen oder auch als Kryoprotektor bei der Lyophilisation. Zur intravenösen Anwendung sind PVP-Sorten mit einem K-Wert bis 18 zugelassen.

2.4.2 Polymere

Die folgenden Polymere kamen bei der Herstellung der wäßrigen SPN Dispersionen und / oder der Compounds zum Einsatz.

2.4.2.1 Ethylcellulose

Physikochemische Eigenschaften

Ethylcellulose ist ein wasserunlöslicher, nichtionischer Celluloseether, der als Filmbildner, Coating- und Einbettungsmaterial vielseitige Verwendung findet. Die Wirkstoffe werden dabei durch Diffusion freigesetzt.

Die mittlere Molekülmasse liegt in der Regel bei 150 000 – 300 000 und es können Viskositäten von 3 ->5000 mPas (gemessen in Toluol / Ethanol 80 + 20) eingestellt werden. In organischen Lösungsmitteln sind Ethylcellulosen größtenteils löslich [5]. Die Variationsbreite bezüglich der physikalischen Eigenschaften beruht größtenteils auf dem unterschiedlichen Grad der Veresterung. Dieser liegt bei den handelsüblichen Produkten für die Ethoxygruppe bei 44 % - 51 %.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde neben der Ausgangssubstanz Ethocel Standard 20 Premium (DOW Chemical Company, Michigan USA), die für die Herstellung der wäßrigen SPN-Dispersionen verwendet wurde, das Fertigprodukt Aquacoat[®] ECD 30 (FMC BioPolymer, Philadelphia, USA) verwendet. Dieses enthält laut Produktspezifikation 24,5 % - 29,5 % Ethylcellulose, 0,9 – 1,7 % Natriumlaurylsulfat und 1,7 % – 3,3 % Cetylalkohol. Der pH wird mit einem Bereich von pH 4,0 – 7.0 angegeben, die Viskosität mit <150 cps.

Die Glasübergangstemperatur des Polymers liegt bei 129-133°C. Die Ethylcellulosepartikel in Ethocel haben einen mittleren Durchmesser von ca. 250 µm, die in Aquacoat[®] enthaltenen Partikel sind lediglich ca. 170 nm groß.

Pharmazeutische Anwendung

Zunächst wurde Ethylcellulose für pharmazeutische Zwecke hauptsächlich in organischer Lösung eingesetzt. Neben den damit verbundenen ökologischen und ökonomischen Problemen ist die Maximalkonzentration einer solchen Lösung jedoch durch deren Viskosität limitiert. Diese nimmt mit steigendem Molekulargewicht und steigender Konzentration an Ethylcellulose zu [82]. Eine begrenzte Konzentration führt jedoch zu längeren und damit teureren Prozeßzeiten. Die Viskosität wäßriger Ethylcellulose-Dispersionen ist dagegen unabhängig vom Molekulargewicht, so daß auch hochkonzentrierte Dispersionen eingesetzt werden können. Neben kolloidalen Dispersionen werden auch solche mit mikronisiertem Polymer eingesetzt [53, 83].

Neben ihrem Haupteinsatzgebiet zum Coaten von Tabletten, Pellets [53, 84-86] und Mikropartikeln [87] wird Ethylcellulose auch zur Herstellung von Matrixtabletten ein-

gesetzt. Prinzipiell sind dafür verschiedene Vorgehensweisen möglich (siehe auch Kapitel 1.4.1):

- eine Ethylcelluloselösung oder –dispersion wird zur Vorgranulation der pulverförmigen Wirk- und Hilfsstoffe eingesetzt [88].
- Pellets werden zunächst überzogen und dann mit einer Hilfsstoffmischung verpreßt [89].
- Polymernano- oder mikropartikel werden dem Tablettiergut beigemischt [90, 91].
- Die Tablettierung von Wirkstoffen mit Ethylcellulose und anderen Hilfsstoffen wird direkt in Pulverform durchgeführt [92, 93].

Beschrieben wird auch die Herstellung von arzneistoffhaltigen Mikropartikeln, die u. a. durch Sprühtrocknung [94] oder Mahlen von entsprechend beladenen Polymerfilmen [95] gewonnen werden. Streubel et al. beschreiben die Herstellung von flotierenden Mikropartikeln auf der Basis von pulverförmigen Polypropylen-Schäumen, Verapamil HCl und Eudragit RS[®], Ethylcellulose (EC) oder Polymethylmethacrylat (PMMA) als Polymerkomponente [96]. Wie bereits erwähnt wird mikronisierte Ethylcellulose in Pulverform auch zum trockenen Coaten eingesetzt [56, 57, 97].

Ein vollständig anderes Einsatzgebiet von Ethylcellulose wird von Melzer et al. beschrieben. Das Polymer wird hier als Stabilisator von W/O-Emulsionen eingesetzt, indem es zunächst in der lipophilen Phase z. B. Octyldodecanol gelöst und anschließend unter hochtourigem Rühren mit der Wasserphase versetzt wird. Die Ethylcellulose präzipitiert in der Grenzschicht in kolloidaler Form und stabilisiert so die Formulierung [98].

2.4.2.2 Schellack

Bei Schellack handelt es sich um ein Naturharz tierischer Herkunft, welches - abgesehen von seinem wohl bekanntesten Einsatz als Bindemittel in Schallplatten - u. a. in der Farben-, Lebensmittel-, Kosmetik-, Pharma- und Elektroindustrie sowie in der Zahntechnik Verwendung findet [99].

Gewinnung

Gewonnen wird Schellack aus dem harzartigen Sekret („Lac“) eines parasitisch lebenden Insektes (*Kerria lacca*, *Laccifera lacca*, *Tachardia lacca*), welches im Verlauf seines Reproduktionszyklus den Saft bestimmter Bäume aufsaugt und das zunächst fast farblose und nach Aushärtung eher rotbraune Sekret als protektive Hülle für seine Eier ausscheidet. Beheimatet sind diese Insekten im asiatischen Raum vor allem in Indien, Pakistan, Sri Lanka und Thailand. Ein Kilo des Roh-Lackes wird von ca. 300.000 Insekten produziert. Die Zusammensetzung und Qualität des Naturharzes

ist u.a. abhängig von der Erntezeit, dem Wirtsbaum und der Insektenart, weshalb eine ausgiebige Charakterisierung erforderlich ist.

Die weitere Aufarbeitung erfolgt folgendermaßen:

Zunächst wird der Roh-Lack („sticklac“) von den Ästen entfernt, zerkleinert und gesiebt, um Fremdpartikel zu entfernen. Anschließend wird er mehrfach mit Wasser und verdünnter Lauge gewaschen, um die wasserlöslichen Bestandteile abzutrennen. Man erhält dadurch den sogenannten „seedlac“, der auf unterschiedliche Weise zu den verschiedenen Schellack-Qualitäten veredelt werden kann.

Im Schmelzfiltrationsverfahren wird der geschmolzene Lack unter hohem Druck durch einen Filter gepreßt. Der flüssige Schellack wird dann zu einem dünnen Film gezogen, der Wachsanteil wird nicht entfernt. Der erhaltene Schellack ist von orangefarbener Farbe.

Im Lösemittelextraktionsverfahren wird der Lack in Alkohol gelöst und mehrfach filtriert, so daß Verunreinigungen und bei Bedarf auch der Wachsanteil entfernt werden. Durch Aktivkohle kann nun ein Entfärbungsschritt zwischengeschaltet werden, der den Gehalt des so genannten Erythrolaccin dadurch reduziert. Nach Verdampfen und Rückgewinnung des Lösungsmittels wird der mittlerweile leicht gelbliche Schellack auf einem Abrollband zu einem Film gezogen, der bei Abkühlung brüchig wird und dadurch die typische Blätterstruktur aufweist. Das Lösungsmittelextraktionsverfahren ist als schonendes Verfahren einzustufen, bei dem die Komponenten des Schellacks keine Veränderungen erfahren. Ethanol wird als Lösungsmittel empfohlen, da es toxikologisch vergleichsweise unbedenklich ist [100].

Als letzte Veredelungsmethode ist das Bleichungsverfahren zu nennen, bei dem der Lack wäßrig-alkalisch bei hohen Temperaturen gelöst, entwachst, filtriert und durch Einwirkung von Natriumhypochlorit (NaOCl) gebleicht wird. Nach Auswaschen des NaOCl wird der gelöste Schellack durch Zugabe von Schwefelsäure ausgefällt und getrocknet. Es ist festzuhalten, daß durch das Oxidationsmittel auch andere Bestandteile des Schellacks so weit verändert werden können, daß die physikalischen Eigenschaften wie z.B. die Löslichkeit sich verändern. Auch sind die verbleibenden Spuren des Hypochlorits und der Schwefelsäure toxikologisch nicht unbedenklich, so daß dieser Schellacktyp pharmazeutisch nicht eingesetzt werden sollte.

Physikochemische Eigenschaften

Aufgrund der verschiedenen Veredelungsverfahren existiert Schellack in Form von harten, spröden, transparenten, blass-gelblichen bis orange-braunen Plättchen oder auch als Pulver. Die chemische Zusammensetzung ist noch nicht bis ins letzte Detail geklärt. Die Hauptkomponente bildet jedoch ein Gemisch aus niedrigmolekularen Fettsäureestern unter Beteiligung von aliphatischen und sesquiterpenoiden Säuren wie z. B. Schellolsäure, Trihydroxypalmitinsäure (Aleuritinsäure) und Jalarinsäure (Abbildung 2-3).

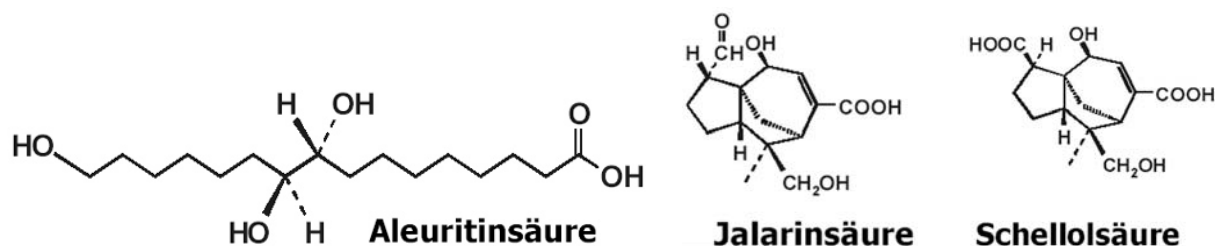


Abbildung 2-3 Strukturformeln der wichtigsten Schellackbestandteile

Die Veresterung findet während und nach der Absonderung des Sekrets durch die Insekten statt. Als andere Komponenten treten Wachse und Gluten sowie Farbstoffe (z. B. gelbes Erythrolaccin und rote Laccasäure) auf. Die Zusammensetzung kann Tabelle 2-2 entnommen werden (nach [101]).

Tabelle 2-2: Zusammensetzung von Schellack

	% (m/m)	Molmasse [g/mol]	Schmelzpunkt [°C]
Aleuritinsäure	46	304,42	100-101
Schellolsäure	27	296,33	204-207
Kerrolsäure	5	320,21	132
Butolsäure	1		54-55
Ester von Wachsalkoholen und Säuren	2	--	--
nicht identifizierte neutrale Substanzen	7	--	--
nicht identifizierte polybasische Ester	12	--	--
Schellack	100	964-1100	70-80

Es läßt sich demnach festhalten, daß Schellack zu einem großen Teil eher ein Oligomer aus Hydroxycarbonsäuren und weniger ein Polymer darstellt. Da Aleuritinsäure mit 46 % den Hauptbestandteil des Schellacks stellt, sind deren Moleküleigenschaften (Blöcke von Methylengruppen sowie Carboxy- und Hydroxygruppen) für die Filmcharakteristik entscheidend. Aufgrund der zahlreichen Hydroxy- und Carboxylfunktionen kann es im Gemisch zu einer ausgeprägten Polyester-Ausbildung kommen. Dies ist auch ein Grund für die Nachhärtung von Schellackfilmen.

Tabelle 2-3: Wichtige Kennzahlen von Schellack

Molekulargewicht	ca. 1000
Hydroxylzahl	250-280
Säurezahl	65-79
Verseifungszahl	190-230
Jodzahl	14-18

Dennoch bleiben ausreichend freie Gruppen erhalten, um die hohen Ad- und Kohäsionskräfte zu erklären [102]. Bei Verwendung von Weichmachern kann es auch zur Ausbildung von Esterbindungen zwischen den enthaltenen Säuren und den Weichmachermolekülen kommen, woraus sich die hohe Flexibilität solcher Filme ableiten läßt.

Schellack ist löslich in einer Vielzahl von alkalischen oder alkoholischen Lösungsmitteln, dagegen unlöslich in Wasser und vielen Kohlenwasserstoffen. Schellack hat thermoplastische Eigenschaften und weist einen niedrigen Schmelzbereich von 65-85°C auf. Die ausgebildeten Filme zeigen eine starke Haftung auf einer Vielzahl von Oberflächen, einen hohen Glanz und gute Oberflächenhärte, hohe Abriebfestigkeit und nur eine marginale Gas- und Wasserdampfdurchlässigkeit. Einige wichtige Kennzahlen sind in Tabelle 2-3 zusammengefaßt (nach [100]).

Pharmazeutische Anwendung

Schellack besitzt für den Einsatz in der Lebensmittel- und pharmazeutischen Industrie alle Voraussetzungen. Er ist zugelassen für alle nicht-parenteralen Formulierungen und besitzt den GRAS-Status (generally recognized as safe) der FDA [103, 104]. Hauptsächliche Verwendung findet Schellack in der Pharmazie als Coatingmaterial mit unterschiedlicher Zielsetzung. So wird Schellack als Subcoatingschicht für die Dragierung [105], als magensaftresistentes Coating für säurelabile Wirkstoffe, zur Erzielung einer kontrollierten bzw. verzögerten Freisetzung oder zur Geschmacksmaskierung eingesetzt [106-108]. Auch zur Mikroverkapselung von Vitaminen und Wirkstoffen eignet er sich.

Die übliche Art, Schellack einem Coating-Prozeß zugänglich zu machen, ist es, ihn zunächst in Ethanol zu lösen. Industriell ist dies jedoch nicht die optimale Lösung. Wie bereits in Kapitel 1.3.1 erläutert, wurden daher bereits wäßrige Lösungen unter Salzbildung z. B. mit Ammoniumhydroxid oder -carbonat hergestellt ([48, 49]).

Um die Anzahl freier Säurefunktionen vor der Salzbildung zu erhöhen, kann zunächst ein Hydrolyseschritt mittels stärkerer Basen durchgeführt werden [109, 110].

Im letzten Jahrzehnt wurden nun auch verstärkt wäßrige Dispersionen beschrieben [60, 111-113].

Pearnchob et al. konnten zeigen, daß mikronisierter Schellack sich darüber hinaus als „dry coating“ eignet, wenn die Temperatur dabei auf $>60^{\circ}\text{C}$ angehoben wird [58]. Auch konnte sie die teils zu stark verzögerte Auflösung von Schellackfilmen in simulierten intestinalen Medien durch Zusatz von hydrophilen Additiven ausreichend senken [114]. Ein ähnlicher Effekt wurde von Qussi et al. durch Addition von wasserlöslichen Polymeren wie PVA oder HPMC zu wäßrigen Schellack-Coatingformulierungen erzielt [115].

Eine Verminderung des Nachhärtens von Schellackfilmen kann dagegen durch chemische Modifikation z. B. mit Ethylendiamin oder verschiedenen Säureanhydriden erreicht werden [116].

2.4.2.3 Polyacrylate

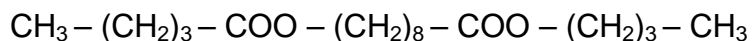
Als Polyacrylat wurde im Rahmen der Compound-Herstellung die im Handel befindliche wäßrige Dispersion Eudragit L30D–55 verwendet, die in der Industrie zur Erzeugung magensaftresistenter Überzüge in großem Maßstab eingesetzt wird. Laut Produktinformation der Firma Röhm/Degussa handelt es sich um ein anionisches Copolymer aus Methacrylsäure und Methacrylsäuremethylester im Verhältnis 1:1, welches nur oberhalb von pH 5,5 löslich ist und damit eingeschlossene Arzneistoffe erst im Darm freigibt. Das Molekulargewicht liegt bei ca. 250 000, der Polymeranteil beträgt 30 %. Als Zusatzstoffe sind 0,2 % Natriumlaurylsulfat und 0,7 % Polysorbat 80 enthalten. Der pH-Wert der wäßrigen Dispersion liegt zwischen 2 und 3, deren Glasübergangstemperatur beträgt 76°C .

Da die Dispersion leichte Verklebungstendenzen zeigt und zur Schaumbildung neigt wird empfohlen, bei Verwendung als Filmbildner Talkum und einige Tropfen Silicon-Antischaumemulsion zuzusetzen [117].

2.4.3 Weichmacher

Wie bereits in Kapitel 1.3.1 erwähnt, handelt es sich bei äußeren Weichmachern um Moleküle, die die Mindestfilmbildungstemperatur (MFT) von Polymeren durch Abschwächung der zwischen den Polymerketten herrschenden Kohäsionskräfte herabsetzen können.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde zur Herstellung der Ethylcellulose SPN der Weichmacher Dibutylsebacat (DBS) eingesetzt:



M_r : 314,5

Siedepunkt: 349°C

Löslichkeit in Wasser: 11,97 mg/mL

Die Affinität des Weichmachers zu den Polymerketten sollte für eine optimale Effektivität möglichst hoch sein. Zur Beurteilung der Kompatibilität beider Moleküle werden in der Literatur häufig die so genannten Löslichkeitsparameter nach Hildebrand (δ) herangezogen. Die Wirkung ist demnach am stärksten, wenn die Werte der beiden Partner gleich sind. Für Ethylcellulose findet sich in der Literatur ein Bereich von $\delta = 8,5-10,1$ (cal/cm³)^{1/2}, die gleiche Quelle nennt für DBS einen Bereich von $\delta = 7,7-9,2$ (cal/cm³)^{1/2} [118].

Es kann also davon ausgegangen werden, daß sich mit Hilfe von DBS die gewünschten Effekte (Absenkung der MFT, Erhöhung der Flexibilität) erreichen lassen, darüber hinaus wird die Kombination in den Herstellerinformationen von Ethylcellulose empfohlen.

2.4.4 Tablettierhilfsstoffe

2.4.4.1 Laktose

Milchzucker ist ein Disaccharid aus Glucose und Galactose, das aufgrund der freien acetalischen Hydroxygruppe der Glucose noch reduzierende Eigenschaften besitzt. Dies kann bei der Verarbeitung mit Arzneistoffen, welche primäre aliphatische Amine enthalten zu Problemen führen (Maillard Reaktion). Laktose kommt in einer α - und einer β -Modifikation vor, wobei α -Laktose-monohydrat die vorwiegende Handelsform ist. Sie hat in der Pharmazie vielfältige Anwendungsmöglichkeiten. Laktose dient unter anderem als Pudergrundlage, als Füllstoff für Kapseln und wird auch in der Homöopathie bei Verreibungen eingesetzt. Hauptsächlich wird sie jedoch als Hilfsstoff bei der Tablettierung verwendet. Sie besitzt eine gute Verpreßbarkeit, muß aber aufgrund der begrenzten Fließfähigkeit vorher oft granuliert werden. Daher wird bei der Direkttablettierung bevorzugt modifizierte Laktose eingesetzt. Dabei handelt es sich um agglomerierte (z. B. Tablettose[®]) oder sprühgetrocknete Produkte (z. B. Flow-lac[®]). Diese Handelspräparate besitzen ein deutlich besseres Fließverhalten als einfache, gemahlene Laktose, bedingt durch eine starke Zunahme der Partikelgröße und durch, besonders bei der sprühgetrockneten Variante, nahezu kugelförmige Partikel.

2.4.4.2 Aerosil

Aerosil gehört zur Familie der synthetischen Kieselsäuren und wird über die Flammenhydrolyse von Siliciumtetrachlorid in der Knallgasflamme nach dem sogenannten Aerosil-Verfahren hergestellt. Die Herstellungstemperaturen liegen zwischen 1000 °C und 2500 °C. Durch Wahl der Flammenbedingungen läßt sich die Teilchenfeinheit variieren und dadurch die spezifische Oberfläche im Bereich von etwa 50 bis 400 m²/g einstellen (z.B. Aerosil 200 mit einer spezifischen Oberfläche von 200 m²/g). Aerosil besteht aus röntgenamorphen Teilchen mit einem Durchmesser von 10-20 nm. Diese besitzen auf ihrer Oberfläche zahlreiche Silanolgruppen, die einerseits für die Adsorptionseigenschaften, andererseits für die Gelbildung verantwortlich sind.

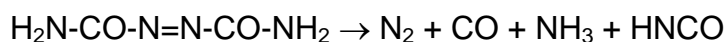
Aerosil kann zur Fließverbesserung von Haufwerken und zur Viskositätserhöhung von Ölen eingesetzt werden.

2.4.5 Modellarzneistoffe

2.4.5.1 Azodicarbonamid

Azodicarbonamid (ADA) ist als Treibmittel in der Lebensmittel- und in der Kunststoffindustrie schon lange bekannt, wo es unter anderem zur Herstellung von Dichtungen in Metaldeckeln verwendet wird. Seine arzneiliche Wirkung wurde dagegen erst vor wenigen Jahren am National Cancer Institute in den USA entdeckt (Tassignon). ADA hemmt die Zinkfinger eines wichtigen Proteins, welches in vielen Retroviren und unter anderem auch im HI-Virus Typ-1 vorkommt. Dieses Protein (NCp7) ist zum einen an der Bindung des Virus an eine gesunde CD4-Zelle beteiligt, zum anderen sorgt es bei der Produktion neuer Viren dafür, daß die virale RNA in die Viruspartikel inkorporiert wird [119]. In vitro Experimente haben gezeigt, daß das Virus ohne diese Zinkfinger nicht in der Lage war, neu Zellen zu infizieren und daß neu produzierte Viruspartikel keine virale RNA enthielten und somit nicht funktionsfähig waren [120]. Allerdings befindet sich ADA erst in einer frühen Phase der klinischen Studien.

Azodicarbonamid ist ein gelbliches, geruchloses Pulver, das sowohl in Wasser als auch in organischen Lösungsmitteln sehr schwer löslich ist. Aufgrund dieser Tatsache wurde es als Modellsubstanz zur Herstellung von Nanosuspensionen ausgewählt. Bei Temperaturen oberhalb von 180°C kommt es zur Zersetzung, bei der u. a. toxische Gase wie Kohlenmonoxid und Ammoniak entstehen.



Diese Tatsache sollte bei der Herstellung berücksichtigt werden.

2.4.5.2 BIBW22

BIBW22 ist die Kurzform des Pteridin-Derivates 4-[N-(2-hydroxy-2-methyl-propyl)-ethanolamino]-2,7-bis(cis-2,6-dimethylmorpholin-4-yl)-6-phenylpteridin. Es handelt sich hierbei um eine Substanz, die von der Firma Dr. Karl Thomae GmbH entwickelt wurde, um „multi-drug“-resistente Tumore zu behandeln.

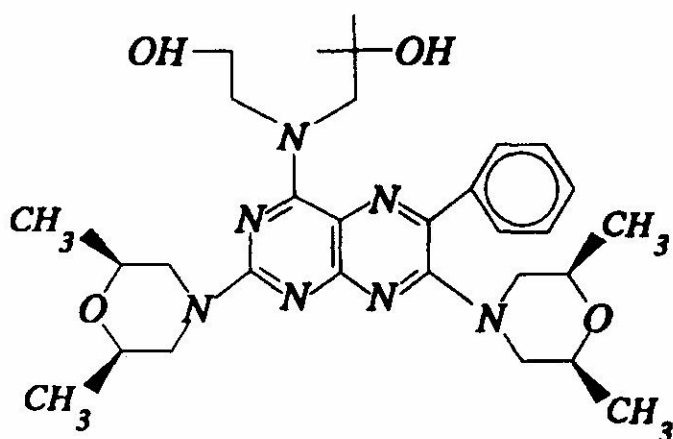


Abbildung 2-4: Chemische Strukturformel der Substanz BIBW-22

Sie bindet an das membranständige Glykoprotein GP-170, welches man im gesunden Organismus hauptsächlich in der Niere, der Leber und im Kolon findet und hemmt dessen Funktion [121]. Die Strukturformel ist in Abbildung 2-4 dargestellt.

BIBW22 ist sowohl in wässrigen als auch in organische Medien sehr schwer löslich. Daher eignet es sich hervorragend als Modellsubstanz zur Herstellung von Nanosuspensionen. Mittlerweile ist es jedoch gelungen ein sehr gut wasserlösliches Derivat zu synthetisieren, so daß diese Substanz in der Therapie keine Rolle mehr spielen wird.

2.4.5.3 Kohle

Medizinische Kohle (Carbo activatus) wird üblicherweise aufgrund ihrer oberflächenabhängigen Adsorptionsfähigkeit pharmazeutisch eingesetzt. Zu nennen sind hier der Einsatz bei Vergiftungen oder Diarrhöe. Im Rahmen dieser Arbeit standen bei der Auswahl von Kohle jedoch zwei andere Aspekte im Vordergrund. Erstens diene sie als amorpher Vergleich zu den übrigen kristallinen Arzneistoffen und zweitens könnten die erhaltenen Dispersionen im Bereich der Diagnostik zur Messung des Sauerstoffpartialdruckes zum Einsatz kommen. Diese diagnostische Einsatzmöglichkeit wird nachfolgend kurz erläutert.

Sauerstoff spielt eine sehr wichtige Rolle in vielen physiologischen, pathophysiologischen und therapeutischen Prozessen, beispielsweise bei der Strahlenbehandlung von Tumoren, peripheren Gefäßerkrankungen, Schock oder Hypoxie. Die Untersuchung des Sauerstoffpartialdrucks im Gewebe ist dabei eine Voraussetzung, um die Effektivität der Therapien dieser Erkrankungen zu verbessern. In den letzten Jahren hat daher die Oximetrie mit Hilfe der Elektronenspinresonanzspektroskopie (ESR) immer mehr an Bedeutung gewonnen. Mit diesem Verfahren ist es möglich, genaue, hoch empfindliche Messungen durchzuführen, bei denen der zu bestimmende Sauerstoff nicht verbraucht wird. Die erhaltenen Ergebnisse sind reproduzierbar, und die Untersuchungen sind sogar in vivo nicht invasiv durchführbar (siehe auch Kapitel 2.2.4). Dabei wird ein Sauerstoffsensor in das zu untersuchende Medium eingebracht und mit Hilfe der ESR die Veränderung der spektroskopisch erfaßbaren Eigenschaften in Abhängigkeit vom Sauerstoffpartialdruck bestimmt. Bei dem Sensor handelt es sich um eine paramagnetische Substanz wie z.B. Kohle, deren ESR-Signal sich in Bezug auf den Sauerstoffpartialdruck in der Umgebung verändert [122]. Der Mechanismus, auf dem diese Abhängigkeit beruht, wird zurzeit in der Fachliteratur noch diskutiert [123].

Aufgrund der vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten ist die Entwicklung neuer, besserer Sensoren zurzeit von großer Wichtigkeit. Unter den neuentwickelten, paramagnetischen Materialien sind einige kohlenstoffbasierte Substanzen wie beispielsweise spezielle Steinkohle- oder auch Holzkohlesorten von besonderem Interesse, da sie ein relativ einfaches ESR-Spektrum zeigen. Ihr ESR-Signal ist aufgrund der hohen Spindichte sehr stark und sie besitzen eine hohe Empfindlichkeit gegenüber dem sie umgebenden Sauerstoffpartialdruck [124-126]. Darüber hinaus sind die meisten Kohlearten chemisch weitestgehend inert, was sowohl für die Verarbeitung, als auch später für den Einsatz in vivo von Vorteil ist.

Trotz dieser vielversprechenden Aussichten ist die Nutzung von Kohle als Sensor zur ESR-Oximetrie nicht unproblematisch. Die spektroskopische Empfindlichkeit gegenüber dem die Partikel umgebenden Sauerstoffpartialdruck ist ein sehr sensibler Parameter. Eine Veränderung der Partikeloberfläche wie beispielsweise durch starke Zerkleinerung oder auch durch die Beladung mit Tensidmolekülen kann zur Abnahme oder sogar dem völligen Verlust dieser Eigenschaft führen. Es ist jedoch zur Herstellung einer applizierbaren Arzneiform, die auch den Einsatz in vivo ermöglicht, unvermeidlich, die ursprüngliche Struktur der Partikel aufzubrechen und die Arzneiform mit Hilfe verschiedener Substanzen zu stabilisieren. Die Herstellung von Nanosuspensionen aus medizinischer Kohle und deren Charakterisierung über ESR-Messungen erschien unter diesem Aspekt besonders sinnvoll. Zum Einsatz kam Kohle der Firma K3M.

2.4.5.4 Nifedipin

Das Dihydropyridin Nifedipin wurde 1975 als erster Calcium-Antagonist unter dem Handelsnamen Adalat® von der Firma Bayer in den Markt eingeführt und feiert somit in diesem Jahr bereits seinen 30. Geburtstag. Die Therapie der Herz-Kreislauf-Erkrankungen wurde durch die neue Stoffklasse revolutioniert aber auch wissenschaftlich stellten sie ein wichtiges Instrument zur Charakterisierung der spannungsabhängigen Ca^{2+} -Kanäle dar [127]. Die pharmakologische Wirkung entsteht durch Wechselwirkung mit diesem sogenannten langsamen Kanaltyp. Dihydropyridine verringern durch eine Reduktion der Öffnungszeiten den transmembranären Einstrom von Calciumionen und senken den Sauerstoffbedarf des Herzens durch Minderung von Tonus und Kontraktionskraft. Der Begriff Calcium-Antagonist sollte daher durch den Ausdruck Calcium-Kanalblocker ersetzt werden [128].

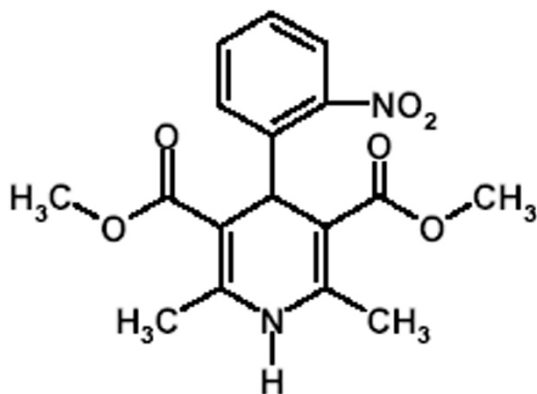


Abbildung 2-5: Chemische Strukturformel der Substanz Nifedipin

Die Löslichkeit der Substanz in Wasser beträgt lediglich 5,6 mg/L bei pH 7 und 37°C. Aufgrund dieser sehr schlechten Löslichkeit aber guten Permeabilität zählt die Substanz zur BCS-Klasse 2 [129]. Sie ist gelb gefärbt mit Maxima bei $\lambda_{\text{max}} = 340$ und 235 nm und verhältnismäßig instabil. Unter Licht- oder Sauerstoffeinfluß entsteht unter Aromatisierung das therapeutisch unwirksame Pyridinderivat. Die Bioverfügbarkeit von Nifedipin wird mit 50 – 70 %, die t_{max} mit 0,5 - 1 Stunde und die Halbwertszeit mit 1,7 - 3,4 Stunden angegeben [130]. Die übliche Dosierung liegt daher für Standardtabletten bei dreimal täglich 30-60 mg.

Die Resorption aus dem Darm erfolgt quasi vollständig, jedoch ist das Molekül einem ausgeprägten First-Pass-Effekt unterworfen. Da der Metabolismus unter Beteiligung des CYP3A4-Systems erfolgt, können sich sowohl AUC als auch c_{max} durch z. B. Grapefruitsaftgabe annähernd verdoppeln [131].

All diese pharmakokinetischen Faktoren sind in Hinblick auf einen optimalen Therapieerfolg durch die Entwicklung zugeschnittener Arzneiformulierungen zu berücksichtigen. Im Vordergrund stehen dabei die Erniedrigung der Einnahmefrequenz zur Erhöhung der Patientencompliance, die Reduktion der Plasmaprofil-Variabilität und die Verhinderung kompensatorischer Gegenreaktionen (z. B. Reflextachykardie).

Auf dem deutschen Markt befinden sich daher bereits eine Vielzahl von unterschiedlichen Formulierungen, zurzeit sind es 32 Präparate mit schneller und 43 mit verzögerter Freisetzung [132].

Die schnellfreisetzenden Präparate (z. B. Zerbeißkapseln) dienen heute in erster Linie zur Notfallbehandlung. Als retardierendes Prinzip findet sich dagegen für Nifedipin annähernd die gesamte Vielfalt der galenischen Möglichkeiten: unlösliche und lösliche Matrixsysteme, Manteltabletten wie Adalat[®]SL, monolithisch überzogene Membransysteme, Multiple-Unit-Formen wie z. B. gecoatete Pellets verpreßt in Tabletten oder Minitabletten abgefüllt in Kapseln oder auch osmotische Systeme (OROS / GATS), mit denen sich bisher die gleichmäßigsten Ergebnisse sowohl in vitro als auch in vivo erzielen ließen. Eine detailliertere Beschreibung kann in dem vergleichenden Artikel von Warnke et al. nachgelesen werden [132]. Er macht deutlich, daß eine Vielzahl der Marktpräparate den Wirkstoff nicht in angemessener, kontinuierlicher Art freisetzen kann und häufig eine große Abhängigkeit vom Füllungszustand des Magens besteht.

In der wissenschaftlichen Literatur wird über die klassischen oralen Arzneiformen hinaus auch die Herstellung von Nifedipin-haltigen Mikro- und Nanopartikeln beschrieben [133, 134].

Im Rahmen dieser Arbeit wurde Nifedipin aus mehreren Gründen als Modellsubstanz ausgewählt:

- Die Substanz ist schwer wasserlöslich und daher zur Herstellung von Nanosuspensionen geeignet.
- Die Substanz ist kristallin und sollte daher im Rahmen der Grundlagenuntersuchung des Hochdruckhomogenisationsprozesses als Vergleich zu den amorphen Stoffen wie Kohle oder auch den Polymeren dienen.
- Die orale Applikation in Verbindung mit der geringen Halbwertszeit läßt die Herstellung von Nifedipin-haltigen Compounds zur Direktverpressung retardierender Matrixtabletten besonders sinnvoll erscheinen.

Die Herstellung der Nanosuspensionen wird im folgenden Kapitel beschrieben.