

## 3 Nanosuspensionen mit dem Arzneistoff Nifedipin

Wie bereits einleitend erläutert, sollten im ersten Teil der Arbeit Arzneistoff-Nanosuspensionen entwickelt werden, die eine ausreichende Stabilität sowohl während kurzzeitiger Lagerung als auch bei der Weiterverarbeitung zu pulverförmigen Compounds durch Sprühtrocknung aufweisen. Nifedipin diene hierbei als Modell eines kristallinen Arzneistoffes mit niedriger Halbwertszeit (siehe Kapitel 2.4.5.4).

Auch sollten anhand dieser Modellsuspensionen weitere generelle Fragestellungen untersucht werden, so zum Beispiel, in wie weit sich die Konzentration des enthaltenen Arzneistoffes steigern läßt und ob auch bei niedrigeren Drücken ausreichend kleine Partikel erhalten werden können.

### 3.1 Rezepturscreening

Im Rahmen dieses Rezepturscreenings sollte für den Modellarzneistoff Nifedipin eine Formulierung entwickelt werden, die eine möglichst enge Partikelgrößenverteilung besitzt und deren physikalische Stabilität eine Lagerung über längere Zeit als wäßrige Dispersion zuläßt. Im Hinblick auf eine spätere Weiterverarbeitung als Compound sollte die Formulierung auch für eine derartige Behandlung geeignet sein.

#### 3.1.1 Herstellung

Es wurde zuerst eine Stammsuspension hergestellt, indem der Arzneistoff zur besseren Benetzung mit der jeweiligen Tensidlösung angerieben und anschließend eine Minute mit dem Ultra-Turrax bei 9500 U/min dispergiert wurde. Dieser Prämix wurde nun zur Vorzerkleinerung mit dem Hochdruckhomogenisator Micron LAB 40 jeweils 2 Zyklen bei 150 bar und 2 weitere bei 500 bar homogenisiert. Durch diese Vorhomogenisation bei niedrigen Drücken werden die Partikel so weit aufgebrochen, daß sie bei höheren Drücken aufgrund ihrer Größe das Ventil nicht verstopfen. Anschließend erfolgte bei 1500 bar über 20 Zyklen die eigentliche Homogenisation.

Die Chargengröße betrug jeweils 40 ml (40 ml entspricht dem Maximalvolumen des diskontinuierlichen Hochdruckhomogenisators Micron LAB 40).

Nach den Zyklen 3, 5, 10, 15 und 20 wurden Proben entnommen und in Glasvials abgefüllt, deren Oberfläche durch Silanisierung hydrophobisiert worden war.

## 3.1.2 Rezepturen

Zur Rezepturentwicklung wurden zunächst Formulierungen mit verschiedenen Tensiden hergestellt. Dabei wurde darauf geachtet, stets Tenside zu kombinieren, die sich in ihren Eigenschaften ergänzen. D.h. ein ungeladenes voluminöses Tensid, das die Partikel auf sterischem Weg stabilisiert, wurde mit einem geladenen Tensid kombiniert, das durch Erhöhung des Zetapotentials der Partikel auf elektrostatischem Weg zur Stabilisierung beiträgt. Die Tabelle 3-1 gibt eine Übersicht über die Zusammensetzungen der verschiedenen Rezepturen.

Tabelle 3-1: Zusammensetzungen der Screening-Rezepturen (alle Konzentrationen in % m/m)

Substanz	NiS1	NiS2	NiS3	NiS4	NiS5
Nifedipin	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Poloxamer 188	0,50	--	--	--	--
Poloxamer 407	--	0,50	--	--	--
Polysorbat 80	--	--	0,50	0,25	0,50
Kaliumoleat	--	--	--	0,50	1,00
SDS	0,25	0,25	0,25	--	--

## 3.1.3 Partikelgrößen

Um die Partikelgröße im Ausgangsmaterial zu bestimmen, wurde die Substanz mit der Tensidlösung der Rezeptur NiS1 angetrieben. Dadurch wird ihre Benetzbarkeit verbessert und eine Agglomeratbildung aufgrund der hydrophoben Oberflächen vermindert. Anschließend wurde diese Suspension mit Hilfe der Laserdiffraktometrie (LD) vermessen. Dabei ergab sich eine mittlere Partikelgröße im Ausgangsmaterial von ca. 10 µm (D 50 %), die größten Partikel waren über 40 µm groß (D 99 %). Diese Ergebnisse wurden mit Hilfe eines Lichtmikroskops bestätigt.

Nach der Homogenisation der verschiedenen Rezepturen wurden die Partikelgrößenverteilungen der jeweiligen Dispersionen direkt nach der Produktion (d0), einen Tag nach der Produktion (d1) und sieben Tage nach der Produktion (d7) bestimmt.

Dabei wurden am Tag der Produktion zur Beurteilung des Homogenisationsverlaufes sämtliche Zyklen mittels Laserdiffraktometrie vermessen, an Tag 1 und 7 jeweils nur die finale Suspension. Darüber hinaus wurden zur Detektion der mittleren Partikelgröße der Hauptpopulation alle Formulierungen noch mittels Photonenkorrelationspektroskopie (PCS) analysiert.

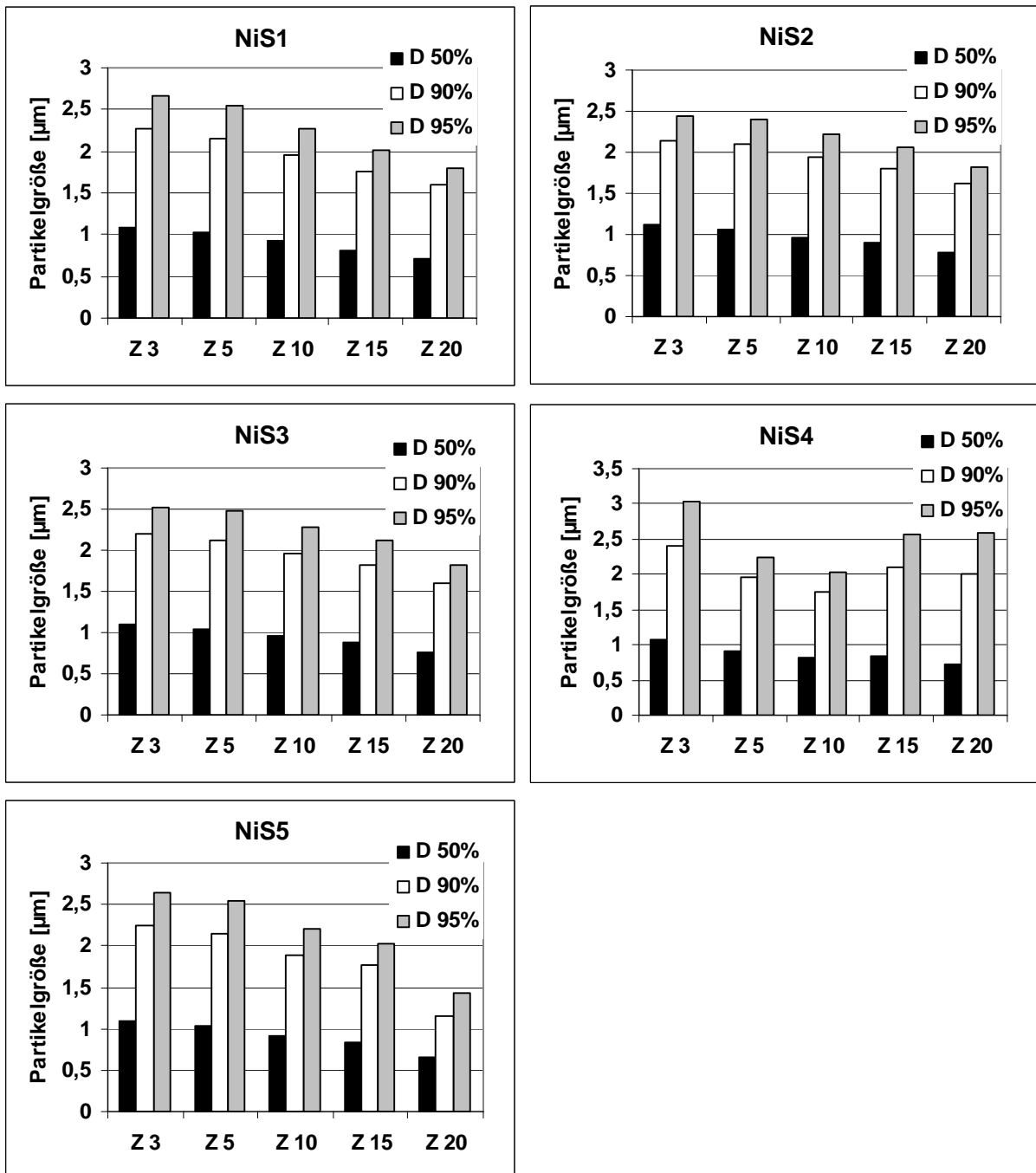


Abbildung 3-1: Einfluß der Anzahl der Homogenisationszyklen auf die Partikelgrößen verschiedener Nifedipin-Nanosuspensionen am Tag der Produktion gemessen mittels Laserdiffraktometrie.

Abbildung 3-1 zeigt eine Übersicht der Ergebnisse an Tag 0. In diesen Grafiken ist deutlich erkennbar, daß der Durchmesser der Hauptpopulation (D 50 %) bei allen Rezepturen mit zunehmender Zykluszahl Z deutlich abnimmt. Wurden im Ausgangsmaterial noch Partikelgrößen von 10 µm gemessen, so weisen die homogenisierten Proben bereits nach 3 Zyklen nur noch Durchmesser von ca. 1 µm auf.

Der größte Teil der Zerkleinerungsarbeit findet also in den ersten Zyklen statt (Abbildung 3-2). Danach verändert sich die Partikelgröße nur noch verhältnismäßig wenig.

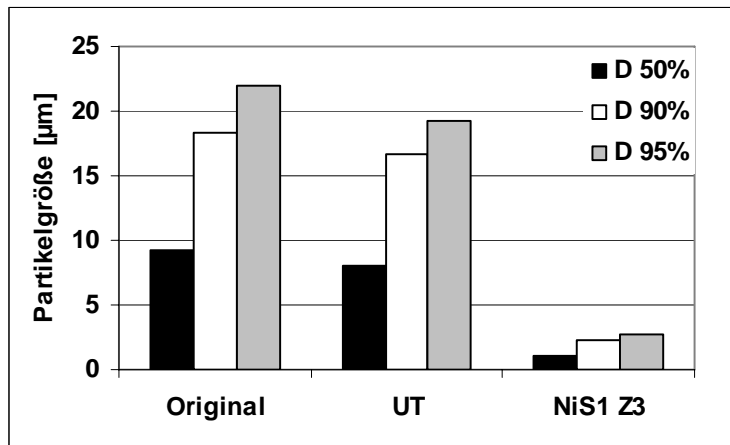


Abbildung 3-2: Vergleich der Partikelgrößen des Ausgangsmaterials mit dem Prämix nach Dispergierung mit dem Ultra-Turrax und Zyklus 3 (1500 bar) der Rezeptur NiS1

Betrachtet man die Rezeptur NiS4, in der das zuvor verwendete Tensid SDS durch Kaliumoleat ersetzt wurde, so erkennt man oberhalb von Zyklus 10 einen plötzlichen, unerwarteten Anstieg der Partikelgröße. Betrachtet man die entsprechenden Verteilungskurven der Partikelgrößen (Abbildung 3-3), so wird erkennbar, daß im Vergleich von Zyklus 10 zu Zyklus 20 keine komplette Verschiebung des Peaks hin zu größeren Partikeln erfolgt ist, sondern, daß lediglich eine deutlich ausgeprägte Schulterbildung stattgefunden hat. Dadurch werden besonders die aggregations sensitiven Parameter D 90 %- und D 95 %-Durchmesser stark beeinflusst. Offensichtlich ist bei wiederholtem Homogenisieren mit 1500 bar der Energieeintrag so hoch, daß die zerkleinerten Partikel nach Austritt aus dem Homogenisationsspalt sofort wieder aggregieren, bevor die Tensidmoleküle sich an der neuentstandenen Oberfläche anlagern können und somit die Aggregation verhindern. Es lag die Vermutung nahe, daß die Tensidmenge für eine optimale Stabilisierung bei Verwendung von Kaliumoleat nicht ausreicht. Daher wurde in der Rezeptur NiS5 die Tensidmenge verdoppelt, was zu einer gleichwertigen Stabilität in Relation zu den SDS-Rezepturen führte. In der weiteren Betrachtung der Rezepturen an Tag 1 und Tag 7 wird die Rezeptur NiS4 nicht weiter

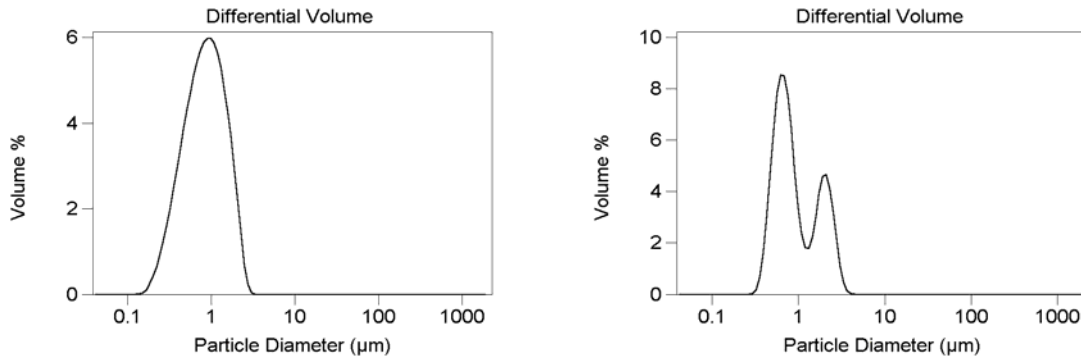


Abbildung 3-3: LD-Volumenverteilung der Charge NiS4 Zyklus 10 (links) und Zyklus 20 (rechts) homogenisiert bei 1500 bar direkt nach der Produktion vermessen.

berücksichtigt, da sich dort die Aggregation aufgrund unzureichender Stabilisierung fortsetzt und diese Suspension schon nach einem Tag deutlich größere Partikel aufweist als der Rest der Formulierungen.

Für die Weiterverarbeitung frisch hergestellter Nanosuspensionen ist es unerlässlich, daß sie nicht unmittelbar nach der Produktion aggregieren, sondern über einen Zeitraum von einigen Tagen eine ausreichende Stabilität aufweisen. Daher wurden die Partikelgrößen aller Rezepturen auch nach einem und nach sieben Tagen mittel Laserdiffraktometrie vermessen (Abbildung 3-4).

Nach einem Tag Lagerung zeigen die Rezepturen keine Veränderung im Durchmesser der Hauptpopulation (D 50 %). Allerdings findet sich bei allen Formulierungen außer NiS5 ein leichter Anstieg des Mikropartikelanteils, erkennbar an den gestiegenen D 95 %-Werten.

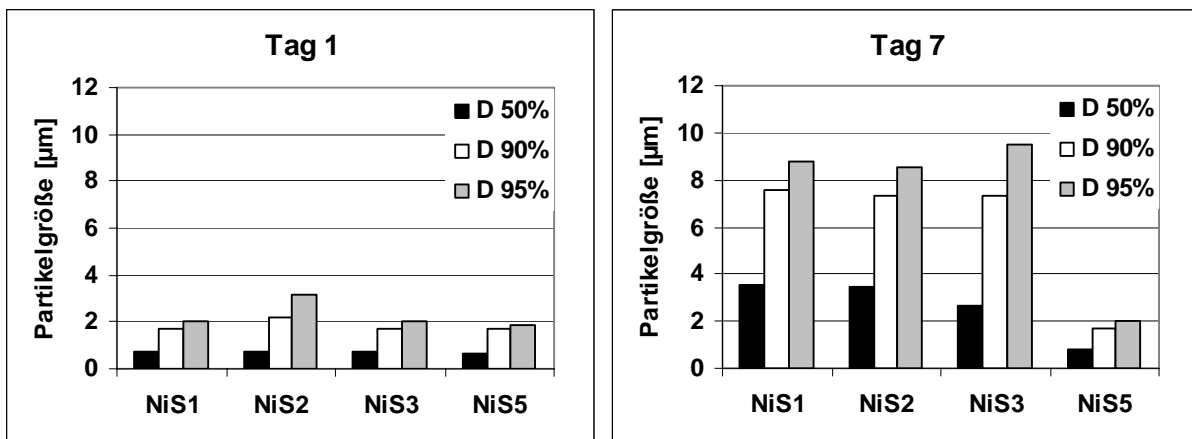


Abbildung 3-4: Partikelgrößen verschiedener Nifedipin-Nanosuspensionen gemessen mittels Laserdiffraktometrie einen bzw. sieben Tage nach der Produktion.

### 3 Nanosuspensionen mit Nifedipin

Nach sieben Tagen ist die Tendenz von Tag 1 nun ganz deutlich sichtbar. Die Partikelgröße der Rezepturen NiS1-3 ist im Laufe der Lagerung stark angewachsen, lediglich Rezeptur NiS5 zeigt keine wesentlichen Veränderungen. Eine mögliche Erklärung für diese Entwicklung ist die Tatsache, daß nach einer Woche Lagerung die Aufschüttelbarkeit der ersten drei Suspensionen stark abgenommen hat. Das in dieser Zeit gebildete Sediment war stark verklebt und ließ sich nur mit Mühe vom Boden des Gefäßes redispergieren. Im Gegensatz dazu steht Rezeptur 5, sich durch kurzes Schütteln problemlos redispergieren ließ.

Diese Beobachtungen lassen vermuten, daß es sich auch in den ersten Fällen nicht um echtes Partikelwachstum handelt, sondern, daß die Tensidhüllen der Partikel durch den engen Kontakt im Sediment zu einem Verkleben derselben geführt haben. Diese starke Aggregationsneigung ist jedoch sehr ungünstig für eine wie auch immer geartete Weiterverarbeitung der Suspension

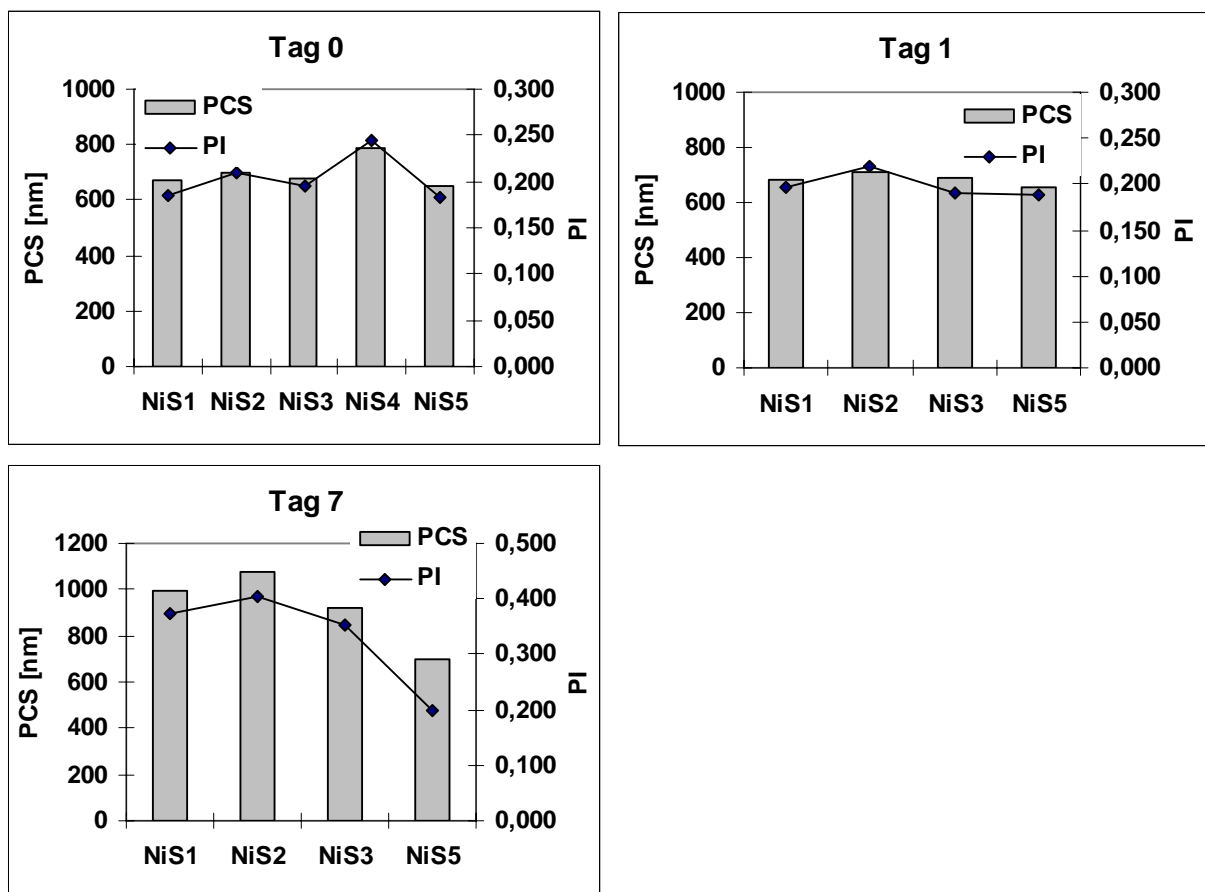


Abbildung 3-5: Mittlere Partikeldurchmesser verschiedener Nifedipin-Nanosuspensionen am Tag der Produktion und nach 1 und 7 Tagen gemessen mittels PCS.

Von den Endzyklen (Z20) der verschiedenen Formulierungen wurde jeweils der mittlere Partikeldurchmesser am Tag der Produktion sowie an Tag 1 und Tag 7 mittels Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) bestimmt. Die so gewonnenen Ergebnisse unterstützen die bei der Interpretation der Daten der Laserdiffraktometrie angestellten Überlegungen. Direkt nach der Herstellung sind alle Rezepturen gleichwertig bis auf Formulierung NiS4, deren breitere Partikelgrößenverteilung man hier an dem größeren Polydispersitätsindex erkennen kann (Abbildung 3-5). Auch in diesem Fall wurde diese Rezeptur an den darauffolgenden Tagen nicht weiter analysiert.

An Tag 1 erkennt man an der Erhöhung des PI bei Rezeptur NiS2 eine Verbreiterung der Größenverteilung verursacht durch Aggregation der Partikel. An Tag 7 sind die Rezepturen 1-3 soweit aggregiert, daß aufgrund des großen PIs die Meßwerte der PCS keine gesicherten Aussagen über die wahre mittlere Partikelgröße mehr zulassen. Lediglich Rezeptur 5 zeigt kaum Partikelwachstum und nur einen minimalen Anstieg des PI.

Da die Formulierung 5 sowohl von der Partikelgröße als auch von der physikalischen Stabilität die besten Werte lieferte, wurden alle weiteren Versuche mit Nanosuspensionen durchgeführt, die nach der Rezeptur NiS5 hergestellt wurden: Nifedipin 10,0 %, Kaliumoleat 1,0 % und Polysorbat 80 0,5 %.

#### **3.1.4 Zusammenfassung der Rezepturentwicklung für Nifedipin**

Für den Modellarzneistoff Nifedipin konnte eine geeignete Rezeptur entwickelt werden, die es ermöglicht Nanosuspensionen mit einer mittleren Partikelgröße von 600-700 nm herzustellen. Diese Formulierung besitzt darüber hinaus eine ausreichende physikalische Stabilität, um die Qualität der Nanosuspension bis zur Weiterverarbeitung sicherzustellen.

### **3.2 Physikalische Langzeitstabilität einer 10 %igen Nanosuspension**

Wird eine Nanosuspension nicht mit dem Ziel der Weiterverarbeitung hergestellt, sollte sie eine ausreichende Langzeitstabilität aufweisen.

Suspensionen sind als physikalisch stabil anzusehen, wenn sich die Partikelgrößenverteilung über einen längeren Zeitraum nicht oder nur geringfügig ändert. Die maximal tolerierbare Veränderung hängt vom vorgesehenen Einsatzgebiet der Suspension ab. So muß eine Nanosuspension zur intravenösen Anwendung auch nach der

Lagerung noch eine Partikelgrößenverteilung aufweisen, die eine parenterale Verabreichung der Formulierung erlaubt. Für die im Handel befindlichen, industriell hergestellten Suspensionen zur oralen Applikation wird im Allgemeinen eine Haltbarkeit von mindestens mehreren Monaten besser noch zwei bis drei Jahren angestrebt.

Eventuell auftretende Instabilitäten, welche die Haltbarkeit von Nanosuspensionen verkürzen könnten, sind in erster Linie chemischer oder physikalischer Natur. Von mikrobiologischer Seite sind kaum Probleme zu erwarten, da Nanosuspensionen in ihren Endbehältnissen autoklaviert werden können. Da sie sich in ihren Primärverpackungen nicht von anderen Injektabilia unterscheiden, sollte die Sterilität auch über mehrere Jahre gewährleistet sein. Die chemischen Instabilitäten sind hauptsächlich von den Eigenschaften der Arznei- und Hilfsstoffe abhängig und sollen hier auch nicht weiter betrachtet werden. Das Hauptproblem bei hochdispersen Suspensionen sind physikalische Instabilitäten wie z.B. Aggregation, Sedimentation mit anschließendem Caking oder Ostwald Reifung.

Zur Beurteilung der physikalischen Stabilität einer Nifedipin-Nanosuspension wurde eine Charge über einen Zeitraum von drei Jahren untersucht. Als Kriterien zur Beurteilung der Stabilität dienten dabei Messungen der Partikelgröße der Hauptpopulation mittels Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) und der gesamten Partikelgrößenverteilung mit Hilfe der Laserdiffraktometrie (LD). Besonderes Augenmerk lag dabei auf dem Anteil der Partikel im Mikrometerbereich. Diese sind bei peroraler Applikation zwar weniger kritisch als bei intravenös zu applizierenden Arzneiformen, haben aber einen negativen Einfluß auf die Stabilität, da sie Prozesse wie Sedimentation oder Ostwaldreifung fördern. Darüber hinaus verschlechtern sie die Lösungseigenschaften der Partikel und somit die Bioverfügbarkeit.

#### 3.2.1 Nifedipin-Nanosuspension

Die physikalische Stabilität einer wäßrigen Nifedipin-Nanosuspension wurde über einen Zeitraum von drei Jahren untersucht. Um den Einfluß der Lagerungstemperatur auf die Ergebnisse zu erfassen, wurden jeweils drei Proben bei Raumtemperatur (20°C), bei 40°C und bei 4°C gelagert. Dazu wurde die Suspension sofort nach der Herstellung in silanisierte Glasvials überführt, die mit Alufolie umwickelt waren, um die Suspension während des gesamten Zeitraums vor Licht zu schützen. Als Rezeptur für die Lagerstudie diente die Formulierung NIS5 (vgl. Tabelle 3-1).



### 3.2.1.1 Partikelgrößen

Zum Vergleich für die nachfolgenden Stabilitätsdaten sind die Partikelgrößen der frisch hergestellten Nifedipin-Nanosuspension in Tabelle 3-2 dargestellt.

Tabelle 3-2: Übersicht der Partikelgrößen einer frisch hergestellten Nifedipin-Nanosuspension (Nifedipin 10,0 %, Kaliumoleat 1,0 %, Polysorbat 80 0,5 %)

D 50 % [ $\mu\text{m}$ ]	D 90 % [ $\mu\text{m}$ ]	D 95 % [ $\mu\text{m}$ ]	PCS [nm]	PI
0,67 $\pm$ 0,09	1,40 $\pm$ 0,18	1,64 $\pm$ 0,29	615 $\pm$ 19	0,205 $\pm$ 0,016

Während nach 14 Tagen, wie in Abbildung 3-6 zu sehen ist, die verschiedenen LD-Durchmesser bei allen drei Lagertemperaturen noch keine wesentlichen Unterschiede aufweisen, kann man anhand der Meßdaten der PCS eine tendenzielle Zunahme sowohl des mittleren Durchmessers als auch des PI der bei 40°C gelagerten Proben erkennen. Nach weiteren drei Wochen, also nach mehr als einem Monat Gesamt-lagerzeit, ist dieser Unterschied auch in den Meßwerten der Laserdiffraktometrie zu erkennen.

Der LD 50 % der bei 40°C gelagerten Proben ist nach sieben Wochen Lagerzeit auf 0,95  $\mu\text{m}$  angestiegen, die Werte der gekühlten und der bei Raumtemperatur gelagerten Suspensionen liegen jedoch nach wie vor mit 0,73  $\mu\text{m}$  und 0,75  $\mu\text{m}$  im Bereich der Standardabweichung vom Tag der Herstellung. Auch der D 95 %, der einen sensitiven Parameter für die Aggregatbildung darstellt, ist bei den beiden kühler gelagerten Proben mit 1,90  $\mu\text{m}$  (4°C) und 1,98  $\mu\text{m}$  (20°C) nur unwesentlich angestiegen, wohingegen die unter Erwärmung gelagerten Suspensionen den Bereich der Standardabweichung vom Tag der Herstellung mit 3,34  $\mu\text{m}$  schon fast um das Doppelte verlassen haben.

Bei den mittleren Partikelgrößen, die mit Hilfe der PCS ermittelt wurden, ist auch bei den 4°C- und den 20°C-Proben eine Zunahme der Meßwerte auf 766 nm (4°C) und 775 nm (20°C) zu erkennen. Das läßt darauf schließen, daß es auch hier im geringen Ausmaß zur Aggregation gekommen sein muß. Jedoch steht die Zunahme in keinem Verhältnis zum Anwachsen der Partikelgröße der bei 40°C gelagerten Suspensionen. Hier ist der mittlere Partikeldurchmesser innerhalb eines Monats auf 971 nm angestiegen. Auch der PI liegt nun bei 0,344, was belegt, daß die Breite der Partikelgrößenverteilung der Proben stark zugenommen hat und aufgrund dessen der Wert des mittleren Partikeldurchmessers nur noch wenig Aussagekraft besitzt.

Daß es hier hauptsächlich um Aggregation und nicht um Partikelwachstum aufgrund von Ostwaldreifung handelt, zeigt Abbildung 3-7. Deutlich sind neben den einzelnen Partikeln mit ca. 1  $\mu\text{m}$  Durchmesser einige größere Aggregate zu erkennen.

### 3 Nanosuspensionen mit Nifedipin

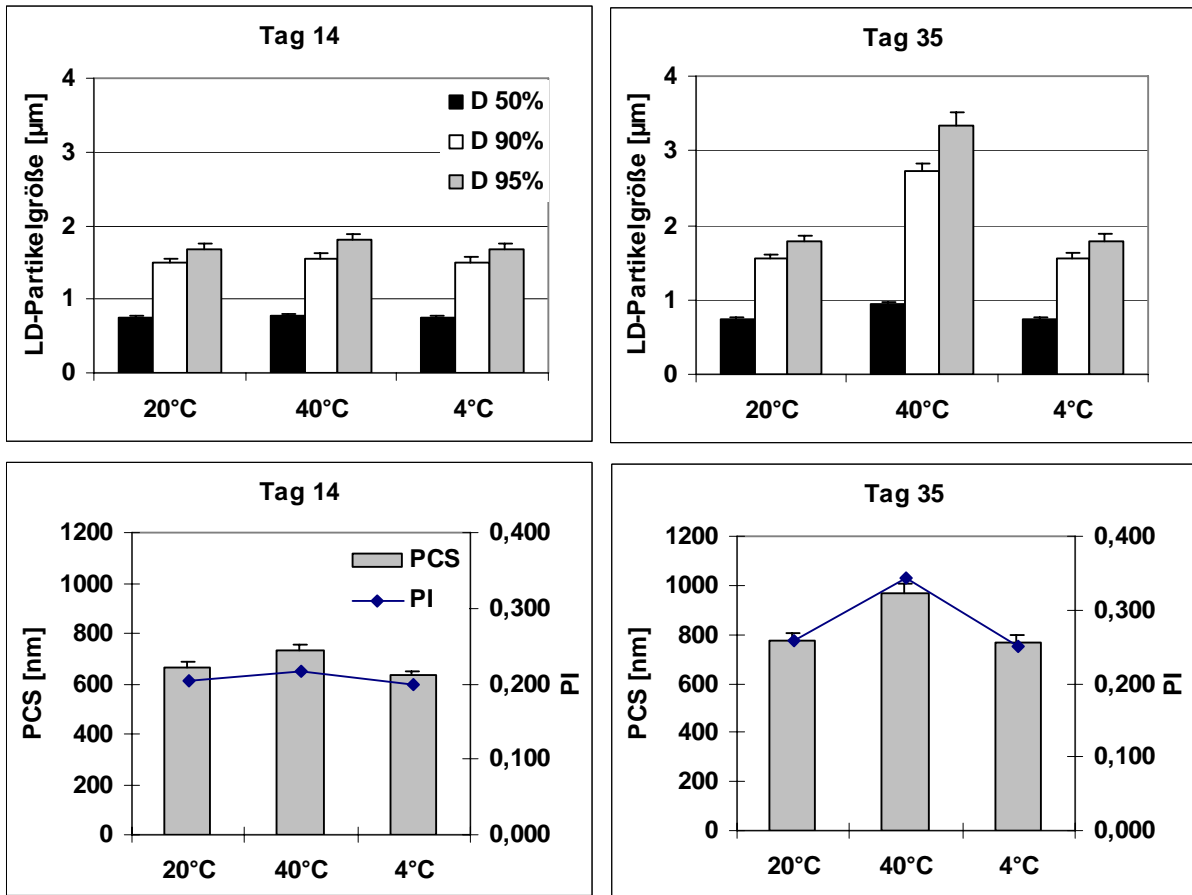


Abbildung 3-6: Partikelgrößen bestimmt mittels Laserdiffraktometrie (LD) und Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) einer bei verschiedenen Temperaturen gelagerten Nifedipin-Nanosuspension nach 14 und 35 Tagen.

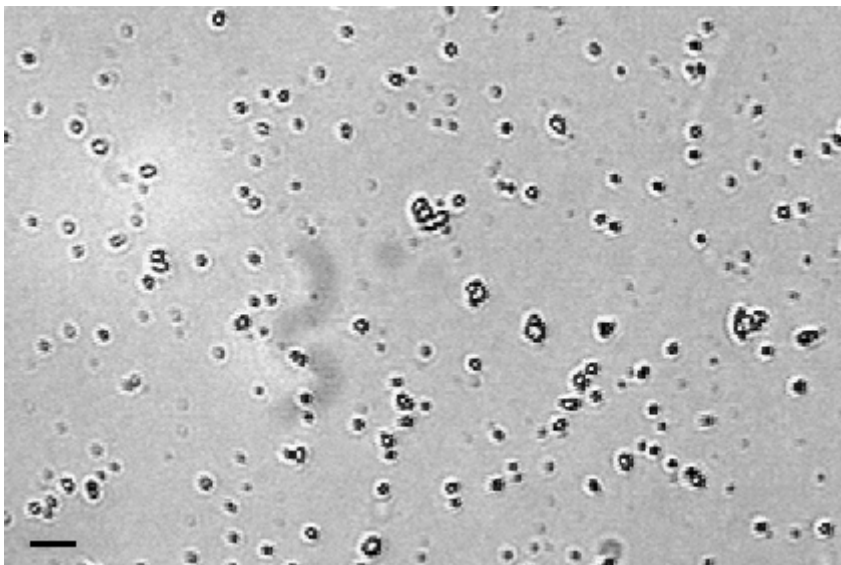


Abbildung 3-7: Lichtmikroskopische Aufnahme einer Nifedipin-Nanosuspension nach 36 Tagen Lagerung bei 40°C (Balken 5 µm).

Eine mögliche Erklärung für die sehr viel stärkere Aggregation der Partikel in den Suspensionen, die bei höherer Temperatur gelagert wurden, liegt im Mechanismus der sterischen Stabilisation. Bei dieser Art der Stabilisierung sind die hydrophilen Molekülteile, in diesem Fall also die PEG-Ketten des Polysorbat 80, stark hydratisiert und ragen vom Partikel weg in das umgebende Dispersionsmedium hinein. Sie bilden eine Adsorbathülle, die die Aggregation zweier Partikel erschwert (s. Kapitel 2.4.1.). Erhöht man nun die Temperatur, so kommt es zur Abnahme der Hydratation der hydrophilen Ketten, so daß sie weniger in das Dispersionsmedium hinaus ragen, sondern stärker auf der hydrophoben Partikeloberfläche adsorbieren. Somit verringert sich die Dicke der die Partikel umgebenden Adsorbathüllen und ihre stabilisierende Funktion nimmt ab. Darüber hinaus führt eine Temperaturerhöhung auch zu einer Abnahme der Viskosität des Dispersionsmittels und somit zu einer verminderten Stabilität der Suspension [135]. Nach der Stokes-Einstein-Gleichung führen eine Erhöhung der Temperatur und die damit verbundene Abnahme der Viskosität zu einer Erhöhung des Diffusionsquotienten. Dadurch wird folgerichtig die Diffusion der Nanopartikel nach dem Fick'schen Gesetz beschleunigt und die Wahrscheinlichkeit des Aufeinandertreffens zweier Teilchen erhöht.

Diese drastische Entwicklung der bei 40°C gelagerten Probe setzte sich im weiteren Verlauf des Experimentes fort. Nach sechs Monaten Lagerung war das gebildete Sediment zwar immer noch sehr gut redispergierbar, allerdings war der LD 50 % schon auf 2,1 µm angewachsen, der LD 95 % lag sogar bei knapp 60 µm. Von einer Bestimmung der mittleren Partikelgröße mittels PCS wurde wegen der starken Aggregation abgesehen. Aufgrund dieser Meßergebnisse wurden die Analysen der bei 40°C gelagerten Proben im weiteren Verlauf der Studie eingestellt. Eine Lagerung oberhalb der Raumtemperatur führt demnach zu einer Destabilisierung der Suspension und ist für den Gebrauch nicht zu empfehlen.

Ganz anders verhielt es sich dagegen bei den Proben, die bei 20°C bzw. 4°C gelagert wurden. Hier stagnierte das anfänglich leichte Anwachsen der Partikel, so daß die Partikelgrößen nach zwölf Monaten Lagerung im Vergleich zu den Werten nach einem Monat nur geringfügig angestiegen waren (Abbildung 3-8).

Nach weiteren 24 Monaten - also einer Gesamtlagerzeit von 3 Jahren - zeigten schließlich auch die bei Raumtemperatur gelagerten Proben ein leichtes Partikelwachstum. Die Untersuchung mit dem Lichtmikroskop ergab, daß es sich hierbei nicht vorwiegend um Aggregation handelt sondern um echtes Partikelwachstum. Dieses wurde wahrscheinlich dadurch hervorgerufen, daß die Proben in einem nicht temperierbaren Schrank gelagert wurden, wo sie den jahreszeitlich bedingten leichten Schwankungen der Raumtemperatur ausgesetzt waren. Diese Unterschiede in der Lagerungstemperatur führen zu leichten Veränderungen in der Löslichkeit und

begünstigen somit die sog. Ostwald-Reifung, bei der sich kleine Partikel zu Gunsten der größeren auflösen.

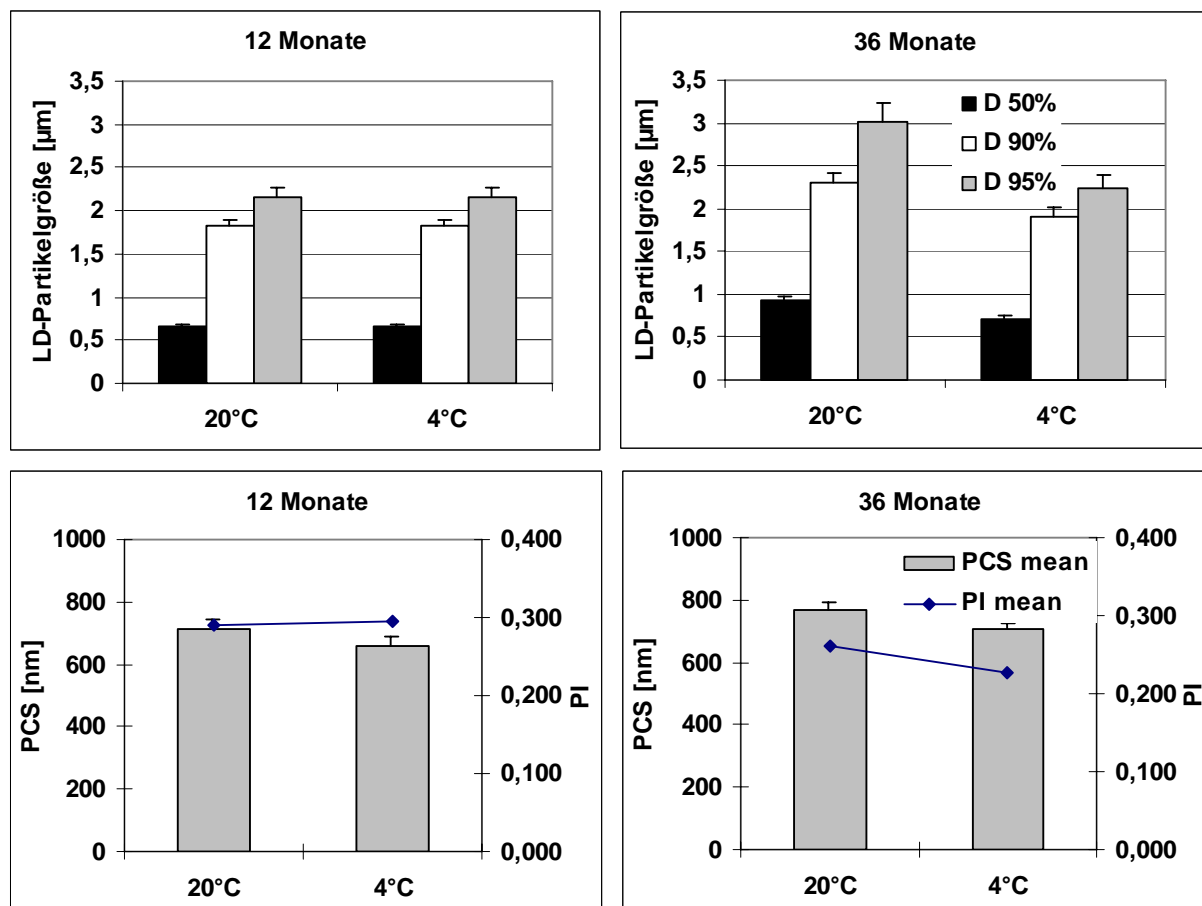


Abbildung 3-8: Partikelgrößen bestimmt mittels Laserdiffraktometrie (LD) und Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) einer bei verschiedenen Temperaturen gelagerten Nifedipin-Nanosuspension nach 12 und 36 Monaten.

#### 3.2.1.2 Zusammenfassung der Ergebnisse zur Lagerstabilität von Nifedipin-Nanosuspensionen

Es konnte gezeigt werden, daß eine Lagerung wäßriger Nifedipin-Nanosuspensionen über einen langen Zeitraum ohne Veränderung möglich ist. Die Lagertemperatur hat dabei einen großen Einfluß auf die Partikelreifung durch Kristallisation und auf die Bildung von Aggregaten. Wird die Suspension bei erhöhter Temperatur (40°C) gelagert, kommt es innerhalb kürzester Zeit zu einem sehr starken Partikelwachstum aufgrund von Aggregation. Die bei Raumtemperatur gelagerten Formulierungen zeigen dagegen ähnlich wie die bei 4°C gelagerten Chargen über einen Zeitraum von

über einem Jahr lediglich ein sehr moderates Partikelwachstum. Darüber hinaus findet Aggregatbildung nur in äußerst geringem Maße statt. Eine Lagerung von Nifedipin-Nanosuspensionen über einen längeren Zeitraum ist sogar bei Raumtemperatur möglich. Um sommerliche Temperaturspitzen zu vermeiden ist allerdings die Lagerung im Kühlschrank vorzuziehen.

### **3.3 Sprühtrocknung einer 10 %igen Nifedipin-Nanosuspension**

Um eine Nanosuspension zu einem Compound weiterverarbeiten zu können, muß ihr mit Hilfe geeigneter Verfahren das Dispersionsmittel entzogen werden. Dabei sollten jedoch die besonderen Eigenschaften der Suspension erhalten bleiben, so daß man sich diese nach einer Redispergierung wieder zu Nutze machen kann. Zu diesem Zweck bieten sich sowohl die Gefriertrocknung (Lyophilisation) als auch die Sprühtrocknung als mögliche Verfahren an. Die Lyophilisation von Nanosuspensionen ist bereits ausführlich untersucht worden [Böhm, 1999; Peters, 1999]. Für verschiedene Arzneistoffe konnten mit Hilfe dieser Methode sehr gute Ergebnisse in Bezug auf die Redispergierbarkeit des trockenen Produktes und die resultierende Partikelgröße nach der Redispergierung erzielt werden. Auch mit der Sprühtrocknung wurden erste Versuche mit Nanosuspensionen mit vielversprechenden Resultaten durchgeführt [30].

Aus ökonomischer Sicht bietet die Sprühtrocknung gegenüber der Gefriertrocknung deutliche Vorteile im Hinblick auf die Prozeßdauer und die dabei entstehenden Kosten. Während die Lyophilisation über mindestens 12 Stunden mit hohem Energieeinsatz betrieben wird, genügt bei der Sprühtrocknung eine kurze Aufheizphase, in der das Dispersionsmedium entfernt wird. Zur Verarbeitung thermolabile Substanzen ist die Lyophilisation als das schonendere Verfahren allerdings besser geeignet, da solche Arzneistoffe aufgrund der Hitze während der Trocknungsphase der Sprühtrocknung zerstört werden könnten.

In dieser Arbeit soll die Möglichkeit der Sprühtrocknung von Nanosuspensionen und die anschließende oder auch gleichzeitige Weiterverarbeitung als Compounds untersucht werden. Alle eingesetzten Formulierungen enthielten als einziges Dispersionsmedium Wasser. Das Ziel bestand darin, trockene Produkte zu erzeugen, die nach ihrer Redispergierung im Hinblick auf die Partikelgröße keinerlei Unterschied gegenüber der Ausgangsformulierung zeigen.

#### 3.3.1 Geräteparameter

Die Sprühtrocknung erfolgte mit einem Büchi 190 Mini Spray Dryer (Büchi Laboratoriums-Technik, Eisligen Deutschland). Als Trocknungstemperatur wurde 95°C gewählt und die Pumpleistung, mit der die Dispersion versprüht wurde, lag bei ca. 5 ml/min. Als Aspiratorleistung wurde eine mittlere Einstellung (50 %) als optimal gefunden und die Lufttemperatur betrug am Auslaß noch 48°C.

#### 3.3.2 Redispergierung

Es wurde eine 10 %ige Nanosuspension nach der weiter oben ermittelten Rezeptur (NiS5) hergestellt und gleich nach der Produktion mit Hilfe des Büchi 190 sprühgetrocknet. Um eine Aggregation der Partikel während der Trocknung zu verhindern, können Zuckeralkohollösungen (beispielsweise Mannit) der Nanosuspension als Protektor zugesetzt werden. Bei dieser Versuchsreihe konnte darauf allerdings verzichtet werden, da sich das Pulver auch ohne Zusatz hervorragend redispergieren ließ.

Um nach der Redispergierung das gleiche Konzentrationsverhältnis wie bei der ursprünglichen Nanosuspension (10 %) zu erreichen, wurden 500 mg des sprühgetrockneten Pulvers in 4,50 g Wasser aufgenommen und mehrmals kräftig geschüttelt. Die Pulverpartikel zerfielen sofort und bildeten eine feine Suspension ohne größere, mit bloßem Auge sichtbare, Aggregate.

#### 3.3.3 Partikelgrößen vor und nach der Sprühtrocknung

Die Partikelgrößenverteilung der verwendeten Charge der Nanosuspension wurde direkt nach der Produktion mittels Laserdiffraktometrie bestimmt. Im Anschluß an die Redispergierung wurde das Produkt ebenfalls mit Hilfe der LD analysiert. Abbildung 3-9 zeigt die beiden Verteilungskurven im direkten Vergleich. Man kann sehr gut erkennen, daß die Partikelgröße durch die Sprühtrocknung und die anschließende Redispergierung nahezu unverändert geblieben ist, da die beiden Kurven beinahe deckungsgleich sind. Dieses Ergebnis ist für die Entwicklung eines Compounds von entscheidendem Vorteil, da gezeigt werden konnte, daß durch die Herstellung mittels Sprühtrocknung die Eigenschaften der Nanosuspension nicht verändert werden und die Partikel nach der Redispergierung nicht aggregiert sind.

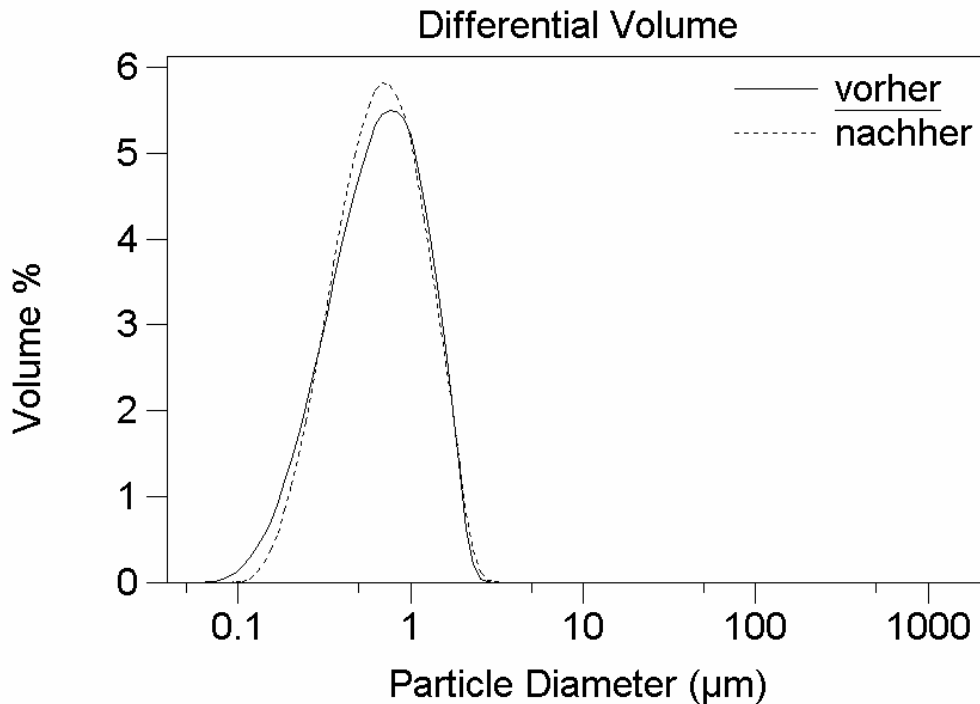


Abbildung 3-9: Partikelgrößenverteilung einer Nifedipin-Nanosuspension vor der Sprühtrocknung und nach der Redispergierung, gemessen mittels Laserdiffraktometrie.

### 3.3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse zur Sprühtrocknung einer Nifedipin-Nanosuspension

Es konnte gezeigt werden, daß es möglich ist, eine 10 %ige Nifedipin-Nanosuspension mittels Sprühtrocknung in ein trockenes Pulver zu überführen. Die anschließende Redispergierung erfolgte problemlos und die resultierende Suspension zeigte in Bezug auf die Partikelgröße keine Veränderung gegenüber der Ausgangssuspension.

## 3.4 Herstellung hochkonzentrierter Nanosuspensionen

Ein Feststoffgehalt von 10 % ist eine häufig benutzte Standardkonzentration bei der Herstellung von Nanosuspensionen, in der Literatur konnte darüber hinaus keine Angabe über eine stärker konzentrierte Nanosuspension gefunden werden.

Bei 10 % an Feststoff ist das Risiko einer Blockade des Homogenisationsspaltens durch Partikel gering. Das Risiko nimmt weiter ab, wenn man zur Herstellung des Prämixes von vornherein ein Pulver verwendet, das sehr fein gemahlen oder, noch besser, mikronisiert vorliegt. Mit zunehmender Feststoffkonzentration in der Suspension steigt diese Gefahr jedoch trotz feiner Ausgangspartikel an, so daß die Herstellung höher konzentrierter Suspensionen problematisch sein kann.

Die Herstellung von hochkonzentrierten Nanosuspensionen ist jedoch anzustreben, weil sich dadurch pro Volumen Suspension eine höhere Dosis Arzneistoff applizieren ließe. Außerdem müßte bei einer Weiterverarbeitung der Suspension zu einem trockenen Produkt im Verhältnis zum Arzneistoff weniger Dispersionsmittel entzogen werden. Dadurch könnte das Verfahren beschleunigt und die Kosten reduziert werden.

#### 3.4.1 Rezepturen mit Nifedipin

Das Ziel dieser Versuchsreihe war es, die maximale Feststoffkonzentration einer Nanosuspension zu bestimmen, deren Qualität in Bezug auf die Partikelgrößenverteilung und auf die Lagerstabilität den 10 %igen Suspensionen vergleichbar ist. Um zu vermeiden, daß es während der Produktion aufgrund des hohen Partikelgehalts zu einer Verstopfung des Homogenisationsspaltens kommt, wurde die Menge an Feststoff zur Ermittlung der maximal prozessierbaren Konzentration schrittweise erhöht.

Ein weiterer wichtiger Parameter bei Erhöhung des Feststoffgehaltes ist die Konzentration der zugesetzten Hilfsstoffe. Ähnlich wie bei der Herstellung parenteraler Fett-emulsionen, bei der im Allgemeinen ein Zusatz von 1,2 % Lecithin zur Stabilisierung einer 10 %igen Emulsion ausreicht, genügen ca. 1,5 % Tenside um eine Nanosuspension mit einem Gehalt von 10 % zu stabilisieren. In der Technologie der parenteralen Fett-emulsionen können aber auch Zubereitungen mit einer Konzentration von 20 % Öl mit 1,2 % Lecithin stabilisiert werden. Das liegt daran, daß vorher noch ein Überschuß an freiem Lecithin in Form von eigenständigen Lecithin-Liposomen in der Emulsion vorliegt, welcher die Stabilität der Emulsion nicht beeinträchtigt. Um festzustellen, ob bei Nanosuspensionen eine ähnliche Möglichkeit besteht, wurden verschiedene Formulierungen mit ansteigenden Tensidkonzentrationen hergestellt.

Für die erste Formulierung wurde die Tensidzusammensetzung übernommen, die sich bei einem Feststoffgehalt von 10 % als optimal erwiesen hatte. Darüber hinaus lag es nahe, die Menge der eingesetzten Tenside ebenso zu verdoppeln wie die des Modellarzneistoffs. Schließlich wurde als dritte Variante eine mittlere Konzentration gewählt. Die einzelnen Rezepturen sind in Tabelle 3-3 aufgelistet.



Tabelle 3-3: Zusammensetzungen der Rezepturen einer Nifedipin-Nanosuspension mit 20 % Feststoffgehalt (alle Konzentrationen in % m/m)

Charge	Nifedipin	Kaliumoleat	Polysorbat 80
N20A	20	1,0	0,50
N20B	20	1,5	0,75
N20C	20	2,0	1,00

Die Herstellung der verschiedenen Suspensionen erfolgte analog dem bereits beschriebenen Standardverfahren. Es wurde zuerst durch Anreiben des Arzneistoffes mit der jeweiligen Tensidlösung eine Stammsuspension hergestellt, die anschließend eine Minute mit dem Ultra-Turrax bei 9500 U/min dispergiert wurde. Die Vorzerkleinerung erfolgte durch Homogenisation von jeweils 2 Zyklen bei 150 bar und bei 500 bar mit dem Micron LAB 40. Die eigentliche Homogenisation fand dann bei 1500 bar über 20 Zyklen statt. Nach den Zyklen 5, 10, 15 und 20 wurden Proben entnommen und in silanisierte Glasvials abgefüllt, die zum Schutz vor Licht mit Aluminiumfolie umwickelt waren.

Von den hergestellten Suspensionen wurde sofort nach der Herstellung (d0) die Partikelgröße mittels Laserdiffraktometrie (LD) und Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) bestimmt. Weitere Messungen fanden nach einem Tag (d1), einer Woche (d7) und nach vier Wochen (d28) jeweils ausschließlich mit dem Endprodukt (Zyklus 20) statt.

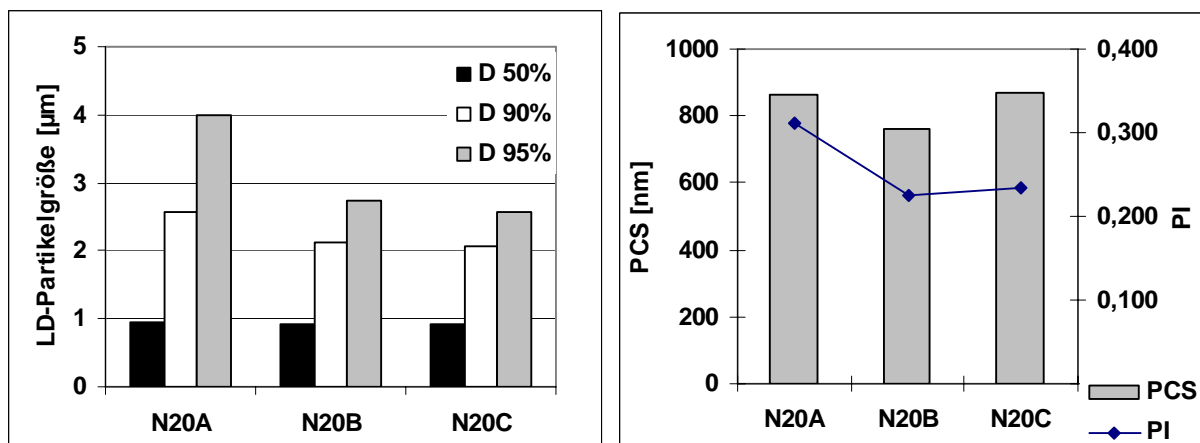


Abbildung 3-10: Partikelgrößen der verschiedenen Rezepturformulierungen nach Zyklus 20, gemessen mittels Laserdiffraktometrie (LD) und Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) direkt nach der Produktion.

Abbildung 3-10 zeigt die Resultate der drei Formulierungen nach 20 Zyklen bei 1500 bar. Das beste Resultat wurde bei Charge N20B erzielt. Sowohl der mittlere Partikel-durchmesser der PCS mit 758 nm als auch der Durchmesser der Hauptpopulation im Rahmen der LD (LD 50 %) mit 0,91  $\mu\text{m}$  stellen die niedrigsten Werte dar. Der Polydispersitätsindex der Charge N20B liegt bei 0,225, was bedeutet, daß es sich um eine relativ enge Partikelgrößenverteilung handelt. Dies wird durch die Meßdaten der Laserdiffraktometrie bestätigt. Der PI der Charge N20C beträgt 0,233, was auf eine ähnlich gute Größenverteilung schließen läßt, allerdings liegt der mittlere Durchmesser bei 867 nm. Eine mögliche Ursache stellt die hohe Tensidkonzentration dar. Die Tensidmoleküle können aus Platzgründen nicht alle ihre hydrophoben Molekülteile auf der Partikeloberfläche adsorbieren, so daß einige davon in das umgebende Dispersionsmedium ragen. Nähert sich nun ein anderer Partikel, so kommt es zu Wechselwirkungen zwischen den hydrophoben Ketten und die Partikel aggregieren. Dieses Phänomen wird als Anchoring bezeichnet. Das verdeutlicht, daß ein Tensidüberschuß nicht zwangsläufig, wie bei den Fettemulsionen, Micellen bildet und die Stabilität der Dispersion nicht unbeeinflusst läßt.

Bei der Charge N20A ist das Gegenteil der Fall. Hier ist die Tensidmenge zu klein, um die bei der Homogenisation neu entstehenden Oberflächen zu besetzen.

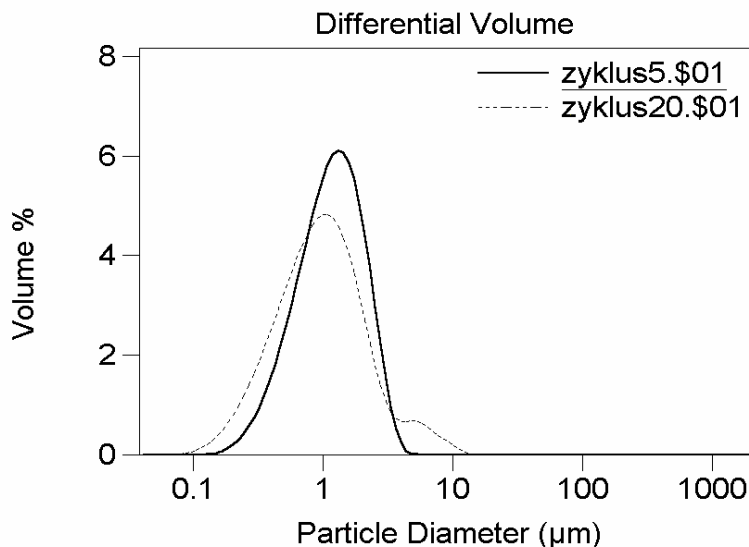


Abbildung 3-11: Vergleich der LD-Partikelgrößenverteilungen der Charge N20A nach Zyklus 5 und Zyklus 20

Abbildung 3-11 zeigt die Partikelgrößenverteilung der Formulierung N20A nach Zyklus 5 und Zyklus 20. Man kann gut erkennen, daß sich der Durchmesser der Hauptpopulation im Laufe der Homogenisation zu kleineren Partikelgrößen hin verschoben hat. Die zunehmende Zerkleinerung der Partikel hat zu einer starken Vergrößerung

der Gesamtoberfläche geführt, so daß die vorhandenen Tensidmoleküle nicht mehr ausreichen, um diese vollständig zu besetzen. Daher kann bei Annäherung zweier Partikel deren Aggregation nur unzureichend verhindert werden. Erkennbar wird dies dadurch, daß sich im Mikrometerbereich eine deutliche Schulter ausgebildet hat, die durch diese Aggregate verursacht wird.

Nach 28 Tagen Lagerung bei Raumtemperatur sind die Unterschiede zwischen den einzelnen Formulierungen noch stärker ausgeprägt (Abbildung 3-12). Bei der Formulierung N20A ist die Aggregation aufgrund unzureichender Stabilisierung weiter fortgeschritten, so daß der mittlere Durchmesser nun bei fast 1000 nm liegt. Anhand des PI, der auf 0,354 angewachsen ist, kann man erkennen, daß die Breite der Größenverteilung ebenfalls deutlich zugenommen hat. Auch bei Rezeptur N20C hat das Ausmaß der Aggregation aufgrund des Tensidüberschusses weiter zugenommen. Lediglich Formulierung N20B hat während der 4 Wochen Lagerung kaum Veränderungen gezeigt. Dies führte zu der Erkenntnis, daß das Fenster für die optimale Tensidkonzentration nicht sehr groß ist. Sowohl ein zu niedriger als auch ein zu hoher Anteil von Tensiden führt bei den hergestellten Nanosuspensionen schnell zu Instabilitäten.

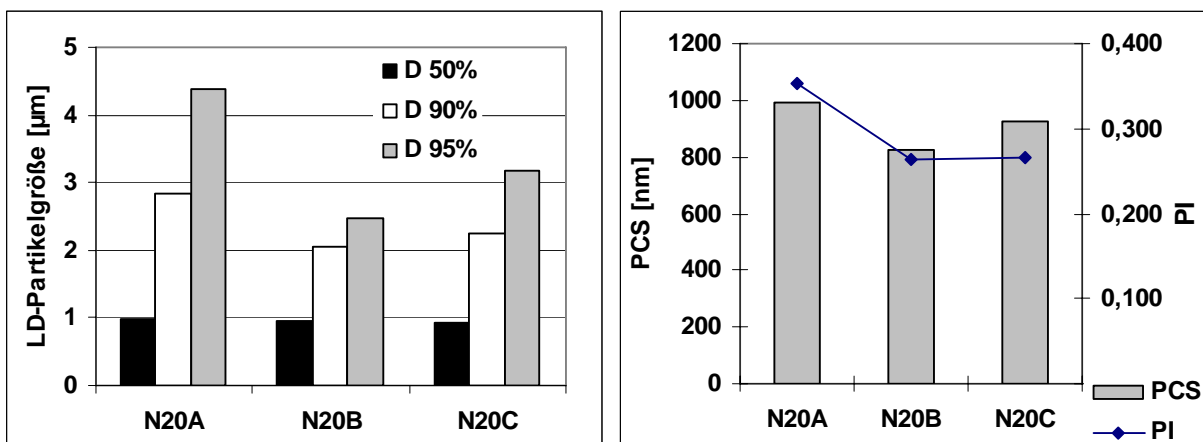


Abbildung 3-12: Partikelgrößen der verschiedenen Rezepturformulierungen nach 28 Tagen Lagerung bei Raumtemperatur, gemessen mittels Laserdiffraktometrie (LD) und Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS).

Nachdem die Herstellung einer Nanosuspension mit einem Feststoffgehalt von 20 % problemlos verlaufen war und die Qualität des erhaltenen Endproduktes alle Erwartungen erfüllt hatte, wurde für die nächste Versuchsreihe die Nifedipinkonzentration auf 30 % erhöht. Wieder wurden verschiedene Formulierungen mit ansteigenden Tensidkonzentrationen hergestellt. Als Basis diente die Tensidmenge, mit der 20 %

### 3 Nanosuspensionen mit Nifedipin

Arzneistoff optimal stabilisiert werden konnten (Formulierung N20B). Bei den weiteren Formulierungen wurde diese Tensidkonzentration schrittweise erhöht. Die Zusammensetzungen der einzelnen Formulierungen finden sich in Tabelle 3-4.

Tabelle 3-4: Zusammensetzungen der Rezepturen einer Nifedipin-Nanosuspension mit 30 % Feststoffgehalt (alle Konzentrationen in % m/m)

Charge	Nifedipin	Kaliumoleat	Polysorbat 80
N30D	30	1,5	0,75
N30E	30	2,0	1,00
N30F	30	2,5	1,25
N30G	30	3,0	1,50

Die Herstellung, Probenziehung und Lagerung der hochkonzentrierten Nanosuspensionen erfolgte wie bereits für die 20 %igen beschrieben.

Abbildung 3-13 zeigt die Resultate der Partikelgrößenbestimmung der drei Formulierungen nach 20 Zyklen bei 1500 bar direkt nach der Herstellung. Es wird deutlich, daß sie sich im mittleren Durchmesser (PCS) und ebenso im Durchmesser der Hauptpopulation (LD 50 %) kaum unterscheiden. Allerdings weist Formulierung N30F im Unterschied zu den beiden anderen einen deutlich geringeren Anteil an Mikropartikeln auf, was sich sowohl in den D 90 % und D 95 % Werten als auch in Polydispersitätsindex widerspiegelt.

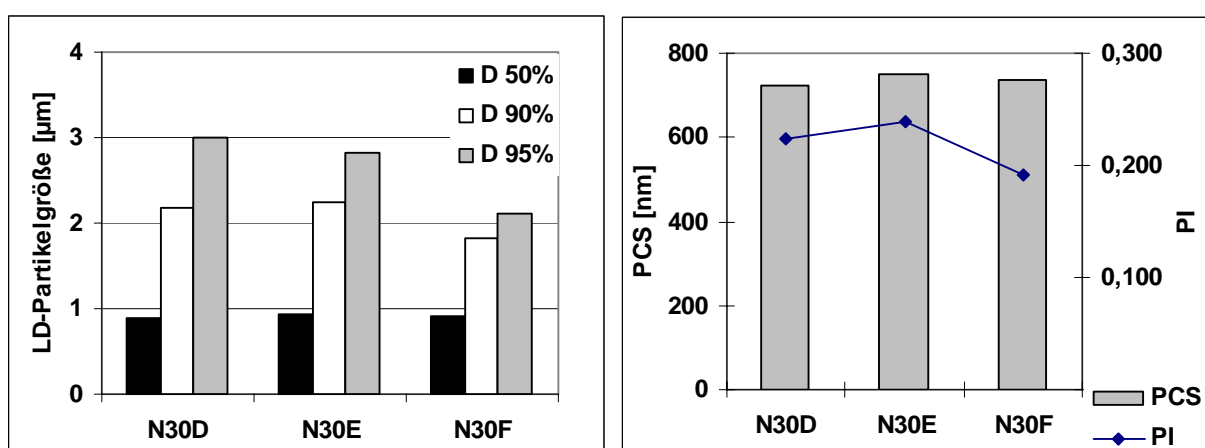


Abbildung 3-13: Partikelgrößen der verschiedenen Rezepturformulierungen einer 30 %igen Nifedipin-Nanosuspension nach Zyklus 20, gemessen mittels Laserdiffraktometrie (LD) und Photonenkorrelationsspektroskopie (PCS) direkt nach der Produktion.

Das läßt sich genau wie in der vorangegangenen Studie dadurch erklären, daß die Tensidmenge der ersten beiden Formulierungen nicht ausreicht, um die bei der Homogenisation neu entstandenen Oberflächen vollständig zu besetzen und somit Nanopartikel ausreichend zu stabilisieren. Dadurch kommt es zur Aggregation der Partikel.

Auch diese Formulierungen wurden nach einer Lagerzeit von 28 Tagen bei Raumtemperatur erneut analysiert. Abbildung 3-14 zeigt die Resultate der Partikelgrößenbestimmung nach der Lagerung. Diese Daten zeigen noch deutlicher, was sich direkt nach der Herstellung schon angedeutet hat. Die Rezeptur mit der geringsten Tensidkonzentration (N30D) ist am stärksten aggregiert, da hier aufgrund der geringen Anzahl an Emulgatormolekülen die Besetzung der Partikeloberflächen unvollständig und somit die Stabilisierung unzureichend ist. Die Ergebnisse beider Meßverfahren bestätigen diese Entwicklung. Bei der Formulierung N30E ist die Aggregation nicht so stark, allerdings reicht die vorhandene Tensidmenge immer noch nicht aus, um die Partikel bestmöglich zu stabilisieren. Die Suspension N30F mit der höchsten verwendeten Stabilisatorkonzentration zeigt das geringste Partikelwachstum. Die Ergebnisse beider Meßverfahren bestätigen nach einer Lagerzeit von einem Monat nur ein geringfügiges Anwachsen der Partikel.

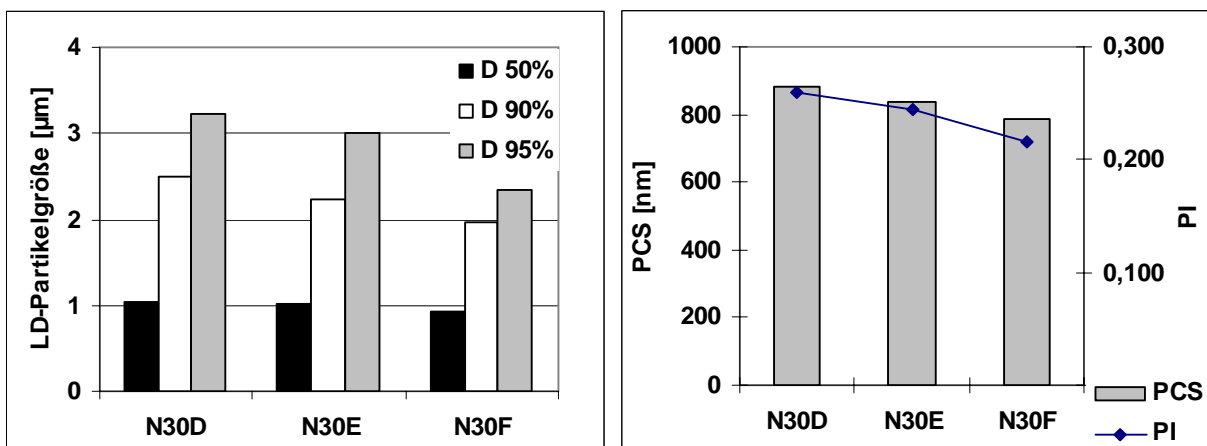


Abbildung 3-14: Partikelgrößen der verschiedenen Rezepturformulierungen einer 30%igen Nifedipin-Nanosuspension nach 28 Tagen Lagerung bei Raumtemperatur, gemessen mittels Laserdiffraktometrie (LD) und Photonenkorrelationspektroskopie (PCS).

Aufgrund dieses Ergebnisses sollte nun überprüft werden, ob eine weitere Erhöhung der Tensidkonzentration zu einer nochmaligen Verbesserung der Resultate führt. Dazu wurde eine vierte Charge mit einem Feststoffanteil von 30 % produziert. Die

### 3 Nanosuspensionen mit Nifedipin

Zusammensetzung der Charge N30G findet sich in Tabelle 3-4 (S.68). Diese neue Formulierung konnte die Erwartungen jedoch nicht erfüllen. Bei der Bestimmung der Partikelgröße lagen besonders die für Aggregate sensiblen Parameter D 90 % und D 95 % deutlich höher als bei der Formulierung N30F. Darüber hinaus deutet ein PI von 0,386 auf eine sehr breite Verteilung der Partikelgröße hin. Man kann daher davon ausgehen, daß die wieder zunehmende Aggregationstendenz jetzt durch einen Überschuß an Tensiden hervorgerufen wird.

Da auch die Herstellung einer qualitativ hochwertigen Nanosuspension mit 30 % Feststoffgehalt problemlos möglich war, wurde die Konzentration nun auf 40 % Nifedipin erhöht. Hierbei traten jedoch erstmalig Probleme hinsichtlich der Verarbeitbarkeit auf. Aufgrund des hohen Pulveranteils veränderten sich die Fließeigenschaften der Suspension drastisch. Sie war nicht mehr nahezu idealviskos, wie das beispielsweise bei Wasser der Fall ist, sondern die Viskosität stieg stark an und die Suspension bekam einen pastösen Charakter. Dieses veränderte Fließverhalten bereitete bei der Verarbeitung der Suspension mit dem Micron LAB 40 erhebliche Probleme. Es war nicht möglich eine Charge über mehrere Zyklen ohne große Substanzverluste zu homogenisieren. Daher wurde die weitere Arbeit an dieser Studie eingestellt. Es ist jedoch nicht auszuschließen, daß mit geeignetem maschinellen Equipment, das in der Lage ist derartige Materialien zu verarbeiten, auch noch höher konzentrierte Nanosuspensionen hergestellt werden können.

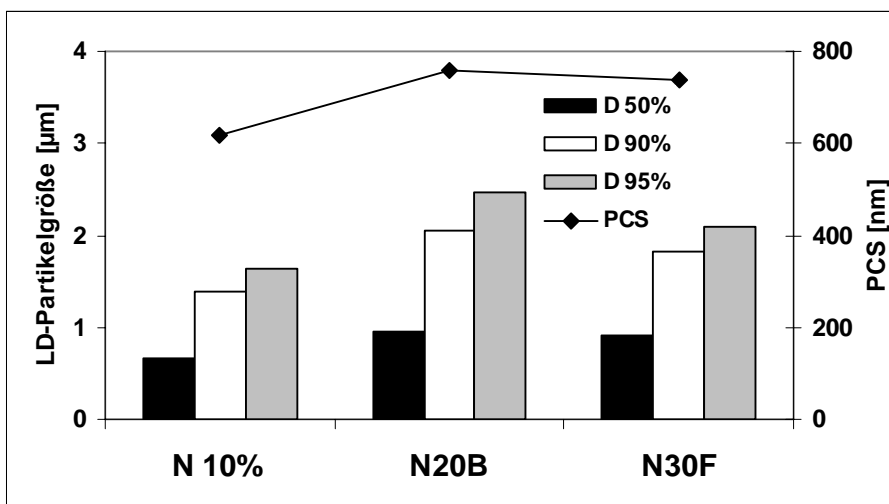


Abbildung 3-15: Partikelgrößen von Nifedipin-Nanosuspension mit unterschiedlicher Feststoffkonzentration nach 20 Zyklen bei 1500 bar, gemessen direkt nach der Produktion mittels Laserdiffraktometrie (LD) und Photonenkorrelationspektroskopie (PCS).

Um die Qualität der verschiedenen konzentrierten Nanosuspensionen untereinander besser vergleichen zu können, zeigt Abbildung 3-15 die jeweils beste Formulierung der einzelnen Konzentrationsstufen und eine auf die gleiche Weise produzierte Charge, bei der die Nifedipin-Konzentration 10 % betrug. Wie man erkennen kann, sind die Partikel der 10 %igen Charge zwar am kleinsten, jedoch ist der Unterschied zu denen der höher konzentrierten Suspensionen gering. Da auch die Stabilität über einen Zeitraum von einem Monat vergleichbare Ergebnisse liefert, kann man durchaus von einer vergleichbaren Qualität sprechen.

#### **3.4.2 Zusammenfassung der Ergebnisse für Nifedipin**

Es konnte gezeigt werden, daß es möglich ist, mit dem Modellarzneistoff Nifedipin hochkonzentrierte Nanosuspensionen herzustellen, deren Feststoffkonzentration bis auf 30 % gesteigert werden konnte. Die resultierende Partikelgröße nach 20 Homogenisationszyklen bei 1500 bar ist im Vergleich zu einer 10 %igen Suspension nur geringfügig höher. Während einer Lagerung von 28 Tagen bei Raumtemperatur zeigten sich die hochkonzentrierten Suspensionen stabil, da Aggregation und Partikelwachstum nur in sehr geringem Ausmaß stattfanden. Somit konnte eine Verdreifachung des Feststoffanteils erreicht werden, die bei der Weiterverarbeitung der Suspensionen deutliche Vorteile bringt.

#### **3.4.3 Rezepturen mit Azodicarbonamid**

Als ein weiterer Modellarzneistoff zur Herstellung hochkonzentrierter Nanosuspensionen sollte nun Azodicarbonamid dienen. Graus konnte im Rahmen seiner Arbeit zeigen, daß die Herstellung von Nanosuspensionen mit dieser Substanz möglich ist, allerdings wurden nur Feststoffkonzentrationen zwischen 1 % und 10 % verarbeitet.

Graus Untersuchungen ergaben weiterhin, daß die Formulierungen, die nur Poloxamer 188 als Stabilisator enthielten, bei Azodicarbonamid (ADA) zu den kleinsten und am engsten verteilten Partikelgrößen führen, die darüber hinaus hervorragend redispersierbar waren. In dieser Studie sollte nun untersucht werden, ob es auch unter Beibehaltung dieser ausschließlich sterischen Stabilisation möglich ist, höher konzentrierte ADA-Nanosuspensionen herzustellen.

Der Durchmesser der Hauptpopulation einer Formulierung mit 10 % ADA und 0,5 % Poloxamer 188 nach 20 Zyklen bei 1500 bar gemessen mit Laserdiffraktometrie (D 50 %) lag bei 0,73 µm, D 90 % bei 2,45 µm und D 95 % bei 3,17 µm.

Darüber hinaus konnte für diese Formulierungen eine über ein Jahr unveränderte physikalische Stabilität nachgewiesen werden. Bei einer Feststoffkonzentration von 10 % benötigte man zur Stabilisierung 0,5 % Poloxamer 188. Diese Rezeptur diene

### 3 Nanosuspensionen mit Nifedipin

als Vorlage für die Formulierungen mit 20 % ADA. Die genaue Zusammensetzung der einzelnen Rezepturen sind Tabelle 3-5 zu entnehmen.

Tabelle 3-5: Zusammensetzungen der Rezepturen von ADA-Nanosuspensionen mit 20 % Feststoffgehalt (alle Konzentrationen in % m/m)

	A20G	A20H	A20J
Azodicarbonamid	20	20	20
Poloxamer 188	0,5	1,0	1,5

Hergestellt wurden die Suspensionen analog den hochkonzentrierten Nanosuspensionen mit dem Arzneistoff Nifedipin in 40 ml Chargen. Aufgrund der vergleichsweise hohen Härte der Substanz wurde jedoch, um einer Verstopfung des Ventils vorzubeugen, die Vorzerkleinerung nicht wie gewöhnlich mit 2 Zyklen bei 150 bar und 2 Zyklen bei 500 bar durchgeführt, sondern zuerst mit 2 Zyklen bei 100 bar, dann 2 Zyklen bei 250 bar und abschließend ebenfalls 2 Zyklen bei 500 bar. Im Anschluß daran folgten wie gewohnt 20 Zyklen bei 1500 bar.

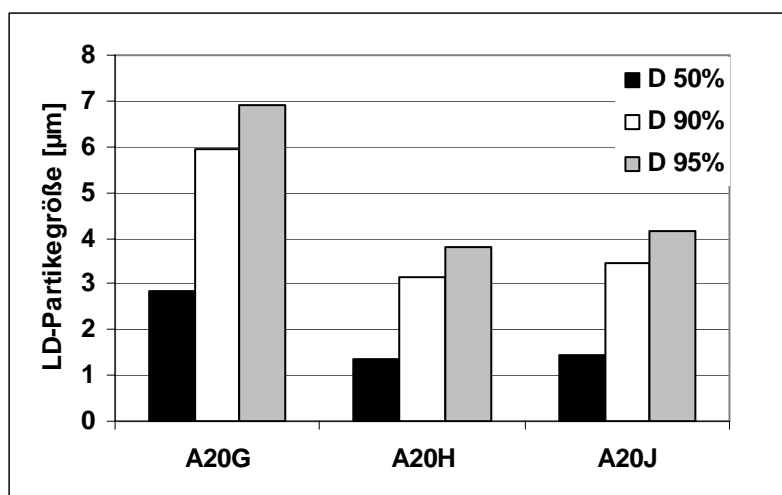


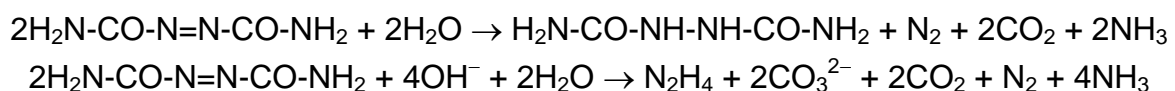
Abbildung 3-16: Partikelgrößen der verschiedenen Rezepturformulierungen einer 20 %igen Nanosuspension mit ADA nach Zyklus 20, gemessen mittels Laserdiffraktometrie (LD) direkt nach der Produktion

Abbildung 3-16 zeigt die Partikelgrößen der drei Formulierungen gemessen direkt nach der Produktion. Es ist offensichtlich, daß die geringe Tensidmenge in Rezeptur



A20G zu keinem ausreichenden Ergebnis führt. Die Zubereitungen A20H und A20J liefern sehr ähnliche Resultate, wobei die Partikelgrößenverteilung von A20H noch etwas enger ist. Es fällt jedoch auf, daß die Qualität der 10 %igen Charge durch keine der Rezepturen erreicht werden konnte. Der Durchmesser der Hauptpopulation (D 50 %) ist bei beiden Formulierungen beinahe doppelt so hoch wie bei einer Feststoffkonzentration von 10 %. Das läßt sich dadurch erklären, daß bei der Produktion der höher konzentrierten Chargen bereits das Phänomen auftrat, welches Grau ausschließlich bei Ansatzmengen größer 200 ml beschreibt, die mit dem halbkontinuierlichen LAB 40 hergestellt wurden: es kam während der Produktion zu einer starken Schaumbildung im Produkt, welche den nachfolgenden Homogenisationsprozeß behinderte. Da ein Gas im Gegensatz zu einer Flüssigkeit komprimierbar ist, kommt es beim Durchtritt der, in der Suspension fein verteilten, Luftblasen durch den Homogenisationsspalt zu einem Druckabfall innerhalb des Ventils. Die automatische Steuerung des Homogenisators versucht nun, diese Schwankungen auszugleichen, indem der von außen angelegte Druck durch Verengung des Durchtrittsspalt erhöht wird. Folgt nun wieder reines Produkt ohne Gasblasen, ist der eingestellte Spalt zu klein. Der Druck steigt extrem an und die Maschine korrigiert erneut. Das kann dazu führen, daß sich der Spalt aufgrund der starken Druckerhöhung für kurze Zeit zu weit öffnet und somit auch größere Partikel passieren lässt, bevor er wieder auf den Sollwert eingestellt wird. Sind sehr viele Luftblasen in der Suspension kann es zu Schwingungen innerhalb des Ventils kommen, so daß während des gesamten Homogenisationsvorganges keine konstante Spaltbreite eingestellt werden kann. Das erklärt die Abnahme der Produktqualität.

Die Schaumbildung ist nicht auf die Wirkung des eingesetzten Tensids zurückzuführen, sondern hat ihre Ursache in den chemischen Eigenschaften der Substanz ADA. Azodicarbonamid wird in der Industrie als Treibmittel zur Herstellung von Polymer-schäumen herangezogen, da es sich relativ leicht zu gasförmigen Produkten zersetzt. Vollständige Zersetzung findet zwar erst bei Temperaturen um 225°C statt, allerdings kommt es aufgrund des hohen Energieeintrages während der Homogenisation im Spalt zu Temperaturspitzen, die zu einer teilweisen Zersetzung der Substanz führen können. Dabei laufen folgende Reaktionen ab:



Der bei der Zersetzung gebildete Ammoniak unterstützt ein Fortschreiten der Reaktion. Da alle hierbei entstehenden Produkte gasförmig sind, kommt es aufgrund der Verwirbelung des Produktes während der Homogenisation zu der beobachteten

Schaumbildung. Da diese in vorliegendem Fall von innen heraus erfolgt, ist ein Zusatz von Schaumzerstörern wie beispielsweise Silikonöl wenig hilfreich.

Die Redispergierbarkeit und die Lagerstabilität der Suspensionen wurden davon jedoch nicht beeinflusst. Nach zwei Wochen Lagerung bei Raumtemperatur ließ sich das Sediment sehr leicht aufschütteln, und die gemessenen Partikelgrößen hatten sich nicht verändert. Abbildung 3-17 zeigt die Chargen A20H und J nach der Lagerung und zum Vergleich eine Charge mit 10 % Feststoffgehalt (ebenfalls nach zwei Wochen Lagerung).

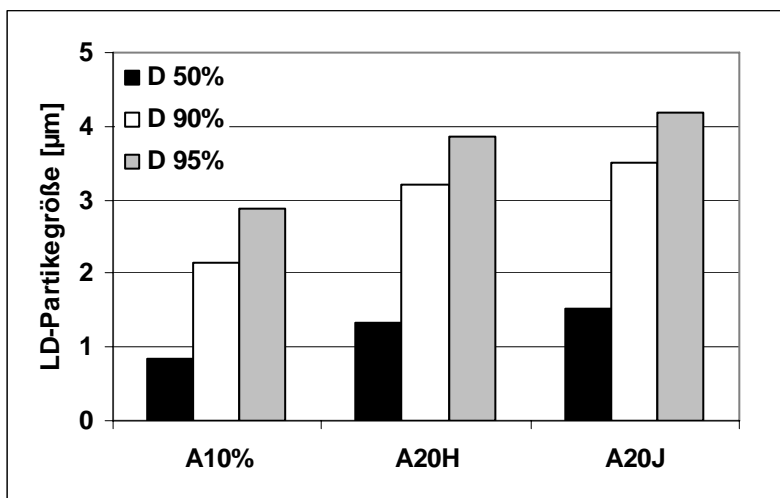


Abbildung 3-17: Partikelgrößen einer 10 %igen und zweier 20 %igen Nanosuspensionen mit ADA nach Zyklus 20, gemessen mittels Laserdiffraktometrie (LD) nach 14 Tagen Lagerung bei Raumtemperatur

Der Versuch Nanosuspensionen mit einer Konzentration von 30 % Azodicarbonamid herzustellen, scheiterte an der starken Schaumbildung während der Produktion. Diese führte neben den oben beschriebenen technischen Problemen auch zu Substanzverlusten im Laufe der Herstellung. Abbildung 3-18 zeigt die Partikelgrößenverteilung der Nanosuspension nach 20 Zyklen gemessen mittels Laserdiffraktometrie. Man kann sehr gut erkennen, daß in der Suspension zwei verschiedene Teilchenpopulationen vorliegen. Die eine besteht aus kleinen Partikeln, die in ihrer Größenordnung etwa jenen entsprechen, die man auch bei der Homogenisation einer 10 %igen Charge erhält. Die andere Population besteht aus größeren Partikeln, die aufgrund der Schaumbildung während der Homogenisation nicht optimal zerkleinert wurden.

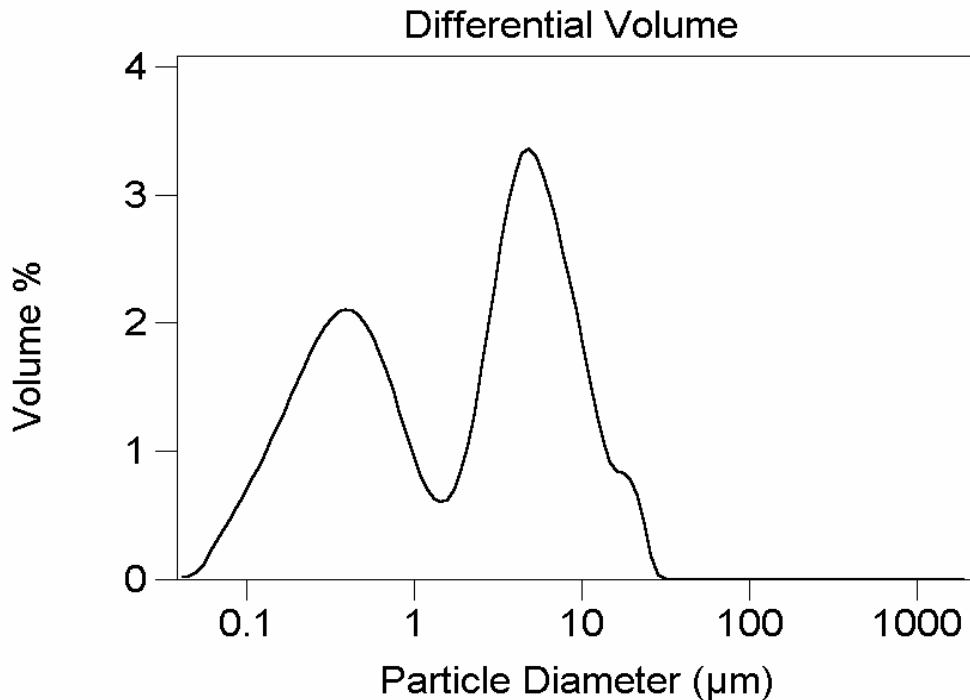


Abbildung 3-18: LD-Volumenverteilung einer 30 %igen Nanosuspension mit Azodicarbonamid 20 Zyklen bei 1500 bar homogenisiert und direkt nach der Produktion vermessen

### 3.4.4 Zusammenfassung der Ergebnisse für Azodicarbonamid

Es konnte gezeigt werden, daß eine Produktion von hochkonzentrierten Nanosuspensionen mit dem Modellarzneistoff Azodicarbonamid möglich ist. Allerdings kommt es mit steigendem Feststoffgehalt zu einer immer stärker werdenden Schaumbildung, die sich negativ auf das Homogenisationsergebnis auswirkt. Bis zu einer Feststoffkonzentration von 20 % lassen sich Suspensionen jedoch in akzeptabler Qualität unter ausschließlicher Verwendung eines sterischen Stabilisators herstellen.

Höhere Konzentrationen lassen sich dagegen aufgrund der Schaumbildung nicht mehr verarbeiten. Die 20 %igen Suspensionen zeigten sich in Bezug auf ihre Lagerstabilität den geringer konzentrierten Chargen vergleichbar, da über einen Lagerzeitraum von 14 Tagen kein nennenswertes Partikelwachstum stattfand.

## 3.5 Effektivität der Homogenisation bei geringeren Drücken

Bei der Herstellung von Nanosuspensionen wurde bisher zur Homogenisation meist ein relativ hoher Druck aufgewendet (1500 bar). Bei dieser Vorgehensweise werden sowohl die Substanz als auch die Produktionsanlage einer starken Belastung ausgesetzt. Bei empfindlichen Arzneistoffen könnte es aufgrund dieses hohen Energieeintrages zu Zersetzungsreaktionen kommen, welche die Verarbeitung dieser Substanz als Nanosuspension erschweren. Darüber hinaus kann es bei der Verwendung von kristallinen Substanzen mit großer Kristallhärte aufgrund der starken Turbulenzen und der hohen Strömungsgeschwindigkeit während der Produktion zu Materialabrieb in der Produktionsanlage und somit zu einer Kontamination des Produktes kommen. Durch verringerten Homogenisationsdruck während der Produktion, würde man zum einen „schonendere“ Bedingungen für den verwendeten Arzneistoff schaffen und zum anderen die Möglichkeit der Produktkontamination durch Materialabrieb senken. Daher sollte hier untersucht werden, wie sich eine Verringerung des Produktionsdruckes auf die Partikelgrößenverteilung der resultierenden Suspension auswirkt.

### 3.5.1 Herstellung

Ein weiterer Aspekt der Untersuchung sollte es sein, den Einfluß des Homogenisationsdruckes auf die Partikelgröße in Abhängigkeit von der Feststoffkonzentration zu bestimmen. Daher wurden die drei optimierten Nifedipinsuspensionen (10, 20 und 30 %) eingesetzt.

Die genauen Zusammensetzungen sind in Tabelle 3-6 aufgeführt.

Tabelle 3-6: Zusammensetzung der verwendeten Nifedipin-Nanosuspensionen

	Nifedipin [%]	Kaliumoleat [%]	Poloxamer 188 [%]
10 %	10	1,00	0,50
20 %	20	1,50	0,75
30 %	30	2,50	1,25

Alle Chargen wurden zu Herstellungsbeginn in drei Teile geteilt und anschließend jeweils 10 Zyklen homogenisiert. Dabei wurde je ein Teil bei 150 bar, einer bei 500

bar und der dritte bei 1000 bar prozessiert. Anschließend wurden die Partikelgrößenverteilungen der Suspensionen mittels Laserdiffraktometrie bestimmt.

### 3.5.2 Partikelgrößen

Bei Nifedipin handelt es sich um einen kristallinen Arzneistoff mit einer relativ großen Kristallhärte. Die optimalen Produktionsbedingungen für eine Nanosuspension mit diesem Arzneistoff sind 20 Zyklen bei 1500 bar, wie bereits in Kapitel 3.1 ermittelt wurde. Daher war es durchaus überraschend, daß in diesem Fall schon 10 Zyklen mit 150 bar ausreichen, um die Hauptpopulation der Partikel soweit zu zerkleinern, daß sie sich im Größenbereich von einem Mikrometer befindet. Dabei spielt die eingesetzte Feststoffkonzentration kaum eine Rolle (Abbildung 3-19).

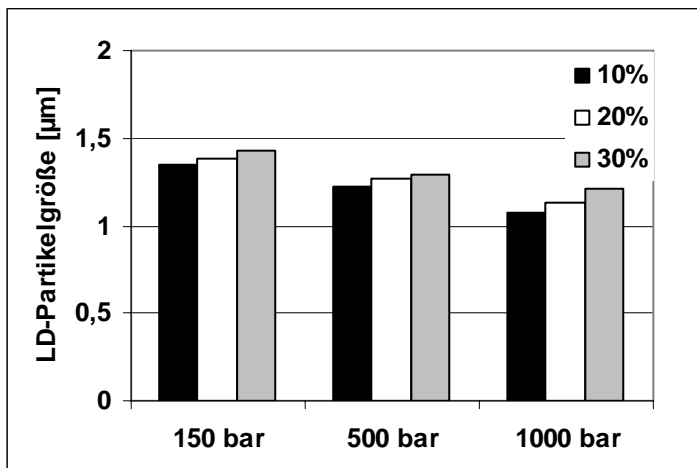


Abbildung 3-19: Der LD 50 %-Durchmesser dreier verschieden konzentrierter Nifedipin-Nanosuspensionen jeweils 10 Zyklen bei verschiedenen Drücken homogenisiert, gemessen mittels Laserdiffraktometrie.

Die Chargen, die bei höherem Druck produziert wurden, zeigten kleinere Partikeldurchmesser, jedoch ist es auch bei der Anwendung von 1000 bar über 10 Zyklen nicht gelungen die Größe von einem Mikrometer zu unterschreiten. Daher kann man streng genommen bei diesen Dispersionen nicht von Nanosuspensionen sprechen. Zum Vergleich lag der LD 50 % der 10 %igen Nanosuspension, die über 20 Zyklen bei 1500 bar homogenisiert wurde bei ca. 0,7 µm. Eine Erhöhung der Zyklenzahl bei niedrigeren Drücken führte aber zu keiner Verbesserung des Ergebnisses, da nach ca. 8 Zyklen ein Plateau erreicht war, was sich im weiteren Produktionsverlauf nicht veränderte.

Als sensibler Parameter zur Detektion größerer Partikel sollte als zweites der LD 95 % herangezogen werden. Als Richtwert zur Beurteilung der Ergebnisse diene wieder die 10 %ige Suspension aus Kapitel 3.2.1 mit einem Wert von 1,64  $\mu\text{m}$ . Auch hier lagen die bei 150 bar produzierten Suspensionen mit einem Wert von ca. 3  $\mu\text{m}$  in einem durchaus akzeptablen Bereich (Abbildung 3-20). Nun stellte sich die Frage, ob bei labilen Arzneistoffen diese schonende Methode zur Herstellung von Nanosuspensionen genutzt werden könnte. Als Kriterium sei hier die Möglichkeit einer parenteralen Anwendung herangezogen. Um einer Embolie durch Blockade feinsten Kapillaren vorzubeugen, dürfen nicht zu viele Partikel  $> 5 \mu\text{m}$  vorhanden sein. Bei den mit 150 bar hergestellten Suspensionen sind 99 % der Partikel kleiner als 3,8  $\mu\text{m}$ . Dies kommt dem Kapillardurchmesser zwar nahe, es bleibt jedoch zu berücksichtigen, daß die Auflösungsgeschwindigkeit der Partikel sehr groß und die zu applizierende Dosis aufgrund der speziellen Eigenschaften dieser Arzneiform nur sehr gering ist. Eine Einsetzbarkeit wäre daher im Einzelfall zu ermitteln.

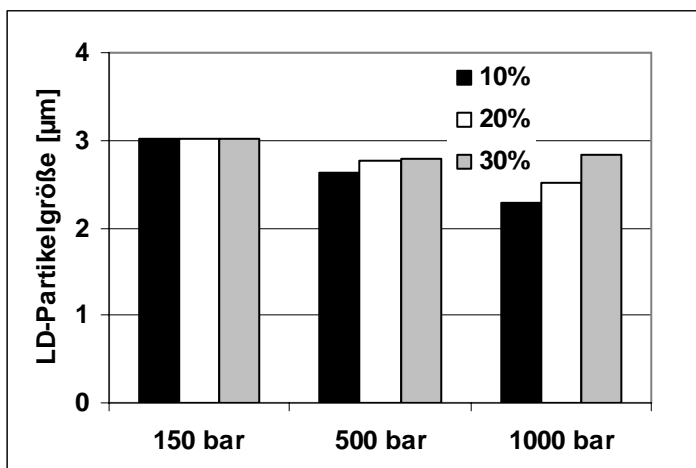


Abbildung 3-20: Der LD 95 %-Durchmesser dreier verschieden konzentrierter Nifedipin-Nanosuspensionen jeweils über 10 Zyklen bei verschiedenen Drücken homogenisiert, gemessen mittels Laserdiffraktometrie.

Bei Betrachten der Abbildung 3-20 fällt auf, daß mit zunehmendem Druck auch die Feststoffkonzentration steigenden Einfluß auf die resultierende Partikelgröße ausübt. Während bei 150 bar kaum ein Unterschied auszumachen ist, wird bei 1000 bar ganz deutlich, daß die Zerkleinerung mit zunehmender Partikelkonzentration schwieriger wird. Die eingebrachte Energie reicht nicht mehr aus, um die Partikel bei einer Konzentration von 30 % auf die gleiche Größe zu zerteilen wie bei 10 %.

Grau konnte zeigen, daß bei der Produktion von Nanosuspensionen eine Steigerung der Feststoffkonzentration von 1 % auf 10 % einen positiven Effekt auf die resultierende Partikelgröße hat, da aufgrund der höheren Konzentration an Partikeln die Möglichkeit besteht, die Zerkleinerung der Teilchen durch gegenseitig ausgeübte Prallkräfte zu bewirken. Wenn die Partikel durch die Turbulenzen stark beschleunigt werden treffen sie zu irgendeinem Zeitpunkt auf ein Hindernis, an dem sie stark abgebremst werden. Das kann entweder aus der Innenwand des Homogenisators oder aber aus einem anderen Partikel bestehen. Aufgrund dieses Zusammenpralls zerbrechen die Partikel und werden so zerkleinert. Durch eine Konzentrationssteigerung erhöht man die Wahrscheinlichkeit, daß es zu einem solchen Zusammenstoß kommt. Wird die Konzentration hingegen noch weiter gesteigert, nimmt die Effektivität der Zerkleinerung wieder ab. Das liegt möglicherweise daran, daß sich die Partikel aufgrund ihrer großen Zahl gegenseitig behindern und daher die Scher- und Prallkräfte nicht optimal genutzt werden können. In diesem Fall werden Partikel bereits in der Beschleunigungsphase durch andere Partikel abgebremst bevor sie die für eine effektive Zerkleinerung notwendige Geschwindigkeit erreichen können. Dieser Effekt tritt hauptsächlich bei höheren Drücken auf, da hier die Turbulenzen sehr viel stärker sind als bei niedrigen Drücken und somit auch die resultierenden Geschwindigkeiten der Partikel sehr viel höher sind.

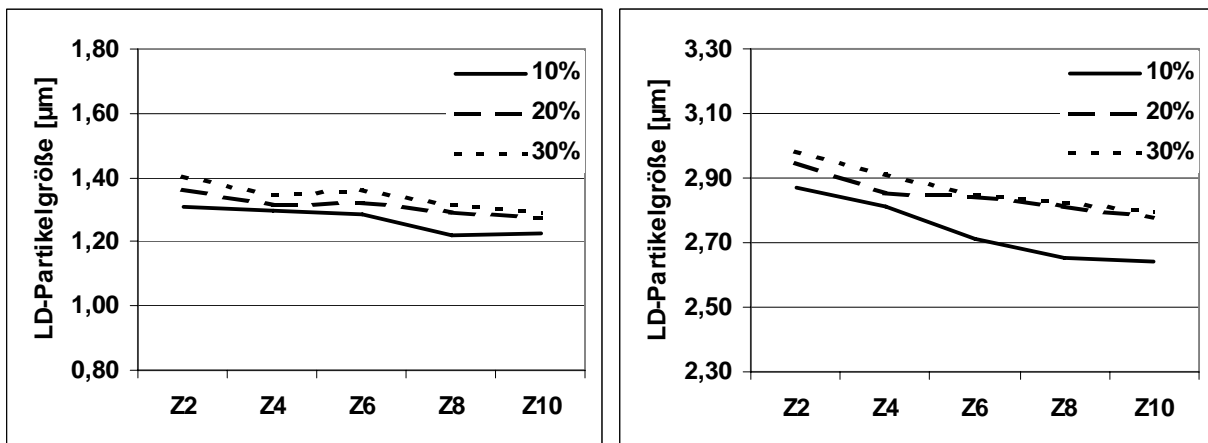


Abbildung 3-21: Partikelgröße dreier verschieden konzentrierter Nifedipin-Nanosuspensionen im Verlauf der Homogenisation bei 500 bar von Zyklus 2 bis 10, gemessen mittels Laserdiffraktometrie. Links: LD 50 %, Rechts: LD 95 %.

Abbildung 3-21 zeigt den Durchmesser 50 % und 95 % der drei Suspensionen im Verlauf der Homogenisation bei 500 bar von Zyklus 2 bis Zyklus 10. Bei diesen Ab-

### 3 Nanosuspensionen mit Nifedipin

bildungen wurde darauf geachtet, daß der Ausschnitt der Y-Achse jeweils genau ein Mikrometer beträgt, um den Einfluß der Feststoffkonzentration auf die Partikelgröße besser beurteilen zu können. Wie man hier sieht, ist weder beim LD 50 % noch beim LD 95 % ein großer Unterschied zwischen den verschiedenen Konzentrationen festzustellen. Das läßt sich dadurch begründen, daß bei 500 bar der weiter oben beschriebene Effekt der gegenseitigen Behinderung aufgrund der geringen Teilchengeschwindigkeit kaum zum Tragen kommt. Des weiteren zeigt diese Abbildung, daß eine Erhöhung der Zyklenzahl keinen zusätzlichen Nutzen bringen würde, da die Plateaus bereits erreicht sind.

Anders verhält es sich dagegen in Abbildung 3-22. Auch hier entspricht der Ausschnitt der Y-Achse genau einem Mikrometer. Während die Hauptpopulation erneut recht dicht beieinander liegt, kann man beim LD 95 % erkennen, daß die Partikelgröße mit steigender Konzentration zunimmt. Aufgrund der sehr viel höheren Strömungsgeschwindigkeit im Homogenisationsspalt kommt es hier durch die große Anzahl der Teilchen zu Behinderungen, so daß die Prallkräfte nicht mehr optimal genutzt werden können. Darüber hinaus kommt hier noch ein weiterer Effekt zum Tragen. Bei allen drei Konzentrationen ist die durch die Homogenisation in das System eingebrachte Energie gleich. Bei der 30 %igen Suspension verteilt sich diese jedoch auf dreimal so viele Partikel wie bei der 10 %igen, so daß die Energie pro Partikel deutlich geringer ist und somit auch die Effektivität der Zerkleinerung abnimmt.

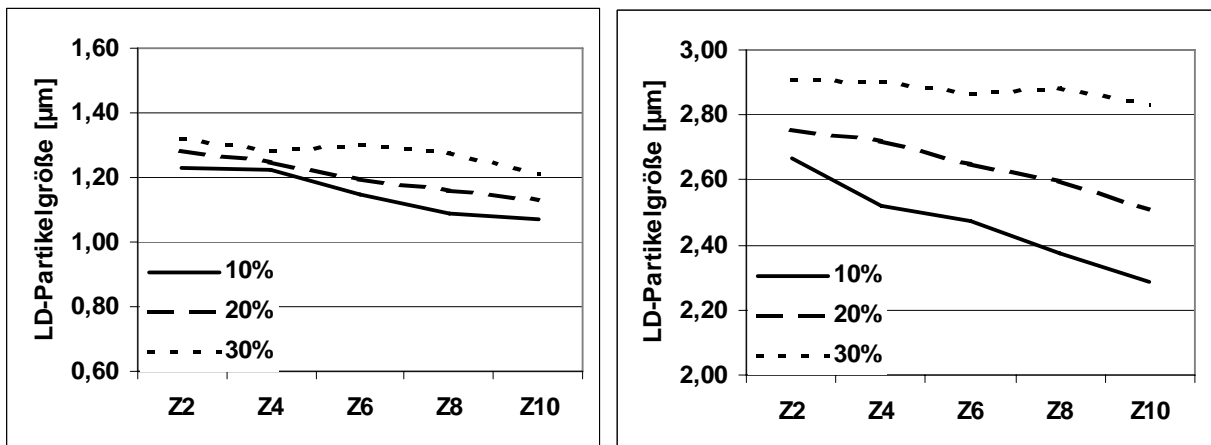


Abbildung 3-22: Partikelgröße dreier verschieden konzentrierter Nifedipin-Nanosuspensionen im Verlauf der Homogenisation bei 1000 bar von Zyklus 2 bis 10, gemessen mittels Laserdiffraktometrie. Links: LD 50 %, Rechts: LD 95 %.



### **3.5.3 Zusammenfassung der Ergebnisse der Homogenisation bei geringeren Drücken**

Auch mit niedrigeren Drücken lassen sich Nifedipin-Suspensionen erzeugen, deren mittlere Partikelgröße im Bereich von einem Mikrometer liegt. Auch wenn es sich dabei streng genommen nicht um Nanosuspensionen handelt, ist dies für empfindliche Substanzen eine gute Herstellungsalternative. Außerdem konnte gezeigt werden, daß die Effektivität der Zerkleinerung bei zunehmender Feststoffkonzentration ab einem gewissen Punkt wieder abnimmt, da sich die Partikel gegenseitig behindern und somit die Prallkräfte nicht mehr voll wirksam werden können.