

---

# 1 Einleitung und Zielsetzung

---

## 1.1 Problemstellung

Ein Großteil neu entwickelter Arzneistoffe, vermutlich > 40 %, sind schwer löslich, häufig sowohl in wässrigen als auch in organischen Medien. Deshalb treten zunehmend Bioverfügbarkeitsprobleme auf. Zudem kann es problematisch sein, mit sehr schwer löslichen Arzneistoffen therapeutisch relevante Blutspiegel zu erreichen. Deshalb ist es notwendig, neue Formulierungsansätze für diese Stoffe zu finden. Möglichst so, dass das Formulierungsprinzip unabhängig von den chemisch-physikalischen Eigenschaften sowie des Molekülaufbaus des Wirkstoffes ist. Um die Löslichkeit von Arzneistoffen zu verbessern, gibt es verschiedene Lösungsansätze. Möglichkeiten wären zum Beispiel Solubilisierung des Arzneistoffes bzw. der Überzug von Mikropartikeln mit Tensiden [Haynes, 1992] oder die Bildung von Einschlussverbindungen mit Cyclodextrinen [Bauer et al., 1999; Frömmling, 1998]. Ein großer Nachteil an diesen Formulierungen ist, dass sie nur mit Wirkstoffen realisierbar sind, die bestimmte Eigenschaften aufweisen. So kann beispielsweise nicht jedes Molekül in einem Cyclodextrinmolekül eingeschlossen werden.

Ein einfacher Weg, die Löslichkeit und damit auch die Bioverfügbarkeit von Stoffen zu erhöhen, ist die Verkleinerung der Partikelgröße des Arzneistoffes. Dazu wurde zunächst die Mikronisierung von schwer löslichen Stoffen durch Kolloid- oder Luftstrahlmühlen vorgenommen. Mit diesen Verfahren konnten Reduzierungen der Partikelgrößen von 0,1 µm bis ca. 25 µm erreicht werden, wobei nur ein sehr geringer Teil unter 1 µm liegt [Müller et al., 1995]. Durch eine Mikronisierung konnte zwar die Auflösungsgeschwindigkeit erhöht, jedoch noch keine Verbesserung der Sättigungslöslichkeit erreicht werden. Aus diesem Grunde wurde der Ansatz gewählt, die Partikelgröße weiter zu verkleinern.

---

## 1.2 Ansätze zur Problemlösung

Das erste Patent zu nanopartikulären Arzneistoffsystemen wurde 1990 von Liversidge [Liversidge et al., 1991] eingereicht. Es beschrieb die Herstellung von nanopartikulären Arzneistoffformulierungen durch Perlmühlen. Bei dieser Technik wird der Arzneistoff zusammen mit einer Tensidlösung in eine Perlmühle gegeben und bis zum Erreichen der gewünschten Partikelgröße stunden- bzw. tagelang vermahlen. Dieses so hergestellte Produkt heißt NanoCrystals®. Bei diesem Verfahren kann sich die lange Dauer des Verfahrens

als nachteilig auf die mikrobiologische Qualität auswirken, da unter Umständen die wässrige Lösung über Tage hinweg gemahlen wird. In dieser Zeit ist mikrobiologischer Befall denkbar. Ein Abrieb des Perlmaterials ist seit der Umstellung von Glas- oder Zirkoniumoxidperlen auf hochgradig vernetztes Polystyren kein Problem mehr. Ein weiterer Weg Nanopartikel bzw. Nanosuspensionen herzustellen, ist die Hochdruckhomogenisation [Müller et al., 1994 und 1999, Müller und Peters, 1998]. Dabei wird der Arzneistoff in einer Tensidlösung mit Drücken von bis zu 1500 bar mit einem Kolben-Spalt Homogenisator homogenisiert. Es entstehen Nanosuspensionen, die den Namen DissoCubes<sup>®</sup> tragen. Nanosuspensionen sind kolloid disperse Systeme fest in flüssig, bei denen sich die Hauptpopulation der Partikelgröße im Nanometerbereich befindet. Typischerweise bestehen Nanosuspensionen aus Arzneistoff, stabilisierenden Tensiden und Dispersionsmittel. Der Zusatz von stabilisierenden Tensiden ist notwendig, da die sehr starke Zerkleinerung der Partikel verstärkt zu Aggregation dieser führt [de Villiers et al., 1995]. Würde diese Aggregation nicht verhindert werden, kämen die typischen Eigenschaften von Nanosuspensionen nicht mehr zum Tragen. Die Herstellung der Nanosuspensionen mit dem Hochdruckhomogenisator hat gegenüber der Herstellung mit der Perlmühle mehrere Vorteile. Durch das zeitlich kurze Verfahren der Hochdruckhomogenisation wird ein mikrobieller Verfall unwahrscheinlich. Nicht nur wegen der kurzen Verfahrenszeit, sondern vielmehr durch das Verfahren der Hochdruckhomogenisation ist das Überleben von Mikroorganismen praktisch unmöglich [Kleinig und Middelberg., 1996]. Hochdruckhomogenisation wird auch zum Aufschlußverfahren von Mikroorganismen verwendet. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass durch Hochdruckhomogenisation hergestellte Nanosuspensionen teilweise amorphe Fraktionen aufwiesen [Böhm, 1999; Grau, 2000; Peters, 1999], was durch das Perlmühlverfahren (NanoCrystals<sup>®</sup>) nicht auftritt [Liversidge und Cundy, 1995]. Dieser amorphe Zustand führt zu einer weiteren Erhöhung der Lösungsgeschwindigkeit, denn amorphe Substanzen lösen sich schneller auf, weil beim Lösungsprozess kein Gitterenergie mehr überwunden werden muss.

Bei vielen der bis heute entwickelten Nanosuspensionen handelt es sich um wässrige Dispersionen wobei auch erfolgreich Nanosuspensionen mit nicht-wässrigen Dispersionsmedien wie Propylenglykol oder flüssigen PEGs hergestellt worden sind, sie tragen den Namen NanoPure<sup>™</sup> [Krause, Dissertation in Vorbereitung; Müller und Jacobs, 2001].

Arzneistoffe, formuliert als Nanosuspensionen, besitzen gegenüber mikronisierten Arzneistoffen eine Reihe an positiven Effekten [Liversidge; 1996, Liversidge und Cundy, 1995 Liversidge und Conzentino, 1995]:

- *Schnelleres Einsetzen der Wirkung*
- *Verbesserte Bioverfügbarkeit*
- *Größere Wirksamkeit*
- *Bessere Voraussage der therapeutischen Wirksamkeit*
- *Verringerung der Effekte durch Nahrungsmittel*
- *Verbesserte Dosisproportionalität und Gleichförmigkeit*
- *Gezielte Arzneistoffabgabe*
- *Formulierungen ohne toxische Trägersubstanzen*

Die hier angeführten Merkmale sind auf die Besonderheiten von Nanosuspensionen zurückzuführen.

## 1.3 Außergewöhnliche Eigenschaften der Nanosuspensionen

Die außergewöhnlichen Eigenschaften von Nanosuspensionen sind die Erhöhung der Sättigungslöslichkeit und die Erhöhung der Lösungsgeschwindigkeit [Nyström und Sjökvist, 1996]. Mit der vergrößerten Oberfläche von Nanopartikeln im Vergleich zu Mikropartikeln ist die erhöhte Lösungsgeschwindigkeit leicht zu erklären. Dem Lösungsmittel steht sehr viel mehr Angriffsfläche zur Verfügung. Die Sättigungslöslichkeit ist, den Lehrbüchern nach, eine stoffspezifische Konstante, die nur von der Temperatur abhängig ist. Ausnahmen bilden polymorphe Stoffe, deren Sättigungslöslichkeit zusätzlich von der Modifikation, kristallin oder amorph abhängt. Die Sättigungslöslichkeit hängt jedoch auch von der Partikelgröße ab. Dieses kommt jedoch erst ab einer Partikelgröße  $< 2 \mu\text{m}$  zum Tragen und wird durch die Kelvin- und Ostwald-Freundlich-Gleichungen beschrieben [Grant und Brittain, 1995].

### 1.3.1 Sättigungslöslichkeit

Die Sättigungslöslichkeit  $c_s$  ist definiert als die maximale Masse eines Stoffes, die bei einer bestimmten Temperatur und einem bestimmten Lösungsmittel gelöst werden kann [Hunnius, 1993; Stricker, 1987]. Wenn die Sättigungslöslichkeit erreicht ist, wird bei weiterem Hinzufügen von Substanz sich diese als Bodensatz niederschlagen. Der Bodensatz steht mit dem gelösten Stoff in ständigem Gleichgewicht. Ph.Eur. und USP teilen nach Löslichkeiten folgendermaßen ein (siehe Tabelle 1-1):

**Tabelle 1-1:** Einteilung nach Ph.Eur. bzw. USP

Bezeichnung	Ungefähre Anzahl Volumenteile Lösungsmittel für 1 Massenteil Substanz
sehr leicht löslich	weniger als 1 Teil
leicht löslich	von 1 Teil bis 10 Teile
löslich	über 10 Teile bis 30 Teile
wenig löslich	über 30 Teile bis 100 Teile
schwer löslich	über 100 Teile bis 1 000 Teile
sehr schwer löslich	über 1 000 Teile bis 10 000 Teile
praktisch unlöslich	über 10 000 Teile

Dabei sind die Angaben in den Arzneibüchern ungefähre Angaben, die sich auf eine Temperatur von 15-25°C beziehen. Falls nichts anderes angegeben ist, handelt es sich bei dem Lösungsmittel um gereinigtes Wasser. Die Sättigungslöslichkeit ist abhängig von der Temperatur, der Art des Lösungsmittels und dessen pH-Wert, der Partikelgröße und der Polymorphie sowie dem Druck der Substanz [Florence und Salole, 1976].

### 1.3.1.1 Einfluss der Partikelgröße auf die Sättigungslöslichkeit

Bei einer Verkleinerung der Partikelgröße unter 2 µm, ist das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen so groß, dass die Sättigungslöslichkeit steigen kann [Bisrat und Nyström, 1988; Torrado et al., 1998]. Die so vergrößerte Angriffsfläche für die Lösemittelmoleküle an der Feststoffgrenzfläche und die Verkleinerung der Dicke der Diffusionsschicht sind hierfür verantwortlich.

Die Kelvin-Gleichung beschreibt die Erhöhung des Dampfdruckes bei Flüssigkeitströpfchen in Abhängigkeit von der Tröpfchengröße bzw. mit der Krümmung der Tröpfchenoberfläche. Je kleiner der Tropfen ist, desto gekrümmter ist die Oberfläche:

$$\ln \frac{P_r}{P_\infty} = \frac{2\gamma V_m}{rRT}$$

$P_r$ : Dampf- / Lösedruck eines Partikel mit dem Radius  $r$

$P_\infty$ : Dampf- / Lösedruck eines unendlich großen Partikels

$\gamma$ : Grenzflächenspannung

$V_m$ : molares Volumen des Partikels (berechnet sich als Molekulargewicht/ Dichte)

$r$ : Radius des Partikels

$T$ : absolute Temperatur

$R$ : allgemeine Gaskonstante

Man kann die Vergrößerung der Oberfläche Flüssigkeit/Gas mit der Erhöhung des Lösedruckes von fest zu flüssig vergleichen. Wird die Partikelgröße unter einen Wert von 1-2 µm reduziert, führt diese zu einem erhöhtem Lösedruck, was zu einer erhöhten Sättigungslöslichkeit führt.

Die Abhängigkeit von Sättigungslöslichkeit und Partikelgröße wird in der Ostwald-Freundlich-Gleichung [Grant und Brittain, 1995; Florence, 1981] beschrieben:

$$\log \frac{c_{s,r}}{c_{s,\infty}} = \frac{2\gamma V_m}{2,303RT\rho r}$$

$c_{s,r}$  : Löslichkeit eines Partikels mit dem Radius  $r$

$c_{s,\infty}$  : Löslichkeit eines großen Partikels

$\gamma$  : Grenzflächenspannung

$V_m$  : molares Volumen des Partikels

$T$  : absolute Temperatur

$R$  : allgemeine Gaskonstante

$\rho$  : Dichte des Feststoffes

$r$  : Partikelradius

Wird die Partikelgröße in ausgeprägtem Maß verringert (mindestens unter  $2 \mu\text{m}$ ), ist durch die Kelvin- und Ostwald-Freundlich-Gleichung beschriebenen Gesetzmäßigkeiten zu erwarten, dass die Sättigungslöslichkeit einer Substanz größer wird.

### 1.3.2 Lösungsgeschwindigkeit

Der Resorption eines Arzneistoffes in den Körper geht in den meisten Fällen ein Lösen der Substanz voraus. Die Auflösung stellt somit sehr häufig den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt bei der Resorption dar. Deshalb ist für die Bioverfügbarkeit, die als Ausmaß und Geschwindigkeit, mit der ein Arzneistoff am Wirkort oder im systemischen Kreislauf auftritt, definiert ist, die Lösungsgeschwindigkeit ein wichtiger Faktor. Sie wird maßgeblich von drei Faktoren beeinflusst:

1. Oberfläche des Feststoffes
2. Diffusionstransport des gelösten Stoffes
3. Sättigungslöslichkeit

Die Lösungsgeschwindigkeit wird durch das Gesetz von Noyes-Whitney beschrieben [Stricker, 1987; Mosharraf und Nyström, 1995]:

$$dm/dt = DA/h * (c_s - c_x)$$

$dm / dt$  : Auflösungsgeschwindigkeit

D: Diffusionskoeffizient

h: Dicke der Diffusionsschicht

A: Fläche zwischen Festkörper und Lösungsmittel (= Oberfläche des Feststoffes)

$c_s - c_x$  : Differenz zwischen der Konzentration einer gesättigten und der tatsächlichen Konzentration im Lösungsmittel

Somit ist die benetzbare Oberfläche des Feststoffes für die Auflösung von großer Bedeutung.

Die Kelvin-Gleichung beschreibt die Abhängigkeit des Dampfdruckes von der Partikelkrümmung.

$$\Delta p \sim \frac{1}{r}$$

p: Dampf- bzw. Lösungsdruck

r: Radius (Tröpfchen bzw. Partikel)

Je stärker gekrümmt eine Oberfläche, also je kleiner ein Partikel ist, desto höher ist der Dampf- bzw. Lösungsdruck.

Zum anderen wird die Lösungsgeschwindigkeit dadurch erhöht, dass sich die Dicke Diffusionsschicht ( $h_H$ , hydrodynamische Schicht) verringert. Dieses wird durch die Prandtl-Gleichung beschrieben [Mosharraf und Nyström, 1995]:

$$h_H = k \cdot (L^{1/2} / V^{1/3})$$

$h_H$  : hydrodynamische Schicht (entspr. Dicke der Diffusionsschicht)

k : Konstante

L : Länge der Oberfläche in Flussrichtung

V : relative Geschwindigkeit der Flüssigkeit

In der Flüssigkeit dispergierte Partikel sind von einer dünnen Schicht gesättigter Lösung umgeben, die als Diffusionsschicht bezeichnet wird. Die Dicke der Diffusionsschicht entspricht der hydrodynamischen Schicht  $h_H$  in der Prandtl-Gleichung. Bei sehr kleinen Partikeln ( $< 2 \mu\text{m}$ ) ist die Dicke dieser Schicht sehr viel geringer. Somit erhöht sich der Konzentrationsgradient und die Löslichkeit ist, im Vergleich zu größeren Partikeln erhöht.

Außerdem ist zu berücksichtigen, wie im oberen Abschnitt schon kurz bemerkt, dass sich im Falle von amorphen oder teilamorphen Partikeln ebenfalls eine Verbesserung der Lösungseigenschaften, insbesondere der Lösungsgeschwindigkeit, einstellt, da keine Energie mehr aufgebracht werden muß um das Kristallgitter aufzulösen.

---

## 1.4 Nanosuspensionen

Nanosuspensionen sind eine neuartige Arzneiform für schwerlösliche Arzneistoffe. Sie sind anwendbar für viele Applikationswege. Denkbar sind injizierbare, orale oder topische Arzneiformulierungen [Ruddy et al., 1996]. Durch Überführung des Arzneistoffes in Partikel im Nanometerbereich kann man jeden beliebigen Arzneistoff in eine intravenös injizierbare Arzneiform überführen. Dies kann von besonderem Interesse bei neuentwickelten Arzneistoffen mit geringer Löslichkeit sein, bei denen nach peroraler Applikation eine nur ungenügende Bioverfügbarkeit erzielt wird. Zur Erzielung einer ausreichenden Bioverfügbarkeit können diese Wirkstoffe dann als Nanosuspension intravenös injiziert werden. Aus bisherigen Untersuchungen ist bekannt, dass sich in den meisten Fällen die so injizierten Wirkstoffe aufgrund des erhöhten Lösungsdruckes, großer Oberfläche und relativ großem zur Verfügung stehenden Lösungsvolumens (Blutvolumen), schnell lösen und sich pharmakokinetisch wie eine injizierte Lösung verhalten. Somit wird nahezu jeder Arzneistoff einer pharmakologischen beziehungsweise pharmakokinetischen Untersuchung zugänglich.

Nanosuspensionen können aber auch für bekannte Wirkstoffe eingesetzt werden, die zwar oral gut bioverfügbar sind, jedoch wegen nicht ausreichender Löslichkeit nicht i. v. applizierbar sind. Hier kann unter Einsatz einer Nanosuspension erst eine absolute Bioverfügbarkeit bestimmt werden. Aus den dargelegten Gründen besteht ein hohes Interesse an i.v. applizierbaren Nanosuspensionen. Unter diesen Voraussetzungen können Nanosuspensionen auch auf anderen parenteralen Wegen appliziert werden.

---

## 1.5 Zielsetzung

In dieser Arbeit soll die Herstellbarkeit von Nanosuspensionen für verschiedene Applikationswege, nämlich **intravenös**, **inhalativ** und **oral** untersucht werden. Jede dieser Arzneiformen stellt aufgrund ihrer Applikationsform spezifische Anforderungen an die Partikelgröße und Hilfsstoffe. Zusätzlich sollen diese Nanosuspensionen präferenziell als wässrige Dispersionen lagerfähig sein, das heißt sie müssen technologisch so optimiert stabilisiert sein, dass Partikelwachstum und Aggregation (caking) ausbleiben. Die aus verschiedenen Wirkstoffen hergestellten Nanosuspensionen sollen auf ihre physikalischen Stabilisierungsmöglichkeiten hin untersucht und ihre physikalische Stabilität als Funktion der Zeit ermittelt werden (1.5.1). Außerdem soll die oral einzusetzende Nanosuspension mit einem mucoadhäsiven System kombiniert werden, um die Bioadhäsion des Gesamtsystems zu erhöhen; die so neu entwickelten Systeme sollen ebenfalls charakterisiert werden (1.5.2).

## 1.5.1 Stabilisierung der Nanosuspensionen

Es gibt verschiedenen Arten Nanosuspensionen zu stabilisieren. Der Erfolg hängt im wesentlichen von dem Wechselspiel Arzneistoff und stabilisierende Tenside ab. Zum heutigen Zeitpunkt kann noch keine Korrelation zwischen funktionellen Gruppen an Wirkstoffen und Tensidmolekülen hergestellt werden.

### 1.5.1.1 Elektrostatische Stabilisierung

Eine elektrostatische Stabilisierung wird mit geladenen Tensiden, die sich auf die Partikeloberfläche setzen und damit die Oberflächenladung erhöhen, erreicht. Direkt zu messen ist eine elektrostatische Stabilisierung über das Zetapotenzial (vgl. Abschnitt 2.3), bei einem Zetapotenzial  $> \pm 35$  mV kann von einer physikalisch stabilen Suspension gesprochen werden.

### 1.5.1.2 Sterische Stabilisierung

Eine sterische Stabilisierung wird durch die Adsorption von Makromolekülen erreicht, wobei man davon ausgehen kann, dass bei einer Schichtdicke der adsorbierten Polymerschichten  $> 10$  nm, eine ausreichende Stabilisierung erreicht ist. Je nach Art des zu stabilisierenden Partikels und umgebenden Dispersionsmedium gibt es geeignete und weniger geeignete Polymere. Die in das Dispersionsmedium ragenden Reste, reagieren sehr empfindlich auf Veränderungen des Dispersionsmedium, z. B. den Zusatz von Elektrolyten. Fühlt sich der nicht an das Partikel adsorbierte Teil nicht mehr im Dispersionsmedium "wohl" wird die Dicke der Polymerschicht kleiner, da die Polymerreste sozusagen an das Partikel gedrückt werden.

Man unterscheidet bei der sterischen Stabilisierung zwischen Entropie- und Enthalpiestabilisierung. Bei der Entropiestabilisierung geht man davon aus, dass bei Annäherung zweier Partikel, sich bei einem sehr kurzen Abstand die adsorbierten „Makromolekülschwänze“, die ins Dispersionsmedium ragen, überlagern und somit die Beweglichkeit reduziert und eine höhere Ordnung eingenommen werden muss. Diese höhere Ordnung ist energetisch ungünstig; die Teilchen wandern wieder auseinander. Bei der Enthalpiestabilisierung wird postuliert, dass bei Annäherung zweier Partikel, dort wo sich die ins Dispersionsmedium ragenden „Makromolekülschwänze“ überlappen, somit ein höherer osmotischer Druck vorherrscht und in die Zone dann Dispersionsmedium einströmt und die Partikel wieder auseinander drückt.

### 1.5.1.3 Kombination aus sterischer und elektrostatischer Stabilisierung

Suspensionen können auch durch den Zusatz von mehreren Tensiden stabilisiert werden. Setzt man sowohl geladene als auch ungeladene Tenside ein, wird die Suspension durch beide Mechanismen stabilisiert. Dadurch kann man die Vorteile beider Arten kombinieren, und kann so eine weniger gegen Veränderungen, z. B. Temperatur, Elektrolytzugabe etc. empfindlich reagierende Stabilisierung erhalten.



Die Auswahl der Tenside soll in Hinblick auf die Applikation geschehen. Für intravenöse (i.v.), orale oder inhalative Anwendungen sind jeweils unterschiedliche Tenside sinnvoll. In dieser Arbeit wurden ausschliesslich GRAS (generally regarded as safe) Substanzen eingesetzt. Die Substanzen sind entweder FDA approved oder finden sich auf dem deutschen Markt in entsprechender Applikationsformen wieder.

## **1.5.2 Neue Formulierungen für Nanosuspensionen**

Eine generelle Eigenschaft von Nanopartikeln ist das Vermögen, besonders gut an Oberflächen zu haften [Ponchel et al., 1997]. Dieses Phänomen der Bioadhäsion wirkt sich positiv auf die Resorption von Arzneistoffen aus, da so die Kontaktzeit verlängert wird und die Resorption erhöht werden kann. Um diese Eigenschaft noch zu intensivieren, sollen Nanosuspensionen mit bioadhäsiven Stoffen kombiniert werden. Die so geschaffenen neuen Systeme sollen hinsichtlich ihrer Herstellung, Stabilität, physikalischen Eigenschaften etc. untersucht werden.

Weiterhin soll in dieser Arbeit die Entwicklung einer inhalativ anzuwendenden Nanosuspension erfolgen. Diese entwickelten Nanosuspensionen sollten hinsichtlich ihrer physikalischen Eigenschaften aber auch hinsichtlich ihrer Langzeitstabilität untersucht werden. Weiterhin sollte diese Suspension auf die Möglichkeit der Vernebelung untersucht werden.

Diese Nanosuspension soll auch als Modellsuspension dienen, um detailliert die Erhöhung der Sättigungslöslichkeit in Abhängigkeit von Partikelgröße und Alter der Nanosuspension zu bestimmen. Schließlich soll das Ausmaß der Erhöhung der Lösungsgeschwindigkeit anhand dieser Modelnanosuspension ermittelt werden.